

Etude de l'évolution du microbiote intestinal chez le porc via un échantillonnage non-invasif

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

Study of dynamics of the intestinal microbiota in pigs using non-invasive sampling

Many studies demonstrate that the faecal microbiota changes as a pig ages and stabilizes at ca. 3 months of age. However, the intestinal microbiota differs greatly from the faecal microbiota and has been studied less for obvious reasons of accessibility. This study explores the hypothesis that the microbiota of the small intestine undergoes distinct and measurable changes at different ages, using a capsule for sampling. The "Capsule for Sampling" (CapSa) is an ingestible capsule that passes through the digestive tract and collects contents of the small intestine before being excreted with the faeces. In this study, 24 Grand White Swiss pigs, weighing 8.1 ± 1.1 kg, were selected at 23 days of age. At the time of weaning (28 days of age), 8 piglets were euthanized to sample intestinal contents to establish a baseline composition of the microbiota at this age. The intestinal microbiota of the remaining 16 pigs was sampled using CapSa at $52 (\pm 3)$, $70 (\pm 3)$, $83 (\pm 3)$, $110 (\pm 3)$, and $126 (\pm 3)$ days of age. At 140 ± 5 days of age, all pigs were slaughtered. Out of five administrations, 76.6% of the administered capsules were retrieved, and their contents were sent for microbiota analysis. The analysis revealed a distinct composition at each sampling, with a dominance of Firmicutes and a decrease in *Lactobacillus*, which were replaced by *Streptococcus* over time. Changes in diet and environment, as well as the growth of the pig, would explain the changes observed. This study is the first to analyse dynamics of the pig's intestinal microbiota through non-invasive sampling of the same individual. This project was funded by the EU Horizon 2020 program, Marie Skłodowska-Curie grant no. 955374.

INTRODUCTION

Les bactéries du tractus digestif ont un rôle essentiel dans la digestion des aliments, la production de nutriments, la formation d'une barrière contre les bactéries pathogènes et la modulation du système immunitaire de l'hôte (Frick et Autenrieth, 2013). Cependant, les fluctuations temporelles et les particularités individuelles du microbiote constituent un défi majeur pour son analyse (Tang *et al.*, 2020). Des techniques innovantes et peu ou pas invasives sont cruciales pour étudier le microbiote intestinal des porcs tout en respectant leur bien-être. La plupart des recherches se sont concentrées sur le microbiote fécal (Zhao *et al.*, 2015), cependant le microbiote de l'intestin grêle (IG) est différent de celui des fèces.

Cette étude analyse les fluctuations du microbiote intestinal à différentes étapes de la vie des porcs, depuis le sevrage jusqu'à 126 jours d'âge). L'hypothèse de cette étude est que le microbiote de l'intestin grêle subit des changements distincts et mesurables à différents âges. Pour ce faire, nous avons utilisé une nouvelle capsule d'échantillonnage (CapSa), permettant la collecte non invasive d'échantillons de microbiote intestinal. Cet outil a été validé précédemment, à la fois *in vitro* (García Viñado *et al.*, 2022) et *in vivo* (García Viñado *et al.*, 2024b).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Conception de l'étude

Au sevrage, 24 porcelets de race Grand Porc Blanc Suisse (12 mâles castrés et 12 femelles) ont été inclus, puis huit porcelets ont été euthanasiés pour collecter le contenu de l'intestin grêle, établissant une base de référence du microbiote du porcelet à cet âge. Le microbiote intestinal des 16 porcelets restants a été échantillonné à 52 ± 3 (T1), 70 ± 3 (T2), 83 ± 3 (T3), 110 ± 3 (T4) et 126 ± 3 (T5) jours d'âge. Chaque animal a reçu oralement deux CapSas par sondage œsophagien et une dose de prokinétique (prucalopride, 0,15 mg/kg, Resolor®) selon la procédure d'administration standardisée (García Viñado *et al.*, 2024a). Les capsules ont été recherchées dans les fèces pendant 48 heures post administration. L'administration des capsules a été réalisée avant et après chaque changement d'alimentation. Les régimes « starter », engraissement et finition ont été proposés respectivement entre les jours 25 ± 3 et 72 ± 3 , entre les jours 73 ± 3 et 112 ± 3 , et entre les jours 113 ± 3 et 140 ± 5 d'âge. Chaque période alimentaire comprenait deux administrations de capsules : une au début et une à la fin, à l'exception de la période du régime finition.

1.2. Analyse de microbiote

Toutes les analyses des données ont été réalisées sous R (version 4.3.1, R core Team, 2022). L'ADN bactérien a été extrait en utilisant le kit HostZERO™ Microbial DNA (Zymo Research, Californie, USA). La région V3-V4 du gène 16S rRNA (~ 460 pb) a été amplifiée par PCR. Les amplicons ont ensuite été séquencés