

Développement d'un modèle de cicatrisation *in vitro* sur lignée intestinale porcine

Emilia BENASSAI, Soline MOISDON, Eva DUPUIS, Tristan CHALVON-DEMERSAY, Edouard COUDERT

CMI Roullier, Nutrition Animale et Environnement, 18 av. Franklin Roosevelt, 35400 Saint-Malo, France

emilia.benassai@roullier.com

Development of an *in vitro* intestinal wound healing model on a porcine intestinal cell line

Intestinal ulcers in pigs represent a major health issue, having a significant negative impact on animal health and welfare (infections, increased stress) and performance (decreased nutrient absorption, growth). The objective of this study was to develop an *in vitro* real time intestinal wound-healing model that allows innovative solutions to be developed for livestock. The model is based on the IPEC-J2 cell line, a porcine intestinal line that differentiates into polarized intestinal epithelium when cultured on porous inserts. The integrity of this membrane can be monitored by measuring the trans-epithelial and endothelial resistance and can be intentionally disrupted by scratching it with a sterile syringe, which mimics the formation of intestinal ulcers. Wound-healing kinetics are then tracked in real time using bright-field microscopy, in the presence or absence of foetal bovine serum, with the Omni system (Axionbio). The percentage of wound area and the rate of cell-front migration are also calculated, which allow different treatment conditions to be compared. The results, which focused on identifying a treatment that promotes faster healing, validated the newly designed real time *in vitro* model and highlighted positive effects of foetal bovine serum on wound recovery. In conclusion, we developed a new *in vitro* model of porcine intestinal ulcers and their real-time healing kinetics. This method aims to be used to select new active molecules, that facilitate the development of innovative solutions to improve animal health and welfare.

INTRODUCTION

L'intégrité intestinale est primordiale pour la santé globale porcine. Les perturbations de la fonction barrière de la muqueuse épithéliale entraînent divers troubles gastro-intestinaux qui impactent la santé, la croissance et la productivité des animaux (Pluske *et al.*, 2018). Le passage des pathogènes à travers la paroi intestinale peut entraîner des infections (bactériennes, virales ou parasitaires) et un état d'inflammation, qui peut être aiguë ou chronique et qui est corrélé à d'autres conséquences néfastes pour la santé, tels qu'un retard de croissance et une immunité compromise (Lambert, 2009). Dans cette étude, nous avons affiné la méthode de cicatrisation utilisant la lignée cellulaire épithéliale intestinale porcine IPEC-J2 (Berschneider, 1989). Bien que des tests de cicatrisation aient été réalisés sur des cellules porcines (Van Bockstal *et al.*, 2024; Tong *et al.*, 2023), notre approche se distingue par l'utilisation du système OMNI-FL pour un suivi cinétique en temps réel. Contrairement aux essais en point final, qui ne capturent des données qu'à un moment donné, l'imagerie des cellules vivantes permet une observation continue, révélant ainsi la progression des événements cellulaires au fil du temps. Cet essai est pertinent pour modéliser le processus d'ulcération et régénération du tractus digestif et peut servir d'outil de criblage de bioactifs visant à renforcer la barrière intestinale porcine.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Culture cellulaire

Les cellules IPEC-J2 (DSMZ) sont entretenues dans un milieu DMEM/Ham's F12 (1:1, Gibco) supplémenté avec 10 % sérum de veau fœtal (SVF), 1 % de solution antibiotique et antimycotique et 1,5 % HEPES (Dominique DUTSCHER SAS). Le milieu est renouvelé tous les deux jours et les cellules sont incubées à 37°C avec un taux de 5 % de CO₂.

1.2. Essai de cicatrisation

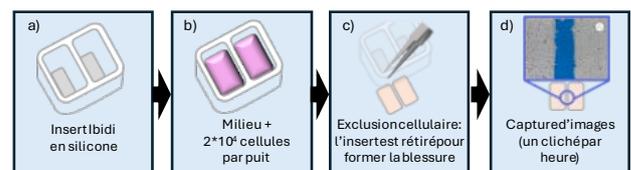


Figure 1 – Processus de formation d'une blessure par exclusion cellulaire.

Comme illustré dans la figure 1, $2 \cdot 10^4$ cellules IPEC-J2 sontensemencées dans chaque puit des inserts en silicone (Ibidi 80209) et incubées pendant 48 h pour permettre la formation d'une monocouche adhérente. Une blessure de 500 μm est induite dans la monocouche par exclusion cellulaire, en retirant les inserts. La répétabilité de notre méthode a été challengée en conduisant cinq expériences indépendantes pour déterminer la cinétique de cicatrisation après l'exposition des cellules à des milieux de culture contenant du SVF 10 %. Ensuite, trois expériences indépendantes ont été réalisées en exposant les cellules à un milieu de culture sans SVF, constituant le témoin négatif. Quatre réplicats ont été réalisés pour chaque condition. Le suivi en temps réel pendant le processus de cicatrisation est obtenu par microscopie en champ clair, avec un