

Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie

IMPACT DES ALTERNATIVES AUX ANTIBIOTIQUES SUR LE GAIN DE POIDS ET L'ACTIVITÉ MICROBIENNE INTESTINALE CHEZ LES PORCELETS SEVRÉS

Par
Jason Palanee

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de
Maître ès Sciences, M.Sc.
Maîtrise en microbiologie appliquée

Jury d'évaluation

Président du jury et Examineur interne	Charles M. Dozois INRS, centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie
Examineur externe	Jennifer Ronholm Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Environnement McGill University
Examineur interne	Charles M. Dozois INRS, centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie
Directeur de recherche	Étienne Yergeau INRS, centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie
Codirecteur de recherche	Dominic Poulin-Laprade Agriculture et Agroalimentaire Canada

REMERCIEMENTS

J'aimerais exprimer ma reconnaissance la plus complète auprès de toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin dans le processus d'achèvement de mes études.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, le professeur Étienne Yergeau ainsi que ma co-directrice Dominic Poulin-Laprade pour leur encadrement, leur grande disponibilité, leur encouragement et leur aide si précieuse au cours de ces deux dernières années.

Une pensée particulière à mes parents Harry et Samila, ainsi que ma sœur Jamila, pour leurs temps et précieux conseils qui m'ont permis de partir sur des bases solides et qui grâce à eux m'a permis d'aboutir à ce stade.

Je tiens aussi à remercier ma copine Kim qui tout au long de ce processus m'a encouragé, soutenu et motivé à faire de mon mieux.

À mes bons amis et colocataires Thomas, Pablo, Félix, Urielle et Guillaume qui m'ont tous soutenu à leur façon et sans qui réaliser ce projet aurait été beaucoup plus difficile.

Finalement je remercie aussi mes collègues et amis du laboratoire du professeur Étienne Yergeau ainsi que ceux travaillant chez Agriculture et Agroalimentaire Canada à Sherbrooke avec qui l'ambiance de travail fut toujours agréable.

RÉSUMÉ

Dans l'industrie porcine, le sevrage est une période excessivement stressante pour les porcelets. Ceux-ci sont séparés de la truie, subissent une transition alimentaire et compétitionnent pour leur position hiérarchique parmi les porcelets sevrés en cohabitation. Lors du sevrage, la vulnérabilité des porcelets aux infections entériques est considérablement accrue. Par conséquent, les producteurs utilisent l'antibioprophylaxie par mesure préventive et comme facteur de croissance. Cependant, avec l'escalade du phénomène de l'antibiorésistance, l'utilisation d'antimicrobiens en agroalimentaire doit être réduite au strict minimum. Actuellement, les compléments alimentaires font partie des stratégies alternatives les plus prometteuses. Ainsi, le présent ouvrage étudie les effets d'un aliment périsevrage constitué d'une base d'avoine nue supplémenté par des combinaisons de colostrum bovin, d'acides gras à chaîne moyenne et d'extrait de levure sur la croissance et l'activité bactérienne intestinale des porcelets. Les effets sur la performance animale et la communauté bactérienne de l'iléon, du cæcum et du colon ont été caractérisée par la quantification du gain de poids, du pH intestinal, de l'analyse d'acides gras volatils et par la caractérisation du microbiote intestinal. Les stratégies alimentaires testées ont eu un impact limité sur la croissance des porcs et la production d'acides gras volatils. Malgré tout, ils ont démontré des aptitudes à moduler le microbiote intestinal des porcelets sevrés, ce qui est particulièrement intéressant. Toutefois, des analyses complémentaires sont nécessaires pour déterminer si elles constituent des alternatives fiables et efficaces à l'utilisation d'antibiotiques dans la filière porcine.

Mots-clés : porcelet ; stress ; antibiorésistance ; additifs alimentaires ; performance animale ; sevrage ; stratégies alimentaires ; microbiote intestinal.

ABSTRACT

In the swine industry, weaning is an extremely stressful time for piglets. They are separated from the sow, undergo a dietary transition, and compete for their hierarchical position among the cohousing weanlings. During weaning, the piglets' vulnerability to enteric infections is considerably increased. Therefore, producers use antibiotic prophylaxis as a preventive measure and as a growth factor. However, with the escalating phenomenon of antibiotic resistance, the use of antimicrobials in agri-food must be reduced to the bare minimum. Currently, food supplements are among the most promising alternative strategies. Thus, the present work investigates the effect of a weaning feed consisting of a naked oat base supplemented with combinations of bovine colostrum, medium-chain fatty acids and yeast extract on the growth and intestinal bacterial activity of piglets. The effects on animal performance and bacterial community of the ileum, cecum and colon were characterized by quantifying weight gain, intestinal pH, volatile fatty acids and by characterizing the gut microbiota. The feeding strategies tested had limited impact on pig growth and volatile fatty acid production. Despite this, they demonstrated abilities to modulate the gut microbiota of weaned piglets, which is particularly interesting. However, further analysis is needed to determine if they are a reliable and effective alternative to antibiotic use in the swine industry.

Keywords : piglets ; stress ; antibiotic resistance ; feed additives ; animal performance ; weaning ; feeding strategy ; gut microbiota.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	II
RÉSUMÉ	IV
ABSTRACT	VI
TABLE DES MATIÈRES	IX
LISTE DES FIGURES.....	XII
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	XV
1 INTRODUCTION : CONTEXTE ET PROBLÉMATIQUE.....	1
1.1 LE SEVRAGE ET SON IMPACT SUR LES PORCELETS EN INDUSTRIE.....	3
1.2 LE MICROBIOTE INTESTINAL DES PORCELETS.....	3
1.2.1 <i>Établissement du microbiote intestinal.....</i>	<i>3</i>
1.2.2 <i>Perturbation du microbiote intestinal par le sevrage.....</i>	<i>5</i>
1.2.3 <i>Maturation du microbiote intestinal</i>	<i>6</i>
1.3 INTERACTIONS ENTRE L'HÔTE ET SON MICROBIOTE INTESTINAL	7
1.3.1 <i>Le rôle métabolique et immunitaire du microbiote intestinal.....</i>	<i>7</i>
1.3.2 <i>Les acides gras volatils, métabolites importants du microbiome intestinal</i>	<i>8</i>
1.4 L'ALIMENTATION DES PORCELETS	9
1.4.1 <i>Principe et but de l'alimentation à la dérobée</i>	<i>9</i>
1.4.2 <i>Variabilité du poids à la naissance des porcelets au sein d'une même portée</i>	<i>10</i>
1.5 ADDITIFS ALIMENTAIRES ET SANTÉ INTESTINALE PORCINE	11
1.5.1 <i>Utilisation des antibiotiques dans l'industrie porcine</i>	<i>11</i>
1.5.2 <i>Le colostrum bovin comme additif alimentaire.....</i>	<i>12</i>
1.5.3 <i>Les acides gras à chaîne moyenne comme additif alimentaire</i>	<i>14</i>
1.5.4 <i>Les avantages d'une supplémentation en extrait de levure</i>	<i>15</i>
1.5.5 <i>L'avoine nue dans l'alimentation porcine</i>	<i>16</i>
1.6 BUT, HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS DU PROJET	16
1.6.1 <i>But.....</i>	<i>16</i>
1.6.2 <i>Hypothèse</i>	<i>16</i>
1.6.3 <i>Objectifs</i>	<i>17</i>
2 CHAPITRE 1 : IMPACT OF ANTIBIOTIC ALTERNATIVES ON WEIGHT GAIN AND GUT MICROBIOTA IN WEANLINGS.....	19
2.1 ABSTRACT.....	19
2.2 INTRODUCTION	19
2.3 MATERIALS AND METHODS	22

2.3.1	<i>Animal and experimental design</i>	22
2.3.2	<i>Euthanasia of piglets</i>	23
2.3.3	<i>Weight gain</i>	23
2.3.4	<i>Analysis of volatile fatty acids (VFA)</i>	23
2.3.5	<i>DNA extraction</i>	23
2.3.6	<i>DNA quantification</i>	24
2.3.7	<i>DNA sequencing</i>	24
2.3.8	<i>Bio-informatic analysis</i>	25
2.3.9	<i>Statistical analysis</i>	25
2.4	RESULTS.....	26
2.4.1	<i>Animal performance</i>	26
2.4.2	<i>Intestinal pH</i>	27
2.4.3	<i>Volatile fatty acids (VFA)</i>	28
2.4.4	<i>16S rRNA gene amplicon sequencing</i>	28
2.5	DISCUSSION.....	31
3	DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION	35
3.1	DISCUSSION.....	35
3.2	CONCLUSION.....	38
4	BIBLIOGRAPHIE	39

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Animal performance of piglets under feed treatments from day 1 to day 42 of age.

Figure 2 : pH of the intestinal content of the (a) cecum and (b) colon of piglets of low birth (LBW) and high birth weight (HBW) for different feed treatments.

Figure 3 : Concentrations of acetate (a and d), propionate (b and e), and butyrate (c and f) found in cecum (a, b, and c) and colon (d, e, and f) digestates of piglets of low birth weight (LBW) and high birth weight (HBW) for different feed treatments.

Figure 4 : Shannon diversity (a and b) and number of observed ASVs (c and d) based on 16S rRNA gene amplicon sequencing of cecum (a and c) and ileum (b and d) digestate samples from piglets of low birth weight (LBW) and high birth weight (HBW).

Figure 5 : Non-metrical multidimensional scaling analysis (NMDS) and ANOSIM tests based on Bray-Curtis's dissimilarity at the genus level for cecum (a) and ileum (b) digestates.

Figure 6 : Bacterial community composition at the phylum (a and b) and genus (c and d) levels for cecum (a and c) and ileum (b and d) digestates of piglets subjected to various feed treatments. Values for piglets of low birth weight (LBW) and high birth weight (HBW) were not statistically different and were averaged for this figure. Only taxa having a relative abundance above 0.5% are shown here. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ in pairwise permanova tests.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AAC	Agriculture et agroalimentaire Canada
AAFC	<i>Agriculture and Agri-Food Canada</i>
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGCM	Acide gras à chaîne moyen
AGV	Acide gras volatil
ANOVA	Analyse de la variance/ <i>Analysis of variance</i>
ASV	<i>Amplicon sequence variant</i>
ATP	Adénosine-triphosphate
BC	<i>Bovine colostrum</i>
BW	<i>Birth weight</i>
CB	Colostrum bovin
CTC	Chlortétracycline
EGF	<i>Endothelial growth factor</i>
EL	Extrait de levure
HBW	<i>High birth weight</i>
IGF	<i>Insulin growth factor</i>
INRS	Institut national de la recherche scientifique

LBW	<i>Low birth weight</i>
LPS	Lipopolysaccharide
MCFA	<i>Medium-chain fatty acid</i>
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
pH	Potentiel hydrogène
SCFA	<i>Short-chain fatty acid</i>
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
VFA	<i>Volatile fatty acid</i>
YE	<i>Yeast extract</i>

1 INTRODUCTION : CONTEXTE ET PROBLÉMATIQUE

Au Canada, selon le Conseil canadien du porc, l'industrie porcine représente la 4^e industrie agricole en importance. On recense approximativement 7700 exploitations porcines à travers le pays possédant en moyenne 1830 porcs par ferme (Canada, 2021). Cette industrie engendre des ventes annuelles directe à la ferme de 4.1 milliards de dollars canadiens, en plus de soutenir 31 000 emplois agricoles qui, eux, contribuent à 103 000 autres emplois directement et indirectement à travers tout le pays (Council, 2021). L'activité économique totale de l'industrie porcine génère 23,8 milliards de dollars lorsqu'on inclue les fermes, les intrants, les transformations et les exportations de porcs (Council, 2021).

Globalement, la production porcine reste en constante croissance impliquant ainsi un mode opératoire plus imposant et augmentant le nombre de porcs élevés par ferme (Holman & Chénier, 2015). Les porcelets en industrie passent les 21 premiers jours de leur vie en compagnie de la truie et des autres membres de la portée pour ensuite, après le sevrage, être séparés de la mère et entrer en phase de croissance lors de laquelle ils seront nourris avec une alimentation solide de type croissance (Gresse *et al.*, 2017).

Le sevrage se définit donc comme un évènement de transition lors duquel les porcelets vont subir des changements autant environnementaux qu'alimentaires, mais aussi sociaux (Campbell *et al.*, 2013; Gresse *et al.*, 2017). Dans l'industrie moderne, le sevrage est généralement pratiqué à 3 semaines d'âge comparativement au sevrage naturel qui est normalement fait à 17 semaines d'âge (Barba-Vidal *et al.*, 2018; Gresse *et al.*, 2017). Le sevrage est un évènement soudain et des plus stressant pour les porcelets, résultant en de nombreux changements physiologiques causant des problèmes de santé, de performance animale et, dans certains cas, de mortalité (Campbell *et al.*, 2013; Gresse *et al.*, 2017; Heo *et al.*, 2013).

Les circonstances entourant le sevrage causent généralement des dysbioses intestinales résultant en des infections gastro-intestinales. Dans le but de diminuer les cas d'infections, les effets du sevrage et les pertes économiques y étant associés, les producteurs ont donc recours à l'utilisation d'antibiotique en prophylaxie (Gresse *et al.*, 2017). Outre l'aspect thérapeutique, les antimicrobiens sont aussi utilisés comme promoteur de croissance améliorant les performances animales (Campbell *et al.*, 2013; Gresse *et al.*, 2017; Holman & Chénier, 2015)

La surutilisation des antimicrobiens, non seulement dans ce type d'industrie, mais partout, a engendrer le phénomène de l'antibiorésistance, un phénomène suscitant d'importantes

inquiétudes pour la santé animale et humaine (Gresse *et al.*, 2017). De plus en plus de souches bactériennes, incluant des pathogènes, développent ou même obtiennent via transfert horizontal des gènes de résistance aux antibiotiques (Gresse *et al.*, 2017; Verstegen & Williams, 2002). Dans certains cas, par exemple chez la famille des *Enterobacteriaceae*, on retrouve des souches résistantes à la majorité des antibiotiques incluant ceux de dernier recours (Gresse *et al.*, 2017). Avec le développement et la propagation des gènes de résistance aux antimicrobiens dans notre environnement, les conséquences au niveau de la santé animale et humaine pourraient être désastreuses. Une diminution d'antimicrobiens disponibles et accessibles pour traiter des infections pourrait engendrer de grandes problématiques autant au niveau du bien-être animale, que du taux de mortalité et conséquemment des pertes financières importantes pour les producteurs en plus d'une augmentation des prix pour la consommation (O'Neill, 2015).

Par suite des nouvelles réglementations visant à minimiser l'utilisation des antimicrobiens dans l'industrie des animaux destinés à l'alimentation, il est important d'approfondir les études sur différentes alternatives à l'utilisation d'antibiotiques en agroalimentaire.

À l'heure actuelle de nombreuses équipes de recherche étudient différentes alternatives possibles. On retrouve notamment les peptides antimicrobiens et les additifs alimentaires qui comprend les probiotiques, les prébiotiques, des acides organiques, etc. (Verstegen & Williams, 2002). Parmi celles-ci, les additifs alimentaires semblent être une stratégie très prometteuses, il en existe une multitude ayant chacun différents mécanismes d'action (Langlais, 2019). Toutefois les objectifs communs à tous sont de contrôler la présence de pathogènes tout en maintenant une bonne santé intestinale et en favorisant une bonne performance animale (Langlais, 2019).

Parmi les différents types d'additifs alimentaires connus, le colostrum bovin, les acides gras à chaîne moyenne, l'extrait de levure et l'avoine nue ont tous démontré un potentiel des plus intéressants (Bissonnette *et al.*, 2016; Brousseau *et al.*, 2015). Ces composés, regroupent des propriétés antimicrobiennes, immunorégulatrice et favorisant une bonne performance animale (Bissonnette *et al.*, 2016; Brousseau *et al.*, 2015; Szewczyk *et al.*, 2013).

Ainsi, l'objectif global de cette étude est d'évaluer le potentiel de traitements alimentaires comprenant les additifs alimentaires tels que le colostrum bovin, les acides gras à chaîne moyenne, l'extrait de levure et l'avoine nue en combinaison sur le développement du microbiote intestinale et sur la robustesse des porcelets lors de la période de lactation et de pérésevrage.

1.1 Le sevrage et son impact sur les porcelets en industrie

Le sevrage se définit comme étant une période de transition lors de laquelle les porcelets passent d'une alimentation axée sur la lactation à une alimentation solide et sèche, à base de plante et moins digestible favorisant principalement la prise de masse (Heo *et al.*, 2013). En plus de cette transition alimentaire, les porcelets sont aussi séparés de la mère et sont introduits dans un nouveau parc regroupant plusieurs porcelets sevrés (Heo *et al.*, 2013). Lors de cet évènement, les porcelets sont confrontés à leurs confrères et consœurs et cherchent à établir un nouvel ordre hiérarchique (Heo *et al.*, 2013). Toutes ces circonstances engendrent un lot de stress autant nutritionnel, qu'environnemental, que psychologique (Heo *et al.*, 2013). Suite à cet évènement, on remarque une chute drastique de la consommation alimentaire chez les porcelets diminuant ainsi la performance animale (Heo *et al.*, 2013). L'énorme stress imposé par le sevrage est aussi suivi de changements notables du tractus gastro-intestinal au niveau physiologique, immunologique et microbiologique (Heo *et al.*, 2013). Ces changements notables se caractérisent notamment par dès l'apparition de dysbioses intestinales qui ont pour conséquence d'affaiblir le rôle de barrière de la muqueuse intestinale, la rendant ainsi plus perméable aux composés allergènes et bactéries tels que des pathogènes opportunistes pouvant causer des infections entériques. Ces infections entériques sont la cause de diarrhées post-sevrage souvent associées à la prolifération de souches d'*Escherichia coli* entérotoxigénique (ETEC) au niveau du tractus gastro-intestinal menant donc à des diarrhées post-sevrage, qui dans certains cas aboutissent à la mortalité du porcelet (Li *et al.*, 2018).

1.2 Le microbiote intestinal des porcelets

1.2.1 Établissement du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal joue plusieurs rôles clés au niveau de la santé intestinale de l'hôte. Il influence entre autres la régulation du métabolisme des nutriments, la synthèse de vitamines, le développement et la maturation du système immunitaire associé à l'intestin et finalement à protéger l'hôte vis-à-vis les bactéries pathogènes (Yang *et al.*, 2019a). L'implantation du microbiote intestinal est un évènement important pour les nouveau-nés, le développement de celui-ci est influencé non seulement par le type de naissance, mais aussi par plusieurs autres facteurs tels que la durée de la gestation, l'exposition aux antibiotiques, la nutrition et la génétique (Walker *et al.*, 2017).

Une étude effectuée chez les porcelets par l'équipe de Yang à l'Université de l'Agriculture à Gansu a démontré que les genres bactériens retrouvés en début de vie sont

majoritairement composés de *Bacteroidetes*, de *Firmicutes* et de *Proteobacteria*, représentant 95% des phylums bactériens (Yang *et al.*, 2019b).

L'importance de la mère et de son microbiote

L'établissement du microbiote intestinal chez le porcelet commence dès la gestation. Malgré l'incompréhension derrière le mécanisme de diffusion bactérienne à travers le placenta, de nombreuses études ont démontré la présence de bactéries au niveau du liquide amniotique, mais aussi dans les méconiums des nouveau-nés (Gensollen *et al.*, 2016; Walker *et al.*, 2017). Les hypothèses concernant les sources de transfert bactérien dans le placenta sont nombreuses, parmi celles-ci on suggère des sources vaginale, orale et intestinale (Walker *et al.*, 2017).

Toutefois, c'est après la naissance que le microbiote est le plus fortement modulé. En effet, directement après la naissance le microbiote est principalement formé de bactéries opportunistes auxquels le nouveau-né est exposé dans son environnement (Gensollen *et al.*, 2016). En outre, puisque les porcelets sont en contact constant avec les fèces, la peau et les muqueuses de la mère jusqu'au sevrage, il est donc évident que l'établissement de leur microbiote dépend énormément du microbiote vaginal, fécal et de la peau de la truie (Mach *et al.*, 2015). Ainsi le type de naissance joue un grand rôle lors de l'établissement du microbiote intestinal, qu'il soit vaginal ou par césarienne, il est énormément influencé par l'environnement auquel le nouveau-né est initialement exposé (Gensollen *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2019; Walker *et al.*, 2017). Par exemple, une naissance par césarienne est associée avec des troubles de l'asthme, des allergies, le diabète de type 1 et l'obésité, possiblement due à une exposition microbienne maternelle amoindrie comparativement à une naissance normale (Bokulich *et al.*, 2016). Dans une étude réalisée par l'équipe de Nicholas A. Bokulich, il a été démontré que malgré le fait qu'une naissance par césarienne présentait une plus grande diversité phylogénétique, richesse et une plus grande uniformité de départ, la suite de la maturation du microbiote variait complètement entre les deux types de naissance. Dans le premier cas, celui de la naissance par césarienne, on observe un déclin significatif au niveau de la richesse et de la diversité après uniquement 1 mois d'âge (Bokulich *et al.*, 2016).

L'influence du lait maternel sur l'établissement du microbiote intestinal

La communauté microbienne intestinale est modulée de plusieurs façons, on note notamment l'environnement microbien de la ferme, la pression immunologique, la génétique de

l'hôte, mais plus importante encore la nutrition (Frese *et al.*, 2015). Chez l'être humain, on observe généralement une succession de taxons avec l'âge de l'hôte. Or, chez les animaux tels que le porc, on observe plutôt une certaine stabilité lors des 3 premières semaines suivant la naissance (Frese *et al.*, 2015). À la naissance les porcelets sont exposés à des bactéries considérées comme les premiers colonisateurs qui sont présentes en faible abondance, mais incapables de consommer les substrats disponibles (Frese *et al.*, 2015). Par exemple le genre *Prevotella* est présent dès la naissance chez les porcelets, et ce en très faible abondance. Toutefois, lorsqu'on incorpore une alimentation favorable comme lors du sevrage, on observe une augmentation rapide du genre *Prevotella* (Frese *et al.*, 2015). Ce genre est généralement associé à la consommation de polysaccharides de plante, lesquels sont retrouvés dans l'alimentation suivant le sevrage, contrairement à la lactation (Ivarsson *et al.*, 2014).

Bref, durant la période de lactation, les porcelets se nourrissent presque exclusivement du lait maternel. Ainsi il se trouve à être la source principale de la modulation du microbiote intestinal avant le sevrage. Durant cette période, les communautés microbiennes sont relativement stables et comprennent plus abondamment des populations composées de *Bacteroidaceae*, *Clostridiaceae*, *Lachnospiraceae*, *Lactobacillaceae*, *Oscillibacter* et d'*Enterobacteriaceae* (Frese *et al.*, 2015; Mach *et al.*, 2015). Une communauté dont la fonction du contenu génétique est adaptée et optimisée pour la consommation du lait (Li *et al.*, 2019). Par exemple, il a été démontré que les genres *Bacteroides* et *Oscillibacter* sont abondants dans le microbiote intestinal des nouveau-nés étant donné qu'ils sont adaptés à l'utilisation d'une large gamme d'oligosaccharides et de glycans dérivés de l'hôte comme principale source de carbone (Mach *et al.*, 2015). En plus de ces espèces, on retrouve aussi des bactéries du genre *Escherichia* dans les fèces des porcelets durant la lactation, ce qui indique la présence de pathobiontes dans le tractus gastro-intestinal des porcelets (Mach *et al.*, 2015). Ceux-ci sont naturellement présents et n'attendent qu'un facteur de stress, comme le sevrage, pour devenir pathogénique (Mach *et al.*, 2015).

1.2.2 Perturbation du microbiote intestinal par le sevrage

Le sevrage est une période caractérisée par de nombreux changements pour les porcelets. Son impact sur le microbiote intestinal est très important, surtout du fait que l'âge du sevrage pour les porcelets en industrie semble de plus en plus bas. Ce jeune âge, signifie donc un microbiote intestinal immature et sensible aux changements. Cette communauté bactérienne intestinale présente une composition et une diversité dynamique qui change au cours du temps, mais aussi tout au long du tractus gastro-intestinal (Isaacson & Kim, 2012; Li *et al.*, 2018). Ainsi,

la perturbation engendrée par le sevrage vient ébranler le microbiote intestinal déjà établi par la consommation du lait maternel et serait considérée comme l'un des principaux facteurs causant la diarrhée post-sevrage (Gresse *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018). Or, selon une étude antérieure, le changement de la structure du microbiote intestinal suivant le sevrage serait divisé en deux phases : tout d'abord, il y a un changement abrupt dans les 5 premiers jours suivant le sevrage et ensuite une phase adaptative et de maturation pour les 10 jours suivants (Montagne *et al.*, 2007). Ainsi comme démontré dans plusieurs études, la diversité de la communauté bactérienne serait similaire entre les porcelets sevrés et ceux en lactation, tandis que la richesse, elle, serait diminuée (Li *et al.*, 2018). Il semblerait que la diversité alpha de la communauté bactérienne intestinale, lors de la période immédiate suivant le sevrage, serait diminuée puis elle augmenterait constamment jusqu'à l'âge adulte (Li *et al.*, 2018). Lorsqu'on observe la modulation qu'a le sevrage sur les populations bactériennes de l'intestin, il ne semble pas y avoir d'impact direct sur les phylums dominants, c'est-à-dire les *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Fusobacteria* (Hu *et al.*, 2016). Or ce sont des espèces bactériennes moins abondantes qui semblent affectées par le sevrage. Des genres tels qu'*Alloprevotella* et *Oscillospira* ont subi une réduction importante de leur abondance, ils sont notamment reconnues pour leur production d'acides gras à courte chaîne (Li *et al.*, 2018). *Alloprevotella* produit, entre autres, du succinate et de l'acétate, deux composés qui permettraient d'améliorer la barrière intestinale et la fonction anti-inflammatoire (Downes *et al.*, 2013). Dans le cas du genre *Oscillospira*, celui-ci est un genre bactérien producteur de butyrate, un acide gras volatil très important et qui est la source d'énergie principale des colonocytes (Li *et al.*, 2018). À l'inverse, on observe aussi une augmentation de l'abondance de taxons bactériens comme les *Campylobacterales* qui sont, pour leur part, des pathogènes opportunistes (Li *et al.*, 2018). Étant donné que le microbiote intestinal contribue à différentes voies métaboliques fonctionnelles influençant autant la digestion et l'absorption des nutriments que le métabolisme des lipides et la biosynthèse d'hormones, on peut supposer qu'une perturbation de la communauté bactérienne intestinale par le sevrage a un impact majeur sur l'ensemble de l'organisme.

1.2.3 Maturation du microbiote intestinal

Tel que mentionné préalablement, le microbiote intestinal passerait par deux phases distinctes après le sevrage. Tout d'abord, il y aurait une phase critique qui se situe entre le jour du sevrage et 5 jours post-sevrage et par la suite elle serait suivie d'une phase d'adaptation et de maturation plus progressive allant jusqu'à 15 jours post-sevrage. Lorsqu'on étudie le

microbiote intestinal des porcelets, et ce, lors des différentes phases, les phylums dominants composés des *Firmicutes* et des *Bacteroidetes* semblent stables tout au long de la croissance des porcelets (Chen *et al.*, 2017; Montagne *et al.*, 2007). De plus selon plusieurs études, la diversité alpha semble augmenter tout au long de la croissance des porcelets (Chen *et al.*, 2017). En théorie, une bonne diversité signifie pour l'hôte une bonne résilience, résistance et stabilité face aux stress environnementaux et donc en général bénéfique pour la santé de l'hôte et un signe d'un microbiote intestinal mature (Konopka, 2009; Le Chatelier *et al.*, 2013).

1.3 Interactions entre l'hôte et son microbiote intestinal

Chaque organisme vivant abrite des trillions de cellules microbiennes qui pour la plupart vivent en relation avec l'hôte. On y retrouve différents types de relations allant d'une relation symbiotique à du parasitisme (Milani *et al.*, 2017). Chez l'être humain principalement, mais aussi chez d'autres mammifères, ces populations microbiennes atteignent une plus grande densité au niveau de l'intestin où elles forment une communauté microbienne complexe et dynamique mieux connue sous le nom de microbiote intestinal (Milani *et al.*, 2017). Tout au long de leur vie, cette communauté microbienne sera constituée des bactéries, des virus et des microorganismes eucaryotes indigènes, mais aussi transitoires (Gomaa, 2020). Elle sera sujette à de nombreuses variations de paramètres environnementales, telles que le pH, le niveau d'oxygène, l'état d'oxydoréduction, la disponibilité des nutriments, la température et l'activité de l'eau (Ursell *et al.*, 2012).

1.3.1 Le rôle métabolique et immunitaire du microbiote intestinal

Les populations bactériennes formant le microbiote intestinal sont essentielles au maintien d'un bon équilibre métabolique et de la santé de l'hôte en contribuant à la dégradation des aliments afin de rendre disponibles des nutriments qui autrement seraient inaccessibles à l'hôte, en encourageant la prolifération et la différenciation cellulaire, en protégeant l'hôte contre la colonisation d'agents pathogènes, en produisant des substances antimicrobiennes, en stimulant le système immunitaire, en modifiant la résistance à l'insuline et sa sécrétion et en influençant la communication cerveau-intestin affectant ainsi les fonctions neurologiques de l'hôte (Gomaa, 2020; Milani *et al.*, 2017). Ainsi, le microbiote intestinal joue un rôle primordial dans le maintien de la physiologie et la santé de l'intestin (Gomaa, 2020). Il peut synthétiser des produits métaboliques affectant autant négativement que positivement la santé de l'hôte (Gomaa, 2020). Les microorganismes colonisent et se répliquent sur les parois du tractus gastro-intestinal permettant ainsi la création d'une communauté stable prévenant la colonisation

par des microorganismes pathogènes (Gomaa, 2020). Au niveau métabolique, le microbiote intestinal a pour rôle de métaboliser des éléments diététiques en composantes alimentaires bioactives. Par exemple, la communauté bactérienne du cæcum a pour rôle principal de métaboliser des carbohydrates non-digestibles tels que la cellulose, les hémicelluloses, l'amidon, la pectine, les oligosaccharides et la lignine en acides gras volatils tels que l'acétate, le propionate et le butyrate (Hanczakowska *et al.*, 2013; Jiao *et al.*, 2020; Koh *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2019). Les acides gras volatils, aussi connus sous le nom d'acides gras à courte chaîne, agissent principalement à titre de source énergétique pour les colonocytes, des cellules épithéliales du colon et permettent aussi de solidifier la muqueuse intestinale (Zhou *et al.*, 2019). De plus, la communauté microbienne intestinale est essentielle pour la synthèse de vitamines telles que la biotine, la thiamine, la cobalamine, la riboflavine, la nicotine et les acides pantothéniques, mais aussi les vitamines B et K (Gomaa, 2020). Selon une étude réalisée en Allemagne, les voies de biosynthèse de vitamines seraient présentes chez des entérotypes (Arumugam *et al.*, 2011). Les entérotypes 1 participeraient notamment à la biosynthèse de l'ascorbate, de la riboflavine, de la biotine et de l'acide pantothénique, alors que les entérotypes 2 seraient actifs dans la biosynthèse de l'acide folique et de la thiamine (Arumugam *et al.*, 2011; Gomaa, 2020). Le microbiote intestinal serait aussi impliqué dans la production du cholestérol et des acides biliaires (Gomaa, 2020), mais aussi dans la synthèse d'acide gamma-aminobutyrique (GABA), un neurotransmetteur inhibiteur au niveau du cerveau qui a été lié à de nombreux troubles neuropsychiatriques lors de son dysfonctionnement (Avoli & Krnjević, 2016).

1.3.2 Les acides gras volatils, métabolites importants du microbiome intestinal

Les acides gras volatils (AGVs) ou autrement connu sous le nom d'acides gras à courte chaîne, sont un type d'acides gras regroupant l'acétate, le propionate, le butyrate, l'isovalerate et plus encore (Lauridsen, 2020). Les AGVs sont des produits issus de la fermentation de carbohydrates non-digestibles et d'amidon résistant digestible par les communautés bactériennes intestinales qui contribuent principalement à l'approvisionnement énergétique des colonocytes, mais aussi de l'hôte (Lauridsen, 2020). Anatomiquement parlant, c'est principalement la communauté bactérienne présente dans le cæcum qui fermente ce type de carbohydrates, en d'autres mots c'est une usine de fermentation. Les produits dérivés de cette fermentation, soit les AGVs, sont reconnus pour leur capacité à améliorer la santé de l'hôte. De tous les AGVs produits, on estime qu'uniquement 10% d'entre eux sont rejetés à travers les fèces (Boets *et al.*, 2015). L'absorption de ce type d'acides gras au niveau colique se fait généralement à l'aide de 4 mécanismes différents. Ainsi, l'absorption colique ce fait soit par

diffusion non-ionique, soit par échange avec le bicarbonate dans un ratio de 1 :1, soit par cotransport avec des cations via les transporteurs de monocarboxylate couplé à l'hydrogène (MCT1, MCT2 et MCT4) ou finalement par le transporteur de monocarboxylate couplé au sodium (SMCT1) (Hu *et al.*, 2018). Ces mécanismes d'absorption permettent aux AGVs de réguler le pH luminal, le volume des cellules épithéliales et l'absorption de cations tels que le sodium, ce qui influencerait l'absorption des autres nutriments (Hu *et al.*, 2018). Les acides gras à courtes chaînes sont reconnus pour leurs nombreux bienfaits sur l'organisme de l'hôte. Le butyrate particulièrement, est impliqué dans le métabolisme énergétique. C'est l'acide gras à courte chaîne qui est principalement reconnu comme source d'énergie pour les colonocytes (Wong *et al.*, 2006). Certains AGVs sont considérés comme des supprimeurs de tumeur, en effet, le butyrate et le propionate ont des effets anti-carcinogènes et anti-inflammatoires. Selon une étude réalisée en Belgique, il y aurait une corrélation entre l'abondance de microorganismes produisant du butyrate et les cas de cancer du côlon (Bindels *et al.*, 2012). Chez les patients atteints du cancer du côlon, les microorganismes produisant le butyrate étaient beaucoup moins abondants comparativement à ceux en santé (Bindels *et al.*, 2012). Or cette propriété de butyrate et du propionate vient du fait qu'ils peuvent diminuer l'activité de l'histone désacétylase au niveau des colonocytes et des cellules immunitaires (Wei *et al.*, 2016). L'acétate pour sa part se retrouve en bonne concentration au niveau sanguin contrairement aux butyrate et propionate qui sont principalement absorbés au niveau du côlon. Il atteint la circulation sanguine via la grande veine mésentérique ou inférieure et en plus il est capable de traverser la barrière sang-cerveau ce qui fait de l'acétate une molécule signalétique transmettant l'état de l'intestin au cerveau (Hu *et al.*, 2018). L'acétate est aussi reconnu comme étant la source d'énergie principale des astrocytes, des cellules gliales du système nerveux central (Hu *et al.*, 2018). De plus, il a été prouvé que les AGVs permettent la régulation de l'appétit en interagissant avec le cerveau sur la sécrétion d'hormones impliquées dans l'état de satiété (Frost *et al.*, 2014). Bref, les acides gras volatils sont de tous les combats pour l'organisme, ils permettent l'homéostasie énergétique, ils sont impliqués au niveau cérébral, hépatique, musculaire et pancréatique (Hu *et al.*, 2018)

1.4 L'alimentation des porcelets

1.4.1 Principe et but de l'alimentation à la dérobée

Dès leur plus jeune âge, les porcelets sont alimentés avec le lait maternel de la truie et une fois le sevrage fait, ceux-ci sont nourris à l'aide d'une moulée à base végétale moins

digestible (Heo *et al.*, 2013). En industrie, les pratiques ont engendré un sevrage beaucoup plus hâtif que naturellement, soit de 14 à 35 jours dans l'industrie moderne comparativement à 17 semaines d'âge lorsque le sevrage est fait de façon naturel (Barba-Vidal *et al.*, 2018; Gresse *et al.*, 2017). Étant donné que le sevrage est un événement excessivement stressant pour les porcelets sur le plan alimentaire, une méthode d'alimentation a été développée afin de réduire le stress causé par la transition alimentaire vécue lors de cet événement. Cette méthode se nomme « l'alimentation à la dérobee », c'est un principe de transition lente lors de laquelle les porcelets sont exposés à la moulée post-sevrage lors de la période de lactation, c'est-à-dire que la moulée est mise à disposition des porcelets dans les enclos (Christensen & Huber, 2021). L'objectif est donc de permettre à ceux-ci de s'habituer à la moulée plus rapidement et ainsi de combler un déficit nutritif chez certains individus, mais aussi de réduire le stress alimentaire engendré par le sevrage diminuant ainsi la période lors de laquelle les porcelets ne consommeraient pas d'aliments ce qui résulterait en une meilleure performance animale (Christensen & Huber, 2021). Toutefois, il est à noter que la consommation de la moulée distribuée à la dérobee est hautement variable autant entre les individus qu'entre les portées (Christensen & Huber, 2021).

1.4.2 Variabilité du poids à la naissance des porcelets au sein d'une même portée

L'industrie porcine, étant en constante évolution et toujours à la recherche d'une plus grande rentabilité a favorisé la sélection de truies très prolifiques produisant des portées plus nombreuses. Cette augmentation de la taille des portées n'est pas sans conséquence, en effet on observe une corrélation positive avec l'augmentation des cas de mortalité pré et post-natale avant le sevrage qui est principalement due à l'augmentation de la présence de porcelets de faible poids à la naissance dans les portées (Yuan *et al.*, 2015). Ces petits porcelets sont généralement plus à risque de mortalité que leurs consœurs et confrères de plus grande taille ce qui est directement corrélé avec un taux de survie à la baisse lorsque la variation du poids à la naissance des porcelets dans une même portée est augmentée (Yuan *et al.*, 2015). De plus, pour les producteurs, cette disparité de poids à la naissance entre les portées et dans une même portée engendre des coûts supplémentaires de gestion, ce qui n'est pas favorable pour eux (Yuan *et al.*, 2015).

Lors de la lactation, les porcelets de faible poids à la naissance sont nettement désavantagés lorsque vient le temps de se nourrir (Quesnel *et al.*, 2012). En effet une compétition à lieu, généralement se sont les porcelets plus gros et plus robustes qui ont accès

aux meilleures tétines laissant les porcelets plus frêles la plupart du temps sous-alimentés. Cette faible consommation de colostrum a un effet direct et négatif sur l'acquisition de l'immunité passive, mais aussi sur leur état nutritionnel (Yuan *et al.*, 2015). Le colostrum est la source alimentaire principale pour les nouveau-nés, c'est un aliment hautement digestible contenant divers nutriments importants, notamment des glucides, des acides gras, des protéines, des immunoglobulines, des facteurs de croissance et hormones qui sont tous nécessaires à la demande énergétique des porcelets en croissance, mais aussi à la maturation du système immunitaire et digestif (Dividich *et al.*, 2005; Yuan *et al.*, 2015). Hypothétiquement l'alimentation à la dérobée aiderait principalement les porcelets de faible poids à la naissance, ils pourraient donc compenser pour leur déficit nutritif en se nourrissant de la moulée présente dans les enclos en plus de faciliter la transition lors du sevrage.

1.5 Additifs alimentaires et santé intestinale porcine

1.5.1 Utilisation des antibiotiques dans l'industrie porcine

Depuis la découverte des antimicrobiens, ceux-ci ont été largement utilisés dans l'industrie agroalimentaire ce qui inclut l'industrie porcine, aviaire, bovine et autres. Ils représentent un outil important pour l'élevage animal. Les principales raisons de leur utilisation dans les grands centres porcins sont la prévention des maladies et la promotion de la croissance des porcelets (Holman & Chénier, 2015). L'administration d'antimicrobiens peut donc avoir lieu afin de : 1) traiter une infection digestive, cutanée, respiratoire, etc.; 2) prévenir une maladie infectieuse à un stade précis lors de l'élevage par mesure prophylactique ; 3) traiter par métaphylaxie un grand nombre d'animaux lorsqu'une maladie est observée dans une grande proportion de la population ; 4) promouvoir le taux de croissance et améliorer l'efficacité de la conversion alimentaire (Holman & Chénier, 2015; Viola & DeVincent, 2006). Ainsi, une administration subthérapeutique d'antimicrobiens permet d'améliorer la performance animale, de réduire le taux de mortalité, de morbidité et améliore les performances de reproduction (Cromwell, 2002). Lorsqu'administré à des niveaux intermédiaires, c'est principalement la prévention de maladies et à des niveaux élevés (thérapeutiques) c'est à des fins de guérison de maladies infectieuses (Cromwell, 2002).

Parmi les nombreux antibiotiques utilisés dans l'élevage porcin, les antibiotiques de la famille des tétracyclines comprenant la tétracycline, l'oxytétracycline et la chlortétracycline, font partie des antibiotiques les plus fréquemment utilisés dans l'industrie porcine (Chang *et al.*,

2014). La chlortétracycline, notamment, est couramment utilisée par mesure prophylactique et permet de favoriser la croissance des porcelets (Jindal *et al.*, 2006).

Or, malgré les nombreux bienfaits de l'utilisation des antimicrobiens dans l'élevage animal il devient impératif de minimiser au maximum l'utilisation de ceux-ci en agroalimentaire. Avec le faible développement de nouvelles molécules antimicrobiennes et la forte dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques dans notre environnement, le phénomène de l'antibiorésistance devient de plus en plus préoccupant (Gresse *et al.*, 2017). De plus, dû à l'augmentation du nombre de cas d'infections par des agents pathogènes résistants à divers antibiotiques il importe de réduire au strict minimum leur utilisation étant donné que l'antibiorésistance représente une réelle menace, et ce, autant pour la santé humaine que pour les animaux.

1.5.2 Le colostrum bovin comme additif alimentaire

Le colostrum bovin est le premier lait produit par les vaches dans les premiers jours suivants vêlage, et ce, afin de fournir au nouveau-né les besoins nutritifs et immunologiques dont il requiert (Rathe *et al.*, 2014; Sangild *et al.*, 2021). La différence entre le lait mature et le colostrum se trouve à être une ouverture partielle de la barrière sang/lait de la glande mammaire, ce qui rend le colostrum beaucoup plus nutritif que le lait mature (Arslan *et al.*, 2021; Sangild *et al.*, 2021). Cette différence se caractérise par une plus grande concentration d'acide gras, de protéine, d'azote non-protéique, de vitamines, de minéraux, d'hormones, de facteurs de croissance et de cytokines, en plus d'une concentration plus faible en lactose comparativement au lait mature (Arslan *et al.*, 2021). Ce fluide aurait évolué sous pression sélective afin de permettre le bon développement du système immunitaire précoce, mais aussi pour permettre un bon développement, maturation et intégrité du tube digestif des nouveau-nés qui est sensible et immature (Rathe *et al.*, 2014). Les effets du colostrum sont certainement spécifiques à l'espèce, mais certains de ses effets peuvent être partagés entre différentes espèces (Rathe *et al.*, 2014). Par conséquent, l'activité biologique et nutritionnelle du colostrum bovin dont les veaux profitent peut assurément bénéficier aux porcelets (Rathe *et al.*, 2014). Parmi les composés intéressants se retrouvant dans le colostrum bovin, on retrouve des molécules bioactives ayant des activités immunorégulatrices, antimicrobiennes et des facteurs de croissance (Bissonnette *et al.*, 2016).

Dans le cas de l'activité antimicrobienne et immunorégulatrice, ce sont des molécules variées de différentes natures qui permettent de protéger l'hôte face à des agents pathogènes, de moduler le système immunitaire, mais aussi de fournir une certaine immunité passive

(Menchetti *et al.*, 2016). L'activité antimicrobienne est principalement attribuée aux immunoglobulines, lactoferrines, lactoperoxydases, lysozymes, α -lactalbumines et les peptides dérivés de la caséine (Menchetti *et al.*, 2016). Pour ce qui est des oligosaccharides, gangliosides et nucléosides, ces molécules agissent comme faux récepteurs de cellules intestinales, protégeant ainsi l'hôte contre des agents pathogènes (Menchetti *et al.*, 2016). Les immunoglobulines se retrouvent en grande concentration dans le colostrum, celles-ci agissent non seulement en protégeant l'hôte contre des infections, mais elles fournissent aussi une certaine immunité passive et sont importantes, car les immunoglobulines maternelles ne peuvent pas traverser la barrière placentaire (Rathe *et al.*, 2014). Une protéine très importante pour la modulation du microbiote intestinal et qui est retrouvée en grande concentration dans le colostrum est la lactoferrine. C'est une glycoprotéine multifonctionnelle qui se lie au fer et qui possède des propriétés anti-infectieuses, antioxydante et immunorégulatrice (Arslan *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2019; Menchetti *et al.*, 2016; Rathe *et al.*, 2014). Elle agit directement contre plusieurs microorganismes et indirectement dans la modulation du microbiote intestinal et qui intervient selon un mécanisme de liaison aux polysaccharides et ayant des effets sur la régulation de la croissance (Arslan *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2019; Rathe *et al.*, 2014). Outre ses propriétés antimicrobiennes, cette glycoprotéine permet aussi la modulation de protéines immunitaires telles que les cytokines, les granulocytes, les macrophages, les cellules « natural killer » et les lymphocytes T et B (Menchetti *et al.*, 2016). En plus des lactoferrines on retrouve aussi une autre glycoprotéine importante, la lactoperoxydase. Les lactoperoxydases, elles, sont des enzymes antibactériennes inhibant le métabolisme bactérien et ayant un large spectre, c'est-à-dire qu'elles sont toxiques autant chez les bactéries à Gram positif que négatif et ont de plus une activité antivirale (Rathe *et al.*, 2014). En plus des glycoprotéines, on retrouve aussi des lysozymes, qui sont des enzymes de très grande importance, et qui un peu comme les lactoperoxydases, ont une activité antibactérienne autant contre les bactéries à Gram négatif que positif en séparant les peptidoglycanes de la paroi cellulaire provoquant ainsi la lyse des agents pathogènes (Menchetti *et al.*, 2016). Finalement, le colostrum bovin contrairement au lait mature est très riche en oligosaccharides, ces composés agissent comme prébiotiques et permettent une certaine modulation du microbiote intestinal favorisant ainsi des genres tels que *Bifidobacterium*, un genre associé à une amélioration de la fonction barrière de la muqueuse gastro-intestinale et aussi à une diminution de l'inflammation entérique (Arslan *et al.*, 2021).

En plus d'être intéressant pour son activité antimicrobienne et immuno-régulatrice, le colostrum est aussi reconnu pour ses nombreux facteurs de croissance qui permettent de moduler la croissance, la maturation, la fonction et la régénération de tissus comme les os, les

muscles, les nerfs, le cartilage et particulièrement la muqueuse gastro-intestinale (Menchetti *et al.*, 2016; Playford, 2001; Playford *et al.*, 2000). Parmi ceux-ci on retrouve notamment les facteurs de croissance de type insuline I et II (IGF-I et IGF-II), épidermique (EGF), transformant alpha et bêta (TGF- α et TGF- β), dérivés des plaquettes (PDGF) et endothélial vasculaire (VEGF) (Menchetti *et al.*, 2016).

Ainsi avec les nombreux bienfaits que présente le colostrum bovin, il est clair que ce dernier démontre un excellent potentiel comme additif alimentaire, mais encore mieux, le colostrum bovin qui est normalement un déchet de la production laitière sera réutilisé, encourageant ainsi une économie circulaire.

1.5.3 Les acides gras à chaîne moyenne comme additif alimentaire

Les acides gras à chaînes moyennes (AGCM) sont un groupe d'acide gras monocarboxylique contenant de 6 à 12 atomes de carbone, dont chacun possédant un nom systématique, soit respectivement l'acide hexanoïque (6C), octanoïque (8C), décanoïque (10C) et dodécanoïque (12C) (Hanczakowska, 2017). Toutefois, ils sont rarement utilisés à l'état pur dans l'alimentation animale étant donnée leur forte odeur désagréable (Hanczakowska, 2017; Lauridsen, 2020). Il est plus courant de les utiliser sous forme de triacylglycérols qui une fois hydrolysé par une lipase pré duodéal en AGCM, peuvent donc être absorbés par la muqueuse de l'estomac (Hanczakowska, 2017). Les AGCM sont généralement plus solubles dans l'eau et les liquides biologiques comparativement aux acides gras à longue chaîne en raison de leur poids moléculaire plus faible et de leur plus petite taille (Hanczakowska, 2017). De plus, ce type d'acide gras est directement absorbé dans la circulation sanguine de la veine porte hépatique et acheminé vers le foie pour une oxydation rapide, tandis que les acides gras à longue chaîne sont réassimilés en phospholipides et triacylglycérols à longue chaîne permettant donc à l'animal un accès à de l'énergie rapide et facilement disponible (Hanczakowska, 2017). En plus de leur apport énergétique, les AGCM libres et les monoglycérides démontrent aussi une activité antimicrobienne, ils sont capables de perturber les phospholipides membranaires de bactéries pathogènes et de virus à bicouche lipidique menant à l'inhibition de la croissance ou à la lyse cellulaire (Jackman *et al.*, 2020). De plus, les acides gras à chaînes moyennes sont aussi pourvus d'une activité immunorégulatrice. La monolaurine est particulièrement reconnue pour affecter les cellules immunitaires en raison des interactions membranaires liées aux voies de signalisation cellulaires en plus de diminuer la production de cytokines et de démontrer un effet immunosuppresseur qui peut être utile dans certaines applications anti-inflammatoires (Jackman *et al.*, 2020). D'autres AGCM tels que les acides caprylique, caprique et laurique ont

démontré pour leur part une capacité à améliorer la réponse immunitaire (Jackman *et al.*, 2020). De plus, selon de nombreuses études les AGCM améliorent la performance animale (Jackman *et al.*, 2020). Une alimentation supplémentée principalement avec les acides caprylique, caprique, caproïque et laurique selon différents mélanges et ratios a résulté en une meilleure prise de masse et une meilleure conversion alimentaire chez les porcelets sevrés, ce qui explique l'intérêt de ce type d'acide gras comme supplément alimentaire aux dépens des antibiotiques (Decuypere & Dierick, 2003; Hanczakowska, 2017; Hanczakowska *et al.*, 2011) .

1.5.4 Les avantages d'une supplémentation en extrait de levure

L'engouement autour de l'utilisation d'extrait de levure comme alternative à l'utilisation des antibiotiques dans l'alimentation animale est assez récent. Tout comme le colostrum bovin, les extraits de levure contiennent des composés bioactifs bénéfiques à la croissance et à la santé des porcelets (Gallois *et al.*, 2009). Parmi ces composés bioactifs intéressants, on retrouve notamment des nucléotides et des polysaccharides, des produits de la paroi cellulaire, plus particulièrement des β -glucans et des α -mannans (Waititu *et al.*, 2016). Lors du sevrage, les porcelets vont subir de nombreux changements physiologiques et anatomiques d'où l'importance des nucléotides. Les porcelets sevrés vont connaître une croissance rapide et importante des tissus, un processus qui dépend énormément de la disponibilité de l'ADN, l'ARN et l'ATP, dont la synthèse dépend de la biodisponibilité des nucléotides (Waititu *et al.*, 2016). En croissance les cellules immunitaires et entérocytes des porcelets prolifèrent, toutefois l'efficacité de leur réplication dépend directement de la disponibilité des nucléotides. De plus avec une alimentation pauvre en nucléotides et une faible consommation alimentaire due au sevrage, les porcelets font souvent face à des atrophies intestinales et une maturation lente des systèmes digestif et immunitaire, réduisant ainsi leur capacité de croissance et immunitaire (Waititu *et al.*, 2016). La supplémentation en extrait de levure permet donc d'augmenter les concentrations de nucléotides disponibles à l'organisme. En plus de nucléotides, la présence de polysaccharides dans l'extrait de levure permet un effet immunostimulant pour l'hôte (Waititu *et al.*, 2016). En effet, la présence de β -glucans, un polysaccharide présent dans la paroi cellulaire des levures, permet de prévenir l'augmentation de cytokines pro-inflammatoires tout en augmentant la production de cytokines anti-inflammatoires lorsqu'il y a présence de lipopolysaccharide (LPS) ou d'agents pathogènes (Li *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2005). On retrouve aussi un autre polysaccharide d'intérêt l' α -mannan, qui pour sa part, lorsque utilisé dans l'alimentation animale, est associé à une amélioration de la performance animale et à une meilleure efficacité alimentaire, en plus d'une présence accrue de macrophages dans le contenu luminal de

l'intestin (Davis *et al.*, 2004). Finalement, il est aussi possible que les polysaccharides complexes présents dans l'extrait de levure soient hydrolysés par les carbohydrases en oligosaccharides, ce qui aurait un effet prébiotique favorisant ainsi les communautés bactériennes fermentant ces oligosaccharides en acides gras volatils, un métabolite énergétique de haute importance pour l'organisme (Waititu *et al.*, 2016).

1.5.5 L'avoine nue dans l'alimentation porcine

Les produits céréaliers constituent la source d'énergie principale dans l'alimentation post-sevrage des animaux et sont choisis en fonction de leur composition nutritionnelle (Solà-Oriol *et al.*, 2009). L'avoine nue démontre un potentiel intéressant pour l'alimentation animale. Ce type de céréale présente une teneur en protéines de 17 à 24% supérieure comparativement à d'autres céréales et son énergie métabolisable est comparable à celle du blé, du maïs et du sorgho, en plus d'être riche en acides gras essentiels (Hsun & Maurice, 1992). De plus, l'intérêt entourant ce type de céréale est son effet prébiotique favorisant une communauté bactérienne bénéfique (Pieper *et al.*, 2008). En effet, l'avoine est principalement composée de carbohydrates, le substrat principal des bactéries fermentaires productrices d'AGVs, ce qui permet une certaine modulation du microbiote intestinal (Pieper *et al.*, 2008). De plus, on observe la présence de β -glucans et de polysaccharides non amylacés qui sont connus pour leurs effets modulateurs au niveau du microbiote intestinal et sur l'expression de facteurs inflammatoires de l'iléon et du côlon (Pieper *et al.*, 2008). L'avoine nue est donc une céréale à intérêt élevé, son incorporation dans l'alimentation animale semble une alternative prometteuse aux antibiotiques.

1.6 But, hypothèse et objectifs du projet

1.6.1 But

Ce projet vise à évaluer les effets des additifs alimentaires comme le colostrum bovin, l'extrait de levure et les acides gras à chaîne moyenne en combinaison avec une base alimentaire composée d'avoine nue dans l'alimentation porcine sur développement du microbiote intestinal afin de les utiliser comme alternatives à l'utilisation d'antibiotiques.

1.6.2 Hypothèse

Les traitements alimentaires comprenant de l'avoine nue, du colostrum bovin, des acides gras à chaîne moyenne et de l'extrait de levure sont d'excellentes alternatives à l'utilisation

d'antibiotiques, car ils améliorent la santé intestinale porcine en prévenant les dysbioses intestinales et améliorent les fonctions intestinales.

1.6.3 Objectifs

Analyser et caractériser le microbiote intestinal et les acides gras volatils de contenus intestinaux chez des porcelets de faible poids et de poids élevé à la naissance suivant des traitements alimentaires composés d'avoine nue, de colostrum bovin, d'acide gras à chaînes moyennes et d'extraits de levure.

2 CHAPITRE 1 : IMPACT OF GROWTH-PROMOTING ALTERNATIVES ON WEIGHT GAIN AND GUT MICROBIAL DIVERSITY AND ACTIVITY IN PIGLETS

Titre de l'article : Impact des substituts de croissance sur la prise de poids ainsi que sur la diversité et l'activité microbiennes intestinales des porcelets.

Auteurs :

Jason Palanee ^{1,2}, Nathalie Gagnon ², Karoline Lauzon ², Steve Méthot ², Mylène Blais ², Guylaine Talbot ², Frédéric Guay³, Martin Lessard ², Dominic Poulin-Laprade ² et Étienne Yergeau ¹.

Affiliations professionnelles:

¹Centre INRS-Institut Armand-Frappier, Institut national de la recherche scientifique, Laval, Qc, Canada

²Centre de recherche et de développement Agriculture et Agroalimentaire Canada, Sherbrooke, Qc, Canada

³Département des sciences animales, Université Laval, Québec, Qc, Canada

Titre de la revue ou de l'ouvrage :

Frontiers in Microbiology

Date de soumission : 13 décembre 2022

Pour la preuve de soumission, vous pouvez consulter l'ANNEXE.

Contribution des auteurs :

ML, GT, MB et EY ont élaboré le design expérimental. JP, KL, NG MB et ML ont participé aux échantillonnages. JP a effectué les extractions d'ADN, le dosage des AGV et les analyses bio-informatique qui ont suivi. JP et SM ont effectué les analyses statistiques. DPL, EY, MB, GT et ML on agit en tant que mentor tout au long des expérimentations. JP et EY ont rédigé l'article. L'article a donc été par la suite corrigé par NG, KL, SM, MB, GT, ML et DPL.

2.1 Abstract

In swine husbandry, weaning is a stressful event for piglets which causes environmental, nutritional, and psychological stress. These stresses imply numerous consequences including intestinal dysbiosis resulting in post-weaning diarrhea and weak animal performance. To counteract this issue, producers' resort to the use of in-feed antimicrobials to prevent post-weaning diarrhea, but also to act as growth factor meaning better animal performance. Unfortunately, with the alarming growth of antibiotic resistance, it is imperative to reduce antimicrobial use to a minimum. Among the alternative strategies with great potential, we find feed additives. Hence this study's interest on the effect of a growth and post-weaning feed consisting of a naked oat base supplemented with combinations of bovine colostrum, medium-chain fatty acids and yeast extract on gut microbial activity and animal performance. Quantifications of weight gain, intestinal pH, volatile fatty acids, and gut microbiota characterization was performed on ileum, cecum, and colon digests. Overall, the feed additives had limited impact on weight gain and the volatile fatty acids production. However, these have demonstrated a significant modulatory effect on gut microbiota which indicates that with a little bit of optimization they could act as an efficient alternative to antibiotic use in swine industry.

2.2 Introduction

In the swine industry, weaning is an event that has many consequences. This event is defined as a transition period during which piglets will undergo dietary, environmental and social changes (Campbell *et al.*, 2013; Gresse *et al.*, 2017). At birth, the piglets are suckling the mothers and therefore feed on their mother's milk and share the pen with the sow and the other members of the litter (Campbell *et al.*, 2013; Gresse *et al.*, 2017). Then comes the weaning, in modern swine industry this event takes place at 21 days of age compared to natural weaning which takes place at 17 weeks of age (Barba-Vidal *et al.*, 2018; Gresse *et al.*, 2017). Thus, at the time of weaning, the piglets will transition from lactation to a solid vegetable-based diet, less digestible, which promotes weight gain (Heo *et al.*, 2013). In addition to this feeding transition, the piglets are separated from the sow and are introduced into a new pen where they must establish the hierarchical order again (Barba-Vidal *et al.*, 2018). This sudden and unexpected event, which occurs while the piglets still have an immature immune system, is a major source of stress for the piglet, resulting in numerous physiological, immunological, and microbiological changes causing health problems, weak animal performance and in some cases, mortality (Barba-Vidal *et al.*, 2018; Campbell *et al.*, 2013; Gresse *et al.*, 2017; Heo *et al.*, 2013).

The conditions surrounding weaning often involve the development of intestinal dysbiosis which weakens the barrier role of the intestinal mucosa, making it more permeable to allergens and bacteria such as opportunistic pathogens resulting in enteric infections (Rhouma *et al.*, 2017; Wijtten *et al.*, 2011). These enteric infections are the cause of post-weaning diarrhea often associated with the proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains in the gastrointestinal tract (Rhouma *et al.*, 2017). To reduce the effects of weaning, cases of infections, and important economic losses, producers' resort to the use of in-feed antibiotics to allow a certain control of the bacterial diffusion, thus reducing the chances of infections (Barba-Vidal *et al.*, 2018; Gresse *et al.*, 2017). In addition to the prophylaxis and therapeutic aspect, antibiotics are commonly used in the swine industry as growth promoters due to their ability to promote weight gain and therefore, good animal performance (Campbell *et al.*, 2013; Gresse *et al.*, 2017; Holman & Chénier, 2015). In this lot, we find antibiotics such as salinomycin (category IV) but also antibiotics such as virginiamycin which is a category II antibiotic. These two antibiotics are mainly used as growth promoters usually in low concentrations, which is a practice that unfortunately leads to the development of antibiotic resistance genes (McLaren-Almond, 2019).

The mismanagement and misuse of antimicrobials, not only in agri-food, but everywhere, has led to the development, and appearance of the phenomenon of antibiotic resistance (Gresse *et al.*, 2017). A global problem, threatening both animal and human health (Gresse *et al.*, 2017). Many bacterial strains, including pathogens, have developed antimicrobial resistance through mutations, and have also acquired antibiotic resistance genes through horizontal transfer (Gresse *et al.*, 2017; Verstegen & Williams, 2002). In many cases, for example in the *Enterobacteriaceae* family, strains are resistant to most antibiotics including those of last resort (Gresse *et al.*, 2017). Hence, there's significant international concern about this phenomenon. With the development and spread of antimicrobial resistance genes in our environment, the consequences for animal health could be disastrous. A decrease in the availability and accessibility of antimicrobials to treat infections could lead to major problems in terms of animal welfare, mortality rates, and consequently significant financial losses for producers as well as an increase in consumer prices (O'Neill, 2015).

To minimize the impact of antibiotic resistance and to prevent the spread of antibiotic resistant genes in our environment, new regulations have been put in place to minimize the use of antimicrobials in the food animal industry. Thus, it is important to further investigate different alternatives to the use of antibiotics in agri-food (Barba-Vidal *et al.*, 2018). Currently many

research teams are studying the potential of food additives as an alternative to the use of antibiotics (Verstegen & Williams, 2002). Different food supplements seems to be very promising, and there are a multitude of them, each with a different mechanisms of action (Langlais, 2019). However, the common objectives of all additives are to control the presence of pathogens while maintaining good intestinal health and promoting good animal performance (Langlais, 2019). Among the different types of known feed additives, bovine colostrum, medium-chain fatty acids, yeast extract and naked oats have shown the most interesting potential (Bissonnette *et al.*, 2016; Brousseau *et al.*, 2015). These compounds have properties that promote antimicrobial and immunoregulatory activities, as well as good animal performance (Bissonnette *et al.*, 2016; Brousseau *et al.*, 2015; Szewczyk *et al.*, 2013).

First, bovine colostrum contains bioactive molecules with immunoregulatory and antimicrobial properties that are essential for the development of the immune system (Bissonnette *et al.*, 2016). In addition, it also contains oligosaccharides and antimicrobial peptides that are essential to the establishment of different bacterial populations in the intestine, among other things by inhibiting the growth of pathogenic bacteria (Bissonnette *et al.*, 2016). The interest surrounding the supplementation of yeast extract comes from the fact that it contains several active components such as enzyme, nucleic acids, but also cell wall products such as β -glucan and mannans (Bissonnette *et al.*, 2016). These polysaccharides have shown complementary prebiotic, antimicrobial, and immunological effects (Lo Verso *et al.*, 2020). Finally, with the supplementation of medium-chain fatty acids, but also with naked oats, the benefits of these compounds lie in their ability to increase appetite and therefore a better animal performance (Lauridsen, 2020; Świątkiewicz *et al.*, 2020). In addition, medium-chain fatty acids are an excellent source of energy, as well as having antimicrobial properties and allowing for proper intestinal development (Hanczakowska *et al.*, 2013; Świątkiewicz *et al.*, 2020).

However, it is not clear how these supplements compare to antibiotics in their capacity to modulate the gut microbiota as a whole and if this affects important gut microbiota functions, such as the production of volatile fatty acids (VFA). When shifting from a liquid to a solid vegetable-based diet during weaning, the presence of VFA-producing bacteria is crucial to metabolize the non-digestible carbohydrates and maximize piglets' weight gain (Deleu *et al.*, 2021; Jiao *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2019). The presence of VFA-producing bacteria such as *Bacteroidetes*, *Eubacterium* and *Coprococcus*, among others, allows the production of acetate, propionate, and butyrate, which are the three main volatile fatty acids produced by the gut microbiota (Deleu *et al.*, 2021). The production of acetate is generally well spread among the

various bacterial classes, which unlike butyrate and propionate are rather specific to the substrates (Deleu *et al.*, 2021). There are two possible metabolic pathways to produce propionate, these are the succinate pathway used by the *Bacteroidetes* and some *Firmicutes*, but also the propanediol pathway used by the *Lachnospiraceae*. Regarding the production of butyrate it is specifically through the presence of enzymes such as butyrate kinase, used by bacteria of the *Coproccoccus* genus, or by the presence of butyryl CoA:acetate CoA transferase, used by bacteria such as *Eubacterium* (Deleu *et al.*, 2021). VFAs have several beneficial effects on the metabolism (Jiao *et al.*, 2020). They are the most important source of energy for colonocytes, allowing their growth and proliferation and thus reducing the harmful effects of weaning on colon physiology (Zhou *et al.*, 2019).

Our hypothesis was that by their effect on the piglet gut microbiota, feed additives will result in increased VFA concentrations and consequently increased weight gains, to a level similar to the antibiotic supplements. Thus, the overall objective of this study was to evaluate the potential of feed treatments including feed additives such as bovine colostrum, medium-chain fatty acids, yeast extract and naked oats on the development of the gut microbiota, the production of VFAs and on the weight gain of 26-days-old low and high birth weight piglets (4 days post weaning).

2.3 Materials and methods

2.3.1 Animal and experimental design

Experimental procedures followed the “Canadian Council of Animal Care” guidelines for the care and use of farm animals in research, teaching, and testing (Olfert *et al.*, 1993) and were approved by the Institutional Animal Care Committee of Sherbrooke Research and Development Centre. All animals were cared for and slaughtered in accordance with the National Farm Animal Care Council’s code of practice for the care and handling of pigs (Devillers *et al.*, 2012). Seventy sows were used to conduct this project, in which we were able to collect various samples between October 2018 and February 2020. At piglet’s birth, sows, and their litter (12 piglets) were assigned to one of 5 experimental treatments in a randomized complete block design. In summary, there were 13 blocks of five litters each with one litter per treatment per block. Dietary supplements used for comparison of physiological and immune parameters include a base feed of 35% naked oats (CTRL) which was supplemented with 5% BC or with 0.08% MCFA and 0.08% YE and finally a combination including 5% BC, 0.08% MCFA and 0.08% YE. A final dietary treatment was also used in this study, which consisted of

Abase supplemented with 0.10% chlortetracycline (CTC). During lactation, creep feeding was started at 7 days of age and the same feed was used for the first two weeks after weaning. On the day 35 of age, all piglets were fed with the same piglet growth diet until the end of the nursery phase. Among piglets of each litter, two low birth weights (LBW) ranging between 1.0-1.25 kg and two high birth weights (HBW) ranging between 1.5-1.7 kg were selected. The selected piglets were euthanized at weaning (day 22 of age) or 4 days post-weaning (day 26) for blood, tissues, and intestinal content sampling.

2.3.2 Euthanasia of piglets

Euthanasia was performed to collect blood samples, tissue, and intestinal contents. It was done by exsanguination, however, before this step, the piglets were injected with Stresnil (2.5 mg/kg) acting as a tranquilizer and were then stunned with a matador-type slaughter gun. Once euthanized, tissues such as liver, mesenteric ganglion, mucosa of the ileum, jejunum and colon were removed. The contents of the ileum, cecum, and colon were also collected in addition to the pH which was measured in the fecal digestates of the cecum and colon, mainly for this study.

2.3.3 Weight gain

The weights of piglets were recorded at birth and on days 1, 7, 14, 22, 26, 35, and 42.

2.3.4 Analysis of volatile fatty acids (VFA)

The analysis of volatile fatty acids was performed by Perkin-Elmer gas chromatography. During the preparation of the samples, they were first diluted 2/7 and then centrifuged (12 000 X g, 15 min). The supernatant was then collected and mixed with 0.5M sulfuric acid and centrifuged again (12 000 X g, 15 min). The supernatant of the acidified-centrifuged sample was collected and mixed with the internal standard (2-ethyl-butyric). A cup of Dowex 50W X8 resin was added to the internal standard-supernatant mixture. Finally, the solution (with the resin) was filtered into gas chromatography flask and analyzed.

2.3.5 DNA extraction

DNA extraction was performed using the QIAamp® DNA Stool Mini Kit (cat. No. 51504) according to the manufacturer's instruction (QIAGEN, Hilden, Germany) with the following modification: Cell lysis was performed by taking 350 µl of digest, which was mixed with 0.4 g

zirconia bead, a solution of 1 ml of resuspension buffer + 0.5% β -mercaptoethanol and 200 μ l of 10% SDS previously heated to 70°C. The whole was homogenized with a vortex, then the cells were lysed by beadbeater. The samples were then incubated at 70 °C for 15 min, and then centrifuged (16 000X g, 15 min) at 4°C. Nucleic acid precipitation was done by taking a corresponding volume between 650 and 800 μ l of supernatant and was mixed with 200 μ l of 10M ammonium acetate, then incubated on ice for 5 min. The supernatant- ammonium acetate mixture was then centrifuged (16 000X g, 15 min) at 4°C. The supernatant was then transferred to a tube containing an equivalent volume of isopropanol and incubated 30 min on ice. Once the incubation was complete, the samples were centrifuged (16 000X g, 15 min) at 4°C. The supernatant was decanted, and the nucleic acid pellet was washed with ethanol two times. Finally, the nucleic acid pellet was rehydrated with 200 μ l of TE 1X at pH 7.4. The extracted DNA was then purified following the manufacturer's instruction and eluted in 200 μ l molecular grade water. For all samples, the DNA presence and integrity were verified by electrophoresis in 1% agarose gel.

2.3.6 DNA quantification

NanoDrop® and Quant-iT PicoGreen® were used to measure the concentration of the purified DNA from the digestate samples. To perform the quantification by PicoGreen, the Molecular Probe kit from Invitrogen including the following reagents: PicoGreen 200X in DMSO; 20X TE, 200 mM Tris-HCl, 20 mM EDTA, pH 7.5; Lambda DNA Standard Solution, 100 μ g/mL in TE, pH 7.5 was used and the fluorescence of the samples was measured in black 96-well flat-bottom plates using the Tecan Safire fluorometer.

2.3.7 DNA sequencing

To characterize the gut microbiota of the piglets, the DNA samples were transferred to the Centre d'expertise et de service Genome Quebec (Montreal, Canada), where amplicon library preparation and DNA sequencing by Illumina MiSeq was performed. During sequencing, a cycle 500 kit with 250 base pair in both directions was done. No controls were performed during sequencing; however, no template controls were performed during PCR analysis and these showed no amplification. The bacterial V4 hypervariable region of the 16S rDNA gene were amplified using the primer set 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') and 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') (Correa-García *et al.*, 2021; Wasimuddin *et al.*, 2020). Based on different studies, this prokaryotic primer pair produced the highest estimations of

species richness and diversity in all sample categories, as well as the most diversity coverage of reference databases in in silico primer analysis (Wasimuddin *et al.*, 2020).

2.3.8 Bioinformatic analysis

Once the samples were sequenced, the sequencing center provided us with the resulting output of demultiplexed reads without barcodes or adapters. All subsequent analyses were performed in the R environment (Team, 2021). The demultiplexed reads were then analyzed using the DADA2 bioinformatic pipeline (version 1.16) in which reads went through a quality profile inspection and were then trimmed based on it to learn the error rates were from the parametric error model (Barnes *et al.*, 2020; Callahan *et al.*, 2016; Wasimuddin *et al.*, 2020). After applying the core sample inference algorithm to the filtered and trimmed sequence data, the paired reads were merged to be able to build the amplicon sequence variant (ASV) table. Once the ASV table constructed, the chimeras were removed, and the sequence variants were assigned to the accurate taxonomy using the naive Bayesian classifier method against the Silva v138.1 nonredundant database (Barnes *et al.*, 2020; Callahan *et al.*, 2016; Quast *et al.*, 2012).

2.3.9 Statistical analysis

R (version 4.1.0) was used for basic statistical analysis on data following bioinformatic analysis. We investigated the microbial diversity for each sample using the Shannon index and the number of observed species, two indices representing the alpha diversity, which were calculated with the *otuSummary* package (Yang, 2018). We evaluated the normality of our data with a Shapiro-Wilk test, and since the distribution did attain normality, we performed a univariate analysis of variance using ANOVA followed by Tukey's honestly significant difference (HSD) post hoc tests. At the 0.05 level, differences were judged significant.

Using the *Adonis* function from *vegan* package, PERMANOVA analyses investigated the interaction between treatments in the microbial communities through 9999 permutations. Finally, using normalized ASV tables and Bray-Curtis's dissimilarity index generated with the *vegan* package, non-metric multidimensional scaling (NMDS) was used to analyze variations in community composition and between treatments (Oksanen, 2011). Finally, the *ggplot2* package was used to make all the graphs (Wickham *et al.*, 2019).

Furthermore, other statistical analysis was performed using SAS on data concerning weight gain, intestinal pH, and volatile fatty acid concentration. Regarding the weight gain data, a repeated measures analysis of variance on a complete randomized block design (N=410)

using the number of piglets per litter as a weight for the mean value of a litter. Since there was a significant interaction between treatments and age, it is known that differences between treatments are not similar at each day. An analysis at each measurement time was therefore necessary to properly interpret this interaction.

As in the case of weight gain, the effect of feeding treatment should be tested on the average of the two piglets of the same litter. Piglets selected for slaughter were selected based on birth weight (BW), so the BW effect is a subplot factor on the litter. Age at slaughter is a factor of the same type as slaughter weight. BW and age are therefore cross-litter factors. The sampling site, on the other hand, corresponds to a repeated measurement on the sample unit that is the piglet. The presence of several interactions in these results requires an analysis for each site separately. Further analysis with a simpler model (split-plot) shows differences between treatments almost everywhere. The lack of interaction indicates that the effects in the treatments are similar for low-birth-weight piglets (LBW) and high birth weight piglets (HBW).

Volatile fatty acids (VFA) measurements were presented in mg/L. For consistency in multivariate analysis (PCA) analyses of variance, these data have been reduced to percentages of the total (sum of VFAs). The total VFAs are also analyzed by the overall model. The analysis of variance of the full model on the total VFAs shows results that require additional analysis for each site separately. In addition, an analysis of variance for each site and each age separately was done, as well as an analysis of variance for each VFA.

2.4 Results

2.4.1 Animal performance

The piglets were weighed for a total of 7 times at different days of age, i.e. at days 1, 7, 14, 22, 26, 35 and 42. All piglets followed a similar growth curve (Figure 1), with the exception of the piglets of the antibiotic control group, which, at day 35 and 42 of age, were significantly heavier than the piglets of the other treatment groups (D35; $p = 0.0002$ and D42; $p = 0.0018$).

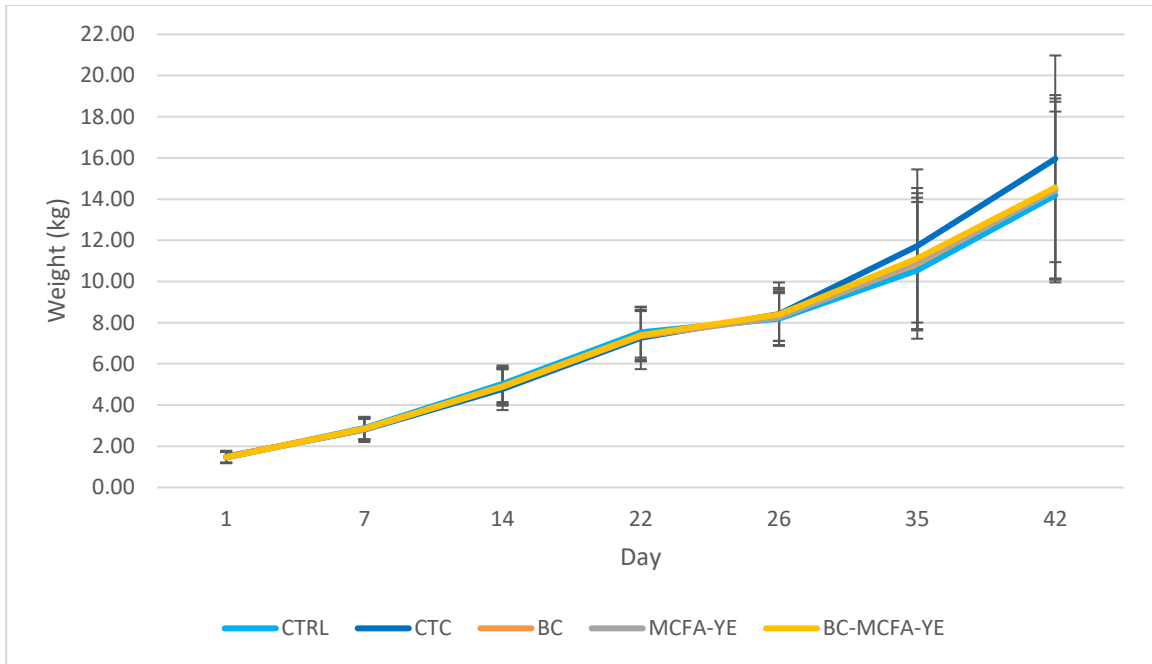


Figure 1 : Animal performance of piglets under feed treatments from day 1 to day 42 of age.

2.4.2 Intestinal pH

No significant difference between the treatments was observed for the pH of the intestinal contents of the cecum (Figure 2a). In contrast, the pH of the intestinal contents of the colon was significantly lower in the BC-MCFA-YE treatment as compared to the antibiotic control ($p = 0.0348$) and the MCFA-YE treatment ($p = 0.0192$). The piglet birth weight had no significant effect on the pH of the intestinal content of the cecum or the colon.

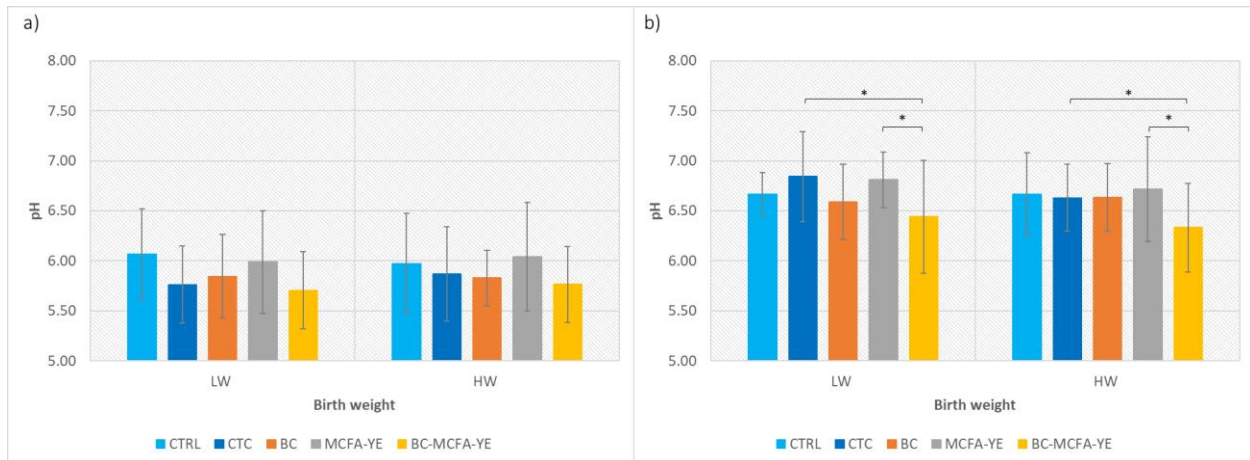


Figure 2 : pH of the intestinal content of the (a) cecum and (b) colon of piglets of low birth (LBW) and high birth weight (HBW) for different feed treatments.

2.4.3 Volatile fatty acids (VFA)

Treatments did not significantly affect the concentration of acetate, propionate, or butyrate in the cecum (Figure 3a, b, c). Similarly, the treatments did not affect the acetate and propionate concentrations in the colon content (Figure 3d, e). However, the concentration of butyrate in colon digestates, was significantly affected by the feed treatments (Figure 3f). The MCFA-YE fed piglets had a significantly lower concentration when compared to the antibiotic control piglets ($p = 0.0202$) and the BC-MCFA-YE piglets ($p = 0.0493$), for both low and high birth weight piglets. Moreover, we note the presence of a birth weight effect at the cecal level on propionate ($p = 0.0323$) and butyrate ($p = 0.0268$) concentrations, but also at the colonic level for propionate ($p = 0.0179$) concentrations.

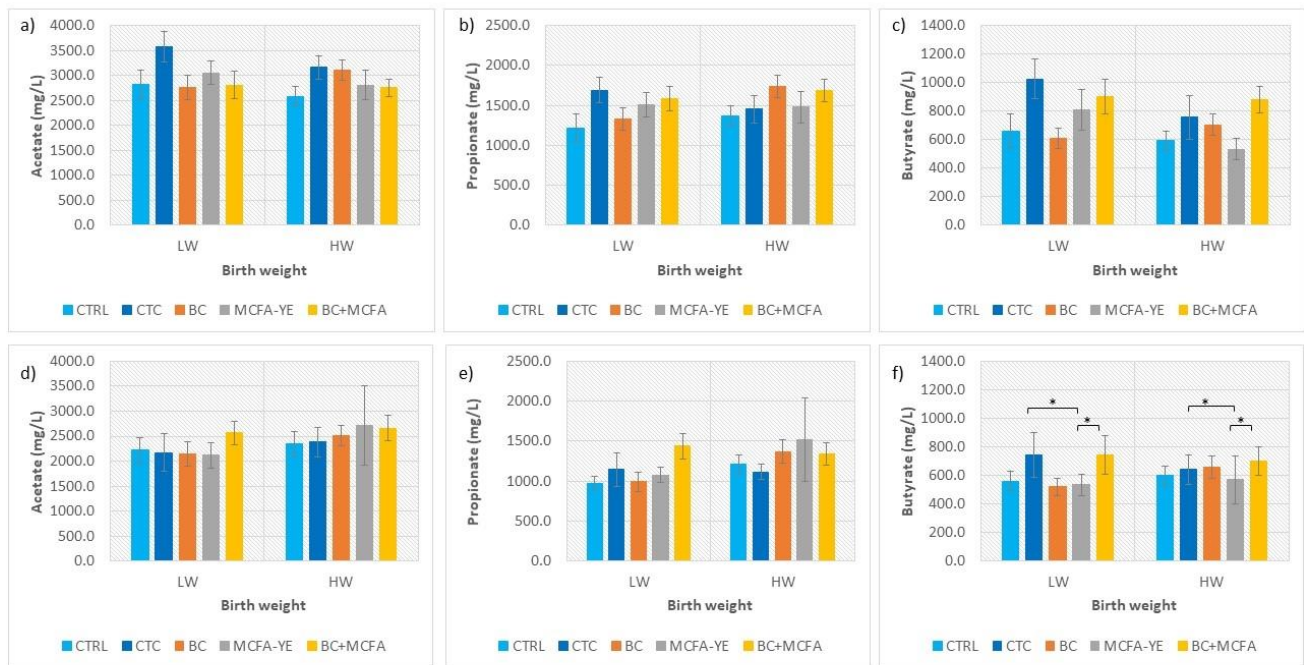


Figure 3: Concentrations of acetate (a and d), propionate (b and e), and butyrate (c and f) found in cecum (a, b, and c) and colon (d, e, and f) digestates of piglets of low birth weight (LBW) and high birth weight (HBW) for different feed treatments.

2.4.4 16S rRNA gene amplicon sequencing

Bacterial alpha diversity

The different treatments and the birth weights did not significantly affect the Shannon diversity index nor the number of observed ASVs, both for the ileum and the cecum (Figure 4).

For both the Shannon index and the number of observed ASVs, the numbers were lower in the ileum as compared to the cecum (Figure 4).

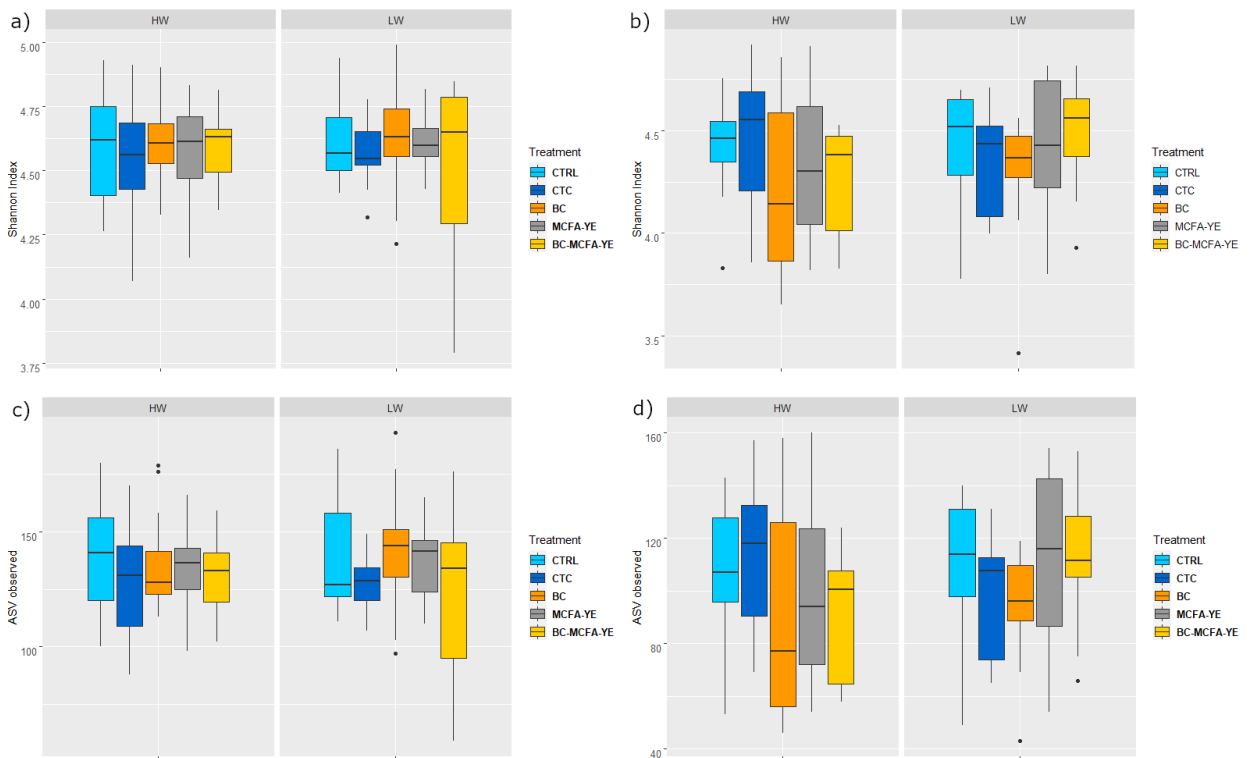


Figure 4 : Shannon diversity (a and b) and number of observed ASVs (c and d) based on 16S rRNA gene amplicon sequencing of cecum (a and c) and ileum (b and d) digestate samples from piglets of low birth weight (LBW) and high birth weight (HBW).

Bacterial community structure

Non-metric multidimensional scaling ordinations based on Bray-Curtis's dissimilarity showed no clear clustering of the samples by treatment (Figure 5). However, ANOSIM showed that treatments had significant effects on the bacterial community structure in the cecum ($R = 0.0598$, $p = 0.0005$) (Figure 5a), but not in the ileum ($R = 0.00737$, $p = 0.279$) (Figure 5b).

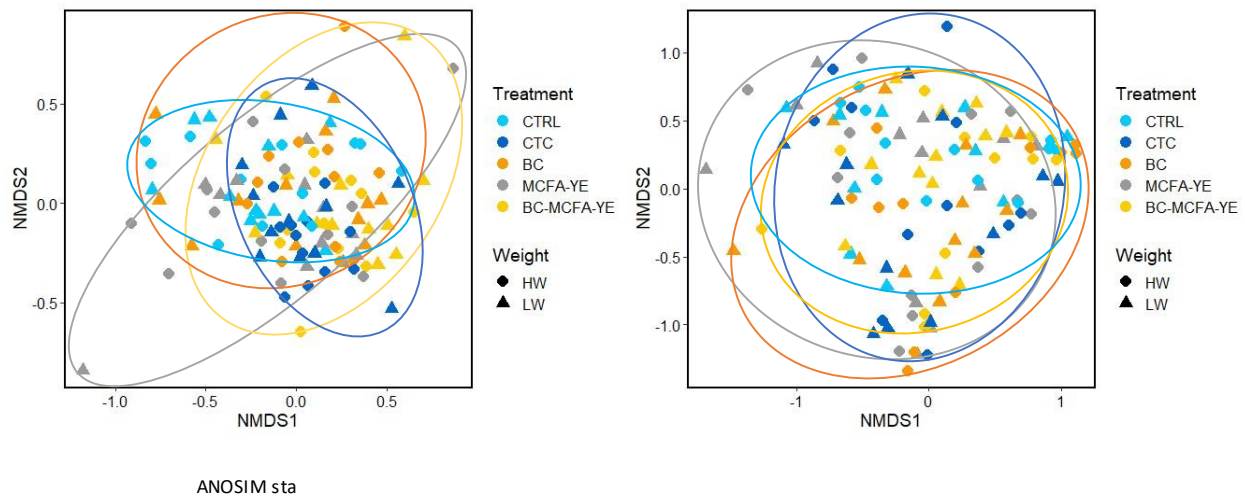


Figure 5 : Non-metrical multidimensional scaling analysis (NMDS) and ANOSIM tests based on Bray-Curtis's dissimilarity at the genus level for cecum (a) and ileum (b) digestates.

Community composition

The relative abundances of abundant (>0.5% of all reads) bacterial phyla and genus present in the cecum and ileum are presented in Figure 6. For the cecum at the phylum level (Figure 6a), the *Bacteroidota* and *Firmicutes* represented more than 95% of the bacterial community, with the *Spirochaetota* and *Proteobacteria* phyla also present at a level greater than 0.5%. Pairwise PERMANOVA analyses for the genus relative abundance in the cecum revealed significant differences between the treatments (Figure 6c). The cecum bacterial genus-level community of the BC-MCFA-YE showed a significant difference from three other treatments, namely the CTRL ($p = 0.001$), CTC ($p = 0.001$) and BC ($p = 0.019$). Furthermore, a significant difference was also observed between the antibiotic controls and the CTRL and BC treatments ($p = 0.003$ and $p = 0.022$, respectively). No significant effect of piglet birth weight was recorded, so the values were averaged across birth weights.

As for the bacterial community composition at the phylum level in the ileum, the *Firmicutes* represented more than 75% of the bacterial phyla detected (Figure 6b). *Proteobacteria* represented between 10 to 20% of the bacterial community and *Bacteroidota* were only present above the 0.5% threshold for the MCFA-YE treatment. At the genus level,

pairwise PERMANOVA revealed significant differences between the CTC and CTRL treatments ($p = 0.003$), and between the CTRL and MCFA-YE treatments ($p = 0.049$). As for the cecum, there was no significant effect of birth weight on the bacterial community composition in the ileum.

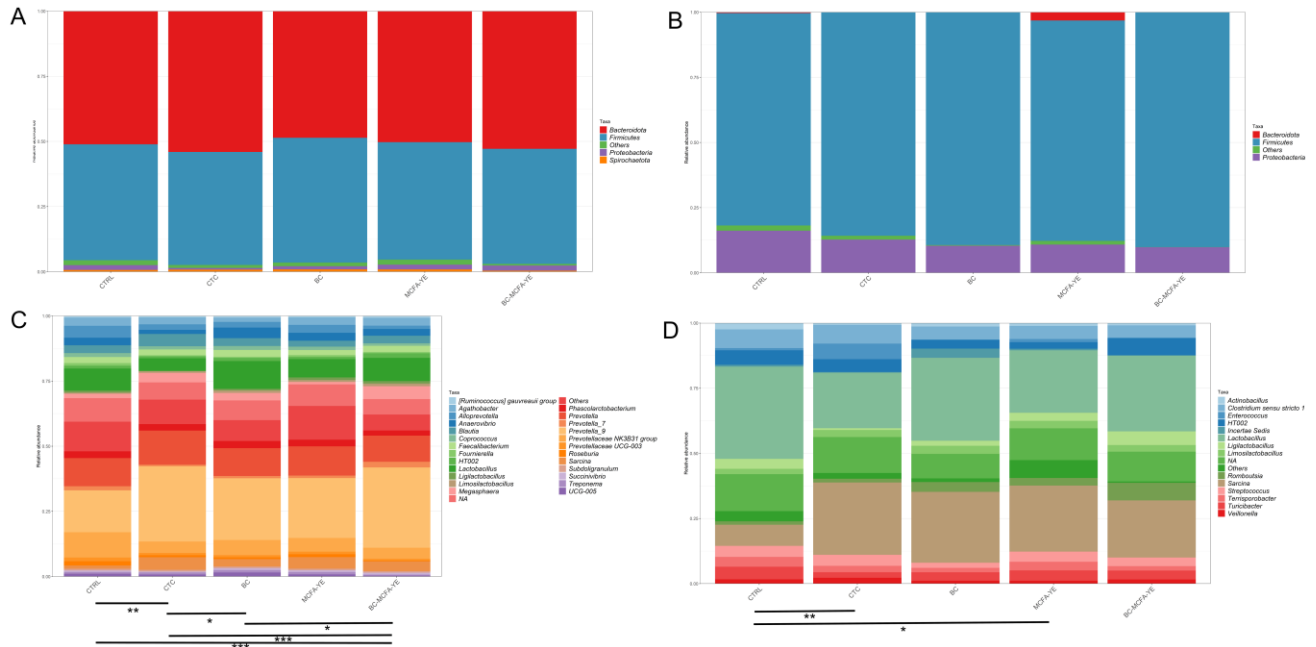


Figure 6: Bacterial community composition at the phylum (a and b) and genus (c and d) levels for cecum (a and c) and ileum (b and d) digestates of piglets subjected to various feed treatments. Values for piglets of low birth weight (LBW) et high birth weight (HBW) were not statistically different and were averaged for this figure. Only taxa having a relative abundance above 0.5% are shown here. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.001$ in pairwise PERMANOVA tests.**

2.5 Discussion

There is a dire need to find alternatives to antibiotics as food supplements in the swine production industry. Here, we compared the effects of three promising additives, bovine colostrum (BC), medium-chain fatty acids (MCFA), and yeast extract (YE) to a positive control of chlortetracycline (CTC) and an unamended negative control (CTRL). We measured piglet weights, intestinal pH, volatile fatty acids (VFA) and sequenced their gut microbiota. As expected, the antibiotic control resulted in the largest shift in the microbial community composition, but still, significant shifts from the negative control were observed at the genus level for the combined treatment in the cecum and for the MCFA-YE treatment in the ileum. This microbial shift did not result in significant changes in volatile fatty acid concentrations nor pH in the cecum or colon as compared to the negative control, although there was a trend toward

higher concentrations of VFA in the cecum for the antibiotic treatment, especially for the low-birth-weight piglets. Coherent with this lack of important changes in the VFA, the piglets of all treatments weighed the same at the time of sampling (day 26). However, the chlortetracycline piglets went on to be heavier than all the other piglets by days 35 and 42. This could be because chlortetracycline increases feed intake (Faccin *et al.*, 2020). In addition to this increase in food intake, it is possible that the trends observed in the microbiota and VFA concentrations at day 26 piglets resulted in changes in the weight of piglets later.

The selected dietary supplements were previously shown to improve swine gut health, robustness, and general performance (Jackman *et al.*, 2020; Lauridsen, 2020; Menchetti *et al.*, 2016; Świątkiewicz *et al.*, 2020; Waititu *et al.*, 2016; Wong *et al.*, 2014). Many of these traits are linked to modulations in the gut microbiota (Frese *et al.*, 2015; Lauridsen, 2020; Poulsen *et al.*, 2017; Song *et al.*, 2018), so the first step was to characterize the effect of these additives on the piglets' gut microbiota as compared to antibiotic and untreated feeds. As expected, and as previously reported (Holman & Chénier, 2014; Ma *et al.*, 2021), chlortetracycline supplementation led to significant shifts in the piglets' gut microbiota, both in the cecum and in the ileum. In the cecum, this shift was mainly due to an increase in the relative abundance of some *Prevotellaceae* genera and a decrease in the relative abundance of *Lactobacillus*. *Prevotella spp.* are generally associated with the consumption of plant polysaccharides, elements found in the post-weaning diet (Ivarsson *et al.*, 2014), and their predominance could favor VFA production (Frese *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2018). The relative abundance of the genus *Sarcina* also increased in the antibiotic treatment. As this genus is often associated with gastric ulcers in humans, dog, and horses and with gastric dilatation that can lead to death in cattle, cats, and horses (Al Rasheed & Senseng, 2016), it could be indicative of a certain level of dysbiosis. The combined treatment (BC-MCFA-YE) led to similarly significant shifts when compared to the controls, but without the large reduction in *Lactobacillus* observed in the antibiotic treatment. As *Lactobacillus* are recognized for their potential in preventing infection or colonization by pathogens through competition for nutrients and binding sites in epithelium and by the production of antimicrobial factors such as lactic acid and bacteriocins (Su *et al.*, 2008), their relatively higher abundance in the combined treatment as compared to the antibiotic treatment could indicate an intestinal microbiota that would be more resistant to pathogens. However, this trait was not evaluated in the current study that focused on piglet weight gain. The changes in the ileal microbiota were more subtle and, at the genus level, only the antibiotic and MCFA-YE treatments were significantly different from the control. Both treatments showed increased levels of *Sarcina* and decreased levels of *Lactobacillus*. The antibiotic treatment also

increased the relative abundance of *Enterococcus* as compared to the control, which could be explained by the heightened resistance to antibiotics of the members of this genus (Badul *et al.*, 2021). Taken together our results are showing that some of the feeding treatments did significantly modulate the piglets' cecal and ileal microbiota in a way similar to the shifts induced by antibiotic supplements. This is particularly interesting since previous studies had often shown an overriding effect of litter (maternal transmission) or environment on the piglet microbiota around the weaning period, with little to no effects of feed supplements (den Besten *et al.*, 2013; Vigers *et al.*, 2016).

The shifts observed in the cecum microbial community were not mirrored in the VFA concentrations, as no significant differences were observed between the treatments. Shifts in microbial communities measured by amplicon sequencing might not directly translate into functional shifts in the gut functions for many reasons. First, because of functional redundancy, taxonomical shifts might go unnoticed at the functional level. Second, not all the taxa that shifted are involved in the production of VFA. Third, the taxa that shifted, even if they are known to produce VFA, might not be actively producing them at the moment of sampling. Our results are coherent with previous studies that showed very little changes in cecal VFA concentration following the use of antibiotics (Peng *et al.*, 2019) and various feed additives (Awati *et al.*, 2006). However, there were significant differences between some of the treatments in terms of butyrate concentration in the colon. As butyrate is the main energy source for the colonic epithelial cells (Wong *et al.*, 2006), this could impact the energy metabolism of the piglets. These differences seem to have resulted in a lower colonic pH for the combined treatment, but not for the antibiotic control, potentially indicating a difference in the absorption of the VFA. Previous studies had shown that there is no motive why the VFA concentrations reflect the short-chain fatty acid flux to the host and therefore, additional energy harvesting (den Besten *et al.*, 2013). This being said, it is therefore difficult to develop this hypothesis. The lack of data on actual VFA fluxes and metabolic processes regulated by them currently prevents us from better understanding and interpreting the results obtained such as the level of short-chain fatty acid, results that do not necessarily reflect the flux changes (den Besten *et al.*, 2013). Overall, there were no significant differences with the unamended control diet, and we could not link that to the microbial communities as we did not sequence the colon samples, so more work would be necessary to link the effect of the feed additives used to the energy metabolism in the gut.

The cecum is the main region of VFA production, where the bacterial community ferments non-digestible carbohydrates and produces metabolites such as short-chain fatty acid

(Lauridsen, 2020). These metabolites are known to have numerous benefits to the host organism, including for the energy metabolism (Wong *et al.*, 2006). Coherent with the lack of significant effects in the cecal VFA concentrations, we did not observe significant differences in the average weight of the piglets on the day of sampling (day 26). However, the antibiotic-supplemented piglets were significantly heavier at days 35 and 42, which could be due to the trends observed in the cecal VFA at day 26, with higher concentrations in the antibiotic treatment, especially for the low-birth-weight piglets. It could also have been linked to the shifts observed in the microbiota, especially the increase in the VFA-producing *Prevotella*. Sampling the microbiota of the piglets later after weaning might help answer some of these questions.

Our results suggest that it is possible to use various non-antimicrobial feed additives to significantly modulate the microbiota of piglets as early as four days after weaning. Although the treatments did not have the expected downstream effects on VFA production and piglet weight gain, our results are promising as they are one of the few examples where the microbiota of 4-day post-weaning piglets could be significantly modulated. With some further optimization, the treatments could very well result in the expected changes in piglet weight and provide an efficient alternative to antibiotic supplements. These alternatives are urgently needed to solve the global antimicrobial resistance crisis.

3 DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION

3.1 Discussion

À ce jour, l'industrie porcine fait face à de nombreux défis afin de garder cette pratique rentable. Tout d'abord, le nombre élevé de porcelets de faible poids à la naissance est une problématique de plus en plus commune. Celle-ci est due aux sélections génétiques et aux truies hyper prolifiques qui permettent des portées beaucoup plus nombreuses, mais qui à la fois, génère aussi des porcelets de faible poids à la naissance plus nombreux (Yuan *et al.*, 2015). L'augmentation de la présence de ces petits porcelets entraîne de nombreux défis aux producteurs. Ceux-ci doivent notamment adapter leurs installations, mais aussi faire le possible afin d'éviter la mortalité pré-sevrage qui entraîne des pertes économiques importantes. Les porcelets de faible poids à la naissance sont reconnus pour être particulièrement susceptibles à la mortalité pré-sevrage pour différents facteurs dont le manque de nutrition par exemple (Yuan *et al.*, 2015). Les producteurs doivent notamment se conformer aux nouvelles normes entourant l'utilisation d'antimicrobiens dans l'alimentation animale. Cette pratique était fréquemment utilisée afin de faciliter la transition lors du sevrage, un évènement hautement stressant environnementalement, psychologiquement et nutritionnellement pour les porcelets (Heo *et al.*, 2013). Les conséquences du sevrage sont nombreuses. On compte notamment des dysbioses intestinales et une réduction de la consommation des aliments qui entraîne des diarrhées post-sevrage et une faible performance animale (Heo *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2018). Ainsi l'utilisation d'antibiotiques dans l'alimentation animale permet de diminuer les cas d'infections entériques, mais aussi d'optimiser la performance animale (Holman & Chénier, 2015). Toutefois, au cours des dernières décennies, le phénomène de l'antibiorésistance a pris de plus en plus d'ampleur et est devenu une préoccupation internationale majeure (Gresse *et al.*, 2017). Dû à son impact sur la santé humaine et animale et au faible développement de nouvelles molécules antimicrobiennes, il est plus qu'important de minimiser l'utilisation de ces antimicrobiens afin d'éviter le pire. Ainsi pour remédier à la situation de nombreux pays à travers le monde, des gouvernements ont notamment décidé de réduire et restreindre l'utilisation d'antimicrobiens dans l'alimentation animale, une source de dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement.

Afin d'aider les producteurs à se conformer aux nouvelles restrictions, mais aussi de façon à garder la pratique rentable, il est important de travailler sur des alternatives à l'utilisation d'antibiotique. Des alternatives qui permettent à la fois une bonne performance animale, mais

aussi d'atténuer les conséquences négatives du sevrage. Ainsi, notre étude visait donc à évaluer les effets d'un aliment constitué d'une base d'avoine nue supplémentée avec différentes combinaisons d'additifs alimentaires tels que le colostrum bovin, les acides gras à chaîne moyenne et de l'extrait de levure sur le développement du microbiote intestinal, sur la performance animale et leur potentiel comme alternatives à la chlortétracycline, un antibiotique largement utilisé dans l'industrie porcine. Selon notre hypothèse de départ, les traitements alimentaires composés d'avoine nue, de colostrum bovin, d'acides gras à chaîne moyenne et d'extraits de levure se présentent comme d'excellentes alternatives aux antibiotiques, du fait qu'ils améliorent la santé intestinale porcine en prévenant les dysbioses intestinales et améliorent les fonctions intestinales, tout cela par la modulation du microbiote intestinal. Or, pour l'instant, cette hypothèse ne peut être confirmée ou infirmée.

Tout d'abord, le premier aspect évalué lors de cette étude a été le potentiel de ces additifs alimentaires sur l'amélioration de la performance animale de porcelets sevrés. D'après les résultats obtenus, le contrôle antibiotique démontre un meilleur gain de poids moyen par jour à partir du jour 35 d'âge, comparativement aux autres groupes traitements à l'étude. C'est donc dire que les additifs alimentaires d'intérêt comprenant le colostrum bovin, des acides gras à chaîne moyenne et de l'extrait de levure ne permettent pas de reproduire au minimum les mêmes performances animales retrouvées lors d'une supplémentation à l'antibiotique chlortétracycline. Toutefois, ceci est une conclusion qui pour l'instant semble quelque peu hâtive, étant donné un manque de données qui pourraient expliquer ce phénomène. Ainsi, en rajoutant dans le design expérimental une méthode fiable permettant un suivi de la quantité de moulée supplémentée consommée par les porcelets lors de l'alimentation à la dérobée, c'est-à-dire la moulée traitée mise à la disposition des porcelets lors de la période de lactation, cela permettrait d'identifier le réel impact de ces traitements sur le gain de poids des porcelets sevrés. Cet ajout au protocole pourrait expliquer la différence sur le gain de poids moyen par jour entre le groupe CTC et les autres traitements alimentaires. Bref, est-ce que les porcelets du groupe CTC ont mangé plus de moulée que les autres lors de la lactation ? C'est une question importante qui reste sans réponse, ceci pourrait donc avoir permis à ces porcelets une transition alimentaire plus aisée et donc une plus faible réduction de l'ingestion alimentaire ce qui résulte en fin de compte à une meilleure performance animale. Ainsi il est difficile de conclure pour l'instant si les additifs alimentaires à l'étude peuvent démontrer un effet sur le gain de poids moyen par jour comparable à des antibiotiques tel que la chlortétracycline, il est donc nécessaire d'effectuer des analyses supplémentaires et complémentaires à l'étude actuelle.

Le deuxième aspect étudié a été la capacité modulateur de ces additifs alimentaires sur le microbiote intestinal des porcelets. La caractérisation du microbiote intestinal a été effectuée par séquençage Illumina MiSeq de la région V4 codant pour l'ARNr 16S de bactéries présentes dans les digestats du cæcum et de l'iléon. De plus, en complémentarité, un dosage des acides gras volatils présents dans les digestats du cæcum et du colon a été effectué par chromatographie en phase gazeuse afin d'évaluer la concentration de ces métabolites produits par la communauté bactérienne présente dans l'intestin. Globalement, les résultats indiquent que certains des traitements alimentaires, notamment ceux comprenant une supplémentation en acides gras à chaîne moyenne et en extrait de levure (MCFA-YE) et la combinaison colostrum bovin, acides gras à chaîne moyenne et extrait de levure (BC-MCFA-YE) ont démontré des effets modulateurs significatifs sur les communautés bactériennes caecales et iléales et ce, de façon similaire aux changements induits par le contrôle antibiotique. Si l'effet modulateur sur le microbiote intestinal est bien présent de la part de certains des traitements alimentaires, leurs effets sur la production des AGVs quant à elle semblent quelque peu limités ou du moins, très subtils. En effet, même si les additifs alimentaires permettent la modulation de la communauté bactérienne caecale et iléale des porcelets sevrés, ces changements ne se traduisent pas nécessairement directement sur la production des AGVs. De nombreuses raisons expliquent ce phénomène, notamment la redondance fonctionnelle, mais aussi le moment de l'échantillonnage, moment où la production d'AGV n'est pas nécessairement à son apogée, c'est-à-dire lorsque la fermentation de tous les carbohydrates non-digestibles a été complétée. Bref, concernant la production des AGVs, aucune différence significative n'a été observée vis-à-vis le contrôle négatif. C'est uniquement pour la concentration du butyrate au niveau du colon que l'on observe des différences significatives entre certains traitements. Toutefois, lorsqu'on analyse les données de pH colique, celles-ci ne concordent pas toutes. Ce qui indiquerait possiblement des fluctuations au niveau de l'absorption du butyrate dépendamment des additifs alimentaires. De plus, avec les résultats obtenus, il est impossible de relier les données de concentrations d'AGV colique avec la population bactérienne concernée étant donné que le séquençage des digestats présent dans le colon n'a pas été effectué. Malgré tout, ceci est particulièrement intéressant du fait que nos traitements alimentaires sont capables de moduler le microbiote intestinal de façon similaire au contrôle antibiotique, toutefois des travaux supplémentaires sont nécessaires concernant le métabolisme énergétique impliquant le butyrate, mais aussi au niveau de la population bactérienne colique.

3.2 Conclusion

L'objectif de ce mémoire était d'évaluer le potentiel des additifs alimentaires comprenant le colostrum bovin, les acides gras à chaîne moyenne et l'extrait de levure en tant qu'alternatives à l'utilisation de la chlortétracycline dans l'alimentation porcine et leurs effets sur la performance animale et sur la diversité et l'activité bactérienne des communautés formant le microbiote intestinal des porcelets suivant la période du sevrage. Trois facteurs principaux ont été analysés afin de compléter l'objectif, tout d'abord, une analyse de la performance animale a été effectuée, mais aussi la caractérisation du microbiote intestinal au niveau caecal et iléal, en complémentarité avec une analyse de la concentration des principaux AGVs présents dans les digestats du cæcum et du colon. Lorsque toutes les analyses sont rassemblées, deux traitements parmi la totalité étudiée sortent particulièrement du lot. Les traitements comprenant une supplémentation en acides gras à chaîne moyenne et en extrait de levure (MCFA-YE) et celui composé de la combinaison colostrum bovin, acides gras à chaîne moyenne et extrait de levure (BC-MCFA-YE) sont particulièrement intéressants par le fait qu'ils modulent le microbiote intestinal des porcelets de façon assez similaire au contrôle antibiotique, la chlortétracycline. Malgré tout, de nombreux travaux de recherche sont toujours nécessaires afin d'optimiser et de s'assurer la fiabilité de ces additifs alimentaires qui pour l'instant démontrent un potentiel fort intéressant.

4 BIBLIOGRAPHIE

- Al Rasheed MRH & Senseng CG (2016) *Sarcina ventriculi*: Review of the Literature. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 140(12):1441-1445.
- Arslan A, Kaplan M, Duman H, Bayraktar A, Ertürk M, Henrick BM, Frese SA & Karav S (2021) Bovine Colostrum and Its Potential for Human Health and Nutrition. *Frontiers in Nutrition* 8.
- Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto JM, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen HB, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal EG, Wang J, Guarner F, Pedersen O, de Vos WM, Brunak S, Doré J, Antolín M, Artiguenave F, Blottiere HM, Almeida M, Brechot C, Cara C, Chervaux C, Cultrone A, Delorme C, Denariáz G, Dervyn R, Foerstner KU, Friss C, van de Guchte M, Guedon E, Haimet F, Huber W, van Hylckama-Vlieg J, Jamet A, Juste C, Kaci G, Knol J, Lakhdari O, Layec S, Le Roux K, Maguin E, Mérieux A, Melo Minardi R, M'Rini C, Muller J, Oozeer R, Parkhill J, Renault P, Rescigno M, Sanchez N, Sunagawa S, Torrejon A, Turner K, Vandemeulebrouck G, Varela E, Winogradsky Y, Zeller G, Weissenbach J, Ehrlich SD & Bork P (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473(7346):174-180.
- Avoli M & Krnjević K (2016) The Long and Winding Road to Gamma-Amino-Butyric Acid as Neurotransmitter. *Can J Neurol Sci* 43(2):219-226.
- Awati A, Williams BA, Bosch MW, Gerrits WJJ & Verstegen MWA (2006) Effect of inclusion of fermentable carbohydrates in the diet on fermentation end-product profile in feces of weanling piglets1. *Journal of animal science* 84(8):2133-2140.
- Badul S, Abia ALK, Amoako DG, Perrett K, Bester LA & Essack SY (2021) From the Farms to the Dining Table: The Distribution and Molecular Characteristics of Antibiotic-Resistant Enterococcus spp. in Intensive Pig Farming in South Africa. *Microorganisms* 9(5).
- Barba-Vidal E, Martín-Orúe SM & Castillejos L (2018) Review: Are we using probiotics correctly in post-weaning piglets? *Animal : an international journal of animal bioscience* 12(12):2489-2498.
- Barnes CJ, Rasmussen L, Asplund M, Knudsen SW, Clausen M-L, Agner T & Hansen AJ (2020) Comparing DADA2 and OTU clustering approaches in studying the bacterial communities of atopic dermatitis. *Journal of Medical Microbiology* 69(11):1293-1302.
- Bindels LB, Porporato P, Dewulf EM, Verrax J, Neyrinck AM, Martin JC, Scott KP, Buc Calderon P, Feron O, Muccioli GG, Sonveaux P, Cani PD & Delzenne NM (2012) Gut microbiota-derived propionate reduces cancer cell proliferation in the liver. *Br J Cancer* 107(8):1337-1344.
- Bissonnette N, Jiang XR, Matte JJ, Guay F, Talbot G, Bontempo V, Gong J, Wang Q & Lessard M (2016) Effect of a post-weaning diet supplemented with functional feed additives on ileal transcriptome activity and serum cytokines in piglets challenged with lipopolysaccharide. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 182:136-149.

- Boets E, Deroover L, Houben E, Vermeulen K, Gomand SV, Delcour JA & Verbeke K (2015) Quantification of in Vivo Colonic Short Chain Fatty Acid Production from Inulin. *Nutrients* 7(11):8916-8929.
- Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, Lieber AD, Wu F, Perez-Perez GI, Chen Y, Schweizer W, Zheng X, Contreras M, Dominguez-Bello MG & Blaser MJ (2016) Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Science Translational Medicine* 8(343):343ra382-343ra382.
- Brousseau J-P, Talbot G, Beaudoin F, Lauzon K, Roy D & Lessard M (2015) Effects of probiotics *Pediococcus acidilactici* strain MA18/5M and *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *boulardii* strain SB-CNCM I-1079 on fecal and intestinal microbiota of nursing and weanling piglets. *Journal of animal science* 93(11):5313-5326.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA & Holmes SP (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13(7):581-583.
- Campbell JM, Crenshaw JD & Polo J (2013) The biological stress of early weaned piglets. *Journal of animal science and biotechnology* 4(1):19.
- Canada S (2021) *Table 32-10-0202-01 Hogs statistics, number of farms reporting and average number of hogs per farm, semi-annual.* Statistics Canada, <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tbl1/en/tv.action?pid=3210020201>
- Chang BV, Hsu FY & Liao HY (2014) Biodegradation of three tetracyclines in swine wastewater. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 49(6):449-455.
- Chen L, Xu Y, Chen X, Fang C, Zhao L & Chen F (2017) The Maturing Development of Gut Microbiota in Commercial Piglets during the Weaning Transition. *Frontiers in microbiology* 8.
- Christensen B & Huber L-A (2021) The effect of creep feed composition and form on pre- and post-weaning growth performance of pigs and the utilization of low-complexity nursery diets. *Translational Animal Science* 5(4).
- Correa-García S, Rheault K, Tremblay J, Séguin A, Yergeau E & Cann I (2021) Soil Characteristics Constrain the Response of Microbial Communities and Associated Hydrocarbon Degradation Genes during Phytoremediation. *Applied and Environmental Microbiology* 87(2):e02170-02120.
- Council CP (2021) *Canadian Pork Council.* <https://www.cpc-ccp.com/francais/resources>
- Cromwell GL (2002) Why and how antibiotics are used in swine production. *Anim Biotechnol* 13(1):7-27.
- Davis ME, Maxwell CV, Erf GF, Brown DC & Wistuba TJ (2004) Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. *Journal of animal science* 82(6):1882-1891.
- Decuypere JA & Dierick NA (2003) The combined use of triacylglycerols containing medium-chain fatty acids and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to in-feed antibiotics in piglets: concept, possibilities and limitations. An overview. *Nutrition Research Reviews* 16(2):193-210.
- Deleu S, Machiels K, Raes J, Verbeke K & Vermeire S (2021) Short chain fatty acids and its producing organisms: An overlooked therapy for IBD? *eBioMedicine* 66.

- den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ & Bakker BM (2013) The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res* 54(9):2325-2340.
- Devillers N, Faucitano L, Robert Friendship D, Widowski TM, Ringgenberg N & Possberg F (2012) CODE OF PRACTICE FOR THE CARE & HANDLING OF PIGS: REVIEW OF SCIENTIFIC RESEARCH ON PRIORITY ISSUES.
- Dividich JL, Rooke JA & Herpin P (2005) Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. *The Journal of Agricultural Science* 143(6):469-485.
- Downes J, Dewhirst FE, Tanner AC & Wade WG (2013) Description of *Alloprevotella rava* gen. nov., sp. nov., isolated from the human oral cavity, and reclassification of *Prevotella tanneriae* Moore et al. 1994 as *Alloprevotella tanneriae* gen. nov., comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 63(Pt 4):1214.
- Faccin JEG, Tokach MD, Allerson MW, Woodworth JC, DeRouchey JM, Dritz SS, Bortolozzo FP & Goodband RD (2020) Relationship between weaning age and antibiotic usage on pig growth performance and mortality. *Journal of animal science* 98(12).
- Frese SA, Parker K, Calvert CC & Mills DA (2015) Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. *Microbiome* 3(1):28.
- Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdan S, Brody L, Anastasovska J, Ghourab S, Hankir M, Zhang S, Carling D, Swann JR, Gibson G, Viardot A, Morrison D, Louise Thomas E & Bell JD (2014) The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun* 5:3611.
- Gallois M, Rothkötter HJ, Bailey M, Stokes CR & Oswald IP (2009) Natural alternatives to in-feed antibiotics in pig production: can immunomodulators play a role? *Animal : an international journal of animal bioscience* 3(12):1644-1661.
- Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL & Blumberg RS (2016) How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 352(6285):539-544.
- Gomaa EZ (2020) Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek* 113(12):2019-2040.
- Gresse R, Chaucheyras-Durand F, Fleury MA, Van de Wiele T, Forano E & Blanquet-Diot S (2017) Gut Microbiota Dysbiosis in Postweaning Piglets: Understanding the Keys to Health. *Trends in microbiology* 25(10):851-873.
- Hanczakowska E (2017) The Use of Medium-Chain Fatty Acids in Piglet Feeding – A Review. *Annals of Animal Science* 17(4):967-977.
- Hanczakowska E, Szewczyk A & Okoń K (2011) Effects of dietary caprylic and capric acids on piglet performance and mucosal epithelium structure of the ileum. *Journal of Animal and Feed Sciences* 20(4):556-565.
- Hanczakowska E, Szewczyk A, Swiatkiewicz M & Okoń K (2013) Short- and medium-chain fatty acids as a feed supplement for weaning and nursery pigs. *Pol J Vet Sci* 16(4):647-654.
- Heo JM, Opapeju FO, Pluske JR, Kim JC, Hampson DJ & Nyachoti CM (2013) Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 97(2):207-237.

- Holman DB & Chénier MR (2014) Temporal changes and the effect of subtherapeutic concentrations of antibiotics in the gut microbiota of swine. *FEMS Microbiol Ecol* 90(3):599-608.
- Holman DB & Chénier MR (2015) Antimicrobial use in swine production and its effect on the swine gut microbiota and antimicrobial resistance. *Canadian Journal of Microbiology* 61(11):785-798.
- Holman DB & Chénier MR (2015) <Antimicrobial use in swine production and its effect on the swine gut microbiota and.pdf>.
- Hsun CL & Maurice DV (1992) Nutritional value of naked oats (*Avena Nuda*) in laying hen diets. *British Poultry Science* 33(2):355-361.
- Hu J, Lin S, Zheng B & Cheung PCK (2018) Short-chain fatty acids in control of energy metabolism. *Crit Rev Food Sci Nutr* 58(8):1243-1249.
- Hu J, Nie Y, Chen J, Zhang Y, Wang Z, Fan Q & Yan X (2016) Gradual Changes of Gut Microbiota in Weaned Miniature Piglets. *Frontiers in microbiology* 7:1727.
- Hu P, Zhao F, Zhu W & Wang J (2019) Effects of early-life lactoferrin intervention on growth performance, small intestinal function and gut microbiota in suckling piglets. *Food Funct* 10(9):5361-5373.
- Isaacson R & Kim HB (2012) The intestinal microbiome of the pig. *Animal Health Research Reviews* 13(1):100-109.
- Ivarsson E, Roos S, Liu HY & Lindberg JE (2014) Fermentable non-starch polysaccharides increases the abundance of *Bacteroides*–*Prevotella*–*Porphyromonas* in ileal microbial community of growing pigs. *Animal : an international journal of animal bioscience* 8(11):1777-1787.
- Jackman JA, Boyd RD & Elrod CC (2020) Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. *Journal of animal science and biotechnology* 11:44.
- Jiao A, Yu B, He J, Yu J, Zheng P, Luo Y, Luo J, Mao X & Chen D (2020) Short chain fatty acids could prevent fat deposition in pigs via regulating related hormones and genes. *Food & Function* 11(2):1845-1855.
- Jindal A, Kocherginskaya S, Mehboob A, Robert M, Mackie RI, Raskin L & Zilles JL (2006) Antimicrobial Use and Resistance in Swine Waste Treatment Systems. *Applied and Environmental Microbiology* 72(12):7813-7820.
- Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P & Bäckhed F (2016) From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* 165(6):1332-1345.
- Konopka A (2009) What is microbial community ecology? *The ISME journal* 3(11):1223-1230.
- Langlais M (2019) *Modulation de l'action antimicrobienne in vitro d'extraits de plantes en condition de compétition par un dérivé de microbiote d'origine fécale porcine* (Université de Montreal).
- Lauridsen C (2020) Effects of dietary fatty acids on gut health and function of pigs pre- and post-weaning. *Journal of animal science* 98(4).

- Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, Almeida M, Arumugam M, Batto J-M & Kennedy S (2013) Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500(7464):541-546.
- Li J, Li DF, Xing JJ, Cheng ZB & Lai CH (2006) Effects of beta-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Journal of animal science* 84(9):2374-2381.
- Li J, Xing J, Li D, Wang X, Zhao L, Lv S & Huang D (2005) Effects of beta-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on humoral and cellular immunity in weaned piglets. *Arch Anim Nutr* 59(5):303-312.
- Li N, Huang S, Jiang L, Dai Z, Li T, Han D & Wang J (2019) Characterization of the Early Life Microbiota Development and Predominant *Lactobacillus* Species at Distinct Gut Segments of Low- and Normal-Birth-Weight Piglets. *Frontiers in microbiology* 10:797.
- Li Y, Guo Y, Wen Z, Jiang X, Ma X & Han X (2018) Weaning Stress Perturbs Gut Microbiome and Its Metabolic Profile in Piglets. *Scientific Reports* 8(1):18068.
- Liu H, Zeng X, Zhang G, Hou C, Li N, Yu H, Shang L, Zhang X, Trevisi P, Yang F, Liu Z & Qiao S (2019) Maternal milk and fecal microbes guide the spatiotemporal development of mucosa-associated microbiota and barrier function in the porcine neonatal gut. *BMC biology* 17(1):106.
- Lo Verso L, Talbot G, Morissette B, Guay F, Matte JJ, Farmer C, Gong J, Wang Q, Bissonnette N, Beaulieu C & Lessard M (2020) The combination of nutraceuticals and functional feeds as additives modulates gut microbiota and blood markers associated with immune response and health in weanling piglets. *Journal of animal science* 98(8).
- Ma X, Yang Z, Xu T, Qian M, Jiang X, Zhan X & Han X (2021) Chlortetracycline alters microbiota of gut or faeces in pigs and leads to accumulation and migration of antibiotic resistance genes. *Sci Total Environ* 796:148976.
- Mach N, Berri M, Estelle J, Levenez F, Lemonnier G, Denis C, Leplat JJ, Chevaleyre C, Billon Y, Dore J, Rogel-Gaillard C & Lepage P (2015) Early-life establishment of the swine gut microbiome and impact on host phenotypes. *Environmental microbiology reports* 7(3):554-569.
- McLaren-Almond C (2019) *Antimicrobial Use in Ontario Swine Nurseries*. (University of Guelph).
- Menchetti L, Traina G, Tomasello G, Casagrande-Proietti P, Leonardi L, Barbato O & Brecchia G (2016) Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases. *FBS* 8(2):331-351.
- Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, Belzer C, Palacio SD, Montes SA, Mancabelli L, Lugli GA, Rodriguez JM, Bode L, Vos Wd, Gueimonde M, Margolles A, Sinderen Dv & Ventura M (2017) The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 81(4):e00036-00017.
- Montagne L, Boudry G, Favier C, Le Huërou-Luron I, Lallès JP & Sève B (2007) Main intestinal markers associated with the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. *The British journal of nutrition* 97(1):45-57.
- O'Neill J (2015) Antimicrobials in agriculture and the environment : reducing unnecessary use and waste. *Wellcome collection*.

- Oksanen J (2011) vegan: Community Ecology Package. R package version 1.17-9. <http://cran.r-project.org/package=vegan>.
- Olfert ED, Cross BM & McWilliam AA (1993) *Guide to the care and use of experimental animals*. Canadian Council on Animal Care Ottawa,
- Peng M, Wang Z, Peng S, Zhang M, Duan Y, Li F, Shi S, Yang Q & Zhang C (2019) Dietary supplementation with the extract from *Eucommia ulmoides* leaves changed epithelial restitution and gut microbial community and composition of weanling piglets. *PloS one* 14(9):e0223002.
- Pieper R, Jha R, Rossnagel B, Van Kessel AG, Souffrant WB & Leterme P (2008) Effect of barley and oat cultivars with different carbohydrate compositions on the intestinal bacterial communities in weaned piglets. *FEMS Microbiology Ecology* 66(3):556-566.
- Playford RJ (2001) Peptide therapy and the gastroenterologist: colostrum and milk-derived growth factors. *Clinical Nutrition* 20:101-106.
- Playford RJ, Macdonald CE & Johnson WS (2000) Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(1):5-14.
- Poulsen A-SR, de Jonge N, Sugiharto S, Nielsen JL, Lauridsen C & Canibe N (2017) The microbial community of the gut differs between piglets fed sow milk, milk replacer or bovine colostrum. *British Journal of Nutrition* 117(7):964-978.
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J & Glöckner FO (2012) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research* 41(D1):D590-D596.
- Quesnel H, Farmer C & Devillers N (2012) Colostrum intake: Influence on piglet performance and factors of variation. *Livestock Science* 146(2):105-114.
- Rathe M, Müller K, Sangild PT & Husby S (2014) Clinical applications of bovine colostrum therapy: a systematic review. *Nutrition Reviews* 72(4):237-254.
- Rhouma M, Fairbrother JM, Beaudry F & Letellier A (2017) Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Veterinaria Scandinavica* 59(1):31.
- Sangild PT, Vonderohe C, Melendez Hebib V & Burrin DG (2021) Potential Benefits of Bovine Colostrum in Pediatric Nutrition and Health. *Nutrients* 13(8):2551.
- Solà-Oriol D, Roura E & Torrallardona D (2009) Feed preference in pigs: effect of cereal sources at different inclusion rates. *Journal of animal science* 87(2):562-570.
- Song Y, Malmuthuge N, Li F & Guan LL (2018) Colostrum feeding shapes the hindgut microbiota of dairy calves during the first 12 h of life. *FEMS Microbiology Ecology* 95(1).
- Su Y, Yao W, Perez-Gutierrez ON, Smidt H & Zhu W-Y (2008) Changes in abundance of *Lactobacillus* spp. and *Streptococcus suis* in the stomach, jejunum and ileum of piglets after weaning. *FEMS Microbiology Ecology* 66(3):546-555.
- Świątkiewicz M, Hanczakowska E, Okoń K, Kowalczyk P & Grela ER (2020) Effect of Maternal Diet and Medium Chain Fatty Acids Supplementation for Piglets on Their Digestive Tract Development, Structure, and Chyme Acidity as Well as Performance and Health Status. *Animals* 10(5):834.

- Szewczyk A, Hanczakowska E, Świątkiewicz M & Okoń K (2013) Short- and medium-chain fatty acids as a feed supplement for weaning and nursery pigs. *Polish Journal of Veterinary Sciences DOI - 10.2478/pjvs-2013-0092* (No 4).
- Team RC (2021) R: A Language and Environment for Statistical Computing. in *R Foundation for Statistical Computing*.
- Ursell LK, Clemente JC, Rideout JR, Gevers D, Caporaso JG & Knight R (2012) The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J Allergy Clin Immunol* 129(5):1204-1208.
- Verstegen MWA & Williams BA (2002) ALTERNATIVES TO THE USE OF ANTIBIOTICS AS GROWTH PROMOTERS FOR MONOGASTRIC ANIMALS. *Animal Biotechnology* 13(1):113-127.
- Vigors S, Sweeney T, O'Shea CJ, Kelly AK & O'Doherty JV (2016) Pigs that are divergent in feed efficiency, differ in intestinal enzyme and nutrient transporter gene expression, nutrient digestibility and microbial activity. *Animal : an international journal of animal bioscience* 10(11):1848-1855.
- Viola C & DeVincent SJ (2006) Overview of issues pertaining to the manufacture, distribution, and use of antimicrobials in animals and other information relevant to animal antimicrobial use data collection in the United States. *Preventive Veterinary Medicine* 73(2):111-131.
- Waititu SM, Yin F, Patterson R, Rodriguez-Lecompte JC & Nyachoti CM (2016) Short-term effect of supplemental yeast extract without or with feed enzymes on growth performance, immune status and gut structure of weaned pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Journal of animal science and biotechnology* 7:64.
- Walker RW, Clemente JC, Peter I & Loos RJF (2017) The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatric obesity* 12 Suppl 1:3-17.
- Wasimuddin, Schlaeppli K, Ronchi F, Leib SL, Erb M & Ramette A (2020) Evaluation of primer pairs for microbiome profiling from soils to humans within the One Health framework. *Molecular Ecology Resources* 20(6):1558-1571.
- Wei W, Sun W, Yu S, Yang Y & Ai L (2016) Butyrate production from high-fiber diet protects against lymphoma tumor. *Leuk Lymphoma* 57(10):2401-2408.
- Wickham H, Averick M, Bryan J, Chang W, McGowan LDA, François R, Golemund G, Hayes A, Henry L & Hester J (2019) Welcome to the Tidyverse. *Journal of open source software* 4(43):1686.
- Wijten PJ, van der Meulen J & Verstegen MW (2011) Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning: a review. *The British journal of nutrition* 105(7):967-981.
- Wong EB, Mallet J-F, Duarte J, Matar C & Ritz BW (2014) Bovine colostrum enhances natural killer cell activity and immune response in a mouse model of influenza infection and mediates intestinal immunity through toll-like receptors 2 and 4. *Nutrition Research* 34(4):318-325.
- Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A & Jenkins DJ (2006) Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol* 40(3):235-243.
- Yang C, Zhang L, Cao G, Feng J, Yue M, Xu Y, Dai B, Han Q & Guo X (2019a) Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth

- performance, immune system, fecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. *Journal of animal science* 97(1):133-143.
- Yang Q, Huang X, Wang P, Yan Z, Sun W, Zhao S & Gun S (2019b) Longitudinal development of the gut microbiota in healthy and diarrheic piglets induced by age-related dietary changes. *MicrobiologyOpen* 8(12):e923.
- Yang S (2018) otuSummary: Summarizing OTU table regarding the composition, abundance and beta diversity of abundant and rare biospheres.
- Yuan T-l, Zhu Y-h, Shi M, Li T-t, Li N, Wu G-y, Bazer FW, Zang J-j, Wang F-l & Wang J-j (2015) Within-litter variation in birth weight: impact of nutritional status in the sow. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B* 16(6):417-435.
- Zhou Z, Zhang J, Zhang X, Mo S, Tan X, Wang L, Li J, Li Y, Ding X, Liu X, Ma X, Yang H & Yin Y (2019) The production of short chain fatty acid and colonic development in weaning piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 103(5):1530-1537.

5 ANNEXE

