



Validation d'un outil non invasif pour collecter le contenu de l'intestin grêle chez les porcs en post-sevrage

Inés GARCÍA VIÑADO (1, 2), Federico CORREA (2), Paolo TREVISI (2), Giuseppe Bee (1), Catherine OLLAGNIER (1)

(1) Pig Research Unit, Agroscope, 1725 Posieux, Suisse

(2) Department of Agricultural and Food Sciences (DISTAL), University of Bologna, 40127 Bologna, Italie

catherine.ollaquier@agroscope.admin.ch

Validation d'un outil non invasif pour collecter le contenu de l'intestin grêle chez les porcs en post-sevrage

Jusqu'à présent, les échantillons de selles étaient le seul moyen non invasif d'étudier le microbiome digestif, mais le microbiome intestinal diffère du microbiome fécal. Capsule for Sampling (CapSa) est une capsule ingérable transitant par le tractus digestif pour collecter le contenu de l'intestin grêle avant d'être excrétée avec les fèces. Dans cette étude, 14 porcs de race Grand Porc Blanc Suisse de moins de 12 kg (Catégorie XS) et 12 porcs de 12 à 20 kg (Catégorie S) ont reçu deux capsules chacun et ont été suivis pendant 3 jours, puis euthanasiés pour des prélèvements post-mortem. Toutes les CapSa ont pu être administrées aux cochons de la catégorie S, avec seulement 89,3 % de réussite dans la catégorie XS, et 97,7 % des capsules retrouvées dans l'estomac post-mortem. Dans la catégorie S, 63,4 % des capsules ont été récupérées dans les fèces dans les 48 heures. Au total, 68,75 % des capsules excrétées dans les 48 heures avaient un pH > 5,5 et ont été soumises à une analyse microbiome. La composition bactérienne des capsules a été comparée à celle des trois segments de l'intestin grêle, du gros intestin et des fèces du porc correspondant. Les résultats ont été analysés via un modèle PERMANOVA (Adonis) incluant le type d'échantillon comme facteur, avec des comparaisons deux à deux. La composition bactérienne des capsules était différente de celle du gros intestin et des fèces ($P < 0,01$), tandis qu'elle ne différait pas de celle du premier et deuxième segment de l'intestin grêle ($P > 0,05$). Cette étude démontre que CapSa échantillonne le microbiote intestinal de la partie supérieure de l'intestin grêle.

Validation of a non-invasive tool for collecting the contents of the small intestine in post-weaning pigs

To date, stool samples have been the only non-invasive means of studying the digestive microbiome, but the gut microbiome differs from the faecal microbiome. Capsule for Sampling (CapSa) is an ingestible capsule that passes through the digestive tract to collect the contents of the small intestine before being excreted with the faeces. In this study, 14 Large White Swiss pigs weighing less than 12 kg (Category XS) and 12 pigs weighing between 12 and 20 kg (Category S) each received two capsules and were monitored for 3 days, then euthanised for post-mortem sampling. All the CapSa could be administered to the S category pigs, with only 89.3 % success rate in the XS category, where 97.7% of the capsules were recovered from the post-mortem stomach. In the S category, 63.4 % of the capsules were found in the faeces within 48 hours. A total of 68.75 % of capsules excreted within 48 hours had a pH > 5.5 and were subjected to microbiome analysis. The bacterial composition of the capsules was compared with that of the three segments of the small intestine, the large intestine and the faeces of the corresponding pig. The results were analysed using a PERMANOVA model (Adonis) including sample type as a factor, with pairwise comparisons. The bacterial composition of the capsules differed from that of the large intestine and faeces ($P < 0.01$), while it did not differ from that of the first and second segments of the small intestine ($P > 0.05$). This study demonstrates that CapSa samples the intestinal microbiota of the upper part of the small intestine.

INTRODUCTION

L'inter-connexion entre le microbiote intestinal et la santé du porc n'est plus à démontrer (Schokker *et al.*, 2015 ; Jang *et al.*, 2020). En effet, les micro-organismes intestinaux jouent un rôle fondamental dans de nombreux processus physiologiques, comme l'immunité et la digestion des nutriments (Fouhse *et al.*, 2016 ; Luo *et al.*, 2022). Jusqu'à présent, la majorité des recherches se sont concentrées sur l'étude du microbiote fécal (Maltecca *et al.*, 2020). Cependant, le profil du microbiote fécal est très différent de celui des autres segments du tube digestif, comme celui de l'intestin grêle (Zhao *et al.*, 2015). Ainsi, la composition du microbiote change non seulement selon la localisation dans le tube digestif, mais également avec l'âge du porc (Slifierz *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2020). Spécifiquement, les interactions hôte microbiote jouent un rôle clef au sein de l'intestin grêle, autant pour la digestion des nutriments que pour la programmation de l'immunité (Duarte, Kim, 2022). Pour bien comprendre l'interaction hôte-microbiote, il est essentiel d'étudier l'évolution spatiotemporelle du microbiote intestinal. Pour cela, la localisation de l'échantillonnage et la possibilité de le répéter sur le même individu sont des points cruciaux.

Il existe différentes méthodes d'échantillonnage du microbiote. L'échantillonnage post-mortem permet d'accéder à tous les segments du tube digestif, mais il est, par définition, très invasif et ne peut être répété qu'une seule fois sur le même individu. L'échantillonnage fécal est, à l'inverse, non-invasif, peut être répété plusieurs fois sur le même individu, mais ne représente que le microbiote fécal (Choudhury *et al.*, 2019). Entre les deux, l'endoscopie permet de prélever des échantillons du contenu intestinal ou de faire plusieurs biopsies sur le même individu, mais ne peut être pratiquée que sous anesthésie générale. Enfin, certaines études ont eu recours à des animaux canulés, afin de pouvoir effectuer des prélèvements répétés du contenu de l'intestin grêle. Pour des raisons éthiques et pratiques, ces deux dernières méthodes ne sont pas toujours aisément réalisables. Tang *et al.* (2020) ont souligné l'importance de découvrir des nouvelles méthodes d'échantillonnage permettant de prélever le contenu intestinal de manière répétée et sans être invasif. Dans cette quête, la clef du succès se trouve dans l'utilisation des voies digestives comme portes d'entrée et de sortie naturelles pour accéder au contenu digestif.

Récemment, de nouveaux dispositifs médicaux ingérables ont permis de prélever et d'étudier le microbiote intestinal chez l'homme (Rezaei Nejad *et al.*, 2019 ; Folz *et al.*, 2023 ; Shalon *et al.*, 2023), en transitant simplement par les voies digestives.

L'objectif de cette étude est de valider un nouveau prototype de capsule permettant d'échantillonner le microbiote intestinal de manière non invasive chez le porc.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Déclaration d'éthique

Toutes les procédures expérimentales ont été approuvées par l'Office vétérinaire cantonal de Fribourg (Suisse), sous le numéro de référence 2021-39-FR. Cette étude a été réalisée dans la porcherie de la station de recherche Agroscope - Posieux (Suisse).

1.2. Conception de l'étude

Au total, 26 porcs de race Grand Porc Blanc suisse de 6,4 à 20,0 kg de poids corporel ont été sélectionnés, dont 14 pesant moins de 12 kg (catégorie XS) et 12 pesant entre 12 et 20 kg (catégorie S) (Tableau 1). Chaque porc a reçu par intubation œsophagienne deux capsules le jour 0 (j0). Les capsules ont ensuite été recherchées dans les fèces dans les 3 jours après administration. Après 3 jours (j3), tous les porcs ont été euthanasiés, et l'ensemble de leur tractus digestif a été inspecté pour rechercher les capsules qui n'avaient pas été trouvées dans les fèces. Ensuite, des prélèvements du contenu digestif ont été réalisés dans les différents segments du tractus digestif.

Tableau 1 – Caractéristiques des porcs inclus dans l'étude

Catégorie de poids	N=	Pds ± SD (kg)	%M	%F
XS (< 12 kg)	14	8,3 ± 1,6	50,0	50,0
S (≥12-20 kg)	12	14,4 ± 2,6	58,3	41,7

Pds = poids (kg) ; SD = Déviation Standard ; M = Mâles castrés ; F = Femelles

1.3. Description de la capsule (CapSa)

La capsule étudiée mesure 21,7 mm de long avec un diamètre de 7 mm, ce qui correspond à une capsule rigide de taille 0. La capsule s'ouvre, collecte l'échantillon et se ferme en fonction des propriétés physico-chimiques de l'environnement dans lequel elle se situe. Son déplacement le long du tube digestif est uniquement passif et sa vitesse de transit dépend entièrement du péristaltisme intestinal. La capsule peut collecter un maximum de 400 µL. La capsule a été conçue pour effectuer le processus suivant : après avoir été avalée, la capsule passe l'estomac, s'ouvre, collecte l'échantillon et se referme dans l'intestin grêle, puis transite le long du gros intestin avant d'être éliminée avec les fèces. Les résultats in vitro montrent que la capsule peut résister deux heures dans un milieu acido-aqueux (pH < 3), puis collecter l'échantillon dans l'heure suivant son transfert dans un milieu aqueux à pH = 7 (García-Viñado *et al.*, 2022).

1.4. Préparation des animaux et administration de la capsule

Les porcs ont été hébergés par quatre dans des cases spécialement aménagées pour la collection des capsules. Les cases étaient modifiées pour avoir une surface de caillebottis réduite avec des ajouements de taille inférieure au diamètre de la capsule. Ainsi les recherches de capsules ont pu être effectuées en tamisant les fèces avec de l'eau sur la surface de caillebottis.

L'aliment a été formulé selon les besoins calculés sur la base des recommandations d'Agroscope (Agroscope, 2005). L'eau était disponible *ad libitum* et distribuée par des pipettes.

Deux jours avant l'administration, plusieurs mesures ont été mises en place pour diminuer l'encombrement du tractus digestif et réduire le temps de transit. Les animaux ont été nourris avec de la soupe (1 kg d'aliment pour 2 L d'eau) et la paille a été retirée des cases. De plus, les animaux n'ont eu accès qu'à la moitié de leur ration à j-1, et l'aliment a été retiré dans les 12 heures avant administration de la capsule.

Afin d'augmenter la vidange gastrique et ainsi faciliter le transit de la capsule à travers l'estomac, du prucalopride a été administré oralement à la dose de 0,16 ± 0,015 mg/kg poids corporel (Resolor®, Takeda Pharma AG, Glattpark, Suisse), 40 minutes avant administration de la capsule. Le prucalopride est un agoniste sérotoninergique 5-HT₄, qui stimule le péristaltisme

gastro-intestinal et augmente ainsi la vidange gastrique (Briejer *et al.*, 2001; De Ponti, 2004; De Maeyer *et al.*, 2008; Camilleri, Atieh, 2021)

Les capsules (n=2/porc) ont été administrées par sondage oesophagien, alors que les porcs étaient maintenus dans un hamac adapté à leur poids. Un bolus de 10 mL de jus d'orange a ensuite été administré pour pousser la capsule dans l'estomac.

1.5. Récupération des capsules et traitement de l'échantillon

De j0 à j3, les cases ont été inspectées cinq fois par jour pour chercher les capsules expulsées dans les fèces.

Après récupération, les capsules ont été directement transportées au laboratoire. L'extérieur des capsules a été nettoyé avec de l'alcool à 70 % afin d'éviter toute contamination lors de l'ouverture. Le contenu a ensuite été extrait à l'aide d'une micropipette pour mesurer son volume, puis transféré dans un Eppendorf de 0,5 mL (Eppendorf SE, Hambourg, Allemagne). Ce dernier a été plongé dans l'azote liquide puis conservé à -80°C jusqu'à analyse. Le pH du contenu a été mesuré à l'aide de papier Litmus (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne) en nettoyant l'intérieur de la capsule après extraction du contenu.

1.6. Prélèvements post-mortem

Trois jours après administration de la capsule, tous les porcs ont été euthanasiés par électronarcose et saignés. Le tractus gastro-intestinal a été extrait et déroulé. L'intestin grêle a été divisé en trois segments de taille équivalente. Des échantillons des trois segments de l'intestin grêle, du contenu du gros intestin et des fèces ont été collectés dans des Eppendorf stériles de 2 mL (Eppendorf SE, Hambourg, Allemagne). Les Eppendorfs ont été directement plongés dans l'azote liquide et conservés à -80 °C jusqu'à analyse. Ensuite, l'ensemble du tractus digestif a été inspecté pour rechercher les capsules qui n'avaient pas encore été retrouvées jusque-là.

1.7. Analyse du microbiote

Seuls les échantillons des capsules dont le pH était supérieur à 5,5 et qui avaient été récupérés avant 48 h post administration ont été envoyés pour l'analyse du microbiome.

L'ADN bactérien a été extrait à l'aide du kit HostZERO Microbial DNA Kit (Zymo Research, Californie, États-Unis) en suivant les instructions du fabricant. La concentration et la pureté de l'ADN (rapport d'absorbance 260/280 et 260/230, respectivement) ont été vérifiées par spectrophotométrie sur NanoDrop (Fisher Scientific, 13 Schwerte, Allemagne). La région V3-V4 du gène de l'ARNr 16S (~ 460 pb) a été amplifiée par PCR en utilisant la Platinum™ Taq DNA Polymerase High Fidelity (Termo Fisher Scientific, Italie). Les amplicons ont été ensuite séquencés par Illumina MiSeq 300 × 2 pb avec le kit de réactifs MiSeq® V3-V4 sur la plateforme MiSeq-Illumina®. L'analyse du microbiote a été réalisée avec le pipeline DADA2 (Callahan *et al.*, 2016) selon la taxonomie de la base de données Silva, version 138 (Quast *et al.*, 2013).

1.8. Analyse statistique

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées sous R (version 4.3.1, R core Team, 2022). Le pourcentage de capsules récupérées par catégorie de poids dans les fèces, dans l'estomac ou non trouvées a été calculé par rapport au nombre

total de capsules administrées dans cette catégorie de poids. Les pourcentages ont été analysés à l'aide d'une régression linéaire avec la catégorie de poids et le sexe comme effets fixes. Le temps de transit de la capsule a été calculé comme le temps écoulé entre l'administration de la gélule et sa récupération dans les fèces. Le pH et le volume de la capsule ont été analysés à l'aide d'une régression linéaire avec la catégorie de poids, le sexe et le temps de transit comme effets fixes. L'interaction entre le sexe et la catégorie de poids a toujours été testée et supprimée si elle n'était pas significative.

L'analyse statistique de la diversité alpha et bêta, ainsi que l'analyse taxonomique a été réalisée à l'aide de "phyloseq" (McMurdie, Holmes, 2013) v1.38, "vegan" v2.6 (Dixon, 2003) et "microbiomeutilities" v1.0.

Pour la diversité bêta, une matrice de dissimilarité utilisant les distances euclidiennes des données transformées en logarithme centré (clr) a été construite et les résultats ont été représentés à l'aide d'un diagramme d'Analyse en Coordonnées Principales (PCoA). Les différences ont été testées à l'aide d'un modèle PERMANOVA (Adonis) avec 9 999 permutations, en incluant le type d'échantillon comme facteur. Les contrastes par paire entre les types d'échantillons ont été réalisés à l'aide de la fonction pairwiseAdonis incluse dans le package "PairwiseAdonis" (Martinez Arbizu, 2020). Les valeurs *P* ont ensuite été ajustées pour les comparaisons multiples à l'aide de la correction de Bonferroni.

Pour toutes les analyses statistiques, une différence a été déclarée significative si la valeur *P* < 0,05 et une tendance a été considérée lorsque 0,05 < *P* < 0,10.

2. RESULTATS

2.1. Administration et récupération des capsules

L'administration des capsules a été possible pour tous les porcs, sauf pour deux porcs de moins de 12 kg pour lesquels l'intubation a été difficile.

La catégorie de poids a fortement impacté (*P* < 0,05) l'endroit où l'on a retrouvé la capsule après son administration. En effet, 97,7 % des capsules ont été retrouvées dans l'estomac chez les porcs de moins de 12 kg, et seulement 2,27 % dans les fèces (Tableau 2). Pour les porcs de 12 à 20 kg, 63,4 % ont été retrouvées dans les fèces et seulement 17,6 % dans l'estomac ; 18,9 % des capsules n'ayant pas été retrouvées chez ces porcs de catégorie S. Le sexe n'a pas eu d'impact sur le devenir de la capsule (*P* > 0,10). Le pourcentage de capsules non trouvées n'était pas affecté par la catégorie de poids.

Tableau 2 – Résultats de la récupération des capsules en fonction de la catégorie de poids

	Catégorie de poids			
	XS ¹	S ²	SEM ³	P ⁴
% moyen ⁵ de capsules trouvées dans les fèces	2,3	63,4	10,71	<0,05
% moyen ⁵ de capsules trouvées dans l'estomac	97,7	17,6	9,31	<0,05
% moyen ⁵ de capsules non trouvées	0,0	18,9	13,60	0,34

¹XS = Porcs < 12 kg ; ²S = Porcs entre 12 et 20 kg ; ³SEM = Erreur standard de la moyenne ; ⁴P = Valeur p de l'effet fixe ; ⁵Les % moyens sont calculés par les modèles linéaires.

La récupération des capsules dans les fèces s'est faite dans les 24 heures dans 62,5 % des cas (Figure 1). Dans la catégorie S,

50% des porcs ont expulsé les deux capsules administrées et seulement 16,7% (2 animaux) n'ont expulsé qu'une capsule sur deux. Le reste des capsules est resté introuvable ou a été récupéré post mortem.

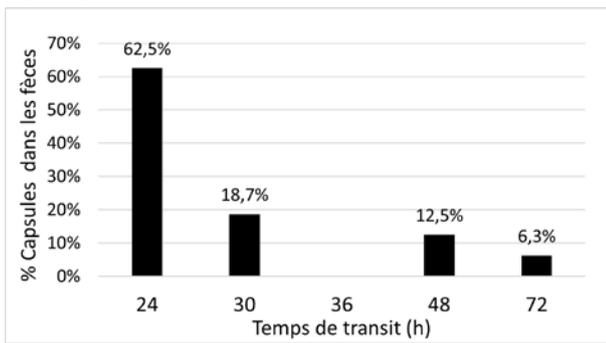


Figure 1 –Temps de transit (heures) des capsules trouvées dans les fèces après administration

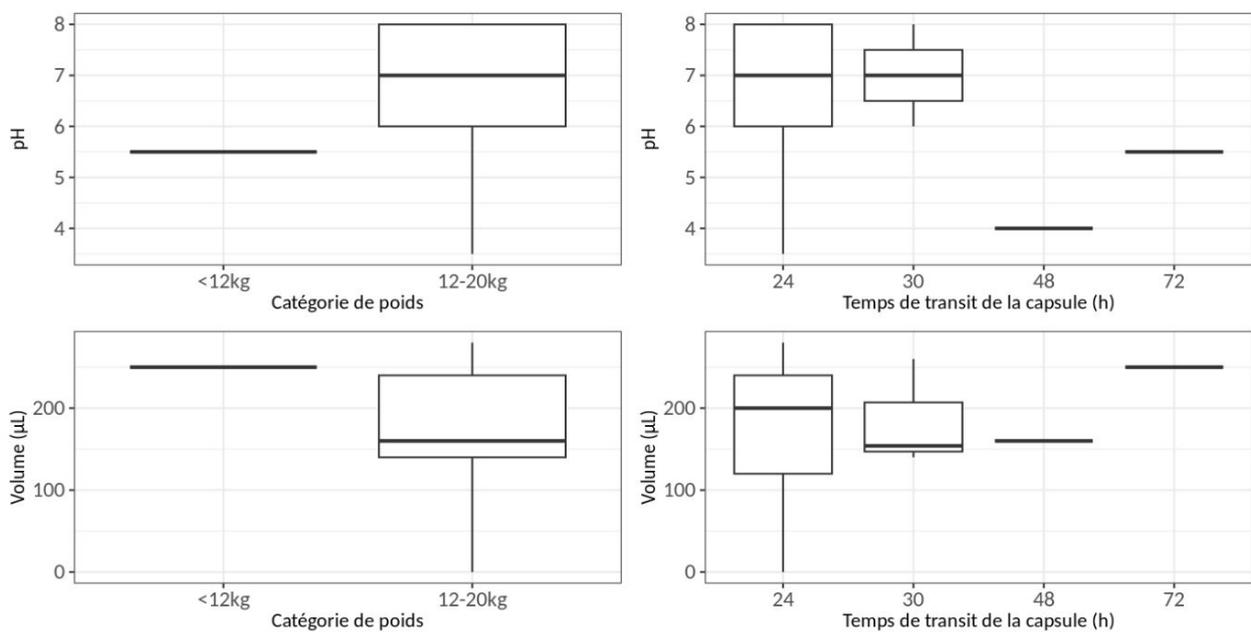


Figure 2 – pH et volume (µL) du contenu de la capsule en fonction du temps de transit (heures) et de la catégorie de poids des porcs.

2.2. Innocuité de la capsule

Tous les porcs sont restés en bonne santé pendant toute la durée de l'étude. Aucun dommage tissulaire lié à l'administration de la capsule et/ou au passage de la capsule n'a été observé macroscopiquement après l'euthanasie. Il n'y a pas eu d'impact sur le score fécal des déjections, ni des diarrhées associées à l'administration de la capsule. Toutes les capsules récupérées le jour de l'euthanasie ont été retrouvées dans l'estomac.

2.3. Analyse de microbiote

Au total, 11 capsules de huit porcs ont été envoyées pour l'analyse du microbiote. L'ADN bactérien a été extrait et amplifié avec succès sur ces 11 échantillons. Par contre, la procédure d'extraction de l'ADN n'a pas permis de produire suffisamment d'ADN pour effectuer le séquençage de l'ADN pour une capsule. L'analyse de la diversité β par PCoA a démontré un regroupement des microbiotes en fonction du

Qualités des capsules récupérées dans les fèces

Parmi les 16 capsules retrouvées dans les fèces, deux étaient cassées et 12 (75 %) avaient un pH > 5,5. Le pH des capsules n'était pas ($P > 0,05$) affecté par la catégorie de poids (Figure 2), mais par le sexe du cochon ($P = 0,048$) et par le temps de transit ($P = 0,038$). En effet, le pH de l'échantillon descend en dessous de six lorsque le temps de transit dépasse 48 heures.

Le volume des échantillons de digesta collectés n'a pas été affecté par la catégorie de poids, le sexe ou le temps de transit ($P > 0,05$).

Les 11 capsules extraites des fèces dans les 48 heures après l'administration et ayant un pH > 5,5 ont été considérées pour l'analyse du microbiote

type d'échantillon (Figure 3). Les microbiotes du gros intestin et des fèces sont regroupés dans un premier cluster, tandis que le microbiote des capsules et des trois segments de l'intestin grêle avaient tendance à en former un deuxième.

Le test Adonis a démontré que l'origine de l'échantillon impactait la composition bactérienne ($P = 0,001$). En outre, des comparaisons deux à deux ont été réalisées pour détecter les différences de composition bactérienne entre le contenu de la capsule, le contenu des trois segments intestinaux, le contenu du gros intestin et les fèces (Tableau 3). D'après ce test, la composition bactérienne des trois segments de l'intestin grêle n'était pas différente. Il n'y avait pas de différence non plus entre la composition bactérienne du gros intestin et celle des fèces.

La composition microbienne du contenu de la capsule était différente de celle des fèces et du gros intestin, mais pas de celle des segments 1 ($P = 0,32$) et 2 ($P = 0,06$) de l'intestin grêle. Elle différait en revanche de celle du segment 3 ($P = 0,01$).

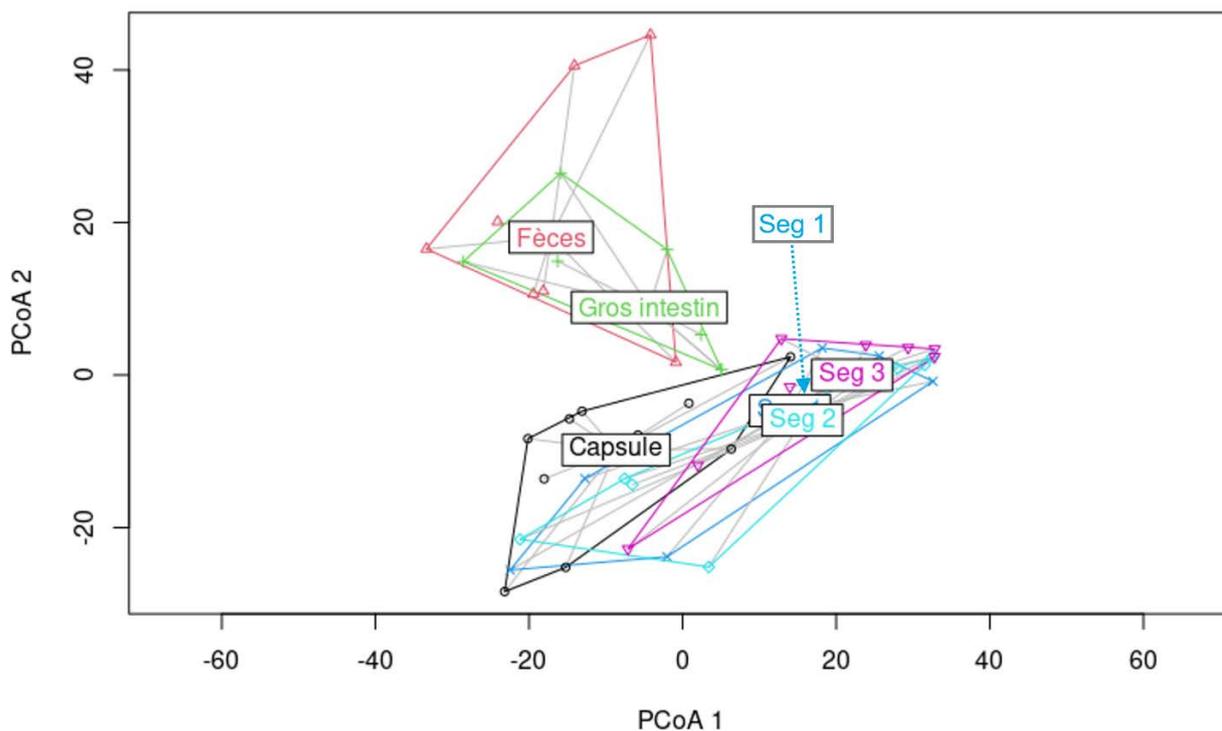


Figure 3 - Diagramme d'Analyse en Coordonnées Principales (PCoA) des matrices de distances euclidiennes des données transformées en logarithme centré (clr). Les Seg 1, 2 et 3 correspondent aux trois segments de l'intestin grêle.

Tableau 3 – Comparaisons des compositions bactériennes du contenu de la capsule, des trois segments de l'intestin grêle (Seg 1, 2 et 3), du gros intestin et des fèces, par test Adonis des distances euclidiennes des données transformées en logarithme centré (clr).

Comparaisons	SumsOfSqs ¹	F.Model ²	r ² ³	P ⁴	P adj ⁵
Capsule vs Fèces	7921,83	3,33	0,14	0,00	0,00
Capsule vs Gros intestin	5007,93	2,56	0,11	0,00	0,00
Capsule vs Segment 3	6514,44	4,51	0,19	0,00	0,01
Capsule vs Segment 1	3623,75	2,06	0,10	0,02	0,32
Capsule vs Segment 2	4464,66	2,65	0,12	0,00	0,06
Fèces vs Gros intestin	3026,24	1,15	0,06	0,23	1,00
Fèces vs Segment 3	9863,60	4,88	0,23	0,00	0,00
Fèces vs Segment 1	8160,77	3,35	0,18	0,00	0,00
Fèces vs Segment 2	8615,03	3,73	0,18	0,00	0,00
Gros intestin vs Segment 3	4902,91	3,23	0,16	0,00	0,01
Gros intestin vs Segment 1	3982,20	2,09	0,12	0,00	0,14
Gros intestin vs Segment 2	4257,28	2,36	0,12	0,00	0,08
Segment 3 vs Segment 1	1280,95	1,02	0,06	0,32	1,00
Segment 3 vs Segment 2	1490,14	1,24	0,07	0,18	1,00
Segment 1 vs Segment 2	972,36	0,62	0,03	0,82	1,00

¹SumsOfSqs = Somme des carrés reflétant la variance totale ; ²F.Model = Valeur du test F ; ³r² = Valeur du carré r, reflète les différences de groupement, plus la valeur est élevée, plus les différences de groupement sont importantes ; ⁴P = Valeur P ; ⁵P adj = Valeurs p ajustées pour les comparaisons multiples à l'aide de la correction de Bonferroni.

3. DISCUSSION

La présente étude a démontré que des capsules administrées par voie orale chez le porc peuvent collecter du contenu ayant un pH > 5,5 puis être retrouvées dans les fèces. Le pH de l'estomac à jeun ne dépassant pas 5,5 (Reynaud *et al.*, 2020), le contenu de ces capsules a donc bien été collecté dans un segment après l'estomac.

De plus, les études *in-vitro* ont montré que la majorité des capsules collectent l'échantillon dans l'heure après avoir été placées dans un milieu aqueux à pH = 7.

Le lieu d'échantillonnage *in-vivo* dépend ainsi de la neutralisation du pH et de la vitesse de transit de la capsule dans l'intestin grêle. Cette vitesse de transit dépend de la taille de l'animal. Une capsule non digestible de taille équivalente à celle testée ici (SmartPill®) met 2,3 à 4 heures pour traverser l'intestin grêle des porcs Landrace mâle de 15 à 17 kg (Henze *et al.*, 2021).

En outre, la composition microbienne du contenu de la capsule ne diffère pas de la composition microbienne du premier et du deuxième segment de l'intestin grêle. Nous démontrons ainsi que la capsule collecte un échantillon dans les premiers segments de l'intestin grêle. La composition microbienne du contenu de la capsule est différente de celle du gros intestin et

des fèces. Après collection de l'échantillon, la capsule est donc hermétique et empêche la contamination du contenu par l'environnement extérieur.

Nous avons dû mettre en place un protocole spécifique avant l'administration de la capsule, car en l'absence d'un tel protocole, les particules solides de cette taille restent coincées dans l'estomac (Rezaei Nejad *et al.* 2019). Ce protocole n'est pourtant pas suffisant pour faire passer la capsule chez les cochons de moins de 12kg, en raison de la disproportion entre la taille de la capsule et la taille du pylore. Cependant, les procédures mises en place, notamment l'alimentation liquide, retrait de la paille et utilisation d'un prokinétique, pourraient modifier ponctuellement le microbiome intestinal. Malgré cela, la composition bactérienne de la capsule n'est pas significativement différente des prélèvements des segments 1 et 2 prélevés post mortem 2 jours après l'arrêt des procédures. L'effet du protocole sur la composition du microbiote doit encore être confirmé. Enfin, le protocole pourrait être encore amélioré pour optimiser encore l'acceptabilité par l'animal.

CONCLUSION

Cette étude valide le premier dispositif non invasif pour collecter et analyser le microbiote de l'intestin grêle chez les porcs en post-sevrage. Également, un protocole standardisé a été développé et utilisé pour administrer les capsules chez les porcs. Des futures études viendront étayer la validation de ces capsules pour les porcs d'engraissement.

REMERCIEMENTS

Ce projet a reçu un financement du programme de recherche et d'innovation Horizon 2020 de l'Union européenne dans le cadre de la convention de subvention Marie Skłodowska-Curie N° 955374. Nous remercions Guy Maïkoff et son équipe pour leur précieuse aide lors de la réalisation de cette étude.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agroscope, 2005. Apports alimentaires recommandés pour les porcs (livre jaune). Eds, p.
- Briejer M.R., Bosmans J.P., Van Daele P., Jurzak M., Heylen L., Leysen J.E., Prins N.H., Schuurkes J.A., 2001. The in vitro pharmacological profile of prucalopride, a novel enterokinetic compound. *Eur J Pharmacol*, 423, 71-83.
- Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J., Han A.W., Johnson A.J.A., Holmes S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods*, 13, 581-583.
- Camilleri M., Atieh J., 2021. New Developments in Prokinetic Therapy for Gastric Motility Disorders. *Front Pharmacol*, 12,
- Choudhury R., Middelkoop A., Bolhuis J.E., Kleerebezem M., 2019. Legitimate and Reliable Determination of the Age-Related Intestinal Microbiome in Young Piglets; Rectal Swabs and Fecal Samples Provide Comparable Insights. *Front. Microbiol*, 10,
- De Maeyer J.H., Lefebvre R.A., Schuurkes J.A., 2008. 5-HT4 receptor agonists: similar but not the same. *Neurogastroenterol Motil*, 20, 99-112.
- De Ponti F., 2004. Pharmacology of serotonin: what a clinician should know. *Gut*, 53, 1520.
- Dixon P., 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *J Veg Sci*, 14, 927-930.
- Duarte M.E., Kim S.W., 2022. Intestinal microbiota and its interaction to intestinal health in nursery pigs. *Anim Nutr*, 8, 169-184.
- Folz J., Culver R.N., Morales J.M., Grembi J., Triadafilopoulos G., Relman D.A., Huang K.C., Shalon D., Fiehn O., 2023. Human metabolome variation along the upper intestinal tract. *Nat. Metab*.
- Fouhse J.M., Zijlstra R.T., Willing B.P., 2016. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. *Anim. Front*, 6, 30-36.
- Henze L.J., Koehl N.J., Bennett-Lenane H., Holm R., Grimm M., Schneider F., Weitschies W., Koziolk M., Griffin B.T., 2021. Characterization of gastrointestinal transit and luminal conditions in pigs using a telemetric motility capsule. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 156, 105627.
- Jang K.B., Purvis J.M., Kim S.W., 2020. Supplemental effects of dietary lysophospholipids in lactation diets on sow performance, milk composition, gut health, and gut-associated microbiome of offspring. *Anim. Sci. J.*, 98, skaa227.
- Li Y., Wang X., Wang X.-q., Wang J., Zhao J., 2020. Life-long dynamics of the swine gut microbiome and their implications in probiotics development and food safety. *Gut Microbes*, 11, 1824-1832.
- Luo Y., Ren W., Smidt H., Wright A.G., Yu B., Schyns G., McCormack U.M., Cowieson A.J., Yu J., He J., Yan H., Wu J., Mackie R.I., Chen D., 2022. Dynamic Distribution of Gut Microbiota in Pigs at Different Growth Stages: Composition and Contribution. *Microbiol Spectr*, 10, e0068821.
- Maltecca C., Bergamaschi M., Tiezzi F., 2020. The interaction between microbiome and pig efficiency: A review. *J. Anim. Breed. Genet.*, 137, 4-13.
- Martinez Arbizu P., 2020. pairwiseAdonis: Pairwise multilevel comparison using adonis. R package version 0.4.
- McMurdie P.J., Holmes S., 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLOS ONE*, 8, e61217.
- Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P., Peplies J., Glöckner F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res*, 41, D590-596.
- Reynaud Y., Buffiere C., David J., Cohade B., Vauris M., Lopez M., Souchon I., Dupont D., Remond D., 2020. Temporal changes in postprandial intragastric pH: Comparing measurement methods, food structure effects, and kinetic modelling. *Food Res Int*, 128, 108784.
- Rezaei Nejad H., Oliveira B.C.M., Sadeqi A., Dehkharghani A., Kondova I., Langermans J.A.M., Guasto J.S., Tzipori S., Widmer G., Sonkusale S.R., 2019. Ingestible Osmotic Pill for In Vivo Sampling of Gut Microbiomes. *Adv. Intell. Syst.*, 1, 1900053.
- R Core Team, 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Site web: <https://www.R-project.org/>
- Schokker D., Zhang J., Vastenhout S.A., Heilig H.G.H.J., Smidt H., Rebel J.M.J., Smits M.A., 2015. Long-Lasting Effects of Early-Life Antibiotic Treatment and Routine Animal Handling on Gut Microbiota Composition and Immune System in Pigs. *PLOS ONE*, 10, e0116523.
- Shalon D., Culver R.N., Grembi J.A., Folz J., Treit P.V., Shi H., Rosenberger F.A., Dethlefsen L., Meng X., Yaffe E., Aranda-Díaz A., Geyer P.E., Mueller-Reif J.B., Spencer S., Patterson A.D., Triadafilopoulos G., Holmes S.P., Mann M., Fiehn O., Relman D.A., Huang K.C., 2023. Profiling the human intestinal environment under physiological conditions. *Nature*,
- Slifierz M.J., Friendship R.M., Weese J.S., 2015. Longitudinal study of the early-life fecal and nasal microbiotas of the domestic pig. *BMC Microbiol.*, 15, 184.
- Zhao W., Wang Y., Liu S., Huang J., Zhai Z., He C., Ding J., Wang J., Wang H., Fan W., Zhao J., Meng H., 2015. The dynamic distribution of porcine microbiota across different ages and gastrointestinal tract segments. *PLoS One*, 10, e0117441.