

Dysbioses intestinales associées aux maladies inflammatoires de l'intestin et aux diarrhées aiguës chez le chien

Auteur : Roche, Lisa

Promoteur(s) : Daube, Georges

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2019-2020

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/9543>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

DYSBIOSES INTESTINALES ASSOCIEES AUX MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'INTESTIN ET AUX DIARRHEES AIGUES CHEZ LE CHIEN

INTESTINAL DYSBIOSIS ASSOCIATED WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES AND ACUTE DIARRHEA IN DOGS

Lisa ROCHE

Travail de fin d'année d'études

présenté en vue de l'obtention du grade de Médecine Vétérinaire

ANNEE ACADEMIQUE 2019-2020

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

DYSBIOSES INTESTINALES ASSOCIEES AUX MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'INTESTIN ET AUX DIARRHEES AIGUES CHEZ LE CHIEN

INTESTINAL DYSBIOSIS ASSOCIATED WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES AND ACUTE DIARRHEA IN DOGS

Lisa ROCHE

Tuteur : Georges Daube, Docteur en Sciences Vétérinaire et Doyen de la Faculté de Médecine
Vétérinaire de l'ULiège

Travail de fin d'année d'études

présenté en vue de l'obtention du grade de Médecine Vétérinaire

ANNEE ACADEMIQUE 2019-2020

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

DYSBIOSES INTESTINALES ASSOCIEES AUX MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'INTESTIN ET AUX DIARRHEES AIGUES CHEZ LE CHIEN

Objectif :

Ce travail a pour objectif de définir la composition du microbiote intestinal rencontré chez des chiens sains afin de la comparer avec celui de chiens atteints de maladies inflammatoires de l'intestin et de diarrhées aiguës.

Résumé :

Les maladies inflammatoires intestinales chez le chien sont une pathologie multifactorielle avec une prévalence relativement élevée en médecine vétérinaire.

L'équilibre de la microflore intestinale représente un enjeu majeur car celle-ci semblerait avoir un lien important avec ces pathologies.

L'intestin abrite une grande diversité de micro-organismes commensaux, qu'il est important de décrire, car leur composition et leur nombre sont modifiés en cas de maladie inflammatoire intestinale. L'interaction de cet écosystème microbien complexe avec l'hôte a un impact significatif sur la santé et la maladie dans l'espèce canine.

Grâce aux nouvelles technologies de séquençage à haut débit, il est aujourd'hui possible de montrer plus précisément comment le microbiote de l'intestin chez le chien est affecté lorsque celui-ci est touché par une maladie inflammatoire.

Le microbiote intestinal des chiens atteints de maladie inflammatoire chronique de l'intestin semble assez variable selon les études, ce qui peut s'expliquer par la méthodologie utilisée, la race, l'âge, le régime alimentaire, l'environnement de vie ainsi que par le stade de la maladie et les traitements utilisés.

Lors de diarrhée hémorragique aiguë, certaines études montrent une augmentation de *Clostridium perfringens*, de *Fusobacteria*, d'*Enterococcus* spp et une diminution de *Bacteroides*. D'autres affirment que les modifications les plus marquées étaient des

diminutions de *Faecalibacterium* spp., *Turicibacter* spp. et des Ruminococcaceae et une augmentation d'*E. coli* et *C. perfringens*.

Ces modifications sont généralement similaires à la dysbiose observée chez l'homme ce qui suggère que les réponses microbiennes aux pathologies inflammatoires intestinales sont maintenues pour tous les hôtes mammifères.

La médecine a beaucoup évolué ces dernières années et essaye de plus en plus d'agir de façon positive sur le microbiote intestinale. En effet, l'utilisation de prébiotiques, de probiotiques mais également la transplantation microbienne fécale jouent un rôle majeur pour traiter les maladies inflammatoires de l'intestin ainsi que les diarrhées aiguës. De plus, une alimentation adaptée et équilibrée influence considérablement la composition et l'activité du microbiote intestinal.

Des études récentes ont fait le lien entre la dysbiose et les maladies intestinales chez le chien mais nous sommes encore à un stade précoce pour comprendre la complexité des interactions du microbiote intestinal avec son hôte. Une meilleure compréhension de ces mécanismes permettra le développement de nouveaux traitements visant à moduler le microbiote intestinal et ses métabolites produits.

INTESTINAL DYSBIOSIS ASSOCIATED WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES AND ACUTE DIARRHEA IN DOGS

Goal :

The aim of this work is to define the composition of the intestinal microbiota encountered in healthy dogs in order to compare it with that of dogs suffering from inflammatory bowel disease and acute diarrhea.

Abstract :

Inflammatory bowel disease in dogs is a multifactorial pathology with a relatively high prevalence in veterinary medicine.

The balance of the intestinal microflora represents a major issue because it seems to have an important link with these pathologies.

The intestine contains a wide variety of commensal microorganisms, which is important to describe because their composition and number is changed in inflammatory bowel disease. The interaction of this complex microbial ecosystem with the host has a significant impact on the health and disease of the canine species.

Thanks to new technologies of next generation sequencing, it is now possible to show more precisely how the microbiota of the intestine in dogs is affected when he is affected by an inflammatory disease.

The intestinal microbiota of dogs with chronic inflammatory bowel disease seems to be quite variable depending on the study, which can be explained by the methodology used, breed, age, diet, living environment as well as by the stage of the disease and the treatments used.

In acute hemorrhagic diarrhea, studies differ in their results. Some show an increase in *Clostridium perfringens*, Fusobacteria, *Enterococcus* spp and a decrease in *Bacteroides*. Others claim that the most marked changes were a decrease in *Faecalibacterium* spp., *Turicibacter* spp. and Ruminococcaceae and an increase in *E. coli* and *C. perfringens*.

These changes are generally similar to the dysbiosis seen in humans, suggesting that microbial responses to inflammatory bowel disease are maintained for all mammalian hosts.

Medicine has evolved a lot in recent years and is increasingly trying to act positively on the gut microbiota. Indeed, the use of prebiotics, probiotics but also fecal microbial transplantation play a major role in treating inflammatory bowel disease as well as acute diarrhea. In addition, a suitable and balanced diet considerably influences the composition and activity of the intestinal microbiota.

Recent studies made the connexion between dysbiosis and intestinal disease in dogs, but we are still at an early stage to understand the complexity of the gut microbiota's interactions with its host. A better understanding of these mechanisms will allow the development of new treatments aimed at modulating the intestinal microbiota and their produced metabolites.

Remerciements :

Tout d'abord, je tiens à remercier mon promoteur, Monsieur Georges Daube, pour sa disponibilité, son aide précieuse et ses conseils avisés durant la réalisation de mon travail de fin d'études. Merci pour le temps consacré aux corrections de ce travail.

Ensuite, j'aimerais remercier ma famille qui m'a soutenue tout au long de mes études. Merci d'avoir continué de croire en moi toutes ces années malgré les difficultés.

Enfin, je voudrai remercier mes amis rencontrés au cours de mon cursus pour tous les bons moments passés.

Table des matières :

1. Introduction.....	9
2. Rôle du microbiote intestinal dans la santé digestive	10
3. Méthode de diagnostic de la dysbiose intestinale.....	12
4. Le microbiote digestif chez le chien sain.....	13
5. Modification du microbiote digestif en cas de pathologies intestinales.....	16
5.1. Diarrhée aiguë.....	16
5.2. Entéropathie chronique.....	13
5.2.1. Entérite chronique idiopathique.....	18
5.2.2. Diarrhée sensible aux antibiotiques.....	22
5.2.3. Colique granulomateuse ulcérateuse.....	23
6. Comment agir sur le microbiote intestinal ?.....	24
6.1. Probiotiques.....	24
6.2. Prébiotiques.....	25
6.3. Transplantation fécale.....	27
6.4. Nutrition.....	29
7. Conclusion	32
8. Perspectives.....	33
9. Bibliographie.....	34

1) Introduction

Le tractus intestinal canin héberge un microbiote varié et complexe constitué de bactéries, de champignons, de virus et de protozoaires. Il est primordial que les animaux développent une relation harmonieuse avec les micro-organismes présents dans leur corps.

Lors de certaines pathologies intestinales, le microbiote est déséquilibré et présente une modification de sa composition et / ou de sa richesse ; on parle alors de dysbiose.

La dysbiose serait due à une modification de l'environnement du tractus digestif comme le pH, la motilité intestinale ou bien le taux d'oxygène dans le sang. L'inflammation intestinale est associée à l'augmentation de certaines espèces bactériennes.

Bien qu'il ne soit pas toujours clair de savoir si la dysbiose est une cause ou une conséquence des maladies intestinales, il est probable que les deux soient intimement liés.

Jusqu'à récemment, les cultures bactériennes traditionnelles étaient couramment utilisées pour identifier les bactéries présentes dans le tractus digestif des animaux domestiques.

Désormais, de nouvelles méthodes moléculaires, qui ciblent surtout le gène codant pour l'ARN ribosomal 16S, permettent de caractériser le microbiote bactérien de façon plus précise. De plus, des approches encore plus récentes comme la métagénomique ont commencé à établir des liens entre les données phylogénétiques et les fonctions physiologiques. Elles ont ainsi démontré le rôle indispensable du microbiote intestinal dans la physiologie intestinale mais aussi son implication dans la santé de l'hôte.

Depuis quelques années, des études ont montré des similitudes entre les pathologies intestinales chez l'homme et le chien. Il paraît donc intéressant de résumer les données bibliographiques concernant les maladies inflammatoires de l'intestin et les diarrhées aiguës chez le chien.

Ce travail fournit ainsi un aperçu général de ce qui est actuellement connu sur la dysbiose intestinale et son lien avec les maladies intestinales aiguës et chroniques canines.

II) Rôle du microbiote digestif dans la santé intestinale

La présence d'un écosystème microbien équilibré est d'une importance cruciale pour la santé de l'hôte.

En effet, il va tout d'abord protéger l'hôte contre la colonisation par des entéropathogènes en formant une barrière. Le microbiote va également entrer en compétition pour les nutriments et les sites nécessaires à l'implantation des bactéries pathogènes et va synthétiser des facteurs anti-microbiens comme les bactériocines ou le peroxyde d'hydrogène. Les bactéries commensales modifient aussi l'environnement intestinal en maintenant des faibles valeurs du pH et des taux bas en oxygène.

Le microbiote intestinal fournit des nutriments à l'hôte par l'intermédiaire de processus de fermentations et via d'autres activités métaboliques.

Certains glucides passent à travers l'intestin grêle sans être digérés et atteignent le gros intestin. A cet endroit, un phénomène de fermentation microbienne se met en place et il y a formation d'acides gras à courtes chaînes (acétate, butyrate, propionate). Ceux-ci fournissent l'énergie pour les colonocytes et stimulent la motilité intestinale. Or, cette motilité intestinale constitue un important mécanisme de défense contre les bactéries adhérentes. De plus, les acides gras à courtes chaînes ont des propriétés anti-inflammatoires (car ils favorisent la prolifération des lymphocytes T qui sont immunorégulateurs).

On peut citer quelques exemples de bactéries productrices d'acides gras à courtes chaînes, à savoir *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii* et *Ruminococcus bromii*. (Blake and Suchodolski, 2016).

Des métabolites peuvent être produits directement par les bactéries (comme les vitamines et les acides gras à courte chaîne) mais ils peuvent également être des métabolites de l'hôte qui seront convertis en métabolites secondaires par des enzymes bactériennes (par exemple : transformation des acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires). Les bactéries intestinales sont indispensables pour convertir les acides biliaires primaires qui entrent dans le côlon en acides biliaires secondaires. Une dysbiose intestinale pourrait donc entraîner des altérations au niveau des acides biliaires ce qui aurait des conséquences métaboliques négatives pour l'hôte.

En effet, les acides biliaires secondaires sont anti-inflammatoires, inhibent la germination des spores de *C. difficile* et modulent le métabolisme de l'insuline et du glucose par l'activation du peptide 1 (similaire au glucagon) comme le montre la figure 1. (Suchodolski and al, 2016).

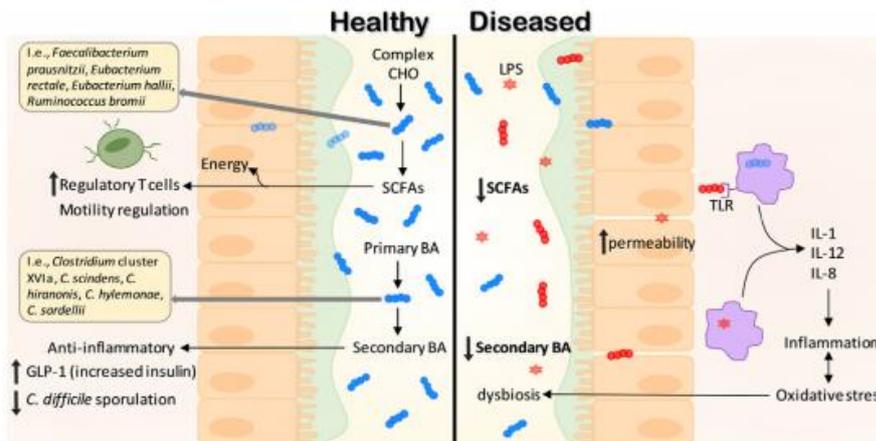


Figure 1 : schéma représentant les principales bactéries associées aux principales voies métaboliques (Suchodolski and al, 2016).

Enfin, le microbiote intestinal intervient dans le développement et la régulation du système immunitaire de l'hôte : ce dernier est indispensable au rôle barrière de la paroi intestinale, soumise dès la naissance à des antigènes d'origine alimentaire ou microbienne.

On estime que plus de 80% des cellules B activées de l'organisme se situent dans l'intestin. Ces cellules produisent des IgA qui peuvent se lier aux bactéries et modifier la composition du microbiote.

De plus, certaines bactéries stimulent particulièrement les populations de lymphocytes Th17 intestinales alors que d'autres stimulent les lymphocytes T régulateurs. La composition du microbiote joue donc un rôle majeur dans l'équilibre entre Th17 et Treg, indispensable au maintien de l'homéostasie intestinale.

Les bactéries intestinales et le système immunitaire de l'hôte peuvent interagir par contact direct (via les « toll-like récepteurs » TLR et les « nucleotide oligomerization domain-like » NOD2). Ces récepteurs, lorsqu'ils se lient à des motifs bactériens, vont activer notamment la voie NF-Kb stimulant la transcription de peptides antimicrobiens mais également la production de chimiokines et de cytokines qui favorisent le recrutement et l'activation de phagocytes, de cellules dendritiques et de lymphocytes qui consolident la barrière épithéliale.

III) Méthode de diagnostic de la dysbiose intestinale

La culture bactérienne est un outil de diagnostic classique pour reconnaître les entéropathogènes tel que *Salmonella spp*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia spp*. Mais cette méthode sous-estime le nombre global de bactéries et ne permet pas d'identifier la majorité des phyla bactériens dans le tractus intestinal. Les raisons de l'impossibilité de cultiver la plupart des bactéries sont liées au manque de connaissances sur leurs besoins de croissance optimale. De plus, l'intestin canin abrite principalement des bactéries anaérobies qui sont relativement délicates à cultiver.

On estime actuellement que moins de 20% des bactéries intestinales sont cultivables avec les techniques de laboratoire standard.

Les progrès technologiques ont permis une meilleure compréhension de l'écosystème complexe du microbiote et il existe de nombreux outils pour caractériser les différentes bactéries. Ces méthodes devraient idéalement être utilisées de façon complémentaire mais la plupart de ces approches sont actuellement disponibles pour la recherche uniquement (**Tizard and al, 2017**).

Plusieurs méthodes moléculaires basées sur le gène de l'ARNr 16S microbien ont émergé et ont été utilisés pour identifier et quantifier les bactéries. Ce gène ne se trouve que chez les procaryotes et est très conservé au sein d'une espèce bactérienne. Il possède des régions hypervariables avec des séquences spécifiques qui permettent d'identifier les différentes espèces bactériennes.

Parmi ces méthodes, on distingue notamment la PCR quantitative, l'hybridation fluorescente in situ (FISH) et les techniques de séquençage de nouvelles génération (telles que le 454-pyrosequencing ou le séquençage Illumina).

La métagénomique ciblée consiste à amplifier un fragment de gène codant pour l'ARN ribosomal 16S d'un échantillon en utilisant des amorces universelles (les amplicons PCR) qui sera ensuite séquencé.

Le séquençage de nouvelle génération permet ainsi d'identifier de nouvelles espèces non cultivables par les techniques classiques de microbiologie au sein du microbiote intestinal. Un des désavantages de cette technique est qu'il est parfois difficile de différencier les espèces étroitement apparentées.

Cependant, les techniques de séquençage d'amplicons ne révèlent que des informations sur la composition taxonomique d'une communauté microbienne mais ne donnent pas d'indications sur les capacités fonctionnelles de celle-ci (Tizard and al, 2017).

Au cours des dernières années, il est devenu évident qu'étudier le microbiome entier plutôt que la phylogénie seule est indispensable pour comprendre réellement son rôle chez l'hôte. Des approches fonctionnelles récentes, notamment la métagénomique globale, a commencé à relier les informations phylogénétiques à la fonction physiologique.

Ainsi, cette technique consiste à segmenter l'ADN génomique puis à le séquencer sans amplification. Cela va permettre, en plus de l'identification de bactéries, de déterminer tous les gènes présents dans l'échantillon et donc les métabolites potentiellement produits par les bactéries. Cette approche permet de comprendre les mécanismes des altérations des voies biochimiques qui se produisent suite à une inflammation intestinale et à une dysbiose (Suchodolski and al, 2016).

IV) Le microbiote digestif chez le chien sain

Grâce à la culture bactérienne, les études ont estimé que le nombre de bactéries était de 10^2 à 10^5 UFC (unité formant colonie) / g dans l'intestin grêle des chiens sains et jusqu'à 10^{11} dans le gros intestin (Suchodolski and al, 2016). Il y a donc une augmentation du nombre total de bactéries en se déplaçant du duodénum vers le côlon.

Ainsi l'intestin grêle contient surtout des bactéries aérobies et anaérobies facultatives alors que le colon n'héberge quasiment que des bactéries anaérobies strictes.

On a remarqué que le tractus intestinal des chiens possédait quatre phyla bactériens prédominants : Firmicutes, Bacteroides, Proteobacteria et Actinobacteria (Deng and al, 2015)

Le phylum des Firmicutes est constitué d'espèces appartenant surtout aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*.

Les Bacteroidetes sont représentés par le genre *Bacteroides* tandis que les Actinobacteria comprend les bifidobactéries et les bactéries du genre *Atopobium*.

Phylum (et concentration approximative par gramme de selles)	Classe	Ordre	Famille/cluster*	Représentants « célèbres »*
Actinobacteria (10¹⁰)	Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae Corynebacteriaceae	
		Bifidobacteriales	Bifidobacterium	Bifidobacterium bifidum
Bacteroidetes (10¹¹)	Bacteroidetes	Bacteroidales	Bacteroidaceae Prevotellaceae Porphyromonadaceae	Bacteroides fragilis
Firmicutes (10¹¹)	Bacilli	Bacillales		
		Lactobacillales	Lactobacillaceae Lactococcaceae Leuconostocaceae Streptococcaceae	Lactobacillus plantarum
	Clostridia	Clostridiales	Cl cluster IV, XIV, ...	Faecalibacterium prausnitzii
Fusobacteria (10¹⁰)	Fusobacteria	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	
Proteobacteria (10⁸)	alphaproteobacteria			
	gammaproteobacteria	aeromonadales		
		Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia coli
		Pasteurellales		
		Pseudomonadales		
		Vibrionales		
	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales		
Epsilonproteobacteria	Campylobacteriales	Campylobacteraceae Helicobacteraceae	Campylobacter jejuni Helicobacter pylori	
Verrucomicrobia (10⁹)	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Akkermansia muciniphila
Euryarchaeota (10⁹)	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobrevibacter smithii
Ascomycota (10⁴)	Eurothomycetes	Eurotiales	Trichomaceae	
	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	S. cerevisiae

Tableau I : taxonomie des constituants majeurs du microbiote intestinal (Marteau et al, 2018)

Il faut savoir que chaque microbiote intestinal canin est unique ; la proportion et la nature des taxons présents varient en fonction de la race, l'âge, l'alimentation, l'exposition aux antibiotiques et il existe également des facteurs environnementaux (Tizard and al, 2017).

Les méthodes de laboratoire (par exemple la collecte et le traitement de l'échantillon) peuvent jouer un rôle dans la variabilité du microbiote : en effet, il existe différentes méthodes d'extraction d'ADN génomique, protocoles d'amplification d'ADN et conditions de stockage des échantillons (Deng and al, 2015).

Une étude utilisant le séquençage de nouvelle génération a montré que les lignées phylogénétiques bactériennes présentes dans le colon de chiens sains étaient respectivement : les Firmicutes (47,7%) (ex : clostridia, streptocoques, staphylocoques), les Proteobacteria (23,3%) (ex : *E. coli*, *Klebsiella*), les Fusobacteria (16,6%) et les Bacteroidetes (12,4%).

Les *Clostridiales* prédominent dans le duodénum (40%) et le jéjunum (39%) et elles sont aussi très abondantes dans l'iléon (25%) et le côlon (26%). Les *Clostridium* cluster IV and *Clostridium* cluster XIVa sont majoritaires respectivement dans l'intestin grêle proximal et dans le colon.

On retrouve les entérobactéries plus fréquemment dans l'intestin grêle que dans le côlon mais c'est l'inverse pour les Fusobacteria et les Bacteroidetes (Suchodolski et al., 2008).

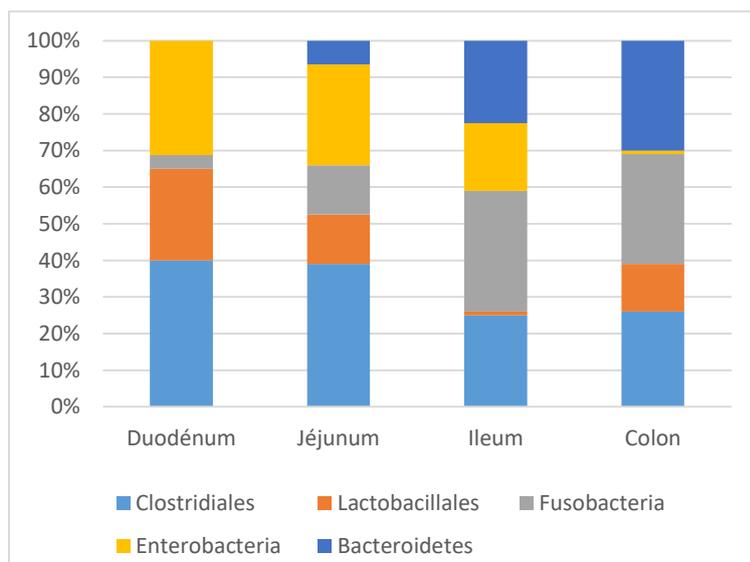


Figure 2 : Distribution des grandes lignées phylogénétiques dans les différents segments du tractus intestinal canin. (d'après Suchodolski et al., 2008).

L'étude de Deng et al, en 2015, a analysé les résultats de plusieurs études pour montrer qu'en fonction de la technique utilisée, le pourcentage de chacun des phyla constituant le microbiote intestinal pouvaient varier.

Ainsi Middelbosa et al, en ont utilisé la métagénomique ciblée, via le pyroséquencage 454, pour montrer que les matières fécales de chiens en bonne santé possédaient les phylas suivants : Fusobacteria (23-40%), Firmicutes (14-28%), Bacteroidetes (31 -34%), Actinobacteria (0,8 -1,4%) et protéobactéries (5-7%).

D'autres chercheurs (Swanson and al) ont utilisé les mêmes échantillons que précédemment mais ont privilégié la métagénomique globale. Ils ont révélé que le microbiote était constitué par : Bacteroidetes (37-38%), Firmicutes (31-35%), protéobactéries (13-15%), Fusobacteria (7-9%) et Actinobacteria (1 %). Les bactéries constituaient 98% des séquences tandis que les eucaryotes entre 0-4%, les archées 1% et les virus entre 0-4%.

Ces deux études ont donc montré des résultats différents concernant les proportions des taxons dans le microbiote fécal. Cela pourrait s'expliquer par les biais des méthodes utilisées. (Deng and al, 2015).

La composition bactérienne du microbiote intestinal est la plus largement étudiée, mais le tube digestif héberge de nombreux autres micro-organismes : virus, archées, levures.

Les études sur la composante virale dans le tractus gastro-intestinal des chiens sont limitées. Des études ont utilisé l'analyse métagénomique ciblée pour révéler la composante fongique du microbiote. Les champignons constituent environ 2% du tractus intestinal et on retrouve principalement des Ascomycota (97,9%) et Basidiomycota (1%) (Foster et al., 2013).

Glomeromycota et Zygomycota ont aussi été retrouvé chez le chien, avec, selon les études, *Nacaseomyces* comme genre principal (76,72%), ou *Candida* (5.2%). Cependant, la diversité de ces organismes est encore très sous-estimée. (Blake et Suchodolski, 2016).

V) Modification du microbiote digestif en cas de maladies intestinales

1- Diarrhées aiguës

Lors de diarrhée hémorragique aiguë, le nombre de *Clostridium perfringens*, de *Fusobacteria* et d'*Enterococcus* spp est augmenté tandis que *Bacteroides* spp diminuent.

Jusqu'à présent, il a été suggéré que la surcroissance de *Clostridium perfringens* serait secondaire à la maladie intestinale sous-jacente mais une étude plus récente a découvert une nouvelle toxine pouvant être la cause de la diarrhée aiguë. En effet, de nouveaux gènes codant pour des toxines porogènes, appelés netE et netF, ont été identifiés dans une souche de *Clostridium perfringens* de type A chez des chiens souffrant de diarrhée hémorragique aiguë. Une différence significative a été trouvée dans la prévalence des gènes de *C. perfringens* codant pour netE et netF : les chercheurs en ont détectés 48,1% dans les matières fécales de chiens souffrant de diarrhée hémorragique aiguë, 12,1% chez les chiens sains et 0% chez les chiens infectés par le parvovirus canin. (Sindern and al, 2018)

Une autre étude a montré que dans des échantillons de matières fécales de chiens souffrant de diarrhée hémorragique aiguë, les changements les plus marqués étaient des diminutions de *Faecalibacterium* spp., des Bacteroidetes et des Ruminococcaceae et une augmentation de *C. perfringens* (Guard and al, 2015)

Certain de ces groupes bactériens seraient des producteurs importants de divers métabolites dont les acides gras à courtes chaînes. En effet, la diminution des Ruminococcaceae et de *Faecalibacterium* spp. est corrélée à une diminution de la concentration en propionate dans les fèces chez les chiens atteints de diarrhée aiguë. Cependant, on retrouve également et de façon inattendue une augmentation de la concentration en butyrate dans les matières fécales. L'hypothèse à ce constat est que les chiens souffrant de diarrhée aiguë auraient une utilisation réduite de l'acide butyrique par l'épithélium du colon. Par conséquent, le butyrate se retrouve excrété et présent à des concentrations plus élevées dans les matières fécales.

La carte thermique de la figure 3 montre que *Clostridium* spp. est associé à la diarrhée aiguë, alors que *Prevotella* spp., *Blautia* spp., *Faecalibacterium* spp., *Eubacterium* spp et les genres non classés dans les familles suivantes : Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, Clostridia, et Coprobacillaceae sont associés à des chiens en bonne santé.

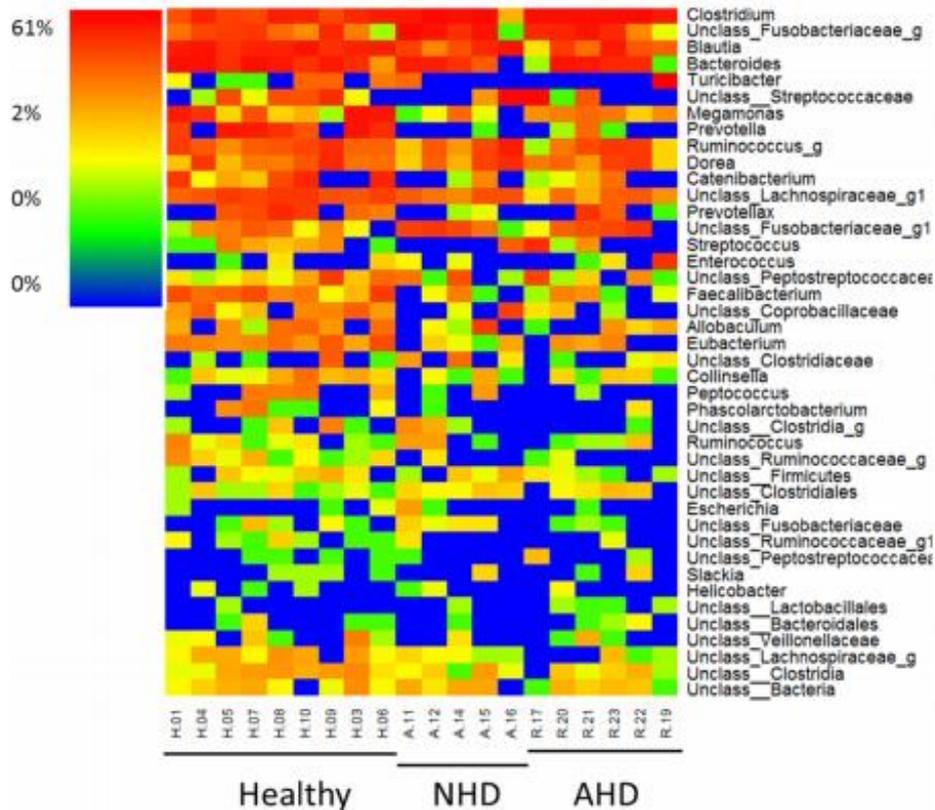


Figure 3 : Abondance relative des genres bactériens dominants dans les échantillons de selles prélevées chez des chiens souffrant de diarrhée aiguë. Healthy = sain ; NHD = diarrhée aiguë non hémorragique ; AHD = diarrhée aiguë hémorragique (Guard and al, 2015)

Cette même étude a montré que les produits finaux métaboliques du tryptophane (le 2-méthylindole et le 5-méthoxy-1H-indole-3-carbaldéhyde) ont diminué de façon significative dans l'urine des chiens souffrants de diarrhée aiguë. Or, l'indole augmenterait l'expression de gènes impliqués dans le renforcement de la barrière muqueuse et jouerait un rôle dans la production de mucine. De plus, l'indole diminuerait l'activation de NF- κ B par le TNF- α et augmenterait l'expression de la cytokine anti-inflammatoire IL-10. (Guard and al, 2015)

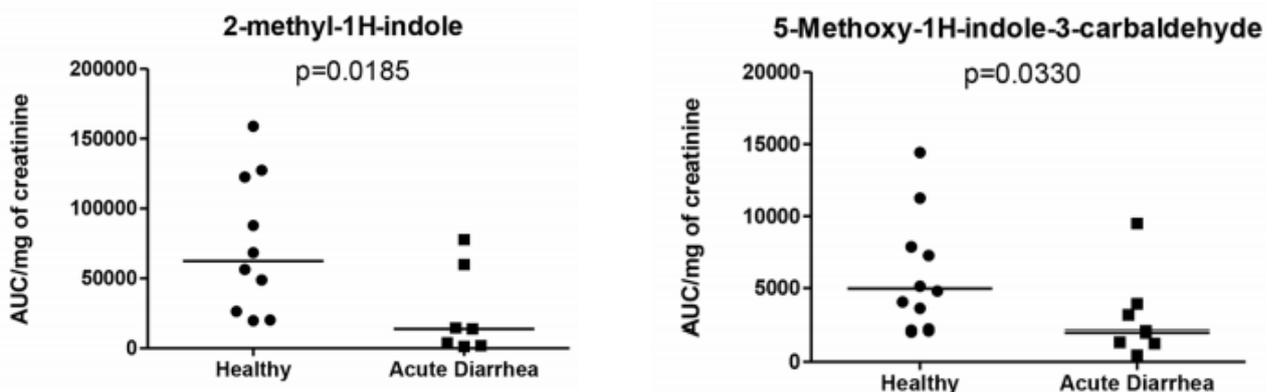


Figure 4 : Concentration relative du 2-méthyl-1H-indole et du 5-méthoxy-1H-indole-3-carbaldéhyde dans l'urine de chiens souffrant de diarrhée aiguë (Guard and al, 2015)

2. Entéropathies chroniques

Les entéropathies chroniques sont un groupe d'affections courantes chez les chiens et se traduisent par des signes cliniques digestifs persistants ou récurrents de maladies gastro-intestinales (y compris les vomissements, diarrhée, perte de poids, inappétence ...) depuis plus de trois semaines.

Il existe trois formes d'entéropathies chroniques dont la caractérisation est basée sur une démarche d'exclusion : diarrhée sensible à l'alimentation (FRD), diarrhée répondant aux AB (ARD) ou maladie intestinale inflammatoire idiopathique (IBD).

Chez les chiens atteints de FRD, les signes cliniques disparaissent après changement alimentaire en une nouvelle source de protéines et de glucides ou à un régime riche en protéines hydrolysées.

Les chiens avec ARD répondent au traitement antibiotique, par exemple, avec de la tylosine. L'IBD est définie par une réponse positive aux immunomodulateurs et l'inflammation intestinale sera confirmée par histologie.

a. Entérite chronique idiopathique (ou MICI, IBD)

Le terme de maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) désigne les entéropathies caractérisées par la présence d'une inflammation de la muqueuse intestinale sans cause sous-jacente.

Ainsi, le diagnostic des MICI repose sur l'exclusion de toutes les causes possibles d'inflammation (parasitaire, bactérienne, alimentaire, entéropathie répondant aux antibiotiques) mais également sur la mise en évidence histologique d'une inflammation intestinale.

On peut classer les MICI sur base du type d'infiltration de la muqueuse intestinale par des cellules inflammatoires telles que des lymphocytes (le plus souvent) mais aussi des éosinophiles, neutrophiles ou macrophages.

Des modifications histopathologiques peuvent être observées sur n'importe quel segment du tractus gastro-intestinal mais l'intestin grêle est souvent le plus touché.

L'origine exacte de l'entérite chronique idiopathique n'est pas encore totalement élucidée mais elle serait liée à différents éléments : une association de facteurs environnementaux, génétiques ainsi qu'à un dysfonctionnement immunitaire.

En effet, la rupture de la barrière muqueuse pourrait être une des causes de MICI, exposant ainsi le système immunitaire aux antigènes intraluminaux (alimentaire, bactérien ...). A cela s'ajoute une réponse immunitaire locale excessive qui entraînerait une disparition de la tolérance aux antigènes luminaux.

Il existe une prédisposition de race à cette maladie : Berger allemand, Boxer, Rottweiler, Border Colley ... La maladie s'exprime souvent chez les adultes d'âge moyen mais des formes juvéniles existent également.

Les études réalisées chez les chiens atteints de MICI ont montré des modifications dans l'abondances microbienne. On remarque une augmentation des protéobactéries (notamment *Pseudomonas* et *E.coli*) ainsi qu'une diminution des Firmicutes et Bacteroidetes.

Ces études ont également mis en évidence une diminution de *Faecalibacterium* et *Turicibacter* qui produisent les acides gras à courtes chaînes.

Ces changements ont été observés dans le duodénum mais également dans des échantillons de selles ce qui montre que même si le microbiote change le long du tube digestif, la dysbiose lors d'une pathologie de l'intestin grêle pourrait être mise en évidence via des échantillons de matières fécales.

On remarque également un parallélisme entre les dysbioses canines et celles présentes chez l'homme en cas de maladie de Crohn's ou de colite ulcéraive.

Organism	Human (Crohn's disease)	Human (ulcerative colitis)	Dog	Cat
Firmicutes	Decreased ^{[15,16,36]1,2,4,5}	Decreased ^{[15,18]1,2,4}	Decreased ^{[7]1,6}	
Class Clostridia			Decreased ^{[7,8,14]1,2,4,6,7}	
Family Ruminococcaceae (Clostridial cluster IV)	Decreased ^{[15]2,4}	Decreased ^{[15]2,4}	Decreased ^{[7,8,14]1,2,4,6,7}	
Family Lachnospiraceae (Clostridial cluster XIVa)	Decreased ^{[15,18]1,2,4,5}	Decreased ^{[15,18]1,2,4,5}	Decreased ^{[7,8]1,6,7}	
Bacteroidetes	Decreased ^{[18]1,4}	Decreased ^{[18]1,4}	Decreased ^{[7,9]1,6,7} ; increased ^{[8]1,7}	
Genus Bacteroides			Decreased ^{[7]1,6}	Decreased ^{[15]1,5}
Fusobacteria			Decreased ^{[7,9]1,6,7}	
Proteobacteria	Increased ^{[18]1,4}	Increased ^{[18]1,4}	Increased ^{[7-9]1,6,7}	Increased ^{[10]1,5}
Family Enterobacteriaceae	Unchanged ^{[18]1,4} ; increased ^{[10]2,5}	Unchanged ^{[18]1,4} ; decreased ^{[10]2,5}	Increased ^{[7-9]1,6,7}	Increased ^{[10]1,5}
<i>E. coli</i>	Unchanged ^{[15]2,4} ; increased ^{[19]1,4,5}		Increased ^{[8]1,7}	
Adherent-Invasive <i>E. coli</i>	Increased ^{[19]1,5}		Increased ^{[8]1,3,5}	
Actinobacteria	Increased ^{[18]1,4}	Increased ^{[18]1,4}	Increased ^{[7]1,6}	
<i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>pseudotuberculosis</i>	Controversial ^{[18]1}		Increased ^{[12]1,4}	
Genus <i>Bifidobacterium</i>	Decreased ^{[15]2,4}	Decreased ^{[15]2,4}		Decreased ^{[15]1,5}

Tableau II : Comparaison des modifications du microbiote humain et canin dans les maladies inflammatoires intestinales par rapport aux sujets sains (**Honnefer and al, 2014**)

(1) Basé sur des échantillons de muqueuse intestinale (2) Basé sur des échantillons de matières fécales (3) Colite granulomateuse ulcéralive (4) Réaction de polymérisation en chaîne quantitative (5) Hybridation fluorescente in situ (6) 454-Pyrosequencing (7) Clonages de gènes en *E. coli*

Le microbiote de l'intestin grêle (notamment *Lactobacillus* spp et *Clostridium* spp) permet la déconjugaison des acides biliaires ; une diminution de ces deux phyla pourrait donc perturber l'absorption des graisses.

La dysbiose du gros intestin est associée à une diminution des taxons suivants : *Blautia* spp, *Faecalibacterium* spp, Ruminococcaceae (*Clostridium* cluster IV) et *Turicibacter* spp. Ces derniers produisent des acides gras à courtes chaînes et d'autres métabolites immunomodulateurs. En cas de dysbiose, des effets importants sur le métabolisme de l'hôte seront occasionnés, notamment une diminution du propionate fécal et une augmentation du butyrate fécal. (Suchodolski, 2016).

Jia et al ont utilisé la technique de l'hybridation in situ en fluorescence pour déterminer le microbiote fécal prédominant des chiens souffrant de diarrhée chronique. Ils ont trouvé une abondance plus élevée de *Bacteroides* spp mais moins de *Lactobacillus* spp et d'*Enterococcus* spp par rapport aux chiens témoins sains. (Jia and al, 2010)

Le microbiote intestinale des chiens atteints de MICI semble assez variable selon les études, ce qui peut s'expliquer par la méthodologie utilisée, la race, l'âge, le régime alimentaire, l'environnement de vie ainsi que par le stade de la maladie et les traitements utilisés.

Une étude a comparé le microbiote fécal et les métabolites entre des chiens en bonne santé et des chiens atteints de MICI avant et après 3 semaines de traitement. Tous les chiens ont reçu un traitement standard, qui consistait en l'administration d'un médicament immunosuppresseur et l'alimentation d'un régime d'élimination (par exemple, antigène restreint ou les régimes hydrolysats de protéines). Certains chiens ont reçu du métronidazole en plus de la thérapie médicamenteuse immunosuppressive.

Cette étude a mis en évidence, via une analyse métabolomique sur sérum de chiens atteints de MICI, que certains métabolites (comme le 3-hydroxybutyrate, l'acide hexuronique, le ribose et le lactone d'acide gluconique) étaient augmentés.

Or, le ribose et le lactone d'acide gluconique sont impliqués dans la voie des pentoses phosphates qui protège les cellules du stress oxydatif. Ainsi, on pourrait penser que les chiens atteints de MICI ont une augmentation du stress oxydatif.

L'acide hexuronique est une forme dérivée de la vitamine C et est considéré comme un antioxydant en raison de sa capacité à céder des électrons.

Le 3-hydroxybutyrate est un corps cétonique et la synthèse accrue de ce métabolite reflète une insuffisance énergétique. (Minamoto *et al.*, 2015).

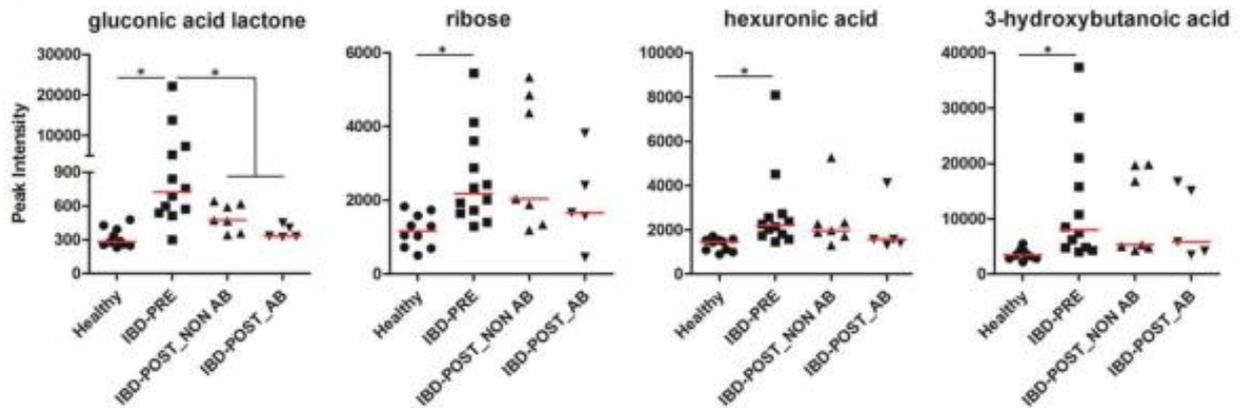


Figure 5 : Comparaison de la concentration maximale pour les métabolites sériques chez les chiens sains, les chiens atteints d'IBD avant le traitement (IBD-PRE) et les chiens atteints d'IBD après un traitement basé sur des immunosuppresseurs pendant trois semaines (IBD-POST). Ces derniers ont été divisés en deux groupes : un groupe qui avait reçu des antibiotiques en plus des immunosuppresseurs (IBD-POST_AB) et un autre qui n'avait pas reçu d'antibiotiques (IBD-POST_NON AB).

b. Diarrhée sensible aux antibiotiques

Certains chiens développent une diarrhée chronique qui réagit aux antibiotiques comme le métronidazole et la tylosine. Les chiens concernés seront surtout ceux de grande races d'âge moyen tel que le Berger Allemand, le Golden retriever, le Rottweiler ou le Berger Belge. Après un tel traitement, des études ont démontré qu'il y avait une augmentation de la proportion de bactéries lactiques comme *Enterococcus* ou *Bifidobacterium*. Il y aurait donc une augmentation de leurs produits de fermentation ce qui diminuerait le pH intestinal et l'immunité locale (Redfern *and al.*, 2017)

Une origine génétique est suspectée comme responsable d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire inappropriée contre les micro-organismes commensaux de la lumière intestinale.

Des études récentes ont mis en évidence une réponse immunitaire innée anormale (TLR altérés) chez le Berger Allemand, ce qui pourrait induire une réaction immune disproportionnée envers les flagellines bactériennes présentes dans l'intestin grêle.

Chez les chiens atteints de diarrhée répondant aux antibiotiques, une étude a montré que la concentration sérique en cobalamine pourrait diminuer et que la concentration sérique en folates pourrait être augmentée.

Les modifications du microbiote de l'intestin grêle peuvent entraîner une augmentation de l'utilisation de la cobalamine (Vitamine B12) par les bactéries. Cela aurait pour conséquence une diminution d'absorption de cobalamine au niveau de l'iléon.

Les bactéries de l'intestin grêle distal et du colon produisent de l'acide folique mais son absorption a lieu au niveau du jéjunum. Lorsque les bactéries qui produisent des folates s'accumulent dans le jéjunum, une augmentation des folates bactériens sera absorbée par l'hôte et on aura donc une augmentation de la concentration sérique.

Cependant, l'altération des mécanismes d'absorption de cobalamine et de folates n'est pas très spécifique et un régime riche en folates peut entraîner une augmentation de la concentration sérique sans qu'il n'existe un quelconque état pathologique. Une inflammation de l'iléon peut réduire sa population en récepteurs à la cobalamine et conduire à une malabsorption de cobalamine (Suchodolski, 2016).

c. Colite granulomateuse ulcérate

La colite granulomateuse est considérée comme une forme atypique et rare de maladie inflammatoire chronique intestinale. On observe des lésions segmentaires pouvant affecter une partie de l'intestin grêle et différentes portions du côlon. Ces lésions semblent prolifératives et provoquent un épaississement important de la paroi colique ayant pour conséquence l'apparition d'une sténose.

Cette pathologie se trouve presque exclusivement chez les Boxer et ce souvent avant l'âge d'un an et une prédisposition génétique est suspectée pour cette race. Cependant, d'autres races peuvent être touchées, comme les jeunes bouledogues français.

La prédisposition des races Boxer et Bouledogue Français à la colite granulomateuse suggère la présence d'une sensibilité génétique qui altère leur capacité à repousser les *E. coli* adhérents et invasifs.

Cette maladie entraîne une colite hémorragique sévère menant parfois à de l'anémie et de l'hypoalbuminémie. La cause probable de cela est la présence d'*E. coli* qui envahit la

muqueuse intestinale. L'examen histologique des lésions ulcératives montrait une infiltration de la muqueuse par des macrophages.

Une thérapie à base de fluoroquinolone pendant trois semaines permet une rémission de la maladie. (Redfern and al, 2017).

L'intérêt de mener des recherches à propos de la colite granulomateuse ulcérate chez le chien est qu'elle présente de grandes similitudes avec la maladie de Crohn chez l'homme. En effet, l'inflammation granulomateuse, les bactéries identifiées dans les macrophages ou bien la réponse clinique satisfaisante aux fluoroquinolones se retrouvent dans les deux maladies. Les bactéries isolées possédaient des propriétés d'adhérence et d'invasion tissulaire similaires à celles observées pour les souches d'E. coli impliquées dans la maladie de Crohn chez l'homme.

VI) Comment agir sur le microbiote intestinal ?

1. Probiotiques

Ces dernières années, l'usage des probiotiques dans la pratique vétérinaire a augmenté notamment grâce à une meilleure connaissance du microbiote et afin de réduire l'utilisation des antibiotiques

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants ajoutés comme compléments au régime alimentaire afin de rétablir l'équilibre de la flore intestinale et ayant pour but de conférer un effet bénéfique à la santé de l'hôte. Il s'agit donc d'une source exogène.

De plus, les probiotiques doivent pouvoir survivre à l'acide gastrique et à la bile pour atteindre l'intestin, être capable de coloniser le côlon, de moduler le système immunitaire intestinal, d'être actif contre les micro-organismes pathogènes et de ne pas avoir des effets cancérigènes, toxiques, pathogènes ou mutagènes.

Comme le montre le tableau III, la majorité des souches probiotiques est constituée de bactéries lactiques (comme *Lactobacillus*). On retrouve aussi *Bifidobacterium*, *Enterococcus faecium* et la levure *Saccharomyces boulardii*.

Probiotic	Species	Aim	Conclusion
<i>Lactobacillus cocktail</i>	Dog	Ex vivo effect on cytokines	Effective
<i>Lactobacillus cocktail</i>	Dog	In vivo effect on cytokines	Ineffective
<i>Enterococcus faecium SF68</i>	Dog	Effect on giardia cyst shedding and faecal giardial antigen	Ineffective
<i>Enterococcus faecium SF68</i>	Dog/cat	Effect on acute diarrhoea	Effective in cats not dogs
<i>Probiotic cocktail</i>	Dog	Effect on acute diarrhoea	Effective
<i>Bifidobacterium animalis</i> AHC7	Dog	Effect on acute diarrhoea	Effective
VSL#3	Dog	Effect on disease indices	Effective
<i>Enterococcus faecium + fructooligosaccharides</i>	Dog	Effect on inflammasome	Equivocal
<i>Enterococcus faecium + fructooligosaccharides</i>	Dog	Effect on disease indices	Underpowered

Tableau III : Thérapie probiotique pour l'entérite chronique idiopathique (Redfern and al, 2017)

Il existe plusieurs avantages à l'utilisation des probiotiques chez les animaux de compagnie comme la réduction de la perméabilité intestinale (via l'augmentation de la production de mucus et de peptides antimicrobiens par l'épithélium), la production d'acides gras à courtes chaînes, la stimulation de la sécrétion d'IgA et la diminution du pH luminal.

De plus, les probiotiques vont contribuer à la modulation du système immunitaire ; ils vont modifier la balance cytokine pro et anti-inflammatoires en diminuant la production d'IL-6 (cytokine pro-inflammatoire) et en stimulant celle d'IL-10 (cytokine anti-inflammatoire). Il est en effet important d'établir une tolérance envers les bactéries commensales mais de se protéger contre les bactéries pathogènes.

Des études *ex-vivo* sur des échantillons duodénaux de chiens atteints d'entéropathie chronique ont montré l'intérêt d'associer trois espèces de *Lactobacillus* : *Lactobacillus acidophilus* souche NCC2628 et NCC2766 et *Lactobacillus johnsonii* NCC2767.

Quand ces échantillons sont placés dans un milieu de culture contenant les probiotiques, l'expression et la quantité d'IL-10 augmentent. Cette interleukine inhibe l'expression de cytokines pro-inflammatoires

Cependant, un essai clinique utilisant ce même cocktail de probiotiques donné aux chiens souffrant de diarrhée sensible à la nourriture n'a pas induit de modulation de l'expression des cytokines malgré l'amélioration clinique (Redfern and al, 2017)

Ces probiotiques peuvent aussi exercer une action positive sur certains déséquilibres biochimiques : après 7 jours de supplémentation avec *Lactobacillus fermentum* CCM 7421 chez des chiens souffrant de troubles gastro-intestinaux chroniques (toutes causes confondues), on observe une augmentation des protéines totales chez les animaux hypoalbuminémiques et une régulation du taux de cholestérol chez tous les chiens (diminution chez les chiens en excès et augmentation chez les chiens présentant des valeurs inférieures aux normes) (Strompfova *et al.*, 2007).

2. Prébiotiques

Les prébiotiques sont des substances alimentaires non digestibles qui sont bénéfiques à l'hôte en stimulant sélectivement la croissance ou l'activité métabolique des bactéries intestinales (surtout les espèces *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*).

Ce sont généralement des oligosaccharides ou des polysaccharides à courte chaîne.

Le tableau III recense les différents prébiotiques utilisés chez les carnivores domestiques souffrant de maladies intestinales.

Prébiotique	Nom commercial	Laboratoire
FOS	Diarsanyl	Ceva santé animale
FOS (associé à des probiotiques)	Synbiotic D-C Pro-kolin	TVM TV
Inuline (associée à des probiotiques)	Nova probiotics	Nova
MOS (associé à des probiotiques)	Canikur-pro Ultradial	Boehringer MP labo
FOS, MOS (associé à des probiotiques)	Enteromicro Fidavet benedyn, Fidavet kaodyn, Fidavet fiberdyn Canigest Pet phos senior Yumpro bioactiv	MP labo Elanco TRM Sogeval Lintbells
FOS et/ou MOS et/ou inuline	Certaines croquettes à la fois dans les gammes physiologiques et/ ou thérapeutiques.	Tous les fabricants d'aliments diététiques vétérinaires (Hill's, Royal canin, Virbac...).
Information non disponible	Facteurs d'Assimilation-Process (FAP)	Original process

Tableau IV : prébiotiques vétérinaires ayant une indication digestive chez les carnivores domestiques (Recard-Conort, 2015)

Les prébiotiques échappent à la digestion dans l'intestin grêle et sont des substrats potentiels pour l'hydrolyse et la fermentation par les bactéries intestinales.

Des Beagles nourris avec un régime contenant 1% de FOS pendant 3 mois ont montré une excrétion augmentée de *Lactobacillus* spp et de bifidobactéries bien que celle-ci soit inconstante (Willard et al., 2000).

La combinaison d'un prébiotique et probiotique, appelé synbiotique, est censée exercer des effets synergiques pour maintenir la santé intestinale. Il existe peu de données concernant l'utilisation de synbiotiques chez les chiens.

Mais une étude a étudié l'effet d'un synbiotique sur le microbiote fécal de chiens en bonne santé pendant 21 jours. Le synbiotique était formé d'un mélange de sept souches probiotiques avec un mélange de fructo-oligosaccharide ainsi que d'arabinogalactanes.

Même si Garcia-Mazcorro et al, en 2011, ont observé une augmentation d'*Enterococcus* et de *Streptococcus* spp. pendant un certain temps lors de l'administration, le nombre de ces bactéries est revenu aux valeurs de base après l'arrêt du traitement synbiotique.

L'ingestion du synbiotique a causé une augmentation de l'abondance d'espèces probiotiques dans les matières fécales mais aucun changement significatif des phyla bactériens n'a été identifié. (Garcia-Mazcorro and al)

3. Transplantation fécale

La transplantation microbienne fécale est une procédure qui consiste à prélever les selles d'un individu sain et à les transplanter à un patient malade afin d'apporter un microbiote équilibré en cas de troubles digestifs.

Malgré l'efficacité de la transplantation microbienne fécale pour traiter les troubles intestinaux chez l'homme, en particulier dans le cadre de l'infection récurrente par *Clostridium difficile*, peu de données scientifiques la concernant existent en médecine vétérinaire.

Etant donné le manque d'informations démontrant son efficacité et son innocuité, on conseille aux vétérinaires d'utiliser la transplantation fécale quand il n'y a pas d'autres options pour traiter un trouble gastro-intestinal chez un patient et quand celui-ci est réfractaire aux traitements.

La transplantation fécale pourrait être une alternative intéressante aux traitements de corticoïdes dont les effets secondaires sont nombreux et parfois graves.

Il est probable que de nouvelles indications de la transplantation fécale soient reconnues dans les années avenir.

On ne connaît pas encore les critères de sélection des donneurs, la préparation des échantillons du donneur et les conditions d'administration. Il faut donc s'appuyer sur les études déjà menées chez l'homme.

Il faudra exclure de la liste de donneur potentiel les animaux ayant eu un traitement antibiotique durant les 3 mois précédents la transplantation car des perturbations de la flore intestinale peuvent persister. De plus, les individus présentant des signes cliniques gastro-intestinaux, qui sont en mauvaise santé, obèses ou non vaccinés contre les maladies infectieuses pertinentes, qui présentent des allergies alimentaires et / ou qui sont soupçonnées d'être infectées par un entéropathogène devront être exclus. (Chaitman and al, 2016)

Quand ces conditions sont réalisées, on récupère les matières fécales du donneur, on les dilue dans du sérum physiologique et on les administre au receveur soit par voie orale (par exemple, l'intubation naso-duodénale et entéroscopie) ou par voie rectale (par exemple, lavement rectal et coloscopie).

La transplantation microbienne fécale orale peut être plus facile à réaliser, mais cela nécessite un temps relativement long pour que la transplantation atteigne le gros intestin. De plus, la survie des organismes tout au long de l'estomac et l'intestin grêle risque d'être compromise. On peut préconiser une administration rectale plus rapide si le cas est plus grave.

Une étude a récemment apporté quelques informations sur la transplantation fécale chez le chien. Une transplantation microbienne fécale a été réalisée chez un chien souffrant d'entérite chronique idiopathique qui avait été traitée avec des anti-inflammatoires et des immunosuppresseurs sans succès. Au total, le chien a subi neuf transplantations fécales en sept mois. Les chercheurs ont constaté que la diversité du microbiote fécale après ce protocole ressemblait à celle du chien donneur sain avant cette transplantation comme le montre la figure 6. De plus, les symptômes cliniques se sont améliorés après cette procédure. (Niina and al, 2019)

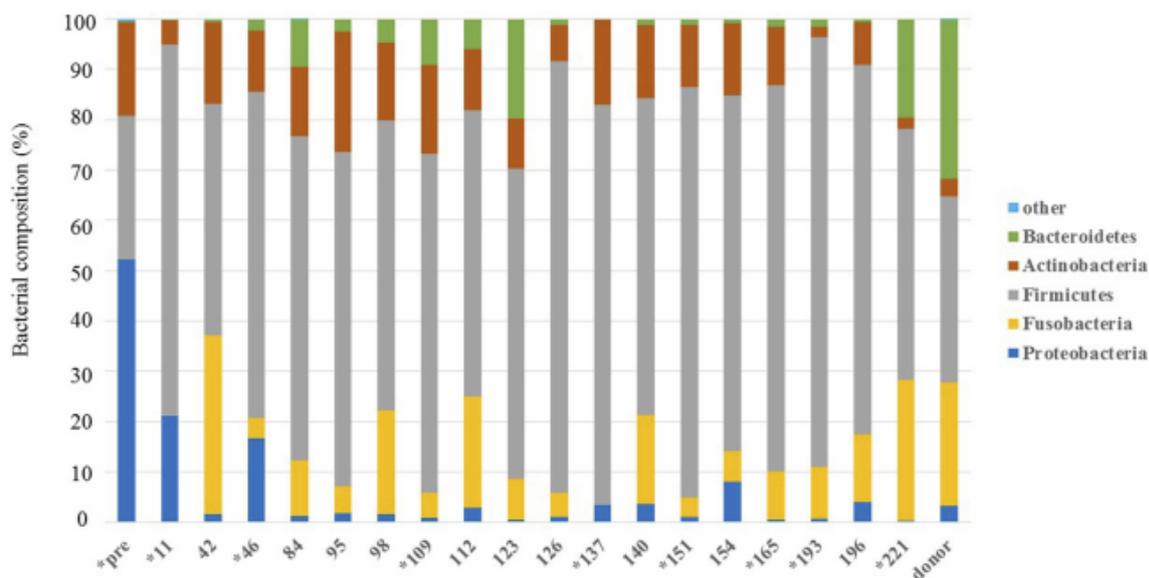


Figure 6 : Analyse des séquences de gènes de l'ARN 16S pré et post transplantation fécale microbienne (Niina and al, 2019). L'astérisque indique la date de chaque procédure de transplantation microbienne fécale

Une autre étude rapporte des effets bénéfiques d'un transfert de flore chez huit chiens atteints d'une diarrhée à *C. perfringens* réfractaire aux traitements usuels. En effet, *C. perfringens* n'était pas retrouvé dans les matières fécales de six des huit chiens après le traitement (Redfern et al., 2017).

Enfin, un chien atteint de diarrhée idiopathique a été traité par transplantation fécale par voie orale. Quelques jours après, la consistance de ses matières fécales était redevenue normale. De plus, l'analyse par PCR pour l'espèce *C. difficile* était négatif. Les chercheurs en ont donc déduit que ce traitement par voie orale était efficace pour la diarrhée à *C. difficile*. (Sugita and al, 2019)

C'est une voie de recherche qui mériterait d'être plus explorée mais les retombées financières pour l'industrie pharmaceutique sont trop faibles pour que des moyens conséquents soient mis en œuvre.

4. Nutrition

Donner une alimentation variée et équilibrée permet à nos animaux domestiques de les maintenir en bonne santé alors qu'un déséquilibre dans la ration aura des conséquences sur les fonctions intestinales et la composition du microbiote intestinal.

Or, la nourriture industrielle que nous donnons à nos animaux de compagnie varie grandement par leur texture (aliment sec ou humide) mais également par leur composition (teneur en protéines, matières grasses, glucides ...) (Deng and al, 2015).

Des études ont montré l'influence du régime alimentaire sur la composition et l'activité du microbiote intestinal. Ainsi, des modifications dans l'alimentation canine peuvent entraîner des changements majeurs de la population bactérienne.

Il faut savoir que souvent la prise en charge alimentaire de chien atteint de pathologies gastro-intestinales ne permettra pas la disparition des symptômes à elle seule mais elle permet tout au moins de les limiter.

Des chercheurs ont évalué la microflore muqueuse intestinale chez les chiens souffrant d'une maladie inflammatoire idiopathique (IBD) et chez les chiens souffrant de diarrhée sensible à l'alimentation (FRD) avant et après le traitement.

Des chiens diarrhéiques ont reçu un régime d'élimination pendant 14 jours ; ce dernier repose sur l'administration d'une ration contenant des protéines que l'animal n'a jamais ingérées auparavant. S'il y avait une amélioration des signes cliniques durant la période du régime, les chiens étaient assignés au groupe FRD. Les autres chiens ont été affecté au groupe IBD et ont reçu un traitement immunosuppresseur : de la prednisolone (1 mg / kg deux fois par jour) pendant 14 jours.

Des biopsies endoscopiques du duodénum et du côlon ont été obtenues et évaluées par séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S bactérien.

Les résultats n'ont montré aucune différence significative dans la composition bactérienne des chiens atteints d'IBD par rapport à ceux souffrant de FRD.

Lorsque l'on compare l'effet du traitement sur la composition du microbiote, le duodénum des chiens avec FRD était plus riche en *Enterococcus* spp., *Corynebacterium* spp. et Proteobacteria avant le traitement, alors que *Bacteroides* spp. était plus abondant dans le côlon des IBD et FRD après le traitement.(Kalenyak and al, 2018).

Pour obtenir une amélioration lors de maladies intestinales, il faudrait que la ration comprenne des fructo-oligosaccharides (FOS) qui entretiennent la flore commensale et des mano-oligosaccharides (MOS) qui favorisent l'élimination des microorganismes pathogènes.

Une étude a voulu déterminer si les FOS pouvaient influencer la population microbienne fécale en présence de régimes différents dans leur teneur en protéines et dans leur digestibilité.

Ainsi, les chercheurs ont montré que les régimes riches en protéines peuvent influencer négativement le microbiote intestinal du chien, en augmentant légèrement le taux d'ammoniac et en diminuant les nombres de lactobacilles et d'entérocoques.

De plus, la présence de protéine faiblement digestible avait pour conséquence des taux d'acides gras volatiles plus faibles et donc une augmentation du pH. Or la réduction du pH a un effet positif sur la santé intestinale de l'hôte en raison de l'effet inhibiteur qu'un environnement acide peut avoir sur certaines bactéries pathogènes.

Il est intéressant de préciser que la production d'acides gras volatils a été réduite par une faible digestibilité des protéines mais n'a pas été influencé par la teneur en protéines.

A l'inverse, donner une ration riche en fructo-oligosaccharides peut améliorer le microbiote intestinal canin par la réduction de la concentration d'ammoniac et par l'augmentation d'acides gras volatils. En effet, le butyrate est la principale source d'énergie pour les cellules du colon. (Pinna and al)

Hang et al., en 2013, ont rapporté qu'un régime riche en protéines (61% de protéines) a favorisé la croissance des Fusobacterales, alors qu'un régime riche en glucides (19% de protéines) a favorisé la croissance de représentants d'Erysipelotrichales

L'aliment distribué devrait contenir un ratio d'oméga-6/oméga-3 réduit car les oméga 3 sont anti-inflammatoire alors que les oméga 6 sont pro-inflammatoires.

Une teneur réduite en graisse est à favoriser car celle-ci retarde la vidange gastrique. De plus, une alimentation riche en graisse favorise les diarrhées osmotiques. Les bactéries intestinales peuvent hydroxyler les acides gras qui stimulent la sécrétion d'eau par le côlon.

De plus, ajouter de la glutamine diminue le risque d'atrophie des villosités et stimule leur régénération car elle constitue une source d'énergie pour les entérocytes.

L'utilisation de fibres fermentescibles solubles (comme la pulpe de betterave, le psyllium et les fructo-oligosaccharide) semble améliorer le fonctionnement de l'épithélium intestinal.

Une étude a examiné l'effet des fibres alimentaires chez les chiens, en comparant un régime pauvre en fibres à un régime contenant 7,5% de pulpe de betterave.

La faible teneur en fibres a entraîné un pourcentage plus élevé de Fusobacteria et Proteobacteria et un pourcentage plus faible de Firmicutes et de Bacteroides par rapport au régime contenant 7,5% de pulpe de betterave (**Deng and al, 2015**).

Une étude de supplémentation en fibres de trois semaines a été réalisée chez neuf chiens atteints de diarrhée chronique et huit chiens témoins. *Atopobium* cluster, *Lactobacillus-Enterococcus* et *Clostridium* cluster XIV étaient prédominants chez tous les chiens.

Les chiens atteints de diarrhée chronique avaient un nombre significativement plus élevé de *Bacteroides* spp au départ et un nombre d'*Atopobium* significativement plus faible suite à la supplémentation en fibres par rapport aux chiens témoins.

Après trois semaines de supplémentation en fibres, les chiens témoins avaient un nombre d'*Atopobium* plus élevés alors que chez les chiens souffrant de diarrhée chronique, ce sont les *Clostridium* qui ont augmenté. (**Jia and al, 2010**)

Enfin, il est nécessaire d'avoir en quantité suffisante des vitamines et des minéraux dans la ration. En cas de diarrhée ou de malabsorption, il y a souvent des pertes de vitamines hydrosolubles alors qu'en cas de stéatorrhée, ce seront les vitamines liposolubles qui seront diminuées.

Lors d'entérite chronique idiopathique, des carences en vitamines B9 (folate) et B12 (cobalamine) peuvent survenir et il faut veiller à leur présence en quantité suffisante dans l'alimentation

VII) Conclusion

Bien que les mécanismes ne soient pas encore totalement établis, le microbiote intestinal contribue de façon essentielle à la santé canine. En effet, la synthèse des données actuelles sur les dysbioses intestinales souligne la diversité des communautés microbiennes et leur implication majeure dans les pathologies intestinales.

Le microbiote est un système dynamique et sa composition varie au sein d'un individu (c'est à dire le long de son tractus intestinal) mais également entre individus.

La composition peut également être influencée par l'alimentation, l'âge, les maladies gastro-intestinales mais également par des facteurs environnementaux et génétiques.

Les micro-organismes de l'intestin possèdent plusieurs rôles à jouer dans le maintien de la santé de l'hôte : ils défendent l'hôte contre les agents pathogènes intestinaux, lui apportent des nutriments par l'intermédiaire d'activités fermentaires et métaboliques mais interviennent également dans le développement et la régulation de son système immunitaire.

Pendant longtemps, la caractérisation de la composition du microbiote intestinal était limitée à la seule fraction cultivée et était effectuée par des méthodes de culture en anaérobiose.

De récentes avancées dans le séquençage de l'ADN et les méthodes d'analyses bio-informatiques ont considérablement fait avancer la compréhension du microbiote intestinal.

Mais beaucoup de questions fondamentales restent encore sans réponse. Une connaissance encore plus poussée du microbiote permettrait dans le futur de mieux appréhender les maladies intestinales. Des stratégies utilisant la flore intestinale telles que la transplantation fécale sont déjà étudiées dans le but de prévenir ou de traiter les pathologies intestinales. Bien qu'elles ne soient pas encore suffisamment développées, elles offrent des perspectives de recherches intéressantes pour le futur.

VIII) Perspectives

Les maladies inflammatoires intestinales représentent des affections courantes mais frustrantes en médecine vétérinaires. En effet, malgré les progrès réalisés au cours de la dernière décennie, ce domaine est rempli d'opportunités et de défis à exploiter.

La disponibilité récente des techniques de séquençage d'ADN à haut débit couplé avec de nouveaux développements bioinformatiques ont permis l'identification et la caractérisation des micro-organismes et de leurs gènes (microbiome) ce qui a eu une avancée considérable dans la recherche.

L'objectif fondamental de l'étude du microbiote canin est d'acquérir une meilleure compréhension de la taxonomie, des fonctions des bactéries, l'influence des facteurs environnementaux (par exemple l'alimentation, des médicaments et de l'environnement du logement), l'interaction avec l'hôte, et les différences entre les populations saines et malades. En effet, ces informations pourront être utilisées pour améliorer les régimes alimentaires, identifier les biomarqueurs des maladies et développer des thérapies ciblées contre celles-ci.

Malgré l'ensemble des informations dont nous disposons sur l'utilisation des antibiotiques, des probiotiques, des prébiotiques, des synbiotiques et de la transplantation fécale, les scientifiques ont parfois des difficultés pour restaurer un microbiote intestinal normal.

Une option dans les années à venir serait un traitement basé sur le profil unique du microbiote intestinal de chaque patient.

Une autre option future pourrait être de sélectionner des bactéries probiotiques différentes de celles déjà connues. Chez l'homme, certaines bactéries ont des avantages anti-inflammatoire comme *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium* et *Bacteroides* et pourraient servir pour la prochaine génération de probiotiques chez le chien.

En plus des répercussions sur la santé des animaux, les recherches concernant le microbiote de nos animaux de compagnie peuvent avoir un intérêt pour la santé humaine.

En effet, la nature du microbiote fécal (comme la prédominance des Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria et Actinobacteria) et sa capacité fonctionnelle (par exemple, les grands groupes fonctionnels liés aux glucides et aux protéines, le métabolisme de l'ADN et des vitamines, les facteurs de virulence, et la paroi cellulaire et capsule) dans l'intestin canine sont proches de celui de l'homme.

IX) Bibliographie

Blake, A., Suchodolski, J, S., 2016. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Animal Frontiers*. 6(3), 37-42

Chaitman, J., Jergens, A, E., Gashen, F., and al, 2016. Commentary on key aspects of fecal microbiota transplantation in small animal practice. *Veterinary Medicine : Research and Reports* : 7 71-74

Deng, P., Swanson, K.S., 2015. Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. *British Journal of Nutrition*, 113, S6–S17

Garcia-Mazcorro, J, F., Lanerie, D, J., Dowd, S, E., 2011. Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. *FEMS Microbiol Ecol* 78, 542–554

Guard, B.C., J.W. Barr, L. Reddivari., 2015. Characterization of microbial dysbiosis and metabolomic changes in dogs with acute diarrhea. *PLoS ONE* 10(5):e0127259
10.1371/journal.pone.0127259. doi:10.1371/journal.pone.0127259

Honneffer, J.B., Minamoto, Y., Suchodolski, J., 2014. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World J Gastroenterol* November 28 ; 20(44): 16489-16497

Jia, J., Frantz, N., Khoo, C., and al. 2010. Investigation of the faecal microbiota associated with canine chronic diarrhoea. *FEMS Microbiol Ecol* 71 ; 304–312. DOI:10.1111/j.1574-6941.2009.00812.x

Kalenyak, K., Isaiah, A., Heilmann, R, M., 2018. Comparison of the intestinal mucosal microbiota in dogs diagnosed with idiopathic inflammatory bowel disease and dogs with food-responsive diarrhea before and after treatment. *FEMS Microbiology Ecology*, 94 doi: 10.1093/femsec/fix173

Minamoto, Y., Otoni, C, C., Steelman, S, M., and al., 2015. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* 6(1), 33-47

Niina, A., Kibe, R., Suzuki, R., and al. 2019. Improvement in Clinical Symptoms and Fecal Microbiome After Fecal Microbiota Transplantation in a Dog with Inflammatory Bowel Disease. *Veterinary Medicine: Research and Reports* 2019:10 197–201

Pinna, C., Vecchiato, C, G., Zaghini, G., 2016. In vitro influence of dietary protein and fructooligosaccharides on metabolism of canine fecal microbiota. *BMC Veterinary Research* 12:53 DOI 10.1186/s12917-016-0672-1

Redfern, A., Suchodolski, J., Jergens, A., 2017. Role of the gastrointestinal microbiota in small animal health and disease. *Veterinary Record* 181(14), 370

Schmitz, S., Werlig, D., Allenspach, K., 2014. Effects of Ex-Vivo and In-Vivo treatment with probiotics on the inflammasome in dogs with chronic enteropathy. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0120779

Suchodolski, J., 2016. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *The Veterinary journal* 215 ; 30-37

Suchodolski and al., 2012. The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *Plos one*. Volume 7. Issue 12. E5 1907

Suchodolski, J, S., Camacho, J., Steiner, J.M., 2008. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol Ecol* 66 ; 567–578 ; DOI:10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x

Sugita, K., Yanuma, N., Ohno, H., 2019. Oral faecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea in a dog : a case report. *BMC Veterinary Research* 15:11

Tizard, I.R., Jones, S.W., 2017. The Microbiota Regulates Immunity and Immunologic Diseases in Dogs and Cats. *Vet Clin Small Anim* 48 ; 307–322

Willard, M. D., Simpson, B., Cohen, N, D., and al, 2000. Effects of dietary fructooligosaccharide on selected bacterial populations in feces of dogs. *Am J Vet Res* ;61: 820–825

White, R., Atherly, T., Guard, B., 2017. Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut microbes*, vol 8, NO 5, 451-466