



HAL
open science

Influence de la race sur la composition du microbiote fécal du chien

Marine Lomet

► **To cite this version:**

Marine Lomet. Influence de la race sur la composition du microbiote fécal du chien. Sciences du Vivant [q-bio]. 2024. dumas-04848272

HAL Id: dumas-04848272

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04848272v1>

Submitted on 19 Dec 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° 92

**INFLUENCE DE LA RACE SUR LA COMPOSITION DU
MICROBIOTE FÉCAL DU CHIEN**

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant
l'UFR de Médecine de l'Université de
Nantes le 21/10/2024

par

Marine LOMET

Sous la direction de

Amandine DRUT

Maitre de conférences, DVM, PhD, ECVIM-CA à Oniris VetAgroBio Nantes

- Président du jury : Monsieur **Jean-Marie BACH**
Professeur, DVM, PhD, HDR,
Oniris VetAgroBio Nantes – École Nationale Vétérinaire
- Membre du jury : Monsieur **Juan HERNANDEZ**
Professeur Associé, DVM, PhD, DACVIM, ECVIM-CA
Oniris VetAgroBio Nantes – École Nationale Vétérinaire
- Invité du jury : Monsieur **Moez RHIMI**
Directeur de recherche (DR2), PhD, HDR
INRAE (Institut National de Recherche pour l'Agroalimentaire et l'Environnement)
Unité MIHA (Microbiota Interaction with Human and Animal), Micalis

ANNEE 2024. - Thèse n° 92

INFLUENCE DE LA RACE SUR LA COMPOSITION DU MICROBIOTE FÉCAL DU CHIEN

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université de

Nantes le 21/10/2024

par

Marine LOMET

Sous la direction de

Amandine DRUT

Maitre de conférences, DVM, PhD, ECVIM-CA à Oniris VetAgroBio Nantes

Président du jury : Monsieur **Jean-Marie BACH**

Professeur, DVM, PhD, HDR,
Oniris VetAgroBio Nantes – École Nationale Vétérinaire

Membre du jury : Monsieur **Juan HERNANDEZ**

Professeur Associé, DVM, PhD, DACVIM, ECVIM-CA
Oniris VetAgroBio Nantes – École National Vétérinaire

Invité du jury : Monsieur **Moez RHIMI**

Directeur de recherche (DR2), PhD, HDR
INRAE (Institut National de Recherche pour l'Agroalimentaire et l'Environnement)
Unité MIHA (Microbiota Interaction with Human and Animal), Micalis

Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment		
Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (MC Stagiaire) Martine KAMMERER (Pr émérite) Marc GOGNY (Pr émérite)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr)	Julie HERVE (Pr) Grégoire MIGNOT (MC)
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC) Florian CHOCTEAU (MC stagiaire)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC) Pierre CORDIER (CERC)
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 HDR) Emmanuel JAFFRES (MC HDR)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Judith LORANT (MC stagiaire)
PACENV = VET1	Eléonore BOUGUYON (PRAG) Nicolas BROSSAUD (PRAG)	Charlotte MOCQUARD (PRAG) Aurore CALVEL (PRAG)
Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique		
Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER		
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségolène CALVEZ (Pr) Aurélien MADOUASSE (MC HDR) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr) Pauline MAISONNASSE (CERC)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC HDR) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC) Aurore BOISHARDY (CERC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (MC) Bruno LE BIZEC (Pr)	Sofia STRUBBIA (MC) Marie-France PILET (Pr)

Département DSC Sciences cliniques		
Responsable : Olivier GAUTHIER – Adjoint : Marion FUSELLIER		
Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC)	
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (Pr)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Claire DEFOURMSTRAUX (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass) Vincent BRUET (MC)	Sabrina VIEU (AERC) Maria Dolores SANCHEZ (CERC)
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 HDR) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECA (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (Pr)
Département GPA Génie des procédés alimentaires		
Responsable : Vanessa JURY – Adjointe : Cyril TOUBLANC		
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)	
Département MSC Management, statistiques et communication		
Responsable : Jean-Michel GALIHARRET – Adjointe : Sibylle DUCHAINE		
Mathématiques, statistiques, informatique	Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr) Jean-Michel GALIHARRET (MC)	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) Franck INSGNARES (IE)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUB (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.)
Formations Techniciens supérieurs		
Responsable : Laurence FRERET		
	Laurence FRERET (PCEA) Françoise BRICHET (IAE) Christophe CARON (PLPA) Virginie MAGIN (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

A madame Amandine DRUT,

Maitre de conférences à l'école vétérinaire agroalimentaire et de l'alimentation (VetAgroBio Nantes), pour m'avoir proposé ce sujet, pour avoir encadré avec patience et bienveillance dans la rédaction de cette thèse et pour ses précieux conseils tout au long de cette année. Sincères remerciements.

A monsieur Juan HERNANDEZ,

Professeur Associé à l'école vétérinaire agroalimentaire et de l'alimentation (VetAgroBio Nantes), pour m'avoir proposé ce sujet avec madame Amandine Drut, pour m'avoir fait l'honneur d'être mon assesseur et pour le temps qu'il a consacré à la lecture de ce travail. Sincères remerciements.

A monsieur Jean-Marie BACH,

Professeur à l'école vétérinaire agroalimentaire et de l'alimentation (VetAgroBio Nantes), pour avoir accepté de présider la soutenance de ma thèse. Sincères remerciements.

A monsieur Moez RHIMI et à l'équipe MIHA,

PhD, Chargé de recherche à l'Unité MIHA, MICALIS de l'Inra de Jouy en Josas, pour toute leur aide dans la récolte des échantillons, pour tout le travail qu'ils ont fourni dans la réalisation des manipulations et de l'analyse des échantillons et pour leur gentillesse et leur accessibilité lors de notre stage en décembre. Sincères remerciements.

A tous les enseignants de mon cursus scolaire,

Pour m'avoir permis d'évoluer et de comprendre mon futur métier. Sincères remerciements.

Table des matières

Table des figures	9
Table des tableaux.....	12
Table des abréviations.....	13
Table des annexes	9
Introduction	14
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	16
1 Le microbiote intestinal du chien	17
1.1 Généralités et définitions	17
1.1.1 Microbiote	17
1.1.2 Microbiome	17
1.1.3 Métagénomique	17
1.1.4 Notion de diversité α et β	18
1.1.5 Phylogénétique.....	19
1.2 Méthodes d'analyses du microbiote intestinal	20
1.2.1 Culture microbiologique	20
1.2.2 Séquençage ARN16s	20
1.2.3 qPCR.....	23
1.2.4 Fluorescence In Situ Hybridization	23
1.3 Composition du microbiote intestinal	23
1.3.1 Bactéries	23
1.3.2 Champignons	25
1.3.3 Virus.....	25
1.4 Rôle et importance du microbiote intestinal.....	26
1.4.1 Une relation mutualiste.....	26
1.4.2 Optimisation de l'utilisation des nutriments	26
1.4.2.1 Production d'énergie	26
1.4.2.2 Stimulation de l'absorption	27
1.4.3 Rôles des acides gras à chaîne courte (AGCC)	28
1.4.4 Biotransformation des acides biliaires.....	29
1.4.5 Utilisation d'acides aminés essentiels : l'exemple du tryptophane.....	30
1.4.6 Activité protéolytique.....	30

1.4.6.1	Les protéases de l'hôte	31
1.4.6.2	Les protéases du microbiote.....	31
1.4.6.3	Les anti-protéases.....	32
1.4.7	Maturation post-natale et angiogenèse	32
1.4.8	Optimisation des systèmes de défense contre des pathogènes	33
1.4.8.1	Stimulation du système immunitaire.....	34
2	Variation de la composition du microbiote intestinal	35
2.1	Variations physiologiques au sein d'une espèce	35
2.1.1	Âge.....	35
2.1.2	Alimentation	36
2.1.2.1	Différents microbiotes pour différents régimes alimentaires	37
2.1.2.2	Variation en protéine animale	37
2.1.2.3	Impact des fibres végétales	38
2.1.3	Environnement	39
2.1.4	Localisation dans le tube digestif.....	39
2.2	Variation pathologique ou iatrogène	41
2.2.1	Infestation parasitaire	41
2.2.2	Variations iatrogènes.....	41
2.2.2.1	Les modulateurs de la flore intestinale	41
2.2.2.1.1	Les probiotiques.....	42
2.2.2.1.2	Les prébiotiques.....	43
2.2.2.2	Les antibiotiques.....	44
2.3	Influence de la génétique sur le microbiote	44
2.3.1	Des similarités de microbiote observables à l'échelle d'ethnies humaines	44
2.3.2	Influences réciproques hôte – microbiote.....	44
2.3.2.1	Les récepteurs Toll-like (TLR)	45
2.3.2.2	Les récepteurs Nodlike (NLR).....	45
2.3.3	Influence du génotype sur le microbiote intestinal.....	46
3	Le microbiote intestinal en cas d'entéropathie inflammatoire chronique	47
3.1	Les entéropathies inflammatoires chroniques	47
3.1.1	Généralités	47
3.1.2	Classification des entéropathies chroniques	47
3.2	Mutations génétiques mises en évidence dans les EIC	48

3.2.1	Mutations détectées chez l'humain	48
3.2.2	Mutations détectées chez le chien	49
3.3	Modification de la flore intestinale : la dysbiose.....	50
3.4	Impact des EIC sur le métabolome	53
3.4.1	Diminution du taux d'AGCC	53
3.4.2	Une prépondérance d'acides biliaires primaires	54
3.4.3	Diminution du taux de tryptophane sérique	55
3.4.4	Augmentation de l'activité protéolytique	55
ÉTUDE EXPÉRIMENTALE		58
1	Introduction.....	59
1.1	Races prédisposées aux entéropathies chroniques.....	59
1.2	Utilisation du Berger Australien comme population témoin.....	60
2	Matériels et méthodes.....	60
2.1	Méthodes de recrutement, sélection des individus prélevés et critères d'inclusion	60
2.2	Collecte des données : questionnaire individuel, détermination de l'indice de condition corporelle et du score fécal	60
2.3	Analyse parasitaire	62
2.4	Présentation de la cohorte constituée	62
2.4.1	Alimentation	62
2.4.2	Âge	62
2.4.3	Indice de condition corporelle	63
2.4.4	État physiologique	63
2.5	Analyse microbiologique	63
2.5.1	Types de prélèvements.....	63
2.5.2	Extraction de l'ADN métagénomique	64
2.5.3	Vérification de la qualité de l'extraction.....	65
2.5.3.1	Fragmentation de l'ADN	65
2.5.3.2	Présence de molécules indésirables	65
2.5.4	Amplification par PCR des séquences extraites.....	66
2.5.5	Séquençage.....	66
2.5.6	Traitement bio-informatique des données.....	67

2.5.6.1	Analyse primaire	67
2.5.6.1.1	Pre-processing.....	67
2.5.6.1.2	Clustering – Assignation taxonomique.....	68
2.5.6.1.3	Création d’une table des OTUs	68
2.5.6.2	Analyse secondaire	68
2.5.6.2.1	Détermination de la composition du microbiote.....	69
2.5.6.2.2	Détermination de l’alpha diversité.....	69
2.5.6.2.3	Détermination de la beta diversité	69
3	Résultats.....	70
3.1	Cohorte étudiée.....	70
3.2	Analyse de la diversité.....	71
3.2.1	Diversité alpha	71
3.2.2	Diversité bêta.....	72
3.3	Analyse de la composition	73
3.3.1	À l’échelle Phylum	73
3.3.2	À l’échelle Famille.....	74
3.3.3	À l’échelle Genre.....	75
4	Discussion.....	77
4.1	Intérêt et limite du protocole utilisé	77
4.1.1	Constitution de la cohorte	77
4.1.1.1	Populations d’étude.....	77
4.1.1.2	Population témoin	78
4.1.2	Techniques de prélèvement et de conservation	78
4.1.3	Méthode d’analyse : séquençage de l’ARN 16s.....	78
4.2	Interprétation des résultats.....	79
4.2.1	Réduction de la diversité alpha	79
4.2.2	Composition.....	80
4.2.2.1	Rapport Firmicutes/Bacteroidetes	80
4.2.2.2	Augmentation balancée des protéobactéries	81
4.3	Perspectives.....	81
	Conclusion	83
	Bibliographie	84

Table des annexes

Annexe 1 : Classification taxonomique des principales bactéries retrouvées dans le microbiote intestinal de chien	102
Annexe 2 : Questionnaire de demande de renseignements sur les chiens prélevés	103
Annexe 3 : Échelle de note d'état corporel utilisée (échelle WSAVA).....	106
Annexe 4 : Échelle de score fécal utilisée (échelle PURINA Proplan)	107

Table des figures

Figure 1 : Stratégie globale : L'ensemble des ADNs présents dans un échantillon de microbiote sont séquencés.....	18
Figure 2 : Stratégie ciblée : Seuls les ADNs du gène cible sont séquencés (en bactériologie, le gène cible est l'ARN 16S).....	18
Figure 3 : Schématisation de la notion de diversité alpha et bêta	19
Figure 4 : Similarités des séquences d'ARN 16S entre plusieurs bactéries. Sous le graphique figurent les différents couples d'amorces utilisables (Schutz).	21
Figure 5 : Schématisation de la stratégie « close-reference : chaque séquence est recherchée dans une base de données et assignée à son taxon (Schutz).	21
Figure 6 : Les séquences sont comparées entre elles pour former des groupes similaires ou clusters	22
Figure 7 : Exemple de table des OTUs obtenues à partir de trois échantillons	22
Figure 8 : Représentation graphique des 4 principaux phyla du côlon chez un chien sain d'après (Suchodolski, Camacho, Steiner 2008b)	24
Figure 9 : Contributions de l'hôte et des bactéries à l'utilisation de glucides dans les intestins (Hooper, Midtvedt, Gordon 2002).....	27
Figure 10 : Écologie du développement de l'intestin postnatal chez les mammifères	35
Figure 11 : Abondance relative des principaux phylums du chien à différents âges.....	36
Figure 12 : Aperçu des influences anti- et pro-inflammatoires des interventions diététiques chez le chien. (Rhimi et al. 2022).....	38
Figure 13 : Répartition des deux groupes prédominants de Clostridium XI et XIVa le long du tractus intestinal du chien (Suchodolski, Camacho, Steiner 2008).....	40
Figure 14 : Évolution du microbiote intestinal le long du tractus digestif du chien (Hernandez Juan et al. 2022).....	40
Figure 15 : Résultats des tests PCR quantitatifs pour les groupes bactériens Faecalibacterium spp et Turicibacter spp. CT = chiens MICI traités par thérapie combinée (métronidazole + prednisone), VSL#3 = chiens MICI traités avec le probiotique	43
Figure 16 : Classification des entéropathies inflammatoires chroniques par (Dupouy-Manescau et al. 2024)	48
Figure 17 : Composition au niveau du phylum de la flore bactérienne duodénale de chiens sains (Control dogs) et de chiens atteints de MICI (IBD dogs) (Xenoulis et al. 2008).....	53
Figure 18 : Modèle physiopathologique du dysmétabolisme des acides biliaires luminaux dans les maladies inflammatoires de l'intestin (Duboc et al. 2013).....	54
Figure 19 : Implication du serpinome intestinal dans l'homéostasie intestinale et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Mkaouar et al. 2021)	55

Figure 20 : Schéma bilan sur les modifications environnementales en cas d'entéropathie inflammatoire chronique du chien par (Hernandez et al. 2022)	56
Figure 21 : Étapes de l'analyse primaire du traitement bio-informatique	67
Figure 22 : Évaluation de la diversité alpha du microbiote intestinal de trois races de chiens	71
Figure 23 : Évaluation de la diversité bêta du microbiote intestinal de trois races de chiens	72
Figure 24 : Composition du microbiote à l'échelle de phylum de trois races de chiens	73
Figure 25 : Abondance relative des différentes familles appartenant au phylum des Firmicutes chez trois races de chiens	74
Figure 26 : Abondance relative des Bacteroidaceades chez trois races de chiens	74
Figure 27 : Abondance relative des familles appartenant aux Proteobacteria chez trois races de chiens	75
Figure 28 : Abondance relative des différents genres appartenant au phylum Firmicutes et composant le microbiote intestinal de trois races de chiens	75
Figure 29 : Abondance relative du genre Bacteroides (A) et Fusobacterium (B) chez trois races de chiens	76

Table des tableaux

Tableau I : Rôles pluri-systémiques des AGCC (Lavelle, Sokol 2020).....	29
Tableau II : Effets biologiques des bactéries probiotiques démontrés dans des modèles expérimentaux (Rioux, Madsen, Fedorak 2005)	42
Tableau III : Modifications microbiennes signalées chez les chiens atteints d’EIC.....	51
Tableau IV : Résumé des informations de la cohorte d’étude.....	70
Tableau V : Proportion relative des différents phylums du microbiote intestinal de deux races prédisposées aux entéropathies chroniques (Berger Allemand, Yorkshire Terrier) par rapport à la race témoin (Berger Australien).....	73

Table des abréviations

- AB : Acide biliaire
- AC : Acide cholique
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AGCC : Acide gras à chaîne courte
- Ang4 : Angiogénine 4
- ARE : Entéropathie répondant aux antibiotiques
- ARN : Acide ribonucléique
- ATP : Adénosine triphosphate
- BAI : Enzymes induites par les acides biliaires
- BARF : régime alimentaire à base de viande crue
- BSH : Hydrolase des sels biliaires
- CDCA : Acide chénodésoxycholique
- CU : Colite ulcéreuse
- DAMP : Damage Associated Molecular Pattern
- DCA : Acide désoxycholique
- EC : Entéropathie chronique
- EIC : Entéropathie inflammatoire chronique
- FISH : Hybridation fluorescente in situ
- FMF : Fièvre méditerranéenne familiale
- FRE : Entéropathie répondant aux changements alimentaires
- FXR : récepteur farnésioïde X
- HP : Haut taux de protéine
- HtrA : Sérines protéases A à haute température
- IBD : Entéropathie inflammatoire chronique
- ICC : Indice de condition corporel
- Ig : Immunoglobuline
- IL : Interleukine
- INRAE : Institut national de recherche pour l'agricu
- IRE : Entéropathie répondant aux immunomodulat
- IRF : Facteurs Régulateurs de l'Interféron
- LB : Lymphocytes B
- LCA : Acide lithocholique
- LP : Faible taux protéique
- LRR : Répétitions riches en leucine
- LT : Lymphocyte T
- MC : Maladie de Crohn
- MIHA : Microbiota Interaction with Human and Animal
- MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin
- MrMRE : Entéropathies répondant aux modulations du microbiote
- NFR : Répétitions riches en leucine
- NF-kb : Facteur nucléaire kappa-beta
- NGS : Séquençage haut débit
- NLR : Récepteur Nodlike
- NOD : Récepteurs du domaine d'oligomérisation des nucléotides
- NRE : Entéropathie non répondante
- OTU : Operational Taxonomic Unit
- PAR : Récepteur activateur de protéases
- PAMP : Récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires associés aux pathogènes
- PCR : Réaction de polymérisation en chaîne
- PLE : Entéropathie avec perte de protéines
- PRR : Récepteur de reconnaissance des motifs moléculaires
- PSA : Polysaccharide A
- qPCR : PCR quantitative
- RIP2 : Récepteur interagissant avec la protéine kinase 2
- spp : Subspecies
- TGF-b : Facteur de croissance transformant
- TGR5 : Récepteur 5 couplé à la protéine G Takeda
- TLR : Récepteur Toll-like
- TNF : Facteur de nécrose tumorale
- UDCA : Acide ursodésoxycholique

Introduction

Le microbiote intestinal, constitué de milliards de micro-organismes, joue un rôle essentiel dans la santé et le bien-être de son hôte. Il est composé principalement de bactéries, mais aussi de virus, champignons et autres micro-organismes qui interagissent avec l'organisme de façon complexe et constante. Ces micro-organismes vivent en symbiose avec leur hôte, contribuant à des fonctions vitales telles que la digestion, l'optimisation de l'utilisation des nutriments, la production de vitamines et autres métabolites impliqués dans l'intégrité de l'épithélium intestinal, ainsi que la modulation du système immunitaire. Par ailleurs, le microbiote intestinal joue également un rôle clé dans la protection contre les agents pathogènes, en occupant l'espace et en produisant des substances antimicrobiennes.

Le microbiote intestinal évolue continuellement tout au long de la vie. Sa composition est influencée par de nombreux facteurs extrinsèques, tels que l'environnement et l'alimentation, ainsi que par des facteurs intrinsèques, comme l'état de santé, les agents infectieux auxquelles l'hôte est exposé ou les traitements médicamenteux qu'il peut recevoir. Ces variations du microbiote sont le reflet de son adaptabilité et de sa capacité à répondre aux changements physiologiques et environnementaux de l'hôte.

Outre ces facteurs généraux, il est désormais bien établi que la génétique est un facteur déterminant de la composition du microbiote intestinal chez l'Homme ainsi que chez le chien. Chez le chien, certaines races montrent une susceptibilité accrue à des affections gastro-intestinales chroniques. Le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans le développement et le maintien de ces maladies digestives chroniques. Ainsi, les altérations pathologiques du microbiote, appelées dysbioses, sont couramment observées chez les chiens atteints d'entéropathie chronique, et ces perturbations microbiennes peuvent à la fois aggraver la maladie et ouvrir la voie à des interventions thérapeutiques ciblées.

Dans ce contexte, l'étude du microbiote intestinal chez les races de chiens prédisposées à certaines affections digestives représente un axe de recherche prometteur pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de ces maladies. De plus, la modulation du microbiote pourrait offrir de nouvelles perspectives thérapeutiques, en corrigeant les déséquilibres microbiens pour restaurer la santé intestinale. La présente thèse s'intéresse à l'influence de la race sur la composition du microbiote fécal chez trois races de chiens : le Berger Australien, utilisé comme race témoin car ne possédant aucune prédisposition à des maladies digestives, le Berger Allemand et le Yorkshire Terriers, deux races prédisposées aux entéropathies chroniques (EC).

L'objectif de cette étude est de comparer la composition du microbiote fécal de ces trois races de chiens, pour tenter d'expliquer les susceptibilités raciales à certaines maladies gastro-intestinales chroniques. En explorant cette influence, nous espérons mieux comprendre les interactions entre la génétique de l'hôte, le microbiote et la santé intestinale, et ainsi ouvrir la voie à des stratégies diagnostiques et thérapeutiques ciblées.

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Le microbiote intestinal du chien

1.1 Généralités et définitions

1.1.1 Microbiote

Le microbiote désigne la communauté complexe de micro-organismes, comprenant principalement des bactéries mais aussi des virus, des champignons ou des archées, qui résident dans un environnement spécifique (hôte ou matière). Il regroupe des milliers d'espèces différentes, et on estime à plusieurs kilogrammes la masse cumulée de l'ensemble de ces micro-organismes.

Chez les mammifères comme chez l'humain, il existe plusieurs types de microbiotes. Les plus étudiés sont les microbiotes cutané, respiratoire, génital et digestif notamment. Notre étude se focalisera exclusivement sur ce dernier appelé communément le microbiote intestinal.

Cette communauté microbienne interagit de manière dynamique avec l'hôte, influençant divers aspects physiologiques et métaboliques allant de la digestion des aliments à la modulation du système immunitaire.

1.1.2 Microbiome

Le microbiome caractérise l'ensemble du génome exprimé par le microbiote.

La caractérisation et l'étude du microbiome sont rendues possibles par des techniques de séquençage à haut débit, qui permettent d'analyser le matériel génétique des micro-organismes présents dans un échantillon. Ces analyses fournissent des informations sur la diversité, l'abondance et la fonction des différents membres du microbiote, ainsi que sur leurs interactions avec leur environnement ou leur hôte.

1.1.3 Métagénomique

La métagénomique est une discipline scientifique qui étudie les génomes collectifs d'une communauté microbienne présente dans un environnement donné, sans avoir besoin d'isoler et de cultiver chaque micro-organisme individuellement. Cette approche permet d'analyser la diversité génétique et fonctionnelle des micro-organismes présents dans un échantillon. La métagénomique utilise des techniques de séquençage à haut débit pour obtenir des millions de fragments d'ADN ou d'ARN à partir de l'échantillon à analyser. Il existe deux grandes stratégies de séquençage en métagénomique : la stratégie globale et la stratégie ciblée.

- **La métagénomique globale** consiste à fragmenter **tous** les ADN présents dans un échantillon en courts fragments et à les séquencer à l'aide d'un séquenceur haut débit (d'où le nom de « Shotgun sequencing »). Les séquences (ou *reads*) obtenues sont réassemblées bioinformatiquement afin de reconstruire les génomes bactériens d'origine.



Figure 1 : Stratégie globale : L'ensemble des ADNs présents dans un échantillon de microbiote sont séquencés

- **La métagénomique ciblée** consiste à séquencer un unique gène au lieu d'un génome complet. Ce gène doit être commun à plusieurs espèces tout en présentant des régions suffisamment variables afin de discriminer une espèce. En bactériologie, le gène utilisé est celui de l'ARN 16S. Il s'agit d'un gène présent uniquement chez les bactéries.

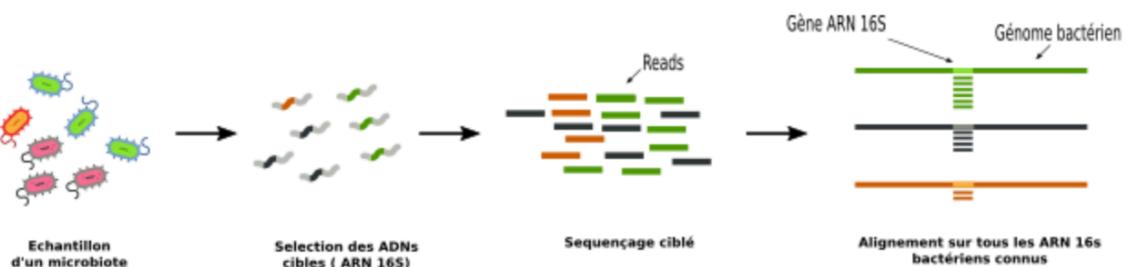


Figure 2 : Stratégie ciblée : Seuls les ADNs du gène cible sont séquencés (en bactériologie, le gène cible est l'ARN 16S)

La métagénomique globale est plus précise que la métagénomique ciblée. Cette première stratégie permet par exemple d'étudier le métabolome, le protéome...

La stratégie ciblée est plus sélective. Le gène de l'ARN 16S est présent uniquement chez les bactéries qui seront donc les seules séquencées, alors que la stratégie globale séquence tous les ADN présents dans le milieu sans discernement, qu'ils soient bactériens, viraux ou encore humains. Enfin, les algorithmes de traitement des données issues d'un séquençage ciblé sont beaucoup plus simples que les assemblages de génomes nécessaires dans le séquençage global.

1.1.4 Notion de diversité α et β

En métagénomique, les indices de diversité alpha et bêta sont deux façons de mesurer la diversité des micro-organismes dans un échantillon.

La diversité **alpha** se concentre sur la richesse de l'échantillon à travers la variété des espèces qu'il comprend. Cette donnée n'est toutefois pas suffisante pour évaluer la diversité, comme démontré dans la figure ci-dessous.

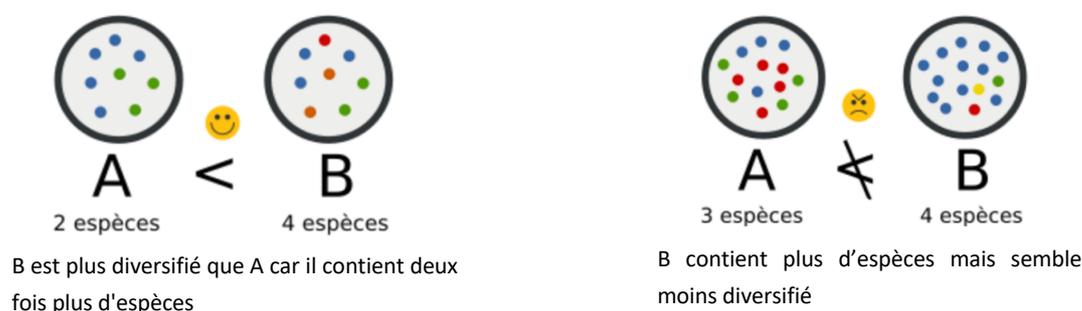


Figure 3 : Schématisation de la notion de diversité alpha et bêta

La diversité **bêta** compare la variété des espèces entre plusieurs échantillons.

1.1.5 Phylogénétique

La phylogénétique est une discipline scientifique qui étudie les relations évolutives entre les êtres vivants, en reconstruisant leur histoire évolutive à partir de données génétiques, morphologiques, comportementales et écologiques. Son objectif principal est de comprendre comment les différentes espèces sont liées entre elles sur l'arbre de la vie et comment elles ont évolué à partir d'un ancêtre commun. En bactériologie, la phylogénétique permet de classer les bactéries en groupes taxonomiques tels que les phyla, les genres, les espèces, en se basant sur leurs similarités génétiques et évolutives.

En considérant l'exemple de *Bacteroides fragilis*, une bactérie commensale du tube digestif des chiens notamment, la classification phylogénétique est la suivante :

Règne : *Bacteria* (Bactéries)

Phylum : *Bacteroidetes*

Classe : *Bacteroidia*

Ordre : *Bacteroidales*

Famille : *Bacteroidaceae*

Genre : *Bacteroides*

Espèce : *Bacteroides fragilis*

La métagénomique ajoute un niveau supplémentaire à cette classification : l'OTU (Operational Taxonomic Unit) qui correspond à un groupe d'individus dont les séquences 16S (autrement appelés « reads ») sont similaires à au moins 97% et sont ainsi regroupées en « espèce moléculaire ».

1.2 Méthodes d'analyses du microbiote intestinal

1.2.1 Culture microbiologique

L'analyse du microbiote par culture consiste à cultiver les micro-organismes sur des milieux spécifiques adaptés à leurs besoins en nutriments, température et pH.

Une fois les micro-organismes cultivés, ils sont identifiés et caractérisés par diverses techniques : observation de leur morphologie sous microscope, coloration de Gram, tests biochimiques et séquençage d'ADN.

L'analyse du microbiote par culture présente plusieurs avantages. Elle permet l'isolement et la caractérisation de micro-organismes spécifiques, la détermination de leurs propriétés métaboliques et de leur sensibilité aux antibiotiques, et la production de cultures pures pour des études ultérieures. Cependant, cette méthode a des limites importantes. De nombreux micro-organismes ne peuvent pas être cultivés en laboratoire en raison de conditions de croissance spécifiques non encore connues ou de leur dépendance à d'autres organismes pour leur survie. De plus, l'analyse par culture peut sous-estimer la diversité réelle du microbiote, car certains micro-organismes sont difficiles à cultiver ou sont présents en très faible quantité dans un échantillon.

Pour surmonter ces limites, la génomique, notamment l'étude de l'ARN/ADN 16s, est désormais largement utilisée. Cette approche a permis d'identifier de nombreux nouveaux phylotypes bactériens, offrant une vision plus complète de la diversité microbienne et compensant les lacunes des méthodes de culture traditionnelles.

1.2.2 Séquençage ARN16s

Le séquençage de l'ARN 16S est une technique employée pour étudier la diversité microbienne en ciblant une région spécifique de l'ARN ribosomique (ARNr) présente dans le génome bactérien. Cette méthode repose sur la capacité de l'ARN 16S à varier légèrement d'une espèce bactérienne à une autre, tout en conservant certaines régions identiques. Ces régions conservées permettent l'utilisation d'amorces pour la PCR (Réaction en Chaîne par Polymérase). Les principales étapes du séquençage de l'ARN 16S sont les suivantes :

→ Extraction de l'ADN bactérien : L'ADN, y compris l'ARN 16S bactérien, est extrait à partir de l'échantillon biologique (par exemple, les selles dans notre cas).

→ Amplification de l'ARN 16S par PCR : Des amorces spécifiques ciblant la région de l'ARN 16S sont utilisées pour l'amplifier via la PCR. Ces amorces, conçues pour se fixer aux régions conservées de l'ARN 16S, permettent l'amplification spécifique de cette région sur l'ensemble des espèces bactériennes présentes dans l'échantillon. Le couple d'amorces V3-V5, illustré dans la figure E, permet par exemple de séquencer une région de 500 nucléotides contenant trois régions variables.



Figure 4 : Similarités des séquences d'ARN 16S entre plusieurs bactéries. Sous le graphique figurent les différents couples d'amorces utilisables (Schutz).

→ Séquençage de l'ARN 16S : Les fragments amplifiés d'ARN 16S sont ensuite séquencés par différentes techniques telles que le séquençage par chromatographie de Sanger traditionnel ou le séquençage à haut débit (NGS). Ces séquences fournissent des informations sur la composition et la diversité des espèces bactériennes présentes dans l'échantillon.

→ Analyse bioinformatique : L'analyse bioinformatique fait suite au séquençage et un fichier contenant l'ensemble des "reads" (séquences) est obtenu. Après plusieurs étapes de filtrage et de nettoyage des données, chaque séquence doit être assignée à une espèce bactérienne. Deux stratégies peuvent être employées pour cela.

La stratégie close-reference consiste à comparer chaque séquence aux séquences présentes dans une base de données, généralement avec un seuil de 97% de similarité. Les bases de données les plus couramment utilisées pour l'ARN 16S incluent Greengenes, Silva, et RDP. Cette stratégie est rapide, mais elle présente l'inconvénient d'ignorer les séquences absentes des bases de données. Pour remédier à ce problème, une deuxième stratégie peut être utilisée.



Figure 5 : Schématisation de la stratégie « close-reference : chaque séquence est recherchée dans une base de données et assignée à son taxon (Schutz).

La stratégie *de novo* n'utilise pas de base de données ; elle consiste à comparer les séquences entre elles, puis à les regrouper par similarité. Les clusters ainsi formés sélectionnent une séquence consensus qui peut ensuite être annotée à l'aide d'une base de données ou rester non annotée, définissant ainsi une espèce inconnue.



Figure 6 : Les séquences sont comparées entre elles pour former des groupes similaires ou clusters

Une fois l'assignation taxonomique réalisée, il suffit de compter le nombre d'espèces présentes dans chaque échantillon et de construire la table des OTUs.

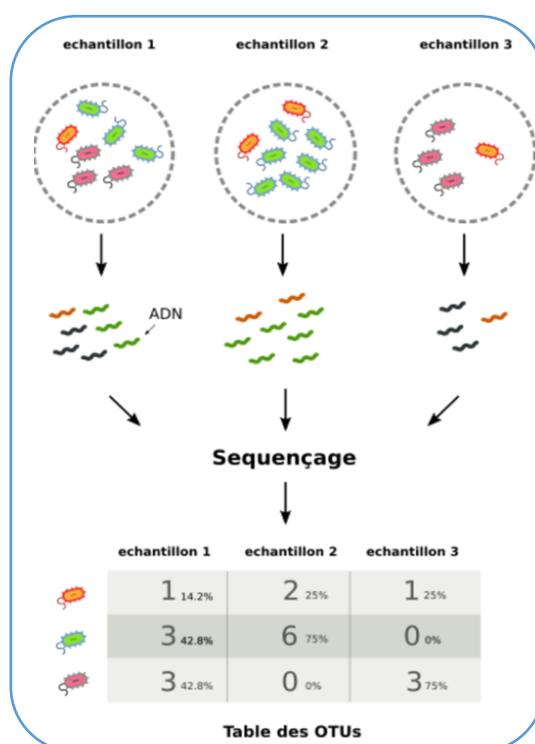


Figure 7 : Exemple de table des OTUs obtenues à partir de trois échantillons

La table des OTUs est un tableau à double entrée qui contient le nombre de séquences par OTU et par échantillon. Ces valeurs représentent les abondances. Les abondances absolues sont normalisées pour rendre les échantillons comparables. Parmi les diverses méthodes de normalisation, la plus courante est l'utilisation des pourcentages. Par exemple, sur la figure 7, les échantillons 1 et 3 ont tous deux une abondance absolue de 3 en bactéries rouges. En pourcentage, leurs abondances relatives deviennent 42,8% et 75% respectivement.

1.2.3 qPCR

La technique de PCR quantitative, également appelée qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction), est une méthode utilisée pour quantifier l'ADN ou l'ARN cible présent dans un échantillon. Le principe de la qPCR repose sur la même base que la PCR traditionnelle, mais elle permet également de déterminer la quantité initiale de la cible présente dans l'échantillon.

La qPCR offre une sensibilité élevée et une bonne précision, ce qui en fait une technique puissante pour de nombreuses applications de recherche et diagnostic. Cependant elle présente plusieurs limites lorsqu'il s'agit d'une analyse globale du microbiote fécal. En effet, la qPCR ne peut quantifier que des groupes spécifiques de micro-organismes pour lesquels des amorces sont conçues à l'avance. Cela signifie qu'elle ne peut pas identifier de nouvelles espèces bactériennes et fournir une vue d'ensemble complète du microbiote, contrairement à des techniques comme le séquençage de l'ARNr 16S. De plus, la qPCR se concentre sur l'identification et la quantification des organismes, mais elle ne fournit aucune information sur leurs fonctions métaboliques ou leurs activités.

1.2.4 Fluorescence In Situ Hybridization

La technique d'analyse FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*) est une méthode utilisée pour détecter et localiser spécifiquement des séquences d'ADN ou d'ARN dans des échantillons biologiques. Le principe de la technique FISH repose sur l'hybridation de sondes fluorescentes complémentaires à la séquence cible dans l'échantillon, suivie de la détection de la fluorescence émise par les sondes liées.

Bien que cette méthode soit utile pour localiser les micro-organismes et étudier leur abondance, elle présente plusieurs limites pour l'étude globale du microbiote intestinal. Comme pour la qPCR, la FISH repose sur l'utilisation de sondes spécifiques qui ciblent des séquences d'ARNr et donc cette technique se limite à l'étude de bactéries préalablement identifiées uniquement. Cette technique qualitative et semi-quantitative ne permet pas non plus d'évaluer l'impact fonctionnel de la microflore intestinale.

1.3 Composition du microbiote intestinal

1.3.1 Bactéries

De nouvelles approches d'identification bactérienne ont révélé que le microbiote gastro-intestinal des chiens et des chats est, comme celui des humains, un écosystème très complexe, comprenant au moins plusieurs centaines de phylotypes bactériens différents. Il a été suggéré que l'intestin des mammifères abrite au total entre 10^{10} et 10^{14} cellules microbiennes, soit environ 10 fois plus que le nombre de cellules hôtes (Suchodolski 2011; Honneffer et al. 2014).

En moyenne, dix phyla bactériens différents ont été identifiés dans l'intestin du chien et du chat, avec quatre phyla décrits comme prépondérants : les Firmicutes, les Fusobacteria, les Bacteroidetes et les Proteobacteria (Suchodolski et al. 2008). Les Actinobacteria sont également décrites mais présentes en fraction mineure dans la composition globale (Blake, Suchodolski 2016; Honneffer et al. 2017). Les proportions relatives de ces différents phyla varient en fonction des études et des techniques d'analyse utilisées. Le détail de la classification taxonomique des principales espèces bactériennes rencontrées dans le microbiote intestinal du chien est disponible en Annexe 1.

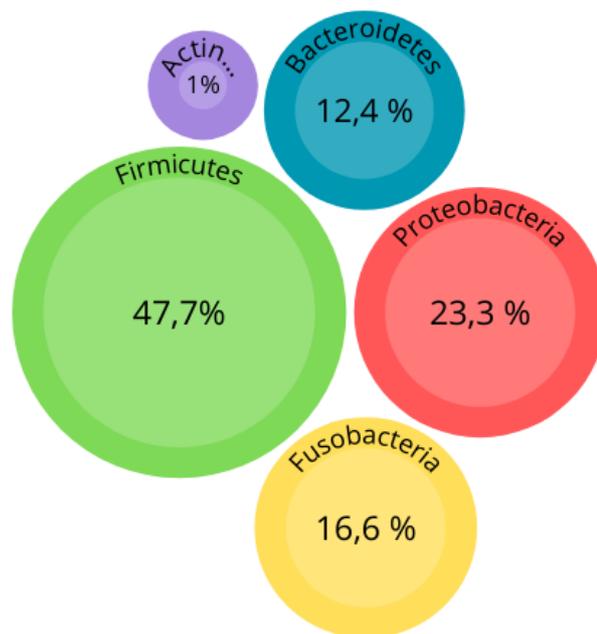


Figure 8 : Représentation graphique des 4 principaux phyla du côlon chez un chien sain d'après (Suchodolski, Camacho, Steiner 2008b)

Les *Firmicutes*, un phylum bactérien largement répandu dans toutes les parties du tractus gastro-intestinal du chien représente entre 14 et 97% des séquences totales détectées dans le microbiote fécal (Panasevich et al. 2015; Kerr et al. 2013). Les *Clostridiales* forment un des ordres les plus abondants composant ce phylum. Cet ordre se divise en plusieurs groupes phylogénétiquement distincts de *Clostridium*. Les groupes XIVa et IV de *Clostridium* représentent environ 60 % des *Clostridiales* et incluent de nombreuses bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte (AGCC) essentiels, telles que *Ruminococcus spp.*, *Faecalibacterium spp.*, *Dorea spp.*, et *Turicibacter spp.*

Les *Proteobacteria* sont le deuxième phylum bactérien le plus abondant dans plusieurs études. Il comprend diverses classes notamment :

- Les *Gamma-proteobactéria* (incluant des genres *Escherichia* et *Salmonella*) ;
- Les *Epsilon-proteobactéria*, telles que *Campylobacter*, pouvant être associées à des infections gastro-intestinales ou à des déséquilibres microbiens.

Certaines Proteobacteria jouent un rôle bénéfique en contribuant à la digestion et au métabolisme des nutriments dans l'intestin des chiens. Elles peuvent participer à la production d'AGCC, essentiels pour la santé intestinale.

Les *Bacteroidetes* sont un phylum bactérien représentant entre 1 et 19% des séquences totales d'un échantillon fécal (Panasevich et al. 2015; Kerr et al. 2013). Il est composé de plusieurs familles dont les *Bacteroidaceae* et les *Prevotellaceae* notamment.

La description de cette composition bactérienne varie selon les études, que ce soit au niveau du phylum, du genre ou de l'espèce.

1.3.2 Champignons

Des études utilisant la culture microbiologique comme outil principal ont signalé la présence de levures et de moisissures dans l'intestin grêle d'environ 25 % de chiens Beagle en bonne santé (Mentula et al. 2005). Il existe des avis contradictoires sur le rôle des levures dans l'intestin. Les levures ont été isolées plutôt dans la partie supérieure de l'intestin. Certains supposent qu'elles puissent faire partie du microbiote normal, mais agir comme des agents pathogènes opportunistes dans des conditions favorables. Il est donc possible que leur présence dans le côlon ne soit possible qu'à la faveur d'une destruction bactérienne locale, induisant ainsi des troubles intestinaux (Mentula et al. 2005; Davis et al. 1977).

Des informations limitées sont disponibles sur la prévalence et la classification phylogénétique des organismes fongiques dans le système gastro-intestinal du chien. Une étude utilisant les outils moléculaires a mis en évidence la présence de champignons dans l'intestin grêle de 60,9 % des chiens dits « sains » et de 76 % des chiens atteints d'entéropathie chronique (Suchodolski et al. 2008). Cette étude met en avant certains phyla fongiques prépondérants tels qu'*Ascomycota* ou *Basidiomycota*.

Différents phyla de champignons ont été mis en évidence mais représentent chacun moins de 0,1 % du microbiote fécal (Swanson et al. 2011). Les champignons sont des micro-organismes plutôt localisés au niveau de l'épithélium et moins au niveau de la lumière du tube digestif, ce qui pourrait expliquer en partie leur prévalence faible dans ces études menées sur les fèces.

1.3.3 Virus

L'analyse métagénomique du microbiote fécal du chien a permis de montrer que les virus comptent pour moins de 1% de toutes les séquences retrouvées dans ce microbiote (Swanson et al. 2011). La connaissance de ces communautés virales dans le tractus gastro-intestinal est limitée à quelques

familles (dont les rotavirus, les coronavirus et les parvovirus). Seuls les ordres Caudovirales et Iridoviridae ont été identifiés. Au sein des Caudovirales, trois familles ont été observées (Myoviridae, Podoviridae et Siphoviridae) et toutes les séquences ont été classées comme bactériophages.

Chez l'humain, la communauté virale du tractus gastro-intestinal est très diversifiée, avec plusieurs centaines de phylotypes différents (Breitbart et al. 2003). Il est probable qu'une communauté virale diversifiée similaire soit présente chez les chiens et les chats, mais leur caractérisation approfondie nécessite une couverture de séquences plus approfondie. De plus, les études actuellement publiées n'ont permis que la découverte de l'ADN double brin. Les études futures devront rechercher les virus à ARN pour compléter notre compréhension de l'écosystème viral intestinal.

1.4 Rôle et importance du microbiote intestinal

1.4.1 Une relation mutualiste

Le tube digestif, en tant qu'environnement biochimique complexe, constitue le centre de la symbiose entre l'hôte et son microbiote. L'hôte fournit un environnement riche en nutriments et le microbiote remplit des fonctions et produit des métabolites pour l'hôte qui autrement seraient limités ou inaccessibles. Ainsi, cette description suggère que le terme « mutualisme » semble mieux adapté pour décrire cette relation que le terme « commensalisme ». En effet, « commensalisme », dérivé du latin signifiant « à table ensemble », décrit plutôt une relation de tolérance où ni l'une ni l'autre des parties n'en tire d'avantage direct (Hooper 2004).

Étant donné que l'intestin abrite la grande majorité de nos bactéries, l'impact de ces communautés microbiennes mutualistes sur notre physiologie y est plus prononcé. La présence de nombreuses espèces bactériennes dans l'intestin rend extrêmement difficile la détermination des contributions spécifiques de chaque espèce à un processus biologique particulier. Certaines études ont donc utilisé des souris axéniques, c'est-à-dire dépourvues de toute colonisation pour évaluer l'impact du microbiote sur la biologie digestive.

1.4.2 Optimisation de l'utilisation des nutriments

1.4.2.1 Production d'énergie

L'hôte et le microbiote intestinal utilisent tous deux l'alimentation comme source d'énergie, ce qui pourrait suggérer une compétition pour l'accès aux ressources. Cependant, en comparant les souris axéniques à celles élevées conventionnellement, on se rend compte que ces dernières nécessitent 30 % de calories en moins pour maintenir le même poids, soulignant ainsi la capacité du microbiote à extraire l'énergie de l'alimentation disponible (Hooper et al. 2002). Deux mécanismes principaux

semblent à l'œuvre pour expliquer ce résultat. Premièrement, la microflore est capable de convertir des aliments en nutriments disponibles pour l'hôte, mais elle peut également agir sur les processus métaboliques de l'hôte pour favoriser l'absorption et l'utilisation de ces nutriments.

Les glucides font partie intégrante du régime alimentaire canin. Ils sont composés de monosaccharides, qui sont métabolisables par le chien lui-même dans la partie proximale du tube digestif, et de polysaccharides tels que l'amidon ou les parois végétales, dont la plupart ne sont pas hydrolysables par l'hôte et se retrouvent dans la partie distale du tube digestif. Les micro-organismes, présents en abondance dans le côlon, sont capables d'hydrolyser ces polysaccharides pour produire de l'énergie, qu'ils utilisent, et des acides gras à courte chaîne assimilables par l'hôte.

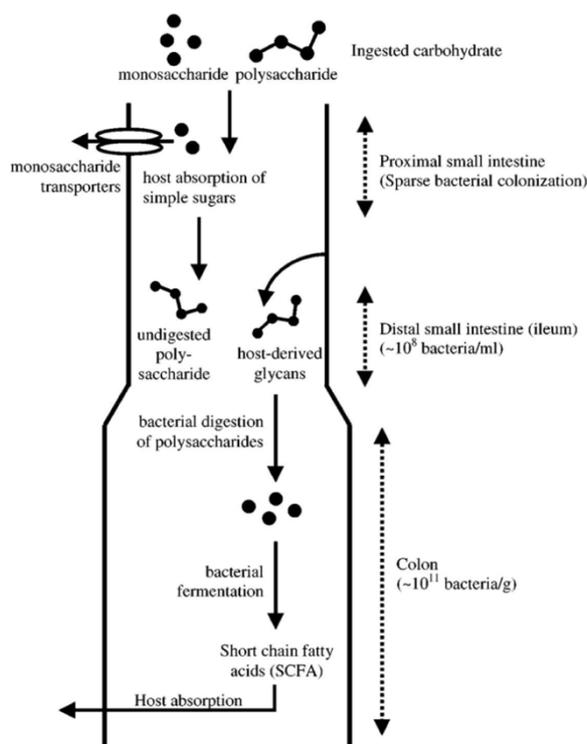


Figure 9 : Contributions de l'hôte et des bactéries à l'utilisation de glucides dans les intestins (Hooper, Midtvedt, Gordon 2002)

Le genre *Bactéroides* est un des genres prépondérants des régions distales de l'intestin. Cette abondance peut s'expliquer par la capacité de ces bactéries à dégrader et fermenter une large gamme de polysaccharides (Hooper et al. 2002).

1.4.2.2 Stimulation de l'absorption

La colonisation du tube digestif par le microbiote intestinal améliore l'absorption des nutriments par différents processus :

- Augmentation de l'expression de pompes Na⁺/glucose ou d'enzymes du métabolisme lipidique (lipases, apolipoprotéines) (Hooper 2004)

- Absorption des micro-nutriments par stimulation de l'expression des transporteurs épithéliaux en cuivre ou par inhibition de l'expression des métallothionéines (protéines séquestratrices de métaux lourds) (Hooper et al. 2002).
- Stimulation de l'angiogenèse locale par le microbiote intestinal via l'augmentation de l'expression de l'angiogénine-3 (Ang3)(Hooper et al. 2001).
- Stimulation l'expression de certaines enzymes d'oxydation et de conjugaison des xénobiotiques ou toxines endogènes (Hooper et al. 2001).

Les chiens dépourvus de microbiote intestinal présentent des altérations morphologiques de leur barrière digestive qui est plus fine, avec des villosités déformées ainsi qu'une lamina propria et une muqueuse moins épaisse (Thompson, Trexler 1971). L'étude de souris axéniques a également permis de mettre en évidence des différences de phénotypes majeures telles qu'une hypertrophie du caecum et une modification dans la cinétique de renouvellement des cellules épithéliales (Thompson, Trexler 1971).

1.4.3 Rôles des acides gras à chaîne courte (AGCC)

Les produits finaux prédominants de la fermentation bactérienne dans l'intestin sont les acides gras à chaîne courte (AGCC). Les trois principaux AGCC produits dans le côlon sont l'acétate (produit par un grand nombre de bactéries), le propionate (produit par les bactéries des phyla *Bacteroidetes* et *Firmicutes*) et le butyrate (produit uniquement par certaines *clostridies*) respectivement en proportion de 70, 20 et 10% chez l'Homme (Lavelle, Sokol 2020). Ces proportions sont variables selon les régimes alimentaires (Hooper et al. 2002).Après extraction microbienne de l'ATP, la production d'AGCC semble représenter 60 à 75 % de la teneur énergétique des glucides ingérés (Bergman 1990). Chez les non-ruminants, les AGCC sont absorbés par diffusion passive à travers l'épithélium dans le caecum et le côlon. Les trois AGCC cités précédemment sont métabolisés par des organes différents dans l'organisme hôte : le propionate par le foie, le butyrate par l'épithélium intestinal et l'acétate par les tissus périphériques (muscles squelettiques et cardiaques, adipocytes) ((Bergman 1990), (Hooper et al. 2002)). Les différents rôles rapportés des AGCC sont résumés dans le tableau I.

Tableau I : Rôles pluri-systémiques des AGCC (Lavelle, Sokol 2020)

Étude utilisée	Rôle mis en évidence
(Hooper et al. 2002)	<ul style="list-style-type: none"> • Absorption passive d'eau et d'ions • Synthèse vitamine B et K • Stimulation du flux sanguin
(Smith et al. 2013), (Atarashi et al. 2013)	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation du nombre de cellules T-régulatrices intestinales • Effet protecteur dans les cas de colites animales
(Davie 2003)	<ul style="list-style-type: none"> • Effets antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses
(Chang et al. 2014)	<ul style="list-style-type: none"> • Régulation des macrophages intestinaux
(Frost et al. 2014)	<ul style="list-style-type: none"> • Régulation de l'appétit
(Larraufie et al. 2018)	<ul style="list-style-type: none"> • Modulation de la motilité intestinale et action sur le métabolisme énergétique par stimulation de la sécrétion du peptide YY et du Glucagon-like peptide 1 (GPL1)
(Michielan, D'Incà 2015)	<ul style="list-style-type: none"> • Renforcement des jonctions serrées et maintien de la barrière intestinale

À travers leur impact pluri-systémique les AGCC semblent être des molécules carrefours dans le maintien de l'homéostasie de l'hôte comme du microbiote.

1.4.4 Biotransformation des acides biliaires

Les acides biliaires sont de petites molécules synthétisées à partir du cholestérol par le foie au cours d'un processus multi-enzymatique. Les produits, l'acide cholique (AC) et l'acide chénodésoxycholique (CDCA), sont conjugués à la taurine ou à la glycine. Leur libération dans l'intestin permet une optimisation de la digestion des lipides chez l'hôte (Ridlon et al. 2006).

Le microbiote intestinal joue un rôle crucial dans la diversité des acides biliaires. Les enzymes bactériennes intestinales modifient ces acides biliaires en les déconjuguant et en les déshydroxylant pour former des acides biliaires non conjugués. Ces enzymes microbiennes, telles que l'hydrolase des sels biliaires (BSH) et les enzymes induites par les acides biliaires (BAI), sont essentielles à l'homéostasie des acides biliaires chez l'hôte, représentant ainsi une contribution cruciale du microbiote intestinal à sa santé (Lavelle, Sokol 2020).

Enfin, les acides biliaires qui atteignent le côlon sont convertis en acides biliaires secondaires, une fonction qui est limitée à une gamme beaucoup plus étroite d'espèces de *clostridies*. Ces acides biliaires secondaires (acide désoxycholique (DCA), acide lithocholique (LCA) et acide ursodésoxycholique (UDCA)) présentent un effet anti-inflammatoire intestinal (Sinha et al. 2020).

Les acides biliaires sont de puissantes molécules de signalisation qui agissent *via* le récepteur farnésoïde X (FXR) et le récepteur 5 couplé à la protéine G Takeda (TGR5). En activant FXR et TGR5, les acides biliaires peuvent influencer divers processus anti-inflammatoires, notamment par le biais de cytokines et chimiokines clés (Sinha et al. 2020).

1.4.5 Utilisation d'acides aminés essentiels : l'exemple du tryptophane

Le tryptophane est un acide aminé essentiel, c'est-à-dire que les chiens ne peuvent pas le synthétiser eux-mêmes et doivent l'obtenir par leur alimentation. Il peut être métabolisé selon trois voies différentes. Les deux principales sont propres à l'hôte (voies de la kynurénine et de la sérotonine) et la troisième est dépendante du microbiote intestinal (voie des indoles et dérivés). Certains de ces dérivés indoliques peuvent interagir avec le récepteur des hydrocarbures aryliques (AhR), un récepteur exerçant principalement des effets protecteurs et anti-inflammatoires dans l'intestin par l'intermédiaire de l'interleukine 22 (IL-22) et des cellules lymphoïdes innées (Lavelle, Sokol 2020). Par ailleurs, les dérivés indoliques générés par une bactérie nommée *Lactobacillus reuteri* sont capables d'activer chez leur hôte des récepteurs présents dans les lymphocytes T CD4+ (LT CD4+) et de produire des lymphocytes intra-épithéliaux doubles positifs. Ces cellules ont une fonction régulatrice complémentaire de celle des lymphocytes T régulateurs (LTregs) et favorisent la tolérance aux antigènes alimentaires (Cervantes-Barragan et al. 2017). Les métabolites du tryptophane ont également démontré des propriétés anti-inflammatoires en renforçant la barrière intestinale, exerçant des effets antioxydants et en augmentant la synthèse d'AGCC (Berstad et al. 2015; Liu et al. 2022).

1.4.6 Activité protéolytique

L'activité protéolytique désigne la capacité d'une enzyme, appelée protéase, à dégrader des protéines en peptides plus courts et en acides aminés en hydrolysant les liaisons peptidiques qui les relient. Ces protéases sont synthétisées à la fois par l'hôte et par les bactéries du microbiote intestinal. L'activité protéolytique joue un rôle clé dans l'homéostasie intestinale *via* divers processus biologiques tels que la dégradation des protéines alimentaires, l'activation ou la dégradation de certaines molécules de l'inflammation (cytokines, chimiokines ...) ou encore le clivage des protéines de la matrice extra-cellulaire de la barrière intestinale. La régulation de cette activité est assurée par la présence d'anti-protéases, des molécules inhibitrices spécifiques des protéases. Une activité

protéolytique excessive peut entraîner des dommages à la muqueuse intestinale et favoriser l'inflammation, tandis qu'une activité insuffisante peut altérer la digestion des protéines et la régulation de la réponse immunitaire. Une fine régulation de cette activité est nécessaire au maintien d'une bonne santé intestinale.

1.4.6.1 *Les protéases de l'hôte*

Les protéases de l'hôte proviennent des sécrétions digestives et des cellules immunitaires infiltrant la paroi intestinale telles que les neutrophiles et les mastocytes. Il existe de nombreuses familles de protéases, mais certaines, telles que les métalloprotéases et les sérines protéases, jouent un rôle particulier dans la santé intestinale. Ces enzymes sont impliquées dans des processus clés, tels que l'angiogenèse, la régulation de l'immunité locale, le maintien de l'intégrité de la barrière intestinale, ainsi que la modulation de la réponse inflammatoire globale (Mariaule et al. 2021). En contexte physiologique, ces protéases sont finement régulées pour empêcher une croissance intrusive et éviter une protéolyse incontrôlée des cellules hôtes (Kim, Kim 2005).

1.4.6.2 *Les protéases du microbiote*

Bien que la contribution des protéases bactériennes à la protéolyse dans le côlon humain soit démontrée depuis plus de 30 ans, le rôle des protéases produites par le microbiote intestinal reste un paramètre peu étudié (Macfarlane et al. 1988). Celles qui ont été identifiées appartiennent aux genres *Bacteroides*, *Streptococcus* et *clostridium* (Macfarlane et al. 1986).

Si l'on développe l'exemple des sérines protéases A à haute température (HtrA), on constate que ces protéases microbiennes sont largement répandues et mises en cause dans les processus inflammatoires et infectieux. En milieu extra-cellulaire, elles peuvent provoquer la colonisation bactérienne et l'invasion du tissu hôte par des pathogènes spécifiques ((Russell et al. 2013),(Boehm et al. 2013)). En effet, les HtrA extracellulaires ciblent directement les composants de la matrice extracellulaire, les protéoglycanes et les protéines des jonctions favorisant ainsi une augmentation de la perméabilité membranaire (Wessler et al. 2017). Ces mécanismes d'action nous permettent de comprendre le rôle crucial que peuvent avoir les protéases bactériennes dans la pathogénie des entéropathies inflammatoires chroniques et l'intérêt de maîtriser leur régulation.

L'importance de ces enzymes en tant que cibles thérapeutiques potentielles ou biomarqueurs pour les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) a conduit à des efforts considérables pour identifier leurs inhibiteurs spécifiques.

1.4.6.3 Les anti-protéases

Les inhibiteurs de protéases, aussi appelés anti-protéases, sont des molécules qui inhibent spécifiquement l'activité des protéases de l'hôte ou du microbiote. Ces molécules limitent la dégradation des protéines des cellules intestinales de l'hôte, ainsi que le développement d'une réponse inflammatoire excessive. Elles maintiennent ainsi un équilibre entre la dégradation des protéines et la protection des tissus, évitant ainsi des déséquilibres pouvant entraîner des entéropathies inflammatoires chroniques.

Les inhibiteurs de sérine protéases (appelés serpinines) constituent la superfamille la plus abondante d'inhibiteurs de protéases avec près de 3000 serpinines différentes dans tout le règne vivant (Law et al. 2006). Le mécanisme d'action de ces enzymes repose sur un changement conformationnel unique des deux molécules (protéase-serpine) et la formation d'un complexe suicidaire souvent appelé "piège à souris" (Huntington, Carrell 2001).

L'analyse des séquences génétiques disponibles montre que les serpinines bactériennes sont réparties dans plusieurs phylums, principalement les *Actinobacteria*, les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes*, les *Cyanobacteries* et les *Proteobacteria* (Mkaouar et al. 2019). Seules quatre serpinines bactériennes ont été caractérisées fonctionnellement jusqu'à présent et proviennent de *Bifidobacterium longum*, *Eubacterium siraeum* et *Eubacterium saburreum* (Mkaouar et al. 2016).

Les propriétés anti-inflammatoires de ces protéases ont été démontrées dans de nombreux troubles inflammatoires tels que les MICI notamment (Sánchez-Navarro et al. 2021). C'est le cas par exemple de la serpinBL produite par *B. longum* capable de former un complexe covalent stable avec l'élastase neutrophile, protéase mise en évidence dans le développement des MICI. Il est ainsi suggéré que la serpineBL sécrétée pendant l'inflammation puisse moduler l'activité protéolytique de l'hôte et limiter l'inflammation locale (Ivanov et al. 2006). De la même façon, les siropines 1 et 2, serpinines de la bactérie commensale du tube digestif humain *Eubacterium siraeum*, se sont révélées actives préférentiellement sur deux des protéases humaines mises en cause dans la pathologie des MICI : l'élastase neutrophile et la protéinase 3 (Mkaouar et al. 2016).

En se basant sur le rôle des serpinines étudiées précédemment, on peut supposer que les anti-protéases de manière générale sont impliquées dans les phénomènes inflammatoires de l'hôte au travers de la modulation de l'activité protéolytique.

1.4.7 Maturation post-natale et angiogénèse

Les mammifères sont dits stériles dans l'utérus de leur mère. C'est au moment du passage dans les voies génitales pendant la mise bas qu'ils acquièrent le premier contact avec la microflore environnementale. Le sevrage constitue une période clé dans l'évolution du microbiote chez les

mammifères. L'évolution de l'écologie microbienne au cours du sevrage coïncide avec une maturation fonctionnelle et morphologique marquée de l'intestin. Des changements spectaculaires dans la capacité métabolique de l'intestin facilitent la transition d'un régime alimentaire riche en matières grasses à base de lait à un régime riche en glucides (Hooper 2004).

Chez les souris conventionnelles, un changement dans la structure des glycanes composant la surface apicale des cellules épithéliales se produit au moment du sevrage. Le glucide terminal post-natal, l'acide salicylique, devient un fucose. L'étude de souris axéniques a permis de mettre en évidence le rôle décisif que joue le microbiote intestinal dans ce changement qui ne se produit pas lorsque l'intestin est stérile (Hooper 2004; Hooper et al. 2002). L'évolution dans la composition de la microflore au sevrage laisse place à une majorité de bactéries anaérobies strictes utilisatrices de fucose. Une hypothèse majeure se développe donc sur la capacité du microbiote à influencer l'expression de certains gènes codant pour la structure même de l'épithélium intestinal, lui assurant ainsi une niche écologique stable et durable. Ce changement dans la composition du glycane peut être effectué à n'importe quel moment de la vie de l'animal par ensemencement du tube digestif par *B. thetaiotaomicron*, confirmant ainsi son implication directe (Hooper et al. 2002).

Lors du sevrage, le microbiote intestinal exerce une influence sur son environnement à travers l'activité des cellules de Paneth. Ces cellules sont situées au fond des cryptes des villosités intestinales et idéalement placées pour transduire les signaux bactériens aux cellules situées sous l'épithélium muqueux. L'étude de souris axéniques a permis de mettre en évidence une augmentation de l'expression de l'Ang4, une protéine microbicide présente dans ces cellules, au moment du sevrage. Cette augmentation contribue à renforcer l'immunité locale de l'hôte.

D'autre part, des recherches menées sur des souris génétiquement dépourvues de cellules de Paneth ont démontré l'importance de ces cellules dans le développement d'un réseau capillaire robuste pendant le sevrage (Hooper 2004; Stappenbeck et al. 2002).

Les médiateurs impliqués dans ce processus restent encore peu étudiés. Bien que l'Ang4, membre de la famille des angiogénines et connue pour son activité microbicide, soit suspectée de jouer un rôle dans l'effet des bactéries sur le développement des vaisseaux sanguins, cela n'a pas encore été confirmé par des recherches approfondies.

1.4.8 Optimisation des systèmes de défense contre des pathogènes

La microflore intestinale, de par sa simple présence, permet une protection contre la multiplication de micro-organismes pathogènes. Les bactéries du microbiote utilisant déjà les nutriments de l'alimentation, un phénomène de compétition aux ressources s'installe, limitant ainsi nettement l'installation de nouveaux pathogènes.

Le microbiote local est également capable d'améliorer les défenses de l'hôte selon plusieurs mécanismes incluant le renforcement de la barrière mécanique et la stimulation des défenses immunitaires de l'hôte.

1.4.8.1 *Stimulation du système immunitaire*

L'absence de microbiote digestif durant le développement de souris axéniques entraîne un développement histologiquement anormal des organes lymphoïdes. La rate montre notamment une déplétion lymphocytaire marquée (spécifiquement en LT CD4+) avec des follicules plus petits et moins bien délimités (Mazmanian et al. 2005).

Le réensemencement de ces souris avec une microflore normale ou une souche de *Bacteroides fragilis* permet de rétablir une morphologie intestinale normale. Cette bactérie anaérobie est dotée de plusieurs polysaccharides de surface, dont certains présentent une structure zwitterionique. Ces polysaccharides ont été directement associés à la restauration de la production de lymphocytes T CD4+ à des niveaux comparables à ceux observés chez un hôte adulte en bonne santé. Le polysaccharide A (PSA) a été mis en évidence comme immunodominant et responsable, à lui seul, de cette stimulation (Mazmanian et al. 2005).

Les animaux axéniques présentent également des organes immunitaires périphériques sous-développés dans le tube digestif (plaque de PEYER notamment), une déplétion en lymphocytes intra-épithéliaux avec un taux d'immunoglobine A réduit. Ces modifications sont également liées à l'absence de stimulation génétique qu'exerce le microbiote sur son hôte (Cohn, Heneghan 1991; Thompson, Trexler 1971; Hooper 2004).

2 Variation de la composition du microbiote intestinal

2.1 Variations physiologiques au sein d'une espèce

2.1.1 Âge

La majorité des analyses effectuées à ce jour indiquent que de profonds changements se produisent dans l'écosystème intestinal lorsque les jeunes mammifères sont sevrés du lait maternel pour passer à des aliments solides. Par exemple, les intestins des humains nouveau-nés contiennent un grand nombre de bactéries anaérobies facultatives, notamment *Escherichia coli* et les streptocoques. Leur nombre diminue au cours du sevrage pour laisser place aux bactéries anaérobies obligatoires. Avec l'âge, l'écosystème intestinal évolue vers une communauté stable composée principalement de bactéries anaérobies obligatoires, notamment les espèces de *Bacteroides* et de *Clostridium* (Hooper 2004). Cette transition a également été constatée dans l'espèce canine (Masuoka et al. 2017).

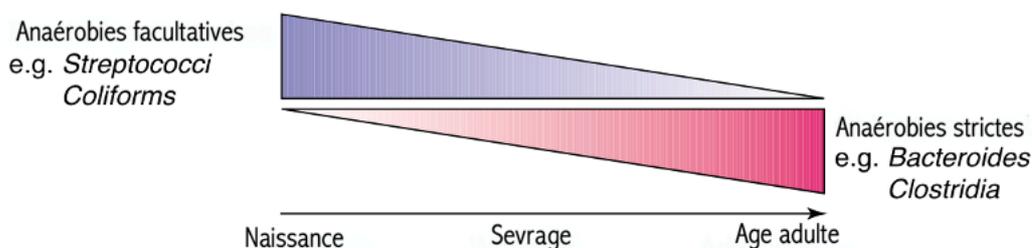


Figure 10 : Écologie du développement de l'intestin postnatal chez les mammifères

À l'âge de 2 jours, le phylum dominant dans le microbiote intestinal des chiots est celui des *Firmicutes*, représentant 64 % de la population microbienne et composé majoritairement des classes *Bacilli* et *Clostridia*. Les *Bacteroidetes* sont alors très peu présents, représentant moins de 1 % des séquences identifiées, mais leur proportion augmente progressivement pour atteindre environ 37 % à 21 et 42 jours. Les *Fusobacteria* et *Proteobacteria* occupent une part importante du microbiote à tous les âges, représentant environ 16 % et 11 % respectivement des séquences totales mises en évidence chez le chiot. À 56 jours, bien que certaines différences subsistent au niveau des genres et des familles entre la mère et ses petits, la composition des trois phyla prédominants sont les mêmes : *Bacteroidetes*, *Firmicutes* et *Fusobacteria* (Guard et al. 2017). L'abondance relative des principaux phyla du microbiote intestinal du chien dans les premiers mois de vie est représentée dans la figure 11.

La diversité alpha, ou richesse du microbiote intestinal, augmente significativement entre l'âge de 2 jours et 42 jours (Guard et al. 2017).

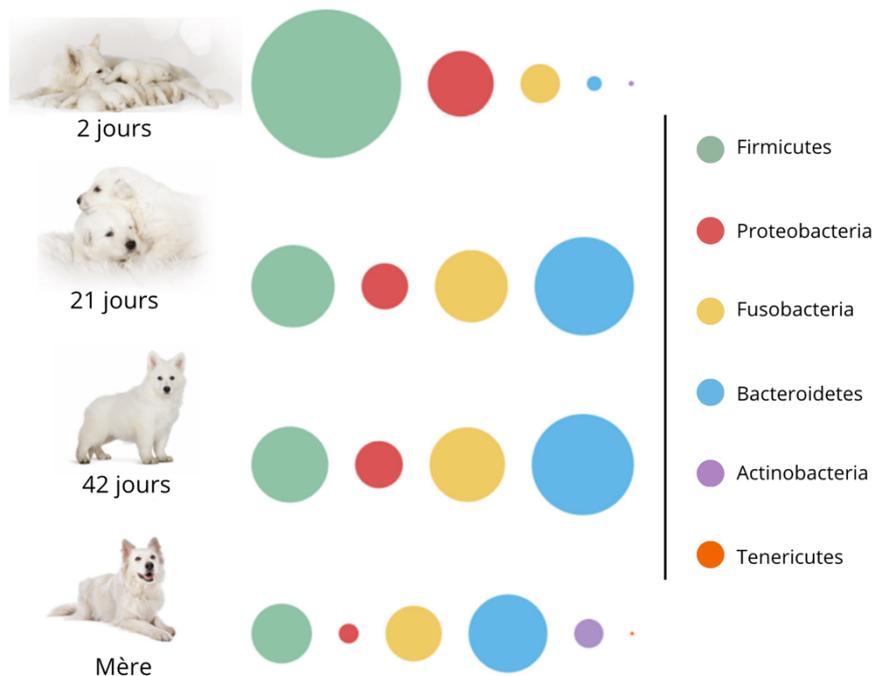


Figure 11 : Abondance relative des principaux phylums du chien à différents âges (Guard et al. 2017)

Enfin, les chiens relativement âgés (10 ans et plus) présentent des changements significatifs de la composition de leur microbiote colique. En effet, on observe une baisse de la prévalence des genres *bacteroides*, *eubacteria*, *bifidobacteria*, *lactobacilli* mais une augmentation des *Clostridium perfringens* et des *Streptococci* (Benno et al. 1992).

2.1.2 Alimentation

L'impact d'une variation de régime alimentaire sur le microbiote intestinal, à court et long terme, a été beaucoup plus étudié chez l'humain que chez le chien. Certaines études ont mis en évidence la capacité rapide d'adaptation du microbiote à un changement alimentaire entraînant des modifications dans la composition de ce dernier, mais également dans son expression génétique (David et al. 2014). L'alimentation semble donc être un facteur majeur de modulation du microbiote chez l'humain.

Chez le chien, les régimes alimentaires sont également très diversifiés. Ils comprennent les régimes industriels secs et humides, les rations ménagères composées de viandes cuites, de légumes et de glucides, ainsi que les régimes BARF (« Biologically Appropriate Raw Food ») composés de viande crue, d'abats et d'os charnus se rapprochant plus de l'alimentation naturelle du loup.

2.1.2.1 Différents microbiotes pour différents régimes alimentaires

Le BARF est enrichi en protéines, en graisses animales, mais est appauvri en fibres et présente un taux d'extractif non azoté plus faible. La comparaison d'un régime BARF avec un régime industriel sec montre que les chiens ayant suivi un régime BARF présentent une variation de diversité bêta sans variation de diversité alpha (Schmidt et al. 2018). En effet, le microbiote intestinal de ces chiens montre une abondance plus élevée de *Proteobacteria* et *Fusobactéria*, ainsi qu'une diminution des *Firmicutes*, notamment des familles *Bifidobacteriaceae*, *Ruminococcaceae* et *Erysipelotrichaceae*. La plupart des populations bactériennes réduites sont associées à la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) à partir des glucides alimentaires, ce qui indique une diminution de la fermentation des glucides (Marchesi et al. 2007). Les tests qPCR ont révélé une abondance significativement plus élevée d'*Escherichia Coli* et de *Clostridium perfringens* ainsi qu'une augmentation de l'indice de dysbiose dans le groupe BARF (Schmidt et al. 2018).

Selon le même principe, Sandri et al. ont mené une étude sur 8 chiens dont 4 recevaient une alimentation à base de croquettes et 4 une alimentation à base de viande crue. Une diminution de la proportion des genres *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Prevotella* ainsi qu'une augmentation de la diversité bactérienne ont été observées dans le groupe nourri avec de la viande crue. La consommation d'un régime à base de viande crue semble également diminuer de manière significative le score fécal et augmenter la concentration d'acide lactique dans les selles.

2.1.2.2 Variation en protéine animale

Le microbiote intestinal est principalement influencé par les glucides et les protéines alimentaires non digérées.

La comparaison de deux régimes alimentaires à taux protéiques différents (faible et élevé) met en évidence une augmentation de l'abondance du genre *Lactobacillus* et une production accrue en bactéries productrices de butyrate chez les chiens supplémentés en protéines (Xu et al. 2017). De plus, un régime riche en protéines favorise la croissance de *Clostridium perfringens* et réduit l'abondance de *Clostridium cluster XIVa* et des *bifidobactéries* dans une population similaire de chiens en bonne santé (Zentek et al. 2003). Bien que les conclusions de ces études indiquent une variation significative de la composition microbienne avec le taux protéique, il est important de garder en tête la faible puissance statistique de ces études composées chacune de seulement 12 et 9 chiens de race Beagle.

Outre la teneur en protéines des aliments, le type de protéines (origine, qualité) mérite également d'être évalué. Les différentes protéines animales composant les rations chez le chien n'ont pas les mêmes teneurs en acides aminés, matières grasses et autres nutriments. Par exemple, les chiens nourris avec une alimentation à base de viande de bœuf crue présentent une augmentation

d'abondance de certaines entérobactéries, comme *Escherichia coli*, alors que les chiens nourris à base de viande de poulet crue montrent une augmentation de certaines protéobactéries telles qu'*Anaerobiospirillum* (Beloshapka et al. 2013).

2.1.2.3 Impact des fibres végétales

La comparaison de cinq régimes alimentaires supplémentés avec une teneur variable en fibres de pomme de terre (0, 1.5, 3, 4.5 ou 6%) met en évidence qu'un ajout de fibres provoque une augmentation dans le phylum des *Firmicutes*, notamment pour *Faecalibacterium*, ainsi qu'une diminution dans celui des *Fusobactéries* (Panasevich et al. 2015).

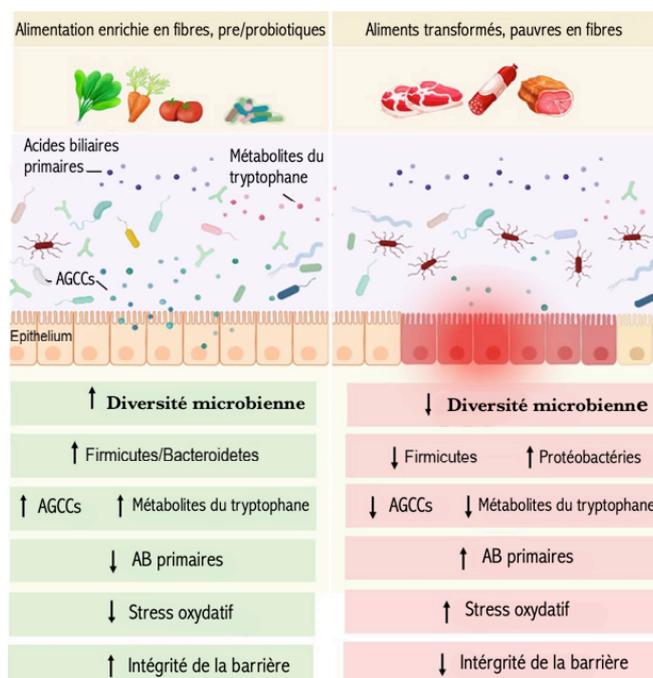


Figure 12 : Aperçu des influences anti- et pro-inflammatoires des interventions diététiques chez le chien.
 AGCCs : acides gras à chaîne courte, AB : acides biliaires (Rhimi et al. 2022)

Selon le même principe, la supplémentation d'un régime canin avec 10% de fibres additionnelles entraîne une variation dans les produits de dégradation bactériens avec notamment une augmentation en AGCC, une diminution du pH fécal ainsi qu'une diminution de l'activité β -galactosidase sans systématiquement mettre en évidence un réel changement dans la composition microbienne (Simpson et al. 2002, Panasevich et al. 2013). Dans l'ensemble, l'augmentation de la proportion de *Faecalibacterium* et des concentrations d'AGCC fécaux avec l'augmentation des concentrations alimentaires de fibres de pomme de terre suggère qu'elle serait une possible fibre prébiotique productrice d'AGCC.

2.1.3 Environnement

L'étude de l'impact des facteurs environnementaux sur la composition du microbiote intestinal est difficile à évaluer en pratique. À ce jour, les analyses se sont limitées à des analyses transversales et représentent peu de races de chiens.

Une étude menée sur 168 Bergers Allemands, tous nés dans le même environnement et ensuite répartis dans trois milieux différents (campagne, petite ville avec moins de 200 000 habitants, et grande ville avec plus de 200 000 habitants), a révélé des différences dans la diversité microbienne en fonction du lieu de vie. Bien que tous les chiens aient suivi le même régime alimentaire de la naissance jusqu'à 18 mois, ceux vivant dans les grandes villes présentaient une plus grande diversité microbienne au cours de leurs premiers 18 mois, comparativement à ceux vivant en milieu rural ou dans de petites villes. Cette différence n'était toutefois pas observable à l'âge de sept semaines, lorsque tous les chiots étaient encore au chenil (Vilson et al. 2018).

2.1.4 Localisation dans le tube digestif

Le microbiote intestinal varie le long du tube digestif, autant en composition qu'en diversité. La diversité microbienne s'accroît le long du tube digestif avec un nombre bactérien médian de 4.10^4 CFU/g dans le jéjunum contre 3.10^{10} dans les fèces (Mentula et al. 2005). Les particularités physico-chimiques de chaque région anatomique (pH, richesse en acides biliaires, présence d'enzymes et teneur en oxygène) ont un impact important sur les espèces microbiennes qui colonisent chaque segment (Suchodolski et al. 2008). Si l'on regarde tout d'abord le métabolisme des bactéries présentes, on constate que le ratio bactérie aérobie/anaérobie évolue fortement. Dans le jéjunum, les deux types sont quasiment également représentés, alors que le type anaérobie semble largement prépondérant dans les parties distales du tube digestif (Mentula et al. 2005).

La composition du microbiote intestinal est aussi un paramètre en évolution le long du tube digestif (Suchodolski et al. 2008). Tout d'abord, les *Clostridiales*, appartenant au Phylum prépondérant des *Firmicutes*, sont particulièrement abondantes dans le duodénum et le jéjunum, mais ils sont également présents en grande quantité dans le côlon et l'iléon. Les groupes prédominants de *Clostridium* comprennent *Clostridium XI*, plus présent dans l'intestin grêle, et *Clostridium XIVa*, plus abondant dans le côlon. Cette différence de distribution suggère probablement des variations fonctionnelles et métaboliques au sein de cette classe phylogénétique de bactéries dans les différents segments du tractus intestinal du chien.

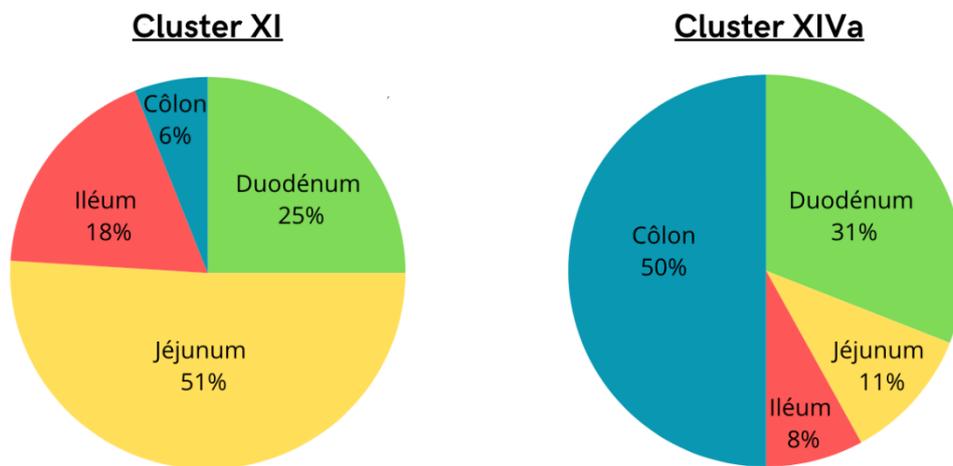


Figure 13 : Répartition des deux groupes prédominants de *Clostridium* XI et XIVa le long du tractus intestinal du chien (Suchodolski, Camacho, Steiner 2008)

Les *Fusobacteriales* et les *Bacteroidales* anaérobies sont sporadiques dans l'intestin grêle mais prépondérants dans le côlon (Mentula et al. 2005). Les protéobactéries, y compris *E. coli*, sont des constituants importants du duodénum (32%), mais elles sont moins présentes dans le côlon (1,4%). Cela est cohérent avec des études chez l'homme et le chien, montrant que les espèces anaérobies facultatives sont peu abondantes dans le côlon ((Suau et al. 1999),(Honneffer et al. 2017)). Enfin, les bactéries de l'ordre des lactobacilles sont largement réparties dans tout le tractus intestinal du chien, bien qu'elles soient légèrement moins abondantes dans l'iléon.

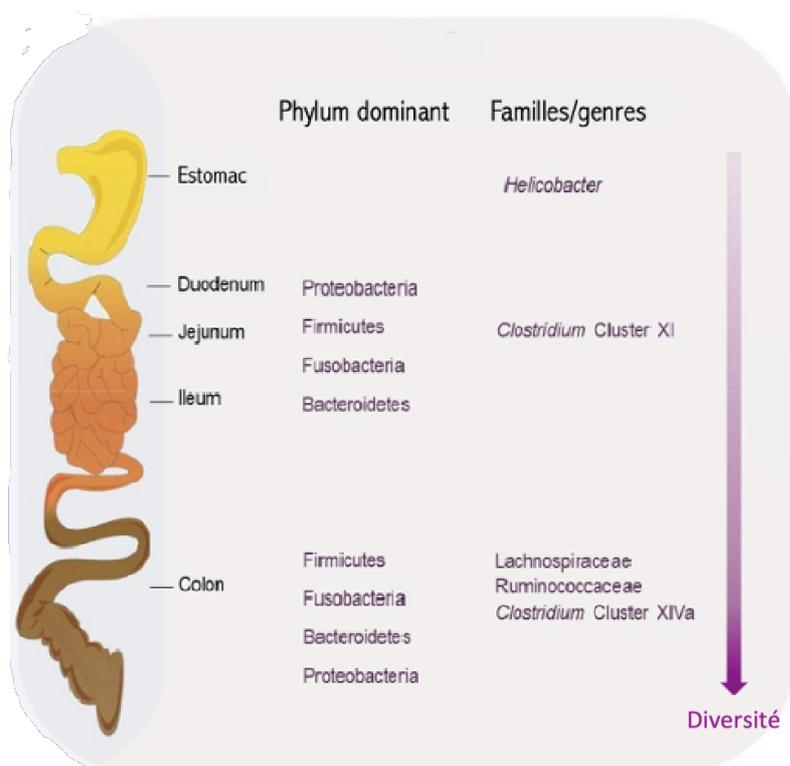


Figure 14 : Évolution du microbiote intestinal le long du tractus digestif du chien (Hernandez Juan et al. 2022)

2.2 Variation pathologique ou iatrogène

2.2.1 Infestation parasitaire

Peu d'informations sont disponibles sur l'impact d'une infestation parasitaire sur la composition du microbiote intestinal des chiens. La comparaison du microbiote intestinal de 40 chiens dont 17 infestés par *Giardia* et 14 infestés par *Ancylostoma caninum* a permis de mettre en évidence des différences significatives entre des chiens sains et des chiens infestés (Šlapeta et al. 2015). Les chiens infestés par *Giardia* présentaient des taux plus élevés de *Catenibacterium*, *Pseudomonas* et *Howardella*, tandis que ceux qui ne l'étaient pas présentaient des pourcentages relatifs moyens plus élevés de *Bacteroides* et de *Pseudobutyrvibrio par* rapport aux chiens infestés. En revanche, l'influence du parasitisme par *Ancylostoma caninum* n'a pas été démontrée dans cette étude (Šlapeta et al. 2015). Les données actuelles suggèrent que chez les chiens et les chats cliniquement sains, la présence d'helminthes et de protozoaires est associée à des variations dans la composition microbienne intestinale. Les conséquences fonctionnelles d'un tel changement n'ont à ce jour pas été étudiées.

2.2.2 Variations iatrogènes

2.2.2.1 Les modulateurs de la flore intestinale

Dès 1906, Tissier avait préconisé l'administration de micro-organismes bénéfiques dans le traitement des diarrhées infantiles, après avoir observé le caractère minoritaire des bifidobactéries chez les enfants malades et leur prépondérance chez les nourrissons nourris au sein et en bonne santé (Tissier, 1907). Cependant, on attribue généralement la paternité du concept de probiotique à Elie Metchnikoff, qui a largement contribué à sa popularisation. Metchnikoff suggéra que la flore intestinale était conditionnée par l'alimentation et qu'il était donc possible de remplacer les microbes nocifs par des microbes utiles en adoptant certaines mesures diététiques (Metchnikoff, Mitchell 1908).

Depuis cette époque, de nombreuses définitions des probiotiques ont été proposées. Toutefois, le consensus établi par la (FAO–WHO. 2002) a abouti à une définition unique des probiotiques : « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte ». Malgré tout, cette dernière définition ne prenait pas en compte l'aspect d'amélioration de l'équilibre ou de la fonction du microbiote, ce qui a donc donné naissance à la notion de prébiotique. Les prébiotiques sont des substances non digestibles qui produisent un effet physiologique bénéfique sur l'hôte en stimulant sélectivement la croissance ou l'activité d'un nombre limité de bactéries indigènes. Les prébiotiques sont non digestibles par l'humain, mais fermentescibles par les bactéries. Ce sont généralement des oligosides dont les membres les plus

connus sont deux types de fructane : l'inuline et les fructo-oligosaccharides. Les populations ciblées sont souvent des genres bactériens de la flore supposée bénéfiques, le plus souvent les bifidobactéries et les lactobacilles (Coudeyras, Forestier 2010).

2.2.2.1.1 Les probiotiques

Les expériences menées sur des modèles animaux et *in vitro* ont permis d'identifier un ensemble d'effets biologiques des probiotiques classés en trois catégories principales : (1) amélioration de la fonction barrière au travers d'interactions avec l'épithélium et les cellules immunitaires, (2) modulation de la réponse immunitaire de l'hôte et (3) altération du microbiote entérique. Les principaux effets sont développés dans le tableau II.

Tableau II : Effets biologiques des bactéries probiotiques démontrés dans des modèles expérimentaux (Rioux, Madsen, Fedorak 2005)

Amélioration de la fonction barrière de l'intestin	Modulation du système immunitaire	Modification directe du microbiote intestinal
<ul style="list-style-type: none"> • Amélioration de la résistance transépithéliale • Production accrue de mucus • Modification de la glycosylation épithéliale • Renforcement du cytosquelette épithélial et des jonctions serrées • Prévention de l'apoptose cellulaire • Effets antioxydants 	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de la production d'IgA spécifique • Régulation de la réactivité des lymphocytes T • Diminution de l'activité phagocytaire • Amélioration de l'apoptose des immunocytes • Modification du profil des cytokines • Induction d'une tolérance orale 	<ul style="list-style-type: none"> • Interférence avec l'adhésion/invasion des agents pathogènes • Production de bactériocine • Diminution du pH luminal par production d'acides organiques • Résistance à la colonisation

L'impact d'un produit probiotique multi-souches à haute dose (VSL#3) contenant des bactéries lyophilisées viables composées 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 une souche de *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* a montré de nombreux effets bénéfiques sur les chiens atteints de maladies digestives (G. Rossi et al. 2014). Tout d'abord, l'utilisation de VSL#3 a un impact anti-inflammatoire en augmentant la synthèse du facteur de croissance transformant bêta (TGF- β), en réduisant le nombre de lymphocytes T CD3+ et en augmentant l'expression de FoxP3+, un facteur de transcription essentiel à la fonction des LTregs. Elle permet aussi de renforcer la barrière intestinale en augmentant de façon significative l'expression de certaines protéines de jonctions. Enfin, ces probiotiques agissent directement sur le microbiote intestinal en modifiant sa

composition. En effet, leur utilisation a permis, dans cette étude, de normaliser la quantité de certaines espèces bactériennes déficientes chez les chiens atteints de maladies digestives telles que *Faecalibacterium spp.* et *Turicibacter spp.* (G. Rossi et al. 2014).

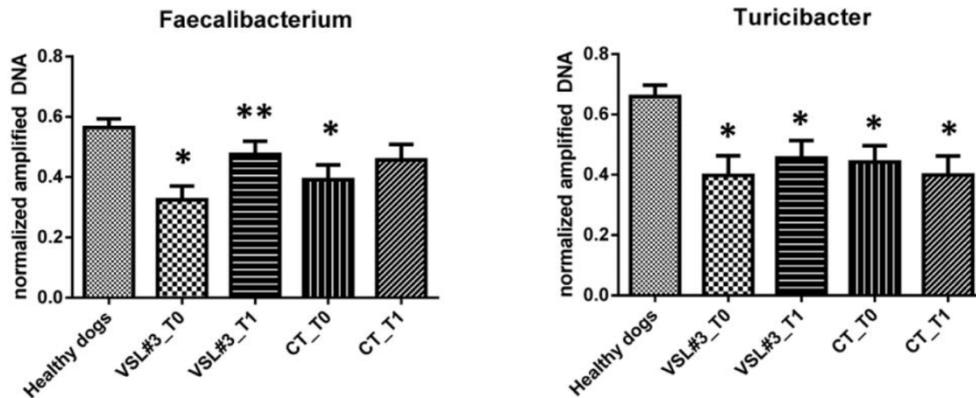


Figure 15 : Résultats des tests PCR quantitatifs pour les groupes bactériens *Faecalibacterium spp.* et *Turicibacter spp.* CT = chiens MICI traités par thérapie combinée (métronidazole + prednisonne), VSL#3 = chiens MICI traités avec le probiotique

2.2.2.1.2 Les prébiotiques

L'impact des prébiotiques sur la composition du microbiote intestinal commence à faire l'objet d'études et présente des perspectives prometteuses. Les chiens nourris avec un régime enrichi en chicorée, un oligosaccharide fermentescible, présentent une consistance fécale plus ferme, un pH fécal plus faible mais aussi des niveaux accrus de bifidobactéries et une diminution du nombre de *Clostridium perfringens* dans leurs selles par rapport aux chiens suivant un régime riche en protéines (Zentek et al. 2003).

L'utilisation de certains polysaccharides tels que l'inuline dans l'alimentation du chien augmente le taux de *bifidobactérium* et de *lactobacilus* (Beloshapka et al. 2013). Ces deux genres bactériens sont d'ailleurs régulièrement utilisés en tant que probiotiques.

L'essai d'un nouveau polydextrose prébiotique fermentescible par les chiens augmente les concentrations d'acétate, de propionate et d'AGCC totaux dans les selles, tout en diminuant le pH et l'indole dans les selles. De plus, ces chiens ont montré une diminution des *C. perfringens* fécaux mais des taux constants d'*Escherichia coli*, de lactobacilles et de bifidobactéries (Beloshapka et al. 2013). Cependant, les genres bactériens ciblés semblent sous-estimés par les techniques de séquençage basées sur les gènes de l'ARNr 16S et l'impact des prébiotiques paraît donc souvent difficile à évaluer (Ritchie et al. 2008).

2.2.2.2 Les antibiotiques

Chez le chien, l'utilisation prolongée (14 jours) d'un antibiotique de la famille des macrolides provoque des variations significatives de la composition du microbiote intestinal avec un retour à la normale de seulement 50% des individus 28 jours après la fin du traitement (Suchodolski et al. 2009). L'utilisation d'antibiotiques cible sélectivement certaines classes de bactéries dans le but de réduire l'inflammation associée. Toutefois, leur impact sur la flore commensale apparaît plus étendu et durable que prévu, affectant potentiellement l'équilibre microbien au-delà des besoins thérapeutiques initiaux.

2.3 Influence de la génétique sur le microbiote

2.3.1 Des similarités de microbiote observables à l'échelle d'ethnies humaines

La comparaison du microbiote intestinal de 530 personnes de différents âges et nationalités (Amérindiens, communautés du Malawi et Américains des États-Unis) a révélé des différences significatives dans la composition phylogénétique du microbiote fécal selon les pays. Une distinction particulièrement marquée a été observée entre les microbiotes des individus des États-Unis et ceux du Malawi et des Amérindiens, à tous les âges, qu'il s'agisse des enfants de 0 à 3 ans, des jeunes de 3 à 17 ans, ou des adultes (Yatsunencko et al. 2012). Aucun rassemblement par région ou village n'a été mis en évidence dans cette étude. Par exemple, de nombreuses OTUs du genre *Prevotella* étaient sur-représentées dans les communautés externes aux États-Unis. Ainsi, le mode de vie occidental (États-Unis) semble affecter systématiquement la composante bactérienne du microbiote intestinal, bien que cette influence soit subtile par rapport au degré élevé de variabilité observé chez les nourrissons et les enfants au sein de chaque population. De plus, pour chacune de ces nationalités, une ressemblance significative est mise en évidence entre les microbiotes intestinaux d'une même famille.

2.3.2 Influences réciproques hôte – microbiote

Les microbiotes intestinaux des humains comme des animaux ont été façonnés par la longue histoire co-évolutive de l'interaction symbiotique hôte-microbe. Au cours des dernières années, les mécanismes moléculaires complexes à l'origine de ces interactions hôte-microbe ont commencé à émerger. Le système immunitaire inné de l'hôte mammifère est capable de détecter les bactéries présentes dans le tube digestif à travers un ensemble impressionnant de récepteurs : les récepteurs Toll-like (TLR) et Nodlike (NLR). Les TLR sont principalement situés dans la région transmembranaire des cellules hôtes, tandis que les protéines NLR sont principalement situées dans le cytoplasme. Les

deux groupes de récepteurs contiennent des répétitions riches en leucine (LRR), qui sont impliquées dans la détection des signaux de danger et, en particulier, dans la détection de bactéries entières et de produits bactériens grâce à la reconnaissance des modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP). La signalisation PAMP via les récepteurs de l'immunité innée semble être importante, non seulement pour la reconnaissance et le lancement de défenses contre les agents pathogènes envahisseurs, mais également pour le maintien de l'homéostasie épithéliale intestinale et pour la protection contre les lésions (Rakoff-Nahoum et al. 2004).

2.3.2.1 Les récepteurs Toll-like (TLR)

Les TLRs sont des récepteurs de reconnaissance de motifs (PRR, Pattern Recognition Receptors), plus précisément de motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs, Pathogen-Associated Molecular Patterns) et de motifs moléculaires associés aux dommages (DAMPs, Damage-Associated Molecular Patterns) (Swerdlow et al. 2006). Ces motifs comprennent des composants de bactéries, de virus, de champignons et de parasites. Ce sont des récepteurs présents à la surface des cellules immunitaires, telles que les macrophages et les cellules dendritiques, ainsi qu'à l'intérieur des compartiments cellulaires comme les endosomes. Ces localisations permettent de détecter les pathogènes extracellulaires et intracellulaires.

Lorsqu'un TLR détecte son ligand spécifique, il déclenche une cascade de signaux intracellulaires menant à l'activation de facteurs de transcription et à la production de cytokines pro-inflammatoires, d'interférons et d'autres molécules effectrices qui interviennent dans la réponse immunitaire (Akira 2003). Ils activent également les cellules immunitaires, favorisent la phagocytose des pathogènes et stimulent la maturation des cellules dendritiques, contribuant ainsi à la présentation antigénique et à l'activation des lymphocytes T.

Une activation inappropriée ou excessive des TLRs peut conduire à des maladies inflammatoires et auto-immunes. Par exemple, une suractivation de TLR4 est impliquée dans la septicémie, tandis que des polymorphismes dans les gènes TLR peuvent être associés à une susceptibilité accrue à des infections et à des maladies auto-immunes (Akira 2003).

A l'heure actuelle, dix TLR ont été identifiés chez les mammifères et sont impliqués dans de nombreux processus de régulation de l'inflammation (Akira 2003). A titre d'exemple, le récepteur TLR2 joue un rôle dans la régulation de l'inflammation des muqueuses et dans le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale, en agissant notamment sur les jonctions serrées (Cario et al. 2007).

2.3.2.2 Les récepteurs Nodlike (NLR)

Les récepteurs NODlike (Nucleotide-binding Oligomerization Domain-like receptors), sont une classe de protéines intracellulaires qui jouent un rôle crucial dans le système immunitaire inné. Tout comme les TLRs, les récepteurs NOD sont impliqués dans la reconnaissance des motifs moléculaires associés

aux pathogènes (PAMPs) et des motifs moléculaires associés aux dommages (DAMPs). Ils détectent des composants bactériens intracellulaires, tels que les fragments de peptidoglycane. Il en existe deux types principaux : NOD1 et NOD2. NOD1 reconnaît des fragments de peptidoglycane présents dans les parois cellulaires de la plupart des bactéries Gram-négatives et certaines bactéries Gram-positives. NOD2 reconnaît un motif de peptidoglycane appelé muramyl dipeptide (MDP), présent dans les parois cellulaires de presque toutes les bactéries. Lorsque NOD1 ou NOD2 détectent leur ligand spécifique, ils s'oligomérisent et recrutent des protéines adaptatrices comme RIP2 (Receptor-Interacting Protein Kinase 2). Cela conduit à l'activation de la voie NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) et à la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF (Tumor Necrosis Factor), l'IL-6 (Interleukine 6), et l'IL-1 β (Interleukine 1 beta) (Inohara et al. 2002).

Des mutations dans les gènes codant pour NOD2 ont été associées à certaines maladies inflammatoires chez l'humain, comme la maladie de Crohn ((Ogura et al. 2001), (Hampe et al. 2001)). Ces mutations peuvent altérer la capacité du récepteur à détecter les pathogènes et à réguler la réponse inflammatoire, conduisant à une inflammation chronique de l'intestin.

2.3.3 Influence du génotype sur le microbiote intestinal

Plusieurs études suggèrent que la génétique de l'hôte pourrait influencer la composition du microbiote intestinal, mais aucun gène impliqué dans la régulation par l'hôte n'a été proposé.

Une étude menée sur 19 patients humains atteints de fièvre méditerranéenne familiale (FMF) et 8 patients sains s'est intéressée aux effets des allèles de type sauvage et muté du gène MEFV codant pour la protéine appelée pyrine sur la composition des bactéries commensales intestinales. La pyrine est une protéine clé dans la détection des signaux de danger et la régulation de la réponse inflammatoire via l'activation de l'inflammasome. Son rôle est essentiel pour une réponse immunitaire efficace et équilibrée, et des dysfonctionnements dans ce système peuvent conduire à des maladies inflammatoires. Ces analyses ont révélé des changements significatifs dans la structure de la communauté bactérienne chez les patients atteints de FMF, notamment une réduction du nombre total de bactéries, une perte de diversité et des modifications majeures des populations bactériennes au sein des phyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes* et *Proteobacteria* durant la phase active de la maladie. En phase de rémission clinique, la diversité bactérienne est comparable à celle des groupes témoins, bien que la composition bactérienne reste notablement différente d'humains non porteurs de cette mutation. Les analyses fonctionnelles discriminantes de la diversité bactérienne intestinale ont montré un regroupement très spécifique et distinct, en fonction du statut de porteur d'allèle de l'hôte (Khachatryan et al. 2008).

Cette étude établit clairement un lien entre le génotype de l'hôte et les modifications correspondantes du microbiote, suggérant que la génétique de l'hôte joue un rôle crucial dans l'interaction hôte-microbe, déterminant un profil spécifique du microbiote commensal dans l'intestin des humains.

3 Le microbiote intestinal en cas d'entéropathie inflammatoire chronique

3.1 Les entéropathies inflammatoires chroniques

3.1.1 Généralités

Les entéropathies inflammatoires chroniques (EIC), appelées également « inflammatory bowel diseases » (IBD) comprennent, chez l'homme, deux troubles chroniques différents caractérisés par une inflammation de la paroi intestinale : la maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU). Comme les humains, les chiens développent également certaines formes d'entéropathie chronique, définies comme évoluant depuis plus de 3 semaines et caractérisées par des signes cliniques tels que vomissements, diarrhée, borborygmes, hyporexie, douleurs abdominales, nausées et/ou perte de poids. Le diagnostic est établi après exclusion des affections extra-digestives responsables de signes cliniques gastro-intestinaux, des parasitoses intestinales et des affections néoplasiques et infectieuses digestives (Dandrieux 2016).

Le concept actuel suggère qu'une inflammation se développe chez un patient génétiquement prédisposé, déclenchée par des interactions entre les composants alimentaires, les facteurs environnementaux et le microbiote intestinal. Les signes cliniques résultent de cette inflammation incontrôlée et on soupçonne que l'étiologie de ces entités pathologiques soit similaire chez le chien (Rioux et al. 2005). Il est cependant important de garder à l'esprit certaines différences entre le chien et l'humain, notamment en ce qui concerne la thérapeutique utilisée. Par exemple, la majorité des chiens ne nécessitent qu'une modification du régime alimentaire sans recourir à d'autres traitements tandis qu'une minorité requiert un traitement immunosuppresseur, qui est au contraire nécessaire chez la majorité des humains (Dandrieux 2016).

3.1.2 Classification des entéropathies chroniques

Les entéropathies inflammatoires chroniques sont actuellement classées en fonction de la réponse clinique au traitement. D'après la classification actuelle, on distingue les entéropathies répondant aux changements alimentaires (FRE), les entéropathies répondant aux modulations du microbiote

(MrMRE), les entéropathies répondant aux immunosuppresseurs (IRE) et les entéropathies non répondantes ou réfractaires (NRE). Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) englobent à la fois les IRE et les NRE avec une inflammation muqueuse démontrée. Un groupe supplémentaire d'EIC, nommé entéropathie avec perte de protéines (PLE), fait référence à toutes les entéropathies chroniques entraînant une hypoalbuminémie (Dupouy-Manescau et al. 2024). Cette classification est proposée dans la figure 16.

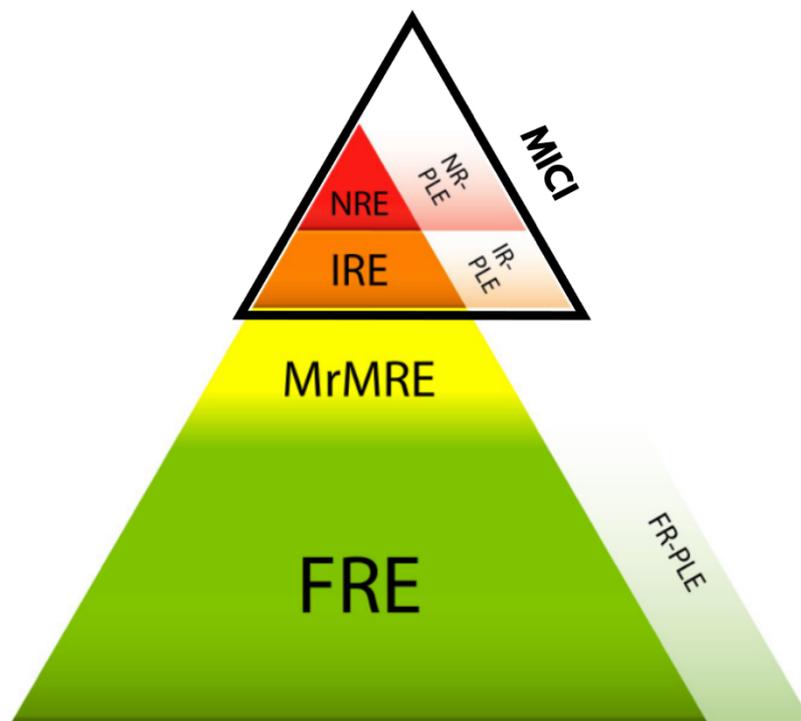


Figure 16 : Classification des entéropathies inflammatoires chroniques par (Dupouy-Manescau et al. 2024)

3.2 Mutations génétiques mises en évidence dans les EIC

3.2.1 Mutations détectées chez l'humain

Les mutations génétiques jouent un rôle crucial dans la prédisposition aux maladies digestives chroniques humaines telle que la MC. Des polymorphismes dans des gènes clés, tels que ceux des récepteurs de reconnaissance de motifs (PRRs) comme TLR4 et NOD2, augmentent significativement le risque de développer des entéropathies inflammatoires chroniques (EIC) chez l'homme (Ogura et al. 2001; Franchimont et al. 2004).

Trois polymorphismes majeurs dans NOD2 (L1007fsinsC, G908R et R702W) ont été génétiquement associés à la MC. Fonctionnellement, NOD2 active le facteur nucléaire kB (NFkB) et confère une réactivité au lipopolysaccharide bactérien (LPS) et au peptidoglycane (PGN). Les mutations génétiques présentes dans le gène NOD2 diminuent l'efficacité de ce gène à reconnaître et à

répondre aux bactéries présentes dans la lumière intestinale. Cette défaillance dans la détection et la réponse aux bactéries pathogènes peut conduire à une vulnérabilité accrue à certaines infections bactériennes dans l'intestin, augmentant ainsi le risque de développer des inflammations et des complications associées à la maladie de Crohn.

De même, le polymorphisme de TLR4 est statistiquement plus fréquent chez les patients atteints de MC et de colite ulcéreuse (CU) par rapport aux individus sains et il est aussi associé à un risque accru de développer une MC et une CU, soulignant l'importance des PRRs dans ces maladies (Franchimont et al., 2004).

3.2.2 Mutations détectées chez le chien

Chez le chien, le lien entre polymorphisme de NOD2 et développement d'entéropathies inflammatoires chroniques a également été démontré, mais uniquement chez la race Berger Allemand parmi les dizaines d'autres races étudiées (Hampe et al. 2001). Les mêmes démarches que chez l'homme ont été effectuées pour les différents polymorphismes de TLR4 et 5. Il apparaît que la plupart des polymorphismes répertoriés sur les gènes de ces récepteurs sont statistiquement associés au développement de MICI chez le chien (Kathrani et al. 2010).

Parallèlement, certaines races, comme le Berger Allemand notamment, ont été rapportées comme possédant une plus faible concentration d'immunoglobuline A sérique (IgA) ((Olsson et al. 2014),(German et al. 2000)). L'IgA constitue un pilier du système immunitaire sécrétoire en protégeant la muqueuse contre les agents pathogènes. Un déficit en IgA est associé à des infections récurrentes des muqueuses et à des maladies à médiation immunitaire telles que les MICI. Des études menées chez la souris ont établi un lien entre l'interaction du TLR5 avec son ligand, la flagelline, et le changement de classe des lymphocytes B en plasmocytes producteurs d'IgA. Une hypothèse peut donc être émise sur le fait que les chiens porteurs des génotypes avec des polymorphismes de TLR5 auraient un nombre différent de plasmocytes IgA dans les muqueuses duodénale et colique par rapport aux chiens de génotype sain. Une seule étude a cherché à prouver cette hypothèse et n'a pas démontré de résultat concluant (Lee et al. 2015).

Les mutations génétiques mises en évidence dans la pathogénie des MICI chez le chien et l'homme partagent des similitudes remarquables suggérant des mécanismes pathogéniques communs. Explorer ces similitudes offre une opportunité unique de mieux comprendre les MICI et de développer des traitements ciblés et personnalisés pour les patients humains et canins.

3.3 Modification de la flore intestinale : la dysbiose

Un déséquilibre de la flore microbienne normale, appelé dysbiose intestinale, est couramment observé dans les maladies impliquant une inflammation de l'intestin, notamment les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin mais aussi les infections, les cancers colorectaux et les allergies alimentaires (Zeng et al. 2017). La dysbiose intestinale est une modification de la composition du microbiote intestinal associée à des changements fonctionnels dans le transcriptome, le protéome ou le métabolome microbien (Zeng et al. 2017).

L'importance de la flore bactérienne résidente dans la pathogenèse des EIC est illustrée par un grand nombre d'études, tant chez le chien que chez l'humain. Les résultats des études menées sur des modèles animaux qui développent spontanément une EIC montrent que la présence de bactéries intestinales est nécessaire pour déclencher une inflammation intestinale, indépendamment du dysfonctionnement immunitaire sous-jacent (Sellon et al. 1998; Elson et al. 2005). Si l'on s'intéresse maintenant aux différences dans la composition de la microflore intestinale, on constate premièrement une réduction globale de la richesse et de la diversité bactérienne chez les chiens atteints de MICI (Xenoulis et al. 2008; Jergens et al. 2010; Craven et al. 2009). Des changements significatifs sont également observés dans les populations bactériennes à tous les niveaux phylogénétiques. De nombreuses études utilisant des méthodes d'analyse moléculaire se sont intéressées à comparer le microbiote intestinal de chiens sains avec celui de chiens atteints d'EIC. Les données regroupées par quelques-unes de ces études sont regroupées dans le tableau III.

Tableau III : Modifications microbiennes signalées chez les chiens atteints d'EIC

Référence	Type d'échantillon	Taille de l'échantillon	Méthode d'analyse	Observations
(Xenoulis et al. 2008)	Brossages duodénaux	EIC (n=10) Sain (n=9)	Bibliothèque génique (gène ARNr 16S)	- Réduction de la diversité - Augmentation des <i>Enterobacteriaceae</i> (E.Coli) - Diminution des <i>Bacteroidetes</i>
(Suchodolski et al. 2010)	Biopsies duodénales	EIC (n=7) Sain (n=7)	Bibliothèque génique (gène ARNr 16S)	- Augmentation en <i>Proteobactéria</i> - Diminution en <i>Clostridies</i>
(Suchodolski, Dowd, et al. 2012)	Biopsies duodénales	EIC sévère (n=7) EIC modérée (n=7) Sains (n=6)	Pyroséquençage (gène ARNr 16S)	- Augmentation des <i>Protéobactéria</i> (genres <i>Diaphorobacter</i> et <i>Acinetobacter</i>) - Diminution en <i>Fusobacteria</i> , <i>Bacteroides</i> et <i>Prevotellaceae</i>
(Allenspach et al. 2010)	Biopsies duodénales, coliques et iléales	EIC (n=13) Sains (n=10)	Bibliothèque génique (gène ARNr 16S)	- Augmentation des <i>Actinobacteria</i> , <i>Lactobacillales</i> , <i>Erysipelorichales</i>
(Xu et al. 2014)	Fèces	EIC (n=15) Sains (n = 11)	qPCR, dosage des AGCC	- Diminution en lactobacilles et bactéries productrices de butyrate
(Giacomo Rossi et al. 2014)	Fèces	EIC (n=20) Sains (n = 10)	qPCR (gène ARNr 16S)	- Diminution de <i>Faecalibacterium spp.</i> et <i>Turicibacter spp.</i>
(Craven et al. 2009)	Biopsies duodénales	EIC (n=16) Sains (n = 14)	Pyroséquençage (gène ARNr 16S)	- Diminution de la diversité
(Jergens et al. 2010)	Biopsies intestinales	EIC (n=18) Sains (n = 6)	Pyroséquençage (gène ARNr 16S)	- Diminution de certaines <i>Bacteroides</i> et <i>Clostridies</i> (<i>clusters IV</i> et <i>XIVa</i>) - Augmentation des <i>gamma-proteobacteria</i> (<i>Moraxellaceae</i> et <i>xanthomonadaceae</i>) - Réduction de la diversité
(Minamoto et al. 2015)	Fèces et plasma	EIC (n=12) Sains (n = 10)	Pyroséquençage (gène ARNr 16S)	- Augmentation en <i>gammaproteobacteria</i> - Diminution des <i>Erysipelotrichies</i> , <i>Clostridies</i> et des <i>Bacteroides</i> - Diminution de la diversité

Chaque étude prise en compte dans le tableau ci-dessus a montré une différence significative dans les analyses moléculaires des groupes de chiens atteints d'EIC et de chiens sains, mettant ainsi en évidence une dysbiose systématique chez les chiens atteints d'EIC.

Chez les animaux atteints d'EC, le phylum le plus touché est celui des *Firmicutes*. Plusieurs études rapportent une diminution relative en *Clostridies* et notamment des *clusters IV et XIVa* dont fait partie *Faecalibacterium Prausnitzii*, une des bactéries reconnues pour ses propriétés anti-inflammatoires essentielles (Sokol et al. 2009). Ces *Clostridies* jouent un rôle important dans la santé intestinale du chien en contribuant à la fermentation des fibres avec production d'AGCC, en permettant la formation d'acides biliaires secondaires, en modulant la réponse immunitaire et en renforçant la barrière intestinale. Ainsi, une diminution de ces groupes bactériens en situation d'inflammation intestinale contribue logiquement au maintien ou au déclenchement de ces maladies.

On constate souvent une augmentation du phylum des *Proteobactéria* (*alpha*, *beta* ou *gamma-proteobactéria*). La différence la plus profonde concerne l'enrichissement du microbiote intestinal des chiens atteints d'EIC avec des membres de la famille des *Enterobacteriaceae* appartenant aux *gamma-protéobactéria*. Parmi les espèces mises en cause, *E. Coli* est plus spécifiquement désigné (Xenoulis et al. 2008). Par ailleurs, il a été démontré que la colonisation intramuqueuse par *E. coli* est associée à la colite ulcéreuse histiocytaire dans les races Boxer et Bouledogue (Manchester et al. 2013; Craven et al. 2011). L'augmentation des *Proteobacteria* semble être principalement due à l'augmentation des *Pseudomonales*, des *Moraxellaceae* (en particulier *Acinetobacter*) et des *Xanthomonadaceae* (Suchodolski, Dowd, et al. 2012; Jergens et al. 2010).

Les séquences appartenant au phylum *Bacteroidetes* se sont révélées significativement moins fréquentes chez les chiens atteints d'EIC (2,7 %) que chez les chiens du groupe témoin (11,2 %) (Xenoulis et al. 2008). Les bactéries de ce phylum, présentes généralement en grande quantité dans le côlon, sont connues pour leur production bénéfique d'AGCC chez le chien. Cette différence pourrait donc également être l'un des composants du développement ou de l'entretien des EIC chez le chien.

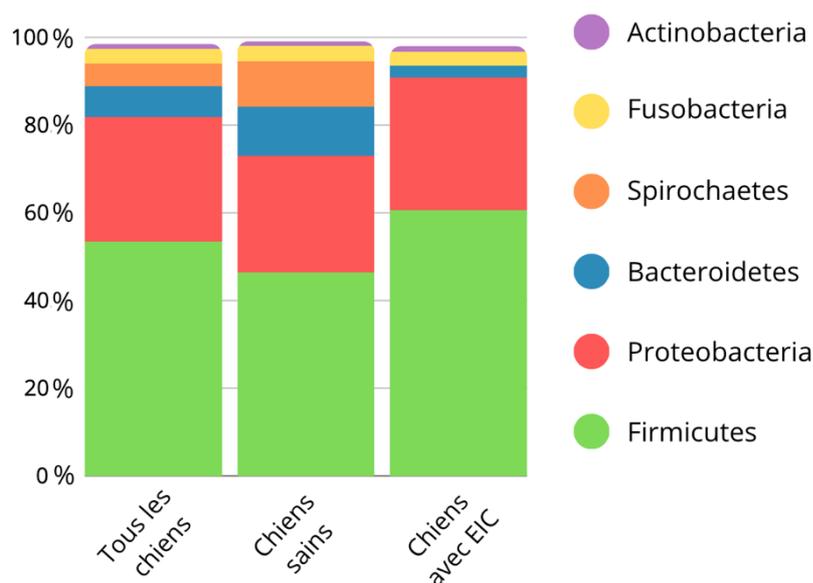


Figure 17 : Composition au niveau du phylum de la flore bactérienne duodénale de chiens sains (Control dogs) et de chiens atteints de MICI (IBD dogs) (Xenoulis et al. 2008)

Il est intéressant de noter que ces altérations sont généralement similaires à la dysbiose observée chez les humains atteints d'EIC ou chez les modèles animaux d'inflammation intestinale, ce qui suggère que les réponses microbiennes aux conditions inflammatoires de l'intestin sont conservées chez tous les types d'hôtes mammifères.

3.4 Impact des EIC sur le métabolome

Des altérations ont également été décrites dans les profils des métabolites fécaux de chiens et d'humains atteints d'EIC. En outre, certaines classes spécifiques de métabolites, notamment les acides biliaires, les acides gras à chaîne courte ou encore les protéases ont été impliqués dans la pathogenèse des EIC.

3.4.1 Diminution du taux d'AGCC

La dysbiose généralement observée dans les EIC est associée à une perte d'espèces bactériennes produisant des acides gras essentiels comme le butyrate, telles que *Faecalibacterium prausnitzii* et *Roseburia spp* ainsi que d'autres *clostridies cluster IV et XIVa* (Jergens et al. 2010; Sokol et al. 2009). Ceci est cohérent avec la tendance générale vers une réduction des niveaux d'AGCC fécaux rapportée dans les études métabolomiques des EIC chez les humains et les chiens (Xu et al. 2014; Lavelle, Sokol 2020).

3.4.2 Une prépondérance d'acides biliaires primaires

La biotransformation des acides biliaires par le microbiote colique est également impliquée dans la pathogenèse des EIC chez l'homme et le chien (Sinha et al. 2020). Les acides biliaires secondaires (acide désoxycholique (DCA), acide lithocholique (LCA) et acide ursodésoxycholique (UDCA)) ont démontré un effet anti-inflammatoire intestinal chez les souris (Sinha et al. 2020). Cependant, la conversion en acides biliaires secondaires est attribuée à un petit nombre de bactéries possédant des enzymes inductibles par les acides biliaires, notamment *Clostridium cluster XIVa* et *Eubacterium* parmi les genres du phylum *Firmicutes*. Ces populations bactériennes semblent préférentiellement diminuées en cas d'inflammation chronique. Confirmant cette hypothèse, plusieurs études de métabolomique non ciblée ont mis en avant une concentration fécale en acides biliaires secondaires inférieure dans les cas d'EIC avec une augmentation de la concentration fécale en acides biliaires primaires (Guard et al. 2019),(Blake et al. 2019).

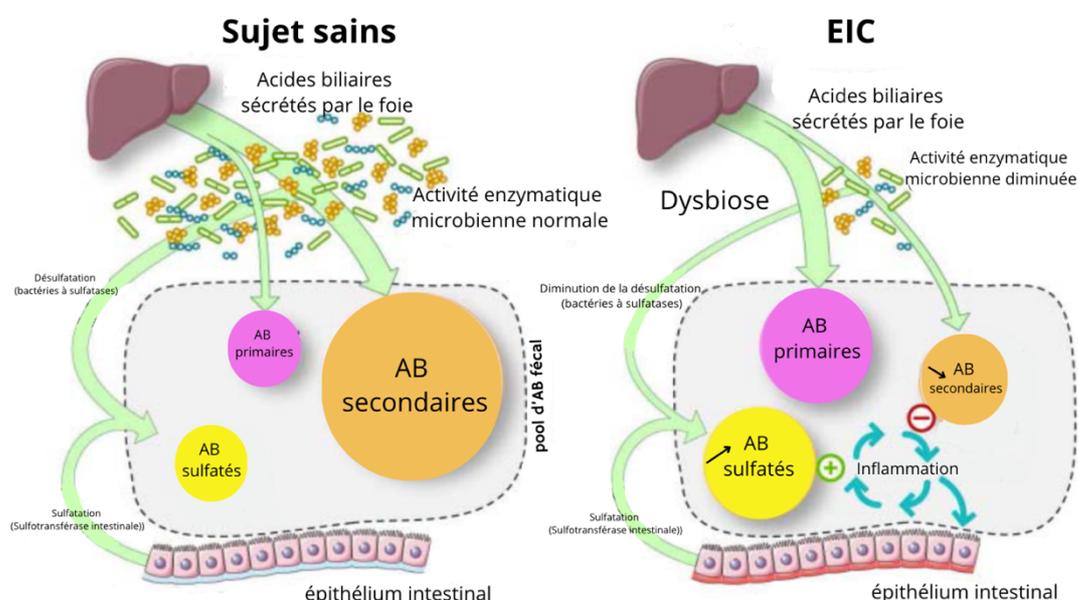


Figure 18 : Modèle physiopathologique du dysmétabolisme des acides biliaires luminaux dans les maladies inflammatoires de l'intestin (Duboc et al. 2013)

L'altération de l'activité enzymatique du microbiote observée dans la dysbiose associée aux EIC entraîne des modifications de la composition du pool d'acides biliaires luminaux. L'altération de la transformation des AB dans la lumière intestinale peut annuler les effets anti-inflammatoires de certaines espèces d'AB sur les cellules épithéliales de l'intestin et pourrait participer à la boucle d'inflammation chronique des EIC (Duboc et al. 2013).

3.4.3 Diminution du taux de tryptophane sérique

L'administration de tryptophane et de certains de ses métabolites a montré une réduction de la sévérité de la colite chez les souris, tandis que son exclusion de l'alimentation augmentait la susceptibilité à la maladie (Hashimoto et al. 2012). Par ailleurs, une augmentation du métabolisme du tryptophane, ainsi qu'une corrélation inverse entre les niveaux de tryptophane sériques et l'activité de la maladie, ont été observées chez une cohorte de 535 patients humains atteints d'EIC (Nikolaus et al. 2017).

Bien que les niveaux de tryptophane ou de ses métabolites n'est pas encore été très étudié chez le chien, cette molécule semble jouer un rôle clé dans la modulation de l'inflammation intestinale, avec des implications potentielles pour le traitement et la détection des EIC.

3.4.4 Augmentation de l'activité protéolytique

Des études récentes ont impliqué les protéases de l'hôte et du microbiote intestinal dans la pathogenèse des MICI. Des échantillons intestinaux et fécaux de patients atteints de la Maladie de Crohn et de colite ulcéreuse ont montré une activité excessive des protéases à sérine par rapport aux témoins sains (Mkaouar et al. 2021). Ainsi, une activité protéolytique incontrôlée est susceptible d'interférer dans diverses voies de signalisation, d'infliger des dommages tissulaires et d'exacerber l'inflammation intestinale.

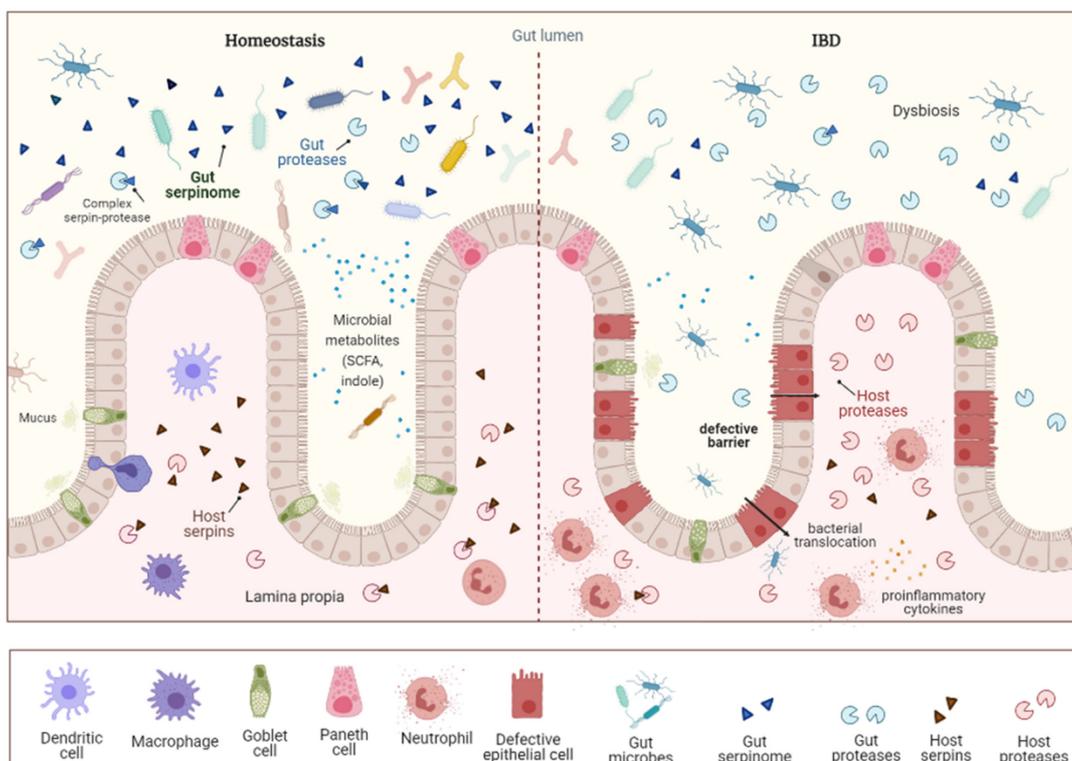


Figure 19 : Implication du serpinome intestinal dans l'homéostasie intestinale et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Mkaouar et al. 2021) ; SCFA : acide gras à chaîne courte.

La dérégulation de l'équilibre protéolytique avec une activité accrue des protéases par rapport aux serpines altère la barrière intestinale et exacerbe l'inflammation (Mkaouar et al. 2021). Une augmentation de l'expression et de l'activité des protéases à sérine a été démontrée dans les tissus coliques et les échantillons fécaux des patients atteints de MICI par rapport aux témoins sains (Jablaoui et al. 2020; Kriaa et al. 2020; Van Spaendonk et al. 2017). Cette activité protéolytique dérégulée participe à la réponse inflammatoire et provoque des altérations structurales et fonctionnelles de l'épithélium intestinal notamment par l'activation du récepteur PAR (protease-activated Receptor) (Motta et al. 2021), le clivage des protéines jonctionnelles (Dabek et al. 2011) ainsi que la synthèse des cytokines et des chémokines inflammatoires (Mortier et al. 2010).

De la même façon, parmi les protéases à cystéine, les caspases et les cathepsines ont été étudiées pour leur rôle potentiel dans la pathogenèse des entéropathies inflammatoires chroniques (Julien, Wells 2017). Par exemple, chez l'humain, au niveau génétique, le gène de la caspase 9 a été suggéré comme un gène de susceptibilité aux MICI (Guo et al. 2011).

Les altérations de la composition et de la fonction du microbiote intestinal susceptibles d'intervenir dans le développement et l'entretien des EIC chez l'humain et le chien sont résumées dans la figure 20.

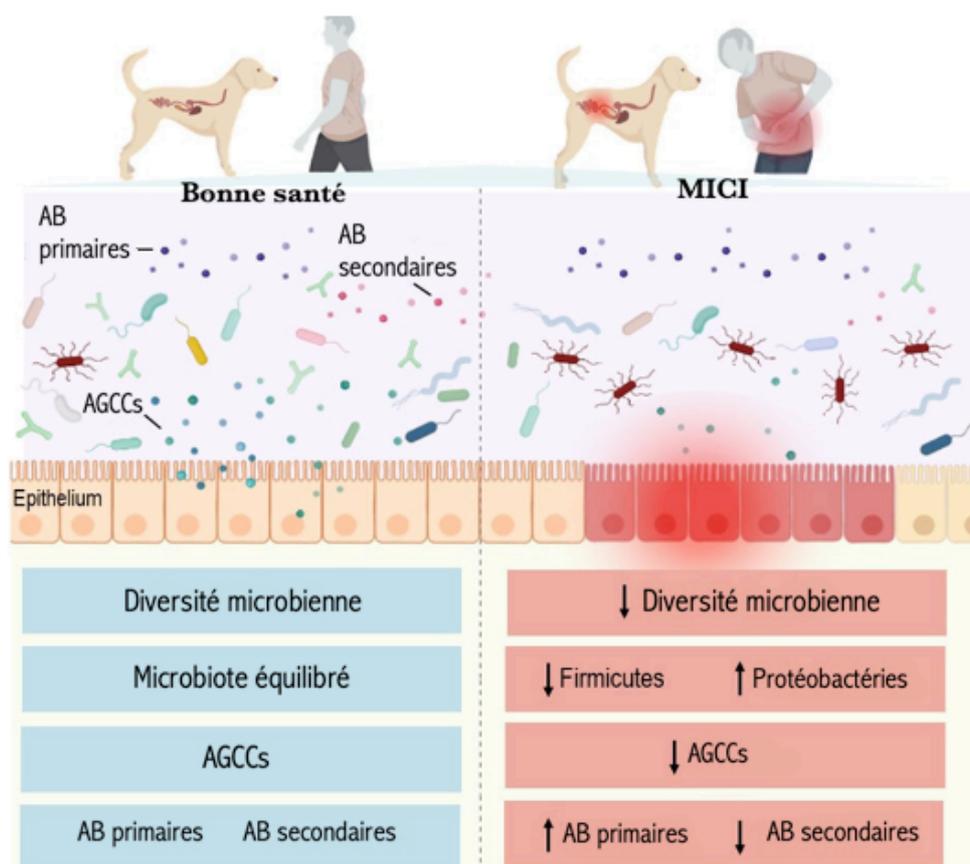


Figure 20 : Schéma bilan sur les modifications environnementales en cas d'entéropathie inflammatoire chronique du chien par (Hernandez et al. 2022)

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

1 Introduction

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à la comparaison de la composition du microbiote intestinal chez des chiens sains appartenant à deux races prédisposées aux entéropathies chroniques (le Berger Allemand et le Yorkshire Terrier) et à une race dite « témoin » (le Berger Australien), ainsi qu'aux données de la littérature. L'objectif de cette étude est de déterminer si une race prédisposée aux EC présente un microbiote intestinal différent par rapport à une race non prédisposée.

1.1 Races prédisposées aux entéropathies chroniques

Le Berger Allemand fait partie des cinq races présentant un risque élevé de développer une entéropathie inflammatoire chronique (EIC) (Kathrani et al. 2011). Cette race est sujette à une immunodéficience généralisée (Vilson et al. 2013), caractérisée notamment par un déficit en immunoglobuline A (IgA) sérique, une molécule immunitaire essentielle à la défense des muqueuses, au niveau intestinal notamment (German et al. 2000; Batt et al. 1991; Grützner et al. 2021; Olsson et al. 2014). Cette race, fréquemment étudiée dans le contexte des EIC, présente également un polymorphisme de certains gènes impliqués dans la pathogenèse des de ces maladies, notamment ceux codant pour les récepteurs Toll-like (TLR) et NOD-like (NLR) (Allenspach et al. 2010; Hampe et al. 2001; Kathrani et al. 2010).

Le Yorkshire Terrier est l'une des races les plus fréquemment touchées par l'entéropathie chronique avec perte de protéines (PLE) ((Dossin, Lavoué 2011),(Bota et al. 2016)), représentant environ 15 % des cas chez les chiens (Kimmel et al. 2000). Cette race a un risque environ 10 fois plus élevé de développer une PLE par rapport aux races non prédisposées (Peterson, Willard 2003; Kimmel et al. 2000). Ce type d'entéropathie est principalement causé par la lymphangiectasie, des entéropathies inflammatoires chroniques ou des néoplasies (Rudinsky et al. 2017).

Chez les Yorkshire Terriers, la PLE est généralement liée à la lymphangiectasie (Kull et al. 2001; Peterson, Willard 2003; Lecoindre et al. 2010). Histologiquement, dans cette race, les lésions d'entérite exsudative incluent fréquemment une dilatation des chylifères et des cryptes intestinales, parfois accompagnées d'abcédation et d'inflammation intestinale (Rudinsky et al. 2017) avec une prévalence élevée de lésions cryptiques qui semblent plus sévères dans cette espèce (Lecoindre et al. 2010; Kull et al. 2001).

1.2 Utilisation du Berger Australien comme population témoin

Dans la littérature, aucune prédisposition raciale aux entéropathies chroniques (EC) n'a été rapportée chez le Berger Australien (Kathrani et al. 2011; Craven et al. 2004), ce qui en fait une race idéale pour être utilisée comme groupe témoin dans cette étude, permettant ainsi une comparaison fiable avec les races prédisposées.

2 Matériels et méthodes

Les méthodes d'échantillonnage et d'analyse du microbiote fécal ont été identiques entre les deux cohortes de chiens prédisposés ou non aux EC

2.1 Méthodes de recrutement, sélection des individus prélevés et critères d'inclusion

Tous les propriétaires de Bergers Australiens, de Bergers Allemands ou de Yorkshires Terriers en bonne santé, qu'ils soient particuliers ou éleveurs, ont été invités à faire participer leur chien à l'étude. Le recrutement a été réalisé par contact direct avec les éleveurs, fréquentation de clubs canins ou d'événements cynophiles, annonces sur les réseaux sociaux et au sein du CHUV d'Oniris, ainsi que par le bouche-à-oreille. Les chiens sélectionnés devaient être apparemment en bonne santé et âgés de plus de six mois. Tous les chiens répondant à ces critères ont été acceptés, quel que soit leur sexe, statut physiologique ou indice de condition corporelle, et qu'ils soient inscrits au Livre des Origines Français ou non, à condition qu'ils soient de race pure. Les chiens présentant un problème de santé mineur, transitoire et sans lien connu avec le microbiote intestinal, ont également été acceptés. Les traitements en cours, le cas échéant, ont été méticuleusement notés.

Les chiens recevant une antibiothérapie, ayant une maladie affectant leur état général ou souffrant de signes digestifs chroniques n'ont pas été retenus.

2.2 Collecte des données : questionnaire individuel, détermination de l'indice de condition corporelle et du score fécal

Pour chaque chien prélevé, les données suivantes ont été recueillies aussi précisément que possible auprès du propriétaire *via* un questionnaire disponible en Annexe 2 :

- Informations générales sur l'animal :

- Date de naissance
- Ration alimentaire précise (croquettes, ration ménagère, viande crue, friandises, etc.)
- Tendance à la coprophagie ou non
- Tendance à l'ingestion de corps étrangers ou non
- Baignades régulières ou non, et si oui, dans quel type de point d'eau (eau de mer, rivière, eau stagnante, etc.)
- Lieu de naissance, si différent du lieu de vie
- Voyages effectués au cours de la vie
- Activité sportive régulière ou non

- Informations sur la santé de l'animal :

- Antécédents de maladies ou non, et si oui, lesquels
- Antécédents d'anesthésie ou non, et si oui, pour quel(s) motif(s)
- Antibiotiques reçus, avec les détails suivants : molécule utilisée, date, durée et voie d'administration
- Antiparasitaires (externes ou internes) reçus, avec les détails suivants : molécule utilisée, voie, fréquence d'administration et date de la dernière administration
- Vaccins reçus, si oui, lesquels et date de la dernière administration
- Tout autre traitement par voie orale, avec les détails suivants : molécule utilisée, date, durée et voie d'administration

- Informations sur la collectivité :

- Lieu de vie de l'animal (département/ville)
- Nombre de chiens en contact avec le donneur
- Nombre d'animaux d'autres espèces en contact avec le donneur
- Type d'hébergement (appartement, maison avec jardin, chenil, etc.)
- Type de sol dans les lieux de vie (terre, herbe, béton, paille, etc.)
- Fréquence de ramassage des déjections
- Présence de maladies d'élevage ou non

- Données spécifiques pour chaque prélèvement :

- Type de prélèvement (aérobie ou anaérobie)
- Score fécal selon la grille en annexe 4
- Indice de condition corporelle, d'après la grille en annexe 3

Ces informations permettent d'obtenir une vue d'ensemble complète et détaillée de chaque chien et de ses conditions de vie, afin de mieux comprendre les facteurs pouvant influencer sa santé digestive.

2.3 Analyse parasitaire

Pour exclure les échantillons d'animaux porteurs de parasites digestifs, une analyse coprologique a été effectuée par le laboratoire Idexx. Celui-ci a recherché la présence de parasites dans les selles à l'aide d'un test de flottation coproscopique. Ce test consistait à filtrer les selles afin de retirer les débris, puis à les mélanger avec des solvants permettant la remontée des œufs de parasites à la surface, facilitant ainsi leur identification et dénombrement. En parallèle, une recherche de Giardia a été réalisée par la méthode ELISA. Les animaux dont les selles étaient positives pour des parasites ou Giardia ont été exclus de l'étude.

2.4 Présentation de la cohorte constituée

Nous avons collecté les selles d'environ 400 chiens dans le but de créer une cohorte représentative pour notre étude. Notre étude a porté sur un échantillon sélectionné issu de cette population globale. Le choix des chiens sélectionnés a visé à minimiser certains facteurs confondants pouvant interférer dans notre étude de la composition du microbiote fécal.

2.4.1 Alimentation

L'alimentation constituant un facteur majeur de variation de la composition du microbiote intestinal, nous avons donc sélectionné des chiens dont la composition de la ration était relativement similaire. Tous les chiens étudiés ont reçu une alimentation industrielle sèche identique dont la composition en macronutriments était la suivante :

Taux de protéine : 25%

Taux de graisse : 17%

Taux de cellulose : 6,2%

Taux de fibres 1,8%

2.4.2 Âge

L'âge des chiens étudiés a été choisi dans un intervalle restreint :

- de 2 à 3,9 ans pour les Yorkshire Terriers, avec une moyenne d'âge de 3 ans
- de 1,7 à 4 ans pour les Bergers Allemands, avec une moyenne d'âge de 3 ans
- de 1,9 à 3,9 ans pour les Bergers Australiens, avec une moyenne d'âge de 3 ans

Ainsi, la moyenne d'âge des trois groupes de races était similaire, ce qui a permis de réduire les variations de composition du microbiote fécal liées à l'âge.

2.4.3 Indice de condition corporelle

Seuls des chiens possédant un indice de condition corporelle (ICC) autour du score idéal selon la World Small Animal Veterinary Association ont été retenus, en prenant soin d'exclure les animaux en surpoids. Tous les chiens possédaient un ICC compris entre 3 et 4,5 sur 9.

2.4.4 État physiologique

Seuls les chiens en bonne santé, sans aucune maladie et aucun signe clinique déclaré par les propriétaires, ont été inclus dans notre étude.

2.5 Analyse microbiologique

2.5.1 Types de prélèvements

Les échantillons de selles ont été récoltés au moment de leur émission spontanée par les chiens, entre septembre 2018 et mars 2024. Chaque échantillon a été prélevé en conservant la structure de la selle afin de limiter le contact avec l'oxygène ambiant.

Pour chaque chien, les selles ont été réparties dans deux pots à prélèvements :

- Un premier pot destiné à l'analyse parasitologique (aérobie)
- Un second pot destiné à l'analyse du microbiote (anaérobie)

Pour maintenir l'anaérobiose dans les pots destinés à l'analyse du microbiote, les pots ont été placés dans un sachet de congélation individuel contenant un sachet en papier AnaeroGen™ (AN0035A). Ces sachets génèrent une atmosphère anaérobie en absorbant l'oxygène et en produisant simultanément un dégagement de dioxyde de carbone. Ils permettent de réduire le taux d'oxygène jusqu'à un pourcentage inférieur à 1% en moins de 30 minutes et d'obtenir une concentration en dioxyde de carbone comprise entre 9 et 13%. L'ensemble des sachets était ensuite placé dans une jarre hermétique contenant elle-même deux sachets AnaeroGen™ (AN0035A). Le maintien en condition anaérobie est primordial pour ne pas modifier le microbiote fécal, lorsque la congélation de l'échantillon n'est pas immédiate.

Le prélèvement destiné à l'analyse parasitologique était envoyé au laboratoire IDEXX. Le prélèvement destiné à l'analyse du microbiote fécal était expédié à l'unité MIHA (Microbiota Interaction Human and Animal) de l'institut MICALIS de l'INRA de Jouy-en-Josas. Une fois parvenus à

l'INRA, les prélèvements en anaérobiose étaient stockés sous forme d'échantillons de 5g dans des congélateurs à -80°C permettant de figer la composition du microbiote.

En cas d'impossibilité de transfert rapide au laboratoire (<24h), les échantillons ont été conservés en conditions aérobies dans un pot à prélèvement stérile étanche et congelés à -80 °C dans les 2 heures.

2.5.2 Extraction de l'ADN métagénomique

La première étape d'analyse du microbiote a consisté à extraire l'ADN des échantillons de 5g de selles pour chacun des 54 chiens du lot. Pour cela, 50 mg de selles ont été prélevés dans chaque échantillon et l'extraction de l'ADN a eu lieu en plusieurs étapes selon un protocole établi par l'unité MIHA de l'INRA de Jouy-en-Josas.

Dans un premier temps, une lyse chimique a été effectuée. Cette lyse consiste à adjoindre du thiocyanate de guanidine et du N-lauroyl sarcosine aux 50 mg de selles et à incuber l'ensemble à 70°C après homogénéisation. Le thiocyanate de guanidine inhibe les nucléases tandis que le N-lauroyl sarcosine est un détergent qui lyse les cellules. Ce traitement chimique appliqué contribue à la lyse des cellules et empêche la dégradation des acides nucléiques.

Dans un second temps, une lyse mécanique des cellules a été effectuée. Cette lyse mécanique a été réalisée par agitation au Bead-Beater™. Ces deux premières étapes ont permis de déstabiliser les parois bactériennes et de détruire les membranes biologiques, ce qui permet la libération de l'ADN.

La troisième étape a consisté à débarrasser l'ADN libéré des protéines et des débris cellulaires.

1. Une précipitation des molécules aromatiques a d'abord été effectuée en additionnant du PVPP (polyvinylpyrrolidone) aux échantillons. Le surnageant contenant de l'ADN encore impur a été récupéré dans un tube de 2 mL.
2. Le culot (contenant les molécules aromatiques précipitées et un peu d'ADN) a été lavé avec une solution tampon contenant de l'EDTA (il permet la chélation des ions bivalents co-facteurs des nucléases et limite donc la dégradation de l'ADN). L'ensemble culot-solution tampon a été centrifugé à trois reprises et le surnageant a été récupéré et ajouté au tube de 2 mL après chaque centrifugation. Cette étape de lavage permet de récupérer le maximum d'ADN impur.
3. Le tube de 2 mL contenant les surnageants (ADN impur) a été centrifugé et le surnageant issu de cette centrifugation a de nouveau été placé dans des tubes de 2 mL. Cette centrifugation élimine les particules en suspension.

4. Une précipitation des acides nucléiques a ensuite été réalisée en ajoutant de l'isopropanol aux tubes. Après centrifugation, le surnageant a été éliminé.
5. Une nouvelle étape de précipitation des protéines restant dans le culot contenant les acides nucléiques a été effectuée. Le culot a été remis en suspension dans du tampon phosphate et de l'acétate de potassium. Après centrifugation et incubation au bain-marie, le surnageant (contenant l'ADN) a été récupéré dans un tube Ependorf de 1.5 mL et le culot (contenant les protéines) a été éliminé.
6. Une étape de digestion de l'ARN a ensuite été réalisée par adjonction de RNase au surnageant et incubation à 37°C.
7. L'ADN a ensuite été précipité par adjonction d'acétate de sodium et d'éthanol 100%. Le surnageant a été éliminé après centrifugation.
8. Pour finir, le culot obtenu (contenant l'ADN) a été rincé à deux reprises avec de l'éthanol 70% pour éliminer les dernières impuretés. L'éthanol a été éliminé après chaque centrifugation et le culot obtenu a été séché sous hotte à flux laminaire. Le culot obtenu a été suspendu dans une solution tampon et conservé à -80°C.

2.5.3 Vérification de la qualité de l'extraction

Une fois l'ADN bactérien extrait et purifié, il est essentiel de vérifier sa qualité. Les séquences d'ADN 16S utilisées pour l'identification des bactéries doivent être intactes et non altérées au cours des étapes d'extraction. De plus, l'ADN doit être aussi pur que possible pour éviter les artéfacts lors des étapes d'amplification et d'identification.

2.5.3.1 Fragmentation de l'ADN

Lors de l'extraction de l'ADN, il est possible que les hélices d'ADN se cassent si les étapes du protocole ne sont pas exécutées avec suffisamment de soin. Pour vérifier l'absence de fragmentation de l'ADN, une électrophorèse sur gel a été réalisée. La présence d'une bande homogène, peu migrée, indique que les molécules d'ADN sont intactes et n'ont pas été endommagées pendant l'extraction. En revanche, si de nombreuses petites bandes migrent plus loin, cela signale la présence de fragments d'ADN de tailles différentes, témoignant d'une dégradation de l'ADN durant l'extraction.

2.5.3.2 Présence de molécules indésirables

La détection des molécules indésirables a été réalisée par des mesures d'absorbance. Les acides nucléiques absorbent à 260 nm, tandis que les protéines absorbent à 280 nm et les autres molécules organiques à 230 nm. En comparant l'absorbance à 260 nm avec celle à 230 ou 280 nm, il est possible d'évaluer le niveau de contamination de l'ADN extrait. Si ce rapport est inférieur à 2, la contamination

est jugée excessive et il est alors nécessaire de reprendre la procédure pour obtenir un échantillon d'ADN acceptable.

2.5.4 Amplification par PCR des séquences extraites

Une fois l'ADN extrait, les séquences d'intérêt (c'est-à-dire les ADN bactériens) ont été amplifiées par PCR afin d'en synthétiser une quantité suffisante pour le séquençage.

Pour pouvoir détecter tous les ADN bactériens, la technique de l'ARNr 16S a été utilisée. Cette technique consiste à amplifier les séquences d'ADN codant pour l'ARN ribosomal 16S. Cet ARN ribosomal a la particularité de posséder 9 régions conservées au sein de toutes les bactéries, qui encadrent des régions hypervariables d'un taxon à l'autre. Les régions conservées permettent de construire des amorces pour la PCR afin de sélectionner la région d'intérêt et de capturer l'ensemble des ARNr 16S. Les régions hypervariables encadrées par les amorces choisies permettent de discriminer les taxons bactériens après séquençage.

Nous avons choisi les amorces correspondant aux régions conservées V3-V4. La région hypervariable encadrée par ces deux amorces a une longueur d'environ 150 paires de bases.

La PCR en temps réel a été réalisée selon un protocole établi par l'unité MIHA de l'INRA de Jouy-en-Josas. Une quantité d'ADN de 10 ng a été introduite dans le thermocycleur associé à une solution tampon (Buffer 10X), à des dNTP, aux amorces et à la Taq polymérase. La Taq polymérase choisie est la MolTaq 16S DNA Polymerase (MEDIANE, réf P-019-500) et les amorces (régions V3 et V4) correspondent aux séquences suivantes :

Forward Primer : 5' CTTTCCCTACACGACGCTCTCCGATCTACGGRAGGCAGCAG

Reverse Primer : 5' GGAGTTCAGACGTGTGCTCTCCGATCTTACCAGGTATCTAATCCT

Les quantités de réactifs à introduire, les températures et durées des étapes de dénaturation, hybridation et élongation ainsi que le nombre de cycles à réaliser ont été déterminés par l'unité MIHA de manière à optimiser le rendement de la PCR.

La qualité de la PCR a été évaluée par électrophorèse. Cette électrophorèse permet de vérifier la présence de fragments de 150 paires de bases.

2.5.5 Séquençage

Les amplicons ont été envoyés à la plateforme GeTPlage de l'INRA à Toulouse, où ils ont été séquencés en utilisant une méthode de séquençage à haut débit, le pyroséquençage. Les séquences générées à cette étape sont appelées "reads".

2.5.6 Traitement bio-informatique des données

2.5.6.1 Analyse primaire

L'analyse primaire consiste en un ensemble d'étapes visant à préparer, nettoyer et transformer les données brutes issues du séquençage pour les rendre exploitables. Elle se compose de différentes étapes représentées dans la figure 21.

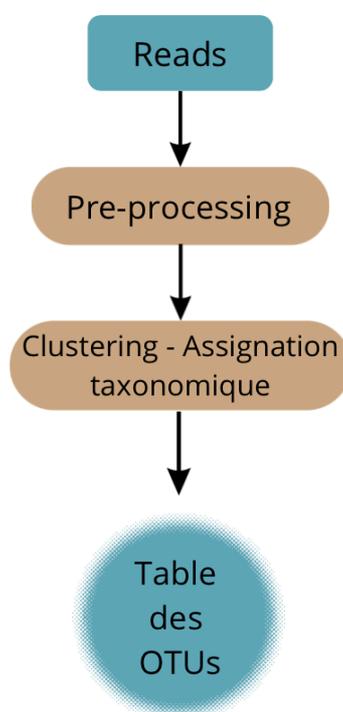


Figure 21 : Étapes de l'analyse primaire du traitement bio-informatique

Ces étapes préparent les données pour l'analyse secondaire, qui inclut des analyses plus approfondies comme l'étude de la diversité et les comparaisons entre groupes bactériens.

2.5.6.1.1 Pre-processing

Après l'obtention des reads, un premier filtrage a été réalisé à l'aide de la plateforme FROGS. Cette étape vise à éliminer les erreurs de séquençage en excluant les séquences qui ne répondent pas aux critères requis : longueur incorrecte (moins de 150 paires de base), absence d'alignement correct avec les amorces choisies en début ou en fin de séquence, ou présence de bases ambiguës. Les

séquences chimériques, résultant de la fusion de fragments lors des amplifications, ont également été supprimées.

2.5.6.1.2 *Clustering – Assignment taxonomique*

Le clustering a pour but d'identifier chaque séquence en lui attribuant un nom de bactérie ou un phylum. Les séquences ont été comparées et regroupées en fonction de leur similarité en utilisant une méthode appelée clustering hiérarchique ou stratégie *de novo*. Cette méthode compare toutes les séquences entre elles, crée une matrice des distances et regroupe progressivement les séquences en clusters selon leur proximité. Au début, chaque séquence forme un cluster séparé, puis les clusters les plus similaires sont fusionnés.

À partir de ces clusters, des OTUs (unités taxonomiques opérationnelles) ont été définies, représentant des groupes de bactéries ayant plus de 97 % de similarité. Une séquence consensus a été déterminée pour chaque OTU et comparée à une base de données (SYLVA 132 16S) pour attribuer un nom de phylum ou de genre à chaque OTU, ce qui constitue l'assignation taxonomique. Cette annotation est ensuite appliquée à tous les *reads* appartenant à l'OTU.

2.5.6.1.3 *Création d'une table des OTUs*

Après avoir obtenu les OTUs, une table d'OTUs est créée. Ce tableau à double entrée répertorie le nombre de séquences pour chaque OTU dans chaque échantillon, appelé abondance. Pour faciliter la comparaison entre les échantillons, les abondances absolues sont normalisées en exprimant le nombre de séquences pour chaque OTU en pourcentage du nombre total de séquences dans l'échantillon. Ce tableau normalisé est utilisé comme base pour toutes les analyses métagénomiques ultérieures.

2.5.6.2 *Analyse secondaire*

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R (package PHYLOSEQ). Les comparaisons statistiques ont été effectuées à l'aide du test de Matt-Whitney et de la correction de Benjamini-Hochberg. Les données sont présentées sous forme de moyennes accompagnées de l'Erreur Standard de la Moyenne (SEM). Différentes pValues ont été utilisées : * pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$, et *** pour $p < 0,001$.

2.5.6.2.1 Détermination de la composition du microbiote

Dans notre étude, l'abondance relative a été calculée à différentes échelles. Tout d'abord, l'abondance relative des différents phyla a été déterminée pour chacun des 54 échantillons et regroupée ensuite par race pour ne plus comparer que l'abondance relative des trois races de chien. Ensuite, nous avons comparé l'abondance relative de certaines familles et genres bactériens présents chez chacune des trois races.

2.5.6.2.2 Détermination de l'alpha diversité

Trois indices différents ont été utilisés pour évaluer la diversité alpha dans les échantillons :

- L'indice **Observed** mesure la richesse en comptant le nombre total d'espèces différentes (ou OTUs) observées dans un échantillon.
- L'indice **Shannon** mesure la diversité en prenant en compte à la fois la richesse et l'équité des espèces dans un échantillon. En d'autres termes, un échantillon dans lequel toutes les espèces sont également représentées a un indice de Shannon plus élevé.
- L'indice **InvSimpson** est une autre mesure de la diversité qui met davantage l'accent sur l'équité ou la dominance des espèces. Il est calculé comme l'inverse de l'indice de Simpson, qui mesure la probabilité que deux individus choisis au hasard dans un échantillon appartiennent à la même espèce. Un indice InvSimpson plus élevé indique une diversité plus grande, car cela signifie qu'il est moins probable que deux individus appartiennent à la même espèce, suggérant une distribution plus équitable des espèces.

2.5.6.2.3 Détermination de la bêta diversité

La diversité bêta est une mesure de la différence entre les communautés d'espèces dans différents échantillons. En d'autres termes, elle permet de comparer la composition des espèces entre plusieurs groupes d'échantillons pour voir à quel point elles sont similaires ou différentes. Par exemple, si on compare deux échantillons de microbiote fécal de chiens et qu'ils contiennent des bactéries très différentes, la diversité bêta sera élevée. Si les communautés sont très similaires, la diversité bêta sera faible.

3 Résultats

3.1 Cohorte étudiée

Le microbiote fécal de 54 chiens a été analysé pour notre étude. Les groupes se composent comme suit :

- 28 Yorkshire Terriers
- 15 Bergers Allemands
- 11 Bergers Australiens

Le détail de cette cohorte et de ses caractéristiques est présenté dans le tableau IV.

			
	Yorkshire Terrier	Berger Allemand	Berger Australien
Effectif	28	15	11
État physiologique	Sain	Sain	Sain
Âge (années) - moyenne	[2-3,9] - 3	[1,7-4] - 3	[1,9-3,9] - 3
ICC (x/9) - moyenne	[3-4,5] - 4	[3-4] – 3,5	[3-4,4] - 4
Sexe (M/F)	16/12	9/6	6/5
Alimentation	Protéines 25% Graisses 17% Cellulose 6,2 % Fibres 1,8 %	Protéines 25% Graisses 17% Cellulose 6,2 % Fibres 1,8 %	Protéines 25% Graisses 17% Cellulose 6,2 % Fibres 1,8 %

Tableau IV : Résumé des informations de la cohorte d'étude

3.2 Analyse de la diversité

3.2.1 Diversité alpha

La comparaison de la diversité alpha chez les trois races de chiens étudiées est disponible dans la figure 22.

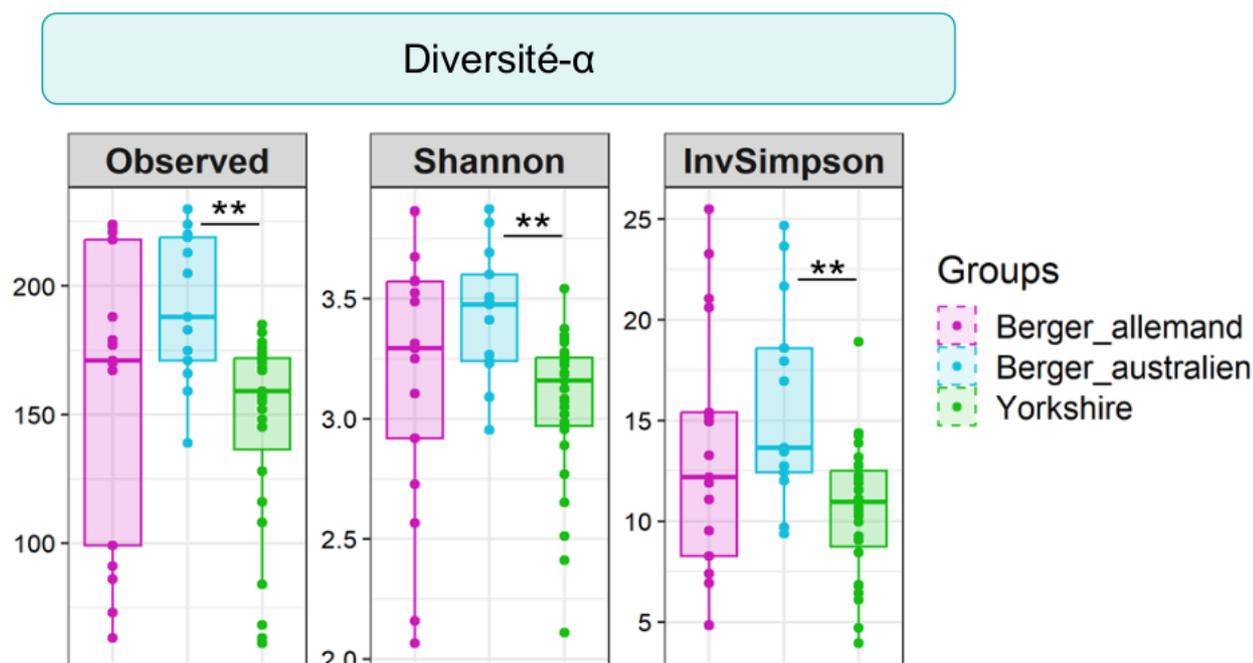


Figure 22 : Évaluation de la diversité alpha du microbiote intestinal de trois races de chiens : le Berger Allemand (rose), le Berger Australien (bleu) et le Yorkshire Terrier (vert) ; ** = p Value < 0,01

Il existe une différence significative de diversité entre le microbiote fécal du Yorkshire Terrier et celui du berger Australien.

La richesse, représentée par l'indice Observed, est significativement plus faible chez le Yorkshire Terrier comparativement à la race témoin.

Les indices de Shannon et InvSimpson sont également plus faibles chez le Yorkshire Terrier que chez le Berger Australien, indiquant que les différentes espèces bactériennes sont moins équitablement représentées.

Les trois indices sont donc inférieurs dans la population de Yorkshire Terrier, ce qui traduit une diversité microbienne moindre dans ce groupe par rapport à la race témoin.

3.2.2 Diversité bêta

La diversité bêta est représentée dans la figure 23.

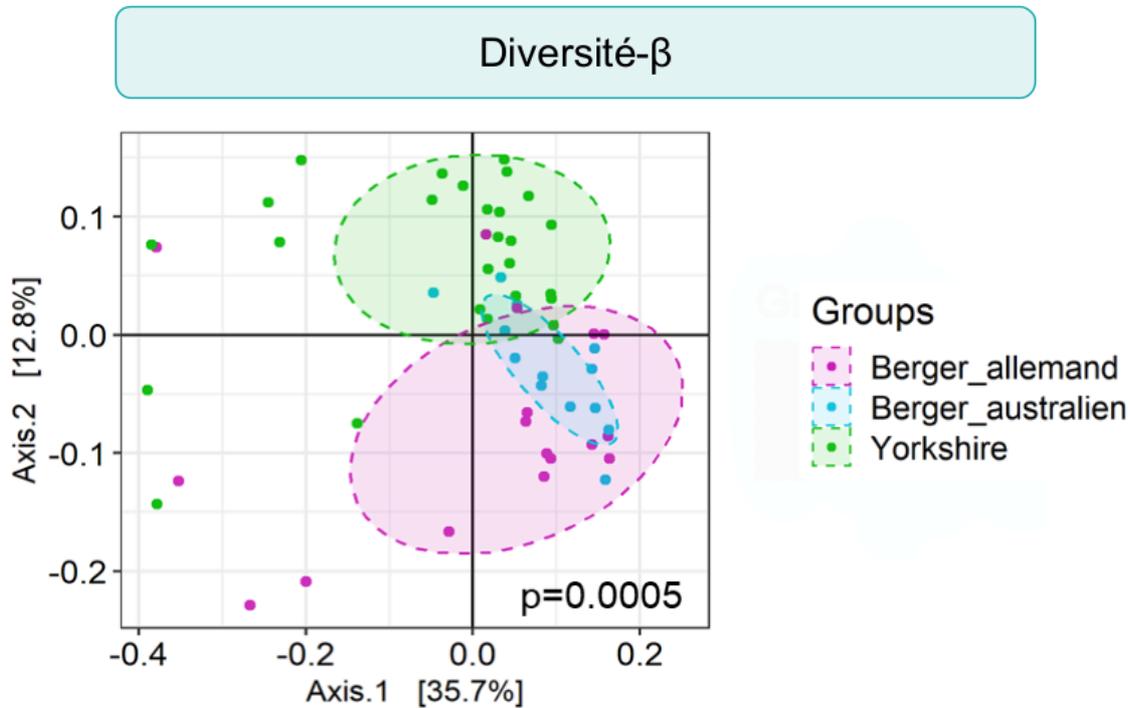


Figure 23 : Évaluation de la diversité bêta du microbiote intestinal de trois races de chiens : le Berger Allemand (rose), le Berger Australien (bleu) et le Yorkshire Terrier (vert)

Sur le graphique de diversité- β , chaque point représente un échantillon de microbiote intestinal d'un individu et les ellipses montrent les intervalles de confiance pour les groupes. La diversité- β diffère significativement entre les Yorkshire Terriers et les races de Bergers Allemand et Australien : les chiens Yorkshire Terrier forment un groupe distinct comparativement aux deux autres races de chien.

3.3 Analyse de la composition

3.3.1 À l'échelle Phylum

A l'échelle de phylum, les *Bacteroidetes*, les *Firmicutes* et les *Fusobactéries* sont prépondérants chez les 3 races étudiées (figure 24).

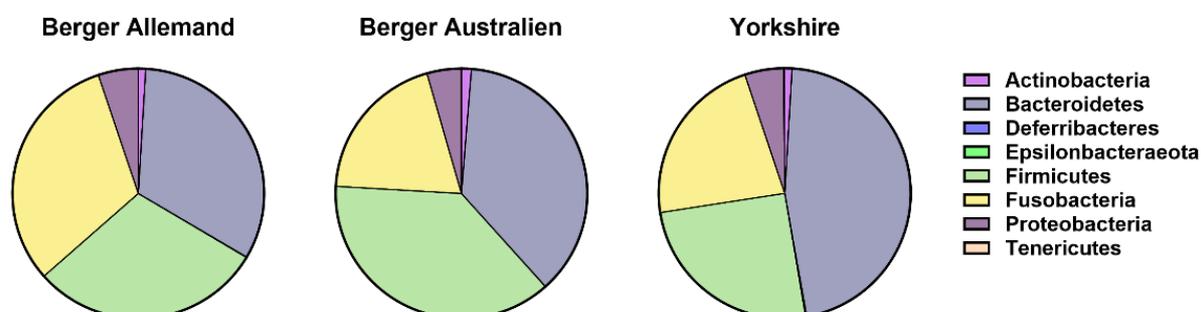


Figure 24 : Composition du microbiote à l'échelle de phylum de trois races de chiens : Berger Allemand, Berger Australien, Yorkshire Terrier

La proportion relative de ces trois phylums prépondérants est cependant variable entre nos trois races. Le Berger Allemand montre une plus faible proportion des phylums *Firmicutes* et *Bacteroidetes*, ainsi qu'une proportion plus élevée des *Fusobacteria* comparativement au Berger Australien. Le Yorkshire Terrier présente une nette prédominance du phylum *Bacteroidetes*, une augmentation plus modérée du phylum *Fusobacteria*, ainsi qu'une diminution marquée du phylum *Firmicutes* par rapport aux Bergers Australiens.

La comparaison détaillée de la composition du microbiote intestinal des deux races de chiens prédisposées aux EC par rapport à la race témoin est disponible dans le tableau V.

Tableau V : Proportion relative des différents phylums du microbiote intestinal de deux races prédisposées aux entéropathies chroniques (Berger Allemand, Yorkshire Terrier) par rapport à la race témoin (Berger Australien)

Phylums	Yorkshire Terrier	Berger Allemand
<i>Firmicutes</i>	Diminution	Diminution
<i>Fusobacteria</i>	Augmentation	Augmentation
<i>Bacteroidetes</i>	Augmentation	Diminution
<i>Actinobacteria</i>	Diminution	Diminution
<i>Proteobacteria</i>	Augmentation	Augmentation

3.3.2 À l'échelle Famille

Les figures 25, 26 et 27 présentent respectivement l'abondance relative des familles bactériennes appartenant au phylum des *Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Proteobacteria*.

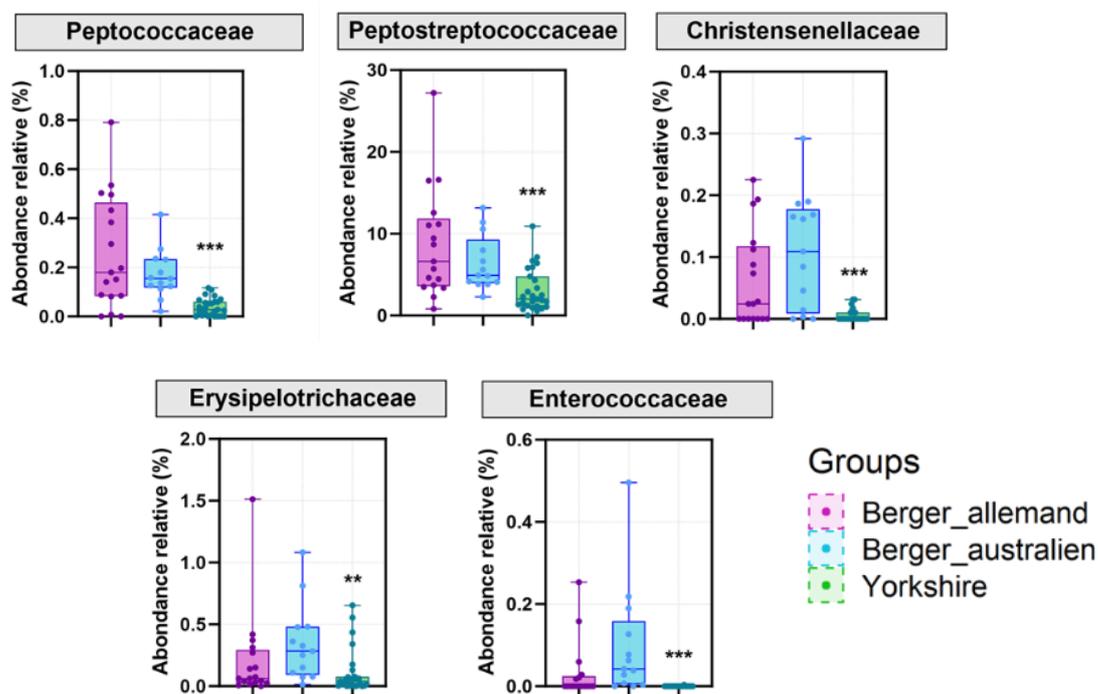


Figure 25 : Abondance relative des différentes familles appartenant au phylum des Firmicutes chez trois races de chiens : le Berger Allemand (rose), le Berger Australien (bleu) et le Yorkshire Terrier (vert). * pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$, *** pour $p < 0,001$

Concernant le phylum des *Firmicutes*, les *Christensenellaceae*, les *Erysipelotrichaceae*, les *Enterococcaceae*, les *Peptococcaceae* et les *Peptostreptococcaceae* sont significativement moins abondantes chez le Yorkshire Terrier en comparaison aux deux autres races.

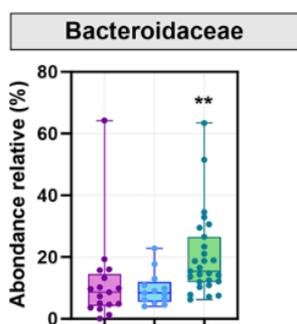


Figure 26 : Abondance relative des Bacteroidaceae chez trois races de chiens : le Berger Allemand (rose), le Berger Australien (bleu) et le Yorkshire Terrier (vert). ** pour $p < 0,01$

Concernant le phylum des *Bacteroidetes*, la famille des *Bacteroidaceae* est significativement augmentée chez le Yorkshire Terrier par rapport aux deux autres races étudiées. Cette différence reflète également une abondance plus importante du phylum *Bacteroidetes* chez cette race.

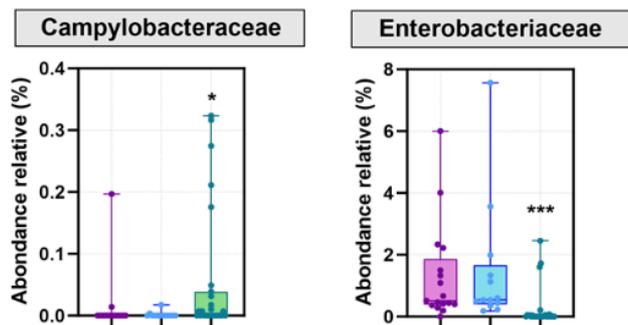


Figure 27 : Abondance relative des familles appartenant aux *Proteobacteria* chez trois races de chiens : le Berger Allemand (rose), le Berger Australien (bleu) et le Yorkshire Terrier (vert). * pour $p < 0,05$, *** pour $p < 0,001$

Les différentes familles appartenant aux *Proteobacteria* montrent des abondances relatives variables. La famille des *Campylobacteraceae* voit son abondance augmentée chez le Yorkshire Terrier alors que les *Enterobacteriaceae* sont diminuées par rapport aux deux autres races étudiées.

3.3.3 À l'échelle Genre

Les résultats de l'abondance relative des 10 genres bactériens sélectionnés sont disponibles dans les figures 28, 29 et 30.

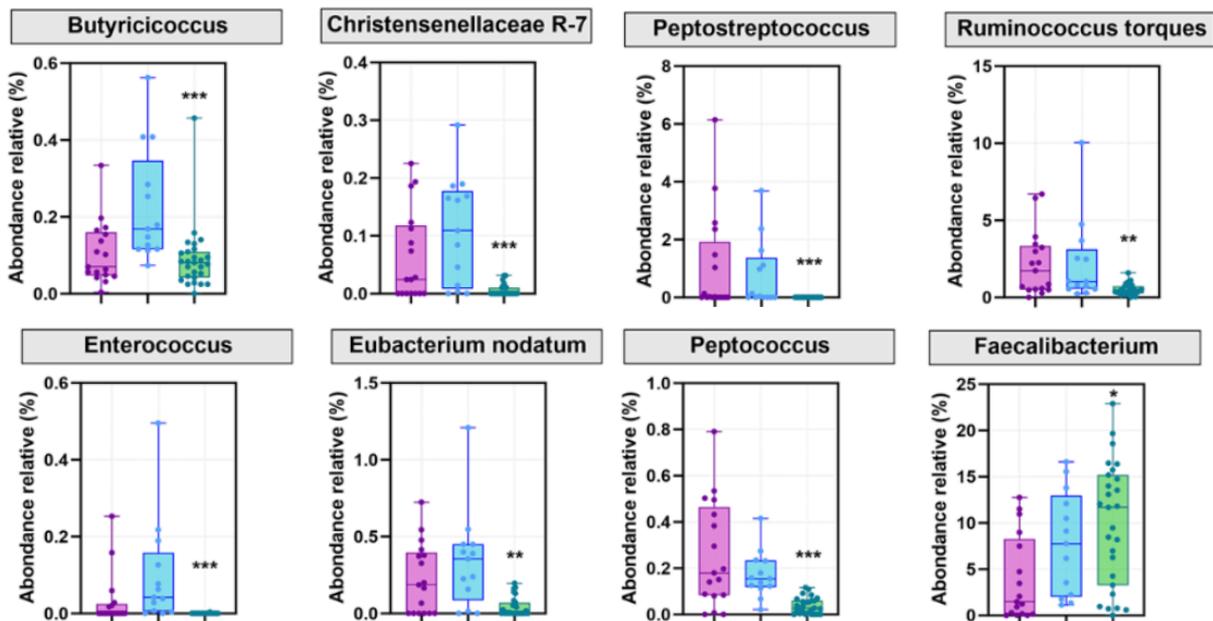


Figure 28 : Abondance relative des différents genres appartenant au phylum *Firmicutes* et composant le microbiote intestinal de trois races de chiens : le Berger Allemand (rose), le Berger Australien (bleu) et le Yorkshire Terrier (vert).

** pour $p < 0,01$, *** pour $p < 0,001$

Concernant le phylum des Firmicutes, les genres *Butyrivibrio*, *Christensenellaceae R-7*, *Enterococcus*, *Eubacterium nodatum*, *Petptococcus*, *Peptostreptococcus* et *Ruminococcus torques* montrent une plus faible abondance, alors que le genre *Faecalibacterium* montre une abondance supérieure chez le Yorkshire Terrier comparativement aux deux autres races étudiées.

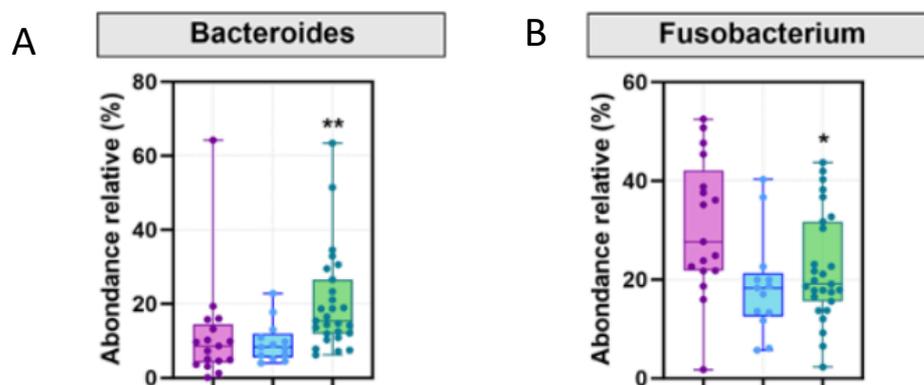


Figure 29 : Abondance relative du genre *Bacteroides* (A) et *Fusobacterium* (B) chez trois races de chiens : le Berger Allemand (rose), le Berger Australien (bleu) et le Yorkshire Terrier (vert). * pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$

Concernant le phylum des Bacteroidetes, le Yorkshire Terrier possède une plus forte abondance du genre *Bacteroides* comparativement aux deux autres races étudiées.

Dans le phylum des Fusobacteria, le genre *Fusobacterium* présente une abondance supérieure chez le Yorkshire Terrier par rapport aux deux autres races étudiées.

Les différences de composition microbienne entre nos trois races se retrouvent donc à toutes les échelles étudiées.

4 Discussion

Notre travail a été fondé sur l'hypothèse que le microbiote intestinal d'une race de chien sujette aux entéropathies chroniques pourrait différer de celui des races non prédisposées. Une des premières études à axer son travail sur l'influence de la race sur le microbiote intestinal du chien est une étude de 2019 menée sur trois races de chiens de petit format : le schnauzer nain, le bichon maltais et le caniche). Les chiens, tous élevés dans les mêmes conditions, ont présenté des variations significatives de composition de leur microbiote selon la race. Aucune de ces races de chiens n'est documentée comme étant prédisposée aux entéropathies chroniques, mais cette étude souligne l'influence de la génétique sur la composition de la microflore fécale (Reddy et al. 2019).

4.1 Intérêt et limite du protocole utilisé

4.1.1 Constitution de la cohorte

4.1.1.1 Populations d'étude

Le Berger Allemand et le Yorkshire Terrier ont été sélectionnés du fait de leur prédisposition aux entéropathies chroniques. Les critères d'inclusion imposés pour la récolte des fèces ont délibérément été peu restrictifs afin de permettre l'inclusion du plus grand nombre de chiens possible, avec un objectif minimal de 100 prélèvements pour chaque race de chien afin d'obtenir une représentation significative des races sélectionnées. Nous avons finalement rassemblé environ 400 chiens, toutes races confondues. Une sélection a ensuite été menée parmi cette cohorte pour minimiser l'influence de facteurs confondants tels que l'âge, l'alimentation, le parasitisme et l'état de santé. Nous n'avons pas réussi à inclure l'environnement de l'animal dans les critères de sélection (zone urbaine/rurale...). Nous sommes parvenus à former une cohorte homogène de 54 chiens pour notre étude. Nous avons pu rassembler un effectif plus élevé de Yorkshire Terrier (N = 28) comparativement aux Bergers Allemands (N=15) et Australiens (N= 11). Cette différence pourrait avoir un impact sur nos résultats. Les prélèvements de la cohorte globale étant conservés en congélation à -80°C, des analyses pourront être menées sur d'autres animaux dans les années à venir.

Le statut "sain" des animaux a été déterminé sur la base des déclarations des propriétaires ou des éleveurs, introduisant ainsi un certain degré de subjectivité. La perception de l'état de santé peut notamment varier selon les détenteurs. De plus, aucun suivi clinique n'a été réalisé chez ces chiens pour évaluer l'apparition éventuelle d'affections, en particulier d'entéropathies chroniques, à court ou moyen terme.

4.1.1.2 Population témoin

Le Berger Australien étant la race la plus inscrite au LOF en 2018, la collecte de fèces de chiens appartenant à cette race témoin était plus aisée. Une plus grande variabilité épidémiologique et alimentaire a été constatée chez cette race, expliquant la sélection d'un plus faible nombre d'individus. L'effectif final utilisé, ne ciblant que des chiens avec un profil similaire à celui recherché pour l'étude, n'est donc que de 11 chiens. Ce faible effectif pourrait être un paramètre à améliorer pour de futures études.

La seule race de chien témoin utilisée dans notre travail est de grand format, plus semblable au format du Berger Allemand qu'au format du Yorkshire Terrier. Bien que l'impact du format sur la composition du microbiote intestinal ne soit pas encore documenté, nous ne pouvons pas exclure que cette variable constitue un biais.

4.1.2 Techniques de prélèvement et de conservation

Dans cette étude, nous avons choisi d'analyser le microbiote intestinal à partir d'échantillons de selles. Ce choix s'explique par le fait que la plupart des recherches sur le microbiote intestinal canin et les dysbioses liées aux entéropathies chroniques utilisent des échantillons fécaux, facilitant ainsi la comparaison avec les données existantes. Par ailleurs, nos sujets étant des animaux en bonne santé, il n'était pas éthiquement justifiable de prélever des biopsies intestinales.

Les prélèvements ont été effectués suivant un protocole rigoureusement standardisé : pour tous les cas sélectionnés, les échantillons ont été recueillis au moment de l'émission spontanée des selles, placés immédiatement en conditions anaérobies, puis stockés en congélation à -80°C. Cette procédure vise à préserver les bactéries présentes en stoppant l'évolution du microbiote, assurant ainsi un bon compromis entre une collecte à grande échelle et la représentation fidèle du microbiote colique.

La technique de stockage et de conservation de selles en congélation à -80°C est choisie dans la plupart des études menées sur le microbiote fécal (G. Rossi et al. 2014; Minamoto et al. 2015). Bien que l'utilisation de tampons spécifiques ait démontré de meilleures performances de conservation (Horng et al. 2018), la congélation à -80°C reste l'une des méthodes offrant les meilleurs résultats pour la préservation des échantillons à court et long terme (Li et al. 2023; Carroll et al. 2012).

Ces paramètres sont difficilement quantifiables mais pourraient être responsables de biais dans les résultats obtenus.

4.1.3 Méthode d'analyse : séquençage de l'ARN 16s

L'utilisation de la technique de séquençage de l'ARN 16S est courante dans les études sur le microbiote intestinal chez les chiens, car elle permet d'identifier et de caractériser une large gamme

de bactéries présentes dans un échantillon en ciblant une région conservée de l'ARN ribosomal 16S, tout en capturant les variations spécifiques entre différentes espèces bactériennes. Cependant, cette méthode présente certaines limites et biais qui doivent être pris en compte. Elle offre une résolution limitée, souvent insuffisante pour différencier les espèces proches phylogénétiquement, et les résultats peuvent varier en fonction des régions hypervariables choisies pour l'amplification. Par exemple, les régions hypervariables sélectionnées dans notre étude, à savoir V3-V4, ne sont pas celles couramment utilisées dans la majorité des recherches sur le microbiote canin. La plupart des recherches se conforment aux recommandations du "Research and Testing Laboratory" à Lubbock, TX, USA, qui privilégient les régions V1-V3. L'impact d'un tel choix reste peu ou pas documenté.

4.2 Interprétation des résultats

Dans l'étude actuelle, nous avons conclu que les trois races de chiens étaient en bonne santé car ils ne présentaient aucun signe clinique et possédaient un score fécal ainsi qu'un indice de condition corporel jugés satisfaisants. L'âge, le régime alimentaire et le traitement antiparasitaire étaient homogénéisés entre les trois races. Par conséquent, les variations de microbiote fécal identifiées entre les races étudiées ont été attribuées à des facteurs génétiques prioritairement, bien que d'autres facteurs environnementaux ne puissent être rigoureusement exclus.

Des différences dans la composition du microbiote fécal se sont avérées significatives chez le Yorkshire Terrier comparativement au Berger Australien, mais ne se sont pas révélées pour le Berger Allemand pourtant très représenté dans les cas d'EC. Ces résultats, bien que statistiquement significatifs, pourraient être influencés par la comparaison de trois races présentant des morphologies distinctes.

4.2.1 Réduction de la diversité alpha

Nous avons montré que la diversité alpha chez les Yorkshire Terriers sains est plus faible que chez les Bergers Australiens. Une diminution de la richesse bactérienne est rapportée chez la plupart des chiens souffrant d'entéropathies chroniques, toutes races confondues (Xenoulis et al. 2008; Craven et al. 2009; Minamoto et al. 2015). Nous pouvons donc supposer qu'une altération de la diversité microbienne, même en l'absence d'affection digestive apparente, pourrait perturber la régulation de l'homéostasie intestinale chez le Yorkshire Terrier prédisposé aux entéropathies avec perte de protéines.

Cette réduction de diversité pourrait nous laisser supposer que certains phyla ou certaines familles se développent plus abondamment au détriment des bactéries environnantes, qu'elles soient bénéfiques ou non.

4.2.2 Composition

Dans l'analyse du gène de l'ARNr 16S des trois races de chiens de notre étude, les phyla dominants étaient les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes* et les *Fusobactéries*, comprenant plus de 90 % des séquences totales. Les autres embranchements abondants étaient les protéobactéries et les actinobactéries notamment. Ces données sont cohérentes avec de précédentes études montrant ces 3 premiers phyla comme les plus abondants, même s'il existait des variations épidémiologiques (âge, bagage génétique), de conditions environnementales (régime alimentaire, environnement d'élevage) et de statut de santé (J. S. Suchodolski et al. 2008; Hooda et al. 2012).

4.2.2.1 Rapport *Firmicutes*/*Bacteroidetes*

L'analyse de nos résultats révèle une diminution significative de l'abondance relative des *Firmicutes* chez le Yorkshire Terrier en comparaison au groupe témoin. En se référant aux données de la littérature, les *Firmicutes* sont généralement rapportés comme étant le phylum prédominant, avec des proportions variant entre 15 % et 95 %, mais le plus souvent situées autour de 50 % (Xenoulis et al. 2008; Panasevich et al. 2015; Kerr et al. 2013). Les valeurs observées dans notre étude placent ainsi le Yorkshire Terrier dans les fourchettes basses de ces références. Certaines familles et genres de bactéries ont fait l'objet d'études approfondies chez les chiens atteints d'entéropathie chronique, notamment les *Clostridiales*, dont le rôle dans le maintien de la santé intestinale est bien documenté. Plusieurs études ont signalé une réduction significative de cet ordre bactérien chez les individus souffrant d'entéropathie chronique (Suchodolski et al. 2010; Jergens et al. 2010; Minamoto et al. 2015). Chez les Yorkshire Terriers, une diminution marquée a été observée dans l'abondance des familles *Christensenellaceae*, *Peptococcaceae* et *Peptostreptococcaceae*, appartenant à l'ordre des *Clostridiales*. Ces bactéries jouent un rôle crucial dans la production des acides gras à chaîne courte (AGCC) et la régulation des acides biliaires. De plus, certains genres, tels que *Butyricicoccus* et *Ruminococcus torques*, regroupant des bactéries productrices de butyrate, un AGCC essentiel pour la santé intestinale, présentent également une abondance significativement plus basse (Chang et al. 2020). Ainsi, une diminution de cet ensemble bactérien pourrait contribuer à un environnement intestinal pro-inflammatoire, favorisant le développement d'EC.

Feacalibacterium est un genre bactérien fréquemment mentionné dans la littérature en tant qu'indicateur de la santé intestinale. L'abondance de *Feacalibacterium* tend à diminuer dans les contextes d'inflammation chronique chez le chien (Giacomo Rossi et al. 2014; Panasevich et al. 2015). Cependant, chez le Yorkshire Terrier, ce genre présente une abondance supérieure à celle observée dans notre race témoin.

Ainsi, bien que le Yorkshire Terrier montre certaines altérations du microbiote intestinal couramment associées aux chiens atteints d'EC, ces modifications ne sont pas parfaitement identiques. Ces

différences pourraient être expliquées notamment par des différences méthodologiques entre les différentes études proposées actuellement.

Nous avons également observé une augmentation du phylum *Bacteroidetes* chez les Yorkshire Terriers par rapport au groupe témoin. L'évolution de ce phylum en cas d'entéropathie chronique n'est pas uniformément décrite dans la littérature, bien que la plupart des études rapportent généralement une réduction de son abondance chez le chien (Suchodolski, Markel, et al. 2012), (Honneffer et al. 2014). Certaines recherches se sont intéressées à l'évolution du ratio Firmicutes/Bacteroidetes ((Sokol et al. 2009), (AlShawaqfeh et al. 2017), (Mariat et al. 2009)). Il apparaît que ce rapport tend à diminuer en cas d'entéropathie inflammatoire chronique, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus dans notre étude.

4.2.2.2 Augmentation balancée des protéobactéries

Plusieurs études ont rapporté une augmentation du phylum *Proteobacteria* dans les cas d'entéropathie chronique chez le chien ((Suchodolski et al. 2010), (Suchodolski, Dowd, et al. 2012; AlShawaqfeh et al. 2017)). Dans notre étude, bien que cette augmentation soit moins prononcée à l'échelle du phylum, elle se manifeste par une hausse marquée des *Campylobacteraceae* chez les Yorkshire Terriers. Parallèlement, nous avons observé une diminution des *Enterobacteriaceae*, une famille qui inclut le genre *Escherichia coli*. De manière intéressante, *E. coli* est l'une des rares bactéries directement impliquées dans certaines affections digestives inflammatoires chroniques, telles que la colite ulcéreuse chez le Boxer ((Craven et al. 2011),(Tanaka et al. 2003)).

4.3 Perspectives

Certaines études ont proposé de synthétiser les variables microbiologiques associées aux entéropathies chroniques sous la forme d'un indice de dysbiose (AlShawaqfeh et al. 2017),(Vázquez-Baeza et al. 2016). Cet indice prend en compte à la fois la diversité bactérienne et l'abondance relative d'espèces bactériennes clés, permettant ainsi de déterminer des valeurs seuils pour définir un état de dysbiose. Notre étude a révélé que les variations en abondance des différents phylums ou familles bactériennes sont souvent complexes, et l'utilisation d'un outil simplifiant excessivement ces variations pourrait conduire à des interprétations erronées. Ces résultats suggèrent que la seule analyse taxonomique ne suffit pas à expliquer les déséquilibres du microbiote. De plus, une modification de la composition microbienne ne se traduit pas nécessairement par une altération de ses fonctions. Il est donc crucial d'accompagner cette approche d'une analyse fonctionnelle approfondie des métabolites produits par le microbiote. En effet, des métabolites clés, tels que les acides gras à chaîne courte (AGCC), les acides biliaires, le tryptophane et l'activité protéolytique, jouent un rôle important dans la caractérisation de la santé intestinale, comme le démontrent

plusieurs études (Minamoto et al. 2015; Smith et al. 2013; Xu et al. 2014; Lavelle, Sokol 2020). Une analyse métabolomique complémentaire est donc nécessaire pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents aux entéropathies et affiner le diagnostic.

Notre travail suggère que la composition du microbiote intestinal varie en fonction de la race, bien que le biais potentiel du format des chiens étudiés ne puisse être levé sans introduire une seconde race témoin de format similaire au Yorkshire Terrier.

Conclusion

Dans cette étude, nous avons comparé la composition du microbiote fécal chez des chiens apparemment sains appartenant à trois races préalablement sélectionnées : la race Berger Allemand prédisposée aux entéropathies inflammatoires chroniques, la race Yorkshire Terrier prédisposée aux entéropathies avec perte de protéines, et la race Berger Australien constituant la population témoin sans prédisposition documentée pour une affection digestive chronique. Nos résultats ont révélé qu'il existe des différences dans la composition du microbiote fécal entre ces trois races de chiens. Nous avons tout particulièrement montré que la race Yorkshire Terrier présente une plus faible diversité et une plus faible richesse microbienne par rapport à la race témoin. L'analyse plus fine des communautés bactériennes a également révélé une déplétion en espèces bactériennes connues pour leur possible rôle anti-inflammatoire telles que les *Ruminococcus*, les *Butyricoccus* ou les *Christensenellaceae* appartenant au phylum des *Firmicutes* ainsi qu'une augmentation de certaines classes de protéobactéries mises en causes dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin chez l'humain et le chien telles que les *Campylobacteraceae* par exemple. Bien que ces profils de microbiote fécal ne s'accompagnent pas de signes cliniques visibles au sein de cette population de Yorkshire Terriers, ils pourraient contribuer à une perturbation de l'intégrité de l'épithélium intestinal et prédisposer au développement d'entéropathies chroniques chez cette race.

Ce travail de description constitue une première approche pour explorer l'implication des facteurs génétiques dans les variations du microbiote intestinal, susceptibles de contribuer au développement d'entéropathies chroniques chez le chien. Un changement dans les populations microbiennes peut entraîner ou non des altérations métaboliques, concernant notamment la production d'acides gras à chaîne courte, le métabolisme des acides biliaires et du tryptophane, ou encore l'activité protéolytique. Les travaux futurs devront approfondir les résultats obtenus en explorant les aspects fonctionnels de ces profils microbiens afin de mieux comprendre le rôle du microbiote intestinal dans la genèse et l'entretien des entéropathies chroniques chez le chien, ouvrant ainsi la voie à des stratégies thérapeutiques ciblées. L'exploitation de résultats issus d'une cohorte constituée d'un plus grand nombre d'individus dans chaque race, et l'introduction d'une race témoin de petit format (similaire au Yorkshire Terrier) permettra de conforter ces données préliminaires.

Bibliographie

AKIRA, S, 2003. Mammalian Toll-like receptors. *Current Opinion in Immunology*. 1 février 2003. Vol. 15, n° 1, pp. 5-11. DOI 10.1016/S0952-7915(02)00013-4.

ALLENSPACH, K., HOUSE, A., SMITH, K., MCNEILL, F. M., HENDRICKS, A., ELSON-RIGGINS, J., RIDDLE, A., STEINER, J. M., GARDEN, O. A., CATCHPOLE, B. et SUCHODOLSKI, J. S., 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*. 15 décembre 2010. Vol. 146, n° 3, pp. 326-335. DOI 10.1016/j.vetmic.2010.05.025.

ALSHAWAQFEH, MK, WAJID, B, MINAMOTO, Y, MARKEL, M, LIDBURY, JA, STEINER, JM, SERPEDIN, E et SUCHODOLSKI, JS, 2017. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiology Ecology*. 1 novembre 2017. Vol. 93, n° 11, pp. fix136. DOI 10.1093/femsec/fix136.

ATARASHI, K., TANOUE, T., OSHIMA, K., SUDA, W., NAGANO, Y., NISHIKAWA, H., FUKUDA, S., SAITO, T., NARUSHIMA, S., HASE, K., KIM, S., FRITZ, J. V., WILMES, P., UEHA, S., MATSUSHIMA, K., OHNO, H., OLLE, B., SAKAGUCHI, S., TANIGUCHI, T., MORITA, H., HATTORI, M. et HONDA, K., 2013. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*. 8 août 2013. Vol. 500, n° 7461, pp. 232-236. DOI 10.1038/nature12331.

BATT, R. M., BARNES, A., RUTGERS, H. C. et CARTER, S. D., 1991. Relative IgA deficiency and small intestinal bacterial overgrowth in German shepherd dogs. *Research in Veterinary Science*. 1 janvier 1991. Vol. 50, n° 1, pp. 106-111. DOI 10.1016/0034-5288(91)90062-S.

BELOSHAPKA, A. N., DOWD, S. E., SUCHODOLSKI, J S., STEINER, J. M., DUCLOS, Laura et SWANSON, K. S., 2013. Fecal microbial communities of healthy adult dogs fed raw meat-based diets with or without inulin or yeast cell wall extracts as assessed by 454 pyrosequencing. *FEMS Microbiology Ecology*. 1 juin 2013. Vol. 84, n° 3, pp. 532-541. DOI 10.1111/1574-6941.12081.

BENNO, Y., NAKAO, H., UCHIDA, K. et MITSUOKA, T., 1992. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science*. août 1992. Vol. 54, n° 4, pp. 703-706. DOI 10.1292/jvms.54.703.

- BERGMAN, E. N., 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*. avril 1990. Vol. 70, n° 2, pp. 567-590. DOI 10.1152/physrev.1990.70.2.567.
- BERSTAD, A., RAA, J. et VALEUR, J., 2015. Indole – the scent of a healthy ‘inner soil’. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 14 août 2015. Vol. 26, pp. 10.3402/mehd.v26.27997. DOI 10.3402/mehd.v26.27997.
- BLAKE, A. B., GUARD, B. C., HONNEFFER, J. B., LIDBURY, J. A., STEINER, J. M. et SUCHODOLSKI, J. S., 2019. Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease. *PLOS ONE*. 31 octobre 2019. Vol. 14, n° 10, pp. e0224454. DOI 10.1371/journal.pone.0224454.
- BLAKE, Amanda B. et SUCHODOLSKI, Jan S., 2016. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Animal Frontiers*. 1 juillet 2016. Vol. 6, n° 3, pp. 37-42. DOI 10.2527/af.2016-0032.
- BOEHM, M., HAENEL, I., HOY, B., BRØNDSTED, L., SMITH, T. G., HOOVER, T., WESSLER, S. et TEGTMEYER, N., 2013. Extracellular secretion of protease HtrA from *Campylobacter jejuni* is highly efficient and independent of its protease activity and flagellum. *European Journal of Microbiology & Immunology*. septembre 2013. Vol. 3, n° 3, pp. 163-173. DOI 10.1556/EuJMI.3.2013.3.3.
- BOTA, D, LECOINDRE, A, POUJADE, A, CHEVALIER, M, LECOINDRE, P, BAPTISTA, F, GOMES, E et HERNANDEZ, J, 2016. Protein losing enteropathy in Yorkshire Terriers – Retrospective study in 31 dogs. *Revue Méd. Vét.* 2016.
- BREITBART, M., HEWSON, I., FELTS, B., MAHAFFY, J. M., NULTON, J., SALAMON, P. et ROHWER, F., 2003. Metagenomic Analyses of an Uncultured Viral Community from Human Feces. *Journal of Bacteriology*. octobre 2003. Vol. 185, n° 20, pp. 6220-6223. DOI 10.1128/JB.185.20.6220-6223.2003.
- CARIO, E., GERKEN, G. et PODOLSKY, D. K., 2007. Toll-Like Receptor 2 Controls Mucosal Inflammation by Regulating Epithelial Barrier Function. *Gastroenterology*. 1 avril 2007. Vol. 132, n° 4, pp. 1359-1374. DOI 10.1053/j.gastro.2007.02.056.
- CARROLL, I. M., RINGEL-KULKA, T., SIDDLE, J. P., KLAENHAMMER, T. R. et RINGEL, Y., 2012. Characterization of the Fecal Microbiota Using High-Throughput Sequencing Reveals a Stable Microbial Community during Storage. *PLoS ONE*. 5 octobre 2012. Vol. 7, n° 10, pp. e46953. DOI 10.1371/journal.pone.0046953.

CERVANTES-BARRAGAN, L., CHAI, J. N., TIANERO, M. D., DI LUCCIA, B., AHERN, P. P., MERRIMAN, J., CORTEZ, V. S., CAPARON, M. G., DONIA, M. S., GILFILLAN, S., CELLA, M., GORDON, J. I., HSIEH, C. S. et COLONNA, M., 2017. Lactobacillus reuteri induces gut intraepithelial CD4+CD8 $\alpha\alpha$ + T cells. *Science (New York, N.Y.)*. 25 août 2017. Vol. 357, n° 6353, pp. 806-810. DOI 10.1126/science.aah5825.

CHANG, P. V., HAO, L., OFFERMANN, S. et MEDZHITOV, R., 2014. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 11 février 2014. Vol. 111, n° 6, pp. 2247-2252. DOI 10.1073/pnas.1322269111.

CHANG, S. C., SHEN, M. H., LIU, C. Y., PU, C. M., HU, J. M. et HUANG, C. J., 2020. A gut butyrate-producing bacterium *Butyricoccus pullicaecorum* regulates short-chain fatty acid transporter and receptor to reduce the progression of 1,2-dimethylhydrazine-associated colorectal cancer. *Oncology Letters*. décembre 2020. Vol. 20, n° 6, pp. 327. DOI 10.3892/ol.2020.12190.

COHN, I. et HENEGHAN, J. B., 1991. Germfree animals and techniques in surgical research. *The American Journal of Surgery*. 1 février 1991. Vol. 161, n° 2, pp. 279-283. DOI 10.1016/0002-9610(91)91145-9.
COUDEYRAS, S. et FORESTIER, C., 2010. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine. *Canadian Journal of Microbiology*. août 2010. Vol. 56, n° 8, pp. 611-650. DOI 10.1139/W10-052.

CRAVEN, M., DOWD, S. E., MCDONOUGH, S. P. et SIMPSON, K. W., 2009. High throughput pyrosequencing reveals reduced bacterial diversity in the duodenal mucosa of dogs with IBD. *J. Vet. Intern. Med.* 2009. N° 23, pp. 731.

CRAVEN, M., MANSFIELD, C. S. et SIMPSON, K. W., 2011. Granulomatous Colitis of Boxer Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1 mars 2011. Vol. 41, n° 2, pp. 433-445. DOI 10.1016/j.cvsm.2011.01.003.

CRAVEN, M., SIMPSON, J. W., RIDYARD, A. E. et CHANDLER, M. L., 2004. Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995-2002). *The Journal of Small Animal Practice*. juillet 2004. Vol. 45, n° 7, pp. 336-342. DOI 10.1111/j.1748-5827.2004.tb00245.x.

DABEK, M., FERRIER, L., ANNAHAZI, A., BÉZIRARD, V., POLIZZI, A., CARTIER, C., LEVEQUE, M., ROKA, R., WITTMANN, T., THEODOROU, V. et BUENO, L., 2011. Intracolonic infusion of fecal supernatants from ulcerative colitis patients triggers altered permeability and inflammation in mice: role of cathepsin G and protease-activated receptor-4. *Inflammatory Bowel Diseases*. juin 2011. Vol. 17, n° 6, pp. 1409-1414. DOI 10.1002/ibd.21454.

DANDRIEUX, J. R. S., 2016. Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? *The Journal of Small Animal Practice*. novembre 2016. Vol. 57, n° 11, pp. 589-599. DOI 10.1111/jsap.12588.

DAVID, L. A., MAURICE, C. F., CARMODY, R. N., GOOTENBERG, D. B., BUTTON, Julie E., WOLFE, B. E., LING, A. V., DEVLIN, A. S., VARMA, Y., FISCHBACH, M. A., BIDDINGER, S. B., DUTTON, R. J. et TURNBAUGH, P. J., 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 23 janvier 2014. Vol. 505, n° 7484, pp. 559-563. DOI 10.1038/nature12820.

DAVIE, J. R., 2003. Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate. *The Journal of Nutrition*. juillet 2003. Vol. 133, n° 7 Suppl, pp. 2485S-2493S. DOI 10.1093/jn/133.7.2485S.

DAVIS, C. P., CLEVEN, D., BALISH, E. et YALE, C. E., 1977. Bacterial Association in the Gastrointestinal Tract of Beagle Dogs. *Applied and Environmental Microbiology*. août 1977. Vol. 34, n° 2, pp. 194-206.
DOSSIN, O. et LAVOUÉ, R., 2011. Protein-Losing Enteropathies in Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1 mars 2011. Vol. 41, n° 2, pp. 399-418. DOI 10.1016/j.cvsm.2011.02.002.

DUBOC, H., RAJCA, S., RAINTEAU, D., BENAROUS, D., MAUBERT, Marie-Anne, QUERVAIN, E., THOMAS, Ginette, BARBU, V., HUMBERT, L., DESPRAS, G., BRIDONNEAU, C., DUMETZ, F., GRILL, JP., MASLIAH, J., BEAUGERIE, L., COSNES, J., CHAZOUILLÈRES, O., POUPON, R., WOLF, C., MALLET, JM., LANGELLA, P., TRUGNAN, G., SOKOL, H et SEKSIK, P., 2013. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut*. avril 2013. Vol. 62, n° 4, pp. 531-539. DOI 10.1136/gutjnl-2012-302578.

DUPOUY-MANESCAU, N., MÉRIC, T., SÉNÉCAT, O., DRUT, A., VALENTIN, S., LEAL, R. O. et HERNANDEZ, J., 2024. Updating the Classification of Chronic Inflammatory Enteropathies in Dogs. *Animals : an Open Access Journal from MDPI*. 21 février 2024. Vol. 14, n° 5, pp. 681. DOI 10.3390/ani14050681.

ELSON, Charles O., CONG, Y. MCCRACKEN, V. J., DIMMITT, R. A., LORENZ, R. G. et WEAVER, C. T., 2005. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunological Reviews*. août 2005. Vol. 206, n° 1, pp. 260-276. DOI 10.1111/j.0105-2896.2005.00291.x.

FAO–WHO., 2002. *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. 2002. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group. London, Ontario
FRANCHIMONT, D, VERMEIRE, S, EL HOUSNI, H, PIERIK, M, VAN STEEN, K, GUSTOT, T, QUERTINMONT, E, ABRAMOWICZ, M, VAN GOSSUM, A, DEVIÈRE, J et RUTGEERTS, P, 2004. Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The toll-like receptor (TLR)-4 Asp299gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut*. juillet 2004. Vol. 53, n° 7, pp. 987-992. DOI 10.1136/gut.2003.030205.

FROST, G., SLEETH, M. L., SAHURI-ARISOYLU, M., LIZARBE, B., CERDAN, S., BRODY, L., ANASTASOVSKA, J., GHOURAB, S., HANKIR, M., ZHANG, S., CARLING, D., SWANN, J. R., GIBSON, G., VIARDOT, A., MORRISON, D., LOUISE THOMAS, E et BELL, J. D., 2014. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nature Communications*. 29 avril 2014. Vol. 5, pp. 3611. DOI 10.1038/ncomms4611.

GERMAN, A. J, HALL, E. J et DAY, M. J, 2000. Relative deficiency in IgA production by duodenal explants from German shepherd dogs with small intestinal disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 31 août 2000. Vol. 76, n° 1, pp. 25-43. DOI 10.1016/S0165-2427(00)00191-4.

GRÜTZNER, N., HEILMANN, R. M., TRESS, U., PETERS, I. R., SUCHODOLSKI, J S. et STEINER, J. M., 2021. Genomic association and further characterisation of faecal immunoglobulin A deficiency in German Shepherd dogs. *Veterinary Medicine and Science*. novembre 2021. Vol. 7, n° 6, pp. 2144-2155. DOI 10.1002/vms3.603.

GUARD, B. C., HONNEFFER, J. B., JERGENS, A. E., JONIKA, M. M., TORESSON, L., LAWRENCE, Y. A., WEBB, C. B., HILL, S., LIDBURY, J. A., STEINER, J. M. et SUCHODOLSKI, J S., 2019. Longitudinal assessment of microbial dysbiosis, fecal unconjugated bile acid concentrations, and disease activity in dogs with steroid-responsive chronic inflammatory enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2019. Vol. 33, n° 3, pp. 1295-1305. DOI 10.1111/jvim.15493.

GUARD, B. C., MILA, H., STEINER, J. M., MARIANI, C., SUCHODOLSKI, J.S. et CHASTANT-MAILLARD, S., 2017. Characterization of the fecal microbiome during neonatal and early pediatric development in puppies. *PLoS ONE*. 27 avril 2017. Vol. 12, n° 4, pp. e0175718. DOI 10.1371/journal.pone.0175718.

GUO, C., AHMAD, T., BECKLY, J., CUMMINGS, J. R. F., HANCOCK, L., GEREMIA, A., COONEY, R., PATHAN, S. et JEWELL, D. P., 2011. Association of caspase-9 and RUNX3 with inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens*. janvier 2011. Vol. 77, n° 1, pp. 23-29. DOI 10.1111/j.1399-0039.2010.01569.x.

HAMPE, J., CUTHBERT, A., CROUCHER, P. JP., MIRZA, Muddassar M., MASCHERETTI, S., FISHER, S., FRENZEL, H., KING, K., HASSELMAYER, A., MACPHERSON, A. JS., BRIDGER, S., DEVENTER, S. V., FORBES, A., NIKOLAUS, S., LENNARD-JONES, J. E., FOELSCH, U. R., KRAWCZAK, M., LEWIS, C., SCHREIBER, S. et MATHEW, C. G., 2001. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *The Lancet*. 16 juin 2001. Vol. 357, n° 9272, pp. 1925-1928. DOI 10.1016/S0140-6736(00)05063-7.

HASHIMOTO, T., PERLOT, T. REHMAN, A., TRICHEREAU, J., ISHIGURO, H., PAOLINO, M., SIGL, V., HANADA, T., HANADA, R., LIPINSKI, S., WILD, B., CAMARGO, S. M. R., SINGER, D., RICHTER, A., KUBA, K., FUKAMIZU, A., SCHREIBER, S., CLEVERS, H., VERREY, F., ROSENSTIEL, P. et PENNINGER, J. M., 2012. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*. 25 juillet 2012. Vol. 487, n° 7408, pp. 477-481. DOI 10.1038/nature11228.

HERNANDEZ J., RHIMI, S., KRIAA, A., MARIAULE, V., BOUDAYA, H., DRUT, A., JABLAOUI, A., MKAOUAR, H., SAIDI, A., BIOURGE, Vi., BORGI, M. A., RHIMI, M. et MAGUIN, E., 2022. Domestic Environment and Gut Microbiota: Lessons from Pet Dogs. *Microorganisms*. 30 avril 2022. Vol. 10, n° 5, pp. 949. DOI 10.3390/microorganisms10050949.

HERNANDEZ, J., KRIAA, A., MARIAULE, V., JABLAOUI, A., DRUT, A., SÉNÉCAT, O., MAGUIN, E. et RHIMI, M., 2022. Microbiote intestinal et équilibre protéolytique dans les entéropathies inflammatoires du chien. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*. 16 novembre 2022. Vol. 175. DOI 10.3406/bavf.2022.71010.

HONNEFFER, J. B., MINAMOTO, Y et SUCHODOLSKI, J. S., 2014. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World Journal of Gastroenterology*. 28 novembre 2014. Vol. 20, n° 44, pp. 16489-16497. DOI 10.3748/wjg.v20.i44.16489.

HONNEFFER, J. B., STEINER, J. M., LIDBURY, J. A. et SUCHODOLSKI, J. S., 2017. Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract. *Metabolomics*. 2 février 2017. Vol. 13, n° 3, pp. 26. DOI 10.1007/s11306-017-1165-3.

HOODA, S., MINAMOTO, Y., SUCHODOLSKI, J. S. et SWANSON, K. S., 2012. Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome. *Animal Health Research Reviews*. juin 2012. Vol. 13, n° 1, pp. 78-88. DOI 10.1017/S1466252312000059.

HOOPER, L. V., 2004. Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends in Microbiology*. mars 2004. Vol. 12, n° 3, pp. 129-134. DOI 10.1016/j.tim.2004.01.001.

HOOPER, L. V., MIDTVEDT, T. et GORDON, J. I., 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annual Review of Nutrition*. 2002. Vol. 22, pp. 283-307. DOI 10.1146/annurev.nutr.22.011602.092259.

HOOPER, L. V., WONG, M. H., THELIN, A., HANSSON, L., FALK, P. G. et GORDON, J. I., 2001. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science (New York, N.Y.)*. 2 février 2001. Vol. 291, n° 5505, pp. 881-884. DOI 10.1126/science.291.5505.881.

HORNG, K. R., GANZ, H. H., EISEN, J. A. et MARKS, S. L., 2018. Effects of preservation method on canine (*Canis lupus familiaris*) fecal microbiota. *PeerJ*. 2018. Vol. 6, pp. e4827. DOI 10.7717/peerj.4827.

HUNTINGTON, J. A. et CARRELL, R. W., 2001. The serpins: nature's molecular mousetraps. *Science Progress*. 2001. Vol. 84, n° Pt 2, pp. 125-136. DOI 10.3184/003685001783239032.

INOHARA, N., OGURA, Y. et NUÑEZ, G., 2002. Nods: a family of cytosolic proteins that regulate the host response to pathogens. *Current Opinion in Microbiology*. 1 février 2002. Vol. 5, n° 1, pp. 76-80. DOI 10.1016/S1369-5274(02)00289-8.

IVANOV, D., EMONET, C., FOATA, F., AFFOLTER, M., DELLEY, M., FISSEHA, Makda, BLUM-SPERISEN, S., KOCHHAR, S. et ARIGONI, F., 2006. A serpin from the gut bacterium *Bifidobacterium longum* inhibits eukaryotic elastase-like serine proteases. *The Journal of Biological Chemistry*. 23 juin 2006. Vol. 281, n° 25, pp. 17246-17252. DOI 10.1074/jbc.M601678200.

JABLAOUI, A., KRIAA, A., MKAOUAR, H., AKERMI, N., SOUSSOU, S., WYSOCKA, M., WOŁOSZYN, D., AMOURI, A., GARGOURI, A., MAGUIN, E., LESNER, A. et RHIMI, M., 2020. Fecal Serine Protease Profiling in Inflammatory Bowel Diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020. Vol. 10, pp. 21. DOI 10.3389/fcimb.2020.00021.

JERGENS, A. E., NETTLETON, D., SUCHODOLSKI, J. S., WILKE, V., DOWD, S. E., STEINER, J. M., WANG, C. et WANNEMUEHLER, M. J., 2010. Relationship of mucosal gene expression to microbiota composition in dogs with inflammatory bowel disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2010. N° 24, pp. 725.

JULIEN, O. et WELLS, J. A., 2017. Caspases and their substrates. *Cell Death and Differentiation*. août 2017. Vol. 24, n° 8, pp. 1380-1389. DOI 10.1038/cdd.2017.44.

KATHRANI, A., HOUSE, A., CATCHPOLE, B., MURPHY, A., GERMAN, A., WERLING, D. et ALLENSPACH, K., 2010. Polymorphisms in the TLR4 and TLR5 gene are significantly associated with inflammatory bowel disease in German shepherd dogs. *PLoS One*. 23 décembre 2010. Vol. 5, n° 12, pp. e15740. DOI 10.1371/journal.pone.0015740.

KATHRANI, A., WERLING, D. et ALLENSPACH, K., 2011. Canine breeds at high risk of developing inflammatory bowel disease in the south-eastern UK. *Veterinary Record*. 2011. Vol. 169, n° 24, pp. 635-635. DOI 10.1136/vr.d5380.

KERR, K. R., FORSTER, G., DOWD, S. E. et RYAN, E. P., 2013. Effects of Dietary Cooked Navy Bean on the Fecal Microbiome of Healthy Companion Dogs. *PLoS ONE*. 11 septembre 2013. Vol. 8, n° 9, pp. e74998. DOI 10.1371/journal.pone.0074998.

KHACHATRYAN, Z. A., KTSOYAN, Z. A., MANUKYAN, G. P., KELLY, D., GHAZARYAN, K. A. et AMINOV, R. I., 2008. Predominant Role of Host Genetics in Controlling the Composition of Gut Microbiota. *PLoS ONE*. 26 août 2008. Vol. 3, n° 8, pp. e3064. DOI 10.1371/journal.pone.0003064.

KIM, D. Y. et KIM, K. K., 2005. Structure and function of HtrA family proteins, the key players in protein quality control. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 31 mai 2005. Vol. 38, n° 3, pp. 266-274. DOI 10.5483/bmbrep.2005.38.3.266.

KIMMEL, S. E., WADDELL, L. S. et MICHEL, K. E., 2000. Hypomagnesemia and hypocalcemia associated with protein-losing enteropathy in Yorkshire Terriers: five cases (1992–1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 septembre 2000. Vol. 217, n° 5, pp. 703-706. DOI 10.2460/javma.2000.217.703.

KRIAA, A., JABLAOUI, A., MKAOUAR, H., AKERMI, N., MAGUIN, E. et RHIMI, M., 2020. Serine proteases at the cutting edge of IBD: Focus on gastrointestinal inflammation. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. juin 2020. Vol. 34, n° 6, pp. 7270-7282. DOI 10.1096/fj.202000031RR.

KULL, P. A., HESS, R. S., CRAIG, L. E., SAUNDERS, H. M. et WASHABAU, R. J., 2001. Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic characteristics of intestinal lymphangiectasia in dogs: 17 cases (1996-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 juillet 2001. Vol. 219, n° 2, pp. 197-202. DOI 10.2460/javma.2001.219.197.

LARRAUFIE, P., MARTIN-GALLAUSIAUX, C., LAPAQUE, N., DORE, J., GRIBBLE, F. M., REIMANN, F. et BLOTTIERE, H. M., 2018. SCFAs strongly stimulate PYY production in human enteroendocrine cells. *Scientific Reports*. 8 janvier 2018. Vol. 8, pp. 74. DOI 10.1038/s41598-017-18259-0.

LAVELLE, A. et SOKOL, H., 2020. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*. avril 2020. Vol. 17, n° 4, pp. 223-237. DOI 10.1038/s41575-019-0258-z.

LAW, R. H. P., ZHANG, Q., MCGOWAN, S., BUCKLE, A. M., SILVERMAN, Gary A., WONG, W., ROSADO, C. J., LANGENDORF, C. G., PIKE, R. N., BIRD, P. I. et WHISSTOCK, J. C., 2006. An overview of the serpin superfamily. *Genome Biology*. 2006. Vol. 7, n° 5, pp. 216. DOI 10.1186/gb-2006-7-5-216.

LECOINDRE, P., CHEVALLIER, M. et GUERRET, S., 2010. Les entéropathies exsudatives d'origine non néoplasique du chien: étude rétrospective de 34 cas. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 1 mars 2010. Vol. 152, n° 3, pp. 141-146. DOI 10.1024/0036-7281/a000033.

LEE, A., KATHRANI, A., PRIESTNALL, S.L., SMITH, K., WERLING, D. et ALLENSPACH, K., 2015. Lack of Correlation between Mucosal Immunoglobulin A-positive Plasma Cell Numbers and TLR5 Genotypes in German Shepherd Dogs with Idiopathic Chronic Enteropathy. *Journal of Comparative Pathology*. février 2015. Vol. 152, n° 2-3, pp. 201-205. DOI 10.1016/j.jcpa.2015.01.002.

LI, XM., SHI, X., YAO, Y., SHEN, YC., WU, XL., CAI, T., LIANG, LX. et WANG, F., 2023. Effects of Stool Sample Preservation Methods on Gut Microbiota Biodiversity: New Original Data and Systematic Review with Meta-Analysis. *Microbiology Spectrum*. 15 juin 2023. Vol. 11, n° 3, pp. e0429722. DOI 10.1128/spectrum.04297-22.

LIU, G., LU, J., SUN, W., JIA, G., ZHAO, Hua, CHEN, X., KIM, I. H., ZHANG, R. et WANG, J., 2022. Tryptophan Supplementation Enhances Intestinal Health by Improving Gut Barrier Function, Alleviating Inflammation, and Modulating Intestinal Microbiome in Lipopolysaccharide-Challenged Piglets. *Frontiers in Microbiology*. 4 juillet 2022. Vol. 13, pp. 919431. DOI 10.3389/fmicb.2022.919431.

MACFARLANE, G. T., ALLISON, C., GIBSON, S. A. et CUMMINGS, J. H., 1988. Contribution of the microflora to proteolysis in the human large intestine. *The Journal of Applied Bacteriology*. janvier 1988. Vol. 64, n° 1, pp. 37-46. DOI 10.1111/j.1365-2672.1988.tb02427.x.

MACFARLANE, G. T., CUMMINGS, J. H. et ALLISON, C., 1986. Protein degradation by human intestinal bacteria. *Journal of General Microbiology*. juin 1986. Vol. 132, n° 6, pp. 1647-1656. DOI 10.1099/00221287-132-6-1647.

MANCHESTER, A.c., HILL, S., SABATINO, B., ARMENTANO, R., CARROLL, M., KESSLER, B., MILLER, M., DOGAN, B., MCDONOUGH, S.p. et SIMPSON, K.w., 2013. Association between Granulomatous Colitis in French Bulldogs and Invasive Escherichia coli and Response to Fluoroquinolone Antimicrobials. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2013. Vol. 27, n° 1, pp. 56-61. DOI 10.1111/jvim.12020.

MARCHESI, J. R., HOLMES, E., KHAN, F., KOCHHAR, S., SCANLAN, P., SHANAHAN, F., WILSON, I. D. et WANG, Y., 2007. Rapid and noninvasive metabonomic characterization of inflammatory bowel disease. *Journal of Proteome Research*. février 2007. Vol. 6, n° 2, pp. 546-551. DOI 10.1021/pr060470d.

MARIAT, D, FIRMESE, O, LEVENEZ, F, GUIMARÃES, VD, SOKOL, H, DORÉ, J, CORTIER, G et FURET, J-P, 2009. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiology*. 9 juin 2009. Vol. 9, pp. 123. DOI 10.1186/1471-2180-9-123.

MARIAULE, V., KRIAA, A., SOUSSOU, S., RHIMI, S., BOUDAYA, H., HERNANDEZ, J., MAGUIN, E., LESNER, A. et RHIMI, M., 2021. Digestive Inflammation: Role of Proteolytic Dysregulation. *International Journal of Molecular Sciences*. 10 mars 2021. Vol. 22, n° 6, pp. 2817. DOI 10.3390/ijms22062817.

MASUOKA, H., SHIMADA, K., AHMAD, T., KIYOSUE, M., OISHI, Yukie, KIMURA, S., YAMADA, A. et HIRAYAMA, K., 2017. Transition of the intestinal microbiota of dogs with age. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. 2017. Vol. 36, n° 1, pp. 27-31. DOI 10.12938/bmfh.BMFH-2016-021.

MAZMANIAN, S. K., LIU, C. H., TZIANABOS, A. O. et KASPER, D. L., 2005. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*. 15 juillet 2005. Vol. 122, n° 1, pp. 107-118. DOI 10.1016/j.cell.2005.05.007.

MENTULA, S., HARMOINEN, J., HEIKKILÄ, M., WESTERMARCK, E., RAUTIO, M., HUOVINEN, P. et KÖNÖNEN, E., 2005. Comparison between Cultured Small-Intestinal and Fecal Microbiotas in Beagle Dogs. *Applied and Environmental Microbiology*. août 2005. Vol. 71, n° 8, pp. 4169-4175. DOI 10.1128/AEM.71.8.4169-4175.2005.

METCHNIKOFF, E. et MITCHELL, P. C., 1908. *The prolongation of life; optimistic studies* [en ligne]. New York & London : G.P. Putnam's Sons. [Consulté le 21 mai 2024]. Disponible à l'adresse : http://archive.org/details/prolongationofli00metcialasrlf_ucla:LAGE-2200731

MICHELAN, A. et D'INCÀ, R., 2015. Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut. *Mediators of Inflammation*. 2015. Vol. 2015, pp. 628157. DOI 10.1155/2015/628157.

MINAMOTO, Y., OTONI, C. C., STEELMAN, S. M., BÜYÜKLEBLEBICI, O., STEINER, J. M., JERGENS, A. E. et SUCHODOLSKI, J. S., 2015. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*. 7 janvier 2015. Vol. 6, n° 1, pp. 33-47. DOI 10.1080/19490976.2014.997612.

MKAOUAR, H., AKERMI, N., KRIAA, A., ABRAHAM, AL., JABLAOUI, Amin, SOUSSOU, S., MOKDAD-GARGOURI, R., MAGUIN, E. et RHIMI, M., 2019. Serine protease inhibitors and human wellbeing interplay: new insights for old friends. *PeerJ*. 30 août 2019. Vol. 7, pp. e7224. DOI 10.7717/peerj.7224.

MKAOUAR, H., AKERMI, N., MARIAULE, V., BOUDEBBOUZE, S., GACI, Nadia, SZUKALA, F., PONS, N., MARQUEZ, J., GARGOURI, A., MAGUIN, E. et RHIMI, M., 2016. Siropins, novel serine protease inhibitors from gut microbiota acting on human proteases involved in inflammatory bowel diseases. *Microbial Cell Factories*. 29 novembre 2016. Vol. 15, pp. 201. DOI 10.1186/s12934-016-0596-2.

MKAOUAR, H., MARIAULE, V., RHIMI, S., HERNANDEZ, J., KRIAA, A., JABLAOUI, A., AKERMI, N., MAGUIN, E., LESNER, A., KORKMAZ, B. et RHIMI, M., 2021. Gut Serpinome: Emerging Evidence in IBD. *International Journal of Molecular Sciences* [en ligne]. juin 2021. Vol. 22, n° 11. [Consulté le 12 décembre 2023]. DOI 10.3390/ijms22116088. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8201313/>

MORTIER, A., LOOS, T., GOUWY, M., RONSSE, I., VAN DAMME, J. et PROOST, P., 2010. Posttranslational modification of the NH2-terminal region of CXCL5 by proteases or peptidylarginine Deiminases (PAD) differently affects its biological activity. *The Journal of Biological Chemistry*. 24 septembre 2010. Vol. 285, n° 39, pp. 29750-29759. DOI 10.1074/jbc.M110.119388.

MOTTA, JP., PALESE, S., GIORGIO, C., CHAPMAN, K., DENADAI-SOUZA, A., ROUSSET, P., SAGNAT, D., GUIRAUD, L., EDIR, A., SEGUY, C., ALRIC, L., BONNET, D., BOURNET, B., BUSCAIL, L., GILLETTA, C., BURET, A. G., WALLACE, J. L., HOLLENBERG, M. D., OSWALD, E., BAROCELLI, E., LE GRAND, S., LE

GRAND, B., DERAISON, C. et VERGNOLLE, N., 2021. Increased Mucosal Thrombin is Associated with Crohn's Disease and Causes Inflammatory Damage through Protease-activated Receptors Activation. *Journal of Crohn's & Colitis*. 4 mai 2021. Vol. 15, n° 5, pp. 787-799. DOI 10.1093/ecco-jcc/jjaa229.

NIKOLAUS, S., SCHULTE, B., AL-MASSAD, N., THIEME, F., SCHULTE, D. M., BETHGE, J., REHMAN, A., TRAN, F., ADEN, K., HÄSLER, R., MOLL, N., SCHÜTZE, G., SCHWARZ, M. J., WAETZIG, G. H., ROSENSTIEL, P., KRAWCZAK, M., SZYMCZAK, S. et SCHREIBER, S., 2017. Increased Tryptophan Metabolism Is Associated With Activity of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. décembre 2017. Vol. 153, n° 6, pp. 1504- 1516.e2. DOI 10.1053/j.gastro.2017.08.028.

OGURA, Y., BONEN, D. K., INOHARA, N., NICOLAE, D. L., CHEN, Felicia F., RAMOS, R., BRITTON, H., MORAN, T., KARALIUSKAS, R., DUERR, R. H., ACHKAR, J. P., BRANT, S. R., BAYLESS, T. M., KIRSCHNER, B. S., HANAUER, S. B., NUNEZ, G. et CHO, J. H., 2001. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* [en ligne]. 31 mai 2001. [Consulté le 12 juin 2024]. DOI 10.1038/35079114. Disponible à l'adresse : <http://deepblue.lib.umich.edu/handle/2027.42/62856>

OLSSON, M., FRANKOWIACK, M., TENGVALL, K., ROOSJE, P., FALL, Tove, IVANSSON, E., BERGVALL, K., HANSSON-HAMLIN, H., SUNDBERG, K., HEDHAMMAR, A., LINDBLAD-TOH, K. et HAMMARSTRÖM, L., 2014. The dog as a genetic model for immunoglobulin A (IgA) deficiency: identification of several breeds with low serum IgA concentrations. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 15 août 2014. Vol. 160, n° 3-4, pp. 255-259. DOI 10.1016/j.vetimm.2014.05.010.

PANASEVICH, M. R., KERR, K. R., DILGER, R. N., FAHEY, G. C., GUÉRIN-DEREMAUX, L., LYNCH, G. L., WILS, D., SUCHODOLSKI, J. S., STEER, J. M., DOWD, S. E. et SWANSON, K. S., 2015. Modulation of the faecal microbiome of healthy adult dogs by inclusion of potato fibre in the diet. *British Journal of Nutrition*. janvier 2015. Vol. 113, n° 1, pp. 125-133. DOI 10.1017/S0007114514003274.

PANASEVICH, M. R., ROSSONI SERAO, M. C., DE GODOY, M. R. C., SWANSON, K. S., GUÉRIN-DEREMAUX, L., LYNCH, G. L., WILS, D., FAHEY, G. C. et DILGER, R. N., 2013. Potato fiber as a dietary fiber source in dog foods. *Journal of Animal Science*. novembre 2013. Vol. 91, n° 11, pp. 5344-5352. DOI 10.2527/jas.2013-6842.

PETERSON, P. B. et WILLARD, M. D., 2003. Protein-losing enteropathies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1 septembre 2003. Vol. 33, n° 5, pp. 1061-1082. DOI 10.1016/S0195-5616(03)00055-X.

- RAKOFF-NAHOUM, S., PAGLINO, J., ESLAMI-VARZANEH, F., EDBERG, S. et MEDZHITOV, R., 2004. Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell*. 23 juillet 2004. Vol. 118, n° 2, pp. 229-241. DOI 10.1016/j.cell.2004.07.002.
- REDDY, K. E., KIM, HR., JEONG, J. Y., SO, KM., LEE, Seul, JI, S. Y., KIM, M., LEE, HJ., LEE, S., KIM, KH. et KIM, M., 2019. Impact of Breed on the Fecal Microbiome of Dogs under the Same Dietary Condition. . 28 décembre 2019. Vol. 29, n° 12, pp. 1947-1956. DOI 10.4014/jmb.1906.06048.
- RIDLON, J. M., KANG, DJ. et HYLEMON, P. B., 2006. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *Journal of Lipid Research*. 1 février 2006. Vol. 47, n° 2, pp. 241-259. DOI 10.1194/jlr.R500013-JLR200.
- RIOUX, K. P., MADSEN, K. L. et FEDORAK, R. N., 2005. The role of enteric microflora in inflammatory bowel disease: human and animal studies with probiotics and prebiotics. *Gastroenterology Clinics of North America*. septembre 2005. Vol. 34, n° 3, pp. 465-482, ix. DOI 10.1016/j.gtc.2005.05.005.
- RITCHIE, L. E., STEINER, J. M. et SUCHODOLSKI, J. S., 2008. Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiology Ecology*. 2008. Vol. 66, n° 3, pp. 590-598. DOI 10.1111/j.1574-6941.2008.00609.x.
- ROSSI, G., PENGO, G., CALDIN, M., PALUMBO PICCIONELLO, A., STEINER, J. M., COHEN, N. D., JERGENS, A. E. et SUCHODOLSKI, J. S., 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*. 10 avril 2014. Vol. 9, n° 4, pp. e94699. DOI 10.1371/journal.pone.0094699.
- RUDINSKY, A. J., HOWARD, J. P., BISHOP, M. A., SHERDING, R. G., PARKER, V. J. et GILOR, C., 2017. Dietary management of presumptive protein-losing enteropathy in Yorkshire terriers. *The Journal of Small Animal Practice*. février 2017. Vol. 58, n° 2, pp. 103-108. DOI 10.1111/jsap.12625.
- RUSSELL, T. M., DELOREY, M. J. et JOHNSON, B. J. B., 2013. *Borrelia burgdorferi* BbHtrA degrades host ECM proteins and stimulates release of inflammatory cytokines in vitro. *Molecular Microbiology*. octobre 2013. Vol. 90, n° 2, pp. 241-251. DOI 10.1111/mmi.12377.
- SÁNCHEZ-NAVARRO, A., GONZÁLEZ-SORIA, I., CALDIÑO-BOHN, R. et BOBADILLA, N. A., 2021. An integrative view of serpins in health and disease: the contribution of SerpinA3. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 1 janvier 2021. Vol. 320, n° 1, pp. C106-C118. DOI 10.1152/ajpcell.00366.2020.

SANDRI, M., DAL MONEGO, S., CONTE, G., SGORLON, S. et STEFANON, B., 2017. Raw meat based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs. *BMC Veterinary Research*. 28 février 2017. Vol. 13, pp. 65. DOI 10.1186/s12917-017-0981-z.

SCHMIDT, M., UNTERER, S., SUCHODOLSKI, J. S., HONNEFFER, J. B., GUARD, B. C., LIDBURY, J. A., STEINER, J. M., FRITZ, J. et KÖLLE, P., 2018. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLoS ONE*. 15 août 2018. Vol. 13, n° 8, pp. e0201279. DOI 10.1371/journal.pone.0201279.

SELLON, R. K., TONKONOGY, S., SCHULTZ, M., DIELEMAN, L. A., GRENTHER, W., BALISH, E., RENNICK, D. M. et SARTOR, R. B., 1998. Resident Enteric Bacteria Are Necessary for Development of Spontaneous Colitis and Immune System Activation in Interleukin-10-Deficient Mice. *Infection and Immunity*. novembre 1998. Vol. 66, n° 11, pp. 5224-5231.

SIMMERSON, S.m., ARMSTRONG, P.j., WÜNSCHMANN, A., JESSEN, C.r., CREWS, L.j. et WASHABAU, R.j., 2014. Clinical Features, Intestinal Histopathology, and Outcome in Protein-Losing Enteropathy in Yorkshire Terrier Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2014. Vol. 28, n° 2, pp. 331-337. DOI 10.1111/jvim.12291.

SIMPSON, J. M., MARTINEAU, B., JONES, W. E., BALLAM, J. M. et MACKIE, R. I., 2002. Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed and dietary fiber. *Microbial Ecology*. août 2002. Vol. 44, n° 2, pp. 186-197. DOI 10.1007/s00248-002-0001-z.

SINHA, S. R., HAILESELISSIE, Y., NGUYEN, L. P., TROPINI, C., WANG, Min, BECKER, Laren S., SIM, Davis, JARR, Karolin, SPEAR, Estelle T., SINGH, Gulshan, NAMKOONG, Hong, BITTINGER, Kyle, FISCHBACH, Michael A., SONNENBURG, Justin L. et HABTEZION, Aida, 2020. Dysbiosis-induced Secondary Bile Acid Deficiency Promotes Intestinal Inflammation. *Cell host & microbe*. 8 avril 2020. Vol. 27, n° 4, pp. 659-670.e5. DOI 10.1016/j.chom.2020.01.021.

ŠLAPETA, J., DOWD, S. E., ALANAZI, A. D., WESTMAN, M. E. et BROWN, G. K., 2015. Differences in the faecal microbiome of non-diarrhoeic clinically healthy dogs and cats associated with *Giardia duodenalis* infection: impact of hookworms and coccidia. *International Journal for Parasitology*. 1 août 2015. Vol. 45, n° 9, pp. 585-594. DOI 10.1016/j.ijpara.2015.04.001.

SMITH, P. M., HOWITT, M. R., PANIKOV, N., MICHAUD, M., GALLINI, C. A., BOHLOOLY-Y, M., GLICKMAN, J. N. et GARRETT, W. S., 2013. The microbial metabolites, short chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science (New York, N.Y.)*. 2 août 2013. Vol. 341, n° 6145, pp. 10.1126/science.1241165. DOI 10.1126/science.1241165.

SOKOL, H., SEKSIK, P., FURET, J. P., FIRMESE, O., NION-LARMURIER, I., BEAUGERIE, L., COSNES, J., CORTIER, G., MARTEAU, P. et DORÉ, J., 2009. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflammatory Bowel Diseases*. août 2009. Vol. 15, n° 8, pp. 1183-1189. DOI 10.1002/ibd.20903.

STAPPENBECK, T. S., HOOPER, L. V. et GORDON, J. I., 2002. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 26 novembre 2002. Vol. 99, n° 24, pp. 15451-15455. DOI 10.1073/pnas.202604299.

SUAU, A., BONNET, R., SUTREN, M., GODON, J.J., GIBSON, G. R., COLLINS, M. D. et DORÉ, J., 1999. Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology*. novembre 1999. Vol. 65, n° 11, pp. 4799-4807.

SUCHODOLSKI, J. S., 2011. COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *Journal of Animal Science*. mai 2011. Vol. 89, n° 5, pp. 1520-1530. DOI 10.2527/jas.2010-3377.

SUCHODOLSKI, J. S., CAMACHO, J. et STEINER, J. M., 2008. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiology Ecology*. 1 décembre 2008. Vol. 66, n° 3, pp. 567-578. DOI 10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x.

SUCHODOLSKI, J. S., DOWD, S. E., WESTERMARCK, E., STEINER, J. M., WOLCOTT, R. D., SPILLMANN, T. et HARMOINEN, J. A., 2009. The effect of the macrolide antibiotic tylosin on microbial diversity in the canine small intestine as demonstrated by massive parallel 16S rRNA gene sequencing. *BMC Microbiology*. 2 octobre 2009. Vol. 9, pp. 210. DOI 10.1186/1471-2180-9-210.

SUCHODOLSKI, J. S., DOWD, S. E., WILKE, V., STEINER, J. M. et JERGENS, A. E., 2012. 16S rRNA Gene Pyrosequencing Reveals Bacterial Dysbiosis in the Duodenum of Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *PLoS ONE*. 15 juin 2012. Vol. 7, n° 6, pp. e39333. DOI 10.1371/journal.pone.0039333.

SUCHODOLSKI, J. S., MARKEL, M. E., GARCIA-MAZCORRO, J. F., UNTERER, S., HEILMANN, Romy M., DOWD, S. E., KACHROO, P., IVANOV, I., MINAMOTO, Y., DILLMAN, E. M., STEINER, J. M., COOK, A. K. et TORESSON, L., 2012. The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. HEIMESAAT, M. M. (éd.), *PLoS ONE*. 26 décembre 2012. Vol. 7, n° 12, pp. e51907. DOI 10.1371/journal.pone.0051907.

SUCHODOLSKI, J. S., XENOULIS, P. G., PADDOCK, C. G., STEINER, J. M. et JERGENS, A. E., 2010. Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Veterinary Microbiology*. 19 mai 2010. Vol. 142, n° 3-4, pp. 394-400. DOI 10.1016/j.vetmic.2009.11.002.

SUCHODOLSKI, J. S., MORRIS, E. K., ALLENSPACH, K., JERGENS, A. E., HARMOINEN, J. A., WESTERMARCK, E. et STEINER, J. M., 2008. Prevalence and identification of fungal DNA in the small intestine of healthy dogs and dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Microbiology*. 10 décembre 2008. Vol. 132, n° 3-4, pp. 379-388. DOI 10.1016/j.vetmic.2008.05.017.

SWANSON, K. S., DOWD, S. E., SUCHODOLSKI, J. S., MIDDELBOSS, I. S., VESTER, B. M., BARRY, K. A., NELSON, K. E., TORRALBA, M., HENRISSAT, B., COUTINHO, P. M., CANN, I. KO., WHITE, B. A. et FAHEY, G. C., 2011. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *The ISME Journal*. avril 2011. Vol. 5, n° 4, pp. 639-649. DOI 10.1038/ismej.2010.162.

SWERDLOW, M. P., KENNEDY, D. R., WASHABAU, Robert J., HENTHORN, Paula S., MOORE, Peter F., CARDING, Simon R., FELSBURG, Peter J. et KENNEDY, J. S., 2006. Expression and function of TLR2, TLR4, and Nod2 in primary canine colonic epithelial cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 15 décembre 2006. Vol. 114, n° 3-4, pp. 313-319. DOI 10.1016/j.vetimm.2006.09.003.

TANAKA, H., NAKAYAMA, M. et TAKASE, K., 2003. Histiocytic ulcerative colitis in a French bulldog. *The Journal of Veterinary Medical Science*. mars 2003. Vol. 65, n° 3, pp. 431-433. DOI 10.1292/jvms.65.431.

THOMPSON, G R et TREXLER, P C, 1971. Gastrointestinal structure and function in germ-free or gnotobiotic animals. *Gut*. mars 1971. Vol. 12, n° 3, pp. 230-235.

Traitement des infections intestinales par la methode de transformation de la flore bacterienne de l'intestin, 1907. . S.l. : s.n.

VAN SPAENDONK, H., CEULEERS, H., WITTERS, L., PATTEET, E., JOOSSENS, J., AUGUSTYNS, K., LAMBEIR, AM., DE MEESTER, I., DE MAN, J. G. et DE WINTER, B. Y., 2017. Regulation of intestinal permeability: The role of proteases. *World Journal of Gastroenterology*. 28 mars 2017. Vol. 23, n° 12, pp. 2106-2123. DOI 10.3748/wjg.v23.i12.2106.

VÁZQUEZ-BAEZA, Y., HYDE, E. R., SUCHODOLSKI, J. S. et KNIGHT, R., 2016. Dog and human inflammatory bowel disease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks. *Nature Microbiology*. 3 octobre 2016. Vol. 1, pp. 16177. DOI 10.1038/nmicrobiol.2016.177.

VILSON, Å., BONNETT, B., HANSSON-HAMLIN, H. et HEDHAMMAR, Å., 2013. Disease patterns in 32,486 insured German shepherd dogs in Sweden: 1995–2006. *Veterinary Record*. 2013. Vol. 173, n° 5, pp. 116-116. DOI 10.1136/vr.101577.

VILSON, A., RAMADAN, Z., LI, Q., HEDHAMMAR, A., REYNOLDS, A., SPEARS, J., LABUDA, J., PELKER, R., BJÖRKSTÉN, B., DICKSVED, J. et HANSSON-HAMLIN, H., 2018. Disentangling factors that shape the gut microbiota in German Shepherd dogs. *PLoS ONE*. 23 mars 2018. Vol. 13, n° 3, pp. e0193507. DOI 10.1371/journal.pone.0193507.

WESSLER, S., SCHNEIDER, G. et BACKERT, S., 2017. Bacterial serine protease HtrA as a promising new target for antimicrobial therapy? *Cell communication and signaling: CCS*. 10 janvier 2017. Vol. 15, n° 1, pp. 4. DOI 10.1186/s12964-017-0162-5.

XENOULIS, P. G., PALCULICT, B., ALLENSPACH, K., STEINER, J. M., VAN HOUSE, A. M. et SUCHODOLSKI, J. S., 2008. Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. *FEMS Microbiology Ecology*. 1 décembre 2008. Vol. 66, n° 3, pp. 579-589. DOI 10.1111/j.1574-6941.2008.00556.x.

XU, J., VERBRUGGHE, A., LOURENÇO, M., COOLS, A., LIU, Daisy J. X., VAN DE WIELE, T., MARZORATI, M., EECKHAUT, V., VAN IMMERSEEL, F., VANHAECKE, L., CAMPOS, M. et HESTA, M., 2017. The response of canine faecal microbiota to increased dietary protein is influenced by body condition. *BMC Veterinary Research*. 4 décembre 2017. Vol. 13, pp. 374. DOI 10.1186/s12917-017-1276-0.

XU, J., VERBRUGGHE, A., LOURENÇO, M., LIU, D., DAMINET, S., EECKHAUT, V., IMMERSEEL, F., VANHAECKE, L., VAN DE WIELE, T., NIU, YF., BOSCH, G., HESTA, M., SUCHODOLSKI, J., DOWD, V., WILKE, J., STEINER, A., JERGENS, ALLENSPACH, K., WIELAND, A. et GASCHEN, J., 2014. Fecal microbiota are altered and concentration of volatile fatty acids decreased in dogs with inflammatory bowel disease. . 11 septembre 2014.

YATSUNENKO, T., REY, F. E., MANARY, M. J., TREHAN, I., DOMINGUEZ-BELLO, Maria Gloria, CONTRERAS, M., MAGRIS, M., HIDALGO, G., BALDASSANO, R. N., ANOKHIN, A. P., HEATH, A. C., WARNER, B., REEDER, J., KUCZYNSKI, J., CAPORASO, J. G., LOZUPONE, C. A., LAUBER, C., CLEMENTE, J. C., KNIGHTS, D., KNIGHT, R. et GORDON, J. I., 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 9 mai 2012. Vol. 486, n° 7402, pp. 222-227. DOI 10.1038/nature11053.

ZENG, M. Y., INOHARA, N. et NUÑEZ, G., 2017. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunology*. 1 janvier 2017. Vol.10, n° 1, pp.18-26. DOI 10.1038/mi.2016.75.

ZENTEK, J., MARQUART, B., PIETRZAK, T., BALLÈVRE, O. et ROCHAT, F., 2003. Dietary effects on bifidobacteria and *Clostridium perfringens* in the canine intestinal tract. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. décembre 2003. Vol. 87, n° 11-12, pp. 397-407. DOI 10.1046/j.0931-2439.2003.00451.x.

Annexes

Annexe 1 : Classification taxonomique des principales bactéries retrouvées dans le microbiote intestinal de chien

Phylum	Classe	Ordre	Famille	Genre
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium
			Ruminococcaceae	Ruminococcus Faecalibacterium
			Eubacteraceae	Eubacterium
	Bacilli	Lactobacilliales	Lactobacillaceae	Lactbacillus
			Streptococcaceae	Streptococcus Enterococcus
	Erisiphelotrichia	Erisiphelotrichales	Erysiphelotrichaceae	Turicibacter Catenibacterium Coprobacillus Allobaculum
	Negativicutes	Selenomonadales	Selenomonadaceae	Megamonas
		Veillonellales	Veillonellaceae	Dialister Megasphaera Veillonella
	Protéobactéria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteraceae
Pseudomonales			Moraxellaceae	Acinetobacter Psychrobacter
			Pseudomonaceae	Pseudomonas
Epsilonproteobacteria		Campilobacterales	Campylobacteraceae	Campylobacter
			Helicobacteraceae	Helicobacter
Fusobacteria		Fusobacteriia	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Prevotellaceae	Prevotella
			Bacteroidaceae	Bacteroidaceae
Actinobacteria	Actinobacteria	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium
	Coriobacteriia	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	Collinsella
			Atopobiaceae	Olsenella
		Eggerthellales	Eggerthellaceae	Slackia Eggerthella



QUESTIONNAIRE INDIVIDUEL

Collecte Microbiote Fécal

Nom propriétaire/Animal :
Espèce : chien / chat
Date de prélèvement :
Heure de défécation :
Heure de congélation à -20°C:
Jour et heure de congélation à -80°C :

INFORMATIONS SUR LA COLLECTIVITE

1. Lieu géographique (département/ville) :
2. Nombre de congénères en contact avec le donneur : ...
3. Nombre d'animaux d'autres espèces (chiens, rongeurs, herbivores, oiseaux...) : ...
Préciser :
4. Type d'hébergement : maison avec jardin appartement
5. Votre chien/chat a-t-il accès à l'extérieur ?
6. Chasse-t-il ?
7. Maladies d'élevage (passées ou en cours de gestion) ?

INFORMATIONS SUR L'ANIMAL PRELEVE

1. Informations générales

Race : ...
Sexe : ...
Stérilisé : Oui Non
Date de naissance (minimum 6 mois) : ...
Date d'acquisition : ...

2. Alimentation

- a. Quelle ration ?

- Croquettes, préciser la(les) marque(s) et quantités :
 - Pâtée, préciser la(les) marques(s) et quantités :
 - Alimentation ménagère, préciser la formule :
 - Restes de repas, préciser la nature :
 - Friandises pour chiens, préciser :
- b. Nombre de repas par jour (1/2/3/4/+*) :
- c. A quel(s) moment(s) de la journée ?
- d. Reçoit-il cette alimentation depuis plus de 6 mois ? Oui Non
Si non, préciser l'alimentation précédente et la date du changement :
.....
- e. Tendance à manger des proies ? Oui Non
Préciser :

3. Habitudes de vie

- a. Voyages en France ou à l'étranger au cours de sa vie ? Oui Non
Préciser la destination, la date et la durée du séjour :
- b. Participation à des concours : Oui Non Fréquence :
- c. Est-ce que vous fumez ?
- d. Zone de défécation :
 - i. Extérieur Intérieur
 - ii. Zone personnelle Zone partagée avec d'autres animaux
 - iii. Chats : Pas de litière Litière agglomérante Litière minérale
Litière végétale Autre litière, précisez :

4. Santé

- a. Antécédents de maladies[†] ?
- Respiratoires
 - Cardiovasculaires
 - Cutané (allergies, teigne...)
 - Hormonaux (diabète, Cushing...)
 - Neurologiques
 - Orthopédiques (fracture, boiterie...)
 - Immunitaires

* + = à disposition toute la journée

† Pour chacun d'eux, préciser de quelle affection il s'agissait le plus précisément possible, la date et la durée de l'épisode, le nombre d'épisodes s'il y a eu des récurrences, les traitements donnés et la réponse aux traitements

- Hépatiques
- Pancréatiques
- Rénaux ou urinaires
- Reproducteurs (mauvaise fertilité, avortements...)
- Digestifs (diarrhée, vomissements, constipation...)
- Oculaires
- Auriculaires
- Dentaires

b. Antécédents d'anesthésie < 6 mois (opération, stérilisation, détartrage, ...) ?
 Oui Non Préciser la nature et la date de l'intervention :

c. Au cours de sa vie, votre animal a-t-il reçu[‡] :

- Des vaccins (Valences et date) ?
- Des antibiotiques (Nom et date) ?
- Des antiparasitaires externes (Nom et date) ?
- Des antiparasitaires internes (Nom et date) ?
- Tout autre traitement par voie orale (Nom et date) ?

d. Note d'état corporel ce jour (Annexe 1) :

e. Score fécal ce jour (Annexe 2) :

[‡] Pour chacun d'eux, préciser le nom du produit, la date ou la fréquence d'administration, la durée de la cure

Annexe 3 : Échelle de note d'état corporel utilisée (échelle WSAVA)



Body Condition Score



UNDER IDEAL

- 1 Ribs, lumbar vertebrae, pelvic bones and all bony prominences evident from a distance. No discernible body fat. Obvious loss of muscle mass.
- 2 Ribs, lumbar vertebrae and pelvic bones easily visible. No palpable fat. Some evidence of other bony prominences. Minimal loss of muscle mass.
- 3 Ribs easily palpated and may be visible with no palpable fat. Tops of lumbar vertebrae visible. Pelvic bones becoming prominent. Obvious waist and abdominal tuck.

IDEAL

- 4 Ribs easily palpable, with minimal fat covering. Waist easily noted, viewed from above. Abdominal tuck evident.
- 5 Ribs palpable without excess fat covering. Waist observed behind ribs when viewed from above. Abdomen tucked up when viewed from side.

OVER IDEAL

- 6 Ribs palpable with slight excess fat covering. Waist is discernible viewed from above but is not prominent. Abdominal tuck apparent.
- 7 Ribs palpable with difficulty; heavy fat cover. Noticeable fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent or barely visible. Abdominal tuck may be present.
- 8 Ribs not palpable under very heavy fat cover, or palpable only with significant pressure. Heavy fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent. No abdominal tuck. Obvious abdominal distention may be present.
- 9 Massive fat deposits over thorax, spine and base of tail. Waist and abdominal tuck absent. Fat deposits on neck and limbs. Obvious abdominal distention.

German A, et al. Comparison of a bioimpedance monitor with dual-energy x-ray absorptiometry for noninvasive estimation of percentage body fat in dogs. *AJVR* 2010;71:393-398.
 Jeusette I, et al. Effect of breed on body composition and comparison between various methods to estimate body composition in dogs. *Res Vet Sci* 2010;88:227-232.
 Kealy RD, et al. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. *JAVMA* 2002;220:1315-1320.
 Laflamme DP. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract* 1997;22:10-15.



Fecal Scoring Chart

SCORE	SPECIMEN EXAMPLE	CHARACTERISTICS
1		<ul style="list-style-type: none"> · Very hard and dry · Often expelled as individual pellets · Requires much effort to expel from body · Leaves no residue on ground when picked up
2	<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">IDEAL</p> 	<ul style="list-style-type: none"> · Firm, but not hard, pliable · Segmented in appearance · Little or no residue on ground when picked up
3		<ul style="list-style-type: none"> · Log shaped, moist surface · Little or no visible segmentation · Leaves residue on ground, but holds form when picked up
4		<ul style="list-style-type: none"> · Very moist and soggy · Log shaped · Leaves residue on ground and loses form when picked up
5		<ul style="list-style-type: none"> · Very moist but has a distinct shape · Present in piles rather than logs · Leaves residue on ground and loses form when picked up
6		<ul style="list-style-type: none"> · Has texture, but no defined shape · Present as piles or spots · Leaves residue on ground when picked up
7		<ul style="list-style-type: none"> · Watery · No texture · Present in flat puddles

Marine LOMET

**Influence de la race sur la composition du microbiote
fécal chez le chien**
**Influence of the breed on the composition of the canine fecal
microbiota**

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 21/10/2024

RESUME

Le nombre de données suggérant l'implication du microbiote intestinal dans les affections digestives du chien ne cesse de croître. Notamment, une altération de la microflore intestinale, appelée dysbiose, est fréquemment observée dans les cas d'entéropathie inflammatoire chronique. L'étude de ces modifications pathologiques pourrait conduire au développement de nouvelles stratégies diagnostiques et thérapeutiques. Toutefois, en amont de ces recherches, les variations physiologiques du microbiote intestinal chez le chien requièrent une caractérisation exhaustive.

La prédisposition de certaines races aux entéropathies inflammatoires chroniques interroge sur de possibles variations physiologiques de la composition du microbiote intestinal, avec un support génétique sous-jacent. Dans cette étude, nous nous sommes donc proposés de comparer la composition du microbiote fécal chez des chiens apparemment sains appartenant à la race Berger Allemand, prédisposée aux entéropathies inflammatoires chroniques, à la race Yorkshire Terrier, prédisposée aux entéropathies avec perte de protéines, et à la race Berger Australien, utilisée comme témoin sans prédisposition à une affection digestive.

Notre travail a révélé une différence significative dans la composition du microbiote fécal entre le Yorkshire Terrier et les deux autres races. Ces variations se traduisent à la fois par une réduction de la diversité bactérienne et par des changements profonds dans la répartition des différents phyla bactériens.

Des recherches supplémentaires, intégrant l'étude des activités métaboliques des bactéries du microbiote intestinal, sont toutefois nécessaires pour mieux comprendre l'implication de ces altérations dans la pathogénie des entéropathies inflammatoires chroniques.

MOTS CLES :

Microbiote intestinal, race, métagénomique, entéropathie inflammatoire chronique, Yorkshire Terrier, Berger Allemand, Berger Australien

DATE DE SOUTENANCE : 21/10/2024