



**HAL**  
open science

# Profil d'activité protéolytique fécale chez le chien atteint d'entéropathie inflammatoire chronique

Eloïse Deygout

► **To cite this version:**

Eloïse Deygout. Profil d'activité protéolytique fécale chez le chien atteint d'entéropathie inflammatoire chronique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2024. dumas-04769073

**HAL Id: dumas-04769073**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04769073v1>**

Submitted on 6 Nov 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ANNEE 2024 - Thèse n° 43

**PROFIL D'ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE FÉCALE  
CHEZ LE CHIEN ATTEINT D'ENTÉROPATHIE  
INFLAMMATOIRE CHRONIQUE**

**THÈSE**

pour obtenir le diplôme d'Etat de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Nantes

le lundi 2 septembre 2024

par

**Eloïse DEYGOUT**

Sous la direction de

**Juan HERNANDEZ**

Professeur associé, DVM, PhD, DACVIM, ECVIM-CA à Oniris VetAgroBio Nantes

- Président du jury :** Monsieur **Hervé POULIQUEN**  
Professeur, Directeur des formations, DVM, PhD, ECVPT  
Oniris VetAgroBio Nantes - Ecole Nationale Vétérinaire
- Membre du jury :** Madame **Amandine DRUT**  
Maître de conférences, DVM, PhD, ECVIM-CA  
Oniris VetAgroBio Nantes - Ecole Nationale Vétérinaire
- Invité du jury :** Monsieur **Moez RHIMI**  
Directeur de recherche (DR2), PhD, HDR  
INRAE (Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et  
l'Environnement) - Unité MIHA (Microbiota Interaction with Human and Animal), Micalis



ANNEE 2024 - Thèse n° 43

**PROFIL D'ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE FÉCALE  
CHEZ LE CHIEN ATTEINT D'ENTÉROPATHIE  
INFLAMMATOIRE CHRONIQUE**

**THÈSE**

pour obtenir le diplôme d'Etat de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Nantes

le lundi 2 septembre 2024

par

**Eloïse DEYGOUT**

Sous la direction de

**Juan HERNANDEZ**

Professeur associé, DVM, PhD, DACVIM, ECVIM-CA à Oniris VetAgroBio Nantes

- Président du jury :** Monsieur **Hervé POULIQUEN**  
Professeur, Directeur des formations, DVM, PhD, ECVPT  
Oniris VetAgroBio Nantes - Ecole Nationale Vétérinaire
- Membre du jury :** Madame **Amandine DRUT**  
Maître de conférences, DVM, PhD, ECVIM-CA  
Oniris VetAgroBio Nantes - Ecole Nationale Vétérinaire
- Invité du jury :** Monsieur **Moez RHIMI**  
Directeur de recherche (DR2), PhD, HDR  
INRAE (Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et  
l'Environnement) - Unité MIHA (Microbiota Interaction with Human and Animal), Micalis

<b>Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment</b>		
<b>Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN</b>		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (CERC) Martine KAMMERER (Pr émérite) Marc GOGNY (Pr émérite)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr) Julie HERVE (MC HDR) Grégoire MIGNOT (MC)	Solenn GAVAUD (CERC)
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC)
Biochimie alimentaire industrielle	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Clément CATANEO (MC) Alix KHALIL (MC) Laurent LE THUAUT (MC)
Microbiotech	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC) Emmanuel JAFFRES (MC)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Quentin PRUVOST (CEC)
PACENV = VET1	Eléonore BOUGUYON (PRAG) Nicolas BROSSAUD (PRAG)	Charlotte MOCQUARD (PRAG) Aurore CALVEL (PRAG)

<b>Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique</b>		
<b>Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER</b>		
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségolène CALVEZ 5(Pr) Aurélien MADOUASSE (MC) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr) Pauline MAISONNASSE (CERC)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Christophe CHARTIER (Pr émérite) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (CERC) Bruno LE BIZEC (Pr) Marie-France PILET (Pr)	Sofia STRUBBIA (MC)

<b>Département DSC Sciences cliniques</b>	
<b>Responsable : Catherine IBISCH – Adjoint : Marion FUSELLIER</b>	
Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC) Margarida RIBEIRO DA SILVA NEUNLIST (MC Stagiaire)

Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (MC HDR)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Gwénola TOUZOT- JOURDE (MC) Claire DEFOURMSTRAUX (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass)	Sabrina VIEU (AERC) Maria Dolores SANCHEZ (AERC)
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER- TESSON (Pr) Catherine IBISCH (MC) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (Pr)

<b>Département GPA Génie des procédés alimentaires</b>		
Responsable : <b>Sébastien CURET-PLOQUIN</b> – Adjointe : <b>Vanessa JURY</b>		
Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET-PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kévin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (Pr) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLES (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
PAC-ING	Cyril Gaillard (PCEA)	

<b>Département MSC Management, statistiques et communication</b>		
Responsable : <b>Samira ROUSSELIERE</b> – Adjointe : <b>Véronique CARIOU</b>		
Mathématiques, statistiques, informatique	El Mostafa QANNARI (Pr émérite) Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr) Jean-Michel GALHARRET (MC stagiaire)	Véronique CARIOU (Pr) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
Economie, gestion, législation	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUR (MC) Samira ROUSSELIERE (MC) Christophe PAPINEAU (Ens. Cont.)
Langues et communication	Marc BRIDOU (PLPA) David GUYLER (Ens. Cont.) Nathalie GOODENOUGH (PCEA) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. Cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (ENS. Cont.)

Pr Ag : Professeur Agrégé, Pr : Professeur, MC : Maître de Conférence, MCC : MC contractuel, PLPA : Professeur Lycée Professionnel Agricole, PCEA : Professeur Certifié Enseignement Agricole, HDR : Habilité à Diriger des Recherches, CERC : Chargé d'Enseignement et de Recherche Contractuel, Ens. Cont. : Enseignant Contractuel.

## REMERCIEMENTS

### **J'adresse mes sincères remerciements à tous les membres du jury :**

Monsieur le professeur **Juan Hernandez** qui a dirigé ce travail. Recevez mes sincères remerciements pour la rigueur de votre accompagnement et la confiance que vous m'avez accordée pour effectuer ce travail. Je vous remercie pour votre disponibilité et la qualité de votre travail.

Monsieur le professeur **Hervé Pouliquen** qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Recevez mes sincères remerciements pour votre bienveillance et votre implication dans le rôle de parrain de promotion. Pour toute l'énergie que vous nous avez consacrée, merci encore.

Madame **Amandine Drut** qui me fait l'honneur d'accepter de juger la qualité de ce travail en tant que membre du jury. Recevez mes sincères remerciements pour la qualité de vos enseignements et votre bienveillance.

Monsieur **Moez Rhimi** qui me fait l'honneur d'accompagner le jury de cette thèse en tant qu'invité du jury. Recevez mes sincères remerciements pour la qualité de nos échanges et votre accueil au sein de l'équipe de recherche.

### **Je tiens à remercier toutes celles et ceux qui ont contribué à ce travail :**

Toute l'équipe de recherche **MIHA de l'INRAE**, recevez mes profonds remerciements pour votre accueil chaleureux, votre patience et votre bienveillance. Merci d'avoir mené ce projet et d'avoir été disponibles.

Toute l'équipe du **service de Médecine interne d'Oniris**, recevez mes respectueux remerciements pour la qualité de vos enseignements et votre implication dans les projets de recherches.

Tous les **animaux** et leurs **propriétaires** ayant participé à l'étude, recevez mes sincères remerciements pour avoir accepté de contribuer à la recherche médicale vétérinaire.





# TABLE DES MATIERES

TABLE DES ANNEXES .....	10
TABLE DES TABLEAUX .....	11
TABLE DES FIGURES .....	12
TABLE DES ABREVIATIONS ET SIGLES .....	14
INTRODUCTION .....	15
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....	17
1. LES ENTEROPATHIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DU CHIEN.....	17
<b>1.1 Définition et signes cliniques chez le chien</b> .....	17
<b>1.2 Classification des entéropathies inflammatoires chroniques</b> .....	20
<b>1.3 Prévalence et facteurs de risques</b> .....	23
1.3.1 <i>Prévalence des EIC chez l'homme et chez le chien</i> .....	23
1.3.2 <i>Facteurs de risques</i> .....	24
a) <i>Race et prédisposition génétique</i> .....	24
b) <i>Alimentation</i> .....	25
c) <i>Sexe et âge</i> .....	26
<b>1.4 Enjeux actuels</b> .....	26
1.4.1 <i>Modèles de maladies comparées</i> .....	26
1.4.2 <i>Résistances aux antibiotiques</i> .....	27
1.4.3 <i>Limites de la prise en charge actuelle par les traitements disponibles</i> .....	27
a) <i>Antibiotiques</i> .....	27
b) <i>Corticostéroïdes</i> .....	28
c) <i>Prébiotiques</i> .....	28
d) <i>Probiotiques</i> .....	28
e) <i>Symbiotiques et postbiotiques</i> .....	29
f) <i>Transplantation de microbiote fécal</i> .....	29
2. RÔLE DU MICROBIOTE INTESTINAL DANS LES ENTEROPATHIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DU CHIEN .....	30
<b>2.1 Altérations de la composition du microbiote intestinal lors d'entéropathies inflammatoires chroniques chez le chien</b> .....	30
2.1.1 <i>Méthodes d'analyse de la composition du microbiote intestinal</i> .....	30
a) <i>Culture bactérienne</i> .....	30
b) <i>Métagénomique</i> .....	31
c) <i>qPCR</i> .....	34
d) <i>FISH</i> .....	34
e) <i>Métabolomique</i> .....	35

f) <i>Métabolisme</i> .....	36
g) <i>Comparaison des méthodes de caractérisation du microbiote intestinal</i> .....	36
2.1.2 <i>Composition du microbiote intestinal du chien sain</i> .....	38
a) <i>Taxonomie bactérienne</i> .....	38
b) <i>Variation de la composition du microbiote intestinal le long du tractus digestif</i> .....	39
c) <i>Principaux facteurs d'influence sur la composition du microbiote intestinal</i> .....	41
2.1.3 <i>Dysbiose intestinale et entéropathies inflammatoires chroniques du chien</i> .....	43
<b>2.2 Altérations fonctionnelles du microbiote intestinal lors d'entéropathies inflammatoires chroniques du chien</b> .....	44
2.2.1 <i>Dysmétabolisme vitaminiq ue et conséquences intestinales</i> .....	45
2.2.2 <i>Dysmétabolisme des sels biliaires et conséquences intestinales</i> .....	46
2.2.3 <i>Dysmétabolisme des indoles et conséquences intestinales</i> .....	49
2.2.4 <i>Dysmétabolisme des acides gras à chaîne courte et conséquences intestinales</i> .....	49
2.2.5 <i>Dysmétabolisme protéolytique et inflammation intestinale</i> .....	50
<b>2.3 Bilan des altérations du microbiote intestinal lors d'entéropathies inflammatoires chroniques du chien</b> .....	51
3. <b>ACTIVITE PROTEOLYTIQUE ET INFLAMMATION DIGESTIVE LORS D'ENTEROPATHIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES CHEZ LE CHIEN</b> .....	52
<b>3.1 Activités protéolytiques intestinales et rôles dans l'inflammation intestinale</b> .....	52
3.1.1 <i>Les protéases</i> .....	52
a) <i>Protéases de l'hôte</i> .....	52
b) <i>Protéases du microbiote intestinal</i> .....	54
c) <i>Protéases et inflammation digestive</i> .....	54
3.1.2 <i>Les anti-protéases</i> .....	57
a) <i>Inhibiteurs naturels</i> .....	57
b) <i>Inhibiteurs synthétiques</i> .....	58
c) <i>Anti-protéases et inflammation digestive</i> .....	59
3.1.3 <i>L'homéostasie protéolytique</i> .....	60
<b>3.2 Mesure de l'activité protéolytique</b> .....	60
<b>3.3 Profilage protéolytique</b> .....	62
<b>QUESTIONNEMENT SCIENTIFIQUE</b> .....	63
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b> .....	64
1. <b>MATERIELS ET METHODES</b> .....	64
<b>1.1 Cohorte</b> .....	64
<b>1.2 Prélèvement des selles</b> .....	65
<b>1.3 Mesure des activités protéolytiques fécales</b> .....	65
1.3.1 <i>Préparation des eaux fécales</i> .....	65
1.3.2 <i>Mesure de l'activité protéolytique</i> .....	65

1.4	<b>Analyse statistique</b> .....	66
2.	<b>RESULTATS</b> .....	67
2.1	<b>Profil d'activité protéolytique fécale totale</b> .....	67
2.2	<b>Profil d'activité protéolytique fécale des métalloprotéases et des protéases à cystéine</b> 68	
2.3	<b>Profil d'activité protéolytique fécale des protéases à sérine</b> .....	69
2.4	<b>Synthèse des résultats</b> .....	71
3.	<b>DISCUSSION</b> .....	72
3.1	<b>Principaux résultats</b> .....	72
3.1.1	<i>Activité protéolytique totale et activité des protéases à sérine, des métalloprotéases et des protéases à cystéine</i> .....	72
3.1.2	<i>Activité des protéases à sérine : trypsine, chymotrypsine, élastase neutrophilique et protéinase-3</i> .....	72
3.2	<b>Validité des résultats</b> .....	73
3.3	<b>Limites de l'étude</b> .....	73
3.3.1	<i>Origine des protéases</i> .....	73
3.3.2	<i>Lien avec l'inflammation digestive</i> .....	74
3.3.3	<i>Lien avec le score clinique</i> .....	74
	<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	75
	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	77
	<b>ANNEXES</b> .....	107

## **TABLE DES ANNEXES**

<b>Annexe 1</b> : Démarche diagnostique lors de troubles digestifs chroniques chez le chien en consultation de Médecine interne au sein du CHUV d'Oniris de Nantes, d'après (Hernandez 2020). .....	107
<b>Annexe 2</b> : Attestation de consentement pour le don de selles à remplir et signer par les propriétaires des chiens. ....	108

## TABLE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 : Signes cliniques observés dans un contexte de diarrhée en fonction de la localisation de l'atteinte digestive.</b> Adapté selon (Freiche et Hernandez 2010). .....	18
<b>Tableau 2 : Comparaison des deux indices cliniques permettant de grader l'intensité des EIC chez le chien.</b> Adapté selon (Jergens et al. 2003) et (Allenspach et al. 2007). CIBDAI : Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Indice, CCECAI : Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Indice.....	19
<b>Tableau 3 : Comparaison des différentes méthodes de caractérisation du microbiote intestinal chez le chien.</b> Adapté selon (Suchodolski 2022).....	36
<b>Tableau 4 : Taxonomie des principaux genres bactériens présents dans le microbiote intestinal.</b> D'après (Barko et al. 2018). .....	38
<b>Tableau 5 : Fonctions et origine cellulaire des principales protéases à sérine.</b> Adapté selon (Solà-Tapias et al. 2020). .....	53
<b>Tableau 6 : Activité et nature des substrats et inhibiteurs utilisés pour la mesure de l'activité protéolytique fécale.</b> Réalisation Eloïse Deygout.....	66

## TABLE DES FIGURES

<b>Figure 1 : Représentation de l'ancienne et nouvelle classification des EIC chez le chien.</b> D'après (Dupouy-Manescau et al. 2024). <i>FRE : food-responsive enteropathy, ARE : antibiotic-responsive enteropathy, IRE : immunosuppressant-responsive enteropathy, NRE : non-responsive enteropathy, IBD : inflammatory bowel disease, MrMRE : microbiota-related modulation-responsive enteropathy, NR-PLE : non-responsive protein-losing enteropathy, IR-PLE : immunosuppressant-responsive protein-losing enteropathy, FR-PLE : food-responsive protein-losing enteropathy.</i> .....	21
<b>Figure 2 : Démarche diagnostique des EIC chez le chien.</b> Réalisation Eloïse Deygout. ....	23
<b>Figure 3 : Pathogénie des entéropathies inflammatoires chroniques chez le chien.</b> Réalisation Eloïse Deygout. ....	24
<b>Figure 4 : One health : santé sanitaire de l'homme, des animaux et de l'environnement.</b> Réalisation Eloïse Deygout. ....	27
<b>Figure 5 : Principe de la méthode de séquençage du gène de l'ARNr 16S.</b> D'après (Anon s. d.). .	32
<b>Figure 6 : Principe de la méthode de séquençage Shotgun.</b> D'après (Anon s. d.). ....	33
<b>Figure 7 : Proportions relatives des communautés bactériennes du microbiote du chien dans quatre segments différents du tube digestif.</b> Adapté selon (Suchodolski 2008). ....	39
<b>Figure 8 : Proportions relatives des phyla bactériens du microbiote intestinal dans le duodénum de chiens sains.</b> Adapté selon (Suchodolski et al. 2010). ....	40
<b>Figure 9 : Evolution de la composition bactérienne du microbiote fécal en abondance relative des phyla bactériens en fonction de l'âge du chien.</b> Adapté selon (Guard et al. 2017). ....	41
<b>Figure 10 : Synthèse des acides biliaires.</b> D'après (Kriaa et al. 2022). <i>Dans le foie, le métabolisme des acides biliaires produit principalement deux acides biliaires primaires, l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique. Dans l'intestin, les acides biliaires primaires servent de substrats au microbiote intestinal afin de générer des acides biliaires secondaires, notamment l'acide désoxycholique, l'acide lithocholique et l'acide ursodésoxycholique.</i> .....	47
<b>Figure 11 : Représentation schématique des profils des acides biliaires primaires et secondaires dans le gros intestin sain et lors MICI chez l'homme.</b> D'après (Kriaa et al. 2022). <i>Dans des conditions physiologiques, les AB primaires (CA, CDCA) sont métabolisés par le microbiote intestinal grâce à des réactions biochimiques de déconjugaison et de déshydroxylation en AB secondaires (LCA, DCA). Lors de MICI, une biosynthèse anormale des AB primaires et des processus métaboliques induisent des niveaux élevés d'AB primaires ce qui engendre une modification de la composition du microbiote intestinal associée à une production plus faible d'AB déconjugés et secondaires. IBD : Inflammatory Bowel Disease ; BA : bile acids ; BSH : hydrolase des sels biliaires ; CA : acide cholique ; T/GCA : acide cholique conjugué à la taurine/glycine ; CDCA : acide chénodésoxycholique ; T/GCDCA : acide chénodésoxycholique conjugué à la taurine/glycine ; LCA : acide lithocholique ; DCA : acide désoxycholique.</i> .....	48
<b>Figure 12 : Bilan des altérations du microbiote intestinal lors d'EIC : altérations de la composition et altérations fonctionnelles.</b> Réalisation Eloïse Deygout.....	51
<b>Figure 13 : Proportions relatives des gènes codant pour les familles de protéases dans le dégradome humain.</b> D'après (Solà-Tapias et al. 2020). ....	52
<b>Figure 14 : Représentation schématique des mécanismes d'action des PS sur la muqueuse intestinale lors de MICI.</b> D'après (Mariaule et al. 2021). <i>L'altération de la barrière épithéliale est associée à l'action des PS sur la jonction serrée par clivage direct (1). Déstabilisation indirecte due à l'activation des PAR (2), à la dégradation du mucus (3) et au clivage des cytokines (4). IBD : Inflammatory Bowel Disease ; MLC : myosin light-chain ; P-MLC : phosphorylated MLC ; MLCK : myosin light-chain kinase ; PAR : proteinase-activated receptor ; TJ : tight junction.</i> .....	55
<b>Figure 15 : Représentation schématique des mécanismes d'action des MMP sur la muqueuse intestinale lors de MICI.</b> D'après (Mariaule et al. 2021). <i>La libération de TNF-<math>\alpha</math> soluble par les MMP</i>	

provoque une déplétion du mucus (1) et une déstabilisation des jonctions serrées (2), entraînant une augmentation de la perméabilité épithéliale et de la translocation bactérienne. L'incapacité des myofibroblastes à supprimer la réponse Th1/Th17 survient après la transformation par la MMP du PD-L1 lié à la membrane en PD-L1 soluble (3). Le clivage des cytokines contribue aux processus inflammatoires (4). La génération de PGP par la dégradation du collagène par les MMP induit la transmigration des neutrophiles et stimule la sécrétion de MMP et de CXCL8 par les neutrophiles, entretenant ainsi le contexte inflammatoire (5). IBD : Inflammatory Bowel Disease ; CXCL8 : (C-X-C motif) ligand 8 ; MLCK : myosin light-chain kinase ; PD-L1 : programmed death-ligand 1 ; mPD-L1 : membrane-bound PD-L1 ; sPD-L1 : soluble PD-L1 ; (N-Ac)-PGP : (N-acetyl)-proline-glycine-proline ; TJ : tight junction ; TNF : tumor necrosis factor  $\alpha$ ..... 56

**Figure 16 : Equation d'une réaction enzymatique michaelienne.** Réalisation Eloïse Deygout. *E* : Enzyme ; *S* : Substrat ; *ES* : complexe Enzyme-Substrat ; *P* : Produit ;  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_{-1}$  et  $k_{-2}$  : constantes de vitesse des différents actes élémentaires..... 61

**Figure 17 : Courbe d'une réaction enzymatique : concentration en produit en fonction du temps.** Réalisation Eloïse Deygout..... 61

**Figure 18 : (A) Activité protéolytique fécale totale chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale totale en présence d'un inhibiteur de protéases à sérine (PMSF), d'un inhibiteur de métalloprotéases (EDTA) et d'un inhibiteur de protéases à cystéine (E-64).** CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ..... 67

**Figure 19 : (A) Activité protéolytique fécale des protéases à cystéine chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale des protéases à cystéine en présence d'un inhibiteur spécifique des protéases à cystéine (E-64). (C) Activité protéolytique fécale des métalloprotéases chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (D) Activité protéolytique fécale des métalloprotéases en présence d'un inhibiteur spécifique des métalloprotéases (EDTA).** CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$  ; ns : non significatif..... 68

**Figure 20 : (A) Activité protéolytique fécale trypsin-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale trypsin-like en présence d'un inhibiteur spécifique de la trypsine.** CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ..... 69

**Figure 21 : (A) Activité protéolytique fécale chymotrypsin-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale chymotrypsin-like en présence d'un inhibiteur spécifique de la chymotrypsine.** CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ..... 70

**Figure 22 : (A) Activité protéolytique fécale elastase-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale elastase-like en présence d'un inhibiteur spécifique de l'élastase neutrophilique.** HNE : Human Neutrophilic Elastase ; CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ..... 70

**Figure 23 : (A) Activité protéolytique fécale protéinase-3-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale protéinase-3-like en présence d'un inhibiteur spécifique de la protéinase-3.** PR3 : protéinase-3 ; CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ..... 71

## TABLE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

<b>AB</b> : acides biliaires	<b>IP</b> : inhibiteurs à protéases
<b>ACTH</b> : adreno-cortico-trophic-hormone	<b>IR-PLE</b> : immunosuppresseur-responsive protein-losing enteropathy
<b>ADN</b> : acide désoxyribonucléique	<b>IRE</b> : immunosuppresseur-responsive enteropathy
<b>AGCC</b> : acides gras à chaîne courte	<b>MC</b> : maladie de Crohn
<b>AhR</b> : aryl hydrocarbon receptor	<b>MICI</b> : maladies inflammatoires chroniques intestinales
<b>AMP</b> : peptide antimicrobien	<b>MIHA</b> : microbiota interaction with human and animal
<b>ANAs</b> : anaérobie stricte	<b>MMP</b> : métalloprotéases matricielles
<b>ARE</b> : antibiotique-responsive enteropathy	<b>MrMRE</b> : microbiota-related modulation-responsive enteropathy
<b>ARN</b> : acide ribonucléique	<b>Ng/L</b> : nanogrammes par litre
<b>ARNm</b> : acide ribonucléique messager	<b>NOD2</b> : nucleotide-binding oligomerization domain 2
<b>ARNr 16S</b> : acide ribonucléique ribosomique 16S	<b>NRE</b> : non-responsive enteropathy
<b>ASBT</b> : apical sodium-dependent bile acids transporter	<b>NR-PLE</b> : non-responsive protein-losing enteropathy
<b>BARF</b> : bones and raw food	<b>Oxo-AB</b> : acides oxo-biliaires
<b>CCECAI</b> : canine chronic enteropathy clinical activity indice	<b>PAI-1</b> : plasminogen activator inhibitor 1
<b>CERVO</b> : comité d'éthique et de recherche vétérinaire d'Oniris	<b>PARs</b> : proteinase-activated receptors
<b>CHUV</b> : centre hospitalier universitaire vétérinaire	<b>PCR</b> : polymerase chain reaction
<b>CIBDAI</b> : canine inflammatory bowel disease activity indice	<b>PRR</b> : pattern recognition receptor
<b>CU</b> : colite ulcéreuse	<b>PS</b> : protéases à sérine
<b>C2</b> : acétate	<b>qPCR</b> : PCR quantitative
<b>C3</b> : propionate	<b>RCH</b> : rectocolite hémorragique
<b>C4</b> : butyrate	<b>RMN</b> : résonance magnétique nucléaire
<b><i>E. coli</i></b> : <i>Escherichia coli</i>	<b>SLPI</b> : secretory leukocyte protease inhibitor
<b>EC</b> : entéropathies chroniques	<b>SM</b> : spectrométrie de masse
<b>EDTA</b> : éthylènediaminetétraacétique	<b>SNP</b> : single nucleotide polymorphism
<b>EIC</b> : entéropathies inflammatoires chroniques	<b>TAP-TAG</b> : tandem affinity purification by tag
<b>EP</b> : entéropathie primaire	<b>TCA</b> : trichloroacetic acid
<b>ES</b> : entéropathie secondaire	<b>TGR5</b> : takeda G protein receptor 5
<b>FISH</b> : fluorescence in-situ hybridization	<b>Th17</b> : lymphocyte T helper 17
<b>FR-PLE</b> : food-responsive protein-losing enteropathy	<b>TIMP</b> : tissue inhibitors of metalloproteinases
<b>FRE</b> : food-responsive enteropathy	<b>TLI</b> : trypsin like immunoreactivity
<b>FXR</b> : farnesoid X receptors	<b>TLR</b> : toll-like receptor
<b>IAP</b> : inhibitor of apoptosis protein	<b>TMF</b> : transplantation de microbiote fécal
<b>IBD</b> : inflammatory bowel disease	<b>TNF</b> : tumor necrosis factors
<b>ID</b> : indice de dysbiose	<b>T4</b> : thyroxine
<b>IgG</b> : immunoglobuline G	<b>VDR</b> : vitamin D receptors
<b>IgA</b> : immunoglobuline A	
<b>IL</b> : interleukine	
<b>INRAE</b> : institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement	



# INTRODUCTION

Nous portons un intérêt grandissant pour les sciences qui explorent le fonctionnement du corps, et tout particulièrement le fonctionnement des organes très complexes comme notre appareil digestif. Les scientifiques ne sont pas les seuls à s'intéresser à notre système digestif, si complexe soit-il. En effet, les liens entre troubles psychologiques, alimentation et désordres gastro-intestinaux sont des sujets en vogue comme le montre le best-seller *Le charme discret de l'intestin* de Giulia Enders, une jeune allemande doctorante en médecine, écrit en 2015 (Enders 2015). Ce livre raconte « tout sur un organe mal aimé » et met en lumière des maladies digestives fréquentes bien trop souvent tabous. C'est dans ce contexte d'intérêt de la communauté scientifique et de la population que les nombreuses études scientifiques, humaines et vétérinaires, sur le fonctionnement des maladies du système digestif s'inscrivent.

Chez le chien, les Entéropathies Chroniques (EC) regroupent un ensemble de troubles digestifs caractérisés par des signes cliniques persistants. Les Entéropathies Inflammatoires Chroniques (EIC) désignent les EC dont les causes parasitaires, infectieuses, mécaniques et tumorales ont été exclues. Les EIC peuvent être rétrospectivement sous-classées selon leur réponse au traitement en (Dupouy-Manescau et al. 2024) :

1. Entéropathie répondant au changement alimentaire,
2. Entéropathie répondant à la modulation du microbiote,
3. Entéropathie répondant au traitement immunosuppresseur,
4. Entéropathie réfractaire.

À l'instar des Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales (MICI) de l'humain, la cause des EIC du chien reste actuellement inconnue. Ces maladies semblent toucher des individus génétiquement prédisposés sous l'influence de facteurs environnementaux (alimentation, microbiote, environnement) déclenchant une réponse immunitaire intestinale excessive de l'hôte. Le microbiote semble jouer un rôle essentiel dans la pathogénie des EIC et, depuis peu, le lien entre les MICI et la modification du microbiote intestinal, appelée dysbiose, est reconnu par la communauté scientifique (Ni et al. 2017). La modification de ce microbiote intestinal est caractérisée par des modifications de composition en espèces microbiennes ainsi que par des modifications fonctionnelles. En effet, l'hôte et son microbiote sont en interaction perpétuelle. Plusieurs mécanismes ont été identifiés comme étant des voies de communication impliquées dans l'apparition et/ou le maintien du processus inflammatoire retrouvé lors d'EIC. Ces voies de communication sont à l'étude chez le chien car très peu de données sont actuellement disponibles.

Parmi ces voies de dialogue hôte-microbiote, la voie des activités protéolytiques semble être particulièrement pertinente par son implication dans la pathogénie des EIC. En effet, le déséquilibre protéolytique entre protéases et anti-protéases joue un rôle important dans la pathogénie de ces maladies intestinales. De nombreuses familles de protéases, notamment les protéases à sérine (PS), ont été identifiées comme ayant une activité exacerbée pouvant ainsi contribuer à l'apparition de lésions intestinales lors de MICI chez l'homme (Denadai-Souza et al. 2018) (Jablaoui et al. 2020). De nombreuses études visent à préciser le rôle pro-inflammatoire des PS (Vergnolle 2016). Des hypothèses concernant l'élaboration de voies thérapeutiques spécifiques et des moyens de prévention commencent à être formulées autour d'une idée simple : rétablir l'homéostasie protéolytique.

L'objectif de cette thèse est d'étudier le profil d'activité protéolytique fécal des chiens atteints d'EIC par rapport à des chiens sains. L'activité des PS a déjà été mesurée chez le chien permettant d'identifier un niveau d'activité des PS deux fois plus élevé dans les selles des chiens atteints d'EIC par rapport aux chiens sains (Maeda et al. 2014). Cependant, à notre connaissance, c'est la première fois que l'activité protéolytique fécale des différentes PS est mesurée chez le chien. Il semble essentiel d'approfondir ce domaine d'étude chez le chien afin de pouvoir proposer des moyens de prévention et de traitement pour mieux prendre en charge ces maladies complexes autant chez l'homme que chez le chien en se basant sur des modèles de maladies comparées.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. LES ENTEROPATHIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DU CHIEN

### 1.1 Définition et signes cliniques chez le chien

Les Entéropathies Inflammatoires Chroniques (EIC) du chien représentent des affections digestives à l'origine de troubles gastro-intestinaux évoluant depuis plus de 3 semaines. Les signes cliniques sont essentiellement d'ordre digestif. Des signes cutanés peuvent y être associés. Ce sont des signes cliniques variés mais peu spécifiques dans l'ensemble. Ils peuvent être très différents d'un chien à l'autre et dépendent de la localisation et de la gravité de l'atteinte intestinale. Il est à noter que l'expression clinique peut être cyclique avec des poussées cliniques et des phases de rémission.

Les signes cliniques qui peuvent être rencontrés sont les suivants :

- Signes cliniques digestifs :
  - Diarrhée
  - Vomissements
  - Borborygmes
  - Anorexie / hyporexie
  - Douleur abdominale
  - Nausées
  - Ténésme / épreinte
  - Méléna / hématochézie / mucus dans les selles
  - Position de la prière
  - Appétit compulsif pour l'herbe
  - Pica
  
- Signes cliniques extra-digestifs :
  - Amaigrissement
  - Œdèmes périphériques déclives
  - Signes d'épanchement cliniquement décelables : ascite et/ou épanchement pleural
  - Prurit

Lors d'une atteinte de l'appareil digestif dit « haut » (estomac, duodénum), les signes cliniques associés sont des vomissements et de la diarrhée liquide. La présence de méléna et un amaigrissement sont également fréquemment rencontrés. En revanche, lors d'une atteinte de l'appareil digestif dit « bas » (côlon), des signes cliniques tels qu'une diarrhée bouseuse, de l'hématochézie ou encore du ténésme et/ou de l'épreinte peuvent être observés (Freiche et Hernandez 2010). L'observation des selles et des signes cliniques associés permet d'orienter la localisation anatomique de la diarrhée (**Tableau 1**).

**Tableau 1 : Signes cliniques observés dans un contexte de diarrhée en fonction de la localisation de l’atteinte digestive.** Adapté selon (Freiche et Hernandez 2010).

	Atteinte de l’intestin grêle	Atteinte du côlon
Aspect des selles	Liquides Méléna possible Stéatorrhée possible	Bouseuses / en tas Hématochézie possible Mucus possible
Fréquence de défécation	Normale à augmentée	Augmentée
Volume de défécation	Augmenté	Normal à augmenté
Répercussions sur l’état général	Fréquentes : abattement, anorexie, amaigrissement, déshydratation	Rares
Autres signes associés	Borborygmes Halitose Vomissements Polyphagie Flatulences Distension abdominale	Ténesme Epreinte Flatulences Prurit anal (rare)

Dans certains cas, les EIC peuvent être accompagnées d’une perte de protéines. On parle alors d’entéropathies avec perte de protéines ou d’entéropathies exsudatives. Plusieurs mécanismes sont à l’origine d’une exsudation anormale de protéines. L’érosion ou l’ulcération de la muqueuse digestive ainsi qu’une modification de la perméabilité de cette muqueuse peuvent être des origines possibles. Ces différents phénomènes ont pour conséquences une perte principalement d’albumine, de globuline ainsi qu’une perte de lymphocytes et de chylomicrons. L’hypoprotéïnémie résultante peut se traduire par l’apparition d’œdèmes déclives ou d’épanchements cavitaires (ascite et/ou épanchement pleural) à cause de la diminution de la pression oncotique sanguine. La perte d’antithrombine III peut également augmenter le risque de survenue de thrombose (Robin 2007).

Afin de pouvoir grader l’intensité des EIC du chien au moment du diagnostic, des indices cliniques ont été développés. Le premier indice clinique à avoir été validé en 2003 est le Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Indice (CIBDAI) (Jergens et al. 2003). Quelques années plus tard, un indice un peu plus complet a été proposé : le Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Indice (CCECAI) (Allenspach et al. 2007). Le CCECAI possède trois paramètres supplémentaires : la présence d’œdème périphérique ou d’ascite, la présence d’une hypoalbuminémie et la présence de prurit. Chaque critère est évalué sur une échelle de 0 à 3 et la somme des notes fournit un score, appelé score CCECAI. Le **Tableau 2** regroupe l’ensemble des critères évalués pour chaque indice clinique. Le score CCECAI présente un intérêt diagnostique et pronostique en classant les EIC en deux catégories (Allenspach et al. 2007) :

- Les EIC à score CCECAI bas ( $\leq 12$ ) dont le pronostic est favorable.
- Les EIC à score CCECAI élevé ( $>12$ ) dont le pronostic est plus réservé.

**Tableau 2 : Comparaison des deux indices cliniques permettant de grader l'intensité des EIC chez le chien.** Adapté selon (Jergens et al. 2003) et (Allenspach et al. 2007). *CIBDAI : Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Indice, CCECAI : Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Indice.*

	Note	CIBDAI	CCECAI
<b>Attitude/activité</b>	0	• Normale	
	1	• Discrètement diminuée	
	2	• Modérément diminuée	
	3	• Sévèrement diminuée	
<b>Appétit</b>	0	• Normal	
	1	• Discrètement diminué	
	2	• Modérément diminué	
	3	• Sévèrement diminué	
<b>Vomissements</b>	0	• Absence	
	1	• Discrets (1 fois/semaine)	
	2	• Modérés (2 ou 3 fois/semaine)	
	3	• Sévères (plus de 3 fois/semaine)	
<b>Consistance des selles</b>	0	• Normale	
	1	• Discrètement plus molles	
	2	• Selles très molles	
	3	• Diarrhée aqueuse	
<b>Fréquence des selles</b>	0	• Normale	
	1	• Discrètement augmentée (2 ou 3 fois/jour) avec sang, mucus	
	2	• Modérément augmentée (4 ou 5 fois/jour)	
	3	• Sévèrement augmentée (plus de 5 fois/jour)	
<b>Perte de poids</b>	0	• Aucune	
	1	• Discrète (< 5%)	
	2	• Modérée (entre 5 et 10%)	
	3	• Sévère (> 10%)	
<b>Albuminémie</b>	0		• > 20 g/L
	1	/	• 15 à 19 g/L
	2		• 12 à 14 g/L
	3		• < 12 g/L
<b>Ascite et œdèmes périphériques</b>	0		• Absence
	1	/	• Discrets
	2		• Modérés
	3		• Sévères
<b>Prurit</b>	0		• Absence
	1	/	• Occasionnel
	2		• Régulier
	3		• Incessant

## 1.2 Classification des entéropathies inflammatoires chroniques

La classification actuelle des EIC chez le chien est fondée sur la réponse clinique constatée au cours des essais thérapeutiques.

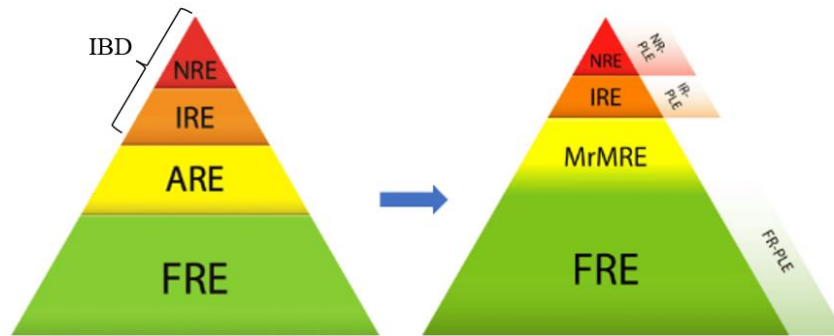
On retrouve (Dupouy-Manescau et al. 2024) (Hernandez 2020) :

- Les **entéropathies répondant à un changement alimentaire** ou **FRE** (pour Food-Responsive Enteropathy) : amélioration clinique après un changement alimentaire.
- Les **entéropathies répondant à la modulation du microbiote** ou **MrMRE** (pour Microbiota-related Modulation-Responsive Enteropathy) : amélioration clinique après la modulation du microbiote par des traitements à base de probiotiques, prébiotiques, postbiotiques, symbiotiques, transplantation de microbiote fécal, chélateurs des acides biliaires ou certains changements alimentaires spécifiques.
- Les **entéropathies répondant aux immunomodulateurs** ou **IRE** (pour Immunomodulatory-Responsive Enteropathy) : amélioration clinique après un traitement immunomodulateur.
- Les **entéropathies réfractaires** ou **NRE** (pour Non-Responsive Enteropathy) : absence d'amélioration clinique après un traitement immunomodulateur.

Les Maladies Inflammatoire Chroniques Intestinales (MICI) du chien englobent les IRE et les NRE et s'appuient sur la mise en évidence histologique d'une inflammation de la muqueuse intestinale.

Les signes cliniques et les scores ne permettent pas de distinguer les différentes catégories d'EIC. La démarche diagnostique s'appuie exclusivement sur la réponse clinique observée à la suite des essais thérapeutiques entrepris.

Comme l'illustre la **Figure 1**, dans la nouvelle classification proposée en 2024, la catégorie des MrMRE remplace l'ancienne catégorie des Antibiotic-Responsive Enteropathy (ARE) ou entéropathies répondant aux antibiotiques (Dupouy-Manescau et al. 2024). En effet, le microbiote intestinal a été reconnu comme un acteur essentiel de la pathogénie des EIC. Il a été démontré que l'utilisation des antibiotiques pour les chiens atteints d'ARE entraîne une résistance accrue aux antimicrobiens ainsi que des effets délétères sur le microbiote intestinal associés à des rechutes fréquentes (Gobeli et al. 2012) (Allenspach, Culverwell, et Chan 2016). Par conséquent, l'approche clinique des EIC a évolué ces dernières années afin d'abandonner progressivement l'utilisation des antibiotiques et de les remplacer par d'autres traitements permettant la restauration d'un microbiote intestinal fonctionnel (Cerquetella et al. 2020). Dans cette classification, MrMRE et FRE se chevauchent partiellement afin de classer les changements alimentaires entraînant une amélioration clinique attribuable à la modulation du microbiote (Wang et al. 2019).



**Figure 1 : Représentation de l'ancienne et nouvelle classification des EIC chez le chien.** D'après (Dupouy-Manescau et al. 2024). *FRE* : *food-responsive enteropathy*, *ARE* : *antibiotic-responsive enteropathy*, *IRE* : *immunosuppressant-responsive enteropathy*, *NRE* : *non-responsive enteropathy*, *IBD* : *inflammatory bowel disease*, *MrMRE* : *microbiota-related modulation-responsive enteropathy*, *NR-PLE* : *non-responsive protein-losing enteropathy*, *IR-PLE* : *immunosuppressant-responsive protein-losing enteropathy*, *FR-PLE* : *food-responsive protein-losing enteropathy*.

Les entéropathies avec perte de protéines sont considérées comme des versions sévères d'EIC dans lesquelles une fuite et une malabsorption des protéines sont présentes. Elles sont identifiées grâce à la mise en évidence d'une hypoalbuminémie. On peut les retrouver dans différentes sous-catégories d'EIC (voir **Figure 1**).

Afin d'illustrer la proportion relative des différentes causes de diarrhée chronique chez le chien, Volkman et al. ont réalisé une étude rétrospective sur 136 chiens atteints de diarrhée chronique afin d'en identifier les causes les plus fréquentes (Volkman et al. 2017). Des maladies d'origine digestive, ou entéropathies primaires (EP), ont été diagnostiquées chez 123 des 136 chiens soit 90% des chiens étudiés. Parmi eux, 71% présentaient des EIC, 13% présentaient des causes infectieuses et 4% présentaient des causes néoplasiques. Parmi les chiens présentant des EIC, 66% étaient des FRE, 11% des ARE (ancienne classification) et 23% des MICI. En parallèle, des maladies d'origine extra-digestive, ou entéropathies secondaires (ES), ont été diagnostiquées chez 13 des 136 chiens soit 10% des chiens étudiés. Parmi eux, 62% des chiens présentaient une insuffisance pancréatique exocrine. Les proportions relatives varient légèrement d'une étude à l'autre mais restent dans le même ordre de grandeur comme le montre l'étude d'Allenspach et al. réalisée sur 203 chiens atteints d'EIC concluant sur la proportion relative de 64% de FRE, 16% d'ARE et 20% de MICI (Allenspach et al. 2016). Cependant, depuis la mise en place de la nouvelle classification, certaines proportions relatives sont remises en question. En effet, plusieurs études s'accordent sur le fait que les FRE sont sous-diagnostiquées. Une partie non négligeable des NRE serait en réalité des FRE non diagnostiquées ce qui augmenterait la proportion relative des FRE au détriment des autres catégories d'EIC (Duvergé et al. 2022) (Jablonski Wennogle, Stockman, et Webb 2021).

De nombreuses maladies intestinales mais également extra-intestinales peuvent s'exprimer cliniquement par des troubles digestifs et par conséquent faire partie du diagnostic différentiel des EIC. Il est important que l'ensemble de l'anamnèse et des commémoratifs soit pris en compte dans la démarche diagnostique. Chez les chiens présentant des signes gastro-intestinaux chroniques, le diagnostic d'EIC peut être envisagé après l'exclusion des causes parasitaires et des troubles extra-digestifs. La première étape de la démarche diagnostique vise à exclure les

parasitoses digestives (trichurose, giardiose, coccidiose, etc.) car elles ont une prévalence très élevée chez le chien atteint de diarrhée chronique (Epe et al. 2010). Des analyses coprologiques et un antiparasitaire à large spectre d'activité (fenbendazole) sont donc nécessaires en première intention. La deuxième étape vise à exclure les causes métaboliques grâce à la réalisation d'un bilan hémato-biochimique sanguin complet. Ce bilan permet également d'identifier les entéropathies avec perte de protéines (albuminémie < 20 g/L) et d'évaluer les répercussions générales des EIC (déshydratation, hypocalcémie, hypocobalaminémie, etc.). On cherche à exclure les causes métaboliques suivantes :

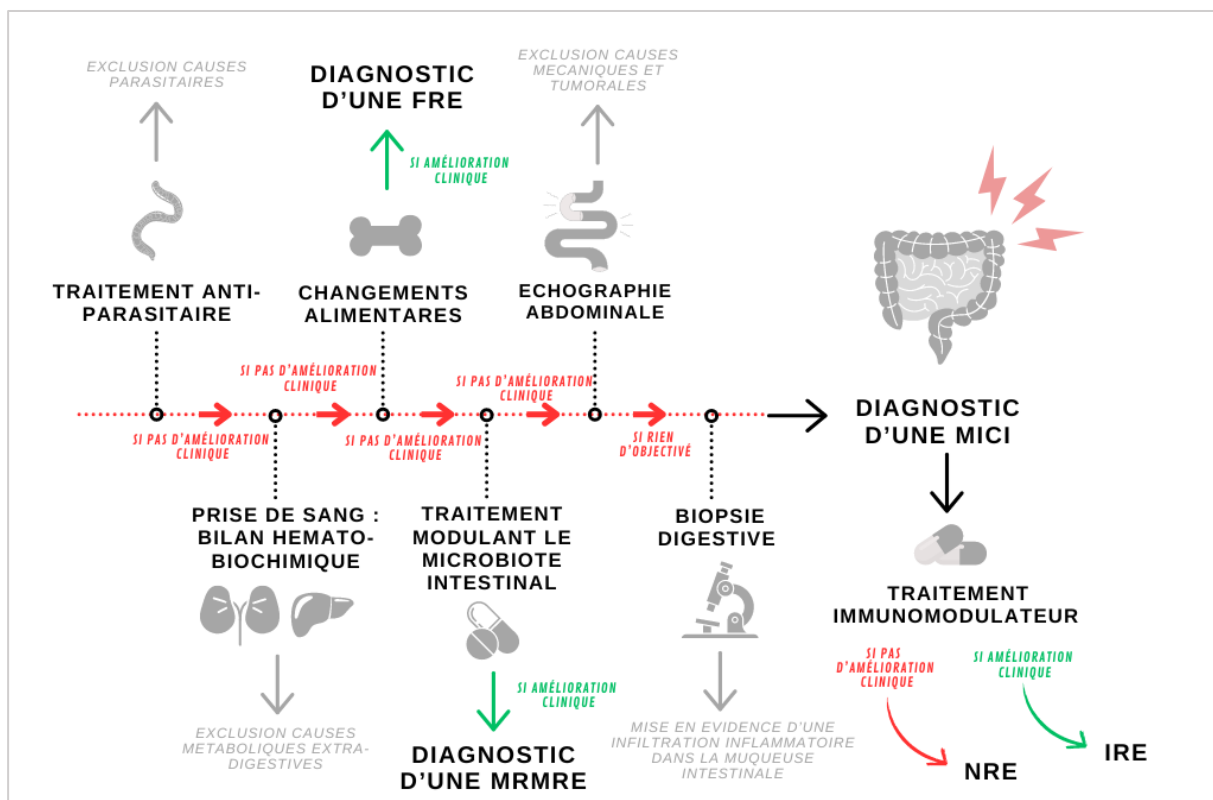
- Une maladie rénale avancée par la mesure des concentrations sanguines d'urée et de créatinine,
- Une insuffisance hépatique par la mesure des paramètres sanguins hépatiques (albumine, urée, cholestérol, acides biliaires, ...),
- Une insuffisance pancréatique exocrine par la mesure de la Trypsin Like Immunoreactivity (TLI),
- Une maladie d'Addison par un test de stimulation à l'ACTH avec mesure du cortisol,
- Une hyperthyroïdie par un dosage sanguin de la T4.

Après l'exclusion des causes parasitaires et métaboliques, le diagnostic des différentes EIC peut commencer à s'effectuer en observant la réponse clinique à différents essais thérapeutiques. Premièrement, plusieurs essais diététiques sont effectués. Un changement d'alimentation vers un régime hautement digestible, un régime protéiné hydrolysé, un régime riche en fibres et/ou un régime protéiné fait maison est proposé. Si une amélioration clinique est observée à la suite de cet essai diététique, le diagnostic d'EIC de catégorie FRE est posé. Si les signes cliniques ne s'améliorent pas, les antibiotiques (métronidazole, tylosine ou tétracycline) étaient jusqu'à présent préconisés afin de diagnostiquer une possible ARE. Dorénavant, un traitement permettant la modulation du microbiote intestinal est préconisé. Des probiotiques, des prébiotiques, des postbiotiques, des symbiotiques, une transplantation de microbiote fécal, des chélateurs des acides biliaires ou encore certains changements alimentaires peuvent permettre une amélioration clinique résultant de la modulation du microbiote intestinal. Dans le cas échéant, le diagnostic de MrMRE tombe. Si aucune amélioration clinique n'est observée à la suite d'un tel traitement, ou, à défaut, d'un traitement antibiotique, une échographie abdominale est réalisée. Cet examen d'imagerie est réalisé afin d'exclure toute maladie focale du tractus digestif d'origine mécanique ou néoplasique. Ensuite, des biopsies gastro-intestinales sont réalisées afin d'effectuer un examen histologique. La mise en évidence d'une infiltration inflammatoire dans la *lamina propria* de la muqueuse digestive est recherchée. En parallèle, cet examen histologique permet l'exclusion d'un processus néoplasique diffus potentiel. Les chiens reçoivent ensuite un traitement immunomodulateur (prednisolone, cyclosporine, etc.). Le diagnostic d'une EIC classée MICI est posé, et, selon l'amélioration clinique observée ou non, la classification en IRE ou NRE est réalisée.

Il est à noter que si une hypoalbuminémie est identifiée lors du bilan hémato-biochimique sanguin, le bilan diagnostique et l'approche thérapeutique sont modifiés. En effet, dans le cadre d'une entéropathie avec perte de protéines, les biopsies intestinales sont généralement effectuées immédiatement.

La démarche diagnostique des EIC chez le chien est résumée dans la **Figure 2**.





**Figure 2 : Démarche diagnostique des EIC chez le chien.** Réalisation Eloïse Deygout.

### 1.3 Prévalence et facteurs de risques

#### 1.3.1 Prévalence des EIC chez l'homme et chez le chien

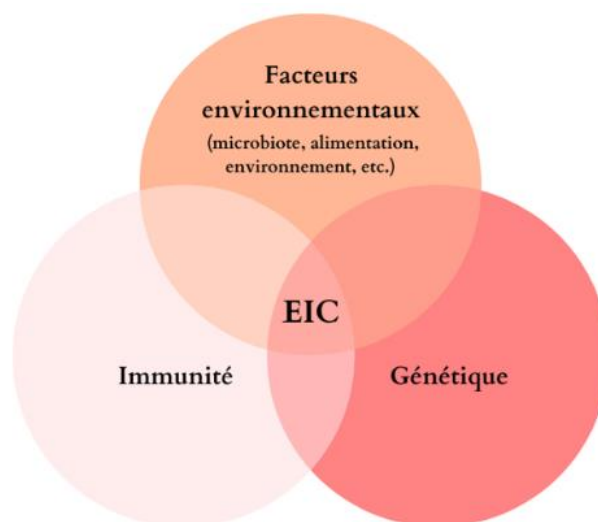
Les EIC sont des affections dont l'incidence et la prévalence ne cessent d'augmenter chez le chien mais également chez l'homme. En Amérique du Nord et en Europe, la prévalence de ces affections est particulièrement élevée chez l'homme. Les dernières données estiment que 0,2% de la population européenne souffre de MICI (Zhao et al. 2021). La prévalence de ces maladies atteint même 0,3% dans certains pays d'Amérique du Nord et d'Europe et en Océanie (Ng et al. 2017). En effet, on estime que plus d'un million d'américains et 2,5 millions d'euro-péens seraient atteints de MICI. Depuis les trente dernières années, l'incidence augmente fortement dans les pays nouvellement industrialisés comme en Amérique du Sud, en Afrique, au Moyen-Orient ou encore en Asie (Kaplan 2015) (Ng et al. 2017).

La prévalence des EIC chez le chien est difficilement évaluable par le manque d'informations à ce sujet. Les données actuelles proviennent d'études rétrospectives et s'appuient sur des stratégies différentes. En effet, la méthodologie des études s'appuie soit sur des questionnaires envoyés aux propriétaires/éleveurs/vétérinaires soit sur l'interprétation de données de compagnies d'assurance ou de dossiers provenant de cabinets vétérinaires de médecine générale ou spécialisée. Par conséquent, de nombreux biais dans les populations sélectionnées sont présents ce qui rend impossible la détermination exacte de l'incidence réelle des différentes EIC chez le chien. Globalement, toutes les causes de maladies gastro-intestinales représentent une

proportion importante des motifs de consultations en médecine générale avec une prévalence allant de 10% à 20% selon les différentes études (O'Neill et al. 2021) (Dandrieux et Mansfield 2019). Des études supplémentaires sont nécessaires afin d'obtenir une meilleure estimation de la prévalence réelle des EIC chez le chien dans la pratique vétérinaire générale et spécialisée, mais la prévalence supposée serait d'au moins 1% à 2% des motifs de consultation vétérinaire (Dandrieux et Mansfield 2019).

### 1.3.2 Facteurs de risques

La ou les causes exactes des EIC sont inconnues mais l'implication de facteurs immunitaires, génétiques et environnementaux est identifiée (**Figure 3**). L'hypothèse actuelle repose sur une réponse excessive du système immunitaire envers des agents environnementaux comme le microbiote et l'alimentation chez des individus génétiquement prédisposés (Khor, Gardet, et Xavier 2011).



**Figure 3** : Pathogénie des entéropathies inflammatoires chroniques chez le chien. Réalisation Eloïse Deygout.

#### a) Race et prédisposition génétique

Chez le chien, peu d'informations sont disponibles sur le rôle de la génétique. Une étude de 2011 sur 546 chiens au Royaume-Uni montre que 5 races canines sont surreprésentées dans le groupe des chiens atteints de MICI. On retrouve le braque de Weimar, le rottweiler, le berger allemand, le border collie et le boxer (Kathrani, Werling, et Allenspach 2011). De plus, certaines races développent des formes particulières d'EIC (German, Hall, et Day 2003) :

- La colite granulomateuse chez les boxers et les bouledogues français,
- L'entéropathie immunoproliférative chez les basenjis,
- L'entéropathie avec perte de protéines et la néphropathie avec perte de protéines chez les Wheaten Terriers à poil doux,

- Le syndrome diarrhéique chez les chiens norvégiens de macareux ou lundehunds.

Il est important de noter que même si des prédispositions raciales semblent être mises en évidence, toutes les races de chiens peuvent être affectées.

L'identification de races prédisposées permet d'orienter et de cibler des analyses génétiques pour mettre en évidence de potentiels gènes impliqués dans l'apparition et/ou le maintien des MICI. Les différentes origines possibles de ces prédispositions génétiques ont été recherchées et comme chez l'homme, des mutations sur les gènes codant pour les récepteurs NOD2 et Toll-Like Receptors (TLR) ont été identifiées. Ces récepteurs font tous deux partie de la famille des Pattern Recognition Receptors (PRR), récepteurs à reconnaissance de formes. Ils sont impliqués dans la reconnaissance de molécules bactériennes et le déclenchement de la réponse immunitaire. Concernant le gène NOD2, des mutations ont été décrites par des études d'association qui comparent la distribution des allèles d'un marqueur génétique polymorphe dans une population de malades et dans une population témoin (approche Single Nucleotide Polymorphism-SNP). Plus précisément, 4 SNP non synonymes dans l'exon 3 du gène NOD2 ont été identifiés comme étant significativement associés aux MICI chez le berger allemand (Kathrani et al. 2014). De plus, le niveau d'expression du gène NOD2 dans l'intestin semble être positivement associé à la gravité histopathologique des lésions inflammatoires chez le chien (Aono et al. 2019). Il est à noter que chez l'homme, un certain nombre de mutations ont été signalées comme pouvant jouer un rôle dans la pathogénie de la maladie de Crohn et que celles du gène NOD2 sont considérées comme étant les facteurs de risque génétiques les plus importants avec environ 20% à 40% des patients porteurs de mutations de ce gène (Hugot et al. 2001) (Ogura et al. 2001). Parallèlement, concernant le gène codant pour les TLR, des modifications d'expression de ce gène (notamment les gènes codant pour les récepteurs TLR2-4-5-9) ont été identifiées chez les chiens atteints de MICI (Allenspach et al. 2010) (Hernandez 2020). En effet, chez les bergers allemands atteints de MICI, il a été mis en évidence une association entre la dysbiose intestinale et une surexpression du gène codant pour le TLR4 et une sous-expression du gène codant pour le TLR5. Comme pour le gène codant pour le récepteur NOD2, des variantes alléliques ont été mises en évidence sur ces gènes. Sur le gène codant pour le TLR5, 3 SNP ont été identifiés ainsi que 4 SNP sur le gène codant pour le TLR4 (Kathrani et al. 2010). Une association entre ces SNP et les MICI a été prouvée chez les bergers allemands atteints de MICI (Peiravan et al. 2016).

### *b) Alimentation*

Une étude rétrospective sur 7015 chiens a permis de mettre en évidence des différences significatives entre deux types d'alimentation et le risque de développer une MICI au cours de la vie de l'animal (Hemida et al. 2021). Le premier régime alimentaire à avoir été étudié est le régime Non-Processed Meat-based Diet (NPMD) à base de viande non transformée et pauvre en glucides commercialisé ou préparé à la maison. Le second régime alimentaire à avoir été étudié est le régime Ultra-Processed Carbohydrate-based Diet (UPCD) à base d'éléments ultra-transformés faisant référence aux croquettes extrudées produites commercialement. Ces dernières contiennent en général 40% à 60% de glucides transformés (céréales, riz, pommes de terre ou pulpe végétale). Les résultats de cette étude montrent que les chiens nourris avec le régime NPMD au cours des périodes postnatales précoces et tardives avaient un risque

significativement plus faible de développer des MICI plus tard au cours de leur vie. Parallèlement, les chiens nourris avec le régime UPCD au cours des mêmes périodes étaient associés à un risque plus élevé.

Le régime alimentaire semble donc jouer un rôle sur l'apparition des MICI chez le chien. D'une part, l'alimentation exerce une influence sur la composition du microbiote intestinal, ce qui aurait pour conséquence une modification de l'équilibre des facteurs vus dans la **Figure 3** et donc un lien avec les MICI. Les détails concernant l'influence de l'alimentation sur la composition du microbiote intestinal seront abordés dans la partie 2.1.2. D'autre part, les antigènes alimentaires pourraient jouer un rôle dans l'apparition des MICI en participant à l'inflammation intestinale.

### c) Sexe et âge

L'influence du sexe du chien sur le risque de survenue des EIC a également été étudiée. La majorité des études montre que l'incidence des MICI chez les mâles et les femelles est globalement la même. Cependant, d'après l'étude d'Hemida et al. sur 7015 chiens, les mâles sont deux fois plus susceptibles de développer une MICI que les femelles (Hemida et al. 2021). Il est à noter que chez l'homme, l'incidence de la maladie de Crohn est globalement plus élevée chez la femme (Brant et Nguyen 2008).

Concernant l'âge, les chiens d'âge moyen semblent être plus touchés par les EIC. L'âge moyen au diagnostic des MICI évolue entre 4 et 8 ans en fonction de la race étudiée (Kathrani et al. 2011).

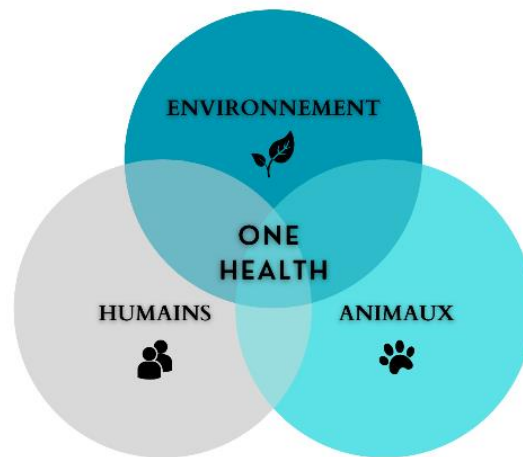
## 1.4 Enjeux actuels

### 1.4.1 Modèles de maladies comparées

Depuis ces dernières années, des progrès ont été réalisés concernant la compréhension de la pathogénie, le diagnostic et la classification des EIC chez le chien. En s'appuyant sur des modèles de maladies comparées, les avancées de la médecine humaine permettent le développement de la médecine vétérinaire, et *vice versa*. Le modèle canin semble être particulièrement pertinent pour étudier les interactions entre le microbiote intestinal et son hôte (Ericsson 2019). En effet, la physiologie et la composition du microbiote intestinal du chien domestique et de l'homme sont plus similaires que celles de l'homme et de la souris. Par conséquent, le chien semble être un modèle d'étude à très haut potentiel pour l'homme, et *vice versa* (Hernandez et al. 2022).

### 1.4.2 Résistances aux antibiotiques

Les maladies chroniques non transmissibles s'inscrivent dans le contexte One Health (« une seule santé ») (**Figure 4**). D'une part car ces maladies sont partagées par l'homme et le chien ; d'autre part car la lutte contre les résistances aux antimicrobiens représente un enjeu majeur qui suscite des inquiétudes croissantes. L'approche clinique des EIC a évolué ces dernières années vers l'abandon progressif de l'utilisation des antibiotiques, et vers des approches visant à restaurer un microbiote intestinal fonctionnel (Dupouy-Manescau et al. 2024). En effet, une étude a montré que 54% des isolats de *Clostridium perfringens* provenant de chiens souffrant de diarrhée aiguë présentaient une sensibilité réduite au métronidazole, l'un des antibiotiques les plus fréquemment utilisés dans le traitement de la diarrhée chez le chien (Gobeli et al. 2012). Outre le rôle de portage du chien, ces résultats expliquent l'intérêt grandissant de la communauté scientifique à identifier des voies thérapeutiques alternatives aux antibiotiques afin de limiter le développement de résistances aux antimicrobiens.



**Figure 4 : One health : santé sanitaire de l'homme, des animaux et de l'environnement.**  
Réalisation Eloïse Deygout.

### 1.4.3 Limites de la prise en charge actuelle par les traitements disponibles

#### a) Antibiotiques

Pendant plusieurs décennies, le métronidazole et d'autres antibiotiques ont été utilisés avec succès dans la démarche diagnostique et le traitement des EIC chez le chien. Outre les problèmes émergents de résistances aux antibiotiques, l'accumulation de preuves sur les effets délétères d'un tel traitement renforce la volonté de changer la prise en charge et de suivre les recommandations de la nouvelle classification (Dupouy-Manescau et al. 2024). Bien qu'un traitement antibiotique puisse améliorer les signes cliniques, la rechute des signes cliniques est particulièrement fréquente (Allenspach et al. 2016) (Johnston et al. 2000) (Igarashi et al. 2014). Chez les chiens souffrant de diarrhée chronique traités à la tylosine, le taux de rechute des signes cliniques à l'arrêt du traitement antibiotique est de plus de 80% (Westermarck et al. 2005). De plus, les traitements antibiotiques au métronidazole et à la tylosine entraînent une altération de

la composition du microbiote intestinal à long terme pouvant durer plusieurs mois (Chaitman et al. 2020) (Manchester et al. 2019) (Pilla et al. 2020). Également, certains chiens peuvent présenter des effets secondaires comme une aggravation de la diarrhée au cours du traitement antibiotique. En raison de ces effets négatifs rapportés, les antibiotiques ne sont plus utilisés comme traitement de routine chez les chiens atteints de maladies gastro-intestinales.

#### *b) Corticostéroïdes*

Le traitement des chiens atteints d'IRE (ou de MICI si la composante inflammatoire est démontrée histologiquement) consiste en l'administration de corticostéroïdes. La prednisolone est la molécule la plus fréquemment prescrite (Craven et al. 2004). Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés des corticostéroïdes systémiques chez le chien comprennent la polyphagie, la polyuro-polydyspie, le diabète sucré, la fragilité ligamentaire et les troubles du comportement (Jergens et al. 2010). D'autres corticostéroïdes, comme le budésonide, peuvent être utilisés mais les effets indésirables sont du même ordre chez le chien (Dye et al. 2013). Certains chiens sont réfractaires aux corticostéroïdes ou présentent des effets indésirables trop importants et peuvent être traités avec des immunosuppresseurs comme la cyclosporine (Allenspach et al. 2006). L'utilisation d'un traitement immunosuppresseur à long terme n'est pas sans conséquence chez le chien. Compte tenu de l'importance des effets indésirables, l'administration des corticoïdes doit faire suite à une démarche diagnostique rigoureuse et est réservée aux cas ne répondant pas aux changements alimentaires ou aux stratégies de modulation du microbiote intestinal.

#### *c) Prébiotiques*

Les prébiotiques sont des substrats non viables servant de nutriments aux micro-organismes bénéfiques présents dans le tractus digestif. Ils ont un impact sur la composition des communautés bactériennes ainsi que sur leurs activités métaboliques (Razali et al. 2024). Des expériences précliniques utilisant des prébiotiques sur des modèles de rongeurs et chez des humains rapportent des effets favorables sur les MICI (Laurell et Sjöberg 2017) (Hedin et al. 2010) (Ferenczi et al. 2016). Les prébiotiques permettent une réduction du pH colique, la réparation de l'épithélium intestinal enflammé *via* leur rôle trophique pour les cellules du côlon et l'inhibition de cytokines pro-inflammatoires. Le niveau global de preuve de l'efficacité de l'utilisation des prébiotiques pour améliorer cliniquement les humains atteints de MICI reste faible. Chez le chien, il n'existe aucune preuve de l'efficacité des prébiotiques mais certaines études pilotes sont prometteuses (Segarra et al. 2016) (Glanemann et al. 2021).

#### *d) Probiotiques*

Les probiotiques sont des organismes vivants pouvant être ingérés afin d'obtenir un avantage sur la santé de l'hôte. Différentes spécialités existent en médecine vétérinaire pour le chien. Des formulations à base d'une ou plusieurs souches probiotiques sont commercialisées. Chez le

chien, les études examinant les avantages des probiotiques dans la prévention ou le traitement des maladies gastro-intestinales sont rares (Jensen et Bjørnvad 2019). Une étude a révélé une amélioration significative des scores CCECAI chez les chiens atteints de MICI traités uniquement avec le probiotique multi-souches VSL#3 (Rossi et al. 2014). Le probiotique VSL#3 est un produit probiotique multi-souches à forte dose contenant des bactéries lyophilisées viables constituées de 4 souches de *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* et *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*), 3 souches de *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. breve* et *B. infantis*) et 1 souche de *Streptococcus sulivarius subsp. thermophilus*. Dans l'ensemble, les données actuellement disponibles ne sont pas suffisamment solides pour déterminer l'efficacité des probiotiques dans la réduction des signes cliniques lors d'EIC chez le chien. Cependant, l'avis des experts soutient l'utilisation de probiotiques multi-souches dans le traitement des EIC chez le chien.

#### e) *Symbiotiques et postbiotiques*

Les symbiotiques (association de prébiotiques et de probiotiques), ainsi que les postbiotiques (micro-organismes morts ou produits métaboliques microbiens bénéfiques pour la santé), ont récemment gagné en popularité dans l'utilisation des traitements permettant la modulation du microbiote chez le chien. Les études mesurant l'efficacité des symbiotiques sont rares mais une étude récente semble prometteuse pour illustrer leurs effets bénéfiques chez le chien atteint d'EIC (Sahoo et al. 2023). Concernant les postbiotiques, certaines études mettent en lumière leur influence sur la modulation du microbiote intestinal et sur la diminution des agents pro-inflammatoires sanguins chez le chien dans un contexte non pathologique (Xuan et al. 2024) (Belà et al. 2024). A l'heure actuelle, aucune étude ne permet d'évaluer leurs effets chez le chien atteint d'EIC.

#### f) *Transplantation de microbiote fécal*

La Transplantation de Microbiote Fécal (TMF) est une approche thérapeutique qui consiste en l'administration d'une préparation fécale en provenance d'un donneur sain dans le tube digestif d'un receveur malade. Cette approche suscite un intérêt grandissant chez l'homme et le chien et est aujourd'hui reconnue comme étant le traitement de référence de l'infection récurrente à *Clostridioides difficile* chez l'homme (Chapman et al. 2016). Chez le chien, deux études rapportent que  $\frac{3}{4}$  des chiens atteints d'EIC présentent une amélioration clinique à la suite d'une TMF (Innocente et al. 2022) (Toresson et al. 2023). Plusieurs rapports de cas ou de séries de cas cliniques sur l'utilisation de la TMF chez les chiens atteints d'EIC ou de MICI ont été publiés (Niina et al. 2019) (Niina et al. 2021) (Sugita et al. 2021) (Cerquetella et al. 2022) (Collier et al. 2022). Les données disponibles soutiennent amplement le recours à la TMF même si les preuves scientifiques restent limitées et que des études plus approfondies sont nécessaires pour évaluer l'utilisation de la TMF chez les chiens atteints d'EIC. Il est important de noter que la TMF est une méthode invasive et réduite aux établissements vétérinaires spécialisés.

## 2. RÔLE DU MICROBIOTE INTESTINAL DANS LES ENTEROPATHIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DU CHIEN

Le terme microbiote (*micro*, « petit » ; *bios*, « vie » en grec) désigne l'ensemble des micro-organismes vivant dans un environnement spécifique. Ces micro-organismes peuvent être des bactéries, des archées, des virus, des champignons ou des protozoaires. Les bactéries représentent 98% de ce microbiote (Deng et Swanson 2015). Un homme de 70 kg héberge près de  $3,8 \cdot 10^{13}$  bactéries d'après les estimations scientifiques, ce qui représente 1% à 3% de la masse corporelle (Sender, Fuchs, et Milo 2016). C'est dix fois plus que le nombre de cellules dans le corps humain.

La présence de ces micro-organismes sur/dans leur hôte peut entraîner plusieurs types de relations : du commensalisme (bénéfique pour le micro-organisme mais sans impact pour l'hôte), du mutualisme (impact réciproque pour le micro-organisme et l'hôte) ou du parasitisme (effet néfaste pour l'hôte). En biologie, le terme microbiome est utilisé pour décrire l'aire de vie d'un microbiote. En anglais, le terme microbiome correspond à l'ensemble de son génome, c'est-à-dire à l'ensemble du matériel génétique codé dans son ADN. Le terme microbiome sera ici utilisé pour parler de l'ensemble des gènes du microbiote. Les études métagénomiques chez l'homme ont rapporté que le microbiome intestinal humain est composé de 3,3 millions de gènes, soit 150 fois plus de gènes que dans le génome humain (Qin et al. 2010) (Bäckhed et al. 2005). Le microbiote intestinal, également appelé flore intestinale, regroupe l'ensemble des micro-organismes présents dans le tube digestif des animaux et des hommes en relation de mutualisme. L'hôte est en perpétuelle interaction avec son microbiote intestinal. Ce dernier possède de nombreuses fonctions comme la digestion, la synthèse et la biotransformation de nombreux composés nécessaires au métabolisme ou encore le développement du système immunitaire. Le microbiote intestinal est souvent défini comme un « organe » métaboliquement actif soit un organe à part entière qui permet le développement et le maintien physiologique de son hôte. La notion d'holobionte définit l'ensemble d'un organisme supérieur pluricellulaire appelé hôte et son microbiote.

### 2.1 Altérations de la composition du microbiote intestinal lors d'entéropathies inflammatoires chroniques chez le chien

#### 2.1.1 Méthodes d'analyse de la composition du microbiote intestinal

##### a) Culture bactérienne

La culture bactérienne est utilisée pour mettre en évidence des germes cultivables spécifiques. Aujourd'hui, la culture sur gélose de certaines bactéries comme *E. coli* ou *Salmonella sp.* est maîtrisée et peut être réalisée avec peu de matériel en cabinet vétérinaire par exemple. En effet, leur culture sur boîte de pétri à partir d'un échantillon de selles permet de tester leur viabilité, leur sensibilité aux antibiotiques et leurs facteurs de virulence. Cette technique est donc intéressante pour l'identification d'un germe spécifique dans la démarche diagnostique visant à valider ou non la présence de ladite bactérie.



Cependant, dans le cadre de l'étude de la composition du microbiote intestinal où l'ensemble des bactéries présentes dans un échantillon doit être identifié, l'utilité de cette méthode est anecdotique. En effet, seulement 30% des bactéries intestinales sont cultivables avec les techniques de laboratoire standard (Fraher, O'Toole, et Quigley 2012). La majorité des bactéries intestinales sont anaérobies stricts (ANAs) et par conséquent ne peuvent croître en présence de dioxygène dans les conditions standards de culture. En plus des conditions spécifiques de culture, certaines bactéries nécessitent des substrats particuliers parfois même encore inconnus pour certaines. La culture bactérienne reste la méthode de choix pour évaluer la sensibilité d'une souche de bactéries à un antibiotique (Manchester et al. 2021).

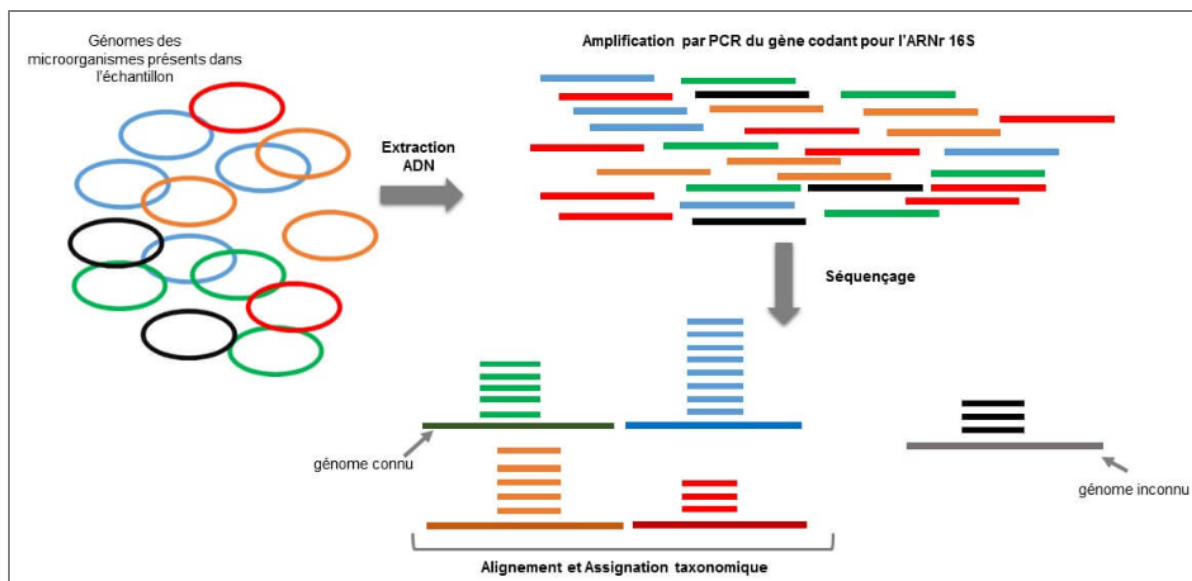
### *b) Métagénomique*

Les techniques d'analyse du matériel génétique bactérien sont couramment utilisées pour caractériser l'ensemble du microbiote intestinal. A l'inverse de la génomique qui consiste à étudier le génome d'une espèce bactérienne unique, la métagénomique étudie les génomes de l'ensemble des cellules présentes dans un milieu donné. La métagénomique s'applique à l'étude de la composition du microbiote intestinal en apportant des informations sur l'identité des espèces bactériennes et leur diversité. Seule la métagénomique bactérienne est développée ici.

L'analyse métagénomique peut être divisée en deux approches différentes (Diene et al. 2014) (Anon s. d.) :

- La métagénomique ciblée : permet d'établir l'inventaire des bactéries présentes dans un milieu donné en se basant sur le séquençage de régions ciblées d'ADN préalablement amplifiée par Polymerase Chain Reaction (PCR). C'est une méthode dite descriptive qui permet l'obtention des compositions relatives en espèces bactériennes. Dans les études analysant la composition du microbiote intestinal, la méthode la plus utilisée repose sur le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S mais d'autres gènes, comme le gène *rpoB*, peuvent être utilisés (Mollet, Drancourt, et Raoult 1997).
- La métagénomique globale : permet de séquencer l'ensemble du génome présent dans un milieu donné grâce à la fragmentation aléatoire de l'ADN total, au séquençage des fragments obtenus puis au réassemblage informatique des séquences identifiées. Cette méthode est également descriptive mais elle apporte des informations supplémentaires sur les capacités fonctionnelles des génomes étudiés. L'ensemble des génomes est reconstitué ce qui permet l'identification de gènes codant pour des protéines d'intérêt exerçant des fonctions particulières. La méthode de séquençage Shotgun à haut débit est utilisée pour les études analysant la composition du microbiote intestinal.

La technique de séquençage du gène de l'ARNr 16S est la plus fréquemment utilisée pour l'identification des bactéries intestinales chez les chiens (Suchodolski 2022) (Matsumoto et Sugano 2013). La méthode consiste à extraire une partie de l'ADN des bactéries présentes dans un échantillon intestinal (biopsie, contenu luminal ou échantillon fécal) afin de les identifier par séquençage après une amplification par PCR. Pour ce faire, un gène cible commun à l'ensemble des bactéries est amplifié puis séquencé (**Figure 5**).



**Figure 5** : Principe de la méthode de séquençage du gène de l'ARNr 16S. D'après (Anon s. d.).

Le gène cible le plus couramment utilisé est le gène codant pour l'ARNr 16S. Ce gène est commun à toutes les bactéries et possède une alternance de régions conservées communes et de régions variables spécifiques du genre voire de l'espèce bactérienne (Chakravorty et al. 2007). Par conséquent, le gène 16S représente l'empreinte génétique moléculaire des bactéries. Les amorces bactériennes utilisées ont pour cible des régions conservées connues. Les régions conservées et variables étant en alternance, il est donc possible d'amplifier puis de séquencer la région variable intermédiaire que l'on souhaite étudier afin de permettre l'identification bactérienne. Neuf régions variables (nommées V1 à V9) sont présentes dans le gène 16S. Les régions V3 et V4 portent un fort intérêt d'étude car ce sont les régions qui varient le plus (régions variables portant les plus grandes séquences) (Chakravorty et al. 2007).

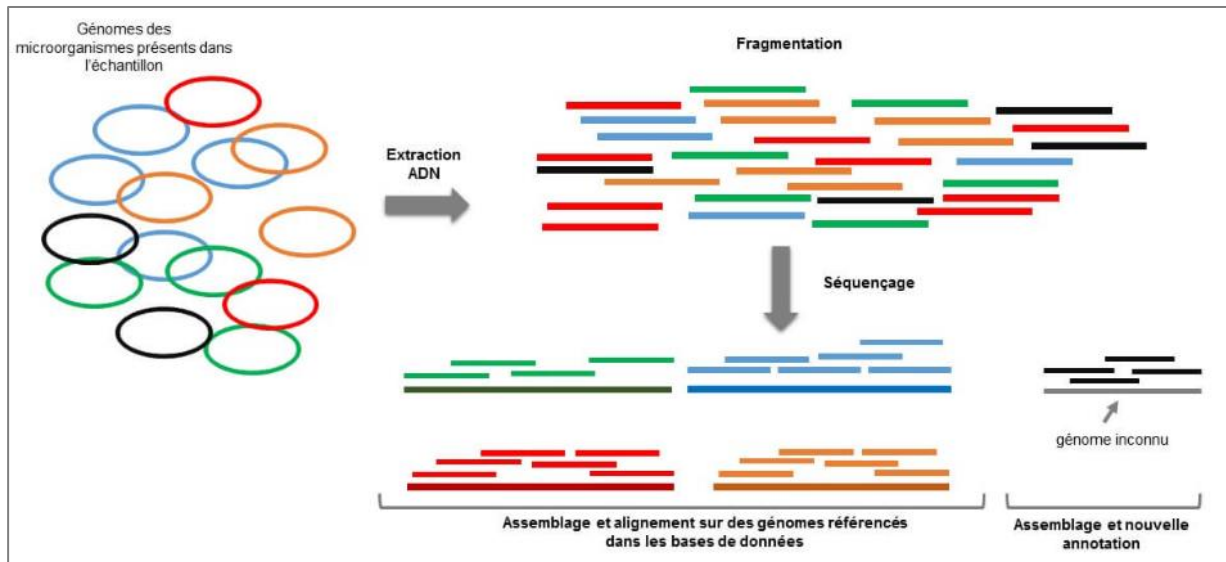
Les résultats de séquençage de l'ensemble des gènes 16S obtenus sont analysés et comparés à des banques de données permettant l'identification des bactéries présentes. Cette méthode peut être utilisée pour découvrir de nouvelles espèces bactériennes (Clarridge 2004). Le processus d'analyse des séquences nécessite l'utilisation de bases de données spécifiques (comme Illumina MiSeq ou Ion Torrent PGM) et l'utilisation d'une technologie bio-informatique avancée (Suchodolski 2022). L'analyse statistique effectuée dépend de la conception de l'étude par les auteurs. Calypso® est l'interface web souvent utilisée pour l'analyse statistique et la visualisation des données.

L'avantage de cette méthode est son coût peu élevé. Néanmoins, ce n'est pas une méthode quantitative, c'est-à-dire qu'elle ne permet pas d'objectiver la quantité absolue des populations bactériennes étudiées car chaque bactérie contient plusieurs copies du gène de l'ARNr 16S (Větrovský et Baldrian 2013). Le séquençage de l'ARNr 16S est une méthode semi-quantitative qui permet d'obtenir l'abondance relative des communautés bactériennes en comparant les quantités de séquences obtenues entre elles. L'abondance relative d'une population bactérienne apporte beaucoup d'informations mais engendre des biais d'interprétation car l'augmentation d'un taxon entraîne la diminution simultanée d'un autre. De plus, les plateformes de séquençage ainsi que les bases de données sont en constante évolution même au sein d'un même laboratoire (Suchodolski 2022). Par conséquent, d'une étude à l'autre, les méthodes utilisées varient

considérablement. Il est donc difficile de comparer les différents résultats et ces résultats doivent être interprétés avec précaution. Des facteurs peuvent influencer l'abondance relative des taxons bactériens identifiés comme la méthode d'extraction de l'ADN qui peut favoriser la lyse de certaines bactéries par rapport à d'autres ou encore le choix des amorces. L'expression des résultats à différents niveaux taxonomiques varient d'un auteur à l'autre. Certains auteurs s'arrêtent à la description du phylum ou de la famille bactérienne tandis que d'autres décrivent les genres. Ces différences peuvent également induire des erreurs dans l'interprétation des résultats car certaines lignées taxonomiques sont très diverses et qu'au sein d'un même phylum, différentes familles bactériennes peuvent évoluer à la hausse ou à la baisse.

Le séquençage du gène de l'ARNr 16S est l'approche standard des études de la composition du microbiote intestinal. Cependant, aucune information n'est disponible sur la reproductibilité de ce séquençage. L'interprétation des résultats obtenus doit prendre en compte l'ensemble des limites citées. Les taxons bactériens d'intérêt peuvent être étudiés à l'aide d'une méthode plus reproductible comme la qPCR.

Le séquençage Shotgun est une autre méthode très utilisée en métagénomique. Contrairement à la métagénomique ciblée qui n'étudie qu'un seul gène cible, la méthode Shotgun consiste à fragmenter l'ADN total de l'ensemble des bactéries présentes dans un échantillon en nombreux petits segments d'ADN. Les fragments obtenus sont ensuite séquencés sans amplification préalable par PCR. Ils sont réassemblés grâce à l'analyse du chevauchement des extrémités des fragments d'ADN par des programmes informatiques. L'assemblage de ces fragments permet l'obtention d'une séquence continue et donc la reconstitution du génome entier des bactéries (**Figure 6**).



**Figure 6** : Principe de la méthode de séquençage Shotgun. D'après (Anon s. d.).

Cette approche permet l'identification des taxons bactériens avec plus de précision que le séquençage du gène 16S (Ranjan et al. 2016). De plus, elle permet également de connaître les capacités fonctionnelles des génomes séquencés en identifiant la présence de gènes codant pour des protéines d'intérêt impliquées dans certaines fonctions particulières. Des informations plus détaillées sur la présence de gènes de virulence ou de gènes de résistance à certains antimicrobiens peuvent être données. D'autres types de micro-organismes tels que les archées, les champignons et les virus à ADN (principalement des bactériophages) peuvent être identifiés

avec cette méthode. Il a été rapporté que la proportion des bactéries présentes dans le microbiote intestinal canin était de 98%, que celle des archées était d'environ 1% et que celle des champignons et des virus à ADN était le pourcentage restant (Kelly S Swanson et al. 2011).

Cette technique est une technique semi-quantitative qui permet d'obtenir l'abondance relative des populations microbiennes. Elle semble être la méthode de choix pour la caractérisation du microbiote intestinal (Suchodolski 2022). Cependant, elle est très peu utilisée en médecine vétérinaire à cause de son coût nettement supérieur au séquençage du gène de l'ARNr 16S. L'assemblage de toutes les données obtenues nécessitent une bio-informatique extrêmement avancée. Une nouvelle méthode appelée « shallow shotgun metagenomics » semble représenter une potentielle alternative avec une plus faible couverture de séquences et donc une réduction de la lecture de séquençage (Hillmann et al. 2018). Les coûts se situent entre ceux (élevés) de la méthode de séquençage Shotgun et ceux (relativement faibles) du séquençage du gène de l'ARNr 16S. Cette nouvelle méthode a été utilisée pour évaluer le microbiome humain et sera bientôt plus couramment utilisée pour la caractérisation du microbiote intestinal chez les animaux de compagnie (Suchodolski 2022).

### c) *qPCR*

La qPCR, aussi appelée PCR quantitative ou PCR en temps réel, est une méthode particulière de PCR qui permet d'obtenir la quantité initiale d'ADN cible en mesurant le nombre d'amplicons. A chaque cycle d'amplification, la quantité d'amplicons est mesurée grâce à un marqueur fluorescent. Cette méthode simple, rapide (< 24h) et abordable est une méthode hautement reproductible si la méthode d'extraction de l'ADN et les amorces choisies sont identiques.

Concernant l'étude du microbiote intestinal, l'utilisation du séquençage de nouvelle génération permet d'obtenir des abondances relatives et peut conduire à des interprétations erronées dans la proportion des communautés microbiennes. La qPCR fournit une estimation précise de l'abondance absolue des bactéries totales et/ou des taxons spécifiques d'un échantillon (Jian et al. 2020). Bien que l'abondance relative des taxons puisse être indicative, une quantification absolue est nécessaire pour obtenir une compréhension optimale du microbiote intestinal. Sa reproductibilité en fait une méthode de choix pour approfondir l'étude, et permettre la quantification exacte, des taxons bactériens pertinents préalablement étudiés par les méthodes de séquençage (Kurina et al. 2020) (Ebentier et al. 2013). L'utilisation de la qPCR est également intéressante pour comparer les changements dans l'abondance totale des bactéries avant et après une intervention (transplantation de microbiote fécal, traitement antibiotique) car les résultats peuvent être comparés (Suchodolski 2022).

### d) *FISH*

La méthode d'hybridation fluorescente *in situ* ou FISH (fluorescence *in-situ* hybridization) est une technique de biologie moléculaire permettant le marquage et donc la visualisation du matériel génétique présent dans les cellules. Cette méthode repose sur l'hybridation *in situ* du

matériel génétique grâce à des sondes marquées d'un marqueur fluorescent (Daims, Stoecker, et Wagner s. d.). Les sondes peuvent être universelles ou spécifiques ce qui permet de visualiser la totalité des bactéries présentes ou certains taxons bactériens d'intérêt. La méthode FISH est utilisée pour visualiser la localisation spatiale des bactéries dans un échantillon de tissu biologique.

Afin de mieux comprendre le rôle des bactéries dans la pathogénie des EIC, la localisation des bactéries dans le tractus digestif a été explorée. Les bactéries peuvent se situer dans la couche de mucus présente sur la muqueuse digestive, être attachées à l'épithélium intestinal ou se situer à l'intérieur de certaines cellules de l'intestin (bactéries intracellulaires). Chez le chien atteint d'EIC, il a été rapporté qu'un nombre accru d'*E. coli* est présent sur la surface du côlon et dans les cryptes intestinales par rapport aux chiens sains (Giaretta et al. 2020). Cependant, le nombre total de bactéries est plus faible dans les cryptes du côlon des chiens atteints d'EIC. Le dénombrement de bactéries à partir de fèces est également possible (Inness et al. 2007). Cette méthode nécessite beaucoup de travail et un équipement coûteux ce qui limite la technique à quelques laboratoires spécialisés (Suchodolski 2022).

#### e) Métabolomique

La métabolomique est une science émergente qui se définit comme l'étude de l'ensemble des métabolites (acides aminés, oligopeptides, glucides, acides gras, etc.) présents dans un échantillon. Les méthodes analytiques principalement utilisées en métabolomique fécale sont la Spectrométrie de Masse (SM) et la spectroscopie à Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) (Zhou et al. 2021). Cette technique permet la mesure simultanée d'une large gamme de métabolites à partir d'une seule analyse. Des informations quantitatives (ou semi-quantitatives) sur les métabolites identifiés peuvent être obtenues (Chen et al. 2019).

Deux approches métabolomiques existent (Lenski et al. 2023) (Ellero-Simatos, Claus, et Guillou 2019) :

- La métabolomique ciblée : identifier et/ou quantifier un ensemble de métabolites prédéfinis dans la démarche de l'étude d'une ou plusieurs voies métaboliques spécifiques.
- La métabolomique non ciblée : identifier et/ou quantifier un ensemble de métabolites non prédéfinis détectables dans un échantillon dans la démarche de générer des hypothèses expliquant un phénomène.

Ces deux approches sont complémentaires pour confirmer une hypothèse préétablie et mettre en évidence de nouveaux biomarqueurs à étudier. Cette méthode est intéressante pour étudier les liens qui existent entre le microbiote et son hôte. Il a été rapporté que les métabolites microbiens, comme les acides gras à chaîne courte (AGCC), les acides biliaries (AB) ou les dérivés du tryptophane peuvent moduler le phénotype de l'hôte (Zhou et al. 2021). Cependant, la simple identification des métabolites présents ne permet pas d'indiquer leur provenance (hôte ou microbiote) ni leur fonction réelle dans certains mécanismes. De plus, cette méthode a de nombreux défis comme la nécessité d'outils analytiques adéquats, la manipulation des échantillons ou le choix du modèle d'étude (Smirnov et al. 2016).

### f) Métaprotéomique

La métaprotéomique est une science qui se définit comme l'étude de l'ensemble des protéines d'un échantillon à un moment donné et sous des conditions données. En effet, l'étude du génome d'une cellule nous informe sur la totalité du répertoire génétique mais tous les gènes présents ne sont pas exprimés de la même manière. Par conséquent, l'étude des protéines se veut plus proche de la physiologie cellulaire.

Deux approches protéomiques existent (Lescuyer, Chevallet, et Rabilloud 2004) :

- La protéomique d'expression : identifier les gènes exprimés dans une condition donnée et quantifier les protéines présentes. Cette approche couple, dans sa version classique, l'électrophorèse bidimensionnelle à la SM mais d'autres versions peuvent être couplées à la chromatographie.
- La protéomique d'interaction : identifier les interactions physiques entre les protéines ainsi que leur variation en fonction des conditions étudiées. Deux techniques sont utilisées : l'approche double-hybride et la technique TAP-TAG.

La métaprotéomique microbienne permet de caractériser les fonctions du microbiote intestinal et d'accéder à une mine d'informations sur les interactions présentes entre le microbiote intestinal et l'hôte (Xiong et al. 2015). L'importance fonctionnelle dans la physiologie digestive de certains taxons bactériens, comme les *Bacteroides*, a été soulignée grâce cette méthode (Verberkmoes et al. 2009). L'abondance des protéines de l'immunité innée retrouvées dans les matières fécales chez les sujets sains souligne l'importance des phénomènes inflammatoires dans les mécanismes de régulation physiologique entre l'hôte et son microbiote. La métaprotéomique est une science prometteuse pour l'identification de facteurs diagnostics et pronostics des EIC (Kalla et al. 2021). Cependant, l'identification de nombreuses protéines est difficile car certaines protéines sont présentes en très faible quantité et de grandes similitudes de séquences peuvent être présentes entre les protéines (Haange et Jehmlich 2016). De plus, l'estimation de l'abondance des protéines dans des échantillons complexes reste un défi particulier à relever (Verberkmoes et al. 2009). La protéomique est une méthode plus rapide et moins coûteuse que la méthode métagénomique Shotgun.

### g) Comparaison des méthodes de caractérisation du microbiote intestinal

**Tableau 3 : Comparaison des différentes méthodes de caractérisation du microbiote intestinal chez le chien.** Adapté selon (Suchodolski 2022).

	But	Description	Avantages	Inconvénients
<b>Culture bactérienne</b>	○ Identification d'une bactérie spécifique ou dénombrement d'un lot limité de bactéries	Ensemencement bactérien sur milieu spécifique (boîte de pétri)	○ Peu coûteux ○ Peu de matériel ○ Simple	○ Incapacité à cultiver la majorité des bactéries intestinales

<b>Séquençage du gène de l'ARNr 16S</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Mesure de l'abondance relative de la composition bactérienne</li> <li>○ Identification de nouvelles espèces bactériennes</li> </ul>	Amplification par PCR du gène codant pour l'ARNr 16S de toutes les bactéries du milieu puis séquençage des amplicons	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Relativement peu coûteux</li> <li>○ Semi-quantitatif (abondances relatives)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Bio-informatique avancée nécessaire</li> <li>○ Bases de données peu comparables entre elles</li> <li>○ Etudes à des niveaux taxonomiques différents</li> <li>○ Gènes bactériens uniquement</li> <li>○ Biais d'interprétation des abondances relatives</li> </ul>
<b>Séquençage Shotgun</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Mesure de l'abondance relative de la composition microbienne</li> <li>○ Séquençage du génome entier</li> <li>○ Etude de la capacité fonctionnelle du génome</li> </ul>	L'ADN total de toutes les bactéries du milieu est fragmenté puis séquencé de manière aléatoire (sans amplification par PCR) afin d'être ensuite réassemblé bio-informatiquement	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Identification de la présence de gènes d'intérêt</li> <li>○ Identification de nouveaux gènes</li> <li>○ Précision</li> <li>○ Semi-quantitatif (abondances relatives)</li> <li>○ Gènes bactériens, viraux, fongiques, etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Très coûteux</li> <li>○ Bio-informatique très avancée nécessaire</li> <li>○ Biais d'interprétation des abondances relatives</li> </ul>
<b>qPCR</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Quantification absolue des bactéries totales ou des taxons bactériens d'intérêt</li> </ul>	Amplification de l'ADN cible à l'aide d'amorces marquées par un colorant fluorescent	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Peu coûteux</li> <li>○ Rapide</li> <li>○ Simple</li> <li>○ Reproductible</li> <li>○ Quantitatif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Conception d'amorces spécifiques pour chaque groupe d'intérêt</li> </ul>
<b>FISH</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Localisation des bactéries dans les tissus</li> <li>○ Identification et quantification des bactéries</li> </ul>	Hybridation de séquences d'ADN par des sondes marquées d'un colorant fluorescent puis visualisation sur lames de biopsie	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Localisation des bactéries dans les tissus</li> <li>○ Quantitatif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Travail spécialisé dans un laboratoire dédié</li> <li>○ Conception de sondes spécifiques pour chaque groupe d'intérêt</li> </ul>
<b>Métabolomique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Identification et quantification de l'ensemble des métabolites d'un milieu</li> </ul>	Extraction puis identification des métabolites par SM ou RMN	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Quantitatif ou semi-quantitatif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Outils analytiques puissants nécessaires</li> </ul>
<b>Méta-protéomique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Identification et quantification de l'ensemble des protéines d'un milieu</li> <li>○ Etude des interactions entre protéines</li> </ul>	Extraction puis identification des protéines par SM	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Quantitatif ou semi-quantitatif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Identification difficile des protéines en faible quantité et dont les séquences codantes sont proches</li> <li>○ Outils analytiques puissants nécessaires</li> </ul>

## 2.1.2 Composition du microbiote intestinal du chien sain

### a) Taxonomie bactérienne

Afin d'étudier la composition bactérienne d'un microbiote donné, il est important d'avoir en tête la taxonomie du règne *Bacteria*, le règne des bactéries. Les bactéries sont classées en divisions, autrement appelées phyla bactériens, puis en classes, ordres, familles, genres et espèces bactériennes. Le **Tableau 4** décrit les principaux genres bactériens appartenant aux phyla les plus représentés au sein du microbiote intestinal (Barko et al. 2018). D'autres phyla bactériens existent mais ne seront pas cités ici pour cause de leur présence anecdotique dans le microbiote intestinal.

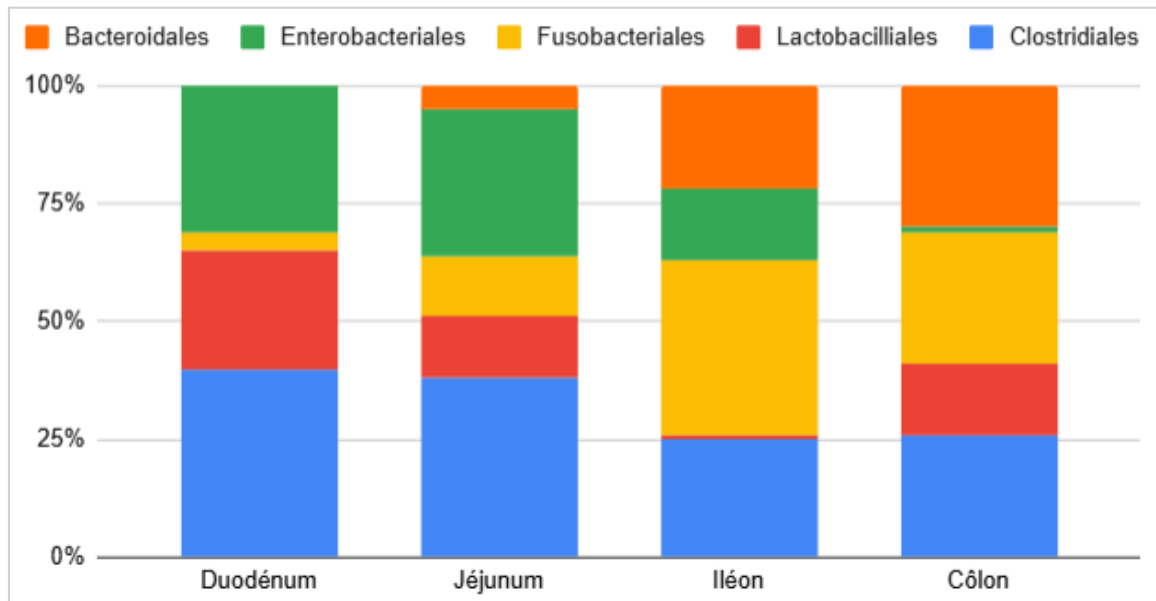
**Tableau 4 : Taxonomie des principaux genres bactériens présents dans le microbiote intestinal.** D'après (Barko et al. 2018).

Phylum	Class	Order	Family	Genus
Firmicutes	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium</i>
			<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Ruminococcus</i>
			<i>Eubacteraceae</i>	<i>Faecalibacterium</i>
	<i>Bacilli</i>	<i>Lactobacilliales</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Eubacterium</i>
			<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>
			<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>
	<i>Erysiphelotrichia</i>	<i>Erysiphelotrichales</i>	<i>Erysiphelotrichaceae</i>	<i>Turicibacter</i>
				<i>Catenibacterium</i>
	<i>Negativicutes</i>	<i>Selenomonadales</i>	<i>Selenomonadaceae</i>	<i>Coprobacillus</i>
				<i>Allobaculum</i>
<i>Megamonas</i>				
<i>Dialister</i>				
Bacteroidetes	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Megasphaera</i>
			<i>Prevotellaceae</i>	<i>Veillonella</i>
Actinobacteria	<i>Coriobacteriia</i>	<i>Coriobacteriales</i>	<i>Prevotella</i>	
			<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Prevotella</i>
	<i>Actinobacteria</i>	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bacteroides</i>
				<i>Atopobiaceae</i>
Fusobacteria	<i>Fusobacteriia</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Olsenella</i>	
			<i>Eggerthellaceae</i>	<i>Slackia</i>
Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Eggerthella</i>	
			<i>Enterobacteraceae</i>	<i>Eggerthella</i>
		<i>Aeromonadales</i>	<i>Bifidobacterium</i>	
Fusobacteria	<i>Fusobacteriia</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacterium</i>	
			<i>Succinivibrionaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>
Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Escherichia</i>	
			<i>Succinivibrionaceae</i>	<i>Shigella</i>
Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Succinivibrio</i>	
			<i>Succinivibrionaceae</i>	<i>Anaerobiospirillum</i>



b) *Variation de la composition du microbiote intestinal le long du tractus digestif*

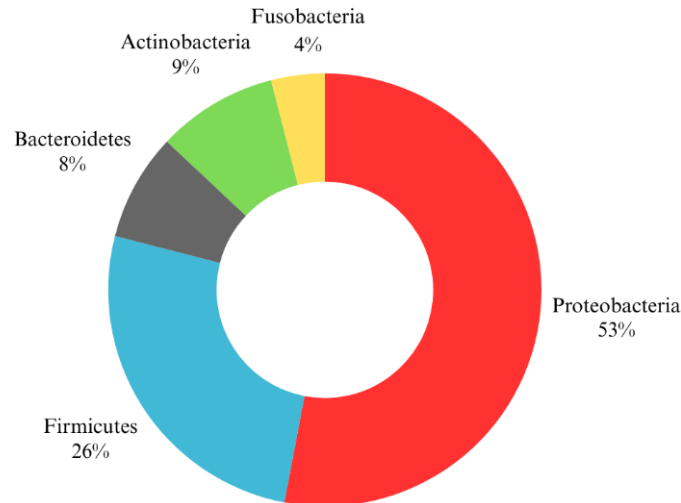
La plupart des études qui analysent la composition du microbiote intestinal se centrent sur les communautés microbiennes présentes dans le côlon ou dans les fèces. Avant 2008, seules quelques études, réalisées chez l'homme, le porc et le poulet, ont exploré la composition du microbiote intestinal présent dans les parties proximales de l'intestin, le jéjunum et l'iléon (Wang et al. 2003) (Leser et al. 2002) (Gong et al. 2007). Pour la première fois en 2008, grâce à la métagénomique ciblée, Suchodolski et al. ont caractérisé la composition du microbiote intestinal dans le duodénum du chien (Suchodolski, Camacho, et Steiner 2008). Ils ont rapporté que la composition du microbiote intestinal varie le long du tractus intestinal du chien en bonne santé (**Figure 7**) (Suchodolski et al. 2008).



**Figure 7** : Proportions relatives des communautés bactériennes du microbiote du chien dans quatre segments différents du tube digestif. Adapté selon (Suchodolski 2008).

Il est intéressant de noter que la proportion relative des bactéries aérobies, comme les *Enterobacterales*, ou anaérobies facultatifs, comme les *Lactobacilliales*, est plus élevée dans l'intestin grêle que dans le côlon. Les bactéries anaérobies strictes (ANAs), comme les *Bacteroidales* et les *Fusobacterales*, sont majoritairement abondantes dans la portion distale du tractus digestif. L'analyse du contenu intestinal des chiens par culture bactérienne a également révélé des différences significatives dans le rapport entre les bactéries aérobies et anaérobies entre l'intestin grêle et les matières fécales (Mentula et al. 2005).

Une autre étude de Suchodolski et al. a rapporté l'abondance relative des différents phyla bactériens du microbiote intestinal dans le duodénum (**Figure 8**) (Suchodolski et al. 2010).



**Figure 8 : Proportions relatives des phyla bactériens du microbiote intestinal dans le duodénum de chiens sains.** Adapté selon (Suchodolski et al. 2010).

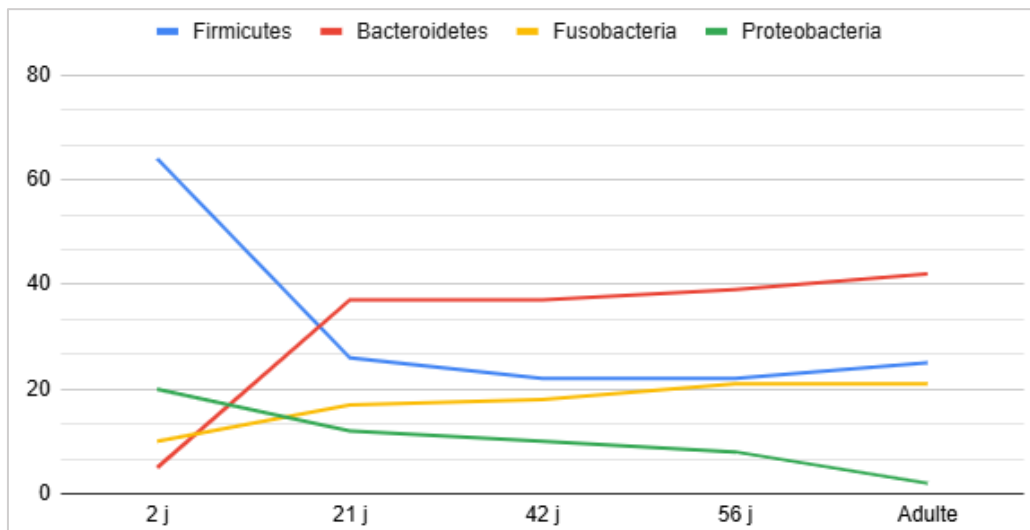
En 2017, Honneffer et al. ont eux aussi exploré la composition du microbiote intestinal canin dans les différentes portions de l'intestin (Honneffer et al. 2017). Leurs résultats sont cohérents avec les conclusions tirées dans les précédentes études, cependant, les proportions relatives diffèrent légèrement. Les phyla identifiés comme étant les plus représentés sont également les Proteobacteria, les Firmicutes, les Fusobacteria et les Bacteroidetes. Tous les phyla ont des abondances relatives significativement modifiées en fonction des différentes portions de l'intestin sauf le phylum des Fusobacteria. Leurs résultats sont en accord avec Suchodolski et al. sur le fait que, du duodénum au côlon, l'abondance relative des Proteobacteria diminue drastiquement mais que celle des Bacteroidetes et des Fusobacteria augmente fortement. Outre les légères différences entre les proportions relatives des deux études, l'abondance relative du phylum des Firmicutes augmente très largement le long du tractus digestif alors que Suchodolski et al. ont identifié une diminution de ce phylum. Le phylum des Actinobacteria a également été identifié mais l'abondance de ces bactéries était minime dans l'ensemble des quatre segments étudiés comparé à la proportion des autres phyla (Honneffer et al. 2017).

Concernant la composition du microbiote fécal, Handl et al, ont pu mettre en évidence que l'abondance relative des bactéries présentes dans les échantillons fécaux des chiens en bonne santé est de : 95,4% de Firmicutes, 2,3% de Bacteroidetes, 1,8% de Actinobacteria et 0,3% de Fusobacteria (Handl et al. 2011). Les genres bactériens les plus représentés sont les *Clostridium* et les *Ruminococcus*, appartenant au phylum des Firmicutes. D'autres études présentent des résultats différents sur la composition du microbiote fécal du chien en bonne santé mais les méthodes analytiques et les populations sélectionnées sont différentes (Middelbos et al. 2010) (Kelly S. Swanson et al. 2011).

c) *Principaux facteurs d'influence sur la composition du microbiote intestinal*

- Age du chien

Guard et al. ont étudié la composition du microbiote fécal de chiots beagles dès la naissance jusqu'au sevrage (56 jours après la naissance) et l'ont comparée avec celle de leur mère adulte (Guard et al. 2017). Il a été rapporté qu'une modification majeure de la composition du microbiote fécal a lieu entre le 2<sup>ème</sup> et le 56<sup>ème</sup> jour de vie du chiot. A la naissance, le phylum des Firmicutes, et notamment le genre *Clostridium*, est très majoritairement représenté dans le microbiote fécal du chiot (**Figure 9**). La communauté bactérienne appartenant à ce phylum devient de moins en moins abondante quand le chiot grandit en passant de 64% du microbiote fécal à la naissance à 22% au sevrage. Le phylum des Bacteroidetes est peu représenté dans le microbiote fécal du chiot nouveau-né, à hauteur de moins de 1%, mais atteint un pourcentage médian de 37% du microbiote fécal dès l'âge de 21 jours. La composition du microbiote fécal du chiot subit de grandes modifications dans les trois premières semaines de vie. L'influence du microbiote de la mère sur celui des chiots reste encore à déterminer (Guard et al. 2017).



**Figure 9** : Evolution de la composition bactérienne du microbiote fécal en abondance relative des phyla bactériens en fonction de l'âge du chien. Adapté selon (Guard et al. 2017).

- Race du chien

You et al. ont comparé la composition du microbiote fécal de différentes races à partir d'échantillons de selles fraîches provenant de 96 chiens (You et Kim 2021). Il a été rapporté que l'abondance relative du genre bactérien *Fusobacterium* est significativement différente entre les neuf races de chiens étudiées. De plus, la richesse microbienne est significativement plus élevée chez les bulldogs. Les bichons possèdent une grande abondance de bactéries appartenant au phylum des Fusobacteria tandis que les caniches possèdent une grande abondance des phyla Firmicutes et Actinobacteria. Ces résultats sont cohérents avec d'autres études similaires. Reddy et al. ont également montré que chez le bichon, l'abondance relative des Firmicutes est significativement plus faible que chez les deux autres races étudiées dans leur étude (caniche et schnauzer nain) et que la population des Fusobacteria est significativement plus représentée au sein du microbiote intestinal (Reddy et al. 2019).

- Alimentation du chien

De nombreuses études portent sur l'influence de l'alimentation sur la composition du microbiote intestinal du chien. Bermingham et al. ont émis l'hypothèse que les changements de composition du microbiote fécal du chien étaient corrélés à la digestibilité apparente des macronutriments (Bermingham et al. 2017). Ils ont pu observer des différences de composition bactérienne entre les fèces de chiens nourris avec des croquettes de qualité supérieure et celles de chiens nourris avec un régime à base de viande crue. En effet, les chiens nourris avec de la viande crue présentent une communauté bactérienne Bacteroidetes moins abondante ainsi qu'une communauté bactérienne Fusobacteria plus abondante dans leur microbiote fécal que chez les chiens nourris avec des croquettes de qualité supérieure. Hang et al. ont également rapporté une augmentation de la proportion relative des bactéries appartenant au phylum des Fusobacteria dans le microbiote fécal des chiens nourris avec un régime riche en protéines (Hang et al. 2012). Schmidt et al. se sont intéressés à l'influence du régime Bones And Raw Food (BARF) sur la composition du microbiote fécal du chien (Schmidt et al. 2018). Cette étude a révélé que les chiens nourris avec un régime BARF présentent des communautés bactériennes appartenant aux phyla des Fusobacteria et des Proteobacteria significativement plus représentées que les chiens nourris avec des croquettes commerciales. Ces mêmes chiens ont une communauté de Firmicutes significativement moins représentée dans leur microbiote fécal que les chiens nourris avec des croquettes standards.

- Environnement du chien

Des modifications de la composition du microbiote intestinal du chien ont été identifiées en fonction de l'environnement dans lequel vit le chien. Dans une étude évaluant l'influence de l'environnement sur 30 portées de chiens bergers allemands, il a été rapporté qu'une différence de diversité microbienne est présente entre le microbiote fécal des chiens vivant en ville et ceux vivant à la campagne (Vilson et al. 2018). Les chiens qui vivent dans les grandes villes au cours de leur première année de vie présentent une diversité microbienne plus importante que les chiens vivant à la campagne.

- Maladies du chien

Depuis plusieurs années, il a été montré que l'obésité affecte la composition du microbiote intestinal. Les premières études réalisées chez les souris rapportent que le surpoids est associé à une sous-représentation des Bacteroidetes et une surreprésentation des Firmicutes (Ley et al. 2006) (Ley et al. 2005). De plus, les auteurs ont montré la possibilité de transférer le phénotype obèse par le transfert de microbiote fécal. En effet, la transplantation de microbiote fécal d'une souris obèse à une souris axénique non obèse engendre le développement de l'obésité chez la souris receveuse à apports énergétiques constants (Turnbaugh et al. 2008). Chez le chien, Chun et al. ont étudié la composition du microbiote fécal de 24 beagles âgés de 2 ans d'états corporels différents (chiens maigres, normaux et en surpoids) et ont identifié que le phylum des Fusobacteria est plus représenté chez les beagles en surpoids par rapport aux chiens sains (Chun et al. 2020). Une autre étude a rapporté une augmentation significative de la proportion relative des Actinobacteria dans le microbiote fécal des chiens obèses (Handl et al. 2013).

Chez le chien, d'autres maladies, comme certains cancers ou certaines maladies métaboliques, sont associées à des modifications de la composition du microbiote intestinal. Les chiens atteints de lymphome multicentrique présentent une réduction significative de la diversité

bactérienne de leur microbiote intestinal par rapport aux chiens sains (Gavazza et al. 2018). Les chiens atteints de diabète sucré présentent une proportion relative plus importante des bactéries *Clostridioides difficile*, *Phocaeicola plebeius*, *Lacrimispora indolis* et *Butyricoccus pullicaecorum* dans leur microbiote intestinal que les chiens sains (Kwong et al. 2023). Cela peut s'expliquer par le fait qu'une population bactérienne impliquée dans les voies métaboliques de dégradation des glucides est favorisée. Il a été rapporté que les chiens atteints d'arthrose ont eux aussi une composition de microbiote intestinal différente de celle du microbiote des chiens sains (Cintio et al. 2020).

### 2.1.3 Dysbiose intestinale et entéropathies inflammatoires chroniques du chien

Le terme de dysbiose intestinale est utilisé pour décrire la rupture de l'état d'équilibre du microbiote intestinal. Ce déséquilibre se traduit par une modification de la composition microbienne mais également par des perturbations fonctionnelles (Perez, Dorsen, et Squires 2020).

La corrélation entre les chiens souffrant d'EIC et la présence d'une dysbiose digestive est désormais reconnue par la communauté scientifique (Honneffer, Minamoto, et Suchodolski 2014) (Vázquez-Baeza et al. 2016) (Ni et al. 2017). Cependant, les études concernant le microbiote intestinal du chien atteint d'EIC sont encore très limitées à l'heure actuelle.

Chez le chien atteint de MICI, la diversité et la richesse microbiennes sont significativement plus faibles que celles des chiens sains (Díaz-Regañón et al. 2023). Grâce à l'utilisation de la méthode FISH sur des biopsies digestives, il est rapporté que les chiens atteints d'EIC présentent un nombre total de bactéries plus faible dans les cryptes du côlon que les chiens sains (Giaretta et al. 2020).

Concernant la composition du microbiote intestinal des chiens atteints de MICI, Suchodolski et al. ont mis en évidence une modification de l'abondance relative des principaux phyla bactériens entre les chiens malades et les chiens sains (Suchodolski et al. 2010) (Suchodolski, Dowd, et al. 2012) (Suchodolski, Markel, et al. 2012). D'une part, l'abondance relative du phylum Proteobacteria dans le microbiote intestinal du chien malade est significativement plus élevée que dans celui du chien sain. En effet, l'augmentation de la proportion relative des bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteraceae* a été identifiée comme la principale cause de l'augmentation de l'ensemble de son phylum dans le microbiote intestinal du chien malade (Xenoulis et al. 2008). Dans la famille des *Enterobacteraceae*, les bactéries *Escherichia coli* et *Shigella spp.* sont les bactéries les plus représentées chez le chien malade (Giaretta et al. 2020). D'autre part, l'abondance relative des autres principaux phyla bactériens dans le microbiote intestinal du chien atteint de MICI est significativement plus faible que dans celui du chien sain (Suchodolski et al. 2010) (Suchodolski, Dowd, et al. 2012) (Suchodolski, Markel, et al. 2012). Parmi les bactéries du phylum des Firmicutes, la famille des *Clostridiaceae* est nettement moins abondante dans l'intestin du chien atteint de MICI que dans l'intestin du chien sain. Concernant les bactéries du phylum des Bacteroidetes, ce sont les familles *Bacteroidaceae* et *Prevotellaceae* qui sont identifiées comme étant les moins représentées chez le chien malade par rapport au chiens sain. Cependant, il a été rapporté que la bactérie *Bacteroides vulgatus* est plus abondante dans le microbiote intestinal du chien atteint de MICI que dans celui du chien

sain (Chaban, Links, et Hill 2012). D'après l'observation de biopsies intestinales par la méthode FISH, les bactéries *Helicobacter spp.* et *Akkermansia spp.* sont moins abondantes à la surface et dans les cryptes de l'intestin des chiens atteints d'EIC (Giaretta et al. 2020).

Globalement, par rapport au microbiote intestinal du chien sain, le microbiote intestinal du chien atteint d'EIC présente :

- Une augmentation de l'abondance relative du phylum Proteobacteria.
- Une diminution de l'abondance relative des phyla Bacteroidetes, Firmicutes et Fusobacteria.

L'indice de dysbiose (ID) est un outil utilisé pour étudier les changements de composition bactérienne du microbiote intestinal. Développé sur la base d'un algorithme mathématique analysant les résultats de qPCR de huit groupes bactériens (*Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Blautia*, *Fusobacterium*, *Clostridium hiranonis* et bactéries totales), l'ID mesure la proximité de l'état eubiotique d'un échantillon par rapport à un prototype moyen de référence (AlShawaqfeh et al. 2017). Un ID négatif indique une normobiose tandis qu'un ID positif indique une dysbiose. Plus l'ID est élevé, plus la dysbiose est importante. L'ID distingue les chiens atteints d'EIC des chiens sains avec une sensibilité de 74% et une spécificité de 95%. Les groupes *Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Blautia*, *Fusobacterium*, *C. hiranonis* et bactéries totales représentent une proportion relative du microbiote intestinal moins élevée chez les chiens atteints d'EIC par rapport aux chiens sains (AlShawaqfeh et al. 2017). En revanche, les bactéries *E. coli* et *Streptococcus* ont une abondance relative plus élevée dans le microbiote intestinal des chiens atteints d'EIC que dans celui des chiens sains.

La dysbiose est considérée comme une composante majeure de la pathogénie des EIC. La réduction de l'abondance des communautés bactériennes commensales bénéfiques et par conséquent de leurs métabolites immunorégulateurs engendre une altération de l'équilibre immunitaire intestinal (Suchodolski 2016). La réduction de l'abondance des bactéries ayant un rôle de barrière intestinale, comme la bactérie *Akkermansia spp.*, est liée à l'inflammation digestive observée lors de MICI (Earley et al. 2019) (Zheng et al. 2023). En effet, la bactérie *Akkermansia muciniphila*, très abondante dans le microbiote intestinal, colonise la couche de mucus intestinal, qui est une véritable barrière physique entre la muqueuse intestinale et les agents microbiens, et assure son bon développement (Mao et al. 2021) (Derrien et al. 2008). Cette bactérie possède également de nombreuses fonctions immunomodulatrices (Ansaldo et al. 2019). Le contact entre les bactéries intestinales et les cellules épithéliales intestinales, à cause de la diminution de la quantité de mucus, crée une inflammation digestive (Gutiérrez et al. 2009) (Gutiérrez et al. 2011). Une translocation bactérienne peut survenir à la suite de la dysbiose intestinale présente lors de MICI (Vrakas et al. 2017) (Linares et al. 2021).

## **2.2 Altérations fonctionnelles du microbiote intestinal lors d'entéropathies inflammatoires chroniques du chien**

Cinq voies métaboliques ont été impliquées à ce jour dans le dialogue hôte-microbiote :

- Synthèse de vitamines,

- Biotransformation des acides biliaires (AB),
- Synthèse des indoles,
- Synthèse des acides gras à chaîne courte (AGCC),
- Homéostasie protéolytique.

Lors d'EIC, ces voies métaboliques sont altérées, on parle alors de dysmétabolismes microbiens.

### 2.2.1 *Dysmétabolisme vitaminique et conséquences intestinales*

Les vitamines, micronutriments essentiels, sont les cofacteurs de nombreuses enzymes nécessaires aux réactions biochimiques vitales dans tous les êtres vivants. Les humains et les animaux sont incapables de synthétiser eux-mêmes la plupart des vitamines nécessaires à leur métabolisme. Ces vitamines sont obtenues de manière exogène par l'alimentation ou par biosynthèse par le microbiote intestinal. Le microbiote intestinal synthétise majoritairement les vitamines des groupes B et K (LeBlanc et al. 2013). Les vitamines du groupe B regroupent huit vitamines hydrosolubles qui possèdent un rôle très important dans le métabolisme : la thiamine (vitamine B1), la riboflavine (vitamine B2), la niacine (acide nicotinique ou vitamine B3), l'acide pantothénique (pantothénate ou vitamine B5), la pyridoxine (vitamine B7), la biotine (vitamine B8), l'acide folique (folate ou vitamine B9) et la cobalamine (vitamine B12). Elles sont notamment nécessaires à l'équilibre cutané, immunitaire, nerveux et essentielles au renouvellement cellulaire.

A l'étage colique, les vitamines possèdent des fonctions très importantes dans le maintien de l'homéostasie intestinale : nutriments pour le microbiote intestinal, régulateurs des cellules immunitaires locales et de l'inflammation, inhibiteurs des bactéries pathogènes (Uebanso et al. 2020). Le microbiote intestinal, notamment les bactéries lactiques, possède la capacité de synthétiser la plupart des vitamines du groupe B (Visconti et al. 2019). Les bactéries appartenant au phylum des Bacteroidetes sont majoritairement responsables de leur synthèse. En revanche, les bactéries appartenant au phylum des Fusobacteria semblent être les plus probablement responsables de la synthèse de la cobalamine. La biotine et l'acide folique semblent être produits par plusieurs phyla bactériens : Bacteroidetes, Fusobacteria et Proteobacteria (Magnúsdóttir et al. 2015). Les Bifidobactéries, appartenant au phylum des Actinobacteria et au genre *Bifidobacterium*, sont des bactéries ANAs faisant partie des bactéries lactiques. On les retrouve naturellement dans le microbiote intestinal, où elles biosynthétisent du folate, mais également dans les produits laitiers fermentés ou probiotiques (Rossi, Amaretti, et Raimondi 2011) (D'Aimmo et al. 2012). Certaines vitamines peuvent influencer la composition du microbiote intestinal. Par exemple, il a été prouvé par de nombreuses études que la vitamine B12 peut impacter la composition du microbiote intestinal en augmentant la diversité microbienne (Guetterman et al. 2022).

Une hypocobalaminémie (< 200 ng/L) est observée chez un peu plus d'un tiers des chiens atteints d'EIC (Berghoff et al. 2013). L'hypocobalaminémie chez les chiens atteints d'EIC est présumée refléter une malabsorption distale de l'intestin grêle, une dysbiose intestinale (surconsommation de la cobalamine par le microbiote intestinal) ou les deux (Giannella, Broitman, et Zamcheck 1972) (Ruau 2013) (Heilmann et Steiner 2018). La cobalaminémie est

corrélée négativement aux scores histologiques et endoscopiques de la muqueuse iléale des chiens atteints d'EIC (Pérez-Merino et al. 2022). La friabilité, l'atrophie des villosités, la dilatation des cryptes ainsi que la présence de lymphocytes intraépithéliaux sont plus fréquemment rencontrées chez les chiens atteints d'EIC présentant une hypcobalaminémie que chez les chiens normo-cobalaminémiques. En clinique, l'hypcobalaminémie est utilisée comme un facteur pronostique défavorable (Allenspach et al. 2007). Lors de la prise en charge médicale d'un chien atteint d'EIC, la supplémentation parentérale puis orale en vitamine B12 est très fortement recommandée lors d'hypcobalaminémie (Toresson et al. 2016).

L'augmentation de la folatémie chez le chien peut témoigner d'une dysbiose de l'intestin grêle (production accrue de folate par certains membres du microbiote intestinal) tandis que la diminution de la folatémie peut témoigner d'une malabsorption chronique de l'intestin grêle proximal (Heilmann et Steiner 2018). La folatémie est un biomarqueur moins pertinent que la cobalaminémie dans l'évaluation des EIC (Ullal et al. 2023). Comme pour la vitamine B12, l'hypofolatémie peut également servir de facteur pronostic péjoratif. Chez les chiens présentant une hypofolatémie, une supplémentation orale en acide folique est recommandée (Ullal et al. 2023).

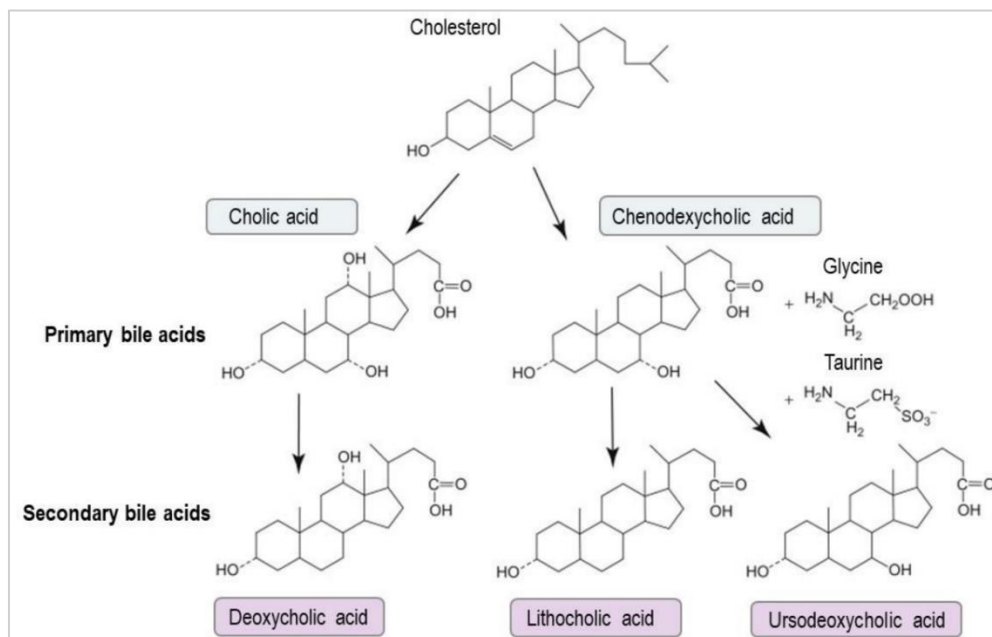
Une hypovitaminose D est souvent observée chez le chien atteint d'EIC mais les liens de cause à effet entre la concentration sanguine en vitamine D, l'inflammation digestive et la dysbiose intestinale sont encore mal définis (Mellanby et al. 2005) (Gow et al. 2011) (Waterhouse et al. 2019). Chez le chien atteint d'EIC, la concentration sanguine en vitamine D est corrélée négativement au score d'inflammation histopathologique duodénale et à la concentration sérique de cytokines inflammatoires (H. F. Titmarsh et al. 2015). De même, la sévérité des signes cliniques lors du diagnostic d'EIC chez le chien est corrélée négativement à la concentration sanguine en vitamine D (Gow et al. 2011). La détection d'une hypovitaminose D lors du diagnostic des EIC chez le chien est un facteur pronostic péjoratif (H. Titmarsh et al. 2015).

### 2.2.2 *Dysmétabolisme des sels biliaires et conséquences intestinales*

Les acides biliaires (AB) primaires (acide cholique et acide chénodésoxycholique) sont synthétisés dans le foie à partir du cholestérol et sont sécrétés au niveau du duodénum lors du repas (**Figure 10**) (Kriaa et al. 2022) (Ridlon et al. 2016). Parmi les AB primaires, 95% sont réabsorbés puis recyclés par le foie. Les 5% restant servent de précurseurs pour la production d'AB secondaires (acide désoxycholique, acide lithocholique et acide ursodésoxycholique) par le microbiote intestinal grâce à des réactions biochimiques de déconjugaison et de déshydroxylation possibles grâce à l'hydrolase des sels biliaires (BSH), une enzyme bactérienne. Les bactéries intestinales des genres bactériens *Clostridium*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* et *Bacteroides* sont les bactéries possédant le plus de BSH (Wijaya et al. 2004) (Jarocki et Targoński 2013) (Tanaka et al. 2000) (Oh et al. 2008) (De Smet et al. 1995) (Stellwag et Hylemon 1976) (Masuda 1981) (Gopal-Srivastava et Hylemon 1988). Chez le chien, il a été récemment démontré la grande importance de la bactérie *Clostridium hiranonis* dans la production d'AB secondaires (Isaiah 2018). En effet, la concentration en AB secondaires est significativement corrélée à l'abondance de la bactérie *Clostridium hiranonis* dans les excréments canins. Les AB sont essentiels à la digestion des lipides alimentaires et



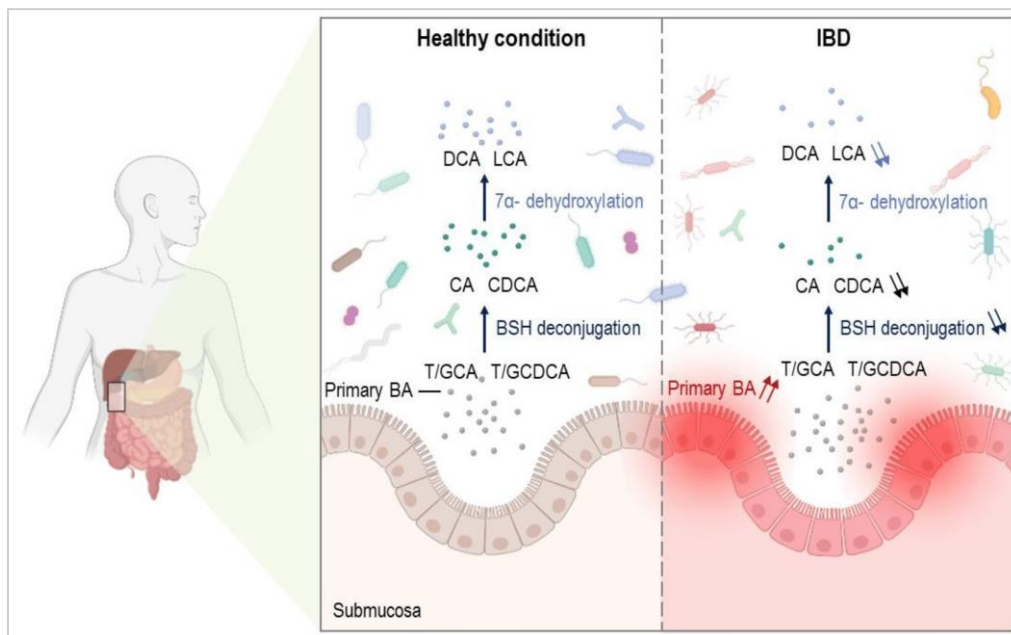
jouent un rôle majeur dans l'homéostasie microbienne intestinale grâce à leur action antimicrobienne (Shapiro et al. 2018) (Watanabe, Fukiya, et Yokota 2017) (Inagaki et al. 2006) (D'Aldebert et al. 2009).



**Figure 10 : Synthèse des acides biliaires.** D'après (Kriaa et al. 2022). Dans le foie, le métabolisme des acides biliaires produit principalement deux acides biliaires primaires, l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique. Dans l'intestin, les acides biliaires primaires servent de substrats au microbiote intestinal afin de générer des acides biliaires secondaires, notamment l'acide désoxycholique, l'acide lithocholique et l'acide ursodésoxycholique.

Lors d'EIC chez le chien, les profils d'AB primaires fécaux augmentent alors que ceux d'AB secondaires diminuent (**Figure 11**) (Comito et al. 2023). Il a été démontré que les profils d'AB fécaux sont étroitement liés à la composition du microbiote intestinal et aux cytokines inflammatoires présentes lors de MICI chez l'homme (Yang et al. 2021). Wang et al. ont permis de mettre en évidence qu'une réduction de la sévérité de la dysbiose intestinale chez l'homme atteint de la maladie de Crohn induit l'augmentation du niveau d'AB secondaires (Wang et al. 2019). La diminution du taux d'AB secondaires anti-inflammatoires est activement impliquée dans l'inflammation digestive lors d'EIC (Biagioli et al. 2021) (Calmus et al. 1992). Les AB sont les ligands de récepteurs intestinaux comme le Farnesoid X Receptor (FXR), le Takeda G Protein Receptor 5 (TGR5) et le Vitamin D Receptor (VDR) (Keating et Keely 2009). Le FXR permet la régulation de l'absorption et de la synthèse des AB en modulant l'expression et l'activation des transporteurs des AB dans les cellules épithéliales intestinales et permet l'inhibition des cytokines pro-inflammatoires (Fiorucci et al. 2001) (Kok et al. 2003) (Gadaleta et al. 2011). Chez l'homme atteint de la maladie de Crohn, il a été rapporté que l'expression du gène codant pour le FXR est régulé à la baisse dans les cellules épithéliales intestinales (Nijmeijer et al. 2011). De plus, il a été rapporté que l'expression du gène codant pour le TGR5, récepteur impliqué dans la motilité iléale et colique, est augmentée chez les patients atteints de la maladie de Crohn ce qui induit une augmentation de la perméabilité intestinale (Cipriani et al. 2011) (Alemi et al. 2013). Chez le chien, il a été rapporté que l'expression du gène codant pour le TGR5 dans l'intestin des chiens atteints d'EIC est similaire à celle des chiens témoins mais qu'une diminution de l'expression du gène codant pour l'Apical Sodium-dependent Bile

acids Transporter (ASBT), transporteur des AB permettant l'absorption des AB dans les cellules épithéliales intestinales, est négativement corrélée à l'inflammation (Giaretta 2019). Il est difficile de prédire comment les modifications de la composition bactérienne intestinale et, par conséquent, de la composition en AB affectent la signalisation des AB et influencent les processus inflammatoires car les différents AB sont connus pour avoir une affinité différente vis-à-vis du FXR et du TGR5 (de Aguiar Vallim, Tarling, et Edwards 2013). Le métabolisme des AB dans l'intestin est un élément essentiel de l'homéostasie intestinale et donc un point clé de la pathogénie des EIC (Kriaa et al. 2022).



**Figure 11** : Représentation schématique des profils des acides biliaires primaires et secondaires dans le gros intestin sain et lors de MICI chez l'homme. D'après (Kriaa et al. 2022). Dans des conditions physiologiques, les AB primaires (CA, CDCA) sont métabolisés par le microbiote intestinal grâce à des réactions biochimiques de déconjugaison et de déhydroxylation en AB secondaires (LCA, DCA). Lors de MICI, une biosynthèse anormale des AB primaires et des processus métaboliques induisent des niveaux élevés d'AB primaires ce qui engendre une modification de la composition du microbiote intestinal associée à une production plus faible d'AB déconjugués et secondaires. IBD : Inflammatory Bowel Disease ; BA : bile acids ; BSH : hydrolase des sels biliaires ; CA : acide cholique ; T/GCA : acide cholique conjugué à la taurine/glycine ; CDCA : acide chénodésoxycholique ; T/GCDA : acide chénodésoxycholique conjugué à la taurine/glycine ; LCA : acide lithocholique ; DCA : acide désoxycholique.

Le dysmétabolisme des sels biliaires a pour conséquence une mauvaise digestion et assimilation des graisses alimentaires (Hofmann et Poley 1972) (Hofmann 1999). Le déséquilibre entre AB primaires et secondaires peut provoquer une diarrhée chronique, communément appelée diarrhée biliaire, entéropathie cholérétique ou malabsorption des sels biliaires (Camilleri et Vijayvargiya 2020). De grandes quantités d'AB dans le côlon stimulent la sécrétion d'eau et la motilité du côlon induisant une diarrhée chronique.

### 2.2.3 *Dysmétabolisme des indoles et conséquences intestinales*

Le tryptophane est un acide aminé essentiel apporté de manière exclusive par l'alimentation. Une faible partie de la quantité de tryptophane ingéré sert de substrat au métabolisme pour synthétiser les protéines mais la majeure partie est métabolisée par les cellules de l'hôte (synthèse de kynurénine, sérotonine et mélatonine) ou par le microbiote intestinal (synthèse d'indole et de ses dérivés) (Li et al. 2021) (Gostner et al. 2019). De nombreuses bactéries sont connues pour hydrolyser le tryptophane en indole par la tryptophanase mais la bactérie *E. coli* semble être la plus étudiée à ce sujet (Li et al. 2021) (Kim et Park 2015). De plus en plus de preuves scientifiques démontrent l'importance de l'indole et de ses dérivés dans le bon maintien de la barrière intestinale (Metidji et al. 2018) (Scott, Fu, et Chang 2020) (Whitfield-Cargile et al. 2016) (Bansal et al. 2010). L'indole et ses dérivés ont notamment été étudiés pour leurs propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices dans le cadre des maladies intestinales (Alexeev et al. 2018) (Bansal et al. 2010) (Zelante et al. 2013). De plus, l'indole et ses dérivés possèdent de nombreuses fonctions physiologiques bactériennes et peuvent influencer sur le chimiotropisme bactérien (Lee et Lee 2010).

Chez le chien atteint de diarrhée aiguë, les concentrations sériques des dérivés de l'indole sont significativement plus faibles que chez le chien sain (Guard et al. 2015). De plus, chez le chien atteint d'entéropathie avec perte de protéines, les concentrations sériques en tryptophane sont également significativement plus faibles que celles des chiens sains (Kathrani et al. 2018). Il a été rapporté que chez l'homme atteint de MICI, le taux sérique de tryptophane est significativement corrélé à l'activité inflammatoire de la maladie (Nikolaus et al. 2017). De plus, une diminution significative de l'expression du gène codant pour l'Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) dans le tissu intestinal des patients atteints de MICI a été rapportée (Monteleone et al. 2011). Le AhR est un récepteur qui possède un grand nombre de ligands exogènes (polluants environnementaux, médicaments, etc.) et endogènes (métabolites du tryptophane notamment) et qui joue un rôle essentiel dans le renouvellement et la différenciation des cellules souches intestinales et particulièrement dans la réponse inflammatoire lymphocytaire et la fonction de barrière intestinale (Metidji et al. 2018) (Denison et Nagy 2003) (Stejskalova, Dvorak, et Pavek 2011). Il a également été montré que l'altération du métabolisme du tryptophane a des conséquences sur la sécrétion et la motilité digestive ainsi que sur la douleur intestinale (Ge et al. 2017) (Chojnacki et al. 2022).

### 2.2.4 *Dysmétabolisme des acides gras à chaîne courte et conséquences intestinales*

Les AGCC sont des produits de la fermentation des glucides réalisée par des bactéries anaérobies présentes dans l'intestin à partir des fibres non digestibles (polymères glucidiques ni digérés ni absorbés dans l'intestin grêle) (Tan et al. 2014). Les principaux AGCC sont l'acétate (C2), le propionate (C3) et le butyrate (C4). Les bactéries appartenant au phylum des Bacteroidetes sont les principales productrices d'acétate et de propionate (Reichardt et al. 2014) (Parada Venegas et al. 2019). Le butyrate, quant à lui, est principalement produit par les bactéries appartenant au phylum des Firmicutes et les bactéries *Faecalibacterium prausnitzii* et *Clostridium leptum* semblent être les plus impliquées dans sa production (Louis et Flint 2009).

Les AGCC sont des métabolites pouvant passer les membranes cellulaires par diffusion passive et ainsi avoir de nombreuses actions intra et extra cellulaires. Les AGCC exercent des effets favorables sur la muqueuse intestinale en contribuant activement à l'homéostasie intestinale (Parada Venegas et al. 2019). Les AGCC modulent les réponses immunitaires et inflammatoires *via* de nombreux mécanismes complexes en exerçant principalement un effet anti-inflammatoire sur la muqueuse intestinale (Li et al. 2018) (Corrêa-Oliveira et al. 2016) (Poul et al. 2003). Ils permettent le bon maintien de la fonction de barrière intestinale (Yan et Ajuwon 2017). Les AGCC sont une source d'énergie notable pour les cellules du côlon et contribuent ainsi à la bonne santé digestive (Donohoe et al. 2011).

Chez le chien atteint d'EIC, les concentrations fécales d'acétate, de propionate et d'AGCC totaux sont significativement plus faibles que chez le chien sain (Minamoto et al. 2019). Les études chez le chien sont très limitées. Ce dysmétabolisme des AGCC observé lors d'EIC peut être expliqué par la modification de la composition bactérienne du microbiote intestinal et la diminution de l'abondance des populations bactériennes productrices d'AGCC. En effet, chez l'homme, il a été rapporté que les patients atteints de MICI présentent des abondances relatives plus faibles en bactéries productrices d'AGCC que les sujets sains (Takahashi et al. 2016) (Kumari, Ahuja, et Paul 2013). De plus, il a été rapporté que l'absorption et l'oxydation du butyrate sont inhibées lors de MICI chez l'homme par rapport aux individus sains (De Preter et al. 2012). Une corrélation négative est observée entre l'absorption/oxydation du butyrate et le score histologique et endoscopique des MICI chez l'homme.

### 2.2.5 *Dysmétabolisme protéolytique et inflammation intestinale*

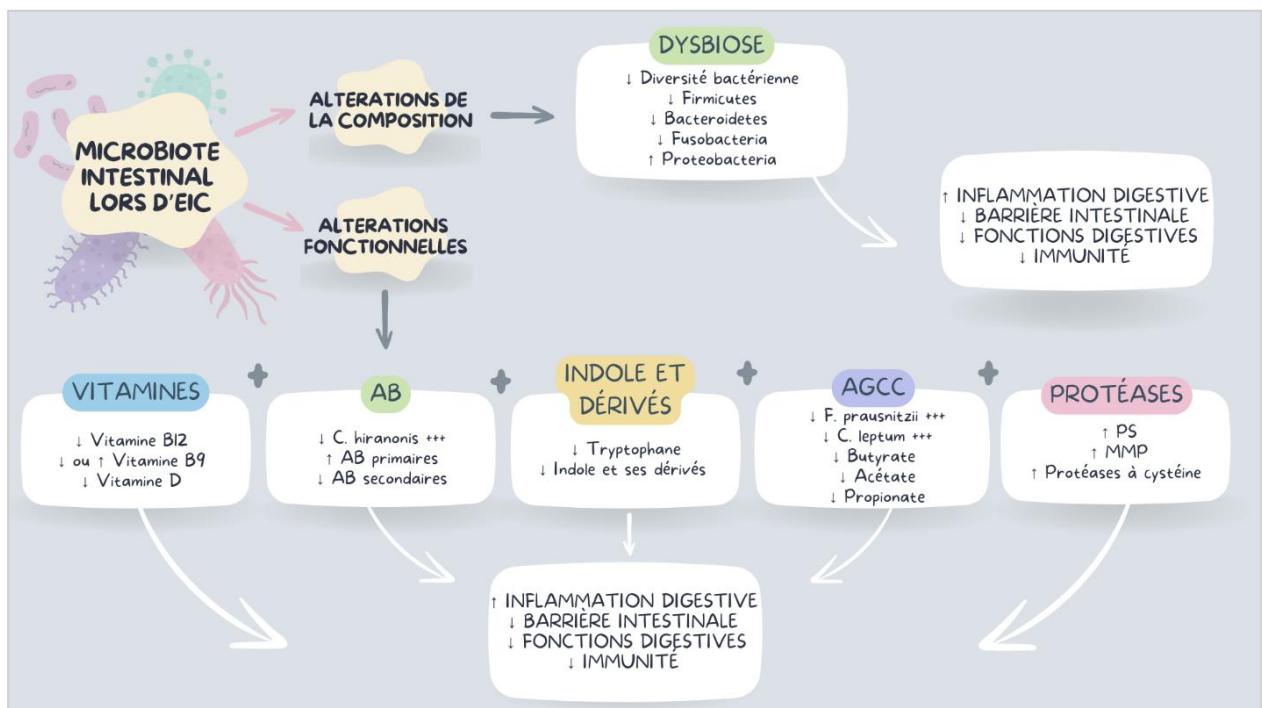
Les protéases (peptidases, hydrolases ou enzymes protéolytiques) sont des enzymes capables de rompre les liaisons peptidiques des protéines. On les retrouve chez tous les organismes vivants et les gènes codant pour ces enzymes représentent environ 2% du génome humain (Puente et al. 2005). Au niveau du tube digestif, les protéases peuvent être sécrétées par les cellules de l'hôte (cellules stromales, intestinales et immunitaires) mais également par le microbiote intestinal. La capacité protéolytique du microbiote intestinal est connue depuis 1986 (Macfarlane, Cummings, et Allison 1986). Dans l'intestin, les protéases microbiennes ont d'abord été identifiées comme étant à l'origine des mécanismes de virulence de certaines bactéries pathogènes (Benitez et Silva 2016) (Frees, Brøndsted, et Ingmer 2013).

Les protéases à sérine (PS), les métalloprotéases matricielles (MMP) et les protéases à cystéine sont les classes de protéases prédominantes, régulant ainsi un plus large éventail de fonctions biologiques, y compris dans le tractus gastro-intestinal (Puente et al. 2003). Les fonctions des protéases sont très diverses. En effet, à l'échelle de l'organisme, elles permettent la digestion et la maturation des protéines, la formation et la lyse du caillot sanguin, le remodelage tissulaire, la cicatrisation et bien d'autres fonctions biologiques essentielles. L'étude des protéases est complexe au vu de la diversité de ces molécules et de leurs mécanismes d'action. Depuis plusieurs années, une littérature importante souligne le rôle central des protéases dans l'homéostasie intestinale. Bien que la plupart des mécanismes restent actuellement flous, les protéases sont impliquées dans de multiples processus physiopathologiques liés à l'apparition et à l'entretien des EIC comme l'augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale et l'activation de la mort cellulaire (Vergnolle 2016).

Chez le chien atteint d'EIC, l'activité protéolytique fécale des PS est deux fois plus élevée que chez le chien sain (Maeda et al. 2014). L'activité protéolytique fécale des PS est significativement corrélée au score CCECAI chez les chiens atteints de MICI. Hanifer et al. ont rapporté que le nombre d'échantillons présentant une activité de la pro-MMP-2, de la pro-MMP-9 et de la MMP-2 était plus élevé dans la muqueuse des chiens atteints d'entéropathie chronique que dans la muqueuse des chiens sains (Hanifeh et al. 2018). L'expression des gènes codant pour les MMP-1, 3 et 13 est augmentée chez les chiens atteints d'EIC par rapport aux chiens sains (Wilke et al. 2012). Les études concernant l'expression des gènes codant pour les protéases digestives ou leur activité protéolytique sont très limitées chez le chien.

Chez l'homme atteint de MICI, il a été rapporté que l'activité protéolytique intestinale et fécale des PS est 9 à 10 fois supérieure chez les sujets atteints de MICI par rapport aux sujets sains (Denadai-Souza et al. 2018) (Jablaoui et al. 2020). Les PS d'intérêt identifiées comme ayant une activité protéolytique augmentée sont : la trypsine, l'élastase neutrophilique, la protéinase-3, la cathépsine-G et la thrombine. De plus, l'augmentation de l'activité et de l'expression des gènes codant pour les MMP chez l'homme atteint de MICI par rapport aux témoins sains est documentée depuis plusieurs années (Matsuno et al. 2003) (Meijer et al. 2007) (Pedersen et al. 2009). Chez l'homme atteint de MICI, l'expression des gènes codant pour les protéases à cystéine est également augmentée par rapport aux sujets sains (Menzel et al. 2006). Il est important de noter que la modification de l'expression des gènes codant pour les protéases ne signifie pas que les protéases sont actives.

### 2.3 Bilan des altérations du microbiote intestinal lors d'entéropathies inflammatoires chroniques du chien



**Figure 12** : Bilan des altérations du microbiote intestinal lors d'EIC : altérations de la composition et altérations fonctionnelles. Réalisation Eloïse Deygout.

### 3. ACTIVITE PROTEOLYTIQUE ET INFLAMMATION DIGESTIVE LORS D'ENTEROPATHIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES CHEZ LE CHIEN

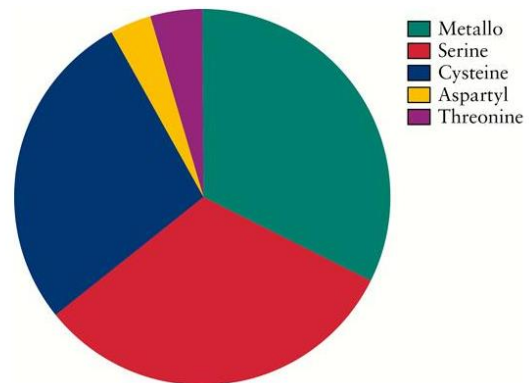
#### 3.1 Activités protéolytiques intestinales et rôles dans l'inflammation intestinale

##### 3.1.1 Les protéases

###### a) Protéases de l'hôte

Les protéases sont réparties en sept groupes distincts séparés selon l'acide aminé présent dans leur site actif catalytique :

- Métalloprotéases matricielles (MMP)
- Protéases à sérine (PS)
- Protéases à cystéine
- Protéases à thréonine
- Protéases à asparagine
- Protéases à acide glutamique
- Protéases à acide aspartique



**Figure 13 :** Proportions relatives des gènes codant pour les familles de protéases dans le dégradome humain. D'après (Solà-Tapias et al. 2020).

Le dégradome se définit comme l'ensemble des gènes codant pour les protéases et anti-protéases d'une espèce. Entre 500 et 600 gènes codant pour les protéases et anti-protéases sont retrouvés dans le dégradome humain (Puente et al. 2003). Les gènes codant pour les PS, les MMP et les protéases à cystéine sont les plus abondamment retrouvés dans le dégradome humain (**Figure 13**) (Solà-Tapias et al. 2020).

Présentes dans la lumière intestinale ainsi que dans les tissus profonds, les protéases permettent le clivage des protéines. Elles peuvent intervenir au niveau des extrémités N-term et C-term des protéines, appelées dans ce cas exopeptidases, ou à l'intérieur de la chaîne peptidique, appelées alors endopeptidases. Ces enzymes sont produites et libérées dans le milieu extracellulaire et/ou intracellulaire. Les PS interviennent principalement dans le milieu extracellulaire tandis que les protéases à cystéine interviennent principalement dans le milieu intracellulaire (Vergnolle 2016).

Les PS utilisent comme acide aminé dans leur site actif la sérine. Elles sont produites par les cellules épithéliales intestinales et les cellules immunitaires de l'hôte (Solà-Tapias et al. 2020). La trypsine est une PS pancréatique synthétisée sous forme de précurseur inactif, le trypsinogène, qui est excrété au moment de la digestion. Sa fonction principale est la digestion des protéines alimentaires. Parmi les cellules immunitaires, les neutrophiles contiennent dans leurs granules principalement de l'élastase neutrophilique, de la protéinase-3 et de la cathépsine-G. Les mastocytes peuvent sécréter de la tryptase, de la chymase, de la cathépsine-G ainsi que du grandzyme B. Les PS interviennent dans la digestion, la coagulation sanguine, l'apoptose cellulaire, la fonction de barrière intestinale et l'immunité (**Tableau 5**) (Solà-Tapias et al. 2020).

**Tableau 5 : Fonctions et origine cellulaire des principales protéases à sérine.** Adapté selon (Solà-Tapias et al. 2020).

	PS	Principales fonctions	Références
<b>Cellules épithéliales intestinales</b>	<b>Trypsine</b>	Digestion Dégradation de la matrice extracellulaire Inflammation Douleur	(Rolland-Fourcade et al. 2017) (Solà Tapias et al. 2021)
	<b>Chymotrypsine</b>	Modification de la perméabilité intestinale	(Swystun et al. 2009)
	<b>Elastase</b>	Modification de la perméabilité intestinale Inflammation	(Motta et al. 2021)
	<b>Thrombine</b>	Protection de la muqueuse intestinale	(Motta et al. 2019)
<b>Cellules immunitaires</b>	<b>Elastase neutrophilique</b>	Élimination bactérienne Dégradation de la matrice extracellulaire Contrôle de la réponse immunitaire	(Heutinck et al. 2010)
	<b>Protéinase-3</b>	Inflammation Élimination bactérienne et fongique	
	<b>Cathépsine-G</b>	Élimination bactérienne Dégradation de la matrice extracellulaire Contrôle de la réponse immunitaire	
	<b>Chymase</b>	Stimulation de la clairance des antigènes Dégradation de la matrice extracellulaire Contrôle de la réponse immunitaire	
	<b>Tryptase</b>	Stimulation de la clairance des antigènes Dégradation de la matrice extracellulaire Contrôle de la réponse immunitaire	(Trapani 2001) (Oikonomopoulou, Diamandis, et Hollenberg 2010)
	<b>Grandzyme B</b>	Apoptose	
	<b>Kallikréine</b>	Inflammation	
	<b>Activateur du plasminogène</b>	Régulation de la coagulation et de la fibrinolyse	(Sillaber et al. 1999)

Les MMP possèdent un atome de zinc dans leur site actif. Elles peuvent être sécrétées par les cellules mésenchymateuses, les cellules immunitaires (leucocytes, macrophages et neutrophiles) et les cellules épithéliales intestinales (Solà-Tapias et al. 2020). Ces protéases sont essentielles au renouvellement (dégradation et turn-over) de la matrice extracellulaire et donc aux phénomènes de cicatrisation et de fibrose (Pender et MacDonald 2004). Les MMP interviennent également dans le développement des vaisseaux sanguins et dans le processus inflammatoire (Rodríguez, Morrison, et Overall 2010).

Les protéases à cystéine possèdent une cystéine comme acide aminé dans leur site actif enzymatique. Les principales protéases à cystéine sont les caspases, les cathépsines et les autophagines (Turk et al. 2012). Elles interviennent dans la dégradation de protéines intracellulaires, l'apoptose cellulaire, la nécrose et l'inflammation. Les cathépsines jouent un rôle particulièrement important dans l'homéostasie de l'épithélium intestinal (Tamhane et al. 2014).

### b) Protéases du microbiote intestinal

Les abondances relatives des différentes familles de protéases dans le dégradome bactérien sont légèrement différentes par rapport à celles du dégradome humain (Camínero et al. 2023). Les abondances relatives des gènes codant pour les PS et les MMP sont plus élevées et l'abondance relative des gènes codant pour les protéases à cystéine sont plus faibles dans le dégradome bactérien par rapport au dégradome humain.

Le rôle des protéases microbiennes dans l'intestin a longtemps été ignoré car les outils qui distinguent les protéases de l'hôte de leurs homologues microbiens sont limités. Des études anciennes ont défini une contribution significative des protéases bactériennes à l'activité protéolytique dans le côlon de l'homme (Macfarlane et al. 1988). La plupart des protéases identifiées appartiennent aux genres bactériens *Bacteroides*, *Streptococcus* et *Clostridium* (Macfarlane et al. 1986).

Les protéases bactériennes ont d'abord été identifiées comme facteurs de virulence chez les bactéries pathogènes. Les bactéries *Helicobacter pylori*, *Helicobacter jejuni* et *Listeria monocytogenes* produisent la High-temperature requirement A (HtrA), une PS responsable du clivage de la cadhérine-E (molécule d'adhésion cellulaire) ce qui participe activement à son pouvoir pathogène (Radhakrishnan et al. 2021) (Hoy et al. 2010). *Pseudomonas aeruginosa* sécrète de l'élastase, une PS impliquée dans son pouvoir de dissémination et de dégradation du surfactant pulmonaire (Mariencheck et al. 2003) (Tamura, Suzuki, et Sawada 1992).

La production de PS et de MMP par les bactéries du microbiote intestinal a également été décrite. La bactérie *Bacillus subtilis* produit la subtilisine, une PS responsable de la coagulation plasmatique et de la thrombose veineuse, une complication connue chez les patients atteints de MICI (Pontarollo et al. 2017) (Solem et al. 2004) (Andrade et al. 2018). Les bactéries commensales *Bacteroides fragilis* et *Bacteroides thetaiotaomicron* produisent des protéases capables de les impliquer dans des infections digestives opportunistes (Wu et al. 1998) (Thornton et al. 2012). La bactérie *Enterococcus faecalis* est responsable de la production de gélatinase, une protéase impliquée dans la perméabilité de l'épithélium colique (Maharshak et al. 2015).

### c) Protéases et inflammation digestive

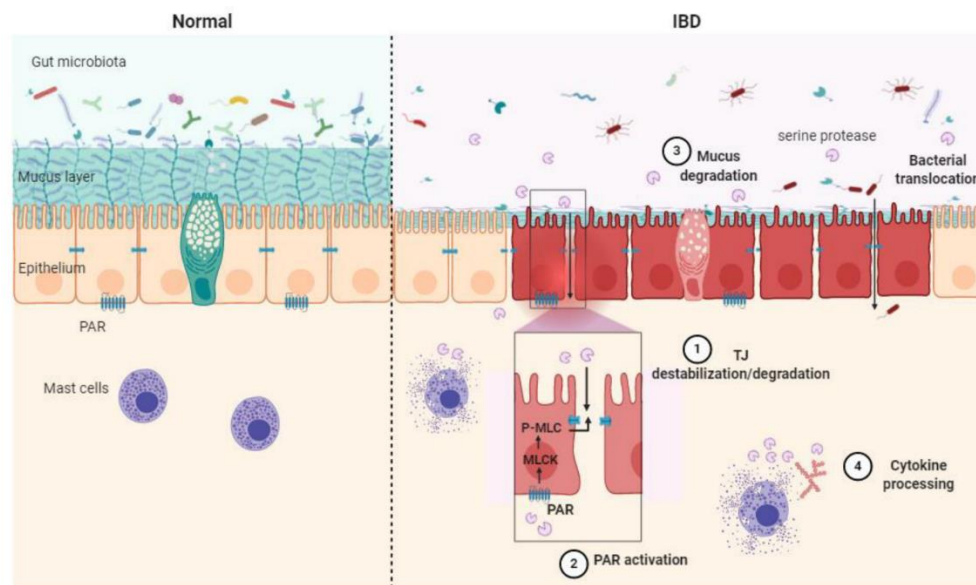
Les protéases, qu'elles soient sécrétées par l'hôte ou par les bactéries commensales, possèdent de nombreux rôles dans la physiologie digestive et, depuis plusieurs années, de nombreuses études scientifiques rapportent leur implication dans l'inflammation digestive. En raison de leurs fonctions respectives, les PS et les MMP sont considérées comme des acteurs clés de la pathogenèse des MICI (Fontani et al. 2017) (Kriaa et al. 2020).

Concernant les PS, plusieurs exemples illustrent leur implication directe dans l'inflammation digestive. L'élastase neutrophilique et la cathépsine-G clivent la cadhérine présente dans les jonctions intercellulaires ce qui permet la migration des leucocytes vers les sites inflammatoires (Cohen-Mazor et al. 2014) (Hermant et al. 2003). Il a été rapporté que l'activité incontrôlée de l'élastase neutrophilique provoque des effets néfastes sur le côlon et entraîne une inflammation



chez les souris (Barry et al. 2020). La thrombine intervient dans les jonctions intercellulaires des cellules endothéliales en augmentant la perméabilité vasculaire ce qui permet le recrutement des cellules inflammatoires (Kondo et al. 2009). La chymase modifie la distribution des protéines associées aux jonctions serrées ce qui augmente la perméabilité intestinale et favorise l'inflammation (Scudamore et al. 1998). Globalement, les PS contribuent à l'inflammation digestive rencontrée lors d'EIC par quatre mécanismes d'action principaux (**Figure 14**) :

- Déstabilisation des jonctions serrées
- Activation des Proteinase-Activated Receptors (PARs)
- Dégradation du mucus
- Clivage des cytokines

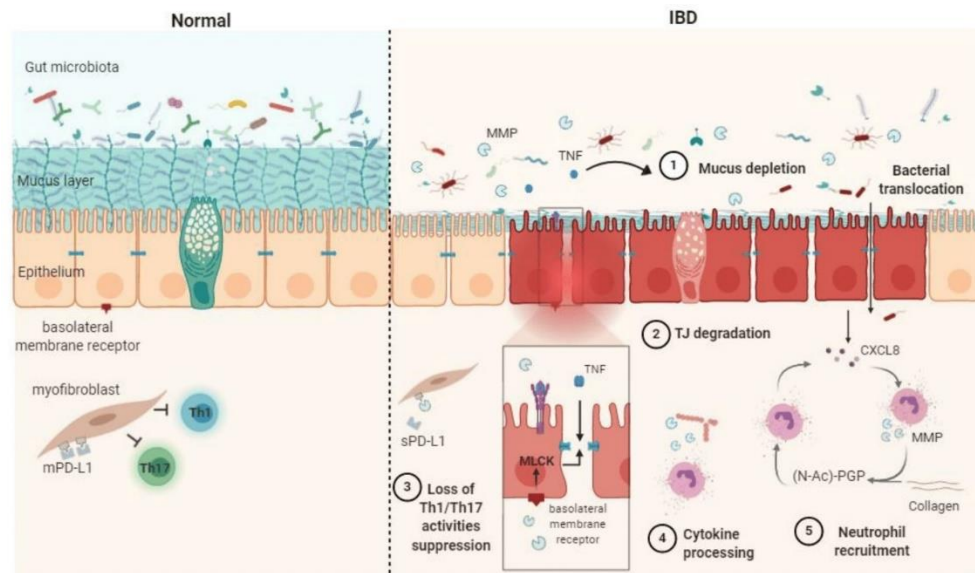


**Figure 14 : Représentation schématique des mécanismes d'action des PS sur la muqueuse intestinale lors de MICI.** D'après (Mariaule et al. 2021). *L'altération de la barrière épithéliale est associée à l'action des PS sur la jonction serrée par clivage direct (1). Déstabilisation indirecte due à l'activation des PAR (2), à la dégradation du mucus (3) et au clivage des cytokines (4). IBD : Inflammatory Bowel Disease ; MLC : myosin light-chain ; P-MLC : phosphorylated MLC ; MLCK : myosin light-chain kinase ; PAR : proteinase-activated receptor ; TJ : tight junction.*

Concernant les MMP, certains liens directs entre l'inflammation et l'action de certaines MMP ont été rapportés. L'augmentation de l'expression de la MMP-13 est positivement corrélée au score inflammatoire histologique des patients atteints de MICI (Vizoso et al. 2006). En effet, il a été rapporté que la MMP-13 module la perméabilité intestinale en excréant du Tumor Necrosis Factors (TNF) ce qui induit une déstabilisation des jonctions serrées ainsi qu'un stress du réticulum endoplasmique des cellules caliciformes aboutissant à la réduction de la couche de mucus intestinal (Vandenbroucke et al. 2013). La MMP-9 induit également l'augmentation de la perméabilité intestinale et sa régulation est positivement corrélée à l'inflammation digestive (de Bruyn et al. 2017). L'ensemble des MMP dégradent le collagène ce qui contribue à l'inflammation digestive présente chez les patients atteints de MICI (Koelink et al. 2014).

Globalement, les MMP contribuent à l'inflammation digestive rencontrée lors d'EIC par quatre mécanismes d'action principaux (**Figure 15**) :

- Réduction de la couche de mucus intestinal
- Déstabilisation des jonctions serrées
- Recrutement et stimulation des neutrophiles et de la réponse Th1/Th17
- Clivage des cytokines



**Figure 15 :** Représentation schématique des mécanismes d'action des MMP sur la muqueuse intestinale lors de MICI. D'après (Mariaule et al. 2021). La libération de  $TNF-\alpha$  soluble par les MMP provoque une déplétion du mucus (1) et une déstabilisation des jonctions serrées (2), entraînant une augmentation de la perméabilité épithéliale et de la translocation bactérienne. L'incapacité des myofibroblastes à supprimer la réponse Th1/Th17 survient après la transformation par la MMP du PD-L1 lié à la membrane en PD-L1 soluble (3). Le clivage des cytokines contribue aux processus inflammatoires (4). La génération de PGP par la dégradation du collagène par les MMP induit la transmigration des neutrophiles et stimule la sécrétion de MMP et de CXCL8 par les neutrophiles, entretenant ainsi le contexte inflammatoire (5). IBD : Inflammatory Bowel Disease ; CXCL8 : (C-X-C motif) ligand 8 ; MLCK : myosin light-chain kinase ; PD-L1 : programmed death-ligand 1 ; mPD-L1 : membrane-bound PD-L1 ; sPD-L1 : soluble PD-L1 ; (N-Ac)-PGP : (N-acetyl)-proline-glycine-proline ; TJ : tight junction ; TNF : tumor necrosis factor  $\alpha$ .

Bien que les MICI soient idiopathiques, des études génétiques ont permis d'identifier plusieurs gènes impliqués dans des mécanismes cellulaires susceptibles de participer à l'inflammation intestinale. Les voies faisant intervenir les protéases, directement ou indirectement, altérées lors de l'inflammation digestive sont les suivantes (Solà-Tapias et al. 2020) :

- Le mécanisme de détection bactérienne *via* le récepteur NOD2 : les conséquences de la perte de fonction du récepteur NOD2 sur l'homéostasie protéolytique restent pour le moment insaisissables mais une incidence particulièrement élevée des mutations de type SNP sur le gène NOD2 chez l'homme et chez le chien atteint de MICI est observée (voir partie 1.3) (Strober et Watanabe 2011).

- Le mécanisme d'autophagie : les mutations du gène ATG16L1 qui code pour une protéine des autophagosomes qui élimine les bactéries intracellulaires sont des facteurs de risque identifiés chez l'homme pour le développement des MICI (Múzes, Tulassay, et Sipos 2013) (Hampe et al. 2007).
- La voie des lymphocytes Th17-IL23 : les mutations du gène codant pour l'IL23 sont des facteurs prédisposant aux MICI chez l'homme car l'IL23 est une cytokine pro-inflammatoire activant la sécrétion d'IL17 par les lymphocytes Th17, interleukine également pro-inflammatoire et stimulant significativement la production de MMP (Duerr et al. 2006) (Biancheri, Pender, et al. 2013).
- Le stress du réticulum endoplasmique : provoqué par un échec de repliement des protéines à la suite de la modification de l'environnement moléculaire comme lors d'une inflammation, le stress du réticulum endoplasmique des cellules intestinales (cellules épithéliales, cellules de Paneth et cellules caliciformes) modifie profondément l'homéostasie protéolytique lors d'EIC (Kaser, Martínez-Naves, et Blumberg 2010) (Solà Tapias et al. 2021). L'induction d'un stress du réticulum endoplasmique des cellules épithéliales intestinales provoque une augmentation de l'activité protéolytique de type trypsine induisant l'altération de la barrière intestinale et favorisant le développement du processus inflammatoire (Solà Tapias et al. 2021).

### 3.1.2 Les anti-protéases

#### a) Inhibiteurs naturels

- Inhibiteurs naturels des PS

Les serpins sont les inhibiteurs naturels des PS. Ces anti-protéases circulantes sont très nombreuses et très largement distribuées chez les animaux, les végétaux, les champignons ou les bactéries (Law et al. 2006). Elles sont impliquées dans la régulation des activités protéolytiques et interviennent à ce titre dans divers processus physiologiques tels que la coagulation sanguine, la réponse inflammatoire ou le remodelage tissulaire (Mkaouar et al. 2021) (Bots et Medema 2008). Au niveau de la paroi intestinale, les serpins sont produites par les cellules épithéliales intestinales et les cellules immunitaires (Biancheri, Di Sabatino, et al. 2013). Les serpins procaryotes restent très peu étudiées par rapport aux serpins eucaryotes et seules quelques serpins bactériennes produites par exemple par les bactéries *Bifidobacterium longum*, *Eubacterium siraeum* et *Tanarella forsythia* ont été caractérisées à ce jour (Ivanov et al. 2006) (Mkaouar et al. 2016) (Ksiazek et al. 2015) (Akermi et al. 2019) (Irving et al. 2002). Les principales serpins produites par l'hôte sont (Vergnolle 2016) (Law et al. 2006) :

- L' $\alpha$ -1-antitrypsine : active contre la trypsine et la chymotrypsine.
- L'élafine : active contre l'élastase et la protéinase-3.
- Le Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) : actif contre un grand nombre de PS telles que l'élastase leucocytaire, la cathépsine-G, la trypsine, la chymotrypsine, la chymase.
- Le Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1) : actif contre l'activateur du plasminogène.

- Inhibiteurs naturels des MMP

Les Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs) sont des anti-protéases produites par les cellules intestinales de l'hôte actives contre les MMP. Ces inhibiteurs naturels peuvent être sécrétés localement ou à distance et rejoindre leur zone d'action intestinale par voie systémique. Plusieurs TIMPs ont pu être identifiés et bien que chaque TIMP puisse inhiber toutes les MMP, la spécificité à l'égard de certaines MMP diffère légèrement d'un TIMP à l'autre (Vergnolle 2016) :

- TIMP-1 : actif particulièrement contre les MMP-1-2-3-4-6-19
- TIMP-2 : actif particulièrement contre les MMP-1-2-14
- TIMP-3 : actif contre toutes les MMP
- TIMP-4 : actif particulièrement contre les MMP-1-2-3-4-6-19

- Inhibiteurs naturels des protéases à cystéine

Les Inhibitor of Apoptosis Protein (IAP) sont des anti-protéases naturelles sécrétées localement et actives sur les protéases à cystéine de type caspases impliquées dans l'apoptose cellulaire (Vergnolle 2016). La c-IAP2 inhibe la caspase-9 et est produite par l'hôte de façon ubiquitaire dans l'intestin.

*b) Inhibiteurs synthétiques*

- Inhibiteurs synthétiques des PS

Des inhibiteurs synthétiques sélectifs des PS ont été élaborés à des fins d'exploration thérapeutique (Vergnolle 2016) (Denadai-Souza et al. 2018) (Jablaoui et al. 2020). L'argatroban, un inhibiteur synthétique de la thrombine, diminue les lésions macroscopiques et histologiques de colique dans un modèle expérimental chez le rat (Onomura et al. 2000). Un autre inhibiteur, le silvestat (ONO-5046), inhibiteur synthétique de l'élastase neutrophilique, a été élaboré et identifié comme réducteur de la perte de poids et du score histologique chez le même type d'animaux de laboratoire (Morohoshi et al. 2006). Le mésylate de nafamostat (FUT-175), un inhibiteur non spécifique de la tryptase, a montré son efficacité dans la réduction de l'inflammation intestinale chez les rats atteints de colite induite expérimentalement (Isozaki et al. 2006). D'autres inhibiteurs ont fait l'objet d'essais cliniques comme l'inhibiteur spécifique de la tryptase, l'APC-2059, qui a montré une bonne amélioration clinique des patients souffrant d'inflammation intestinale (Tremaine et al. 2002).

- Inhibiteurs synthétiques des MMP

Le batimastat (BB94) et l'ilomastat (GM6001) sont deux inhibiteurs synthétiques puissants à large spectre d'action sur l'ensemble des MMP (Di Sebastiano et al. 2001) (Wang et Wang 2008). Il a été rapporté que ces inhibiteurs permettent une réduction de l'inflammation digestive dans la colite induite expérimentalement chez le rat. Cependant, leur faible solubilité et leurs effets secondaires rapportés (douleurs abdominales) ont fait avorter les essais thérapeutiques. L'andécaximab, un anticorps monoclonal IgG4 chimérique recombinant actif sur les MMP-9,

est le seul inhibiteur synthétique des MMP à avoir atteint le stade d'essai clinique pour le traitement de la colite ulcéreuse chez l'homme mais l'étude a conclu à un manque d'efficacité (Marshall et al. 2015).

### c) *Anti-protéases et inflammation digestive*

Des liens ont été établis entre les inhibiteurs des PS et l'inflammation digestive observée dans les MICI. Il a été rapporté que, chez l'homme atteint de MICI, l' $\alpha$ -1-antitrypsine possède des effets bénéfiques sur les lésions du côlon, qu'elle diminue les cytokines pro-inflammatoires et qu'elle améliore les fonctions de la barrière intestinale (Collins et al. 2013). Il a été rapporté que les niveaux d'ARNm de l'élafine et du SLPI sont augmentés dans les tissus digestifs des patients atteints de la maladie de Crohn par rapport aux sujets sains, cependant, l'induction de l'élafine et du SLPI étaient plus faibles dans les tissus des patients malades (Schmid et al. 2007). Cela suggère une diminution des concentrations de ces deux inhibiteurs due à une destruction tissulaire et non à une réduction de leur expression. L'élafine et son précurseur, la trappine-2, possèdent des propriétés antibactériennes, antivirales, antifongiques (seulement pour la trappine-2) et même potentiellement antiparasitaires (Simpson et al. 1999) (Drannik et al. 2012) (Baranger et al. 2008) (Roussilhon et al. 2017). Les effets bénéfiques de l'élafine sur les tissus intestinaux endommagés par l'inflammation ont bien été documentés. Motta et al. ont rapporté que l'administration d'élafine à des souris ayant des colites permet le rééquilibrage de la balance protéolytique ainsi que l'inhibition significative des paramètres inflammatoires digestifs (Motta et al. 2011). L'administration d'élafine a permis de moduler l'ensemble des médiateurs inflammatoires et a renforcé les fonctions de la barrière intestinale. Dans une autre étude, ces mêmes auteurs ont rapporté que l'administration d'élafine protège des agressions inflammatoires et rétablit l'homéostasie protéolytique en administrant par voie orale à des souris des bactéries génétiquement modifiées (*Lactococcus lactis* et *Lactobacillus casei*) capables de produire de l'élafine (Motta et al. 2012). Les serpines végétales sont également des candidats potentiels à étudier pour réduire l'inflammation digestive car elles possèdent des effets anti-inflammatoires notables (Larionova et al. 1993) (Larionova, Gladysheva, et Gladyshev 1997) (Ware et al. 1997). Plus récemment, il a été rapporté l'intérêt certain de l'étude des serpines bactériennes du microbiote intestinal et leur lien possible avec l'inflammation digestive et les MICI (Harish et Uppuluri 2018).

Alors que l'expression et l'activité des MMP sont augmentées chez l'homme atteint de MICI, des liens entre les inhibiteurs des MMP et l'inflammation digestive ont été rapportés (Pedersen et al. 2009) (Meijer et al. 2007). Le niveau de production des inhibiteurs TIMP-3 est réduit dans les échantillons de biopsies des patients atteints de MICI et l'apport de TIMP-3 exogène a permis de réduire le niveau de production des cytokines inflammatoires dans les échantillons des patients malades (Monteleone et al. 2012). Cela suggère que le rôle bénéfique des TIMP-3 est diminué lors de MICI par la réduction de son effet anti-inflammatoire. Les niveaux sériques des TIMP-2 et TIMP-4 sont diminués chez les patients atteints de MICI et le niveau sérique de TIMP-2 pendant le traitement des MICI semble être un facteur pronostique potentiel de rémission à court et long terme (Kapsoritakis et al. 2008) (Carbone et al. 2018). Contrairement aux autres inhibiteurs des MMP, le niveau d'expression et de production des TIMP-1 est augmenté dans les tissus intestinaux inflammés des patients atteints de MICI (Louis et al. 2000) (Wang et Yan 2006). Les taux sériques en TIMP-1 des patients atteints de MICI sont supérieurs

à ceux des témoins et des corrélations positives significatives ont été établies entre le taux sérique de TIMP-1 et le score lésionnel de la muqueuse, l'indice d'activité de la maladie ainsi que la concentration de la protéine C-réactive (Wiercinska-Drapalo et al. 2003).

### 3.1.3 L'homéostasie protéolytique

L'équilibre protéolytique, ou homéostasie protéolytique, est finement régulé par l'équilibre entre les protéases et leurs inhibiteurs. Dans un contexte non pathologique, la balance protéases-anti-protéases permet, et reflète, le bon maintien de la santé intestinale. Les protéases sont étroitement régulées pour empêcher une dégradation excessive des protéines de l'hôte ou une activation immunitaire inappropriée. Dans un contexte pathologique d'EIC, l'homéostasie protéolytique des PS et des MMP est altérée chez l'homme (Denadai-Souza et al. 2018) (Jablaoui et al. 2020) (Pedersen et al. 2009) (Meijer et al. 2007). Chez le chien, peu d'études rapportent ce déséquilibre protéolytique lors d'EIC (Maeda et al. 2014) (Hanifeh et al. 2018) (Wilke et al. 2012).

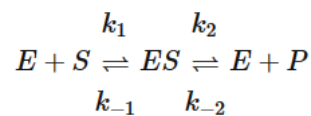
Depuis plusieurs années, des efforts considérables ont été déployés en médecine humaine afin d'émettre des hypothèses sur le développement de voies thérapeutiques basées sur l'inhibition des protéases avec la volonté de restaurer l'équilibre protéolytique intestinal. L'utilisation des inhibiteurs synthétiques a été abandonnée dans de nombreux essais cliniques au vu de leurs effets secondaires majeurs. Les espoirs se tournent vers les inhibiteurs naturels des protéases mais le développement de voies thérapeutiques agissant sur ces molécules rencontre de nombreux défis. Il semble évident que des protéases cibles doivent être identifiées ainsi que des anti-protéases ayant un spectre d'activité étroit. L'efficacité, la sécurité d'emploi et la méthode d'administration sont des défis majeurs que l'élafine semble relever dans une optique de traitement complémentaires aux traitements déjà existants (Deraison et al. 2023) (Motta et al. 2012). Sur la même voie, l' $\alpha$ -1-antitrypsine semble également prometteuse dans l'élaboration de traitements visant à rééquilibrer l'équilibre protéolytique lors de MICI (Vergnolle 2016). Les études sur le déséquilibre protéolytique et la conception des inhibiteurs sont dirigées vers les PS et MMP de l'hôte, révélant un facteur jusqu'ici négligé, la contribution potentielle de leurs homologues bactériennes.

## 3.2 Mesure de l'activité protéolytique

Différents types de méthodes permettent l'étude des protéases. Dans les méthodes mesurant l'affinité des protéases, les protéases sont détectées et quantifiées sur la base de leur présence, quel que soit leur niveau d'activité. En revanche, les méthodes mesurant l'activité des protéases permettent l'étude de protéases fonctionnelles et tient compte de l'activité des inhibiteurs. La plupart des études concernant l'équilibre protéolytique digestif analysent des profils d'expression de l'ARNm codant pour des protéases. L'expression de l'ARNm d'une protéase n'est pas forcément corrélée à son activité biologique réelle. La présence d'inhibiteurs endogènes dans les tissus qui induisent l'inactivation des protéases ou d'autres sources de destruction/inactivation de ces protéases peuvent induire l'incapacité de celles-ci à exercer leurs fonctions. La mesure des activités protéolytiques *in situ* est par conséquent la méthode de

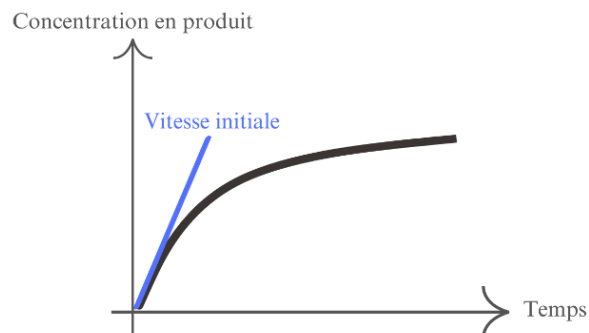
référence pour étudier l'implication réelle des protéases intestinales dans les états pathologiques.

L'activité protéolytique, ou l'activité catalytique d'une protéase, correspond à la vitesse de réaction enzymatique. Les protéases sont des enzymes dites michaeliennes qui fonctionnent selon le mode suivant : un substrat S se lie avec une enzyme E (ici protéase ou anti-protéase) pour donner un intermédiaire ES, appelé complexe enzyme-substrat, puis cet intermédiaire se dissocie pour donner un produit P avec régénération de l'enzyme E (**Figure 16**).



**Figure 16 : Equation d'une réaction enzymatique michaelienne.** Réalisation Eloïse Deygout. *E : Enzyme ; S : Substrat ; ES : complexe Enzyme-Substrat ; P : Produit ;  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_{-1}$  et  $k_{-2}$  : constantes de vitesse des différents actes élémentaires.*

La vitesse de réaction est caractérisée par la vitesse d'apparition du produit P. La concentration en produit P formé en fonction du temps suit une courbe au début exponentielle puis atteint un plateau (**Figure 17**). Sur cette courbe, la vitesse de réaction enzymatique s'obtient en mesurant la pente de la tangente à la courbe à chaque instant. La vitesse de réaction initiale correspond à la pente de la tangente à la courbe au début de la réaction quand la courbe est en phase exponentielle et que la pente de la tangente à la courbe est constante.



**Figure 17 : Courbe d'une réaction enzymatique : concentration en produit en fonction du temps.** Réalisation Eloïse Deygout.

Afin d'étudier l'activité des protéases dans un contexte de recherche scientifique à propos des maladies intestinales, la valeur de la vitesse importe peu. L'objectif est de comparer les différents niveaux d'activité entre eux, et notamment de comparer les niveaux d'activité des protéases entre les échantillons d'individus sains et malades. C'est donc la quantification relative de l'activité protéolytique qui est intéressante.

La méthode d'analyse de l'activité protéolytique repose sur l'utilisation de substrats spécifiques. Plusieurs types de substrats peuvent être utilisés : les substrats chromogéniques ou fluorogéniques (Jablaoui et al. 2020). Lors de la lyse du substrat par l'enzyme, le substrat chromogénique libère une substance colorimétrique alors que le substrat fluorogénique libère un fluorochrome après excitation. Ces molécules libérées, colorimétriques ou fluorescentes, absorbent ou émettent respectivement, une longueur d'onde spécifique. L'absorbance ou l'émission de longueurs d'ondes spécifiques en fonction du temps sont mesurées et des courbes

sont obtenues. L'ensemble des activités protéolytiques peut être analysé afin d'obtenir des activités relatives, le but étant ici de comparer les activités entre elles. Afin de confirmer la spécificité des substrats utilisés, les mêmes mesures sont réalisées en présence d'inhibiteurs spécifiques des protéases d'intérêt.

### 3.3 Profilage protéolytique

Un profil d'activité protéolytique correspond à la représentation de l'activité protéolytique mesurée, de l'ensemble des protéases, d'une famille de protéases ou bien de protéases spécifiques, en fonction d'un groupe d'étude (individus sains ou individus malades ici).

Le profilage protéolytique peut être réalisé à différents niveaux (Jablaoui et al. 2020) (Mariaule et al. 2021) :

- **Activité protéolytique totale** : mesure l'activité protéolytique résultant de la protéolyse de l'ensemble des protéases présentes dans l'échantillon (protéolyse totale). Elle se mesure grâce à un substrat universel pouvant être dégradé par l'ensemble des protéases des différentes familles : la caséine. L'inhibiteur utilisé afin de confirmer la spécificité du substrat est l'acide trichloroacétique ou TCA.
- **Activité protéolytique d'une famille de protéases** : mesure l'activité protéolytique résultant de la protéolyse d'un ensemble des protéases appartenant à une même famille (PS, MMP, etc.). Elle se mesure grâce à des substrats spécifiques des PS, des MMP et des autres familles. Afin de vérifier la spécificité du substrat spécifique des PS, le fluorure de phénylméthylsulfonyle ou PMSF est utilisé comme inhibiteur. De même, pour vérifier la spécificité des substrats utilisés pour les MMP et les protéases à cystéine, l'EDTA et l'E-64 sont utilisés respectivement comme inhibiteurs.
- **Activité protéolytique spécifique** : mesure l'activité protéolytique résultant de la protéolyse d'une seule protéase. Des substrats ainsi que des inhibiteurs hautement spécifiques sont utilisés.

Sur un profil d'activité protéolytique, l'axe des ordonnées du graphique indique l'activité mesurée qui est exprimée en unité d'activité. Une unité d'activité correspond à la quantité d'enzyme nécessaire à la formation de 1  $\mu\text{mol}$  de substrat par minute dans les conditions expérimentales utilisées (Jablaoui et al. 2020).

Sur un profil d'activité protéolytique en présence d'inhibiteur, l'axe des ordonnées du graphique indique une activité relative ayant pour référence (100%) l'activité protéolytique de la protéase (ou de l'ensemble des protéases) sans l'inhibiteur.



## QUESTIONNEMENT SCIENTIFIQUE

La prévalence des EIC est élevée chez le chien (Dandrieux et Mansfield 2019). Nos connaissances actuelles sur la pathogénie des EIC chez le chien sont restreintes ce qui limite leur prise en charge.

Des altérations de la composition du microbiote intestinal ont été rapportées et le lien entre la dysbiose et l'inflammation digestive observée chez les chiens atteints d'EIC est désormais reconnu par la communauté scientifique (Honneffer et al. 2014) (Vázquez-Baeza et al. 2016) (Ni et al. 2017) (Gutiérrez et al. 2009) (Earley et al. 2019).

Des altérations fonctionnelles du microbiote intestinal ont également été identifiées comme étant en lien avec la pathogénie des EIC chez le chien. Parmi ces altérations fonctionnelles, le dysmétabolisme protéolytique semble jouer un rôle essentiel dans l'apparition et l'entretien de l'inflammation digestive observée lors d'EIC chez le chien (Mariaule et al. 2021). Les PS et les MMP ont été identifiées comme étant les protéases responsables du déséquilibre protéolytique intestinal (Kriaa et al. 2020) (Fontani et al. 2017).

Chez l'homme atteint de MICI, l'activité protéolytique de plusieurs PS (trypsine, élastase neutrophilique, cathépsine-G, protéinase-3 et thrombine) a été identifiée comme étant augmentée dans les échantillons fécaux et les surnageants coliques des hommes atteints de MICI par rapport aux sujets sains (Jablaoui et al. 2020) (Denadai-Souza et al. 2018).

L'altération de l'équilibre protéolytique dans le tractus digestif du chien atteint d'EIC n'a été rapporté que par une seule étude qui a identifié que les chiens atteints d'EIC possèdent une activité protéolytique fécale des PS plus élevée que les chiens sains (Maeda et al. 2014).

**Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse est de comparer les profils d'activité protéolytique fécale de différentes protéases et familles de protéases entre les chiens atteints d'EIC et les chiens sains. L'identification de PS spécifiques impliquées dans le déséquilibre protéolytique observé chez les chiens atteints d'EIC permettra d'orienter de futures recherches scientifiques sur l'élaboration de nouvelles stratégies de régulation afin d'améliorer la prise en charge actuelle du chien atteint d'EIC.**

# PARTIE EXPERIMENTALE

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1 Cohorte

Un total de 98 chiens a été recruté dans l'étude : 48 chiens atteints d'EIC et 50 chiens sains ont été étudiés. Parmi les chiens atteints d'EIC, 18 femelles et 30 mâles d'un âge moyen de 5,2 ans (intervalle 0,7-13,3 ans) ont été inclus. Les races les plus représentées au sein du groupe des chiens malades étaient les suivantes : bergers allemands, yorkshire terriers, golden retrievers, labradors, malinois et bergers australiens.

Le recrutement des chiens malades a été réalisé au CHUV d'Oniris à Nantes entre janvier 2021 et juin 2023 sur la base d'une admission clinique et d'une démarche diagnostique spécifique :

- Signes cliniques gastro-intestinaux depuis au minimum 3 semaines.
- Exclusion des causes parasitaires par la réalisation d'un examen coprologique et/ou d'un traitement antiparasitaire empirique au fenbendazole (50 mg/kg par jour pendant 5 jours) : absence d'amélioration clinique.
- Exclusion des causes métaboliques par la réalisation d'un bilan hémato-biochimique sanguin complet.
- Exclusion d'une FRE par la réalisation d'au moins un changement d'alimentation (aliment hautement digestible, aliment constitué de protéines hydrolysées, aliment enrichi en fibres et/ou ration ménagère originale faite maison, proposé pendant au moins 10 jours).
- Exclusion d'une ARE par la réalisation d'un traitement antibiotique au métronidazole (12,5 mg/kg deux fois par jour pendant 10 jours) s'expliquant par les recommandations en vigueur à l'époque du recrutement. Cependant, depuis la modification de la classification des EIC chez le chien, les recommandations actuelles préconisent l'exclusion d'une MrMRE par la réalisation d'essai de supplémentation en probiotiques multi-souches.
- Exclusion des causes mécaniques et néoplasiques par la réalisation d'une échographie abdominale complète.
- Mise en évidence d'une inflammation lymphoplasmocytaire et/ou éosinophilique à la suite de biopsies duodénales, iléales et/ou coliques.
- Conclusion sur le diagnostic d'une EIC de type MICI.

L'**Annexe 1** schématise la démarche diagnostique adoptée lors de troubles digestifs chroniques chez le chien lors d'une consultation de Médecine interne au sein du CHUV d'Oniris à Nantes.

Les chiens présentant une hypoalbuminémie révélée lors du bilan hémato-biochimique sanguin, classés en EIC de type PLE, n'ont pas été inclus dans l'étude. Les chiens classés en EIC de type FRE et ARE n'ont pas été inclus dans l'étude. Seuls les chiens diagnostiqués atteints d'une EIC de type MICI ont été inclus. Les chiens sains ont été recrutés selon les mêmes critères d'âge et d'alimentation que les chiens malades inclus dans la cohorte.

Afin de récolter les selles, les propriétaires de chiens ont préalablement rempli et signé une attestation de consentement présentée dans l'**Annexe 2**.

La présente étude a été financée par l'entreprise Royal Canin®.

## **1.2 Prélèvement des selles**

Le prélèvement des fèces a été réalisé avant tout traitement immunomodulateur à base de prednisolone. Pour rappel, ce traitement de 1 à 2 mg/kg par jour de prednisolone pendant 10 jours permet de classer les chiens atteints d'une MICI en :

- IRE : amélioration clinique à la suite du traitement immunomodulateur.
- NRE : pas d'amélioration clinique à la suite du traitement immunomodulateur.

Les fèces ont été collectées au CHUV d'Oniris à Nantes à la suite d'une défécation spontanée des chiens. Les selles ont été prélevées à l'aide d'une spatule en bois et ont ensuite été placées dans des pots en plastique identifiés avec le nom et l'espèce de l'animal ainsi que le nom du propriétaire. Les prélèvements de selles ont été placés immédiatement dans un congélateur dédié à la température de -80°C dans les services de Médecine interne du CHUV d'Oniris.

Le protocole de l'étude et l'exploitation des prélèvements biologiques ont été approuvés par le Comité d'Ethique et de Recherche Vétérinaire d'Oniris (CERVO).

Les échantillons ont été transférés au site de l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) de Jouy-en-Josas (78350). La réception et l'analyse de ces échantillons ont été réalisées par l'unité de recherche Microbiota Interaction with Human and Animal (MIHA) appartenant à l'institut Micalis de l'INRAE.

## **1.3 Mesure des activités protéolytiques fécales**

### *1.3.1 Préparation des eaux fécales*

Pour chaque échantillon fécal, 1 g de fèces a été homogénéisé dans 5 ml de solution tampon (Tris-HCl 20 mM, NaCl 200 mM, pH 8). Après homogénéisation, les échantillons ont été soumis à une étape de sonication (ultrasons) dans la glace pendant 1 minute afin de lyser l'ensemble des cellules présentes. Les débris ont été éliminés par centrifugation (10 000 tours/minute pendant 20 minutes à 4°C). Le surnageant de chaque échantillon contenant les protéines fécales totales a été récupéré pour une dilution à 1/20 puis conservé à -20°C. La solution finale obtenue pour chaque échantillon est nommée eau fécale.

### *1.3.2 Mesure de l'activité protéolytique*

La mesure de l'activité protéolytique des eaux fécales repose sur l'utilisation de substrats chromogéniques ou fluorogéniques spécifiques. L'activité protéolytique totale a été quantifiée

en utilisant l'azocaséine comme substrat. Le **Tableau 6** présente tous les substrats utilisés pour mesurer l'activité protéolytique des PS, MMP et protéases à cystéine. L'utilisation de ces substrats permet la mesure d'une activité protéolytique de type *substrat-like*. Ainsi, pour les PS, l'activité des protéases trypsine (activité trypsin-like), chymotrypsine (activité chymotrypsin-like), élastase neutrophilique (élastase-like) et protéinase-3 (proteïnase-3-like) sont mesurées. La sélectivité des substrats spécifiques a été confirmée à l'aide d'inhibiteurs spécifiques (voir **Tableau 6**). L'activité de la famille des PS, des protéases à cystéine et des MMP est inhibée respectivement par le PMSF, l'E-64 et l'EDTA. Pour les PS, des inhibiteurs synthétiques spécifiques ont été utilisés pour déterminer les activités trypsin-like, chymotrypsine-like, élastase-like et protéinase-3-like.

**Tableau 6 : Activité et nature des substrats et inhibiteurs utilisés pour la mesure de l'activité protéolytique fécale.** Réalisation Eloïse Deygout.

	Activité	Nature
<b>Substrats</b>	Protease-like (azocaséine)	Chromogénique
	Cysteine-like	Chromogénique
	Metalloprotease-like	Fluorogénique
	Trypsin-like	Chromogénique
	Chymotrypsin-like	Chromogénique
	Elastase-like	Fluorogénique
	Proteinase-3-like	Fluorogénique
<b>Inhibiteurs</b>	Serine-protase-like	Fluorure de phénylméthanesulfonyle (PMSF)
	Cysteine-like	E-64
	Metalloprotease-like	Ethylènediaminetétraacétique (EDTA)
	Trypsin-like	Soybean Trypsin Inhibitor (STI)
	Chymotrypsin-like	N $\alpha$ -Tosyl-Phe Chloromethyl Ketone (TPCK)
	Elastase-like	N-(Methoxysuccinyl)-Ala-Ala-Pro-Val-chloromethyl ketone
	Proteinase-3-like	Bt-Val-Tyr-Asp-nValP(O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-Cl) <sub>2</sub>

Le dépôt des eaux fécales, des substrats et des inhibiteurs a lieu sur des plaques à 96 puits. Sur ces plaques, pour chaque échantillon, on retrouve :

- Un témoin : eau fécale + tampon
- Tous les substrats : eau fécale + tampon + substrat
- Tous les inhibiteurs : eau fécale + tampon + substrat + inhibiteur

Les plaques sont ensuite immédiatement insérées dans un lecteur de plaques BioTek™ à température ambiante. La lecture de l'absorbance des substrats chromogéniques est effectuée à 410 nm. Pour les substrats fluorogéniques, la lecture de l'émission est réalisée à 460 nm après excitation à 360 nm. L'absorbance et la fluorescence des réactions sont mesurées et visualisées en temps réel. Une unité d'activité protéolytique correspond à la quantité d'enzyme catalysant la formation de 1  $\mu$ mol de substrat par minute dans les conditions expérimentales utilisées ci-dessus.

#### 1.4 Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'INRAE de Jouy-en-Josas avec le logiciel Graphpad Prism (v 10.0, GraphPad, San Diego, USA). Un test de normalité Shapiro-Wilk a été réalisé

pour évaluer la distribution des données. L'analyse des différences entre les activités protéolytiques fécales des chiens sains et des chiens atteints d'EIC a été évaluée à l'aide du test de Mann Whitney. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SEM. Des différences significatives ont été considérées pour des valeurs de  $p < 0,05$  avec : \* pour  $p < 0,05$  ; \*\* pour  $p < 0,01$  ; \*\*\* pour  $p < 0,001$ .

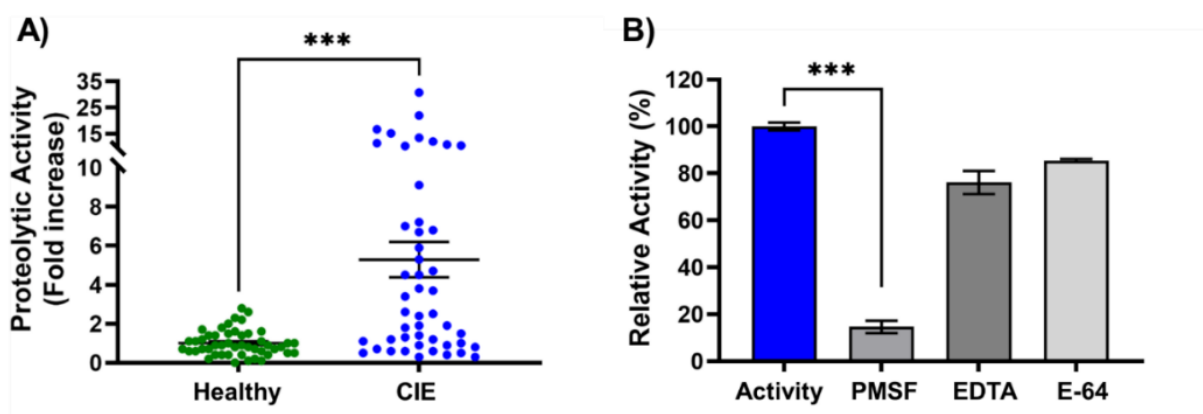
## 2. RESULTATS

### 2.1 Profil d'activité protéolytique fécale totale

L'activité protéolytique fécale totale a été mesurée chez les chiens atteints d'EIC et comparée avec celle mesurée chez les chiens sains.

Les résultats obtenus montrent que l'activité protéolytique fécale totale est significativement ( $p < 0,001$ ) plus élevée chez les chiens atteints d'EIC que chez les chiens sains (**Figure 18A**). En effet, les chiens atteints d'EIC présentent une activité protéolytique fécale totale 5 fois plus élevée que les chiens sains.

Afin de renforcer ces données, plusieurs inhibiteurs spécifiques des familles de protéases (PS, MMP et protéases à cystéine) ont été testés pour déterminer leur impact sur les activités protéolytiques détectées. L'activité protéolytique fécale totale des chiens atteints d'EIC a été significativement ( $p < 0,001$ ) réduite d'environ 90% en présence de PMSF (**Figure 18B**). En présence d'EDTA et de E-64, l'activité protéolytique fécale totale des chiens atteints d'EIC a été réduite seulement de, respectivement, 20% et 15%. Le PMSF étant un inhibiteur spécifique de la famille des PS, nous pouvons conclure que l'activité protéolytique fécale totale des chiens atteints d'EIC de la **Figure 18A** est essentiellement liée à l'activité de type serine proteases-like. Les familles des protéases à cystéine et des MMP ne semblent pas être significativement impliquées dans l'augmentation de l'activité protéolytique fécale totale.



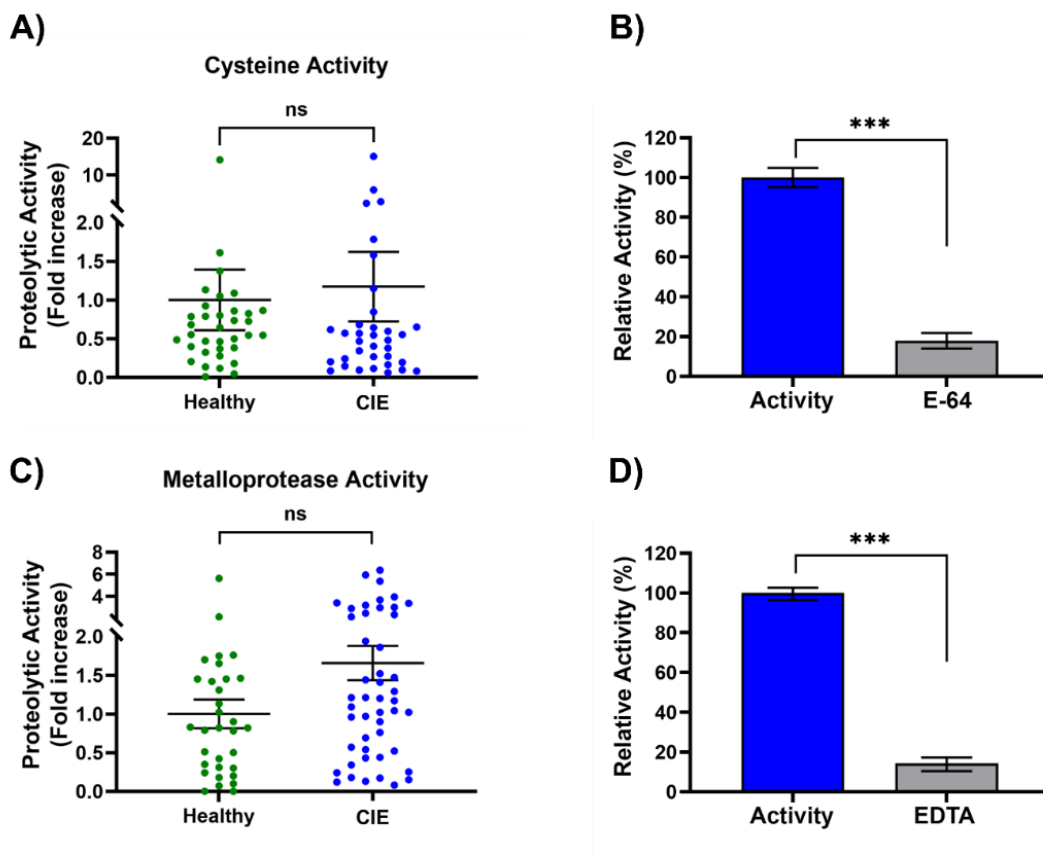
**Figure 18** : (A) Activité protéolytique fécale totale chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale totale en présence d'un inhibiteur de protéases à sérine (PMSF), d'un inhibiteur de métalloprotéases (EDTA) et d'un inhibiteur de protéases à cystéine (E-64). CIE : *Chronic Inflammatory Enteropathies* ; \*\*\* :  $p < 0,001$ .

## 2.2 Profil d'activité protéolytique fécale des métalloprotéases et des protéases à cystéine

Afin de s'assurer que les activités des familles des protéases à cystéine et des métalloprotéases ne soient pas augmentées dans les échantillons fécaux des chiens atteints d'EIC, la mesure de leur activité spécifique a été réalisée pour confirmer les résultats obtenus dans la **Figure 18**.

Les résultats montrent que l'activité protéolytique des protéases à cystéine et des MMP dans les échantillons fécaux des chiens atteints d'EIC n'est significativement pas différente de celle mesurée dans les échantillons fécaux des chiens sains (**Figure 19A** et **Figure 19C**).

Afin de vérifier ces données, un inhibiteur spécifique des protéases à cystéine, l'E-64, et des MMP, l'EDTA, a été utilisé pour déterminer son impact sur les activités protéolytiques détectées. Les activités cysteine-like et MMP-like dans les échantillons fécaux des chiens atteints d'EIC ont été significativement ( $p < 0,001$ ) réduites de 80% et 90% respectivement en présence de leur inhibiteur spécifique (**Figure 19B** et **Figure 19D**). L'origine des activités protéolytiques fécales mesurées dans les **Figure 19A** et **Figure 19C** est confirmée grâce à la validation de la spécificité des substrats utilisés.



**Figure 19** : (A) Activité protéolytique fécale des protéases à cystéine chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale des protéases à cystéine en présence d'un inhibiteur spécifique des protéases à cystéine (E-64). (C) Activité protéolytique fécale des métalloprotéases chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (D) Activité protéolytique fécale des métalloprotéases en présence d'un inhibiteur spécifique des métalloprotéases (EDTA). CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$  ; ns : non significatif.

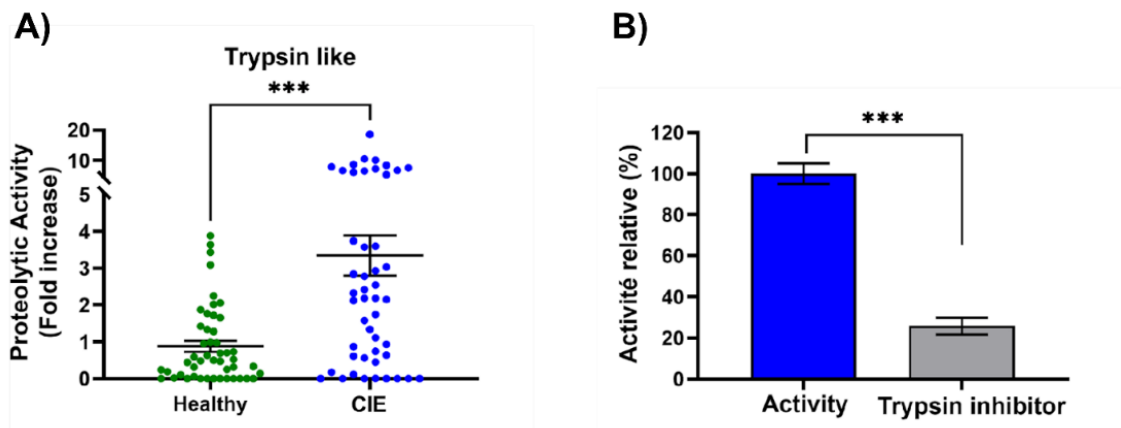
### 2.3 Profil d'activité protéolytique fécale des protéases à sérine

Nous avons identifié que seule l'activité des PS était à l'origine de l'augmentation de l'activité protéolytique fécale totale chez les chiens atteints d'EIC. Par conséquent, il semble pertinent d'identifier les protéases appartenant à la famille des PS responsables de cette augmentation.

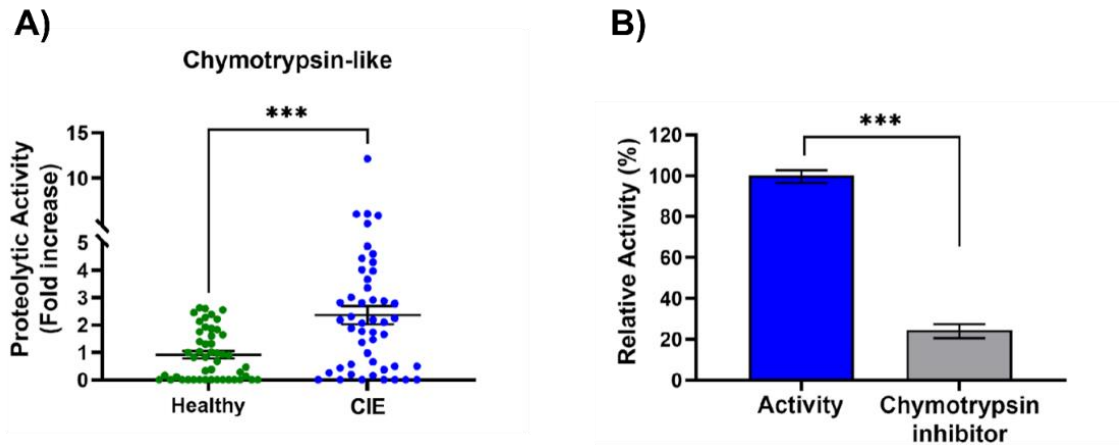
L'activité protéolytique de quatre PS ont été mesurées dans les échantillons fécaux des chiens atteints d'EIC et des chiens sains : trypsin-like, chymotrypsin-like, elastase-like et proteinase-3-like.

Une différence significative ( $p < 0,001$ ) a été rapportée entre les activités protéolytiques fécales des quatre PS chez les chiens atteints d'EIC et celles chez les chiens sains (**Figure 20A**, **Figure 21A**, **Figure 22A** et **Figure 23A**). En effet, les chiens atteints d'EIC présentent des activités trypsin-like, chymotrypsin-like, elastase-like et proteinase-3-like respectivement 3.5, 2.5, 8 et 4 fois plus élevées dans leur fèces que les chiens sains.

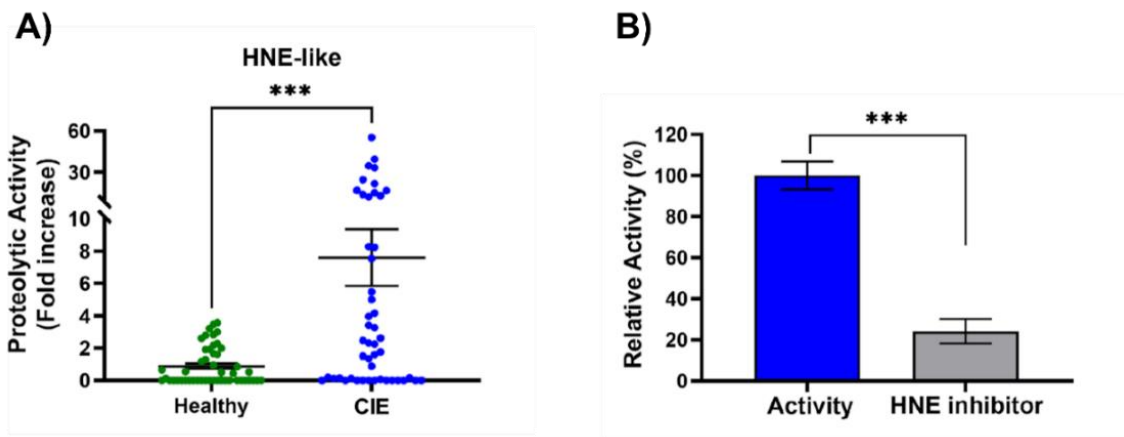
Afin de vérifier la spécificité des substrats utilisés, quatre inhibiteurs spécifiques des PS étudiées ont été utilisés afin de déterminer leur impact sur les activités protéolytiques détectées. Les activités trypsin-like, chymotrypsin-like, elastase-like et proteinase-3-like des chiens atteints d'EIC ont été significativement ( $p < 0,001$ ) réduites d'environ 80% en présence de leur inhibiteur spécifique (**Figure 20B**, **Figure 21B**, **Figure 22B** et **Figure 23B**). L'origine des activités protéolytiques fécales mesurées dans les **Figure 20A**, **Figure 21A**, **Figure 22A** et **Figure 23A** est confirmée grâce à la validation de la spécificité des substrats utilisés.



**Figure 20** : (A) Activité protéolytique fécale trypsin-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale trypsin-like en présence d'un inhibiteur spécifique de la trypsine. CIE : *Chronic Inflammatory Enteropathies* ; \*\*\* :  $p < 0,001$ .

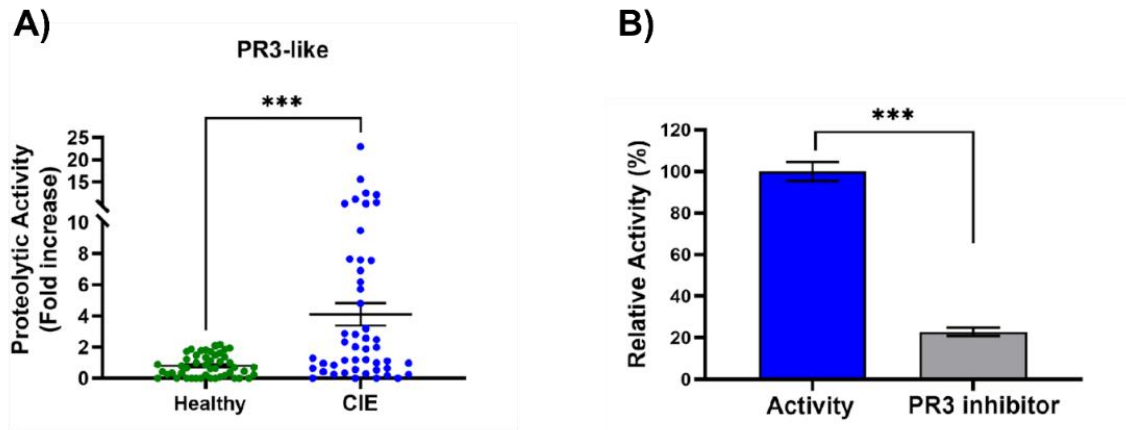


**Figure 21 :** (A) Activité protéolytique fécale chymotrypsin-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale chymotrypsin-like en présence d'un inhibiteur spécifique de la chymotrypsine. *CIE* : *Chronic Inflammatory Enteropathies* ; \*\*\* :  $p < 0,001$ .



**Figure 22 :** (A) Activité protéolytique fécale elastase-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale elastase-like en présence d'un inhibiteur spécifique de l'élastase neutrophilique. *HNE* : *Human Neutrophilic Elastase* ; *CIE* : *Chronic Inflammatory Enteropathies* ; \*\*\* :  $p < 0,001$ .





**Figure 23 :** (A) Activité protéolytique fécale proteinase-3-like chez les chiens atteints d'EIC (N = 48) et les chiens sains (N = 50). (B) Activité protéolytique fécale proteinase-3-like en présence d'un inhibiteur spécifique de la protéinase-3. PR3 : protéinase-3 ; CIE : Chronic Inflammatory Enteropathies ; \*\*\* :  $p < 0,001$ .

## 2.4 Synthèse des résultats

L'analyse des profils d'activité protéolytique fécale chez le chien permet d'obtenir les conclusions suivantes :

- Les chiens atteints d'EIC présentent une activité protéolytique fécale **totale 5 fois plus élevée** que les chiens sains ( $p < 0,001$ ).
- L'augmentation de l'activité protéolytique fécale **totale** chez les chiens atteints d'EIC provient essentiellement de l'augmentation de l'activité des **protéases à sérine** ( $p < 0,001$ ).
- Les chiens atteints d'EIC ne présentent **pas** de variation significative de l'activité protéolytique fécale de type protéases à cystéine et métalloprotéases.
- Par rapport aux chiens sains, les chiens atteints d'EIC présentent dans leurs selles ( $p < 0,001$ ) :
  - Une activité **trypsin-like 3,5 fois plus élevée**,
  - Une activité **chymotrypsin-like 2,5 fois plus élevée**,
  - Une activité **elastase-like 8 fois plus élevée**,
  - Une activité **proteinase-3-like 4 fois plus élevée**.

### 3. DISCUSSION

#### 3.1 Principaux résultats

##### 3.1.1 *Activité protéolytique totale et activité des protéases à sérine, des métalloprotéases et des protéases à cystéine*

Dans cette étude, nous montrons que l'activité protéolytique fécale totale est significativement ( $p < 0,001$ ) 5 fois plus élevée chez les chiens atteints d'EIC que chez les animaux sains. Il est intéressant de noter que parmi toutes les familles de protéases, ce sont les PS qui sont à l'origine de l'augmentation de l'activité protéolytique fécale totale chez les chiens atteints d'EIC au vu de la réduction significative de cette activité en présence de PMSF, un inhibiteur spécifique des PS. Ces résultats sont en adéquation avec les résultats obtenus par Maeda et al. qui rapportent que l'activité protéolytique fécale des PS est significativement ( $P < 0,001$ ) 2 fois plus élevée chez les chiens atteints d'EIC que chez les chiens sains (Maeda et al. 2014). Les résultats obtenus sont également en adéquation avec le fait que les PS ont été identifiées comme étant les protéases responsables du déséquilibre protéolytique intestinal chez l'homme (Kriaa et al. 2020) (Fontani et al. 2017) (Jablaoui et al. 2020). Chez l'homme atteint de MICI, il est rapporté que l'activité protéolytique fécale des PS est significativement ( $p < 0,001$ ) 10 fois plus élevée que chez les sujets sains (Jablaoui et al. 2020).

Concernant l'activité protéolytique fécale des MMP et des protéases à cystéine, nos résultats ne montrent aucune différence significative entre les chiens atteints d'EIC et les chiens sains. C'est la première fois que l'activité des MMP et des protéases à cystéine est mesurée avec cette méthode dans les échantillons fécaux de chiens atteints d'EIC. Cependant, Hanifer et al. ont rapporté que le nombre d'échantillons présentant une activité de la pro-MMP-2, de la pro-MMP-9 et de la MMP-2 par zymographie était plus élevé dans la muqueuse des chiens atteints d'entéropathie chronique que dans la muqueuse des chiens sains (Hanifeh et al. 2018). Chez l'homme, l'activité protéolytique de la famille des MMP est significativement ( $p < 0,02$ ) 3 fois plus élevée dans le surnageant cellulaire de la muqueuse inflammée d'un patient atteint de MICI par rapport à l'activité dans le surnageant cellulaire de la muqueuse non inflammée du même patient (Pedersen et al. 2009). De plus, il a été rapporté que le niveau d'expression de l'ARNm codant pour la cathépsine-L, une protéase à cystéine, est significativement ( $p < 0,05$ ) 10 fois plus élevé dans les macrophages intestinaux des patients atteints de MICI que dans ceux des sujets sains (Menzel et al. 2006). L'activité des MMP et des protéases à cystéine n'ayant pas été évaluée avec la même méthode dans des échantillons fécaux humains ou canins chez des individus atteints de MICI, nous ne pouvons pas comparer nos résultats.

##### 3.1.2 *Activité des protéases à sérine : trypsine, chymotrypsine, élastase neutrophilique et protéinase-3*

Afin d'identifier l'identité des PS impliquées dans l'augmentation de l'activité protéolytique fécale totale chez les chiens atteints d'EIC, des substrats et inhibiteurs spécifiques ont été utilisés pour étudier les activités trypsin-like, chymotrypsin-like, élastase-like et proteinase-3-

like. A notre connaissance, c'est la première fois que ces activités sont mesurées et comparées dans des échantillons fécaux de chiens atteints d'EIC et sains.

Dans cette étude, les chiens atteints d'EIC possèdent une activité trypsin-like, chymotrypsin-like, elastase-like et proteinase-3-like respectivement 3.5, 2.5, 8 et 4 fois plus élevée dans leurs matières fécales que les chiens témoins ( $p < 0,001$ ). Ces résultats sont en adéquation avec ceux observés chez l'homme (Jablaoui et al. 2020). En effet, Jablaoui et al. ont rapporté que l'homme atteint de MICI possède une activité trypsin-like, elastase-like et proteinase-3-like respectivement 8, 6 et 5 fois plus élevées dans ses selles que les sujets témoins. De plus, des études utilisant d'autres méthodes d'analyse rapportent des activités trypsin-like 100 fois plus élevées dans le surnageant colique et les selles des hommes atteints de MICI par rapport aux individus sains (Midtvedt et al. 2013) (Denadai-Souza et al. 2018). A notre connaissance, l'activité protéolytique chymotrypsin-like n'a pas été évaluée chez l'homme souffrant de MICI. Cependant, il a été rapporté que des taux de chymotrypsine plus importants sont retrouvés dans les selles des patients atteints de la maladie de Crohn (van de Merwe et Mol 2009). Concernant l'activité elastase-like, des études antérieures ont rapporté que l'activité elastase-like était 3 à 100 fois plus élevée, respectivement, dans les échantillons fécaux et dans les biopsies de côlon des sujets malades par rapport aux sujets sains (Motta et al. 2012) (Bustos et al. 1998).

L'activité de la cathépsine-G a été mesurée chez l'homme mais pas encore chez le chien. L'activité de la cathépsine-G est significativement ( $p < 0,001$ ) 7 à 14 fois plus élevée dans les échantillons fécaux des patients atteints de MICI que dans ceux des sujets sains (Jablaoui et al. 2020) (Dabek et al. 2009). Il serait intéressant d'évaluer son activité chez le chien souffrant d'EIC afin d'identifier si les mêmes variations d'activité sont présentes chez le chien.

## **3.2 Validité des résultats**

La majorité des publications en médecine vétérinaire portant sur les EIC chez le chien ont des tailles de cohorte réduites ( $N < 50$ ). La présente étude possède une cohorte de 98 chiens (48 chiens atteints d'EIC et 50 chiens témoins) se rapprochant, voire dépassant les cohortes observées dans les publications en médecine humaine. La puissance statistique de cette étude est *a priori* suffisante pour valider l'interprétation des résultats obtenus.

## **3.3 Limites de l'étude**

### *3.3.1 Origine des protéases*

Bien que cette étude n'ait pas cherché à déterminer l'origine de l'activité élevée des PS dans les échantillons fécaux canins, il est important de noter que les PS de l'hôte et du microbiote intestinal, dont les activités se superposent, peuvent être impliquées. Des études supplémentaires concernant l'origine des protéases digestives ayant une activité augmentée lors d'EIC chez le chien sont nécessaires afin de souligner l'importance du microbiote intestinal sur l'homéostasie protéolytique.

### 3.3.2 Lien avec l'inflammation digestive

Cette étude présente les profils d'activité protéolytique fécale des chiens atteints d'EIC sans pour autant identifier un lien direct entre l'augmentation de l'activité protéolytique et l'inflammation digestive. Aucun lien de cause à effet ne peut être affirmé par la simple mesure des activités protéolytiques.

Cependant, il est intéressant de noter que les PS peuvent activer les PAR, des récepteurs présents sur l'ensemble des cellules du tractus digestif (cellules épithéliales, endothéliales, immunitaires, musculaires, neuronales, etc.) (Vergnolle 2005). Les effets induits par l'activation de ces récepteurs sont principalement pro-inflammatoires, pro-nociceptifs et prolifératifs (Vergnolle 2016). La trypsine et la protéinase-3 activent particulièrement les PAR2 (Pontarollo et al. 2020) (Vergnolle 2008) (Kong et al. 1997). L'activation du PAR2 induit une inflammation intestinale notamment par l'induction de l'expression de médiateurs pro-inflammatoires comme l'IL-1 et l'IL-8 et une douleur viscérale (Cenac et al. 2002) (Cenac et al. 2007) (Maeda et al. 2014). Ces informations soulignent le rôle clé des PS dans l'inflammation digestive et le fait que le déséquilibre protéolytique observé dans cette étude chez le chien est associé aux troubles inflammatoires retrouvés dans les EIC.

D'autres études sont nécessaires afin de préciser le lien qui existe entre les PS et l'inflammation digestive, et si l'augmentation de leur activité est corrélée à l'intensité de l'inflammation digestive chez le chien.

### 3.3.3 Lien avec le score clinique

Cette étude n'étudie pas le lien entre les profils d'activité protéolytique fécale et la gravité clinique des EIC chez le chien. Il serait intéressant d'étudier la corrélation entre l'augmentation d'activité des PS et le score clinique (CCECAI) chez les chiens malades. Maeda et al. ont rapporté que l'augmentation de l'activité des PS est corrélée significativement ( $p = 0,0173$ ) au score CCECAI dans les fèces des chiens atteints de MICI (Maeda et al. 2014).

D'autres études sont nécessaires afin de préciser le lien qui existe entre les PS et l'expression clinique des EIC, et si l'augmentation de leur activité est corrélée à la gravité de la maladie chez le chien.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans cette étude, l'activité protéolytique totale et l'activité de quatre PS ont été mesurées dans les échantillons fécaux des chiens atteints d'EIC pour être comparées à celles mesurées chez les chiens sains. Les chiens atteints d'EIC présentent une activité protéolytique fécale totale 5 fois plus élevée que les chiens sains ( $p < 0,001$ ). L'activité protéolytique fécale totale est principalement liée à l'activité des PS. Ces résultats sont en adéquation avec les résultats observés antérieurement chez le chien et avec les résultats observés récemment chez l'homme atteint la maladie de Crohn ou de la rectocolite hémorragique.

Aucune différence significative n'a été observée entre les niveaux d'activité protéolytique fécale des MMP et des protéases à cystéine entre les chiens atteints d'EIC et les chiens sains.

Les chiens atteints d'EIC possèdent des activités trypsin-like, chymotrypsin-like, elastase-like et proteinase-3-like respectivement 3.5, 2.5, 8 et 4 fois plus élevées ( $p < 0,001$ ) dans leurs échantillons fécaux que les chiens sains. A notre connaissance, c'est la première fois que les activités trypsin-like, chymotrypsin-like, elastase-like et proteinase-3-like ont été mesurées dans le contenu fécal des chiens atteints d'EIC.

Les PS de l'hôte et du microbiote intestinal, dont les activités se superposent, peuvent être impliquées dans les activités protéolytiques fécales mesurées. De plus, les profils d'activité protéolytique fécale obtenus chez le chien atteint d'EIC ne permettent pas d'étudier le lien précis qui existe entre l'augmentation de l'activité des protéases et l'inflammation digestive. Des études supplémentaires sont nécessaires afin d'approfondir nos connaissances sur le rôle de l'augmentation des activités protéolytiques sur l'inflammation digestive et, par extension, sur l'expression clinique de la maladie.

Cette étude ouvre la voie à de futures études ayant pour but (i) d'approfondir nos connaissances et notre compréhension de la pathogénie des EIC chez le chien, et par extension chez l'homme, (ii) de développer de nouvelles stratégies de traitement et de prévention reposant sur la régulation des activités protéolytiques afin d'améliorer la prise en charge actuelle du chien malade. Le rôle régulateur du microbiote intestinal par le biais des serpins qu'il produit étant majeur, il est probable que les étapes à venir prévoient d'agir sur le microbiote intestinal pour favoriser la production de serpins naturelles. Plus globalement, les études futures contribueront de manière significative à une meilleure compréhension des interactions présentes entre l'hôte et son microbiote intestinal.

Ce travail démontre le fait que l'hôte et ses microbiotes ne font qu'un et illustre la notion d'holobionte (être supérieur composé de l'organisme eucaryote et de ses microbiotes).



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akermi, Nizar, Hela Mkaouar, Aicha Kriaa, Amin Jablaoui, Souha Soussou, Ali Gargouri, Anthony W. Coleman, Florent Perret, Emmanuelle Maguin, et Moez Rhimi. 2019. « Para-Sulphonato-Calix[n]Arene Capped Silver Nanoparticles Challenge the Catalytic Efficiency and the Stability of a Novel Human Gut Serine Protease Inhibitor ». *Chemical Communications (Cambridge, England)* 55(61):8935-38. doi: 10.1039/c9cc03183a.
- Alemi, Farzad, Daniel P. Poole, Jonathan Chiu, Kristina Schoonjans, Fiore Cattaruzza, John R. Grider, Nigel W. Bunnett, et Carlos U. Corvera. 2013. « The Receptor TGR5 Mediates the Prokinetic Actions of Intestinal Bile Acids and Is Required for Normal Defecation in Mice ». *Gastroenterology* 144(1):145-54. doi: 10.1053/j.gastro.2012.09.055.
- Alexeev, Erica E., Jordi M. Lanis, Daniel J. Kao, Eric L. Campbell, Caleb J. Kelly, Kayla D. Battista, Mark E. Gerich, Brittany R. Jenkins, Seth T. Walk, Douglas J. Kominsky, et Sean P. Colgan. 2018. « Microbiota-Derived Indole Metabolites Promote Human and Murine Intestinal Homeostasis through Regulation of Interleukin-10 Receptor ». *The American Journal of Pathology* 188(5):1183-94. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.01.011.
- Allenspach, K., C. Culverwell, et D. Chan. 2016. « Long-Term Outcome in Dogs with Chronic Enteropathies: 203 Cases ». *The Veterinary Record* 178(15):368. doi: 10.1136/vr.103557.
- Allenspach, K., A. House, K. Smith, F. M. McNeill, A. Hendricks, J. Elson-Riggins, A. Riddle, J. M. Steiner, D. Werling, O. A. Garden, B. Catchpole, et J. S. Suchodolski. 2010. « Evaluation of mucosal bacteria and histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in German shepherd dogs with chronic enteropathies ». *Veterinary Microbiology* 146(3):326-35. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.05.025.
- Allenspach, K., S. Rüfenacht, S. Sauter, A. Gröne, J. Steffan, G. Strehlau, et F. Gaschen. 2006. « Pharmacokinetics and Clinical Efficacy of Cyclosporine Treatment of Dogs with Steroid-Refractory Inflammatory Bowel Disease ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20(2):239-44. doi: 10.1111/j.1939-1676.2006.tb02852.x.
- Allenspach, K., B. Wieland, A. Gröne, et F. Gaschen. 2007. « Chronic Enteropathies in Dogs: Evaluation of Risk Factors for Negative Outcome ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21(4):700-708. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.tb03011.x.
- AlShawaqfeh, MK, B. Wajid, Y. Minamoto, M. Markel, JA Lidbury, JM Steiner, E. Serpedin, et JS Suchodolski. 2017. « A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy ». *FEMS Microbiology Ecology* 93(11):fix136. doi: 10.1093/femsec/fix136.
- Andrade, Adriana R., Luísa L. Barros, Matheus F. C. Azevedo, Alexandre S. Carlos, Aderson O. M. C. Damião, Aytan M. Sipahi, et André Z. A. Leite. 2018. « Risk of Thrombosis and Mortality in Inflammatory Bowel Disease ». *Clinical and Translational Gastroenterology* 9(4):e142. doi: 10.1038/s41424-018-0013-8.
- Anon. s. d. « Métagénomique ». *France Génomique*. Consulté 10 janvier 2024 (<https://www.france-genomique.org/expertises-technologiques/metagenomique/>).
- Ansaldo, Eduard, Leianna C. Tué, Krystal L. Ching, Meghan A. Koch, Natalie K. Loup, Damian R. Plichta, Éric M. Marron, Daniel B. Graham, Le juge Ramnik Xavier, James J. Moon, et Grégoire M.

- Barton. 2019. « Akkermansia muciniphila induces intestinal adaptive immune responses during homeostasis ». *Science* 364(6446):1179-84. doi: 10.1126/science.aaw7479.
- Aono, Kimiya, Yasu-Taka Azuma, Tomoyo Nabetani, Shingo Hatoya, Masaru Furuya, Mariko Miki, Kana Hirota, Yasuyuki Fujimoto, Kazuhiro Nishiyama, Yoshiyuki Ogata, Tomofumi Mochizuki, et Hiroyuki Tani. 2019. « Correlation between toll-like receptor 4 and nucleotide-binding oligomerization domain 2 (NOD2) and pathological severity in dogs with chronic gastrointestinal diseases ». *Veterinary Immunology and Immunopathology* 210:15-22. doi: 10.1016/j.vetimm.2019.03.003.
- Bäckhed, Fredrik, Ruth E. Ley, Justin L. Sonnenburg, Daniel A. Peterson, et Jeffrey I. Gordon. 2005. « Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine ». *Science* 307(5717):1915-20. doi: 10.1126/science.1104816.
- Bansal, Tarun, Robert C. Alaniz, Thomas K. Wood, et Arul Jayaraman. 2010. « The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(1):228-33. doi: 10.1073/pnas.0906112107.
- Baranger, Kévin, Marie-Louise Zani, Jacques Chandenier, Sandrine Dallet-Choisy, et Thierry Moreau. 2008. « The Antibacterial and Antifungal Properties of Trappin-2 (Pre-Elafin) Do Not Depend on Its Protease Inhibitory Function ». *The FEBS Journal* 275(9):2008-20. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06355.x.
- Barko, P. c., M. a. McMichael, K. s. Swanson, et D. a. Williams. 2018. « The Gastrointestinal Microbiome: A Review ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32(1):9-25. doi: 10.1111/jvim.14875.
- Barry, Rachael, David Ruano-Gallego, Shiva T. Radhakrishnan, Scott Lovell, Lu Yu, Olga Kotik, Izabela Glegola-Madejska, Edward W. Tate, Jyoti S. Choudhary, Horace R. T. Williams, et Gad Frankel. 2020. « Faecal Neutrophil Elastase-Antiprotease Balance Reflects Colitis Severity ». *Mucosal Immunology* 13(2):322-33. doi: 10.1038/s41385-019-0235-4.
- Belà, Benedetta, Maria Magdalena Coman, Maria Cristina Verdenelli, Alessandro Gramenzi, Giulia Pignataro, Dennis Fiorini, et Stefania Silvi. 2024. « In Vitro Assessment of Postbiotic and Probiotic Commercial Dietary Supplements Recommended for Counteracting Intestinal Dysbiosis in Dogs ». *Veterinary Sciences* 11(1):19. doi: 10.3390/vetsci11010019.
- Benitez, Jorge A., et Anisia J. Silva. 2016. « *Vibrio cholerae* hemagglutinin(HA)/protease: An extracellular metalloprotease with multiple pathogenic activities ». *Toxicon* 115:55-62. doi: 10.1016/j.toxicon.2016.03.003.
- Berghoff, Nora, Nolie K. Parnell, Steve L. Hill, Jan S. Suchodolski, et Jörg M. Steiner. 2013. « Serum Cobalamin and Methylmalonic Acid Concentrations in Dogs with Chronic Gastrointestinal Disease ». *American Journal of Veterinary Research* 74(1):84-89. doi: 10.2460/ajvr.74.1.84.
- Bermingham, Emma N., Paul Maclean, David G. Thomas, Nicholas J. Cave, et Wayne Young. 2017. « Key Bacterial Families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) Are Related to the Digestion of Protein and Energy in Dogs ». *PeerJ* 5:e3019. doi: 10.7717/peerj.3019.
- Biagioli, Michele, Silvia Marchianò, Adriana Carino, Cristina Di Giorgio, Luca Santucci, Eleonora Distrutti, et Stefano Fiorucci. 2021. « Bile Acids Activated Receptors in Inflammatory Bowel Disease ». *Cells* 10(6):1281. doi: 10.3390/cells10061281.



- Biancheri, Paolo, Antonio Di Sabatino, Gino R. Corazza, et Thomas T. MacDonald. 2013. « Proteases and the Gut Barrier ». *Cell and Tissue Research* 351(2):269-80. doi: 10.1007/s00441-012-1390-z.
- Biancheri, Paolo, Sylvia LF Pender, Francesca Ammoscato, Paolo Giuffrida, Gianluca Sampietro, Sandro Ardizzone, Amir Ghanbari, Renata Curciarello, Alessandra Pasini, Giovanni Monteleone, Gino R. Corazza, Thomas T. MacDonald, et Antonio Di Sabatino. 2013. « The Role of Interleukin 17 in Crohn's Disease-Associated Intestinal Fibrosis ». *Fibrogenesis & Tissue Repair* 6(1):13. doi: 10.1186/1755-1536-6-13.
- Bots, Michael, et Jan Paul Medema. 2008. « Serpins in T cell immunity ». *Journal of Leukocyte Biology* 84(5):1238-47. doi: 10.1189/jlb.0208140.
- Brant, Steven R., et Geoffrey C. Nguyen. 2008. « Is there a gender difference in the prevalence of Crohn's disease or ulcerative colitis? ». *Inflammatory Bowel Diseases* 14(suppl\_2):S2-3. doi: 10.1002/ibd.20540.
- de Bruyn, Magali, Christine Breynaert, Ingrid Arijs, Gert De Hertogh, Karel Geboes, Greet Thijs, Gianluca Matteoli, Jialiang Hu, Jo Van Damme, Bernd Arnold, Marc Ferrante, Séverine Vermeire, Gert Van Assche, et Ghislain Opdenakker. 2017. « Inhibition of Gelatinase B/MMP-9 Does Not Attenuate Colitis in Murine Models of Inflammatory Bowel Disease ». *Nature Communications* 8(1):15384. doi: 10.1038/ncomms15384.
- Bustos, D., G. Negri, J. A. De Paula, M. Di Carlo, V. Yapur, A. Facente, et A. De Paula. 1998. « Colonic Proteinases: Increased Activity in Patients with Ulcerative Colitis ». *Medicina* 58(3):262-64.
- Calmus, Y., J. Guechot, P. Podevin, M. T. Bonnefis, J. Giboudeau, et R. Poupon. 1992. « Differential Effects of Chenodeoxycholic and Ursodeoxycholic Acids on Interleukin 1, Interleukin 6 and Tumor Necrosis Factor-Alpha Production by Monocytes ». *Hepatology (Baltimore, Md.)* 16(3):719-23. doi: 10.1002/hep.1840160317.
- Camilleri, Michael, et Priya Vijayvargiya. 2020. « The Role of Bile Acids in Chronic Diarrhea ». *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 115(10):1596. doi: 10.14309/ajg.0000000000000696.
- Caminero, Alberto, Mabel Guzman, Josie Libertucci, et Alan E. Lomax. 2023. « The emerging roles of bacterial proteases in intestinal diseases ». *Gut Microbes* 15(1):2181922. doi: 10.1080/19490976.2023.2181922.
- Carbone, Federico, Giorgia Bodini, Matteo Brunacci, Aldo Bonaventura, Alessandra Vecchiè, Luca Liberale, Mattia Crespi, Isabella Baldissarro, Franco Dallegri, Vincenzo Savarino, Fabrizio Montecucco, et Edoardo G. Giannini. 2018. « Reduction in TIMP-2 Serum Levels Predicts Remission of Inflammatory Bowel Diseases ». *European Journal of Clinical Investigation* 48(10):e13002. doi: 10.1111/eci.13002.
- Cenac, Nicolas, Christopher N. Andrews, Marinella Holzhausen, Kevin Chapman, Graeme Cottrell, Patricia Andrade-Gordon, Martin Steinhoff, Giovanni Barbara, Paul Beck, et Nigel W. Bunnett. 2007. « Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome ». *The Journal of clinical investigation* 117(3):636-47.
- Cenac, Nicolas, Anne-Marie Coelho, Cathy Nguyen, Steven Compton, Patricia Andrade-Gordon, Wallace K. MacNaughton, John L. Wallace, Morley D. Hollenberg, Nigel W. Bunnett, Rafael Garcia-Villar, Lionel Bueno, et Nathalie Vergnolle. 2002. « Induction of Intestinal Inflammation in Mouse by

- Activation of Proteinase-Activated Receptor-2 ». *The American Journal of Pathology* 161(5):1903-15. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64466-5.
- Cerquetella, M., G. Rossi, J. S. Suchodolski, S. Salavati Schmitz, K. Allenspach, F. Rodríguez-Franco, T. Furlanello, A. Gavazza, A. Marchegiani, S. Unterer, I. A. Burgener, G. Pengo, et A. E. Jergens. 2020. « Proposal for Rational Antibacterial Use in the Diagnosis and Treatment of Dogs with Chronic Diarrhoea ». *Journal of Small Animal Practice* 61(4):211-15. doi: 10.1111/jsap.13122.
- Cerquetella, Matteo, Andrea Marchegiani, Giacomo Rossi, Massimo Trabalza-Marinucci, Fabrizio Passamonti, Marco Isidori, et Fabrizio Rueca. 2022. « Case Report: Oral Fecal Microbiota Transplantation in a Dog Suffering From Relapsing Chronic Diarrhea-Clinical Outcome and Follow-Up ». *Frontiers in Veterinary Science* 9:893342. doi: 10.3389/fvets.2022.893342.
- Chaban, Bonnie, Matthew G. Links, et Janet E. Hill. 2012. « A Molecular Enrichment Strategy Based on Cpn60 for Detection of Epsilon-Proteobacteria in the Dog Fecal Microbiome ». *Microbial Ecology* 63(2):348-57. doi: 10.1007/s00248-011-9931-7.
- Chaitman, Jennifer, Anna-Lena Ziese, Rachel Pilla, Yasushi Minamoto, Amanda B. Blake, Blake C. Guard, Anitha Isaiah, Jonathan A. Lidbury, Jörg M. Steiner, Stefan Unterer, et Jan S. Suchodolski. 2020. « Fecal Microbial and Metabolic Profiles in Dogs With Acute Diarrhea Receiving Either Fecal Microbiota Transplantation or Oral Metronidazole ». *Frontiers in Veterinary Science* 7. doi: 10.3389/fvets.2020.00192.
- Chakravorty, Soumitesh, Danica Helb, Michele Burday, Nancy Connell, et David Alland. 2007. « A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria ». *Journal of Microbiological Methods* 69(2):330-39. doi: 10.1016/j.mimet.2007.02.005.
- Chapman, Brandon C., Hunter B. Moore, Douglas M. Overbey, Alex P. Morton, Ben Harnke, Mark E. Gerich, et Jon D. Vogel. 2016. « Fecal Microbiota Transplant in Patients with Clostridium Difficile Infection: A Systematic Review ». *Journal of Trauma and Acute Care Surgery* 81(4):756. doi: 10.1097/TA.0000000000001195.
- Chen, Michael X., San-Yuan Wang, Ching-Hua Kuo, et I.-Lin Tsai. 2019. « Metabolome analysis for investigating host-gut microbiota interactions ». *Journal of the Formosan Medical Association* 118:S10-22. doi: 10.1016/j.jfma.2018.09.007.
- Chojnacki, Cezary, Paulina Konrad, Marta Mędrek-Socha, Aleksandra Kaczka, Marcin Chojnacki, et Aleksandra Błońska. 2022. « Altered Tryptophan Metabolism in Patients with Recurrent Functional Abdominal Pain ». *Polski Merkurusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego* 50(295):5-8.
- Chun, Ju Lan, Sang Yun Ji, Sung Dae Lee, Yoo Kyung Lee, Byeonghyeon Kim, et Ki Hyun Kim. 2020. « Difference of gut microbiota composition based on the body condition scores in dogs ». *Journal of Animal Science and Technology* 62(2):239-46. doi: 10.5187/jast.2020.62.2.239.
- Cintio, Michela, Elisa Scarsella, Sandy Sgorlon, Misa Sandri, et Bruno Stefanon. 2020. « Gut Microbiome of Healthy and Arthritic Dogs ». *Veterinary Sciences* 7(3):92. doi: 10.3390/vetsci7030092.
- Cipriani, Sabrina, Andrea Mencarelli, Maria Giovanna Chini, Eleonora Distrutti, Barbara Renga, Giuseppe Bifulco, Franco Baldelli, Annibale Donini, et Stefano Fiorucci. 2011. « The Bile Acid Receptor GPBAR-1 (TGR5) Modulates Integrity of Intestinal Barrier and Immune Response to Experimental Colitis ». *PLOS ONE* 6(10):e25637. doi: 10.1371/journal.pone.0025637.

- Clarridge, Jill E. 2004. « Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases ». *Clinical Microbiology Reviews* 17(4):840-62. doi: 10.1128/cmr.17.4.840-862.2004.
- Cohen-Mazor, Meital, Rafi Mazor, Batya Kristal, et Shifra Sela. 2014. « Elastase and Cathepsin G from Primed Leukocytes Cleave Vascular Endothelial Cadherin in Hemodialysis Patients ». *BioMed Research International* 2014(1):459640. doi: 10.1155/2014/459640.
- Collier, Allison J., Diego E. Gomez, Gabrielle Monteith, Brandon L. Plattner, Adronie Verbrugghe, Jinelle Webb, J. Scott Weese, et Shauna L. Blois. 2022. « Investigating Fecal Microbial Transplant as a Novel Therapy in Dogs with Inflammatory Bowel Disease: A Preliminary Study ». *PLOS ONE* 17(10):e0276295. doi: 10.1371/journal.pone.0276295.
- Collins, Colm B., Carol M. Aherne, Stefan F. Ehrentraut, Mark E. Gerich, Eóin N. McNamee, Martine C. McManus, Matthew D. P. Lebsack, Paul Jedlicka, Tania Azam, Edwin F. de Zoeten, Charles A. Dinarello, et Jesús Rivera-Nieves. 2013. « Alpha-1-antitrypsin Therapy Ameliorates Acute Colitis and Chronic Murine Ileitis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 19(9):1964-73. doi: 10.1097/MIB.0b013e31829292aa.
- Comito, Rossana, Emanuele Porru, Nicolò Interino, Matteo Conti, Rossella Terragni, Roberto Gotti, Marco Candela, Patrizia Simoni, Aldo Roda, et Jessica Fiori. 2023. « Metabolic Bile Acid Profile Impairments in Dogs Affected by Chronic Inflammatory Enteropathy ». *Metabolites* 13(9):980. doi: 10.3390/metabo13090980.
- Corrêa-Oliveira, Renan, José Luís Fachi, Aline Vieira, Fabio Takeo Sato, et Marco Aurélio R. Vinolo. 2016. « Regulation of Immune Cell Function by Short-Chain Fatty Acids ». *Clinical & Translational Immunology* 5(4):e73. doi: 10.1038/cti.2016.17.
- Craven, M., J. W. Simpson, A. E. Ridyard, et M. L. Chandler. 2004. « Canine Inflammatory Bowel Disease: Retrospective Analysis of Diagnosis and Outcome in 80 Cases (1995–2002) ». *Journal of Small Animal Practice* 45(7):336-42. doi: 10.1111/j.1748-5827.2004.tb00245.x.
- Dabek, Marta, Laurent Ferrier, Richard Roka, Krisztina Gecse, Anita Annahazi, Jacques Moreau, Jean Escourrou, Christel Cartier, Gilles Chaumaz, et Mathilde Leveque. 2009. « Luminal cathepsin g and protease-activated receptor 4: a duet involved in alterations of the colonic epithelial barrier in ulcerative colitis ». *The American journal of pathology* 175(1):207-14.
- D'Aimmo, M. R., P. Mattarelli, B. Biavati, N. G. Carlsson, et T. Andlid. 2012. « The potential of bifidobacteria as a source of natural folate ». *Journal of Applied Microbiology* 112(5):975-84. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05261.x.
- Daims, Holger, Kilian Stoecker, et Michael Wagner. s. d. « Hybridation in situ en fluorescence pour la détection des procaryotes ». in *Écologie microbienne moléculaire*.
- D'Aldebert, Emilie, Marie–Jeanne Biyeyeme Bi Mve, Martine Mergey, Dominique Wendum, Delphine Firrincieli, Audrey Coilly, Laura Fouassier, Christophe Corpechot, Raoul Poupon, Chantal Housset, et Nicolas Chignard. 2009. « Bile Salts Control the Antimicrobial Peptide Cathelicidin Through Nuclear Receptors in the Human Biliary Epithelium ». *Gastroenterology* 136(4):1435-43. doi: 10.1053/j.gastro.2008.12.040.
- Dandrieux, Julien Rodolphe Samuel, et Caroline Sarah Mansfield. 2019. « Chronic Enteropathy In Canines: Prevalence, Impact And Management Strategies ». *Veterinary Medicine: Research and Reports* Volume 10:203-14. doi: 10.2147/VMRR.S162774.

- De Preter, Vicky, Ingrid Arijs, Karen Windey, Wiebe Vanhove, Severine Vermeire, Frans Schuit, Paul Rutgeerts, et Kristin Verbeke. 2012. « Impaired Butyrate Oxidation in Ulcerative Colitis Is Due to Decreased Butyrate Uptake and a Defect in the Oxidation Pathway ». *Inflammatory Bowel Diseases* 18(6):1127-36. doi: 10.1002/ibd.21894.
- De Smet, I., L. Van Hoorde, M. Vande Woestyne, H. Christiaens, et W. Verstraete. 1995. « Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli ». *Journal of Applied Bacteriology* 79(3):292-301. doi: 10.1111/j.1365-2672.1995.tb03140.x.
- de Aguiar Vallim, Thomas Q., Elizabeth J. Tarling, et Peter A. Edwards. 2013. « Pleiotropic Roles of Bile Acids in Metabolism ». *Cell Metabolism* 17(5):657-69. doi: 10.1016/j.cmet.2013.03.013.
- Denadai-Souza, Alexandre, Chrystelle Bonnart, Núria Solà Tapias, Marlène Marcellin, Brendan Gilmore, Laurent Alric, Delphine Bonnet, Odile Burlet-Schiltz, Morley D. Hollenberg, Nathalie Vergnolle, et Céline Deraison. 2018. « Functional Proteomic Profiling of Secreted Serine Proteases in Health and Inflammatory Bowel Disease ». *Scientific Reports* 8(1):7834. doi: 10.1038/s41598-018-26282-y.
- Deng, Ping, et Kelly S. Swanson. 2015. « Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges ». *British Journal of Nutrition* 113(S1):S6-17.
- Denison, Michael S., et Scott R. Nagy. 2003. « Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor by Structurally Diverse Exogenous and Endogenous Chemicals\* ». *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 43(Volume 43, 2003):309-34. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.135828.
- Deraison, Céline, Chrystelle Bonnart, Philippe Langella, Karine Roget, et Nathalie Vergnolle. 2023. « Elafin and Its Precursor Trappin-2: What Is Their Therapeutic Potential for Intestinal Diseases? ». *British Journal of Pharmacology* 180(2):144-60. doi: 10.1111/bph.15985.
- Derrien, Muriel, M. Carmen Collado, Kaouther Ben-Amor, Seppo Salminen, et Willem M. de Vos. 2008. « The Mucin Degradator *Akkermansia muciniphila* Is an Abundant Resident of the Human Intestinal Tract ». *Applied and Environmental Microbiology* 74(5):1646-48. doi: 10.1128/AEM.01226-07.
- Di Sebastiano, Pierluigi, Fabio F. di Mola, Luciano Artese, Cosmo Rossi, Giuseppe Mascetta, Heinz Perenthaler, et Paolo Innocenti. 2001. « Beneficial Effects of Batimastat (BB-94), a Matrix Metalloproteinase Inhibitor, in Rat Experimental Colitis ». *Digestion* 63(4):234-39. doi: 10.1159/000051895.
- Díaz-Regañón, David, Mercedes García-Sancho, Alejandra Villaescusa, Ángel Sainz, Beatriz Agulla, Mariana Reyes-Prieto, Antonio Rodríguez-Bertos, et Fernando Rodríguez-Franco. 2023. « Characterization of the Fecal and Mucosa-Associated Microbiota in Dogs with Chronic Inflammatory Enteropathy ». *Animals* 13(3):326. doi: 10.3390/ani13030326.
- Diene, Seydina M., Claire Bertelli, Trestan Pillonel, Jacques Schrenzel, et Gilbert Greub. 2014. « Génomique et métagénomique bactériennes : applications cliniques et importance médicale ». *Rev Med Suisse* 450:2155-61.
- Donohoe, Dallas R., Nikhil Garge, Xinxin Zhang, Wei Sun, Thomas M. O'Connell, Maureen K. Bunger, et Scott J. Bultman. 2011. « The Microbiome and Butyrate Regulate Energy Metabolism and Autophagy in the Mammalian Colon ». *Cell Metabolism* 13(5):517-26. doi: 10.1016/j.cmet.2011.02.018.

- Drannik, Anna G., Kakon Nag, Xiao-Dan Yao, Bethany M. Henrick, Sumiti Jain, T. Blake Ball, Francis A. Plummer, Charles Wachih, Joshua Kimani, et Kenneth L. Rosenthal. 2012. « Anti-HIV-1 Activity of Elafin Is More Potent than Its Precursor's, Trappin-2, in Genital Epithelial Cells ». *Journal of Virology* 86(8):4599-4610. doi: 10.1128/jvi.06561-11.
- Duerr, Richard H., Kent D. Taylor, Steven R. Brant, John D. Rioux, Mark S. Silverberg, Mark J. Daly, A. Hillary Steinhart, Clara Abraham, Miguel Regueiro, Anne Griffiths, Themistocles Dassopoulos, Alain Bitton, Huiying Yang, Stephan Targan, Lisa Wu Datta, Emily O. Kistner, L. Philip Schumm, Annette T. Lee, Peter K. Gregersen, M. Michael Barmada, Jerome I. Rotter, Dan L. Nicolae, et Judy H. Cho. 2006. « A Genome-Wide Association Study Identifies IL23R as an Inflammatory Bowel Disease Gene ». *Science* 314(5804):1461-63. doi: 10.1126/science.1135245.
- Dupouy-Manescau, Noémie, Tristan Méric, Odile Sénécat, Amandine Drut, Suzy Valentin, Rodolfo Oliveira Leal, et Juan Hernandez. 2024. « Updating the Classification of Chronic Inflammatory Enteropathies in Dogs ». *Animals* 14(5):681. doi: 10.3390/ani14050681.
- Duvergé, S., N. Santos, M. J. Dias, Hernandez J, et R. Leal. 2022. « The impact of diet reassessment in the medical management of Refractory Chronic Enteropathy in dogs-A retrospective multicentric study ». in *32st ECVIM-CA Congress*. Gothenburg, Sweden.
- Dye, T. I., K. j. Diehl, S. I. Wheeler, et D. s. Westfall. 2013. « Randomized, Controlled Trial of Budesonide and Prednisone for the Treatment of Idiopathic Inflammatory Bowel Disease in Dogs ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27(6):1385-91. doi: 10.1111/jvim.12195.
- Earley, Helen, Grainne Lennon, Áine Balfe, J. Calvin Coffey, Desmond C. Winter, et P. Ronan O'Connell. 2019. « The Abundance of Akkermansia Muciniphila and Its Relationship with Sulphated Colonic Mucins in Health and Ulcerative Colitis ». *Scientific Reports* 9(1):15683. doi: 10.1038/s41598-019-51878-3.
- Ebentier, Darcy L., Kaitlyn T. Hanley, Yiping Cao, Brian D. Badgley, Alexandria B. Boehm, Jared S. Ervin, Kelly D. Goodwin, Michèle Gourmelon, John F. Griffith, Patricia A. Holden, Catherine A. Kelty, Solen Lozach, Charles McGee, Lindsay A. Peed, Meredith Raith, Hodon Ryu, Michael J. Sadowsky, Elizabeth A. Scott, Jorge Santo Domingo, Alexander Schriewer, Christopher D. Sinigalliano, Orin C. Shanks, Laurie C. Van De Werfhorst, Dan Wang, Stefan Wuertz, et Jennifer A. Jay. 2013. « Evaluation of the repeatability and reproducibility of a suite of qPCR-based microbial source tracking methods ». *Water Research* 47(18):6839-48. doi: 10.1016/j.watres.2013.01.060.
- Ellero-Simatos, S., S. Claus, et H. Guillou. 2019. « La métabolomique : applications médicales ». *Médecine des Maladies Métaboliques* 13(3):263-67. doi: 10.1016/S1957-2557(19)30072-0.
- Enders, Giulia. 2015. *Le Charme discret de l'intestin (édition augmentée): Tout sur un organe mal aimé*. Actes Sud Littérature.
- Epe, C., G. Rehker, T. Schnieder, L. Lorentzen, et L. Kreienbrock. 2010. « Giardia chez les chiens et les chats symptomatiques en Europe – Résultats d'une étude européenne ». *Veterinary Parasitology* 173(1):32-38. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.06.015.
- Ericsson, Aaron C. 2019. « The Use of Non-Rodent Model Species in Microbiota Studies ». *Laboratory Animals* 53(3):259-70. doi: 10.1177/0023677219834593.
- Ferenczi, Szilamér, Krisztián Szegi, Zsuzsanna Winkler, Teréz Barna, et Krisztina J. Kovács. 2016. « Oligomannan Prebiotic Attenuates Immunological, Clinical and Behavioral Symptoms in

- Mouse Model of Inflammatory Bowel Disease ». *Scientific Reports* 6(1):34132. doi: 10.1038/srep34132.
- Fiorucci, Stefano, Andrea Mencarelli, Barbara Palazzetti, Eleonora Distrutti, Nathalie Vergnolle, Morley D. Hollenberg, John L. Wallace, Antonio Morelli, et Giuseppe Cirino. 2001. « Proteinase-activated receptor 2 is an anti-inflammatory signal for colonic lamina propria lymphocytes in a mouse model of colitis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(24):13936-41. doi: 10.1073/pnas.241377298.
- Fontani, Filippo, Vladana Domazetovic, Tommaso Marcucci, Maria Teresa Vincenzini, et Teresa Iantomasi. 2017. « MMPs, ADAMs and their natural inhibitors in inflammatory bowel disease: involvement of oxidative stress ».
- Fraher, Marianne H., Paul W. O'Toole, et Eamonn M. M. Quigley. 2012. « Techniques Used to Characterize the Gut Microbiota: A Guide for the Clinician ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 9(6):312-22. doi: 10.1038/nrgastro.2012.44.
- Frees, Dorte, Lone Brøndsted, et Hanne Ingmer. 2013. « Bacterial Proteases and Virulence ». P. 161-92 in *Regulated Proteolysis in Microorganisms*, édité par D. A. Dougan. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Freiche, V., et J. Hernandez. 2010. « Diarrhée ». *Gastro-entérologie canine et féline* 25-43. doi: 10.1016/B978-2-294-04925-5.50004-0.
- Gadaleta, Raffaella M., Karel J. van Erpecum, Bas Oldenburg, Ellen C. L. Willemsen, Willem Renooij, Stefania Murzilli, Leo W. J. Klomp, Peter D. Siersema, Marguerite E. I. Schipper, Silvio Danese, Giuseppe Penna, Gilles Laverny, Luciano Adorini, Antonio Moschetta, et Saskia W. C. van Mil. 2011. « Farnesoid X Receptor Activation Inhibits Inflammation and Preserves the Intestinal Barrier in Inflammatory Bowel Disease ». *Gut* 60(4):463-72. doi: 10.1136/gut.2010.212159.
- Gavazza, A., G. Rossi, G. Lubas, M. Cerquetella, Y. Minamoto, et J. S. Suchodolski. 2018. « Faecal Microbiota in Dogs with Multicentric Lymphoma ». *Veterinary and Comparative Oncology* 16(1):E169-75. doi: 10.1111/vco.12367.
- Ge, Xiaolong, Chao Ding, Wei Zhao, Lizhi Xu, Hongliang Tian, Jianfeng Gong, Minsheng Zhu, Jieshou Li, et Ning Li. 2017. « Antibiotics-Induced Depletion of Mice Microbiota Induces Changes in Host Serotonin Biosynthesis and Intestinal Motility ». *Journal of Translational Medicine* 15(1):13. doi: 10.1186/s12967-016-1105-4.
- German, A. J., E. J. Hall, et M. J. Day. 2003. « Chronic Intestinal Inflammation and Intestinal Disease in Dogs ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17(1):8-20. doi: 10.1111/j.1939-1676.2003.tb01318.x.
- Giannella, R. A., S. A. Broitman, et N. Zamcheck. 1972. « Compétition entre bactéries et facteur intrinsèque pour la vitamine B12: Implications pour la vitamine B12 Malabsorption dans la prolifération bactérienne intestinale ». *Gastroenterology* 62(2):255-60. doi: 10.1016/S0016-5085(72)80177-X.
- Giaretta, Paula R., Jan S. Suchodolski, Albert E. Jergens, Jörg M. Steiner, Jonathan A. Lidbury, Audrey K. Cook, Mohsen Hanifeh, Thomas Spillmann, Susanne Kilpinen, Pernilla Syrjä, et Raquel R. Rech. 2020. « Bacterial Biogeography of the Colon in Dogs With Chronic Inflammatory Enteropathy ». *Veterinary Pathology* 57(2):258-65. doi: 10.1177/0300985819891259.

- Giaretta, Paula Roberta. 2019. « Bile Acid Metabolism and Gastrointestinal Microbiota in Dogs with Chronic Inflammatory Enteropathy ». Thesis.
- Glanemann, Barbara, Yeon-Jung Seo, Simon L. Priestnall, Oliver A. Garden, Logan Kilburn, Mariana Rossoni-Serao, Sergi Segarra, Jonathan P. Mochel, et Karin Allenspach. 2021. « Clinical Efficacy of Prebiotics and Glycosaminoglycans versus Placebo In Dogs with Food Responsive Enteropathy Receiving a Hydrolyzed Diet: A Pilot Study ». *PLOS ONE* 16(10):e0250681. doi: 10.1371/journal.pone.0250681.
- Gobeli, Berset, A. Burgener, et Perreten. 2012. « Antimicrobial susceptibility of canine *Clostridium perfringens* strains from Switzerland ». *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 154(6):247-50. doi: 10.1024/0036-7281/a000340.
- Gong, Jianhua, Weiduo Si, Robert J. Forster, Ruilin Huang, Hai Yu, Yulong Yin, Chengbo Yang, et Yanming Han. 2007. « 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca ». *FEMS Microbiology Ecology* 59(1):147-57. doi: 10.1111/j.1574-6941.2006.00193.x.
- Gopal-Srivastava, R., et P. B. Hylemon. 1988. « Purification and characterization of bile salt hydrolase from *Clostridium perfringens*. » *Journal of Lipid Research* 29(8):1079-85. doi: 10.1016/S0022-2275(20)38464-9.
- Gostner, Johanna M., Simon Geisler, Marlies Stonig, Lisa Mair, Barbara Sperner-Unterweger, et Dietmar Fuchs. 2019. « Tryptophan Metabolism and Related Pathways in Psychoneuroimmunology: The Impact of Nutrition and Lifestyle ». *Neuropsychobiology* 79(1):89-99. doi: 10.1159/000496293.
- Gow, A. G., R. Else, H. Evans, J. L. Berry, M. E. Herrtage, et R. J. Mellanby. 2011. « Hypovitaminosis D in Dogs with Inflammatory Bowel Disease and Hypoalbuminaemia ». *Journal of Small Animal Practice* 52(8):411-18. doi: 10.1111/j.1748-5827.2011.01082.x.
- Guard, Blake C., James W. Barr, Lavanya Reddivari, Cory Klemashevich, Arul Jayaraman, Jörg M. Steiner, Jairam Vanamala, et Jan S. Suchodolski. 2015. « Characterization of Microbial Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea ». *PLOS ONE* 10(5):e0127259. doi: 10.1371/journal.pone.0127259.
- Guard, Blake C., Hanna Mila, Jörg M. Steiner, Claire Mariani, Jan S. Suchodolski, et Sylvie Chastant-Maillard. 2017. « Characterization of the Fecal Microbiome during Neonatal and Early Pediatric Development in Puppies ». *PLOS ONE* 12(4):e0175718. doi: 10.1371/journal.pone.0175718.
- Guetterman, Heather M., Samantha L. Huey, Rob Knight, Allison M. Fox, Saurabh Mehta, et Julia L. Finkelstein. 2022. « Vitamin B-12 and the Gastrointestinal Microbiome: A Systematic Review ». *Advances in Nutrition* 13(2):530-58. doi: 10.1093/advances/nmab123.
- Gutiérrez, Ana, Rubén Francés, Amparo Amorós, Pedro Zapater, Marta Garmendia, Moisés NDongo, Rocío Caño, Rodrigo Jover, José Such, et Miguel Pérez-Mateo. 2009. « Cytokine Association with Bacterial DNA in Serum of Patients with Inflammatory Bowel Disease ». *Inflammatory Bowel Diseases* 15(4):508-14. doi: 10.1002/ibd.20806.
- Gutiérrez, Ana, Ernst Holler, Pedro Zapater, Laura Sempere, Rodrigo Jover, Miguel Pérez-Mateo, Juergen Schoelmerich, José Such, Reiner Wiest, et Rubén Francés. 2011. « Antimicrobial peptide response to blood translocation of bacterial DNA in Crohn's disease is affected by NOD2/CARD15 genotype ». *Inflammatory Bowel Diseases* 17(8):1641-50. doi: 10.1002/ibd.21537.

- Haange, Sven-Bastiaan, et Nico Jehmlich. 2016. « Proteomic interrogation of the gut microbiota: potential clinical impact ». *Expert Review of Proteomics* 13(6):535-37. doi: 10.1080/14789450.2016.1190652.
- Hampe, Jochen, Andre Franke, Philip Rosenstiel, Andreas Till, Markus Teuber, Klaus Huse, Mario Albrecht, Gabriele Mayr, Francisco M. De La Vega, Jason Briggs, Simone Günther, Natalie J. Prescott, Clive M. Onnie, Robert Häsler, Bence Sipos, Ulrich R. Fölsch, Thomas Lengauer, Matthias Platzer, Christopher G. Mathew, Michael Krawczak, et Stefan Schreiber. 2007. « A Genome-Wide Association Scan of Nonsynonymous SNPs Identifies a Susceptibility Variant for Crohn Disease in ATG16L1 ». *Nature Genetics* 39(2):207-11. doi: 10.1038/ng1954.
- Handl, Stefanie, Scot E. Dowd, Jose F. Garcia-Mazcorro, Jörg M. Steiner, et Jan S. Suchodolski. 2011. « Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats ». *FEMS Microbiology Ecology* 76(2):301-10. doi: 10.1111/j.1574-6941.2011.01058.x.
- Handl, Stefanie, Alexander J. German, Shelley L. Holden, Scot E. Dowd, Jörg M. Steiner, Romy M. Heilmann, Ryan W. Grant, Kelly S. Swanson, et Jan S. Suchodolski. 2013. « Faecal microbiota in lean and obese dogs ». *FEMS Microbiology Ecology* 84(2):332-43. doi: 10.1111/1574-6941.12067.
- Hang, Ingrid, Teemu Rinttilä, Jürgen Zentek, Anu Kettunen, Susanna Alaja, Juha Apajalahti, Jaana Harmoinen, Willem M. de Vos, et Thomas Spillmann. 2012. « Effect of high contents of dietary animal-derived protein or carbohydrates on canine faecal microbiota ». *BMC Veterinary Research* 8(1):90. doi: 10.1186/1746-6148-8-90.
- Hanifeh, Mohsen, Minna Marjaana Rajamäki, Pernilla Syrjä, Laura Mäkitalo, Susanne Kilpinen, et Thomas Spillmann. 2018. « Identification of Matrix Metalloproteinase-2 and -9 Activities within the Intestinal Mucosa of Dogs with Chronic Enteropathies ». *Acta Veterinaria Scandinavica* 60(1):16. doi: 10.1186/s13028-018-0371-y.
- Harish, B. S., et Kiran Babu Uppuluri. 2018. « Microbial serine protease inhibitors and their therapeutic applications ». *International Journal of Biological Macromolecules* 107:1373-87. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.09.115.
- Hedin, Charlotte R. H., Miriam Mullard, Elizabeth Sharratt, Clare Jansen, Jeremy D. Sanderson, Penelope Shirlaw, Leslie C. Howe, Serpil Djemal, Andrew J. Stagg, James O. Lindsay, et Kevin Whelan. 2010. « Probiotic and prebiotic use in patients with inflammatory bowel disease: A case-control study† ». *Inflammatory Bowel Diseases* 16(12):2099-2108. doi: 10.1002/ibd.21286.
- Heilmann, Romy M., et Jörg M. Steiner. 2018. « Clinical Utility of Currently Available Biomarkers in Inflammatory Enteropathies of Dogs ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32(5):1495-1508. doi: 10.1111/jvim.15247.
- Hemida, Manal, Kristiina A. Vuori, Robin Moore, Johanna Anturaniemi, et Anna Hielm-Björkman. 2021. « Early Life Modifiable Exposures and Their Association With Owner Reported Inflammatory Bowel Disease Symptoms in Adult Dogs ». *Frontiers in Veterinary Science* 8:552350. doi: 10.3389/fvets.2021.552350.
- Hermant, Bastien, Stéphanie Bibert, Evelyne Concord, Bernard Dublet, Marianne Weidenhaupt, Thierry Vernet, et Danielle Gulino-Debrac. 2003. « Identification of Proteases Involved in the Proteolysis of Vascular Endothelium Cadherin during Neutrophil Transmigration \* ». *Journal of Biological Chemistry* 278(16):14002-12. doi: 10.1074/jbc.M300351200.



- Hernandez, Juan. 2020. « Expression des récepteurs Toll-Like dans la muqueuse intestinale et évaluation de l'immunoréactivité antimicrobienne chez les chiens atteints de Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin ». PhD Thesis, Nantes, Ecole nationale vétérinaire.
- Hernandez, Juan, Soufien Rhimi, Aicha Kriaa, Vincent Mariaule, Houda Boudaya, Amandine Drut, Amin Jablaoui, Héra Mkaouar, Amel Saidi, et Vincent Biourge. 2022. « Domestic environment and gut microbiota: lessons from pet dogs ». *Microorganisms* 10(5):949.
- Heutinck, Kirstin M., Ineke J. M. ten Berge, C. Erik Hack, Jörg Hamann, et Ajda T. Rowshani. 2010. « Serine proteases of the human immune system in health and disease ». *Molecular Immunology* 47(11):1943-55. doi: 10.1016/j.molimm.2010.04.020.
- Hillmann, Benjamin, Gabriel A. Al-Ghalith, Robin R. Shields-Cutler, Qiyun Zhu, Daryl M. Gohl, Kenneth B. Beckman, Rob Knight, et Dan Knights. 2018. « Evaluating the Information Content of Shallow Shotgun Metagenomics ». *mSystems* 3(6):10.1128/msystems.00069-18. doi: 10.1128/msystems.00069-18.
- Hofmann, Alan F. 1999. « The Continuing Importance of Bile Acids in Liver and Intestinal Disease ». *Archives of Internal Medicine* 159(22):2647-58. doi: 10.1001/archinte.159.22.2647.
- Hofmann, Alan F., et J. Rainer Poley. 1972. « Role of Bile Acid Malabsorption in Pathogenesis of Diarrhea and Steatorrhea in Patients with Ileal Resection: I. Response to cholestyramine or replacement of dietary long chain triglyceride by medium chain triglyceride ». *Gastroenterology* 62(5):918-34. doi: 10.1016/S0016-5085(72)80109-4.
- Honneffer, Julia B., Yasushi Minamoto, et Jan S. Suchodolski. 2014. « Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 20(44):16489-97. doi: 10.3748/wjg.v20.i44.16489.
- Honneffer, Julia B., Jörg M. Steiner, Jonathan A. Lidbury, et Jan S. Suchodolski. 2017. « Variation of the Microbiota and Metabolome along the Canine Gastrointestinal Tract ». *Metabolomics* 13(3):26. doi: 10.1007/s11306-017-1165-3.
- Hoy, Benjamin, Martin Löwer, Christiane Weydig, Gert Carra, Nicole Tegtmeyer, Tim Geppert, Peter Schröder, Norbert Sewald, Steffen Backert, Gisbert Schneider, et Silja Wessler. 2010. « Helicobacter pylori HtrA is a new secreted virulence factor that cleaves E-cadherin to disrupt intercellular adhesion ». *EMBO reports* 11(10):798-804. doi: 10.1038/embor.2010.114.
- Hugot, Jean-Pierre, Mathias Chamaillard, Habib Zouali, Suzanne Lesage, Jean-Pierre Cézard, Jacques Belaiche, Sven Almer, Curt Tysk, Colm A. O'Morain, Miquel Gassull, Vibeke Binder, Yigael Finkel, Antoine Cortot, Robert Modigliani, Pierre Laurent-Puig, Corine Gower-Rousseau, Jeanne Macry, Jean-Frédéric Colombel, Mourad Sahbatou, et Gilles Thomas. 2001. « Association of NOD2 Leucine-Rich Repeat Variants with Susceptibility to Crohn's Disease ». *Nature* 411(6837):599-603. doi: 10.1038/35079107.
- Igarashi, Hirotaka, Shingo Maeda, Koichi Ohno, Ayako Horigome, Toshitaka Odamaki, et Hajime Tsujimoto. 2014. « Effect of Oral Administration of Metronidazole or Prednisolone on Fecal Microbiota in Dogs ». *PLOS ONE* 9(9):e107909. doi: 10.1371/journal.pone.0107909.
- Inagaki, Takeshi, Antonio Moschetta, Youn-Kyoung Lee, Li Peng, Guixiang Zhao, Michael Downes, Ruth T. Yu, John M. Shelton, James A. Richardson, Joyce J. Repa, David J. Mangelsdorf, et Steven A. Kliewer. 2006. « Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile

- acid receptor ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(10):3920-25. doi: 10.1073/pnas.0509592103.
- Inness, V. L., A. L. McCartney, C. Khoo, K. L. Gross, et G. R. Gibson. 2007. « Molecular Characterisation of the Gut Microflora of Healthy and Inflammatory Bowel Disease Cats Using Fluorescence in Situ Hybridisation with Special Reference to *Desulfovibrio* Spp. » *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 91(1-2):48-53. doi: 10.1111/j.1439-0396.2006.00640.x.
- Innocente, Giada, Ilaria Patuzzi, Tommaso Furlanello, Barbara Di Camillo, Luca Bargelloni, Maria Cecilia Giron, Sonia Facchin, Edoardo Savarino, Mirko Azzolin, et Barbara Simionati. 2022. « Machine Learning and Canine Chronic Enteropathies: A New Approach to Investigate FMT Effects ». *Veterinary Sciences* 9(9):502. doi: 10.3390/vetsci9090502.
- Irving, James A., Peter J. M. Steenbakkers, Arthur M. Lesk, Huub J. M. Op den Camp, Robert N. Pike, et James C. Whisstock. 2002. « Serpins in Prokaryotes ». *Molecular Biology and Evolution* 19(11):1881-90. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004012.
- Isaiah, Anitha. 2018. « *Clostridium Hiranonis*, a Bile Acid 7 $\alpha$ -Dehydroxylating Bacterium in Dogs ». Thesis.
- Isozaki, Yutaka, Norimasa Yoshida, Masaaki Kuroda, Osamu Handa, Tomohisa Takagi, Satoshi Kokura, Hiroshi Ichikawa, Yuji Naito, Takeshi Okanou, et Toshikazu Yoshikawa. 2006. « Anti-tryptase treatment using nafamostat mesilate has a therapeutic effect on experimental colitis ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 41(8):944-53. doi: 10.1080/00365520500529470.
- Ivanov, Dmitri, Celine Emonet, Francis Foata, Michael Affolter, Michelle Delley, Makda Fisseha, Stephanie Blum-Sperisen, Sunil Kochhar, et Fabrizio Arigoni. 2006. « A Serpin from the Gut Bacterium *Bifidobacterium Longum* Inhibits Eukaryotic Elastase-like Serine Proteases \* ». *Journal of Biological Chemistry* 281(25):17246-52. doi: 10.1074/jbc.M601678200.
- Jablaoui, Amin, Aicha Kriaa, H la Mkaouar, Nizar Akermi, Souha Soussou, Magdalena Wysocka, Dominika Wołoszyn, Ali Amouri, Ali Gargouri, Emmanuelle Maguin, Adam Lesner, et Moez Rhimi. 2020. « Fecal Serine Protease Profiling in Inflammatory Bowel Diseases ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 10:21. doi: 10.3389/fcimb.2020.00021.
- Jablonski Wennogle, S. A., J. Stockman, et C. B. Webb. 2021. « Prospective Evaluation of a Change in Dietary Therapy in Dogs with Steroid-Resistant Protein-Losing Enteropathy ». *Journal of Small Animal Practice* 62(9):756-64. doi: 10.1111/jsap.13334.
- Jarocki, Piotr, et Zdzisław Targoński. 2013. « Genetic Diversity of Bile Salt Hydrolases Among Human Intestinal *Bifidobacteria* ». *Current Microbiology* 67(3):286-92. doi: 10.1007/s00284-013-0362-1.
- Jensen, Anders P., et Charlotte R. Bj rnvad. 2019. « Clinical Effect of Probiotics in Prevention or Treatment of Gastrointestinal Disease in Dogs: A Systematic Review ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(5):1849-64. doi: 10.1111/jvim.15554.
- Jergens, A. e., J. Crandell, J. a. Morrison, K. Deitz, M. Pressel, M. Ackermann, J. s. Suchodolski, J. m. Steiner, et R. Evans. 2010. « Comparison of Oral Prednisone and Prednisone Combined with Metronidazole for Induction Therapy of Canine Inflammatory Bowel Disease: A Randomized-Controlled Trial ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24(2):269-77. doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0447.x.

- Jergens, Albert E., C. Alan Schreiner, Dagmar E. Frank, Yosiya Niyo, Franklin E. Ahrens, P. d. Eckersall, Tammy J. Benson, et Richard Evans. 2003. « A Scoring Index for Disease Activity in Canine Inflammatory Bowel Disease ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17(3):291-97. doi: 10.1111/j.1939-1676.2003.tb02450.x.
- Jian, Ching, Panu Luukkonen, Hannele Yki-Järvinen, Anne Salonen, et Katri Korpela. 2020. « Quantitative PCR provides a simple and accessible method for quantitative microbiota profiling ». *PLoS ONE* 15(1):e0227285. doi: 10.1371/journal.pone.0227285.
- Johnston, Karen L., Anne I. Lamport, Olivier P. Ballèvre, et Roger M. Batt. 2000. « Effects of Oral Administration of Metronidazole on Small Intestinal Bacteria and Nutrients of Cats ». *American Journal of Veterinary Research* 61(9):1106-12. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.1106.
- Kalla, R., A. T. Adams, D. Bergemalm, S. Vatn, N. A. Kennedy, P. Ricanek, J. Lindstrom, A. Ocklind, F. Hjelm, N. T. Ventham, G. T. Ho, C. Petren, D. Repsilber, J. Söderholm, M. Pierik, M. D'Amato, F. Gomollón, C. Olbjorn, J. Jahnsen, M. H. Vatn, J. Halfvarson, J. Satsangi, et IBD-Character Consortium. 2021. « Serum proteomic profiling at diagnosis predicts clinical course, and need for intensification of treatment in inflammatory bowel disease ». *Journal of Crohn's and Colitis* 15(5):699-708. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjaa230.
- Kaplan, Gilaad G. 2015. « The Global Burden of IBD: From 2015 to 2025 ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 12(12):720-27. doi: 10.1038/nrgastro.2015.150.
- Kapsoritakis, Andreas N., Anastasia I. Kapsoritaki, Ioanna P. Davidi, Vasilios D. Lotis, Anastasios C. Manolakis, Petros I. Mylonis, Aikaterini T. Theodoridou, Anastasios E. Germenis, et Spyros P. Potamianos. 2008. « Imbalance of Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMP) – 1 and – 4 Serum Levels, in Patients with Inflammatory Bowel Disease ». *BMC Gastroenterology* 8(1):55. doi: 10.1186/1471-230X-8-55.
- Kaser, Arthur, Eduardo Martínez-Naves, et Richard S. Blumberg. 2010. « Endoplasmic reticulum stress: implications for inflammatory bowel disease pathogenesis ». *Current opinion in gastroenterology* 26(4):318-26. doi: 10.1097/MOG.0b013e32833a9ff1.
- Kathrani, A., H. Lee, C. White, B. Catchpole, A. Murphy, A. German, D. Werling, et K. Allenspach. 2014. « Association between nucleotide oligomerisation domain two (Nod2) gene polymorphisms and canine inflammatory bowel disease ». *Veterinary Immunology and Immunopathology* 161(1):32-41. doi: 10.1016/j.vetimm.2014.06.003.
- Kathrani, A., D. Werling, et K. Allenspach. 2011. « Canine Breeds at High Risk of Developing Inflammatory Bowel Disease in the South-eastern UK ». *Veterinary Record* 169(24):635-635. doi: 10.1136/vr.d5380.
- Kathrani, Aarti, Karin Allenspach, Andrea J. Fascetti, Jennifer A. Larsen, et Edward J. Hall. 2018. « Alterations in Serum Amino Acid Concentrations in Dogs with Protein-Losing Enteropathy ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32(3):1026-32. doi: 10.1111/jvim.15116.
- Kathrani, Aarti, Arthur House, Brian Catchpole, Angela Murphy, Alex German, Dirk Werling, et Karin Allenspach. 2010. « Polymorphisms in the Tlr4 and Tlr5 Gene Are Significantly Associated with Inflammatory Bowel Disease in German Shepherd Dogs ». *PLOS ONE* 5(12):e15740. doi: 10.1371/journal.pone.0015740.
- Keating, Niamh, et Stephen J. Keely. 2009. « Bile Acids in Regulation of Intestinal Physiology ». *Current Gastroenterology Reports* 11(5):375-82. doi: 10.1007/s11894-009-0057-8.

- Khor, Bernard, Agnès Gardet, et Ramnik J. Xavier. 2011. « Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease ». *Nature* 474(7351):307-17. doi: 10.1038/nature10209.
- Kim, Jisun, et Woojun Park. 2015. « Indole: A Signaling Molecule or a Mere Metabolic Byproduct That Alters Bacterial Physiology at a High Concentration? » *Journal of Microbiology* 53(7):421-28. doi: 10.1007/s12275-015-5273-3.
- Koelink, Pim J., Saskia A. Overbeek, Saskia Braber, Mary E. Morgan, Paul A. J. Henricks, Mojtaba Abdul Roda, Hein W. Verspaget, Simone C. Wolfkamp, Anje A. te Velde, Caleb W. Jones, Patricia L. Jackson, J. Edwin Blalock, Rolf W. Sparidans, John A. W. Kruijtzter, Johan Garssen, Gert Folkerts, et Aletta D. Kraneveld. 2014. « Collagen Degradation and Neutrophilic Infiltration: A Vicious Circle in Inflammatory Bowel Disease ». *Gut* 63(4):578-87. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303252.
- Kok, Tineke, Christian V. Hulzebos, Henk Wolters, Rick Havinga, Luis B. Agellon, Frans Stellaard, Bei Shan, Margrit Schwarz, et Folkert Kuipers. 2003. « Enterohepatic Circulation of Bile Salts in Farnesoid X Receptor-Deficient Mice: EFFICIENT INTESTINAL BILE SALT ABSORPTION IN THE ABSENCE OF ILEAL BILE ACID-BINDING PROTEIN \* ». *Journal of Biological Chemistry* 278(43):41930-37. doi: 10.1074/jbc.M306309200.
- Kondo, Nobuyuki, Minetaro Ogawa, Hiromi Wada, et Shin-Ichi Nishikawa. 2009. « Thrombin induces rapid disassembly of claudin-5 from the tight junction of endothelial cells ». *Experimental Cell Research* 315(17):2879-87. doi: 10.1016/j.yexcr.2009.07.031.
- Kong, Wuyi, Karen McConalogue, Lev M. Khitin, Morley D. Hollenberg, Donald G. Payan, Stephan K. Böhm, et Nigel W. Bunnett. 1997. « Luminal trypsin may regulate enterocytes through proteinase-activated receptor 2 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94(16):8884-89. doi: 10.1073/pnas.94.16.8884.
- Kriaa, Aicha, Amin Jablaoui, Héra Mkaouar, Nizar Akermi, Emmanuelle Maguin, et Moez Rhimi. 2020. « Serine Proteases at the Cutting Edge of IBD: Focus on Gastrointestinal Inflammation ». *The FASEB Journal* 34(6):7270-82. doi: 10.1096/fj.202000031RR.
- Kriaa, Aicha, Vincent Mariaule, Amin Jablaoui, Soufien Rhimi, Hela Mkaouar, Juan Hernandez, Brice Korkmaz, Adam Lesner, Emmanuelle Maguin, Ali Aghdassi, et Moez Rhimi. 2022. « Bile Acids: Key Players in Inflammatory Bowel Diseases? » *Cells* 11(5):901. doi: 10.3390/cells11050901.
- Ksiazek, Miroslaw, Danuta Mizgalska, Jan J. Enghild, Carsten Scavenius, Ida B. Thogersen, et Jan Potempa. 2015. « Miropin, a Novel Bacterial Serpin from the Periodontopathogen Tannerella Forsythia, Inhibits a Broad Range of Proteases by Using Different Peptide Bonds within the Reactive Center Loop \* ». *Journal of Biological Chemistry* 290(1):658-70. doi: 10.1074/jbc.M114.601716.
- Kumari, Reena, Vineet Ahuja, et Jaishree Paul. 2013. « Fluctuations in butyrate-producing bacteria in ulcerative colitis patients of North India ». *World Journal of Gastroenterology: WJG* 19(22):3404-14. doi: 10.3748/wjg.v19.i22.3404.
- Kurina, Irina, Anna Popenko, Natalia Klimenko, Stanislav Koshechkin, Liubov Chuprikova, Maxim Filipenko, Alexander Tyakht, et Dmitry Alexeev. 2020. « Development of qPCR platform with probes for quantifying prevalent and biomedically relevant human gut microbial taxa ». *Molecular and Cellular Probes* 52:101570. doi: 10.1016/j.mcp.2020.101570.
- Kwong, Tsz Ching, Eddie Chung Ting Chau, Mark Chi Ho Mak, Chi Tung Choy, Lee Tung Chan, Chun Keung Pang, Junwei Zhou, Phoebe Hoi Ching Poon, Yuqiong Guan, Stephen Kwok Wing Tsui, Shun Wan

- Chan, George Pak Heng Leung, William Chi Shing Tai, et Yiu Wa Kwan. 2023. « Characterization of the Gut Microbiome in Healthy Dogs and Dogs with Diabetes Mellitus ». *Animals* 13(15):2479. doi: 10.3390/ani13152479.
- Larionova, N. I., I. P. Gladysheva, T. V. Tikhonova, et N. F. Kazanskaia. 1993. « [Inhibition of cathepsin G and elastase from human granulocytes by multiple forms of the Bowman-Birk type of soy inhibitor] ». *Biokhimiia (Moscow, Russia)* 58(9):1437-44.
- Larionova, Natalia I., Inna P. Gladysheva, et Dimitri P. Gladyshev. 1997. « Human leukocyte elastase inhibition by Bowman-Birk soybean inhibitor: Discrimination of the inhibition mechanisms ». *FEBS Letters* 404(2):245-48. doi: 10.1016/S0014-5793(97)00089-6.
- Laurell, Axel, et Klas Sjöberg. 2017. « Prebiotics and synbiotics in ulcerative colitis ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 52(4):477-85. doi: 10.1080/00365521.2016.1263680.
- Law, Ruby HP, Qingwei Zhang, Sheena McGowan, Ashley M. Buckle, Gary A. Silverman, Wilson Wong, Carlos J. Rosado, Chris G. Langendorf, Rob N. Pike, Philip I. Bird, et James C. Whisstock. 2006. « An overview of the serpin superfamily ». *Genome Biology* 7(5):216. doi: 10.1186/gb-2006-7-5-216.
- LeBlanc, Jean Guy, Christian Milani, Graciela Savoy de Giori, Fernando Sesma, Douwe van Sinderen, et Marco Ventura. 2013. « Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective ». *Current Opinion in Biotechnology* 24(2):160-68. doi: 10.1016/j.copbio.2012.08.005.
- Lee, Jin-Hyung, et Jintae Lee. 2010. « Indole as an intercellular signal in microbial communities ». *FEMS Microbiology Reviews* 34(4):426-44. doi: 10.1111/j.1574-6976.2009.00204.x.
- Lenski, Marie, Clément Bruno, François Darrouzain, et Delphine Allorge. 2023. « Métabolomique : principes et applications en toxicologie biologique et médicolégale ». *Toxicologie Analytique et Clinique* 35(2):96-112. doi: 10.1016/j.toxac.2023.01.002.
- Lescuyer, Pierre, Mireille Chevallet, et Thierry Rabilloud. 2004. « L'analyse protéomique : concepts, réalités et perspectives en thérapeutique ». *M/S : médecine sciences* 20(5):587-92.
- Leser, Thomas D., Joanna Z. Amenuvor, Tim K. Jensen, Rikke H. Lindecrona, Mette Boye, et Kristian Møller. 2002. « Culture-Independent Analysis of Gut Bacteria: the Pig Gastrointestinal Tract Microbiota Revisited ». *Applied and Environmental Microbiology* 68(2):673-90. doi: 10.1128/AEM.68.2.673-690.2002.
- Ley, Ruth E., Fredrik Bäckhed, Peter Turnbaugh, Catherine A. Lozupone, Robin D. Knight, et Jeffrey I. Gordon. 2005. « Obesity alters gut microbial ecology ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(31):11070-75. doi: 10.1073/pnas.0504978102.
- Ley, Ruth E., Peter J. Turnbaugh, Samuel Klein, et Jeffrey I. Gordon. 2006. « Human Gut Microbes Associated with Obesity ». *Nature* 444(7122):1022-23. doi: 10.1038/4441022a.
- Li, Meng, Betty C. A. M. van Esch, Gerry T. M. Wagenaar, Johan Garssen, Gert Folkerts, et Paul A. J. Henricks. 2018. « Pro- and anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on immune and endothelial cells ». *European Journal of Pharmacology* 831:52-59. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.05.003.

- Li, Xiaojing, Binbin Zhang, Yiyang Hu, et Yu Zhao. 2021. « New insights into gut-bacteria-derived indole and its derivatives in intestinal and liver diseases ». *Frontiers in Pharmacology* 12:769501.
- Linares, Raquel, Rubén Francés, Ana Gutiérrez, et Oriol Juanola. 2021. « Bacterial Translocation as Inflammatory Driver in Crohn's Disease ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9. doi: 10.3389/fcell.2021.703310.
- Louis, E., C. Ribbens, A. Godon, D. Franchimont, D. De Groot, N. Hardy, J. Boniver, J. Belaiche, et M. Malaise. 2000. « Increased production of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by inflamed mucosa in inflammatory bowel disease ». *Clinical and Experimental Immunology* 120(2):241-46. doi: 10.1046/j.1365-2249.2000.01227.x.
- Louis, Petra, et Harry J. Flint. 2009. « Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine ». *FEMS Microbiology Letters* 294(1):1-8. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01514.x.
- Macfarlane, G. T., C. Allison, S. a. W. Gibson, et J. H. Cummings. 1988. « Contribution of the Microflora to Proteolysis in the Human Large Intestine ». *Journal of Applied Bacteriology* 64(1):37-46. doi: 10.1111/j.1365-2672.1988.tb02427.x.
- Macfarlane, G. T., J. H. Cummings, et C. Allison. 1986. « Protein Degradation by Human Intestinal Bacteria ». *Microbiology* 132(6):1647-56. doi: 10.1099/00221287-132-6-1647.
- Maeda, Shingo, Koichi Ohno, Kazuyuki Uchida, Hirotaka Igarashi, Yuko Goto-Koshino, Yasuhito Fujino, et Hajime Tsujimoto. 2014. « Intestinal protease-activated receptor-2 and fecal serine protease activity are increased in canine inflammatory bowel disease and may contribute to intestinal cytokine expression ». *Journal of Veterinary Medical Science* 76(8):1119-27.
- Magnúsdóttir, Stefanía, Dmitry Ravcheev, Valérie de Crécy-Lagard, et Ines Thiele. 2015. « Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes ». *Frontiers in Genetics* 6.
- Maharshak, Nitsan, Eun Young Huh, Chorlada Paiboonrungruang, Michael Shanahan, Lance Thurlow, Jeremy Herzog, Zorka Djukic, Roy Orlando, Rafal Pawlinski, Melissa Ellermann, Luke Borst, Siten Patel, Iris Dotan, Ryan B. Sartor, et Ian M. Carroll. 2015. « Enterococcus faecalis Gelatinase Mediates Intestinal Permeability via Protease-Activated Receptor 2 ». *Infection and Immunity* 83(7):2762-70. doi: 10.1128/iai.00425-15.
- Manchester, Alison C., Belgin Dogan, Yongli Guo, et Kenneth W. Simpson. 2021. « Escherichia Coli-Associated Granulomatous Colitis in Dogs Treated According to Antimicrobial Susceptibility Profiling ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 35(1):150-61. doi: 10.1111/jvim.15995.
- Manchester, Alison C., Craig B. Webb, Amanda B. Blake, Fatima Sarwar, Jonathan A. Lidbury, Jörg M. Steiner, et Jan S. Suchodolski. 2019. « Long-Term Impact of Tylosin on Fecal Microbiota and Fecal Bile Acids of Healthy Dogs ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(6):2605-17. doi: 10.1111/jvim.15635.
- Mao, Tangyou, Chien-Wen Su, Qiaorong Ji, Chih-Yu Chen, Rongjun Wang, Deepak Vijaya Kumar, Jिंगgang Lan, Lefei Jiao, et Hai Ning Shi. 2021. « Hyaluronan-Induced Alterations of the Gut Microbiome Protects Mice against Citrobacter Rodentium Infection and Intestinal Inflammation ». *Gut Microbes*.

- Mariaule, Vincent, Aicha Kriaa, Souha Soussou, Soufien Rhimi, Houda Boudaya, Juan Hernandez, Emmanuelle Maguin, Adam Lesner, et Moez Rhimi. 2021. « Digestive inflammation: role of proteolytic dysregulation ». *International Journal of Molecular Sciences* 22(6):2817.
- Mariencheck, William I., John F. Alcorn, Scott M. Palmer, et Jo Rae Wright. 2003. « Pseudomonas aeruginosa Elastase Degrades Surfactant Proteins A and D ». *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 28(4):528-37. doi: 10.1165/rcmb.2002-0141OC.
- Marshall, Derek C., Susan K. Lyman, Scott McCauley, Maria Kovalenko, Rhyannon Spangler, Chian Liu, Michael Lee, Christopher O'Sullivan, Vivian Barry-Hamilton, Haben Ghermazien, Amanda Mikels-Vigdal, Carlos A. Garcia, Brett Jorgensen, Arleene C. Velayo, Ruth Wang, Joanne I. Adamkewicz, et Victoria Smith. 2015. « Selective Allosteric Inhibition of MMP9 Is Efficacious in Preclinical Models of Ulcerative Colitis and Colorectal Cancer ». *PLOS ONE* 10(5):e0127063. doi: 10.1371/journal.pone.0127063.
- Masuda, Noriyuki. 1981. « Deconjugation of Bile Salts by Bacteroides and Clostridium ». *Microbiology and Immunology* 25(1):1-11. doi: 10.1111/j.1348-0421.1981.tb00001.x.
- Matsumoto, Takehisa, et Mitsutoshi Sugano. 2013. « [16S rRNA gene sequence analysis for bacterial identification in the clinical laboratory] ». *Rinsho Byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology* 61(12):1107-15.
- Matsuno, Keiki, Yasushi Adachi, Hiroyuki Yamamoto, Akira Goto, Yoshiaki Arimura, Takao Endo, Fumio Itoh, et Kohzoh Imai. 2003. « The Expression of Matrix Metalloproteinase Matrilysin Indicates the Degree of Inflammation in Ulcerative Colitis ». *Journal of Gastroenterology* 38(4):348-54. doi: 10.1007/s005350300062.
- Meijer, M. J. W., M. A. C. Mieremet-Ooms, A. M. van der Zon, W. van Duijn, R. A. van Hogezaand, C. F. M. Sier, D. W. Hommes, C. B. H. W. Lamers, et H. W. Verspaget. 2007. « Increased mucosal matrix metalloproteinase-1, -2, -3 and -9 activity in patients with inflammatory bowel disease and the relation with Crohn's disease phenotype ». *Digestive and Liver Disease* 39(8):733-39. doi: 10.1016/j.dld.2007.05.010.
- Mellanby, R. J., P. J. Mellor, A. Roulois, E. A. Baines, A. P. Mee, J. L. Berry, et M. E. Herrtage. 2005. « Hypocalcaemia Associated with Low Serum Vitamin D Metabolite Concentrations in Two Dogs with Protein-Losing Enteropathies ». *Journal of Small Animal Practice* 46(7):345-51. doi: 10.1111/j.1748-5827.2005.tb00331.x.
- Mentula, Silja, Jaana Harmoinen, Matti Heikkilä, Elias Westermarck, Merja Rautio, Pentti Huovinen, et Eija Könönen. 2005. « Comparison between Cultured Small-Intestinal and Fecal Microbiotas in Beagle Dogs ». *Applied and Environmental Microbiology* 71(8):4169-75. doi: 10.1128/AEM.71.8.4169-4175.2005.
- Menzel, K., M. Hausmann, F. Obermeier, K. Schreiter, N. Dunger, F. Bataille, W. Falk, J. Scholmerich, H. Herfarth, et G. Rogler. 2006. « Cathepsins B, L and D in inflammatory bowel disease macrophages and potential therapeutic effects of cathepsin inhibition in vivo ». *Clinical and Experimental Immunology* 146(1):169-80. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03188.x.
- van de Merwe, J. P., et G. J. J. Mol. 2009. « Levels of Trypsin and  $\alpha$ -Chymotrypsin in Feces from Patients with Crohn's Disease ». *Digestion* 24(1):1-4. doi: 10.1159/000198767.
- Metidji, Amina, Sara Omenetti, Stefania Crotta, Ying Li, Emma Nye, Ellie Ross, Vivian Li, Muralidhara R. Maradana, Chris Schiering, et Brigitta Stockinger. 2018. « The Environmental Sensor AHR

- Protects from Inflammatory Damage by Maintaining Intestinal Stem Cell Homeostasis and Barrier Integrity ». *Immunity* 49(2):353-362.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2018.07.010.
- Middelbos, Ingmar S., Brittany M. Vester Boler, Ani Qu, Bryan A. White, Kelly S. Swanson, et George C. Fahey Jr. 2010. « Phylogenetic Characterization of Fecal Microbial Communities of Dogs Fed Diets with or without Supplemental Dietary Fiber Using 454 Pyrosequencing ». *PLOS ONE* 5(3):e9768. doi: 10.1371/journal.pone.0009768.
- Midtvedt, Tore, Eugene Zabarovsky, Elisabeth Norin, Johan Bark, Rinat Gizatullin, Vladimir Kashuba, Olle Ljungqvist, Veronika Zabarovska, Roland Möllby, et Ingemar Ernberg. 2013. « Increase of Faecal Tryptic Activity Relates to Changes in the Intestinal Microbiome: Analysis of Crohn's Disease with a Multidisciplinary Platform ». *PLOS ONE* 8(6):e66074. doi: 10.1371/journal.pone.0066074.
- Minamoto, Yasushi, Tomomi Minamoto, Anitha Isaiah, Panpicha Sattasathuchana, Agostino Buono, Venkat R. Rangachari, Isaac H. McNeely, Jonathan Lidbury, Jörg M. Steiner, et Jan S. Suchodolski. 2019. « Fecal Short-Chain Fatty Acid Concentrations and Dysbiosis in Dogs with Chronic Enteropathy ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(4):1608-18. doi: 10.1111/jvim.15520.
- Mkaouar, Héla, Nizar Akermi, Vincent Mariaule, Samira Boudebouze, Nadia Gaci, Florette Szukala, Nicolas Pons, Josan Marquez, Ali Gargouri, Emmanuelle Maguin, et Moez Rhimi. 2016. « Siropins, Novel Serine Protease Inhibitors from Gut Microbiota Acting on Human Proteases Involved in Inflammatory Bowel Diseases ». *Microbial Cell Factories* 15(1):201. doi: 10.1186/s12934-016-0596-2.
- Mkaouar, Héla, Vincent Mariaule, Soufien Rhimi, Juan Hernandez, Aicha Kriaa, Amin Jablaoui, Nizar Akermi, Emmanuelle Maguin, Adam Lesner, et Brice Korkmaz. 2021. « Gut serpinome: Emerging evidence in IBD ». *International Journal of Molecular Sciences* 22(11):6088.
- Mollet, Christophe, Michel Drancourt, et Didier Raoult. 1997. « rpoB Sequence Analysis as a Novel Basis for Bacterial Identification ». *Molecular Microbiology* 26(5):1005-11. doi: 10.1046/j.1365-2958.1997.6382009.x.
- Monteleone, Ivan, Massimo Federici, Massimiliano Sarra, Eleonora Franzè, Viviana Casagrande, Francesca Zorzi, Michele Cavalera, Angelamaria Rizzo, Renato Lauro, Francesco Pallone, Thomas T. MacDonald, et Giovanni Monteleone. 2012. « Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-3 Regulates Inflammation in Human and Mouse Intestine ». *Gastroenterology* 143(5):1277-1287.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2012.07.016.
- Monteleone, Ivan, Angelamaria Rizzo, Massimiliano Sarra, Giuseppe Sica, Pierpaolo Sileri, Livia Biancone, Thomas T. MacDonald, Francesco Pallone, et Giovanni Monteleone. 2011. « Aryl Hydrocarbon Receptor-Induced Signals Up-regulate IL-22 Production and Inhibit Inflammation in the Gastrointestinal Tract ». *Gastroenterology* 141(1):237-248.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2011.04.007.
- Morohoshi, Yuichi, Katsuyoshi Matsuoka, Hiroshi Chinen, Nobuhiko Kamada, Toshiro Sato, Tadakazu Hisamatsu, Susumu Okamoto, Nagamu Inoue, Hiromasa Takaishi, Haruhiko Ogata, Yasushi Iwao, et Toshifumi Hibi. 2006. « Inhibition of Neutrophil Elastase Prevents the Development of Murine Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis ». *Journal of Gastroenterology* 41(4):318-24. doi: 10.1007/s00535-005-1768-8.



- Motta, Jean-Paul, Luis G. Bermúdez-Humarán, Céline Deraison, Laurence Martin, Corinne Rolland, Perrine Rousset, Jérôme Boue, Gilles Dietrich, Kevin Chapman, Pascale Kharrat, Jean-Pierre Vinel, Laurent Alric, Emmanuel Mas, Jean-Michel Sallenave, Philippe Langella, et Nathalie Vergnolle. 2012. « Food-Grade Bacteria Expressing Elafin Protect Against Inflammation and Restore Colon Homeostasis ». *Science Translational Medicine* 4(158). doi: 10.1126/scitranslmed.3004212.
- Motta, Jean-Paul, Alexandre Denadai-Souza, David Sagnat, Laura Guiraud, Anissa Edir, Chrystelle Bonnart, Mireille Sebbag, Perrine Rousset, Ariane Lapeyre, Carine Seguy, Noa Mathurine-Thomas, Heather J. Galipeau, Delphine Bonnet, Laurent Alric, Andre G. Buret, John L. Wallace, Antoine Dufour, Elena F. Verdu, Morley D. Hollenberg, Eric Oswald, Matteo Serino, Celine Deraison, et Nathalie Vergnolle. 2019. « Active Thrombin Produced by the Intestinal Epithelium Controls Mucosal Biofilms ». *Nature Communications* 10(1):3224. doi: 10.1038/s41467-019-11140-w.
- Motta, Jean-Paul, Laurent Magne, Delphyne Descamps, Corinne Rolland, Camila Squarzoni-Dale, Perrine Rousset, Laurence Martin, Nicolas Cenac, Viviane Balloy, et Michel Huerre. 2011. « Modifying the protease, antiprotease pattern by elafin overexpression protects mice from colitis ». *Gastroenterology* 140(4):1272-82.
- Motta, Jean-Paul, Corinne Rolland, Anissa Edir, Ana-Carolina Florence, David Sagnat, Chrystelle Bonnart, Perrine Rousset, Laura Guiraud, Muriel Quaranta-Nicaise, et Emmanuel Mas. 2021. « Epithelial production of elastase is increased in inflammatory bowel disease and causes mucosal inflammation ». *Mucosal Immunology* 14(3):667-78.
- Múzes, Györgyi, Zsolt Tulassay, et Ferenc Sipos. 2013. « Interplay of autophagy and innate immunity in Crohn's disease: A key immunobiologic feature ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 19(28):4447-54. doi: 10.3748/wjg.v19.i28.4447.
- Ng, Siew C., Hai Yun Shi, Nima Hamidi, Fox E. Underwood, Whitney Tang, Eric I. Benchimol, Remo Panaccione, Subrata Ghosh, Justin C. Y. Wu, Francis K. L. Chan, Joseph J. Y. Sung, et Gilaad G. Kaplan. 2017. « Worldwide Incidence and Prevalence of Inflammatory Bowel Disease in the 21st Century: A Systematic Review of Population-Based Studies ». *The Lancet* 390(10114):2769-78. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32448-0.
- Ni, Josephine, Gary D. Wu, Lindsey Albenberg, et Vesselin T. Tomov. 2017. « Gut Microbiota and IBD: Causation or Correlation? ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 14(10):573-84. doi: 10.1038/nrgastro.2017.88.
- Niina, Ayaka, Ryoko Kibe, Ryohei Suzuki, Yunosuke Yuchi, Takahiro Teshima, Hirotaka Matsumoto, Yasushi Kataoka, et Hidekazu Koyama. 2019. « Improvement in Clinical Symptoms and Fecal Microbiome After Fecal Microbiota Transplantation in a Dog with Inflammatory Bowel Disease ». *Veterinary Medicine: Research and Reports* 10:197-201. doi: 10.2147/VMRR.S230862.
- Niina, Ayaka, Ryoko Kibe, Ryohei Suzuki, Yunosuke Yuchi, Takahiro Teshima, Hirotaka Matsumoto, Yasushi Kataoka, et Hidekazu Koyama. 2021. « Fecal microbiota transplantation as a new treatment for canine inflammatory bowel disease ». *Bioscience of Microbiota, Food and Health* 40(2):98-104. doi: 10.12938/bmfh.2020-049.
- Nijmeijer, Rian M., Raffaella M. Gadaleta, Saskia W. C. van Mil, Adriaan A. van Bodegraven, J. Bart A. Crusius, Gerard Dijkstra, Daan W. Hommes, Dirk J. de Jong, Pieter C. F. Stokkers, Hein W. Verspaget, Rinse K. Weersma, C. Janneke van der Woude, Janneke M. Stapelbroek, Marguerite

- E. I. Schipper, Cisca Wijmenga, Karel J. van Erpecum, Bas Oldenburg, et Colitis (ICC) on behalf of the Dutch Initiative on Crohn. 2011. « Farnesoid X Receptor (FXR) Activation and FXR Genetic Variation in Inflammatory Bowel Disease ». *PLOS ONE* 6(8):e23745. doi: 10.1371/journal.pone.0023745.
- Nikolaus, Susanna, Berenice Schulte, Natalie Al-Massad, Florian Thieme, Dominik M. Schulte, Johannes Bethge, Ateequr Rehman, Florian Tran, Konrad Aden, Robert Häsler, Natalie Moll, Gregor Schütze, Markus J. Schwarz, Georg H. Waetzig, Philip Rosenstiel, Michael Krawczak, Silke Szymczak, et Stefan Schreiber. 2017. « Increased Tryptophan Metabolism Is Associated With Activity of Inflammatory Bowel Diseases ». *Gastroenterology* 153(6):1504-1516.e2. doi: 10.1053/j.gastro.2017.08.028.
- Ogura, Yasunori, Denise K. Bonen, Naohiro Inohara, Dan L. Nicolae, Felicia F. Chen, Richard Ramos, Heidi Britton, Thomas Moran, Reda Karaliuskas, Richard H. Duerr, Jean-Paul Achkar, Steven R. Brant, Theodore M. Bayless, Barbara S. Kirschner, Stephen B. Hanauer, Gabriel Nuñez, et Judy H. Cho. 2001. « A Frameshift Mutation in NOD2 Associated with Susceptibility to Crohn's Disease ». *Nature* 411(6837):603-6. doi: 10.1038/35079114.
- Oh, Hae-Keun, Ji-Yoon Lee, Soo-Jin Lim, Min-Jeong Kim, Geun-Bae Kim, Jung-Hoan Kim, Soon-Kwang Hong, et Dae-Kyung Kang. 2008. « Molecular Cloning and Characterization of a Bile Salt Hydrolase from *Lactobacillus Acidophilus* PF01 ». *Journal of Microbiology and Biotechnology* 18(3):449-56.
- Oikonomopoulou, Katerina, Eleftherios P. Diamandis, et Morley D. Hollenberg. 2010. « Kallikrein-Related Peptidases: Proteolysis and Signaling in Cancer, the New Frontier ». 391(4):299-310. doi: 10.1515/bc.2010.038.
- O'Neill, Dan G., Hannah James, Dave C. Brodbelt, David B. Church, et Camilla Pegram. 2021. « Prevalence of Commonly Diagnosed Disorders in UK Dogs under Primary Veterinary Care: Results and Applications ». *BMC Veterinary Research* 17(1):69. doi: 10.1186/s12917-021-02775-3.
- Onomura, Masahisa, Hideaki Tsukada, Kazuhito Fukuda, Masanobu Kodama, Hiroshi Nakamura, Masaya Hosokawa, Michihiro Ohya, et Yutaka Seino. 2000. « Effect of Argatroban on Trinitrobenzene Sulfonic Acid-Induced Colitis ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 15(8):931-38. doi: 10.1046/j.1440-1746.2000.02279.x.
- Parada Venegas, Daniela, Marjorie K. De la Fuente, Glauben Landskron, María Julieta González, Rodrigo Quera, Gerard Dijkstra, Hermie J. M. Harmsen, Klaas Nico Faber, et Marcela A. Hermoso. 2019. « Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases ». *Frontiers in Immunology* 10.
- Pedersen, G., T. Saermark, T. Kirkegaard, et J. Brynskov. 2009. « Spontaneous and cytokine induced expression and activity of matrix metalloproteinases in human colonic epithelium ». *Clinical and Experimental Immunology* 155(2):257-65. doi: 10.1111/j.1365-2249.2008.03836.x.
- Peiravan, Atiyeh, Karin Allenspach, Alisdair M. Boag, Francesca Soutter, Angela Holder, Brian Catchpole, Lorna J. Kennedy, Dirk Werling, et Fabio Procoli. 2016. « Single nucleotide polymorphisms in major histocompatibility class II haplotypes are associated with potential resistance to inflammatory bowel disease in German shepherd dogs ». *Veterinary Immunology and Immunopathology* 182:101-5. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.10.012.

- Pender, Sylvia LF, et Thomas T. MacDonald. 2004. « Matrix metalloproteinases and the gut — new roles for old enzymes ». *Current Opinion in Pharmacology* 4(6):546-50. doi: 10.1016/j.coph.2004.06.005.
- Perez, Nicole B., Caroline Dorsen, et Allison Squires. 2020. « Dysbiosis of the Gut Microbiome: A Concept Analysis ». *Journal of Holistic Nursing* 38(2):223-32. doi: 10.1177/0898010119879527.
- Pérez-Merino, Eva M., Ignacio Cristóbal-Verdejo, Francisco J. Duque-Carrasco, Lorena Espadas-González, Nieves Pastor-Sirvent, et Jesús M. Usón-Casaús. 2022. « Relationship between Serum Cobalamin Concentration and Endoscopic Ileal Appearance and Histology in Dogs with Chronic Inflammatory Enteropathy ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 36(3):957-65. doi: 10.1111/jvim.16436.
- Pilla, Rachel, Frederic P. Gaschen, James W. Barr, Erin Olson, Julia Honneffer, Blake C. Guard, Amanda B. Blake, Dean Villanueva, Mohammad R. Khattab, Mustafa K. AlShawaqfeh, Jonathan A. Lidbury, Jörg M. Steiner, et Jan S. Suchodolski. 2020. « Effects of Metronidazole on the Fecal Microbiome and Metabolome in Healthy Dogs ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34(5):1853-66. doi: 10.1111/jvim.15871.
- Pontarollo, Giulia, Laura Acquasaliente, Daniele Peterle, Roberta Frasson, Ilaria Artusi, et Vincenzo De Filippis. 2017. « Non-Canonical Proteolytic Activation of Human Prothrombin by Subtilisin from *Bacillus Subtilis* May Shift the Procoagulant–Anticoagulant Equilibrium toward Thrombosis ». *Journal of Biological Chemistry* 292(37):15161-79. doi: 10.1074/jbc.M117.795245.
- Pontarollo, Giulia, Amrit Mann, Inês Brandão, Frano Malinarich, Marie Schöpf, et Christoph Reinhardt. 2020. « Protease-Activated Receptor Signaling in Intestinal Permeability Regulation ». *The FEBS Journal* 287(4):645-58. doi: 10.1111/febs.15055.
- Poul, Emmanuel Le, Cécile Loison, Sofie Struyf, Jean-Yves Springael, Vincent Lannoy, Marie-Eve Decobecq, Stéphane Brezillon, Vincent Dupriez, Gilbert Vassart, Jo Van Damme, Marc Parmentier, et Michel Detheux. 2003. « Functional Characterization of Human Receptors for Short Chain Fatty Acids and Their Role in Polymorphonuclear Cell Activation \* ». *Journal of Biological Chemistry* 278(28):25481-89. doi: 10.1074/jbc.M301403200.
- Puente, X. S., L. M. Sánchez, A. Gutiérrez-Fernández, G. Velasco, et C. López-Otín. 2005. « A genomic view of the complexity of mammalian proteolytic systems ». *Biochemical Society Transactions* 33(2):331-34. doi: 10.1042/BST0330331.
- Puente, Xose S., Luis M. Sánchez, Christopher M. Overall, et Carlos López-Otín. 2003. « Human and Mouse Proteases: A Comparative Genomic Approach ». *Nature Reviews Genetics* 4(7):544-58. doi: 10.1038/nrg1111.
- Qin, Junjie, Ruiqiang Li, Jeroen Raes, Manimozhiyan Arumugam, Kristoffer Solvsten Burgdorf, Chaysavanh Manichanh, Trine Nielsen, Nicolas Pons, Florence Levenez, Takuji Yamada, Daniel R. Mende, Junhua Li, Junming Xu, Shaochuan Li, Dongfang Li, Jianjun Cao, Bo Wang, Huiqing Liang, Huisong Zheng, Yinlong Xie, Julien Tap, Patricia Lepage, Marcelo Bertalan, Jean-Michel Batto, Torben Hansen, Denis Le Paslier, Allan Linneberg, H. Bjørn Nielsen, Eric Pelletier, Pierre Renault, Thomas Sicheritz-Ponten, Keith Turner, Hongmei Zhu, Chang Yu, Shengting Li, Min Jian, Yan Zhou, Yingrui Li, Xiuqing Zhang, Songgang Li, Nan Qin, Huanming Yang, Jian Wang, Søren Brunak, Joel Doré, Francisco Guarner, Karsten Kristiansen, Oluf Pedersen, Julian Parkhill, Jean Weissenbach, Peer Bork, S. Dusko Ehrlich, et Jun Wang. 2010. « A Human Gut Microbial Gene Catalogue Established by Metagenomic Sequencing ». *Nature* 464(7285):59-65. doi: 10.1038/nature08821.

- Radhakrishnan, Deepthi, Amrutha M C, Evelyn Hutterer, Silja Wessler, et Karthe Ponnuraj. 2021. « High Temperature Requirement A (HtrA) Protease of *Listeria Monocytogenes* and Its Interaction with Extracellular Matrix Molecules ». *FEMS Microbiology Letters* 368(20):fnab141. doi: 10.1093/femsle/fnab141.
- Ranjan, Ravi, Asha Rani, Ahmed Metwally, Halvor S. McGee, et David L. Perkins. 2016. « Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 469(4):967-77. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.12.083.
- Razali, Faizan Naeem, Wuen Yew Teoh, Muhammad Zaki Ramli, Ching-Yee Loo, et Charles Gnanaraj. 2024. « Chapter 11 - Role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in the management of colonic disorders ». P. 243-70 in *Advanced Drug Delivery Systems for Colonic Disorders*, édité par H. Dureja, R. Loebenberg, S. K. Singh, M. Dhanasekaran, et K. Dua. Academic Press.
- Reddy, Kondreddy Eswar, Hye-Ran Kim, Jin Young Jeong, Kyoung-Min So, Seul Lee, Sang Yun Ji, Minji Kim, Hyun-Jung Lee, Sungdae Lee, Ki-Hyun Kim, et Minseok Kim. 2019. « Impact of Breed on the Fecal Microbiome of Dogs under the Same Dietary Condition ». 29(12):1947-56. doi: 10.4014/jmb.1906.06048.
- Reichardt, Nicole, Sylvia H. Duncan, Pauline Young, Alvaro Belenguer, Carol McWilliam Leitch, Karen P. Scott, Harry J. Flint, et Petra Louis. 2014. « Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota ». *The ISME Journal* 8(6):1323-35. doi: 10.1038/ismej.2014.14.
- Ridlon, Jason M., Spencer C. Harris, Shiva Bhowmik, Dae-Joong Kang, et Phillip B. Hylemon. 2016. « Consequences of bile salt biotransformations by intestinal bacteria ». *Gut Microbes* 7(1):22-39. doi: 10.1080/19490976.2015.1127483.
- Robin, Aurélia. 2007. « Les entéropathies exsudatives chez le chien : actualités diagnostiques et analyse rétrospective de séries de cas cliniques. » PhD Thesis, UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD-LYON I.
- Rodríguez, David, Charlotte J. Morrison, et Christopher M. Overall. 2010. « Matrix metalloproteinases: What do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1803(1):39-54. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.09.015.
- Rolland-Fourcade, Claire, Alexandre Denadai-Souza, Carla Cirillo, Cintya Lopez, Josue Obed Jaramillo, Cleo Desormeaux, Nicolas Cenac, Jean-Paul Motta, Muriel Larauche, et Yvette Taché. 2017. « Epithelial expression and function of trypsin-3 in irritable bowel syndrome ». *Gut* 66(10):1767-78.
- Rossi, Giacomo, Graziano Pengo, Marco Caldin, Angela Palumbo Piccionello, Jörg M. Steiner, Noah D. Cohen, Albert E. Jergens, et Jan S. Suchodolski. 2014. « Comparison of Microbiological, Histological, and Immunomodulatory Parameters in Response to Treatment with Either Combination Therapy with Prednisone and Metronidazole or Probiotic VSL#3 Strains in Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease ». *PLOS ONE* 9(4):e94699. doi: 10.1371/journal.pone.0094699.
- Rossi, Maddalena, Alberto Amaretti, et Stefano Raimondi. 2011. « Folate Production by Probiotic Bacteria ». *Nutrients* 3(1):118-34. doi: 10.3390/nu3010118.

- Roussilhon, Christian, Gilles Bang, Fabien Bastaert, Brigitte Solhonne, Ignacio Garcia-Verdugo, Roger Peronet, Pierre Druilhe, Anavaj Sakuntabhai, Salaheddine Mecheri, et Jean-Michel Sallenave. 2017. « The Antimicrobial Molecule Trappin-2/Elafin Has Anti-Parasitic Properties and Is Protective in Vivo in a Murine Model of Cerebral Malaria ». *Scientific Reports* 7(1):42243. doi: 10.1038/srep42243.
- Ruaux, C. G. 2013. « Cobalamin in companion animals: Diagnostic marker, deficiency states and therapeutic implications ». *The Veterinary Journal* 196(2):145-52. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.01.025.
- Sahoo, Dipak Kumar, Karin Allenspach, Jonathan P. Mochel, Valerie Parker, Adam Joseph Rudinsky, Jenessa A. Winston, Agnes Bourgois-Mochel, Mark Ackermann, Romy M. Heilmann, Gabor Köller, Lingnan Yuan, Tracey Stewart, Shannon Morgan, Kaitlyn R. Scheunemann, Chelsea A. Iennarella-Servantez, Vojtech Gabriel, Christopher Zdyrski, Rachel Pilla, Jan S. Suchodolski, et Albert E. Jergens. 2023. « Synbiotic-IgY Therapy Modulates the Mucosal Microbiome and Inflammatory Indices in Dogs with Chronic Inflammatory Enteropathy: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study ». *Veterinary Sciences* 10(1):25. doi: 10.3390/vetsci10010025.
- Schmid, Michael, Klaus Fellermann, Peter Fritz, Oliver Wiedow, Eduard F. Stange, et Jan Wehkamp. 2007. « Attenuated induction of epithelial and leukocyte serine antiproteases elafin and secretory leukocyte protease inhibitor in Crohn's disease ». *Journal of Leukocyte Biology* 81(4):907-15. doi: 10.1189/jlb.0906581.
- Schmidt, Milena, Stefan Unterer, Jan S. Suchodolski, Julia B. Honneffer, Blake C. Guard, Jonathan A. Lidbury, Jörg M. Steiner, Julia Fritz, et Petra Kölle. 2018. « The Fecal Microbiome and Metabolome Differs between Dogs Fed Bones and Raw Food (BARF) Diets and Dogs Fed Commercial Diets ». *PLOS ONE* 13(8):e0201279. doi: 10.1371/journal.pone.0201279.
- Scott, Samantha A., Jingjing Fu, et Pamela V. Chang. 2020. « Microbial tryptophan metabolites regulate gut barrier function via the aryl hydrocarbon receptor ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(32):19376-87. doi: 10.1073/pnas.2000047117.
- Scudamore, Cheryl L., Mark A. Jepson, Barry H. Hirst, R. Hugh, et P. Miller. 1998. « The rat mucosal mast cell chymase, RMCP-11, alters epithelial cell monolayer permeability in association with altered distribution of the tight junction proteins ZO-1 and occludin ». *European Journal of Cell Biology* 75(4):321-30. doi: 10.1016/S0171-9335(98)80065-4.
- Segarra, Sergi, Silvia Martínez-Subiela, Marta Cerdà-Cuellar, Daniel Martínez-Puig, Alberto Muñoz-Prieto, Fernando Rodríguez-Franco, Antonio Rodríguez-Bertos, Karin Allenspach, Alfonso Velasco, et José Cerón. 2016. « Oral Chondroitin Sulfate and Prebiotics for the Treatment of Canine Inflammatory Bowel Disease: A Randomized, Controlled Clinical Trial ». *BMC Veterinary Research* 12(1):49. doi: 10.1186/s12917-016-0676-x.
- Sender, Ron, Shai Fuchs, et Ron Milo. 2016. « Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body ». *PLOS Biology* 14(8):e1002533. doi: 10.1371/journal.pbio.1002533.
- Shapiro, Hagit, Aleksandra A. Kolodziejczyk, Daniel Halstuch, et Eran Elinav. 2018. « Bile acids in glucose metabolism in health and disease ». *Journal of Experimental Medicine* 215(2):383-96. doi: 10.1084/jem.20171965.
- Sillaber, Christian, Mehrdad Baghestanian, Dorian Bevec, Martin Willheim, Hermine Agis, Stylianos Kapiotis, Wolfgang Füreder, Hans C. Bankl, Hans P. Kiener, Wolfgang Speiser, Bernd R. Binder, Klaus Lechner, et Peter Valent. 1999. « The Mast Cell as Site of Tissue-Type Plasminogen

- Activator Expression and Fibrinolysis<sup>1</sup> ». *The Journal of Immunology* 162(2):1032-41. doi: 10.4049/jimmunol.162.2.1032.
- Simpson, A. J., A. I. Maxwell, J. R. W. Govan, C. Haslett, et J. M. Sallenave. 1999. « Elafin (elastase-specific inhibitor) has anti-microbial activity against Gram-positive and Gram-negative respiratory pathogens ». *FEBS Letters* 452(3):309-13. doi: 10.1016/S0014-5793(99)00670-5.
- Smirnov, Kirill S., Tanja V. Maier, Alesia Walker, Silke S. Heinzmann, Sara Forcisi, Inés Martinez, Jens Walter, et Philippe Schmitt-Kopplin. 2016. « Challenges of metabolomics in human gut microbiota research ». *International Journal of Medical Microbiology* 306(5):266-79. doi: 10.1016/j.ijmm.2016.03.006.
- Solà Tapias, Núria, Alexandre Denadai Souza, Claire Rolland-Fourcade, Muriel Quaranta-Nicaise, Catherine Blanpied, Marlène Marcellin, Anissa Edir, Corinne Rolland, Carla Cirillo, Gilles Dietrich, Laurent Alric, Guillaume Portier, Sylvain Kirzin, Delphine Bonnet, Emmanuel Mas, Odile Burllet-Schiltz, Céline Deraison, Chrystelle Bonnart, Nathalie Vergnolle, et Frédérick Barreau. 2021. « Colitis Linked to Endoplasmic Reticulum Stress Induces Trypsin Activity Affecting Epithelial Functions ». *Journal of Crohn's & colitis* 15. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjab035.
- Solà-Tapias, Núria, Nathalie Vergnolle, Alexandre Denadai-Souza, et Frédérick Barreau. 2020. « The Interplay Between Genetic Risk Factors and Proteolytic Dysregulation in the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease ». *Journal of Crohn's & Colitis* 14(8):1149-61. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjaa033.
- Solem, Craig A., Edward V. Jr Loftus, William J. Tremaine, et William J. Sandborn. 2004. « Venous Thromboembolism in Inflammatory Bowel Disease ». *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 99(1):97.
- Stejskalova, Lucie, Zdenek Dvorak, et Petr Pavek. 2011. « Endogenous and Exogenous Ligands of Aryl Hydrocarbon Receptor: Current State of Art ». *Current Drug Metabolism* 12(2):198-212. doi: 10.2174/138920011795016818.
- Stellwag, E. J., et P. B. Hylemon. 1976. « Purification and characterization of bile salt hydrolase from *Bacteroides fragilis* subsp. *fragilis* ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology* 452(1):165-76. doi: 10.1016/0005-2744(76)90068-1.
- Strober, W., et T. Watanabe. 2011. « NOD2, an Intracellular Innate Immune Sensor Involved in Host Defense and Crohn's Disease ». *Mucosal Immunology* 4(5):484-95. doi: 10.1038/mi.2011.29.
- Suchodolski, Jan S. 2008. « Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis ». *FEMS Microbiology Ecology* 66(3):567-78. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x.
- Suchodolski, Jan S. 2016. « Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats ». *The Veterinary Journal* 215:30-37. doi: 10.1016/j.tvjl.2016.04.011.
- Suchodolski, Jan S. 2022. « Analysis of the Gut Microbiome in Dogs and Cats ». *Veterinary Clinical Pathology* 50(S1):6-17. doi: 10.1111/vcp.13031.
- Suchodolski, Jan S., Jennifer Camacho, et Jörg M. Steiner. 2008. « Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis ». *FEMS Microbiology Ecology* 66(3):567-78. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x.

- Suchodolski, Jan S., Scot E. Dowd, Vicky Wilke, Jörg M. Steiner, et Albert E. Jergens. 2012. « 16S rRNA Gene Pyrosequencing Reveals Bacterial Dysbiosis in the Duodenum of Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease ». *PLOS ONE* 7(6):e39333. doi: 10.1371/journal.pone.0039333.
- Suchodolski, Jan S., Melissa E. Markel, Jose F. Garcia-Mazcorro, Stefan Unterer, Romy M. Heilmann, Scot E. Dowd, Priyanka Kachroo, Ivan Ivanov, Yasushi Minamoto, Enricka M. Dillman, Jörg M. Steiner, Audrey K. Cook, et Linda Toresson. 2012. « The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease ». *PLOS ONE* 7(12):e51907. doi: 10.1371/journal.pone.0051907.
- Suchodolski, Jan S., Panagiotis G. Xenoulis, Casey G. Paddock, Jörg M. Steiner, et Albert E. Jergens. 2010. « Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease ». *Veterinary Microbiology* 142(3):394-400. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.11.002.
- Sugita, Koji, Ayaka Shima, Kaho Takahashi, Yasuyoshi Matsuda, Masaki Miyajima, Marin Hirokawa, Hirotaka Kondo, Junpei Kimura, Genki Ishihara, et Keitaro Ohmori. 2021. « Successful outcome after a single endoscopic fecal microbiota transplantation in a Shiba dog with non-responsive enteropathy during the treatment with chlorambucil ». *Journal of Veterinary Medical Science* 83(6):984-89. doi: 10.1292/jvms.21-0063.
- Swanson, Kelly S, Scot E. Dowd, Jan S. Suchodolski, Ingmar S. Middelbos, Brittany M. Vester, Kathleen A. Barry, Karen E. Nelson, Manolito Torralba, Bernard Henrissat, Pedro M. Coutinho, Isaac K. O. Cann, Bryan A. White, et George C. Fahey Jr. 2011. « Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice ». *The ISME Journal* 5(4):639-49. doi: 10.1038/ismej.2010.162.
- Swanson, Kelly S., Scot E. Dowd, Jan S. Suchodolski, Ingmar S. Middelbos, Brittany M. Vester, Kathleen A. Barry, Karen E. Nelson, Manolito Torralba, Bernard Henrissat, Pedro M. Coutinho, Isaac KO Cann, Bryan A. White, et George C. Fahey. 2011. « Phylogenetic and Gene-Centric Metagenomics of the Canine Intestinal Microbiome Reveals Similarities with Humans and Mice ». *The ISME Journal* 5(4):639-49. doi: 10.1038/ismej.2010.162.
- Swystun, Veronica A., Bernard Renaux, France Moreau, Shoubin Wen, Michael A. Peplowski, Morley D. Hollenberg, et Wallace K. MacNaughton. 2009. « Serine proteases decrease intestinal epithelial ion permeability by activation of protein kinase C $\zeta$  ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 297(1):G60-70. doi: 10.1152/ajpgi.00096.2009.
- Takahashi, Kenichiro, Atsushi Nishida, Takehide Fujimoto, Makoto Fujii, Makoto Shioya, Hirotugu Imaeda, Osamu Inatomi, Shigeki Bamba, Akira Andoh, et Mitsushige Sugimoto. 2016. « Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease ». *Digestion* 93(1):59-65. doi: 10.1159/000441768.
- Tamhane, Tripti, Maria Arampatzidou, Veneta Gerganova, Marlene Tacke, Rukshala Illukkumbura, Stephanie Dauth, Norbert Schaschke, Christoph Peters, Thomas Reinheckel, et Klaudia Brix. 2014. « The Activity and Localization Patterns of Cathepsins B and X in Cells of the Mouse Gastrointestinal Tract Differ along Its Length ». *Biological Chemistry* 395(10):1201-19. doi: 10.1515/hsz-2014-0151.
- Tamura, Yutaka, Shoko Suzuki, et Takuo Sawada. 1992. « Role of elastase as a virulence factor in experimental *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice ». *Microbial Pathogenesis* 12(3):237-44. doi: 10.1016/0882-4010(92)90058-V.

- Tan, Jian, Craig McKenzie, Maria Potamitis, Alison N. Thorburn, Charles R. Mackay, et Laurence Macia. 2014. « Chapter Three - The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease ». P. 91-119 in *Advances in Immunology*. Vol. 121, édité par F. W. Alt. Academic Press.
- Tanaka, Hiroshi, Honoo Hashiba, Jan Kok, et Igor Mierau. 2000. « Bile Salt Hydrolase of *Bifidobacterium longum*—Biochemical and Genetic Characterization ». *Applied and Environmental Microbiology* 66(6):2502-12. doi: 10.1128/AEM.66.6.2502-2512.2000.
- Thornton, Roibeard F., Elizabeth C. Murphy, Todd F. Kagawa, Paul W. O'Toole, et Jakki C. Cooney. 2012. « The Effect of Environmental Conditions on Expression of *Bacteroides Fragilis* and *Bacteroides Thetaiotaomicron* C10 Protease Genes ». *BMC Microbiology* 12(1):190. doi: 10.1186/1471-2180-12-190.
- Titmarsh, H., A. g. Gow, S. Kilpatrick, J. Sinclair, T. Hill, E. Milne, A. Philbey, J. Berry, I. Handel, et R. j. Mellanby. 2015. « Association of Vitamin D Status and Clinical Outcome in Dogs with a Chronic Enteropathy ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29(6):1473-78. doi: 10.1111/jvim.13603.
- Titmarsh, Helen F., Adam G. Gow, Scott Kilpatrick, Jennifer A. Cartwright, Elspeth M. Milne, Adrian W. Philbey, Jacqueline Berry, Ian Handel, et Richard J. Mellanby. 2015. « Low Vitamin D Status Is Associated with Systemic and Gastrointestinal Inflammation in Dogs with a Chronic Enteropathy ». *PLOS ONE* 10(9):e0137377. doi: 10.1371/journal.pone.0137377.
- Toresson, L., J. m. Steiner, J. s. Suchodolski, et T. Spillmann. 2016. « Oral Cobalamin Supplementation in Dogs with Chronic Enteropathies and Hypocobalaminemia ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30(1):101-7. doi: 10.1111/jvim.13797.
- Toresson, Linda, Thomas Spillmann, Rachel Pilla, Ulrika Ludvigsson, Josefin Hellgren, Gunilla Olmedal, et Jan S. Suchodolski. 2023. « Clinical Effects of Faecal Microbiota Transplantation as Adjunctive Therapy in Dogs with Chronic Enteropathies—A Retrospective Case Series of 41 Dogs ». *Veterinary Sciences* 10(4):271. doi: 10.3390/vetsci10040271.
- Trapani, Joseph A. 2001. « Granzymes: A Family of Lymphocyte Granule Serine Proteases ». *Genome Biology* 2(12):reviews3014.1. doi: 10.1186/gb-2001-2-12-reviews3014.
- Tremaine, W. J., A. Brzezinski, J. A. Katz, D. C. Wolf, T. J. Fleming, J. Mordenti, L. C. Strenkoski-Nix, M. C. Kurth, et The Axys Ulcerative Colitis Study Group. 2002. « Treatment of Mildly to Moderately Active Ulcerative Colitis with a Tryptase Inhibitor (APC 2059): An Open-Label Pilot Study ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 16(3):407-13. doi: 10.1046/j.1365-2036.2002.01194.x.
- Turk, Vito, Veronika Stoka, Olga Vasiljeva, Miha Renko, Tao Sun, Boris Turk, et Dušan Turk. 2012. « Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 1824(1):68-88. doi: 10.1016/j.bbapap.2011.10.002.
- Turnbaugh, Peter J., Fredrik Bäckhed, Lucinda Fulton, et Jeffrey I. Gordon. 2008. « Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome ». *Cell Host & Microbe* 3(4):213-23. doi: 10.1016/j.chom.2008.02.015.
- Uebanso, Takashi, Takaaki Shimohata, Kazuaki Mawatari, et Akira Takahashi. 2020. « Functional Roles of B-Vitamins in the Gut and Gut Microbiome ». *Molecular Nutrition & Food Research* 64(18):2000426. doi: 10.1002/mnfr.202000426.



- Ullal, Tarini V., Stanley L. Marks, Sara N. Huebner, Sandra L. Taylor, et Courtney D. Shelley. 2023. « Association of Folate Concentrations with Clinical Signs and Laboratory Markers of Chronic Enteropathy in Dogs ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 37(2):455-64. doi: 10.1111/jvim.16681.
- Vandenbroucke, Roosmarijn E., Eline Dejonckheere, Filip Van Hauwermeiren, Sofie Lodens, Riet De Rycke, Elie Van Wonterghem, An Staes, Kris Gevaert, Carlos López-Otin, et Claude Libert. 2013. « Matrix metalloproteinase 13 modulates intestinal epithelial barrier integrity in inflammatory diseases by activating TNF ». *EMBO Molecular Medicine* 5(7):1000-1016. doi: 10.1002/emmm.201202100.
- Vázquez-Baeza, Yoshiki, Embriette R. Hyde, Jan S. Suchodolski, et Rob Knight. 2016. « Dog and Human Inflammatory Bowel Disease Rely on Overlapping yet Distinct Dysbiosis Networks ». *Nature Microbiology* 1(12):1-5. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.177.
- Verberkmoes, Nathan C., Alison L. Russell, Manesh Shah, Adam Godzik, Magnus Rosenquist, Jonas Halfvarson, Mark G. Lefsrud, Juha Apajalahti, Curt Tysk, Robert L. Hettich, et Janet K. Jansson. 2009. « Shotgun metaproteomics of the human distal gut microbiota ». *The ISME Journal* 3(2):179-89. doi: 10.1038/ismej.2008.108.
- Vergnolle, N. 2005. « Clinical Relevance of Proteinase Activated Receptors (PARs) in the Gut ». *Gut* 54(6):867-74. doi: 10.1136/gut.2004.048876.
- Vergnolle, Nathalie. 2008. « Proteinase-activated receptors (PARs) in infection and inflammation in the gut ». *The international journal of biochemistry & cell biology* 40(6-7):1219-27.
- Vergnolle, Nathalie. 2016. « Protease Inhibition as New Therapeutic Strategy for GI Diseases ». *Gut* 65(7):1215-24. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309147.
- Větrovský, Tomáš, et Petr Baldrian. 2013. « The Variability of the 16S rRNA Gene in Bacterial Genomes and Its Consequences for Bacterial Community Analyses ». *PLOS ONE* 8(2):e57923. doi: 10.1371/journal.pone.0057923.
- Vilson, Åsa, Ziad Ramadan, Qinghong Li, Åke Hedhammar, Arleigh Reynolds, Julie Spears, Jeff Labuda, Robyn Pelker, Bengt Björkstén, Johan Dicksved, et Helene Hansson-Hamlin. 2018. « Disentangling Factors That Shape the Gut Microbiota in German Shepherd Dogs ». *PLOS ONE* 13(3):e0193507. doi: 10.1371/journal.pone.0193507.
- Visconti, Alessia, Caroline I. Le Roy, Fabio Rosa, Niccolò Rossi, Tiphaine C. Martin, Robert P. Mohn, Weizhong Li, Emanuele de Rinaldis, Jordana T. Bell, J. Craig Venter, Karen E. Nelson, Tim D. Spector, et Mario Falchi. 2019. « Interplay between the Human Gut Microbiome and Host Metabolism ». *Nature Communications* 10(1):4505. doi: 10.1038/s41467-019-12476-z.
- Vizoso, Francisco J., Luis O. González, Maria D. Corte, Maria G. Corte, Miguel Bongera, Aranzazu Martínez, Aranzazu Martín, Alejandro Andicochea, et Richard R. R. Gava. 2006. « Collagenase-3 (MMP-13) expression by inflamed mucosa in inflammatory bowel disease ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 41(9):1050-55. doi: 10.1080/00365520600554667.
- Volkman, M., J. m. Steiner, G. t. Fosgate, J. Zentek, S. Hartmann, et B. Kohn. 2017. « Chronic Diarrhea in Dogs – Retrospective Study in 136 Cases ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31(4):1043-55. doi: 10.1111/jvim.14739.

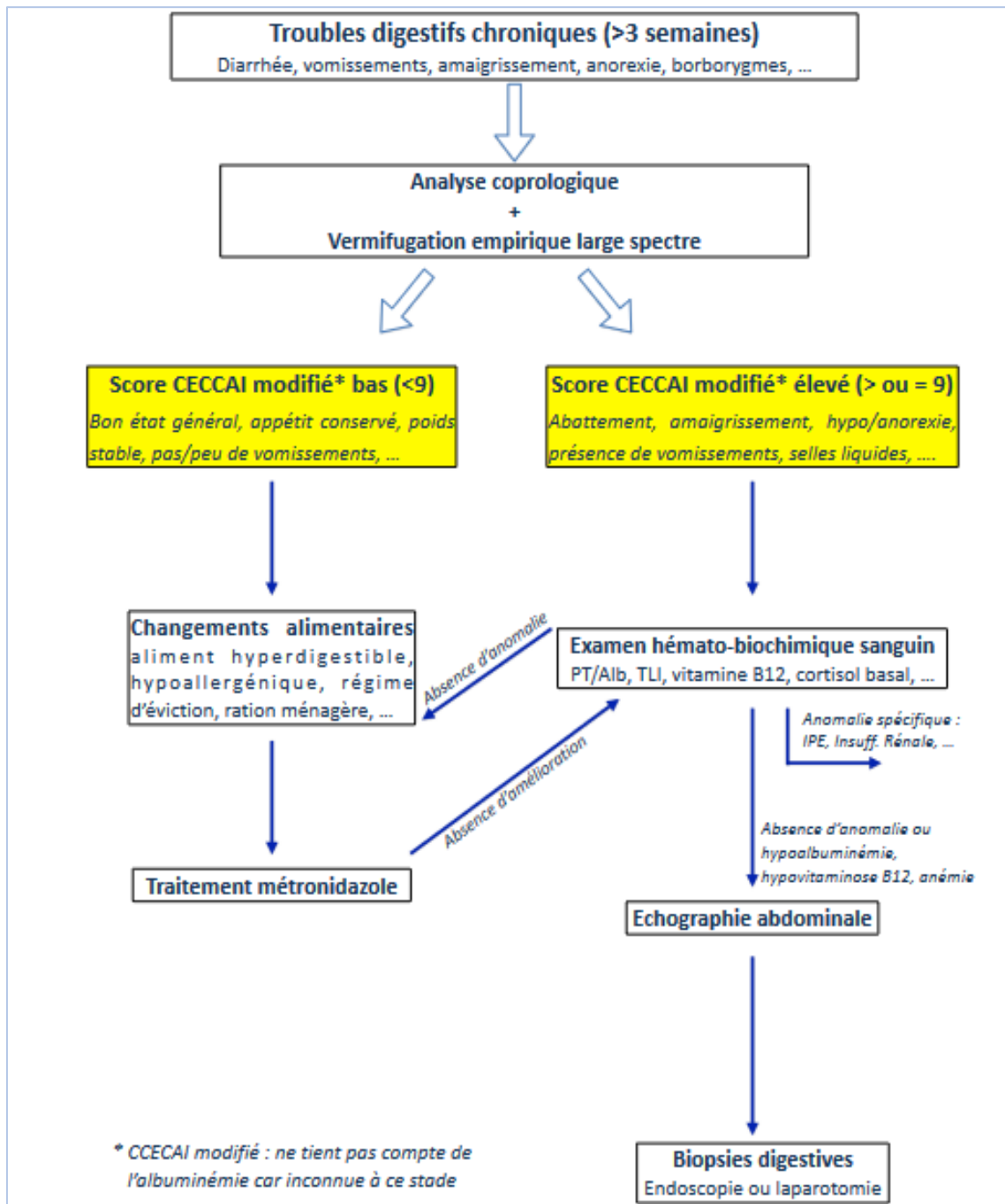
- Vrakas, Spyros, Konstantinos C. Mountzouris, George Michalopoulos, George Karamanolis, George Papatheodoridis, Charalampos Tzathas, et Maria Gazouli. 2017. « Intestinal Bacteria Composition and Translocation of Bacteria in Inflammatory Bowel Disease ». *PLOS ONE* 12(1):e0170034. doi: 10.1371/journal.pone.0170034.
- Wang, Shuai, Rene Martins, Megan C. Sullivan, Elliot S. Friedman, Ana M. Mistic, Ayah El-Fahmawi, Elaine Cristina Pereira De Martinis, Kevin O'Brien, Ying Chen, Charles Bradley, Grace Zhang, Alexander S. F. Berry, Christopher A. Hunter, Robert N. Baldassano, Mark P. Rondeau, et Daniel P. Beiting. 2019. « Diet-induced remission in chronic enteropathy is associated with altered microbial community structure and synthesis of secondary bile acids ». *Microbiome* 7(1):126. doi: 10.1186/s40168-019-0740-4.
- Wang, X., S. P. Heazlewood, D. O. Krause, et T. H. J. Florin. 2003. « Molecular characterization of the microbial species that colonize human ileal and colonic mucosa by using 16S rDNA sequence analysis ». *Journal of Applied Microbiology* 95(3):508-20. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02005.x.
- Wang, Ying-De, et Wei Wang. 2008. « Protective Effect of Ilomastat on Trinitrobenzenesulfonic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 14(37):5683. doi: 10.3748/wjg.14.5683.
- Wang, Ying-De, et Pei-Yun Yan. 2006. « Expression of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in ulcerative colitis ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 12(37):6050-53. doi: 10.3748/wjg.v12.i37.6050.
- Ware, Jeffrey H., X. Steven Wan, Harvey Rubin, Norman M. Schechter, et Ann R. Kennedy. 1997. « Soybean Bowman-Birk Protease Inhibitor Is a Highly Effective Inhibitor of Human Mast Cell Chymase ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 344(1):133-38. doi: 10.1006/abbi.1997.0182.
- Watanabe, Masamichi, Satoru Fukiya, et Atsushi Yokota. 2017. « Comprehensive Evaluation of the Bactericidal Activities of Free Bile Acids in the Large Intestine of Humans and Rodents ». *Journal of Lipid Research* 58(6):1143-52. doi: 10.1194/jlr.M075143.
- Waterhouse, Mary, Bronwyn Hope, Lutz Krause, Mark Morrison, Melinda M. Protani, Martha Zakrzewski, et Rachel E. Neale. 2019. « Vitamin D and the Gut Microbiome: A Systematic Review of in Vivo Studies ». *European Journal of Nutrition* 58(7):2895-2910. doi: 10.1007/s00394-018-1842-7.
- Westermarck, Elias, Teresa Skrzypczak, Jaana Harmoinen, Jörg M. Steiner, Craig G. Ruaux, David A. Williams, Erkki Eerola, Pernilla Sundbäck, et Minna Rinkinen. 2005. « Tylosin-Responsive Chronic Diarrhea in Dogs ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19(2):177-86. doi: 10.1111/j.1939-1676.2005.tb02679.x.
- Whitfield-Cargile, Canaan M., Noah D. Cohen, Robert S. Chapkin, Brad R. Weeks, Laurie A. Davidson, Jennifer S. Goldsby, Carrie L. Hunt, Shelby H. Steinmeyer, Rani Menon, Jan S. Suchodolski, Arul Jayaraman, et Robert C. Alaniz. 2016. « The microbiota-derived metabolite indole decreases mucosal inflammation and injury in a murine model of NSAID enteropathy ». *Gut Microbes* 7(3):246-61. doi: 10.1080/19490976.2016.1156827.
- Wiercinska-Drapalo, Alicja, Jerzy Jaroszewicz, Robert Flisiak, et Danuta Prokopowicz. 2003. « Plasma Matrix Metalloproteinase-1 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 as Biomarkers of

- Ulcerative Colitis Activity ». *World Journal of Gastroenterology* : WJG 9(12):2843. doi: 10.3748/wjg.v9.i12.2843.
- Wijaya, Agus, Anette Hermann, Hikmate Abriouel, Ingrid Specht, Nuha M. K. Yousif, Wilhelm H. Holzapfel, et Charles M. A. P. Franz. 2004. « Cloning of the Bile Salt Hydrolase (*bsh*) Gene from *Enterococcus faecium* FAIR-E 345 and Chromosomal Location of *bsh* Genes in Food Enterococci ». *Journal of Food Protection* 67(12):2772-78. doi: 10.4315/0362-028X-67.12.2772.
- Wilke, Vicki L., Dan Nettleton, Meghan J. Wymore, Jack M. Gallup, Cumhur Yusuf Demirkale, Mark R. Ackermann, Chris K. Tuggle, Amanda E. Ramer-Tait, Michael J. Wannemuehler, et Albert E. Jergens. 2012. « Gene Expression in Intestinal Mucosal Biopsy Specimens Obtained from Dogs with Chronic Enteropathy ». *American Journal of Veterinary Research* 73(8):1219-29. doi: 10.2460/ajvr.73.8.1219.
- Wu, Shaoguang, Kuei-Cheng Lim, Julie Huang, Roxan F. Saidi, et Cynthia L. Sears. 1998. « Bacteroides fragilis enterotoxin cleaves the zonula adherens protein, E-cadherin ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95(25):14979-84. doi: 10.1073/pnas.95.25.14979.
- Xenoulis, Panagiotis G., Blake Palculict, Karin Allenspach, Jörg M. Steiner, Angela M. Van House, et Jan S. Suchodolski. 2008. « Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease ». *FEMS Microbiology Ecology* 66(3):579-89. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00556.x.
- Xiong, Weili, Paul E. Abraham, Zhou Li, Chongle Pan, et Robert L. Hettich. 2015. « Microbial Metaproteomics for Characterizing the Range of Metabolic Functions and Activities of Human Gut Microbiota ». *PROTEOMICS* 15(20):3424-38. doi: 10.1002/pmic.201400571.
- Xuan, C. a. I., L. I. U. Shan, Wang Ying, Fang Ming-ke, et Yang Ya-zhen. 2024. « Effect of postbiotic supplementation on fecal characteristics, serum biochemical indexes, and fecal flora of dogs. | Feed Research | EBSCOhost ». 47(1):131. Consulté 19 juin 2024 (<https://openurl.ebsco.com/contentitem/doi:10.13557%2Fj.cnki.issn1002-2813.2024.01.024?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:doi:10.13557%2Fj.cnki.issn1002-2813.2024.01.024>).
- Yan, Hui, et Kolapo M. Ajuwon. 2017. « Butyrate Modifies Intestinal Barrier Function in IPEC-J2 Cells through a Selective Upregulation of Tight Junction Proteins and Activation of the Akt Signaling Pathway ». *PLOS ONE* 12(6):e0179586. doi: 10.1371/journal.pone.0179586.
- Yang, Zhen-Huan, Fang Liu, Xiao-Ran Zhu, Fei-Ya Suo, Zi-jun Jia, et Shu-Kun Yao. 2021. « Altered profiles of fecal bile acids correlate with gut microbiota and inflammatory responses in patients with ulcerative colitis ». *World Journal of Gastroenterology* 27(24):3609-29. doi: 10.3748/wjg.v27.i24.3609.
- You, Inhwan, et Min Jung Kim. 2021. « Comparison of gut microbiota of 96 healthy dogs by individual traits: Breed, age, and body condition score ». *Animals* 11(8):2432.
- Zelante, Teresa, Rossana G. Iannitti, Cristina Cunha, Antonella De Luca, Gloria Giovannini, Giuseppe Pieraccini, Riccardo Zecchi, Carmen D'Angelo, Cristina Massi-Benedetti, Francesca Fallarino, Agostinho Carvalho, Paolo Puccetti, et Luigina Romani. 2013. « Tryptophan Catabolites from Microbiota Engage Aryl Hydrocarbon Receptor and Balance Mucosal Reactivity via Interleukin-22 ». *Immunity* 39(2):372-85. doi: 10.1016/j.immuni.2013.08.003.

- Zhao, Mirabella, Lóránt Gönczi, Peter L. Lakatos, et Johan Burisch. 2021. « The Burden of Inflammatory Bowel Disease in Europe in 2020 ». *Journal of Crohn's and Colitis* 15(9):1573-87. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjab029.
- Zheng, Mengyu, Ran Han, Yali Yuan, Yunqi Xing, Wenji Zhang, Zhongmei Sun, Yuyue Liu, Junxiang Li, et Tangyou Mao. 2023. « The Role of Akkermansia Muciniphila in Inflammatory Bowel Disease: Current Knowledge and Perspectives ». *Frontiers in Immunology* 13. doi: 10.3389/fimmu.2022.1089600.
- Zhou, Lina, Di Yu, Sijia Zheng, Runze Ouyang, Yuting Wang, et Guowang Xu. 2021. « Gut microbiota-related metabolome analysis based on chromatography-mass spectrometry ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 143:116375. doi: 10.1016/j.trac.2021.116375.

## ANNEXES

**Annexe 1** : Démarche diagnostique lors de troubles digestifs chroniques chez le chien en consultation de Médecine interne au sein du CHUV d'Oniris de Nantes, d'après (Hernandez 2020).



**Annexe 2** : Attestation de consentement pour le don de selles à remplir et signer par les propriétaires des chiens.



**DON DE SELLES  
ETUDE MICROBIOTE  
Attestation de consentement**



En signant ce document, vous consentez à ce que les informations personnelles que vous nous avez confiées soient conservées par Oniris dans l'optique de pouvoir vous contacter si nos équipes médicales et/ou de recherche souhaitent accéder à des informations concernant votre animal.

*Les données collectées vous concernant seront conservées sous la responsabilité de la Directrice générale d'Oniris, Mme Buzoni-Gatel, agissant en tant que responsable des données. Ces données seront conservées pendant une durée de 20 années maximum et ne seront, en aucun cas, divulguées, transmises ou vendues à des tiers.*

*Conformément au Règlement (UE) du 27 avril 2016 dit Règlement général sur la protection des données (RGPD) et à la loi du 6 janvier 1978 modifiée dite Informatique et Libertés, vous êtes en droit de/d' :*

- Accéder aux informations vous concernant ;
- Demander la rectification de vos données ;
- Retirer votre consentement à tout moment ;
- Demander l'effacement de vos données ;
- Demander la portabilité de vos données ;
- Solliciter la limitation des données ;
- Vous opposer au traitement [des données].

*Pour effectuer une ou plusieurs de ces actions, vous pouvez nous contacter par courrier à l'adresse suivante :*

*Oniris - Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation A l'attention du Délégué à la protection des données*

*CS 40706*

*101, route de Gachet*

*44307 NANTES Cedex 3*

*En cas de contestation, vous aurez la possibilité d'introduire une réclamation auprès de la CNIL (Commission Nationale Informatique et Libertés).*

**Je soussigné,**

Nom – Prénom : .....

Adresse : .....

Téléphone : .....

Nom de l'animal : .....

Espèce : .....

Identification (Animal/Clovis/Etude): .....

**Agissant en tant que :**

- Propriétaire de l'animal identifié ci-dessus,
- Représentant du propriétaire de l'animal identifié ci-dessus,


Reconnait et atteste avoir reçu et compris l'information sur le don de selle de mon animal. Je m'estime donc désormais suffisamment éclairé(e) pour prendre une décision en toute connaissance de cause.

**En conséquence, j'accepte de donner les selles de mon animal et de fournir les informations personnelles en lien avec le don. J'autorise également les équipes de recherche d'Oniris et/ou leurs partenaires à utiliser les données et les prélèvements de mon animal de manière anonyme dans le but d'améliorer l'état des connaissances scientifiques sur le sujet et le développement de nouveaux outils diagnostiques et thérapeutiques. Certaines avancées peuvent faire l'objet d'un dépôt de brevet. Je consens cependant à la levée de l'anonymat si celle-ci est demandée par les autorités publiques.**


Fait à ..... Le .....

Signature du propriétaire ou de son représentant :

Vu: Le Directeur de Thèse  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire,  
Agroalimentaire et de l'Alimentation  
Oniris

HERNANDEZ Juan  


Vu: La Directrice Générale  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire,  
Agroalimentaire et de l'Alimentation  
Oniris  
Laurence Delfesselle

  
Pour la Directrice Générale  
et par délégation  
Responsable du Service des  
Formations vétérinaires-Masters  
Karine ROLLAND

Nantes, le 18/07/2024.

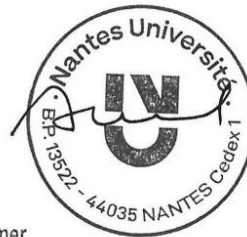
Vu: Le Président de la Thèse

Professeur



Vu: Le Doyen de la Faculté de  
Médecine de Nantes

Professeur Antoine HAMEL



Vu et permis d'imprimer

NOM : DEYGOUT  
Prénom : Eloïse

**Eloïse DEYGOUT**

**PROFIL D'ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE FÉCALE CHEZ LE CHIEN  
ATTEINT D'ENTÉROPATHIE INFLAMMATOIRE CHRONIQUE**

**Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 02/09/2024**

**RÉSUMÉ :**

Les Entéropathies Inflammatoires Chroniques (EIC) sont des maladies fréquentes chez le chien. La pathogénie des EIC résulte d'une combinaison de facteurs génétiques, environnementaux et microbiens qui, ensemble, induisent une réponse immunitaire exacerbée chez l'hôte. Bien que l'origine des EIC reste inconnue, les voies de communication entre le microbiote et l'hôte sont activement étudiées afin d'améliorer notre compréhension de la pathogénie de ces maladies. L'homéostasie protéolytique est une des voies de dialogue microbiote-hôte et joue un rôle dans la genèse de l'inflammation digestive. Pour explorer la place de cette voie chez le chien, 50 chiens sains et 48 chiens atteints d'EIC ont été recrutés. L'activité protéolytique fécale totale et le profil des activités protéolytiques ont été mesurés pour la première fois chez le chien. Les chiens atteints d'EIC présentent une activité protéolytique fécale totale 5 fois plus élevée que les chiens sains (statistiquement significatif). L'augmentation de l'activité protéolytique fécale est principalement due à l'activité des protéases à sérine. Les chiens atteints d'EIC présentent des activités protéolytiques fécales de type trypsine (x3,5), chymotrypsine (x2,5), élastase neutrophilique (x8) et protéinase-3 (x4) significativement plus élevées que les chiens sains. Ces résultats sont en adéquation avec les résultats récemment observés chez l'homme atteint de la maladie de Crohn ou de la colite ulcéreuse et ouvrent la porte au développement de nouvelles stratégies de traitement visant à contrôler l'homéostasie protéolytique.

**MOTS CLÉS :**

- CHIEN
- ENTÉROPATHIE INFLAMMATOIRE CHRONIQUE (EIC)
- MICROBIOTE GASTRO-INTESTINAL
- PROTÉASES
- MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN (MICI)
- INFLAMMATION DE L'APPAREIL DIGESTIF
- ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE
- PATHOGÉNIE

**DATE DE SOUTENANCE : 02/09/2024**