

Rusitec – Ergebnisse aus Ringversuchen

Fenja Klevenhusen, Gerhard Breves

Nutztierkolloquium 2024 – 3R auch für die Großen 27.09.2024, Berlin

Rumen Simulation TECHnique (RUSITEC; Czerkawski & Breckenridge 1977)

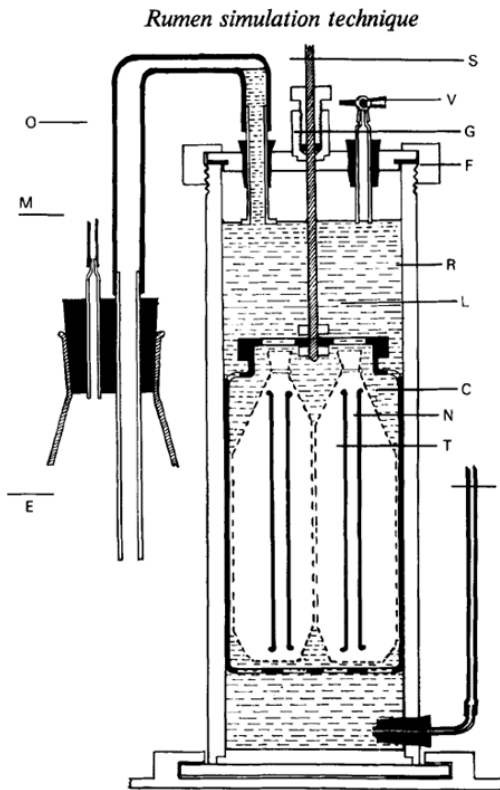
Br. J. Nutr. (1977), 38, 371

Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec)

BY J. W. CZERKAWSKI AND GRACE BRECKENRIDGE

The Hannah Research Institute, Ayr KA6 5HL, Scotland

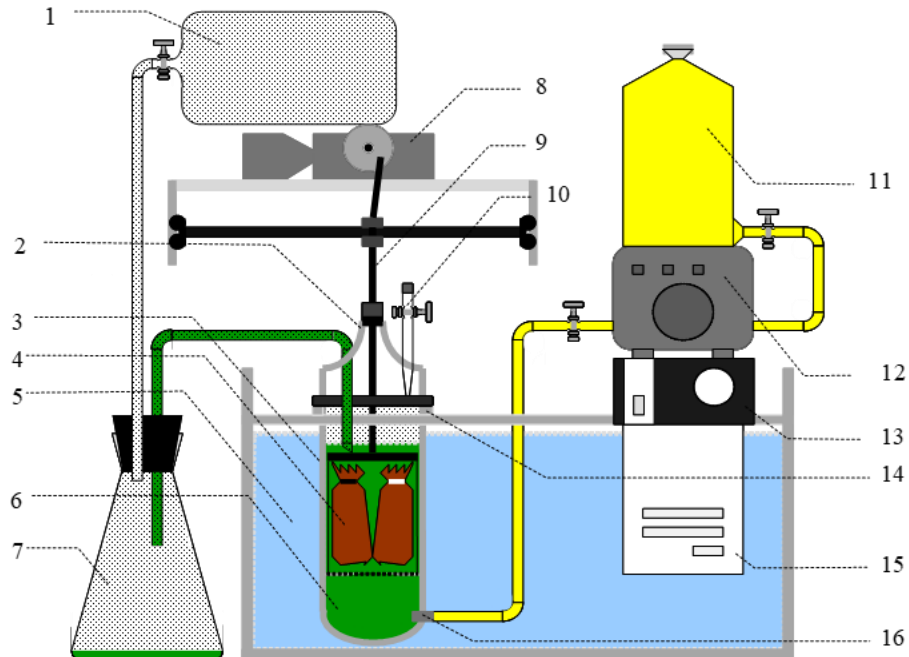
(Received 17 August 1976 – Accepted 21 February 1977)



373

Fig. 1. Schematic diagram of one unit of the four-vessel long-term artificial rumen. (□), Made of perspex, (■), made of rubber or polyethylene. The driving shaft (S) was made of stainless steel. V, Sampling valve; G, gland (gas-tight); F, flange; R, main reaction vessel; L, rumen fluid; C, perforated food container; N, nylon gauze bag; T, rigid tube; I, inlet of artificial saliva; O, outlet through overflow; M, line to gas-collection bag; E, vessel for collection of effluent.

Das RUSITEC-System

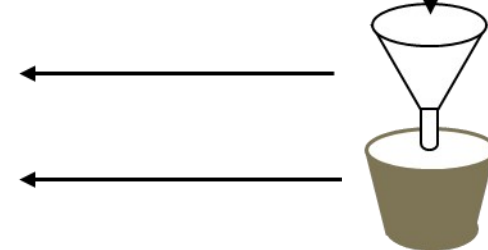
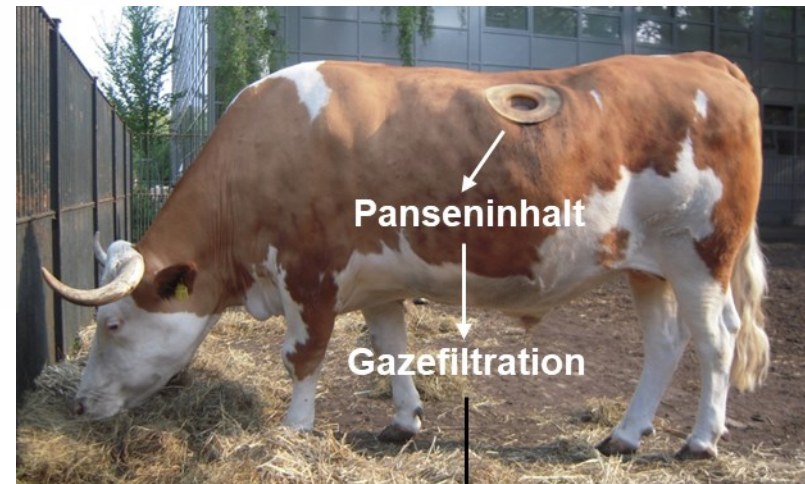
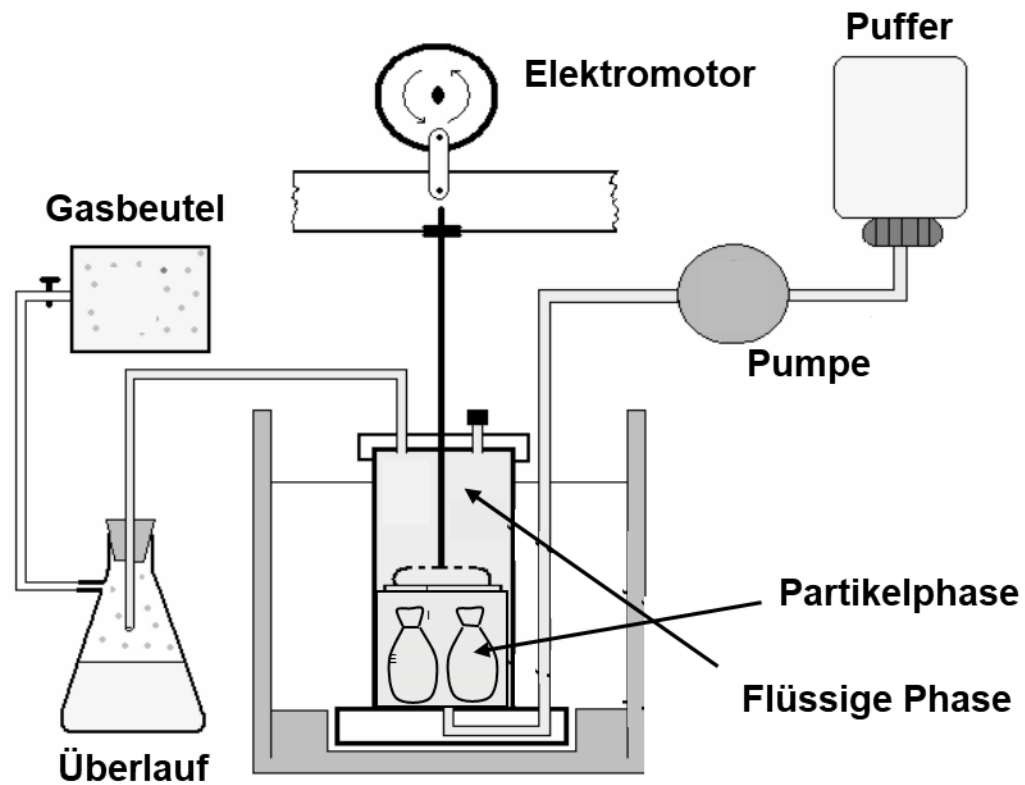


1. Gasbeutel	9. Führungsstange
2. Fermentationseinheit	10. 3-Weghahn
3. Innenbehälter	11. Pufferbehälter
4. Nylonsäckchen	12. Schlauchpumpe
5. Wasserbad	13. Thermostat
6. Inkubationsmedium	14. Fermenterbefestigung
7. Überlaufbehälter	15. Wasserheizung
8. Elektromotor	16. Öffnung Puffereinlass

Abbildung 3.1: Schematische Darstellung des RUSITEC-Systems
(modifizierte Darstellung von Estermann, 1998)



Rumen Simulation TECHnique (RUSITEC; Czerkawski & Breckenridge 1977)



Bakterien im Pansen

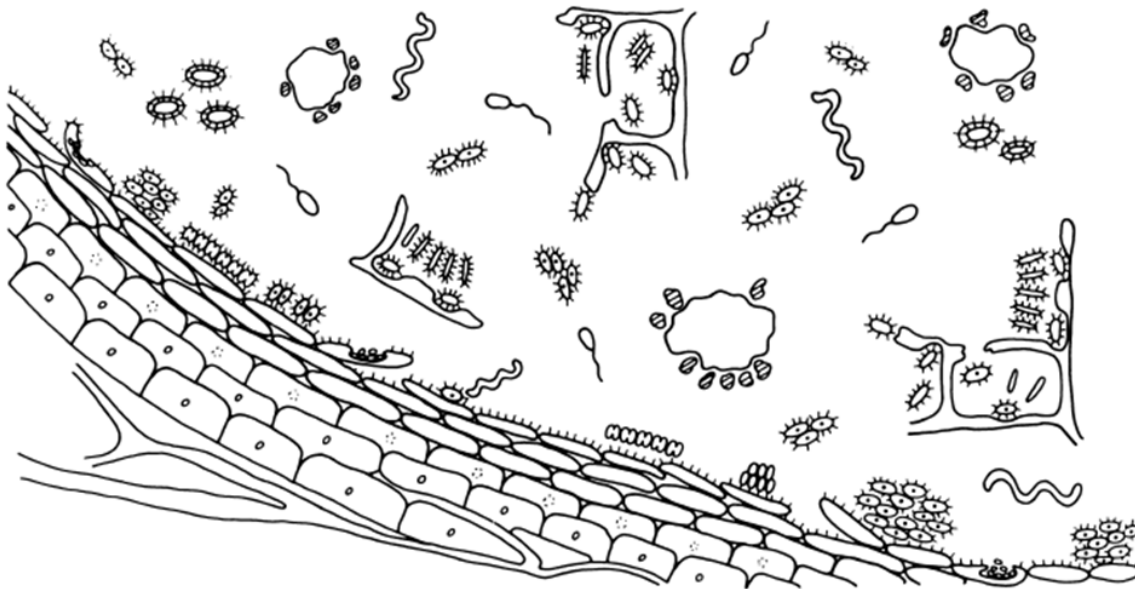


FIG. 1. Diagram shows the subpopulations of bacteria in the rumen. Bacteria occur in the rumen fluid as individual cells and as slime-enclosed microcolonies, they adhere to food particles and digest their component polymeric substrates, and they adhere to the distal cells of the stratified squamous epithelium of the rumen itself.

Adherent epithelial bacteria in ruminants and their roles in digestive tract function^{1, 2}

K.-J. Cheng,³ Ph.D., R. P. McCowan, B.Sc., and J. W. Costerton, Ph.D.

Verteilung der Bakterien im Pansen

Partikelphase (SAM) ca. 70-80%
Flüssigkeit (LAM) ca. 10-20%
Epithel ca. 10%

40

CHENG ET AL.

Pansenmikroben

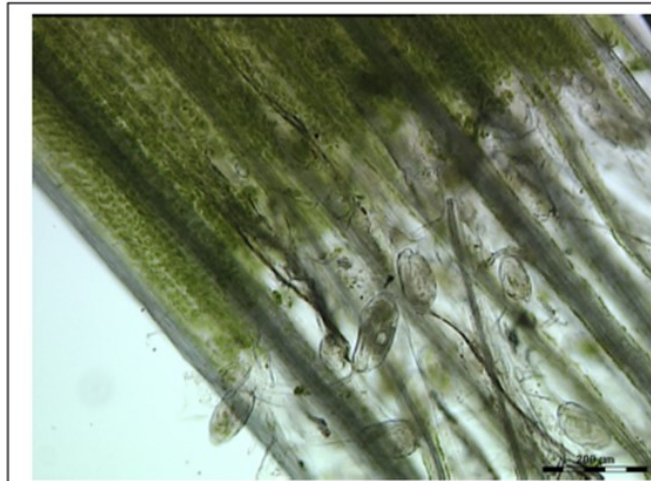
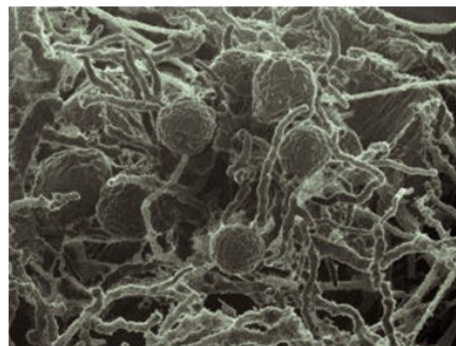
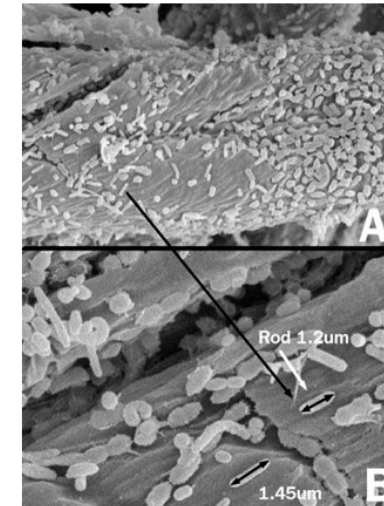
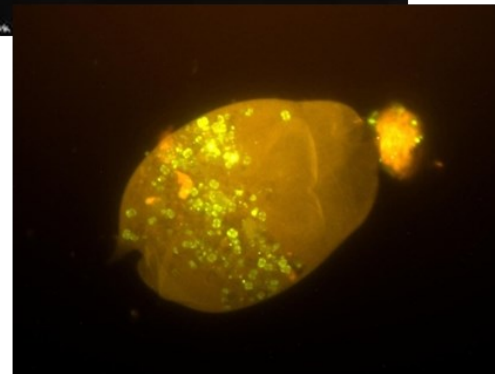


FIGURE 2 | Light microscopy image of rumen contents taken from a ruminant possessing B-type protozoal diversity and showing close interactions of *Epidinium* spp. with fresh perennial ryegrass. Scale bar: 200 μ M.



Protozoa
Bakterien
Archaea (Methanogene)
Fungi

Vorteile des Systems

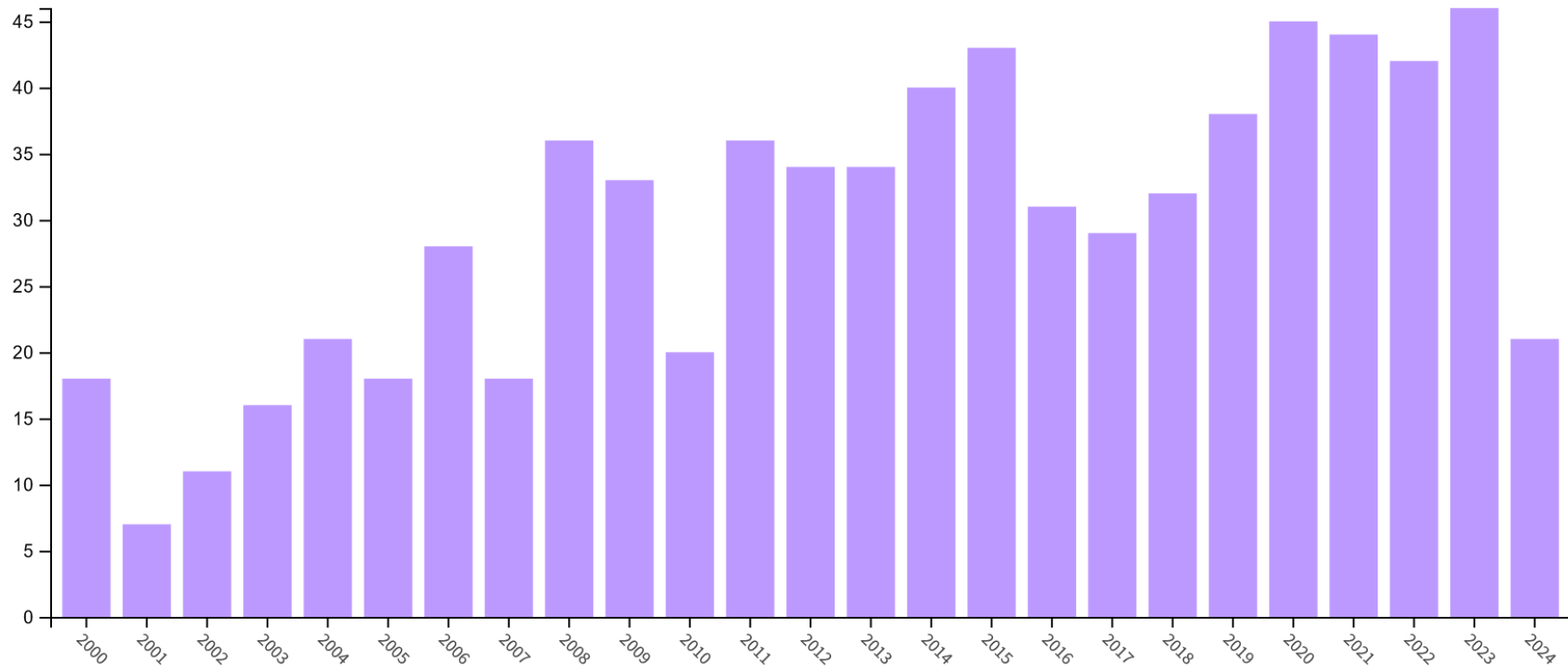
- Kein Tier, d.h. man kann auch mit bekannt toxischen Substanzen arbeiten
- Keine aufwändigen Stoffwechselversuche nötig um Nährstoffverdaulichkeit zu bestimmen
- Messung der Gasbildung
 - Mit Tieren aufwendig und teuer (Respirationskammer, GreenFeed)
- Manipulation der Pansenbedingungen (pH-Wert, Temperatur) ohne dem Tier zu schaden
- Analyse der Pansenmikroben, Metabolisierungsprozesse der Mikroben lassen sich einfach untersuchen
 - Im Tier nur mit Pansenkanülen möglich
(Viele kannulierte Tiere für statistisch belegbare Aussage nötig)
- Einfach Handhabung und Wiederholbarkeit
 - Screening Versuche von Substanzen und Dosierungen möglich
 - Keine großen Futtermengen notwendig
 - Probennahme jederzeit möglich
- Einsatz als Cositec (Colon-Simulation-Technique) oder Caesitec (Caecum Simulation Technique)
Schwein/Pferd

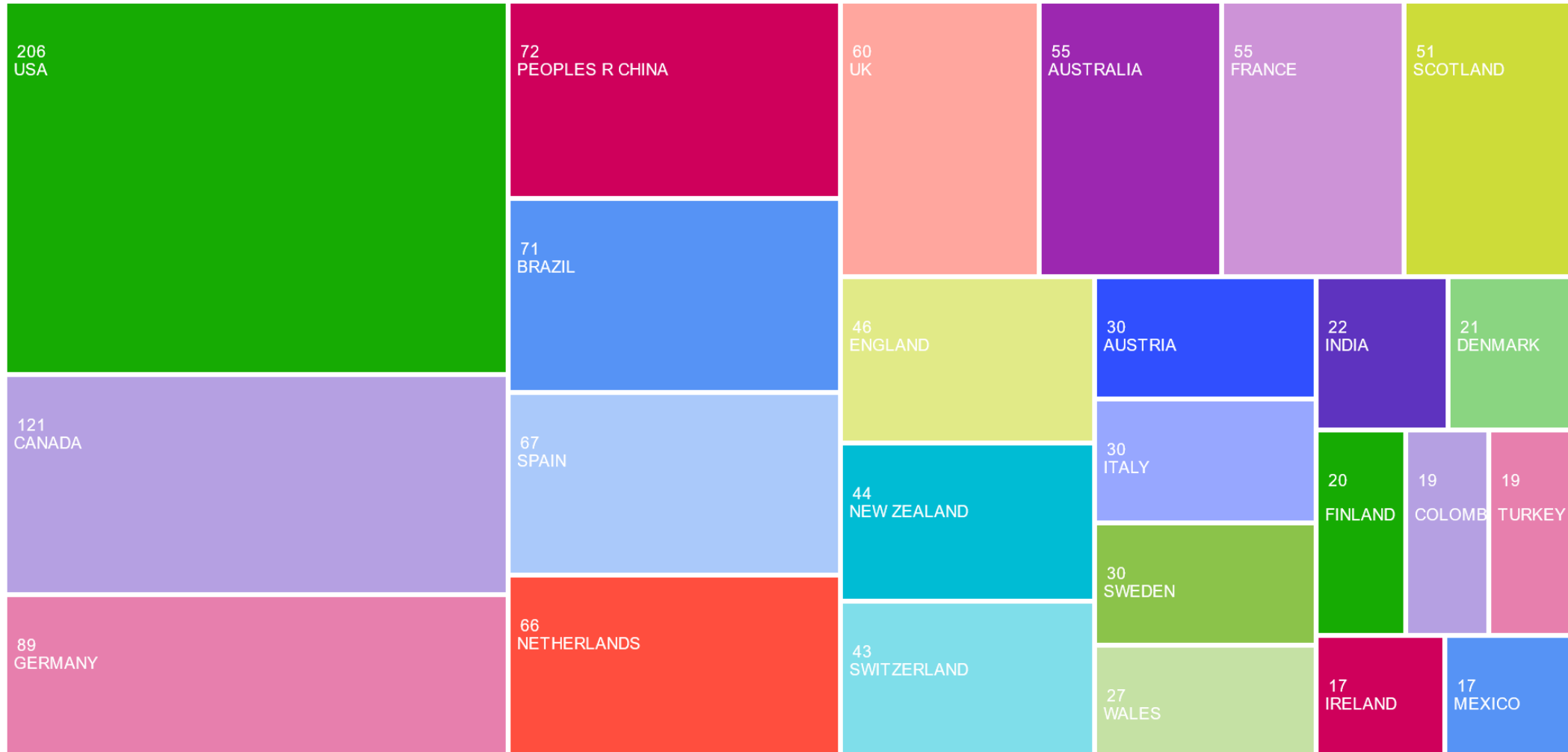
Limitierungen des Systems

- *In vitro* ist nicht *in vivo*
kein Wirteffekt/keine Wirt-Mikrobiom-Interaktion
- Quantitatives Verhältnis Flüssig-/Festphase *in vitro* größer als *in vivo*
- Kein Pansenepithel/keine Absorptions-/Sekretionsprozesse
- Nur Pansenfermentation/ruminale Verdaulichkeit
keine Ergebnisse zur Stoffwechselgesundheit und Leistung/Produktqualität

Web of Science-Artikelsuche “Rusitec” : 906 publications selected from All Databases







Animal Feed Science and Technology 289 (2022) 115325



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Animal Feed Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anifeedsci



Review article

Opportunities and limitations of a standardisation of the rumen simulation technique (RUSITEC) for analyses of ruminal nutrient degradation and fermentation and on microbial community characteristics

Jan-Helge Deitmers, Nina Gresner, Karl-Heinz Südekum *

Institute of Animal Science, University of Bonn, Endenicher Allee 15, 53115 Bonn, Germany



Table 1

Information concerning the donor animals and rumen inoculum in 93 published RUSITEC studies covering 111 different technical variants.

Item	N	Characteristic	Reference no. (see Appendix)
Animal number	84	Mean 3.5, SD 5.2, Median 3, Max 48, Min 1	1–4; 6; 5; 7–11; 14; 13; 15–19; 24–30; 33–48; 53–56; 58–61; 61; 62; 64–68; 71–81; 83–87; 89–93
Species	104	sheep (n = 60), cattle (n = 45), goat (n = 2)	1–4; 6; 5; 7–12; 15; 16; 18; 23; 22; 20; 21; 19; 24–42; 44–48; 52–68; 70–78; 78; 80–84; 86; 87; 89–93
Breed	41	Meat, wool and crossbreed sheep (n = 12), beef breed cattle (n = 4), dairy breed cattle (n = 24), dairy goats (n = 1)	2; 3; 5; 7; 10; 11; 14; 18; 24–28; 33; 35–38; 42; 43; 45; 47; 52–55; 59; 62; 67; 68; 73; 75; 77; 79–81; 87; 91
Diet	94	hay-based (n = 75), straw-based (n = 5), silage-based (n = 8), concentrate-based (n = 7), pasture (n = 2)	1; 2; 4; 6; 5; 7–12; 14; 13; 15–18; 23; 22; 21; 19; 24–30; 32–42; 42–48; 52; 53; 55; 57–60; 62–68; 70–84; 86; 87; 90; 92; 93
Feeding adaptation time	8	10–31 days adaptation	7; 11; 17; 33; 64; 66; 80
Feeding interval	27	two times (n = 22), ad libitum (n = 4), eight times (n = 1)	2; 7; 10; 11; 14; 18; 19; 25; 35; 37; 38; 42; 43; 47; 55; 59; 60; 72; 73; 76; 80; 86; 91; 93
Rumen fluid removal information	34	before morning feeding (n = 21), after morning feeding (n = 10), hand-squeezed (n = 1), vacuum pump (n = 1)	6; 5; 8; 11; 14–16; 18; 25; 35; 37; 41; 43; 53; 58; 64–66; 68; 71; 74–76; 80; 81; 84; 86; 87; 91; 93
Handling with inoculum after removal	40	pooled inoculum (n = 27), and filtered (n = 22 e.g. cheesecloth)	6; 5; 7; 10; 11; 17; 19; 25; 26; 28; 37; 52–56; 58–60; 62; 64–68; 71; 74–76; 78; 80; 81; 84; 86; 87; 93; 93

Table 5

Information concerning the RUSITEC buffer in 93 published RUSITEC studies covering 111 different technical variants.

Item	N	Mean	SD	Median	Min	Max	Reference no. (see Appendix)
Buffer composition	36	McDougall (1948)					3; 6; 14; 13; 15; 23; 20; 19; 25–27; 34; 36; 38; 43; 48; 49; 51; 54; 60–63; 67; 70; 72; 73; 85; 93
	50	Following McDougall (1948) and additions of further substances					1; 2; 9–12; 14; 16; 17; 23; 22; 28; 30; 35; 37; 39–41; 44–46; 50; 53; 55; 57; 58; 66; 68; 69; 71; 74; 76; 80; 82–84; 86; 87; 89–92
	9	Own or other buffer composition					4; 7; 8; 29; 33; 78; 79
Buffer pump system	25	Peristaltic pump systems					1; 6; 10; 20; 21; 19; 24; 36–38; 45; 46; 48; 52; 54; 58; 68; 75; 77; 78; 91
Buffer supply, mL/day	96	643	165	640	302	1000	1; 2; 4; 6; 5; 7–11; 14; 13; 15–18; 23; 20; 21; 19; 24–30; 32–41; 43–49; 51–68; 70–78; 80–86; 88; 87; 89–93
Buffer flow rate, buffer/ vessel volume	90	0.76	0.18	0.75	0.38	1.30	1; 2; 4; 6; 5; 7–11; 14; 13; 15–17; 23; 21; 19; 24–30; 32–41; 43–48; 52–57; 59–67; 70–78; 80–86; 88; 87; 89; 90; 92; 93
Buffer dilution rate, %/h	90	3.17	0.76	3.13	1.59	5.42	1; 2; 4; 6; 5; 7–11; 14; 13; 15–17; 23; 21; 19; 24–30; 32–41; 43–48; 52–67; 70–78; 80–86; 88; 87; 89; 90; 92; 93

Rusitec - Ringversuche

Teilnehmende Institute/Gruppen

Teilnehmende Gruppen/Institute

BfR FG Futtermittel und Futtermittelzusatzstoffe

TiHo Hannover, Institut für Physiologie und Zellbiologie

TiHo Hannover, Klinik für Rinder, Pansenlabor

Uni Bonn, Institut für Tierwissenschaften

Uni Göttingen, Abteilung Wiederkäuerernährung

Uni Halle, Institut für Tierernährung

Uni Hohenheim, Fg. Tierernährung

ETH Zürich/AgroVet Strickhof

FLI, Institut für Tierernährung

Versuchsaufbau

1. Ringversuch:

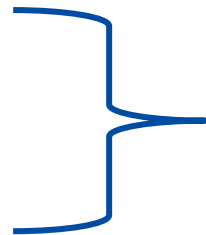
- Gleiche Futtermittel (HEU, MIX*)
- Laborindividuelle Rusitec-Protokolle
 - Diverse Puffer
 - Spendertiere
 - Dauer des Versuchs (Tage Äquilibration)
 - Unterschiedliche Porengrößen (50 µm -1000 µm)
 - Unterschiedliche Elektroden für pH und Redox
 - Eigene Analysen für NH₃ und SCFA



- Jeweils die letzten 4 Tage wurden für die Auswertung verwendet
- Äquilibrationdauer zwischen 5 und 13 Tagen

2. Ringversuch:

- Gleiche Futtermittel (HEU, MIX*)
- Vereinheitlichtes Rusitec-Protokoll
 - Spendertiere als einziger Varianzfaktor
- Laboranalysen an einem Standort zentriert



- 7 Tage Äquilibration
- 7 Tage Sampling

* Ration 1 (Heu): 100% Heu

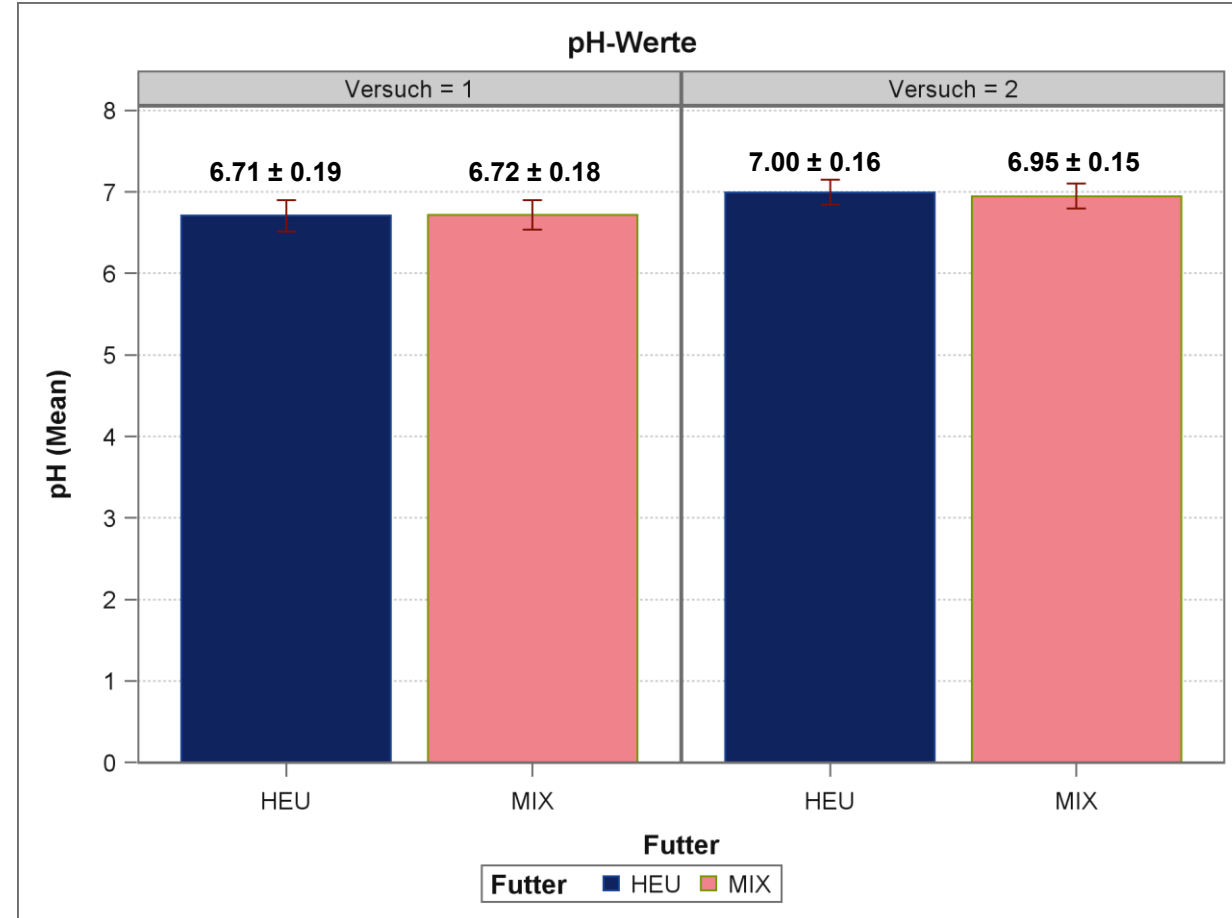
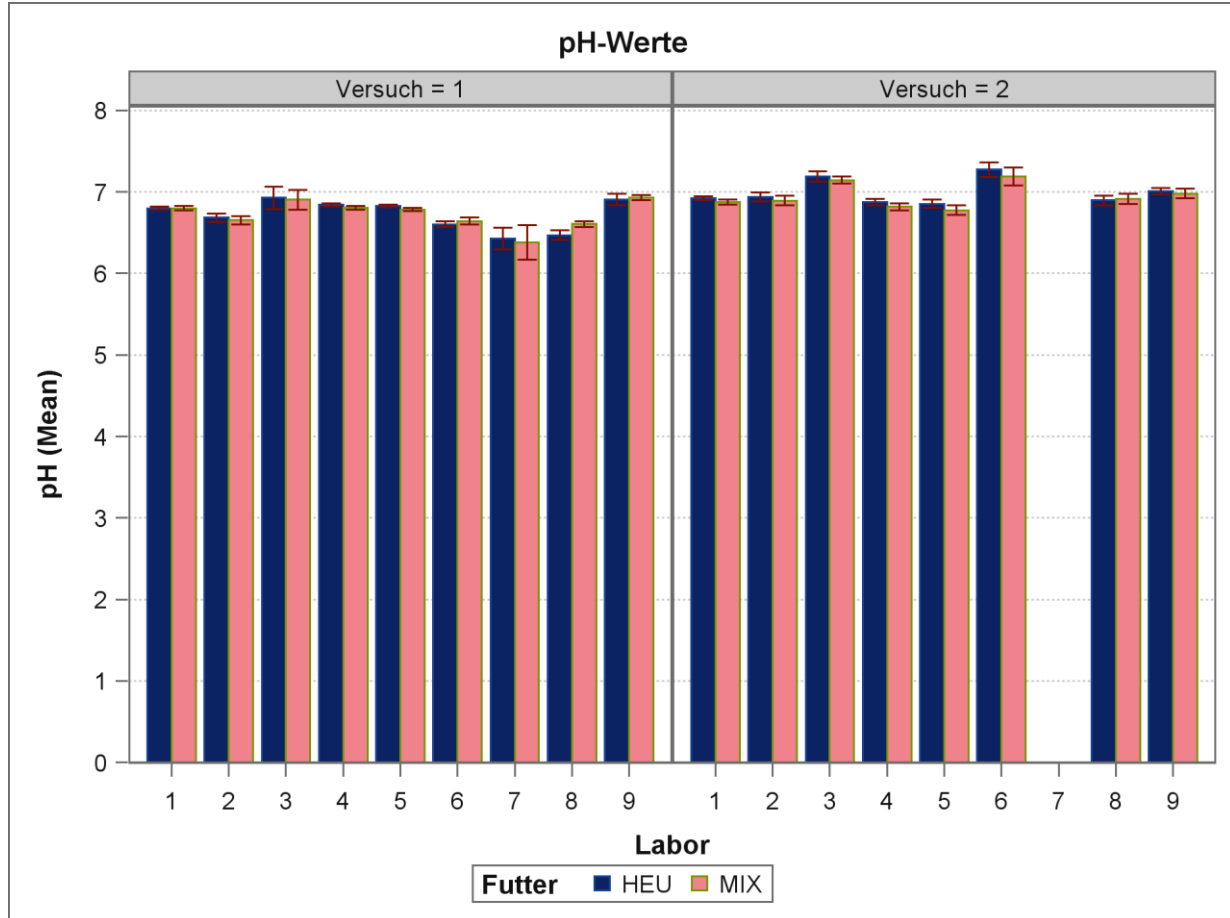
Ration 2: (Mix): 50% Heu + 50% Kraftfutter (auf TS-Basis)

Versuchsrationen

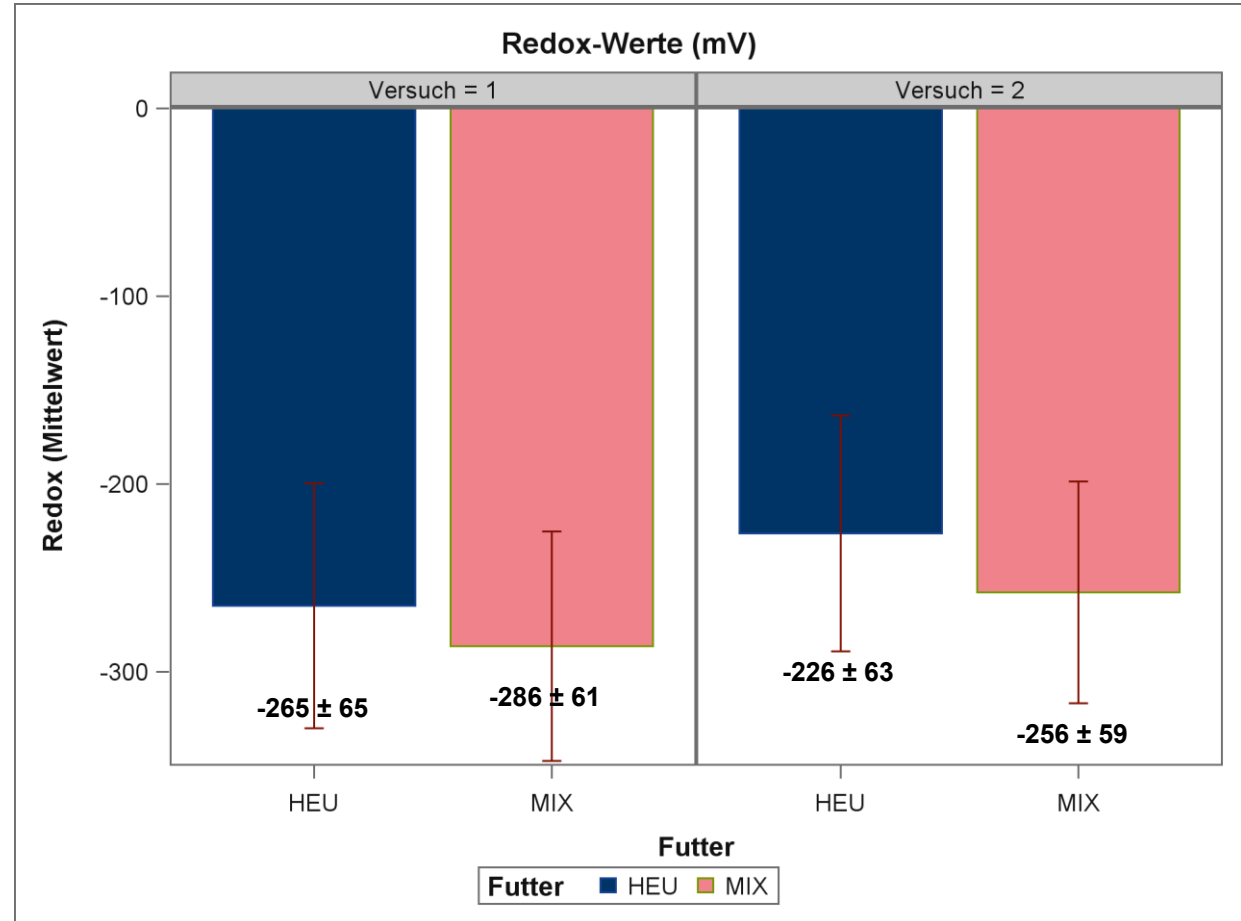
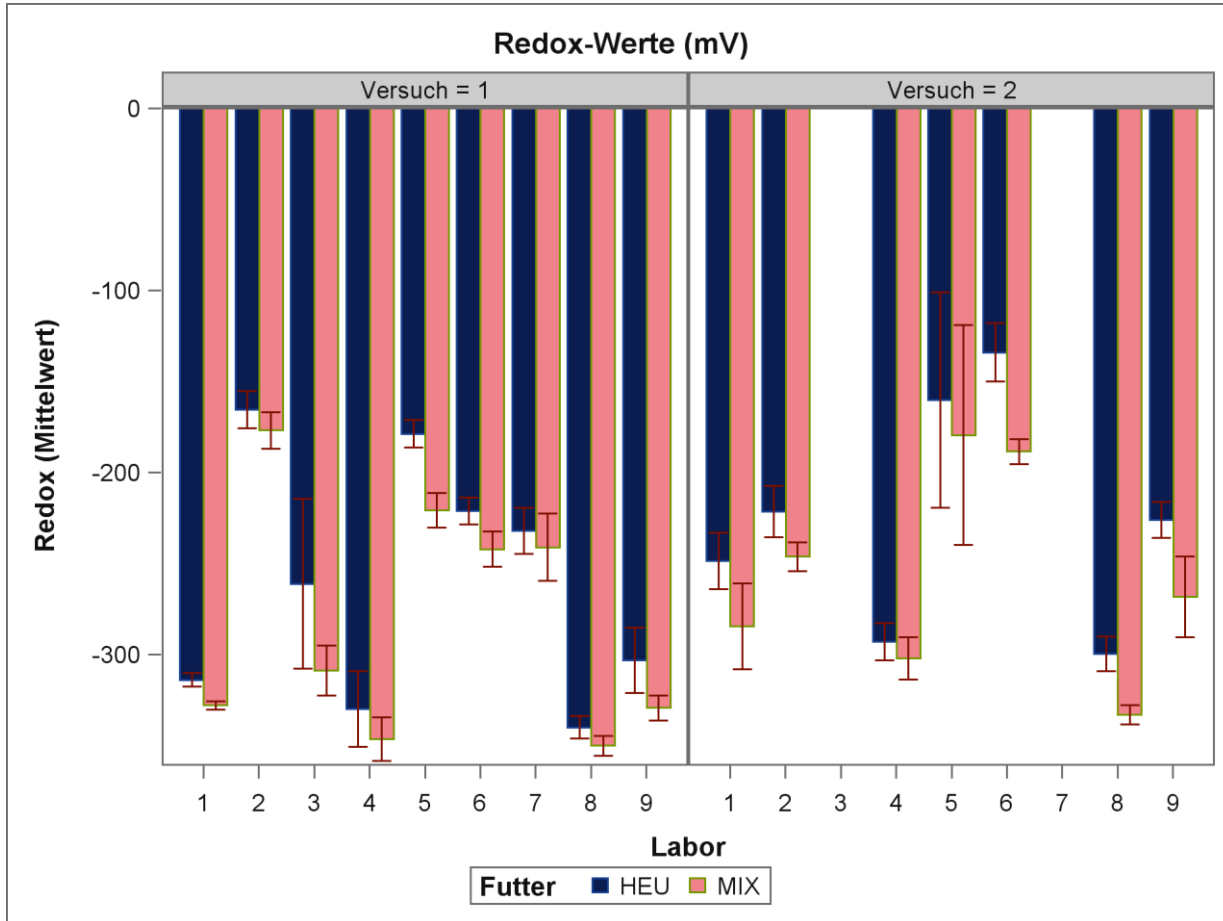
		TM (g/kg)	XA (g/kg TM)	XL (g/kg TM)	XP (g/kg TM)	ADFom (g/kg TM)	NDFom (g/kg TM)	XF (g/kg TM)
Versuch 1	HEU	897	61	23	137	324	589	294
	MIX	891	63	27	177	216	399	188
Versuch II	HEU	921	68	16	133	360	614	331
	MIX	923	66	22	166	234	469	196

Ergebnisse

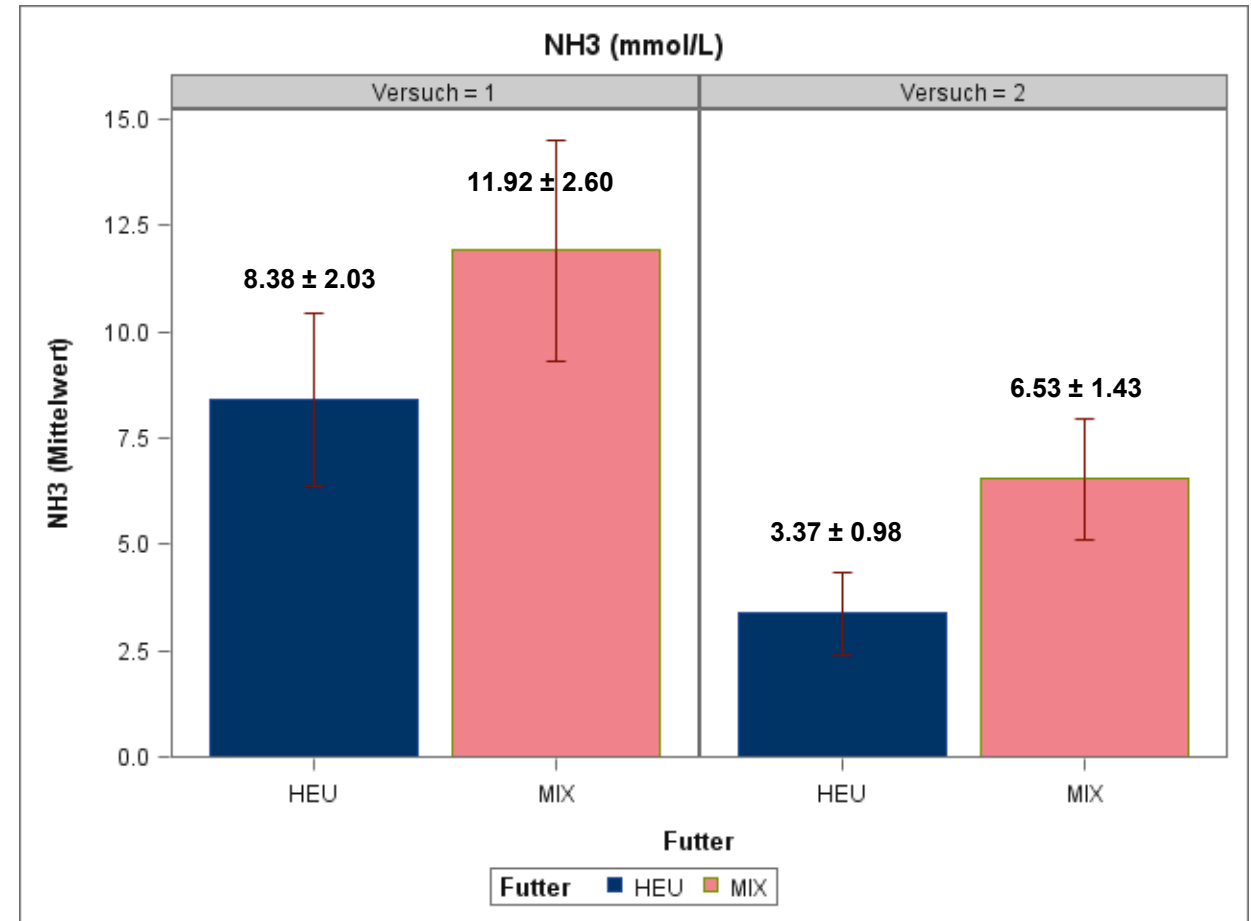
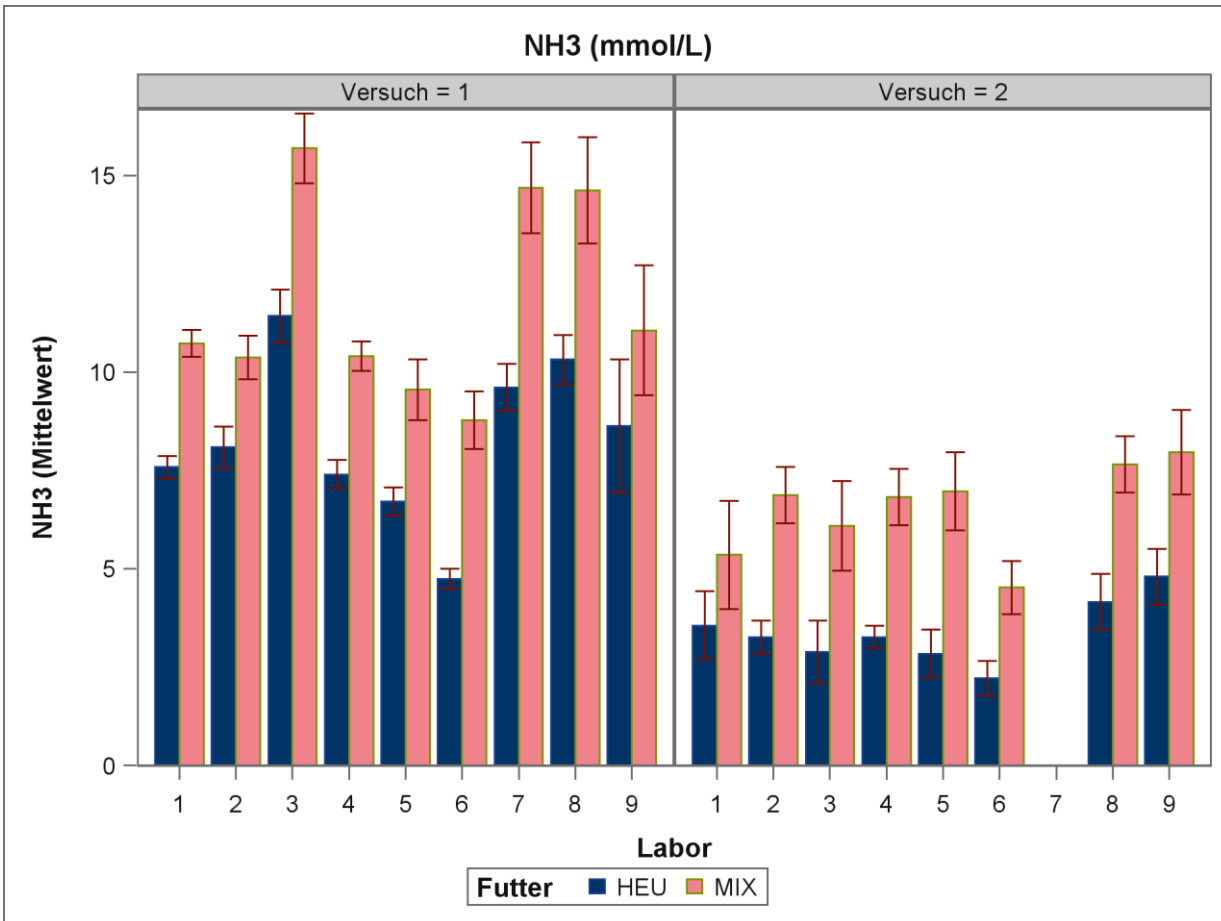
pH-Wert



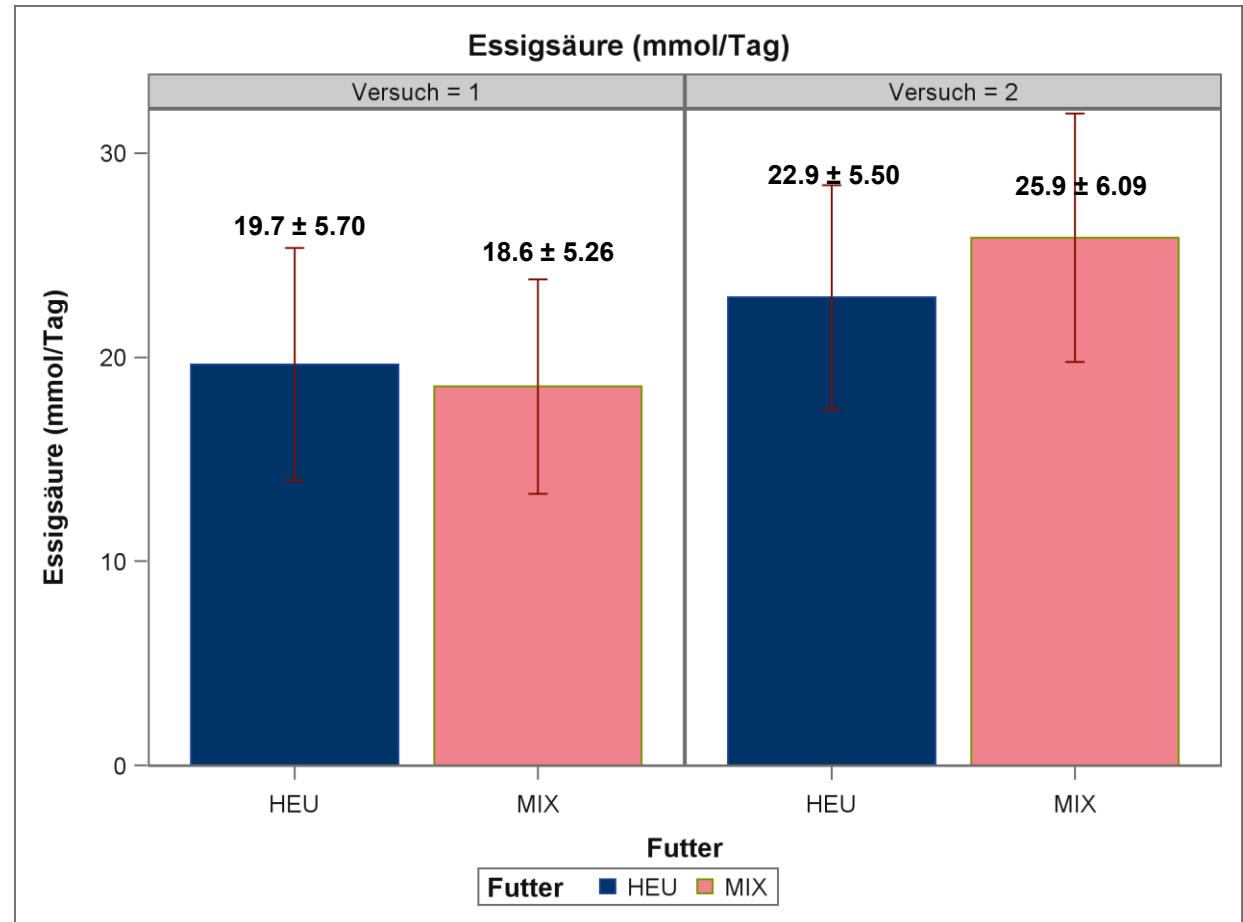
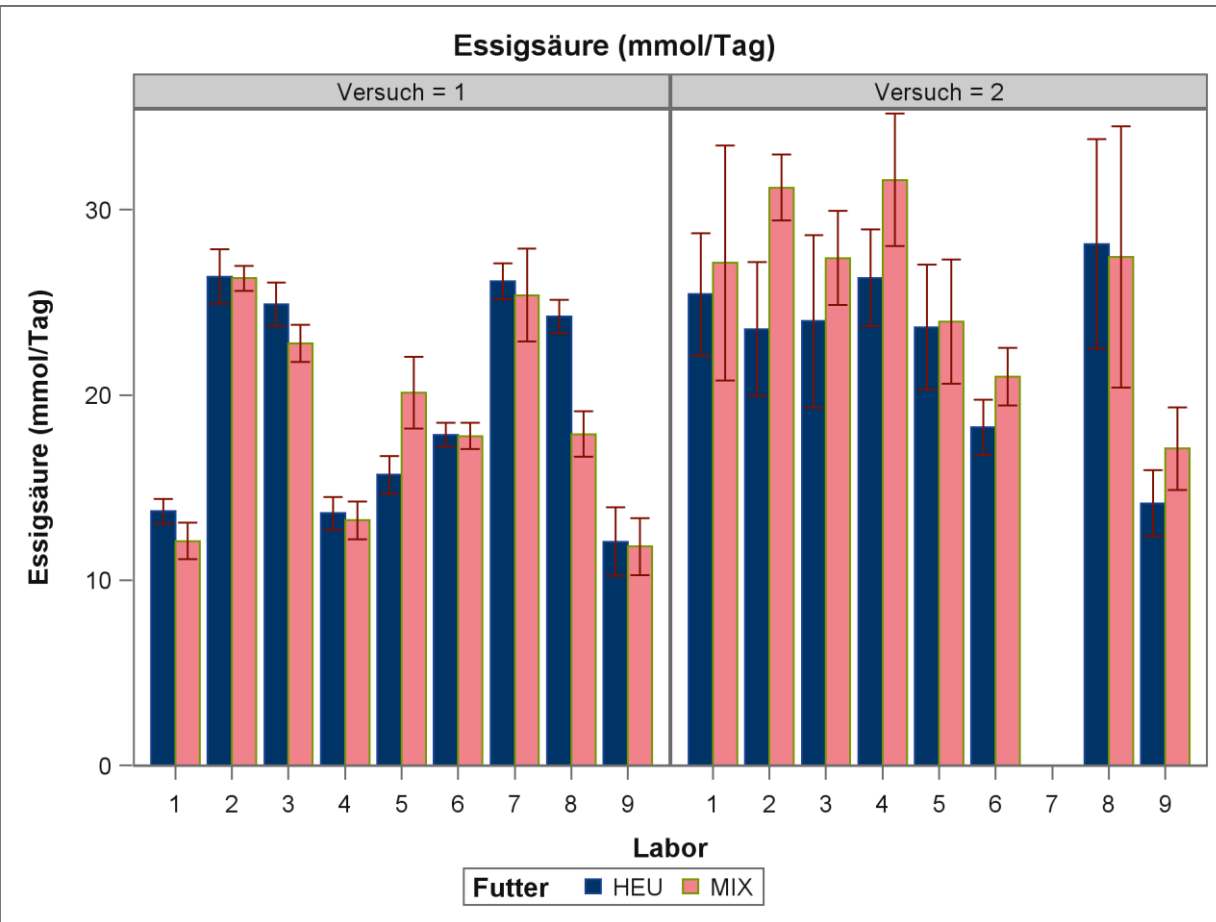
Redox-Werte (mV)



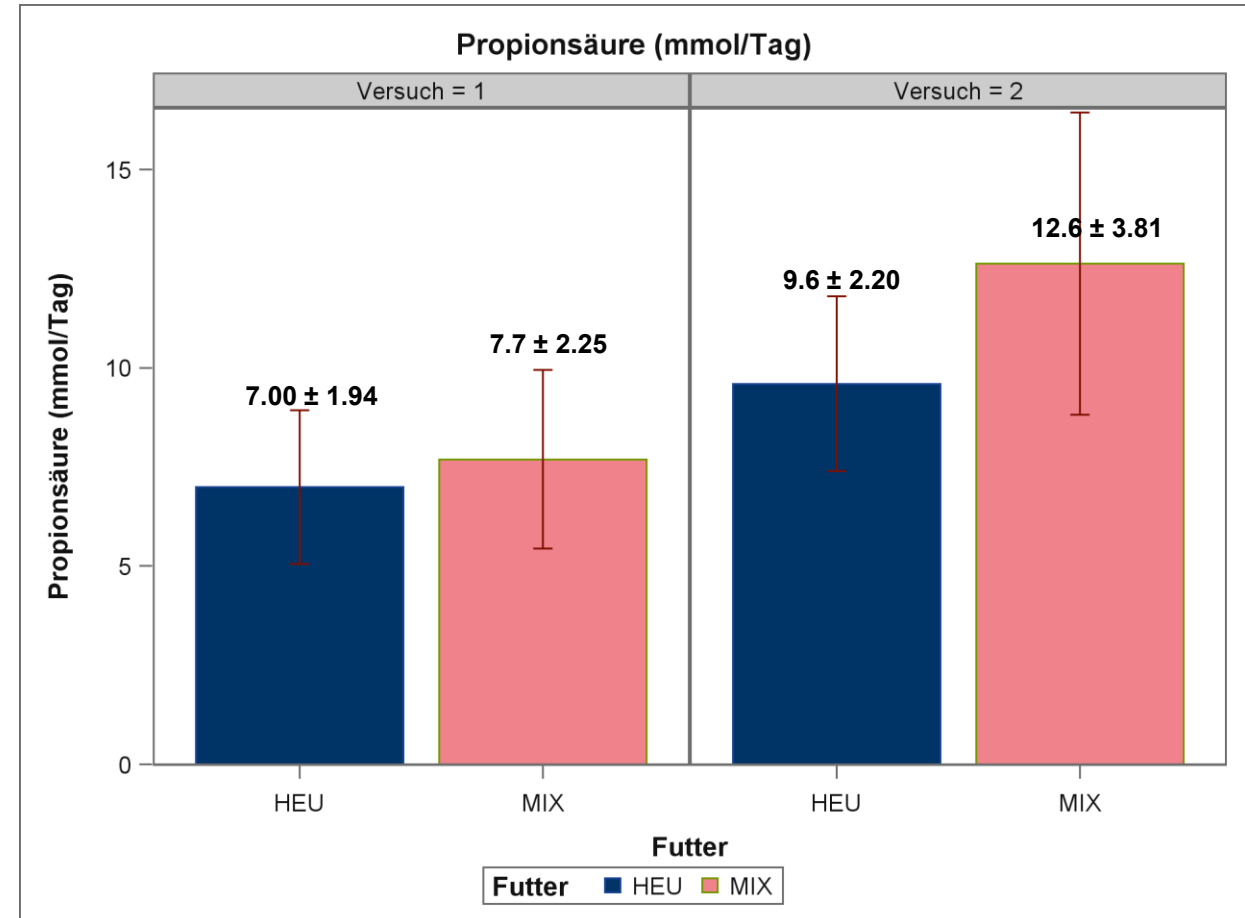
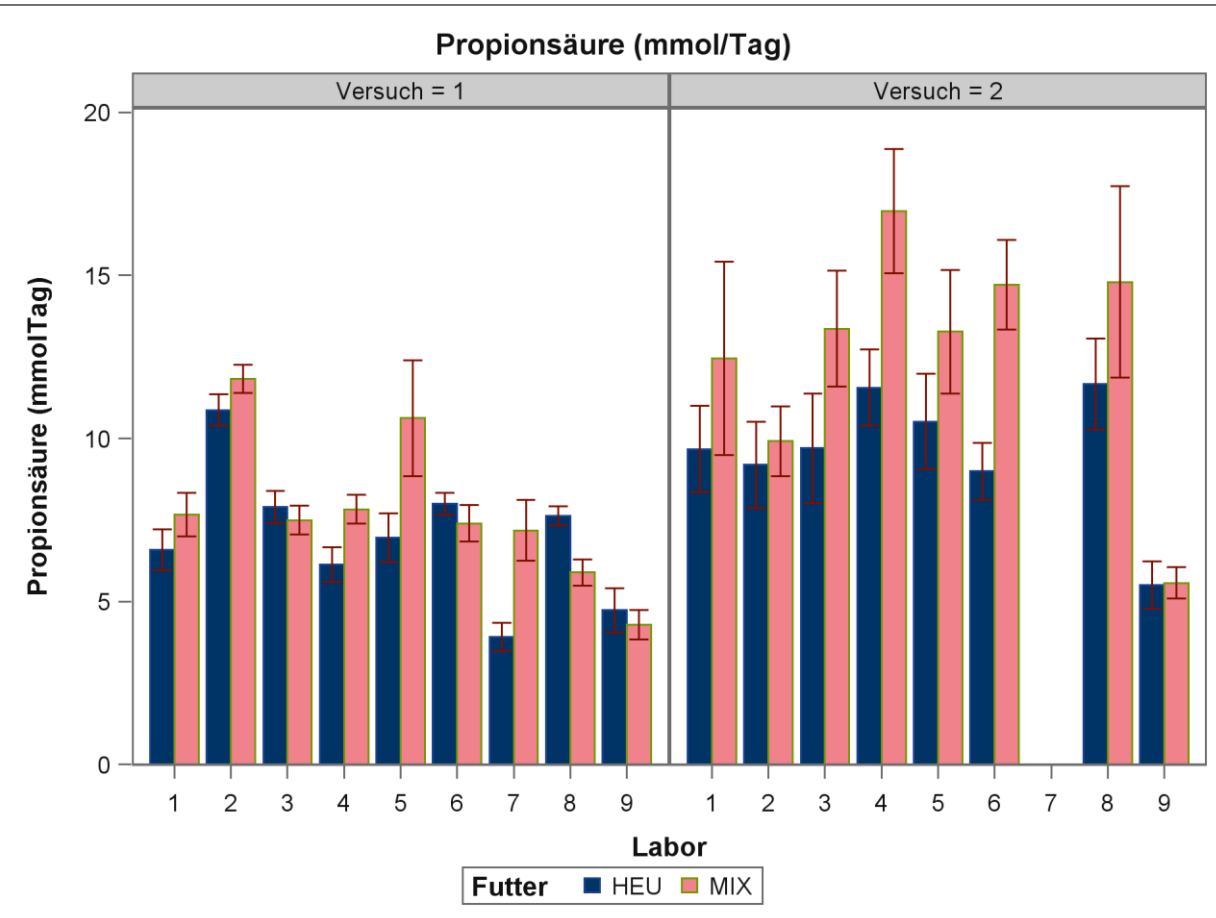
NH₃ (mmol/L)



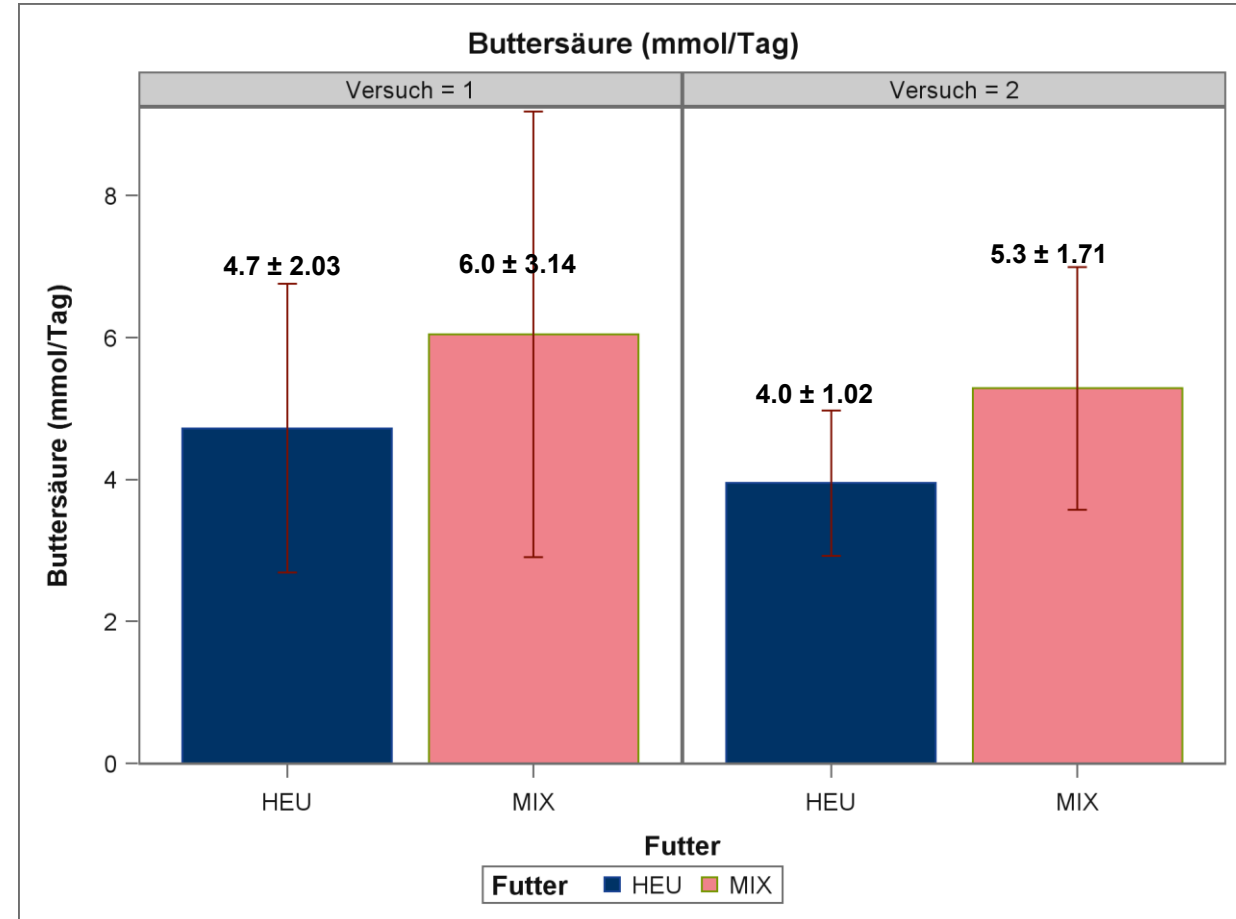
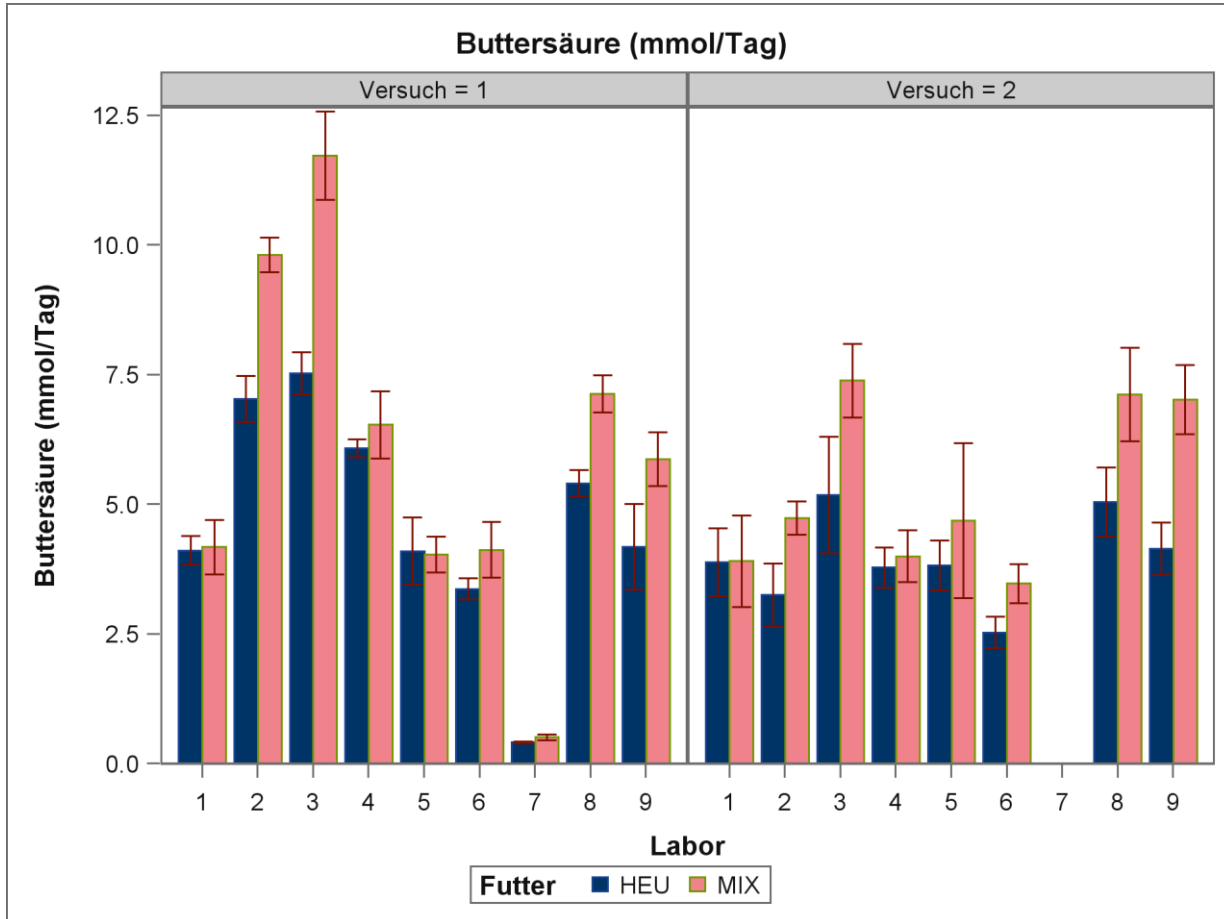
Essigsäure (mmol/Tag)



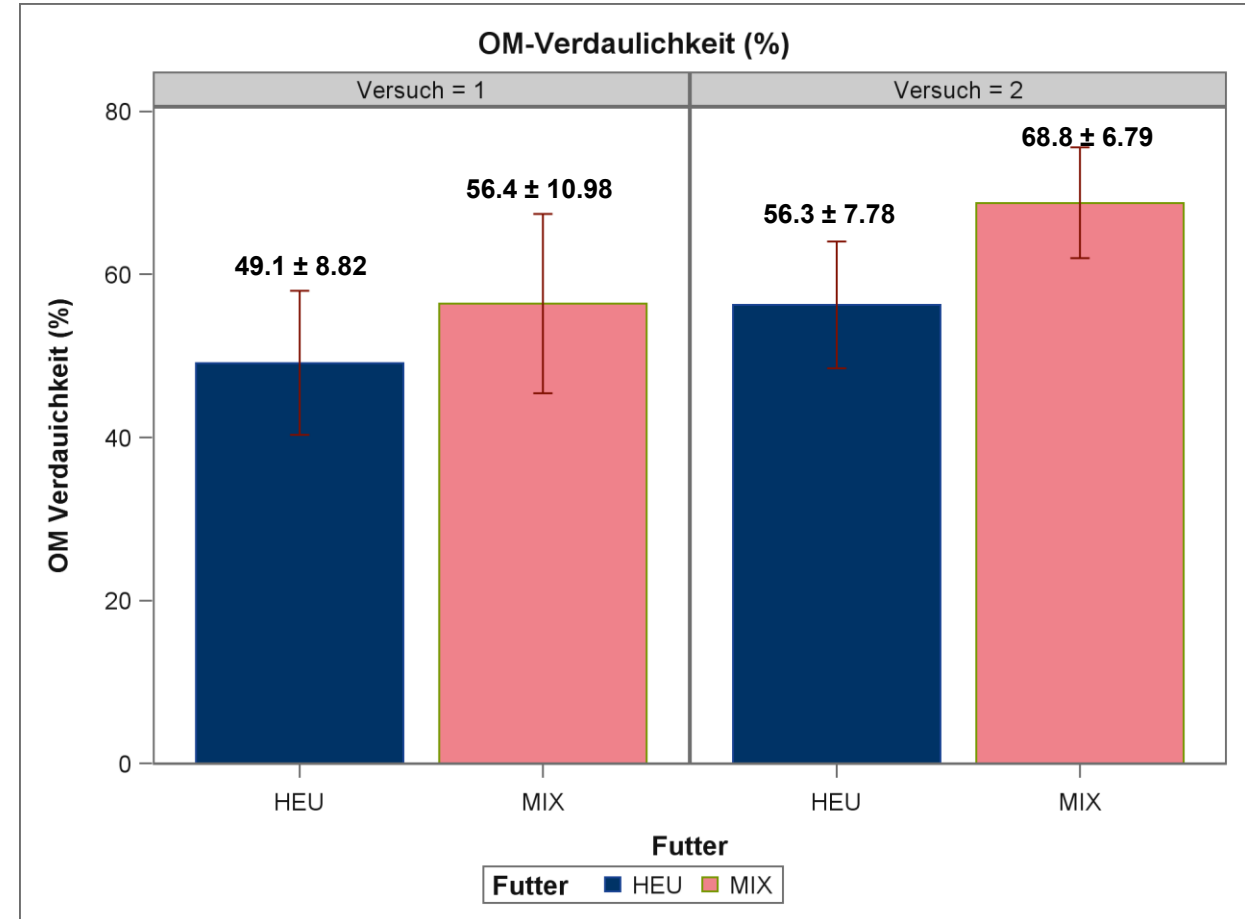
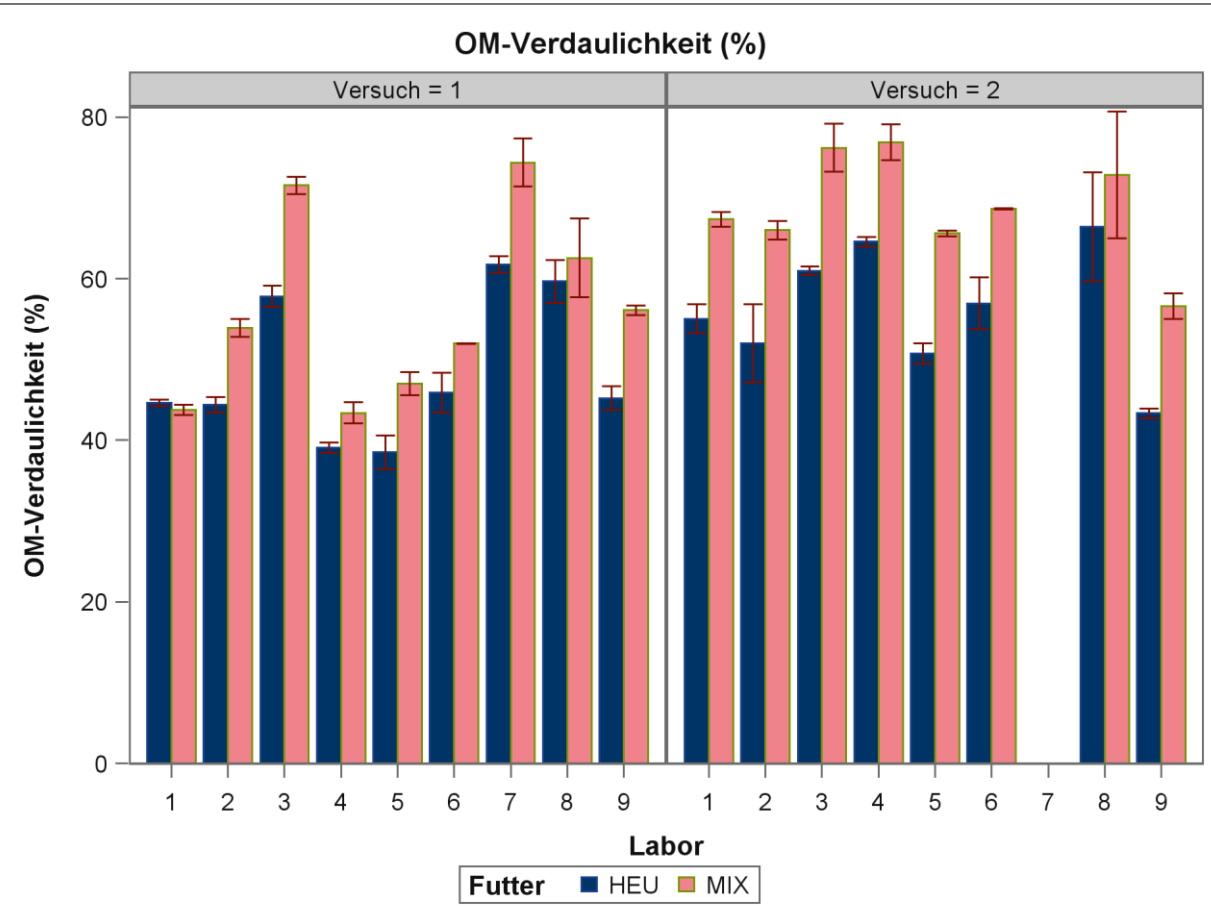
Propionsäure (mmol/Tag)



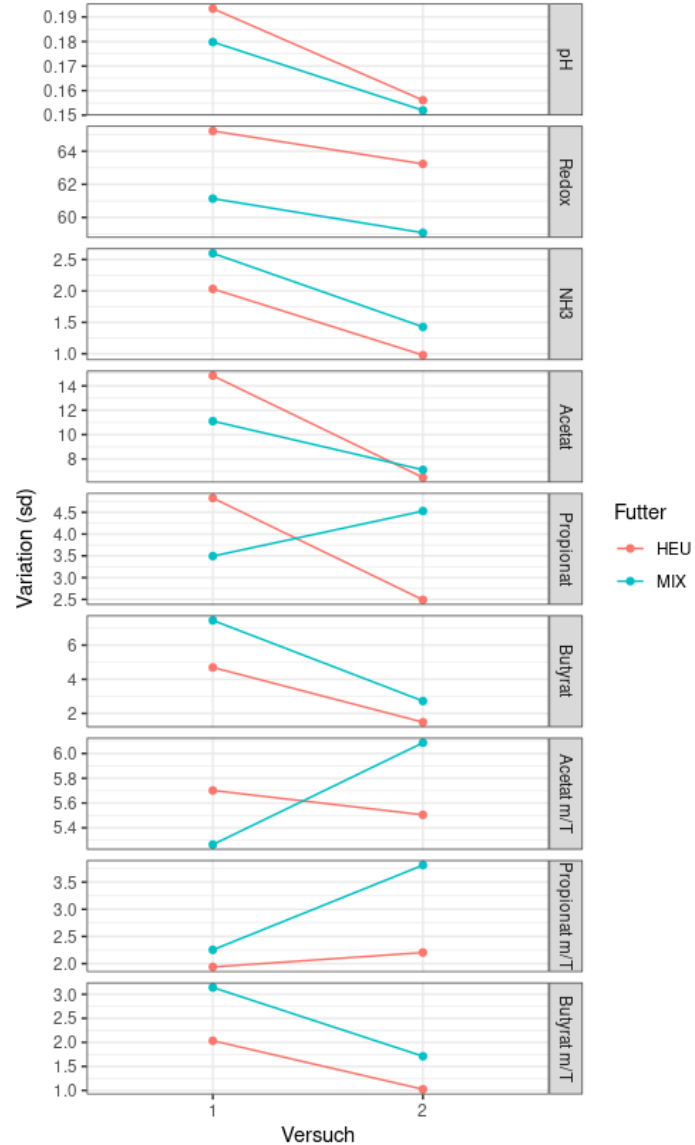
Buttersäure (mmol/Tag)



OM-Verdaulichkeit



Statistik - Fermentationsparameter



Die Variation (standard deviation) ist für alle Fermentationsparameter im 2. Versuch geringer

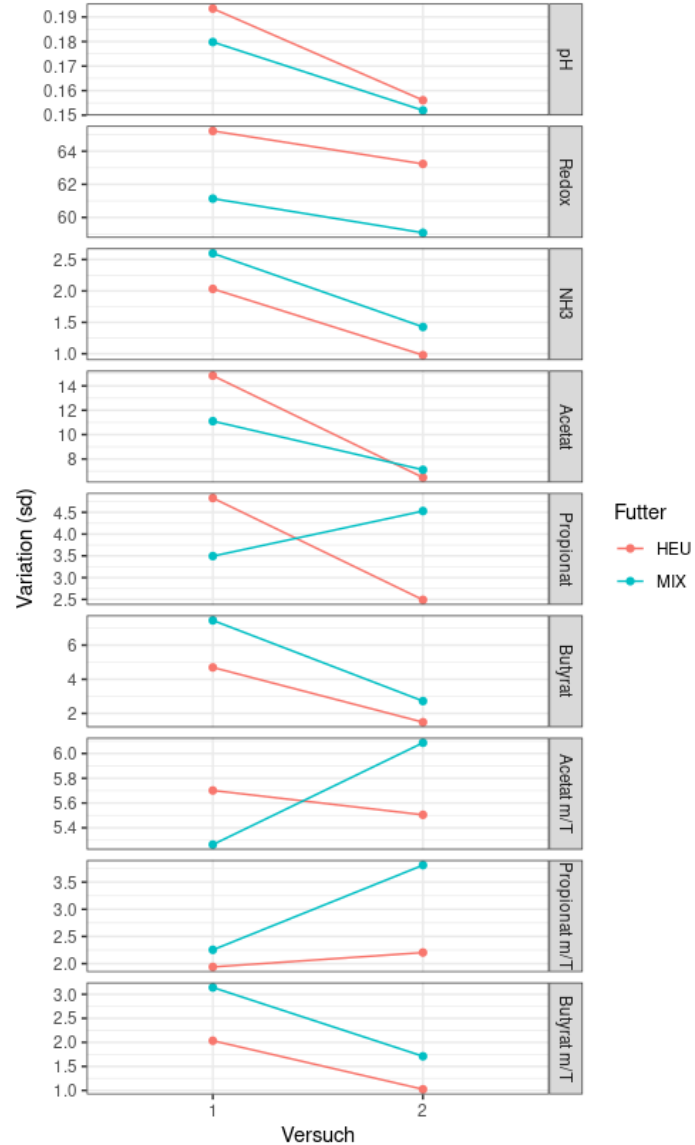
Ausnahmen:

- Propionat Futtermix
- Acetat mmol/Tag Futtermix
- Propionat mmol/Tag Heu und Mix

Über alle Fermentationsparameter und beide Futterarten ist die Variation der Parameter in Versuch 2 um 14,1 % geringer als in Versuch 1

Wilcoxon paired signed rank test
 $V = 144, p < 0.001$

Statistik - Fermentationsparameter



Statistik für die beiden Futterarten einzeln:

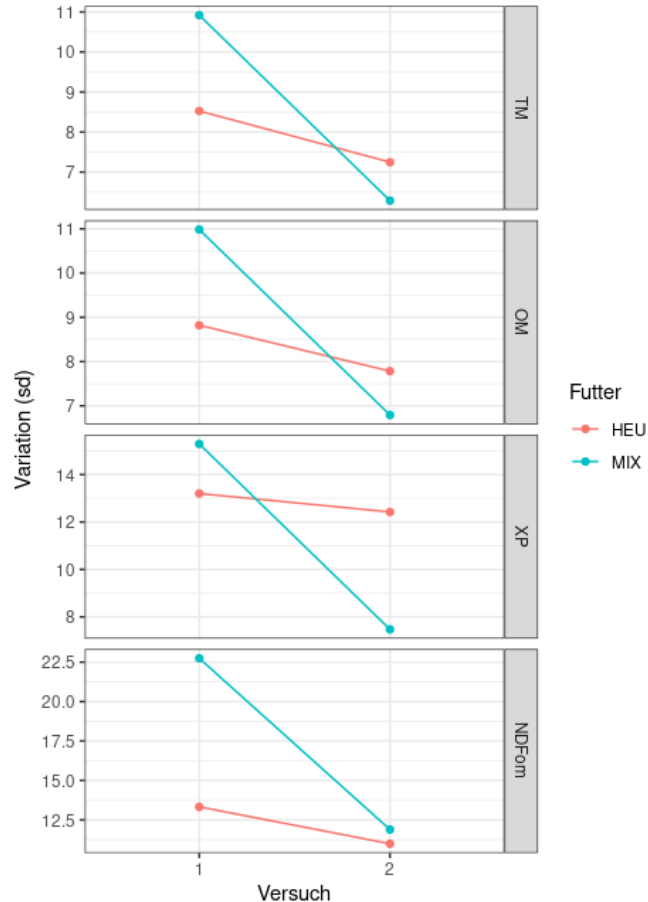
Für Heu ist die Variation im 2. Versuch um 17,7 % geringer als in Versuch 1

Wilcoxon paired signed rank test:
 $V = 42, p = 0.019$

Für Mix Futter ist die Variation im 2. Versuch um 10.3 % geringer als in Versuch 1

Wilcoxon paired signed rank test:
 $V = 34, p = 0.2$

Statistik Verdaulichkeiten



Die Variation (standard deviation) ist für alle Verdaulichkeitsparameter im 2. Versuch geringer

Über alle Verdaulichkeitsparameter und beide Futterarten ist die Variation der Parameter in Versuch 2 um 31.7 % geringer als in Versuch 1

Wilcoxon paired signed rank test:
 $V = 36, p < 0.01$

Für Heu 12.4 % weniger Variation in Versuch 2

Für Mix 45.9 % weniger Variation in Versuch 2

Stichprobengröße zu klein für Test

Rusitec – Ringversuche - Schlussfolgerungen

- Versuchsergebnisse der teilnehmenden Gruppen in Übereinstimmung mit Literaturdaten
- Höhere Variabilität der Versuchsergebnisse bei individueller Versuchsdurchführung
- Fütterung und Mikrobiom der Spendertiere als Varianzfaktor bei einheitlicher Versuchsdurchführung ?
- Bedeutung der zentralisierten Analytik für die Varianz der Ergebnisse?



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Mögliche Vereinheitlichung der Versuchsbedingungen

- Identische Entnahme aus den Spendertieren (pH, redox, NH_3 , SCFA)
- Identische Pufferlösung und Durchflussrate
- Identische Befüllung der Fermenter mit Pansenflüssigkeit
- Gleiche Porengröße und Substrateinwaage
- “Zentralisierte” Analytik (SCFA, Verdaulichkeit, Fermentationsgase)

Ausgangsbedingungen Rusitec-System

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Material Fermenter	Kunststoff	Glas	Glas	Glas	Kunststoff	Plexiglas	?	Plexiglas	Plexiglas
Fermenter-volumen max. (ml)	800	1100	1000	950	1000	1100	650	800	800
Tatsächliches Volumen befüllt (ml)	620	800	1000	950	800	1100	650	800	700
Nylon-säckchen (BxL in cm)	6,75 × 12	8 × 14	7 × 14	5 × 10	5 × 12	6,75 × 12	10 × 20	6 × 14	7 × 14
Porengröße (µm)	50	1000	100	100	100	50	50	1000	100
Futtermenge (g TS (% des Volumens))	10 (1,6)	16 (2)	13 (1,3)	14 (1,5)	15 (1,9)	10-12 (1,1)	10 (1,5)	11 (1,4)	12 (1,7)
Menge fester Panseninhalt Tag 0 (g)	70	70	20-25	60	60	80	80	80	70
Pufferfluss (ml/24 h)	620	550	450	713	600	480	650	406	357
% des Volumens	100	62,5	45	75	75	44	100	51	51
Versuchstage	17	10	10	13	10	10	12	10	10

Ausgangsbedingungen Puffer

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>mmol/L</i>									
NaHCO ₃	97,9	116,5	116,5	117,5	116,5	77,73	98	117,73	116,5
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	10						10		
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	10	25,97		26,20		17,31	10	25,97	
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O			26,27		26,27				26,27
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0,63	0,63	0,63	0,63	0,63	0,41	0,63	0,63	0,63
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0,22	0,34	0,37	0,22	0,37	0,24	0,22	0,37	0,37
KCl	7,69	7,64	7,64	7,64	7,64	10,19	7,7	7,64	7,64
NaCl	28	8,01	8,04	8,01	8,04	5,3	28	8,04	8,04
NH ₄ Cl	5						5		
HCl	0,5 (1 N HCL)						14		
C ₂ H ₆ O							17,1		
NA ₂ SO ₃ (5,58%ig)						15,87			
CO-Acetat (6,3 %ig):						1,13			
Pufferfluss (ml/24 h)	620	550	450	713	600	480	650	406	357
% des Volumens	100	62,5	45	75	75	44	100	51	51