

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE, AGROALIMENTAIRE  
ET DE L'ALIMENTATION NANTES ATLANTIQUE - ONIRIS

ANNEE 2015

**PLACE DE LA TRANSPLANTATION DE  
MICROBIOTE FECAL DANS LE TRAITEMENT  
DES DIARRHEES CHRONIQUES DU CHIEN**

THESE  
pour le  
diplôme d'Etat  
de  
DOCTEUR VETERINAIRE

présentée et soutenue publiquement  
le 09 octobre 2015  
devant  
la Faculté de Médecine de Nantes  
par

**Nicolas, André MOTHES**

Né le 03 juin 1990 à Niort (79)

JURY

Président : Monsieur Stanislas BRULEY DES VARANNES  
Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Membres : Monsieur Jack-Yves DESCHAMPS  
Professeur à Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Agro-alimentaire et de  
l'Alimentation, Nantes Atlantique

Madame, Odile SENECAAT  
Maître de conférences à Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Agro-alimentaire et de  
l'Alimentation, Nantes Atlantique

## ENSEIGNANTS-CHERCHEURS DE ONIRIS

### Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique

Directeur Général : Pierre SAI (Pr)

<b>DEPARTEMENT DE BIOLOGIE, PATHOLOGIE ET SCIENCES DE L'ALIMENT</b>		
NUTRITION et ENDOCRINOLOGIE	Patrick NGUYEN (Pr) Henri DUMON (Pr)	Brigitte SILIART (Pr) Lucile MARTIN (Pr)
PHARMACOLOGIE et TOXICOLOGIE	Yassine MALLEM (MCC) Martine KAMMERER (Pr)	Hervé POULIQUEN (Pr) Jean-Claude DESFONTIS (Pr)
PHYSIOLOGIE FONCTIONNELLE, CELLULAIRE et MOLECULAIRE	Lionel MARTIGNAT (MC) Jean-Marie BACH (Pr)	Grégoire MIGNOT (MC) Julie HERVE (MC)
HISTOLOGIE ET ANATOMIE PATHOLOGIQUE	Jérôme ABADIE (MC)	Frédérique NGUYEN (MC) Marie-Anne COLLE (MC)
PATHOLOGIE GENERALE, MICROBIOLOGIE et IMMUNOLOGIE	François MEURENS (Pr) Jean-Louis PELLERIN (Pr)	Hervé SEBBAG (MC) Emmanuelle MOREAU (MC)
BIOCHIMIE ALIMENTAIRE INDUSTRIELLE	Laurent LE THUAUT (MC) Thierry SEROT (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Carole PROST (Pr) Florence TEXIER (MC) Mathilde MOSSER (MCC) Clément CATANEO (MC)
MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE INDUSTRIELLE	Xavier DOUSSET (Pr) Bénédicte SORIN (Chef de travaux) Bernard ONNO (MC)	Hervé PREVOST (Pr) Emmanuel JAFFRES (MC) Nabila BERREHRAH-HADDAD (MC)
<b>DEPARTEMENT DE SANTE DES ANIMAUX D'ELEVAGE ET SANTE PUBLIQUE</b>		
HYGIENE ET QUALITE DES ALIMENTS	Michel FEDERIGHI (Pr) Bruno LE BIZEC (Pr) Catherine MAGRAS-RESCH (Pr)	Eric DROMIGNY (MC) Marie-France PILET (MC) Jean-Michel CAPPELLIER (Pr)
MEDECINE DES ANIMAUX D'ELEVAGE	Arlette LAVAL (Pr émérite) Catherine BELLOC (MC) Isabelle BREYTON (MC) Christophe CHARTIER (Pr)	Alain DOUART (MC) Sébastien ASSIE (MC) Raphaël GUATTEO (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MCC)
PARASITOLOGIE GENERALE, PARASITOLOGIE DES ANIMAUX DE RENTE, FAUNE SAUVAGE et PATHOLOGIE AQUACOLE	Monique L'HOSTIS (Pr) Alain CHAUVIN (Pr) Albert AGOULON (MC)	Guillaume BLANC (MC) Ségolène CALVEZ (MC) Suzanne BASTIAN-ORANGE (MC)
MALADIE REGLEMENTEE, REGLEMENTATION SANITAIRE ZOOZOSES	Jean-Pierre GANIERE (Pr émérite) Carole PEROZ (MC)	Nathalie RUVOEN-CLOUET (MC)
ZOOTECNIE	Aurélien MADOUASSE (MCC) Xavier MALHER (Pr) François BEAUDEAU (Pr)	Christine FOURICHON (MC) Nathalie BAREILLE (Pr)
<b>DEPARTEMENT DE SCIENCES CLINIQUES</b>		
ANATOMIE COMPAREE	Eric BETTI (MC)	Claire DOUART (MC) Claude GUINTARD (MC)
CHIRURGICALE, ANESTHÉSIOLOGIE	Olivier GAUTHIER (Pr) Béatrice LIJOUR (MC) Eric AGUADO (MC) Caroline TESSIER (MC)	Gwenola TOUZOT-JOURDES (MCC) Olivier GEFFROY (Pr) Eric GOYENVILLE (MC) Pr Pierre BARREAU (Pr A)
PARASITOLOGIE, AQUACULTURE, FAUNE SAUVAGE	Patrick BOURDEAU (Pr)	Vincent BRUET (MCC)
MEDECINE INTERNE, IMAGERIE MÉDICALE et LEGISLATION PROFESSIONNELLE	Yves LEGEAY (Pr) Dominique FANUEL (Pr) Anne COUROUCE-MALBLANC (MC) Catherine IBISCH (Dr) Nicolas CHOUIN (MC)	Marion FUSELLIER-TESSON (MC) Jack-Yves DESCHAMPS (MC) Odile SENECAT (MC) Françoise ROUX (MC)
BIOTECHNOLOGIES et PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION	Daniel TAINURIER (Pr) Francis FIENI (Pr) Jean-François BRUYAS (Pr)	Lamia BRIAND-AMIRAT (MC) Djemil BENCHARIF (MC)

### DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCÉDES ALIMENTAIRES

Lionel BOILLEREAUX (Pr)  
Dominique COLIN (MC)  
Sébastien CURET PLOQUIN (MC)  
Marie DE LAMBALLERIE (Pr)  
Dominique DELLA VALLE (MC)  
Francine FAYOLLE (Pr)  
Michel HAVET (Pr)  
Dr TOUBLANC Cyril (MC)

Vanessa JURY (MC)  
Alain LEBAIL (Pr)  
Catherine LOISEL (MC)  
Jean-Yves MONTEAU (MC)  
Denis PONCELET (Pr)  
Olivier ROUAUD (MC)  
Laurence POTTIER (MC)

### DEPARTEMENT DE MANAGEMENT, STATISTIQUE ET COMMUNICATION

MATHEMATIQUES, STATISTIQUES - INFORMATIQUE	Véronique CARIOU (MC) Philippe COURCOUX (MC) El Mostafa QANNARI (Pr)	Michel SEMENOU (MC) Chantal THORIN (PCEA) Evelyne VIGNEAU (Pr)
ECONOMIE – GESTION - LEGISLATION	Pascal BARILLOT (MC) Yvan DUFEU (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Sonia EL MAHJOUB (MC) Samia ROUSSELIERE (MC) Sybille DUCHAINE (MC)
COMMUNICATION - LANGUES	Franck INSIGNARES (PCEA) Linda MORRIS (PCEA) David GUYLER (PCEA)	Marc BRIDOU (PCEA) Shaun MEEHAN (PCEA) Fabiola ASENSIO (PCEA)

**Pr** : Professeur,

**Pr A** : Professeur Associé,

**Pr I** : Professeur Invité,

**MC** : Maître de Conférences,

**MCC** : Maître de Conférences Contractuel,

**AERC** : Assistant d'enseignement et de recherches,

**PLEA** : Professeur Lycée Enseignement Agricole,

**PCEA** : Professeur certifié enseignement agricole.



**La reproduction d'extraits est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée comme suit :**

MOTHES, N. (2015). Place de la transplantation de microbiote fécal dans le traitement des diarrhées chroniques du chien. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes. Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, 282 p.

*Le défaut de citation est considéré comme du plagiat. Ce dernier est puni par la loi française et passible de sanctions allant jusqu'à 3 ans d'emprisonnement et 300 000 € d'amende.*



# ***REMERCIEMENTS***

---

*A notre président de Thèse,*

**Monsieur le Professeur Stanislas BRULEY DES VARANNES**

Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Praticien Hospitalier

Chef du service d'Hépatogastro-entérologie et assistance nutritionnelle

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de Thèse,  
Hommages respectueux.*

*A notre jury de Thèse,*

**Monsieur le Professeur Jack-Yves DESCHAMPS**

Professeur à Oniris

Chef du service d'Urgences et soins intensifs

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la direction de notre Thèse,  
Sincères remerciements.*

**Madame Odile SENECAAT**

Maître de conférences à Oniris

Chef du service de Médecine interne

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de Thèse.  
Sincères remerciements.*

**A Monsieur le Professeur Scott WEESE**  
Professeur à l'Université de Guelph, Ontario, Canada  
Diplômé de l'American College of Veterinary Internal Medicine

*Pour l'aide inestimable que vous nous avez accordée,  
Pour vos conseils, votre gentillesse et votre disponibilité,  
Qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect,  
Sincères remerciements.*

**A Monsieur Thierry XIMENES**  
Docteur vétérinaire à la Clinique Vétérinaire des Acacias

*Pour avoir accepté de nous confier votre patient,  
Merci encore.*

**A Madame Grézel CAZEAUX**  
Propriétaire de Jayden

*Pour la confiance que vous nous avez accordée lors du traitement de votre chien,  
Merci encore.*

**A Monsieur Christophe COUEDOR**  
Propriétaire de Tyson

*Pour avoir accepté de nous prêter votre chien pour le don de selles,  
Merci encore.*

**A Monsieur Hervé SEBBAG**  
Maître de conférences à Oniris

*Pour son aide et le temps qu'il nous a accordé,  
Merci encore.*

**A Madame Marie-Astrid MALARD**  
Ingénieur d'Études à Oniris

**et Monsieur Jean-Marc POUILLY**  
Auxiliaire Spécialisé Vétérinaire à Oniris

*Pour le matériel qu'ils ont accepté de nous prêter,  
Pour leur aide et leur disponibilité,  
Merci encore.*

**A Madame Blandine PILET**  
Technicienne à Oniris

**et Madame Nicole JOUNEAU**  
Technicienne à Oniris

*Pour leur aide lors de la préparation du matériel,  
Merci encore.*

**Aux Etudiants présents lors de la transplantation**

*Pour leur aide lors de la manipulation du patient,  
Merci encore.*

A ma famille.

**A mes parents,**

*Merci de m'avoir toujours soutenu dans mes projets tout au long de ces années et d'avoir toujours été présent à mes côtés, aussi bien dans les bons moments que les mauvais. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté. C'est à vous que je dois l'aboutissement de ma vocation. Je vous aime.*

**A ma sœur, Célia,**

*Merci pour ton soutien et ton affection. Même si quand on se retrouve tous à la maison tu es noyée au milieu de nos conversations médicales, c'est toujours un plaisir d'être rassemblé tous ensemble. Merci d'avoir été là toutes ces années. Je suis fier d'être ton petit frère.*

**A mes cousines, Mélanie et Gaëlle,**

*Merci pour votre bonne humeur et l'intense animation à chaque fois que je rentre à la maison. Mélanie, toi qui a choisis une voie similaire pour soigner les êtres humains, bon courage pour tes études. Gaëlle, courage pour ton orientation, tu finiras par trouver ta voie.*

**A mes grands parents, pépy Gilbert et mémy Claudine, papi Robert et mamie Jeannine,**

*Merci pour tout ce que vous m'avez appris. Merci d'avoir toujours veillé sur moi depuis ma naissance. Vous qui n'êtes partis de rien, vous avez su construire une belle famille et par la force de votre courage et de votre amour, vous nous avez offert à tous un bel avenir. Je vous dois beaucoup. Je vous aime.*

**Au reste de ma famille, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines, à tous les degrés que ce soit,**

*Merci pour votre amour et votre soutien. Merci pour tous les moments passés avec chacun de vous, mais surtout merci à chacun de vous de faire parti de notre magnifique famille.*

**A mon chat, Luna,**

*Merci d'être toujours présente pour moi, ainsi que pour tout le réconfort que tu m'apportes. Même si la vie ne te fait pas de cadeau, je serais toujours là pour m'occuper de toi. Tu seras toujours mon petit chaton.*

A mes amis.

**A Andrew et Diana,**

*Merci de m'avoir accueilli dans votre superbe pays aux Etats-Unis. Merci à vous et Agatha et Archie pour m'avoir fait découvrir la transplantation de microbiote fécal, sujet qui n'a eu de cesse de me passionner cette dernière année.*

**A mes amis d'enfance, Othman, Henri,**

**A mes amis de prépa, Elliott, Luc, Léa,**

*Merci pour tous ces bons moments passés ensemble. Même si on se voit peu et que nous avons tous choisis des voies différentes, c'est toujours un plaisir de vous retrouver. Je suis très heureux d'avoir pu faire votre connaissance. Vous êtes des amis en or. Merci encore pour votre amitié et ces solides relations que nous avons construites, lesquelles dureront encore longtemps.*

**A mon groupe de clinique de 5A, Florent, David, Mélanie,**

*Cette année ensemble a été superbe. Merci pour tous ces bons moments et la magnifique ambiance qui nous a suivi tout au long de ces derniers mois.*

**A tous mes fidèles compagnons des ces cinq années d'école, Alexandre (mon Nounours), Florent, David, Richard, Sébastien, Judith (notre Mamie à tous), Claire, Sandra, Denis (notre Michmich national), Morgane (dit Motmotte), Cyrielle,**

*Merci de m'avoir accompagné ces dernières années. Merci pour tous ces bons souvenirs que nous avons ensemble. Je sais que je peux compter sur vous, et vous pourrez toujours compter sur moi. A bientôt et courage pour la suite.*

**A mes parrains, adoptifs ou non, MA5, Lost, Charlou, Acra,**

*Parce que vous êtes les meilleurs parrains. Merci d'avoir pris soins de moi lorsque je n'étais encore qu'un petit poulot. A bientôt au Sur-Mesure.*

**A mes poulots, PCR, Duracell, Ying-ying, Clara, Diane, Leslie, Delphine,**

*Merci pour tous les bons moments passés ensemble. Vous allez me manquer tous au long de cette année d'internat. Bon courage pour la fin de votre cursus. On se revoit vite.*

**A ma fidèle équipe de grimpeur,**

*Merci pour ces moments intenses et les voyages passés ensemble. Ça a été un plaisir de partager cette passion du sport avec vous. J'espère que vous continuerez tous l'escalade pour atteindre les plus hauts sommets.*

**A tous ceux que je n'ai pas cités.**



# TABLE DES MATIERES

---

Corps enseignant de Oniris.....	2
Remerciements.....	7
Table des matières .....	13
Liste des tableaux.....	19
Liste des figures .....	21
Liste des photographies .....	23
Liste des abréviations.....	25
Lexique.....	29
INTRODUCTION .....	31
PREMIERE PARTIE : RAPPELS .....	33
I. 1. LE TUBE DIGESTIF DU CHIEN .....	35
I. 1. 1. Anatomie digestive .....	35
I. 1. 1. 1. <i>Intestin grêle</i> .....	35
I. 1. 1. 2. <i>Le gros intestin</i> .....	39
I. 1. 1. 3. <i>Innervation digestive</i> .....	41
I. 1. 1. 4. <i>Vascularisation sanguine et lymphatique digestive</i> .....	43
I. 1. 2. Histologie digestive .....	43
I. 1. 2. 1. <i>Structure générale</i> .....	43
I. 1. 2. 2. <i>L'intestin grêle</i> .....	44
I. 1. 2. 3. <i>Gros intestin</i> .....	45
I. 1. 3. Physiologie digestive .....	45
I. 1. 3. 1. <i>Motilité intestinale</i> .....	46
I. 1. 3. 2. <i>Sécrétions digestives et la digestion intestinale</i> .....	46
I. 1. 3. 3. <i>Sécrétion de mucus</i> .....	48
I. 1. 4. Système immunitaire intestinal .....	49
I. 1. 4. 1. <i>Nœuds lymphatiques</i> .....	49
I. 1. 4. 2. <i>GALT</i> .....	50
I. 1. 4. 3. <i>Système des phagocytes mononucléés</i> .....	51
I. 2. LES DIARRHÉES CHRONIQUES DU CHIEN .....	53
I. 2. 1. Généralités .....	53
I. 2. 1. 1. <i>Caractérisation de la diarrhée</i> .....	53
I. 2. 1. 2. <i>Etiologie</i> .....	54
I. 2. 1. 3. <i>Démarche diagnostique</i> .....	55
I. 2. 2. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.....	58
I. 2. 2. 1. <i>Définition</i> .....	58
I. 2. 2. 2. <i>Classification des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin</i> .....	58
I. 2. 2. 3. <i>Etiopathogénie</i> .....	60
I. 2. 2. 4. <i>Epidémiologie</i> .....	60
I. 2. 2. 5. <i>Expression clinique</i> .....	61
I. 2. 2. 6. <i>Diagnostic</i> .....	64
I. 2. 2. 7. <i>Traitement</i> .....	69

I. 2. 3.	Syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle et diarrhées répondant aux antibiotiques.....	76
I. 2. 3. 1.	<i>Définition et étiologie</i> .....	76
I. 2. 3. 2.	<i>Epidémiologie</i> .....	77
I. 2. 3. 3.	<i>Expression clinique</i> .....	78
I. 2. 3. 4.	<i>Diagnostic</i> .....	78
I. 2. 3. 5.	<i>Traitement</i> .....	81
I. 2. 4.	Syndrome de l'intestin irritable.....	83
I. 2. 4. 1.	<i>Définition</i> .....	83
I. 2. 4. 2.	<i>Etiologie</i> .....	83
I. 2. 4. 3.	<i>Expression clinique</i> .....	84
I. 2. 4. 4.	<i>Diagnostic</i> .....	84
I. 2. 4. 5.	<i>Traitement</i> .....	84
I. 2. 4. 6.	<i>Pronostic</i> .....	85

## **DEUXIEME PARTIE : LE MICROBIOTE INTESTINAL .....87**

II. 1.	COMPOSITION ET REPARTITION DU MICROBIOTE INTESTINAL .....	89
II. 1. 1.	Composition .....	89
II. 1. 1. 1.	<i>Chez l'homme</i> .....	91
II. 1. 1. 2.	<i>Chez le chien</i> .....	93
II. 1. 2.	Répartition et régulation .....	96
II. 1. 2. 1.	<i>Régulations intrinsèques</i> .....	96
II. 1. 2. 2.	<i>Régulations extrinsèques</i> .....	98
II. 2.	ANALYSE DU MICROBIOTE.....	101
II. 2. 1.	Etudes microbiologiques.....	102
II. 2. 2.	Etudes métagénomiques.....	102
II. 2. 2. 1.	<i>Extraction d'ADN et PCR</i> .....	102
II. 2. 2. 2.	<i>Séquençage</i> .....	103
II. 2. 3.	Etudes métabolomiques .....	104
II. 2. 4.	Etude statistique .....	105
II. 2. 4. 1.	<i>Diversité spécifique et « Operational Taxonomic Unit »</i> .....	105
II. 2. 4. 2.	<i>Indices de diversité</i> .....	106
II. 2. 5.	Projets internationaux d'analyse du microbiote .....	108
II. 3.	LES GRANDES FONCTIONS DU MICROBIOTE INTESTINAL .....	109
II. 3. 1.	Anatomie et métabolisme de la muqueuse digestive .....	110
II. 3. 2.	Stimulation de l'immunité intestinale .....	113
II. 3. 3.	Rôle antimicrobien .....	113
II. 3. 4.	Dégradation, fermentation et synthèses bactériennes .....	115
II. 3. 4. 1.	<i>Digestion des glucides complexes</i> .....	115
II. 3. 4. 2.	<i>Digestion des protéines</i> .....	115
II. 3. 4. 3.	<i>Digestion des lipides</i> .....	116
II. 3. 4. 4.	<i>Dégradation des substrats endogènes</i> .....	116
II. 3. 4. 5.	<i>Métabolismes hydrogénotrophes</i> .....	116
II. 3. 4. 6.	<i>Synthèse des vitamines</i> .....	117
II. 3. 4. 7.	<i>Métabolisation des xénobiotiques naturels</i> .....	118
II. 3. 4. 8.	<i>Neutralisation des toxines</i> .....	118

II. 3. 5.	Production d'acides gras à chaîne courte .....	119
II. 3. 5. 1.	<i>Biosynthèse des acides gras à chaîne courte</i> .....	119
II. 3. 5. 2.	<i>Transport et métabolisation des acides gras à chaîne courte</i> .....	122
II. 3. 5. 3.	<i>Autres propriétés des acides gras à chaîne courte</i> .....	123
II. 4.	VARIABILITES .....	127
II. 4. 1.	Expérimentales .....	128
II. 4. 2.	Physiologiques .....	128
II. 4. 2. 1.	<i>Métabolisme et immunité</i> .....	128
II. 4. 2. 2.	<i>Génétique</i> .....	128
II. 4. 2. 3.	<i>Race</i> .....	128
II. 4. 2. 4.	<i>Age</i> .....	129
II. 4. 2. 5.	<i>Alimentation</i> .....	130
II. 4. 3.	Pathologiques .....	132
II. 4. 3. 1.	<i>Changement brutal de régime alimentaire</i> .....	132
II. 4. 3. 2.	<i>Stress</i> .....	133
II. 4. 3. 3.	<i>Médicaments</i> .....	134
II. 4. 3. 4.	<i>Hygiène et infections</i> .....	135
II. 5.	DYSBIOSE INTESTINALE .....	137
II. 5. 1.	Notion de seuil de la stabilité du microbiote intestinal .....	137
II. 5. 2.	Conséquences d'une dysbiose intestinale .....	137
<b>TROISIEME PARTIE : LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL .....</b>		<b>139</b>
III. 1.	PRINCIPE ET HISTORIQUE DE LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL .....	141
III. 1. 1.	Principe .....	141
III. 1. 2.	Historique .....	141
III. 2.	REGLEMENTATION ET RECOMMANDATIONS .....	145
III. 2. 1.	Statut du microbiote fécal .....	145
III. 2. 1. 1.	<i>Statut national</i> .....	145
III. 2. 1. 2.	<i>Statut international</i> .....	146
III. 2. 2.	Réglementation de la fabrication du transplant .....	146
III. 2. 3.	Création de bases d'informations relatives aux essais cliniques sur la transplantation de microbiote fécal .....	147
III. 2. 4.	Recommandations d'utilisation du microbiote fécal .....	147
III. 2. 4. 1.	<i>Quand utiliser la transplantation de microbiote fécal</i> .....	147
III. 2. 4. 2.	<i>Informé le patient</i> .....	147
III. 2. 4. 3.	<i>Tenir une traçabilité</i> .....	148
III. 2. 4. 4.	<i>Recommandations sur la sélection des donneurs</i> .....	148
III. 3.	INDICATIONS ET CONTRE-INDICATIONS .....	149
III. 3. 1.	Infection récurrente à <i>Clostridium difficile</i> .....	149
III. 3. 2.	Autres maladies digestives .....	155
III. 3. 2. 1.	<i>Maladie inflammatoire chronique de l'intestin</i> .....	155
III. 3. 2. 2.	<i>Syndrome de l'intestin irritable</i> .....	159
III. 3. 2. 3.	<i>Carcinome colorectal</i> .....	162

III. 3. 3.	Maladies extra digestives .....	162
III. 3. 3. 1.	<i>Syndrome métabolique</i> .....	163
III. 3. 3. 2.	<i>Maladies auto-immunes et allergiques</i> .....	164
III. 3. 3. 3.	<i>Maladies neurologiques</i> .....	165
III. 3. 4.	Contre-indications .....	168
III. 4.	PROTOCOLE.....	169
III. 4. 1.	Sélection des donneurs.....	169
III. 4. 1. 1.	<i>Présélection</i> .....	169
III. 4. 1. 2.	<i>Tests de dépistage</i> .....	172
III. 4. 1. 3.	<i>Sélection</i> .....	173
III. 4. 2.	Don .....	174
III. 4. 2. 1.	<i>Préparation du donneur</i> .....	174
III. 4. 2. 2.	<i>Récupération des selles</i> .....	174
III. 4. 3.	Préparation du transplant .....	174
III. 4. 3. 1.	<i>Précautions</i> .....	174
III. 4. 3. 2.	<i>Fabrication du transplant</i> .....	176
III. 4. 3. 3.	<i>Cas des selles congelées</i> .....	177
III. 4. 4.	Administration au patient-receveur .....	178
III. 4. 4. 1.	<i>Préparation du receveur</i> .....	178
III. 4. 4. 2.	<i>Voie d'administration</i> .....	178
III. 4. 5.	Suivi.....	181
III. 4. 5. 1.	<i>A court terme</i> .....	181
III. 4. 5. 2.	<i>A long terme</i> .....	184
III. 4. 6.	Récapitulatif du protocole.....	185
III. 5.	RÉSULTATS.....	187
III. 5. 1.	Efficacité et temps d'action de la transplantation de microbiote fécal .....	187
III. 5. 2.	Comparaison des différents traitements et protocoles .....	187
III. 5. 2. 1.	<i>Par rapport aux traitements de référence</i> .....	187
III. 5. 2. 2.	<i>En fonction de la technique utilisée</i> .....	189
III. 5. 3.	Effets sur la flore .....	190
III. 5. 4.	Résultats dans le traitement d'autres maladies que l'infection récurrente à <i>Clostridium difficile</i> .....	192
III. 5. 4. 1.	<i>Maladies digestives</i> .....	192
III. 5. 4. 2.	<i>Maladies extra digestives</i> .....	193
III. 6.	RISQUES.....	197
III. 6. 1.	Risques immédiats.....	197
III. 6. 2.	Risques à long terme.....	197
III. 7.	PERCEPTION DE LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL PAR LES PATIENTS .....	199
III. 7. 1.	Analyse descriptive.....	199
III. 7. 1. 1.	<i>Segmentation</i> .....	199
III. 7. 1. 2.	<i>Préférence entre un traitement antibiotique seul ou son association à une transplantation de microbiote fécal</i> .....	200
III. 7. 1. 3.	<i>Évaluation du désagrément occasionné par les différents aspects de la transplantation de microbiote fécal</i> .....	202
III. 7. 1. 4.	<i>Evaluation du prix de la transplantation de microbiote fécal</i> .....	204
III. 7. 2.	Conclusions.....	204

III. 8.	APPLICATIONS FUTURES ET RECHERCHES .....	207
---------	--	-----

**QUATRIEME PARTIE :       TRANSPOSITION DE LA TRANSPLANTATION  
DE MICROBIOTE FECAL A L'ESPECE CANINE.....209**

IV. 1.	LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL CHEZ LE CHIEN .....	211
IV. 1. 1.	Recommandations .....	211
IV. 1. 2.	Indications .....	211
IV. 1. 3.	Protocole .....	212
IV. 1. 3. 1.	<i>Donneur et don</i> .....	212
IV. 1. 3. 2.	<i>Préparation du transplant</i> .....	213
IV. 1. 3. 3.	<i>Patient-receveur et transplantation</i> .....	213
IV. 1. 3. 4.	<i>Suivi</i> .....	218
IV. 1. 4.	Risques.....	220
IV. 2.	CAS CLINIQUE .....	221
IV. 2. 1.	Présentation du cas .....	221
IV. 2. 1. 1.	<i>Commémoratifs</i> .....	221
IV. 2. 1. 2.	<i>Anamnèse</i> .....	221
IV. 2. 1. 3.	<i>Examen clinique de dépôt</i> .....	223
IV. 2. 2.	Matériel et méthode .....	225
IV. 2. 2. 1.	<i>Présentation du matériel utilisé</i> .....	225
IV. 2. 2. 2.	<i>Sélection du donneur</i> .....	231
IV. 2. 2. 3.	<i>Don de selles</i> .....	231
IV. 2. 2. 4.	<i>Préparation du transplant</i> .....	232
IV. 2. 2. 5.	<i>Préparation de Jayden</i> .....	234
IV. 2. 2. 6.	<i>Transplantation</i> .....	236
IV. 2. 2. 7.	<i>Suivi</i> .....	239
IV. 2. 3.	Résultats.....	239
IV. 2. 3. 1.	<i>Résultats à court terme</i> .....	239
IV. 2. 3. 2.	<i>Résultats à moyen terme</i> .....	241
IV. 2. 4.	Discussion .....	244

**CONCLUSION.....249**

**ANNEXES.....251**

ANNEXE 1 :	Questionnaire préalable au don de sang .....	251
ANNEXE 2 :	Echelle fécale Nestlé PURINA .....	255
ANNEXE 3 :	Documents délivrés au client pour le suivi des selles .....	257

**BIBLIOGRAPHIE.....261**



# LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau I</b> : Principales enzymes digestives. Modifié d'après S.C. Rastogi (2008).....	48
<b>Tableau II</b> : Différences cliniques entre une diarrhée chronique de l'intestin grêle ou du gros intestin. Modifié d'après S. Yin (2007) et P. Lecoindre (2010) .....	54
<b>Tableau III</b> : Classement des différentes maladies inflammatoires chroniques de l'intestin du chien. Modifié d'après C. Levent (2002) et M. Cerquetella (2010).....	59
<b>Tableau IV</b> : Diagnostic différentiel des MICI du chien. D'après W.G. Guilford (1996), A.E. Jergens (1999) , T.R. Tams (2003) et Vetagro Sup (2015) .....	65-66
<b>Tableau V</b> : Efficacité diagnostique du dosage sérique des folates et de la vitamine B12 dans le cas du syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal. D'après H.C. Rutgers (1995).....	80
<b>Tableau VI</b> : Composition bactérienne du microbiote fécal canin. D'après J. Suchodolski et al. (2008a), I. Middelbos et al. (2010), K. Swanson et al. (2011), et P. Deng et al. (2015).....	95
<b>Tableau VII</b> : Taille des brins séquencés et prix des méthodes de séquençage. D'après L. Liu et al. (2012) .....	104
<b>Tableau VIII</b> : Récapitulatif des actions de la microflore sur l'activité intestinale illustré par le concept MAC/GAC. Modifié d'après G. Fonty et al. (2007), R. Ducluzeau et al. (1979), T. Midtvedt (1989), R.I. Mackie et al. (1999) et T.S. Stappenbeck et al. (2002) .....	112
<b>Tableau IX</b> : Effet de la composition du régime alimentaire sur la composition bactérienne intestinale de l'homme. Modifié d'après K. Brown (2012) .....	132
<b>Tableau X</b> : Principaux traitements antibiotiques des infections à <i>Clostridium difficile</i> selon les recommandations européennes de 2014. D'après C. Eckert et al. (2015).....	153
<b>Tableau XI</b> : Facteurs de risque environnementaux dans le développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. D'après M. Fumery et al. (2014).....	157
<b>Tableau XII</b> : Critères de non inclusion absolue et relative à considérer lors du questionnaire de présélection. Modifié d'après les recommandations de l'ANSM (2014), de G. Cammarota et al. (2014), de L. Brandt et al. (2013), et de T.J. Borody et al. (2011).....	171
<b>Tableau XIII</b> : Liste des agents infectieux à dépister chez les donneurs. Modifié d'après les recommandations de l'ANSM (2014) et de L. Brandt et al. (2013) .....	172
<b>Tableau XIV</b> : Taux de résolutions cliniques et de récurrences des infections récurrentes à <i>Clostridium difficile</i> en fonction du traitement. Modifié d'après l'étude de E. Van Nood et al. (2013) .....	188
<b>Tableau XV</b> : Récapitulatif des taux de résolution clinique et de récurrence en fonction du protocole de transplantation de microbiote fécal utilisé. D'après E. Gough et al. (2013) et M. Hamilton et al. (2012) .....	190

<b>Tableau XVI</b> : Informations démographiques sur les 191 répondants. Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012) .....	200
<b>Tableau XVII</b> : Préférences des 191 répondants pour les antibiotiques seuls ou leur association avec la « reconstitution de flore ». Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012).....	201
<b>Tableau XVIII</b> : Raisons évoquées par les 37 répondants qui ont décliné la « reconstitution de flore ». Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012).....	202
<b>Tableau XIX</b> : Désagréments occasionnés par les différents aspects de la « reconstitution de flore » selon le sexe et l'âge des 191 répondants. Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012).....	203
<b>Tableau XX</b> : Biochimie sanguine de Jayden le 09/10/2014.....	222

# ***LISTE DES FIGURES***

---

<b>Figure 1</b> : Anatomie de l'appareil digestif du chien. D'après R. Barone (2009) .....	36
<b>Figure 2</b> : Anatomie de la valvule iléo-cæcale. D'après R. Barone (2009) .....	37
<b>Figure 3</b> : Anatomie du duodénum et du côlon du chien. D'après R. Barone (2009) .....	38
<b>Figure 4</b> : Anatomie de l'intestin du chien. D'après R. Barone (2009) .....	40
<b>Figure 5</b> : Innervation du tube digestif. D'après C. Porcher (2007) .....	41
<b>Figure 6</b> : Structure histologique de l'intestin grêle. D'après R. Barone (2009) .....	42
<b>Figure 7</b> : Structure interne d'un nœud lymphatique. Modifié d'après H.E. König et al. (2004) .....	50
<b>Figure 8</b> : Arbre de décision pour le diagnostic des diarrhées chroniques du chien. Modifié d'après A. Jergens et al. (2005) et E. Hall et al. (2009) .....	57
<b>Figure 9</b> : Coupe histologique d'une biopsie colique d'un Boxer atteint de colite histiocytaire ulcéreuse. D'après E. Krafft (2010) .....	69
<b>Figure 10</b> : Arbre phylogénétique simplifié des principaux phylums bactériens du microbiote intestinal de l'homme et du chien. D'après A. Hakansson et al. (2011), K. Swanson et al. (2011) et le Taxonomy Browser de NCBI (2014) .....	90
<b>Figure 11</b> : Composition bactérienne des microbiotes digestifs de l'homme. Modifié d'après M. Dave et al. (2012) et L. Beaugerie et al. (2014) .....	91
<b>Figure 12</b> : Rapide induction microbienne de l'angiogenèse au niveau des villosités intestinales d'anciennes souris axéniques. D'après T.S. Stappenbeck et al. (2002) .....	111
<b>Figure 13</b> : Illustration de l'effet de barrière du microbiote intestinal autochtone. Modifié d'après G. Fonty et al. (2007) et R. Ducluzeau et al. (1970) .....	114
<b>Figure 14</b> : Méthanogenèse à partir du dioxyde de carbone. D'après Brudersohn (2010) .....	117
<b>Figure 15</b> : Voies de biosynthèse des acides gras à chaîne courte (AGCC) résultant de la fermentation glucidique, et espèces bactériennes impliquées. Modifié d'après P. Louis et al. (2014) .....	120
<b>Figure 16</b> : Effets anti-inflammatoire et anti-cancérogène des acides gras à chaîne courte (AGCC) et des autres métabolites des bactéries coliques. Modifié d'après P. Louis et al. (2014) .....	124
<b>Figure 17</b> : Aperçu des variations du microbiote humain au cours de la vie et des perturbations environnementales. Modifié d'après N. Ottman et al. (2012) .....	127
<b>Figure 18</b> : Influence de l'hôte et de l'environnement sur le microbiote intestinal. Modifié d'après K. Brown et al. ....	136
<b>Figure 19</b> : Evolution du nombre de publications scientifiques relatives à la transplantation de microbiote fécal au cours des dernières années .....	143

<b>Figure 20</b> : Physiopathologie des infections à <i>Clostridium difficile</i> . Modifié d'après C. Eckert et al. (2015) .....	151
<b>Figure 21</b> : Récurrence des infections à <i>Clostridium difficile</i> (ICD). Modifié d'après T.J. Borody et al. (2011b) .....	152
<b>Figure 22</b> : Résolution des infections récurrentes à <i>Clostridium difficile</i> par restauration du microbiote fécal. Modifié d'après T.J. Borody et al. (2011b) .....	155
<b>Figure 23</b> : Prise en charge de la Maladie de Crohn. Modifié d'après VIDAL (2015a) .....	160
<b>Figure 24</b> : Prise en charge de la Rectocolite Hémorragique. Modifié d'après VIDAL (2015b) .....	160
<b>Figure 25</b> : L'axe microbiote-intestin-cerveau et les communications chez les individus sains ou malades. Modifié d'après S. Grenham et al. (2011) .....	166
<b>Figure 26</b> : Matériel pour effectuer un lavement intestinal .....	180
<b>Figure 27</b> : Echelle de Bristol. D'après S.J. Lewis et K.W. Heaton (1997) .....	182
<b>Figure 28</b> : Récapitulatif de la transplantation de microbiote fécal .....	185
<b>Figure 29</b> : Composition du microbiote fécal d'un donneur et d'un receveur avant et après la transplantation de microbiote fécal. Modifié d'après M.J. Hamilton et al. (2013).....	191
<b>Figure 30</b> : Administration rectale vigile d'ozone à un chien Boston terrier. D'après Dr. Margo Roman.....	216
<b>Figure 31</b> : Administration d'un échantillon de selles par voie orale à un chiot Malinois. D'après Dr. Margo Roman.....	217
<b>Figure 32</b> : Echelle de notation fécale de Waltham. Modifié d'après G. Moxham (Waltham) (2011).....	219
<b>Figure 33</b> : Evolution du score de la qualité des selles en fonction du temps, suite à la transplantation de microbiote fécal .....	242

# ***LISTE DES PHOTOGRAPHIES***

---

<b>Photographie 1</b> : Bêcher en verre.....	224
<b>Photographie 2</b> : Pilon en céramique.....	224
<b>Photographie 3</b> : Matériel de filtration du transplant .....	224
<b>Photographie 4</b> : Association du tamis et de la compresse de gaze pour la filtration .....	226
<b>Photographie 5</b> : Matériel pour réalisation de lavement.....	226
<b>Photographie 6</b> : Matériel nécessaire à la pose de cathéter.....	228
<b>Photographie 7</b> : Matériel pour la réalisation de la transplantation.....	229
<b>Photographie 8</b> : Assemblage de la seringue et de la sonde grâce à l’adaptateur .....	229
<b>Photographie 9</b> : Désinfectants chimiques utilisés .....	230
<b>Photographie 10</b> : Matériel placé sous emballage thermosoudé .....	230
<b>Photographie 11</b> : Don d’environ 130 mL de selles recueillies dans un bêcher de 500 mL .....	232
<b>Photographie 12</b> : Transplant fécal avant et après filtration .....	233
<b>Photographie 13</b> : Filtration du transplant fécal à travers la compresse de gaze et le tamis, aidée du pilon .....	233
<b>Photographie 14</b> : Conditionnement du transplant dans des seringues de 50 mL.....	234
<b>Photographie 15</b> : Réalisation du lavement intestinal à l’eau tiède.....	235
<b>Photographie 16</b> : Anesthésiques et sérum physiologique utilisés pour la sédation .....	236
<b>Photographie 17</b> : Injection lente du transplant via la sonde urinaire insérée dans le rectum de Jayden.....	237
<b>Photographie 18</b> : Jayden installé au calme dans une cage.....	238
<b>Photographie 19</b> : Changement de position de Jayden .....	238
<b>Photographie 20</b> : Dégradation de la qualité des selles entre l’arrêt du traitement antibiotique et le jour de la transplantation de microbiote fécal.....	240
<b>Photographie 21</b> : Amélioration de la qualité des selles après la transplantation de microbiote fécal.....	240
<b>Photographie 22</b> : Maintien de la qualité des selles au long terme après la transplantation de microbiote fécal .....	243



# ***LISTE DES ABREVIATIONS***

---

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADP** : Adénosine diphosphate

**AGCC** : Acide gras à chaîne courte

**AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien

**ALAT** : Alanines amino-transférase

**AMM** : Autorisation de mise sur le marché

**ANSM** : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

**ARD** : *Antibiotic responsive diarrhoea*, terme anglais pour diarrhée répondant aux antibiotiques

**ARN** : Acide ribonucléique

**ATP** : Adénosine triphosphate

**AVC** : Accidents vasculaires cérébraux

**BARF** : *Bone And Raw Food*

**BMBL** : *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*

**CDD** : *Centre for Digestive Diseases*

**CHPPiL<sub>3</sub>R** : Valences vaccinales canines

**C** : Valence contre la maladie de Carré

**H** : Valence contre l'hépatite de Rubarth

**P** : Valence contre la parvovirose

**Pi** : Valence contre le virus parainfluenza

**L<sub>3</sub>** : Valence contre la leptospirose (3 souches de leptospires)

**R** : Valence contre la rage

**CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité

**CSP** : Code de la santé publique

**ddATP** : Didésoxyadénosine triphosphate ;      **ddCTP** : Didésoxy cytidine triphosphate ;

**ddGTP** : Didésoxy guanosine triphosphate ;      **ddTTP** : Didésoxy thymidine triphosphate

**DGGE** : *Denaturing gradient gel electrophoresis*, terme anglais pour l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant

**ECAI** : *Escherichia coli* adhérent-invasifs

**EFS** : Etablissement Français du Sang

**ESCMID** : *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*

**FISH** : *Fluorescence in situ hybridization*, terme anglais pour l'hybridation fluorescente in situ

**FMT** : *Fecal microbiota transplantation*, terme anglais pour transplantation de microbiote fécal

**FOS** : Fructo-oligosaccharides

**GALT** : *Gut associated lymphoid tissue*, correspond au système immunitaire gastro-intestinal

**HDAC** : Histone désacétylase

**HLA** : *Human leucocyte antigen*

**HPM** : « *Human Microbiome Project* »

**HSHA** : Hypersensibilité et hyperactivité

**IBD** : *Inflammatory bowel diseases*, terme anglais pour maladie inflammatoire chronique de l'intestin

**IBS** : *Irritable bowel syndrome*, terme anglais pour syndrome de l'intestin irritable

**ICD** : Infection à *Clostridium difficile*

**IL-6** : Interleukine-6, c'est une cytokine pro-inflammatoire

**IMC** : Indice de masse corporelle

**IPE** : Insuffisance pancréatique exocrine

**IRCD** : Infection récurrente à *Clostridium difficile*

**ITCF** : isothiocyanate de fluorescéine

**LDL** : *Low density lipoprotein*, terme anglais pour lipoprotéines de basse densité

**MAC/GAC** : *Microflora associated characteristics / Germ-free associated characteristics*

**MAMP** : motifs moléculaires associés aux micro-organismes

**MCP-1** : *Monocyte Chemoattractant Protein-1*, c'est une cytokine chimiotactique et pro-inflammatoire

**MetaHIT** : *Metagenomics of the Human Intestinal Tract*

**MICI** : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

**MOS** : Mannan-oligosaccharides

**NSB** : Niveau de sécurité biologique

**PAGE** : *Polyacrylamide gel electrophoresis*, terme anglais pour électrophorèse sur gel de polyacrylamide

**PAL** : Phosphatases alcalines

**PCR** : *Polymerase chain reaction*, , terme anglais pour amplification en chaîne par polymérase

**PTRC** : *Probiotic Therapy Research Centre*

**PUI** : Pharmacie à usage intérieur

**qPCR** : *Quantitative polymerase chain reaction*, terme anglais pour amplification en chaîne par polymérase

**RF** : Reconstitution de flore

**RFLP** : *Restriction fragment length polymorphism*, terme anglais pour l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction

**SIBO** : *Small intestinal bacterial overgrowth*, terme anglais pour syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal

**SNE** : Système nerveux extrinsèque

**SNI** : Système nerveux intrinsèque

**TLI** : *Trypsin-like immunoreactivity*

**TMAO** : *Trimethylamine N-oxide*, terme anglais pour oxyde de triméthylamine

**TMF** : Transplantation de microbiote fécal

**TNF** : *Tumor necrosis factor*, c'est une cytokine pro-inflammatoire

**TRD** : *Tylosin-responsive diarrhea*, terme anglais pour diarrhée répondant à la tylosine

**TSA** : Trouble du spectre autistique

**VIP** : *Vasoactive intestinal peptide*



# LEXIQUE

---

**Abiotique** : « C'est l'action du non-vivant sur le vivant. En écologie, les facteurs abiotiques représentent l'ensemble des facteurs physico-chimiques d'un écosystème influençant sur une biocénose donnée. »

**Aborale** : « Qualifie ce qui est situé du côté opposé à la bouche. »

**Amplicon** : Fragment d'ADN amplifié par PCR.

**Apoptose** : « Processus physiologique programmé qui conduit une cellule à sa mort naturelle. »

**Biocénose** : « Ensemble des êtres vivants qui occupent un milieu donné (le biotope), en interaction les uns avec les autres et avec ce milieu. (La biocénose forme, avec son biotope, un écosystème). »

**Borborygme** : « Bruit produit par les aliments liquides et par les gaz qu'ils dégagent dans l'estomac ou l'intestin au cours de la digestion. »

**Climax** : « État durable d'équilibre. »

**Dyschésie** : « Difficultés à la défécation, accompagnées de sensations pénibles. »

**Epreintes** : « Contractions douloureuses, répétées, paroxystiques du côlon terminal, accompagnées d'une fausse envie impérieuse d'aller à la selle. »

**Hématochézie** : « Émission de sang rouge non digéré par l'anus. »

**Lymphangiectasie** : « Dilatation localisée, acquise ou congénitale, des vaisseaux lymphatiques. »

**Somatisation** : « Avoir une réponse physique, organique à un stress psychologique. »

**Stéatorrhée** : « Présence d'une quantité anormale de graisses dans les selles. »

**Ubiquiste** (gène) : un gène est dite ubiquiste lorsqu'il se retrouve dans toutes les cellules vivantes.

*D'après le Dictionnaire Larousse en ligne : <http://www.larousse.fr/>*



# ***INTRODUCTION***

---

On observe actuellement une forte incidence des diarrhées chroniques chez le chien. Dans de nombreux cas, une cause simple peut être diagnostiquée et la maladie traitée. Cependant, il existe certains syndromes mal connus que nos connaissances médicales actuelles ne nous permettent pas de comprendre pleinement, et donc de traiter efficacement. Les animaux atteints de ces diarrhées chroniques sont généralement dans une situation complexe d'échec thérapeutique avec souvent un retentissement psychologique important sur leur propriétaire.

Le récent intérêt porté au microbiote intestinal nous permet d'entrevoir de nouvelles solutions dans le traitement de ces maladies. En effet, les micro-organismes, en tant que plus petite forme de vie connue, sont répartis dans chaque recoin de notre monde et notamment dans les corps humain et animal. Le tube digestif a la particularité d'être le principal réservoir microbien chez toutes les espèces. De plus, la communauté de micro-organismes qui l'habite joue un rôle crucial dans la santé. Ainsi, une altération de cette écologie, ou dysbiose, a été impliquée dans de nombreuses maladies chroniques, un exemple typique étant l'infection à *Clostridium difficile* chez l'homme.

La transplantation de microbiote fécal est un traitement très ancien que l'on commence tout juste à redécouvrir en médecine humaine. Celui-ci a justement l'intérêt de traiter les dysbioses intestinales en remplaçant la flore du malade par la flore d'un donneur sain. Depuis la deuxième moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, l'implication de certains gastro-entérologues pour développer cette méthode a permis, chez l'homme, une meilleure compréhension du microbiote intestinal et de nombreux progrès dans le traitement de maladies chroniques, notamment digestives.

Cette thèse va présenter, dans un premier temps, la synthèse des découvertes sur l'implication du microbiote intestinal dans le maintien de la santé de son hôte. Puis nous étudierons les avancées médicales humaines que la transplantation de microbiote fécal a permises. Ensuite, à partir de ces informations, nous tenterons d'adapter ce traitement original aux diarrhées chroniques du chien. Par ailleurs, dans un contexte national de résistances de plus en plus aigu des bactéries aux antibiotiques, ce travail propose une alternative intéressante à l'antibiothérapie au long cours généralement prescrite.



***PREMIERE PARTIE :***  
***RAPPELS***



## I. 1. LE TUBE DIGESTIF DU CHIEN

---

L'**appareil digestif** est composé des différents organes intervenant dans le processus de digestion. Il est donc constitué du tube digestif, s'étendant de la bouche à l'anus, et de plusieurs glandes annexes. On sépare le tube digestif en plusieurs organes : la bouche (avec la langue et les dents), le pharynx, l'œsophage, l'estomac et l'intestin. Les glandes annexes correspondent à deux organes clés de la digestion : le foie et le pancréas (Figure 1). (BARONE, 2009)

Il est indispensable de connaître l'anatomie et le fonctionnement normal du tube digestif pour comprendre l'origine des troubles observés dans le cas des diarrhées chroniques. Ces maladies étant généralement consécutives à une atteinte intestinale, nous ne nous intéresserons ici qu'à cette portion du tube digestif.

### I. 1. 1. Anatomie digestive

L'intestin correspond à la partie distale du tube digestif. Il s'étend du pylore à l'anus. On le découpe en deux parties : l'intestin grêle et le gros intestin, la jonction entre les deux étant la papille iléale ou valvule iléo-cæcale. (EVANS, et al., 2012) Ses dimensions sont très différentes selon la race et la taille du chien, sa longueur peut ainsi varier de 2 à 7 mètres. (BARONE, 2009)

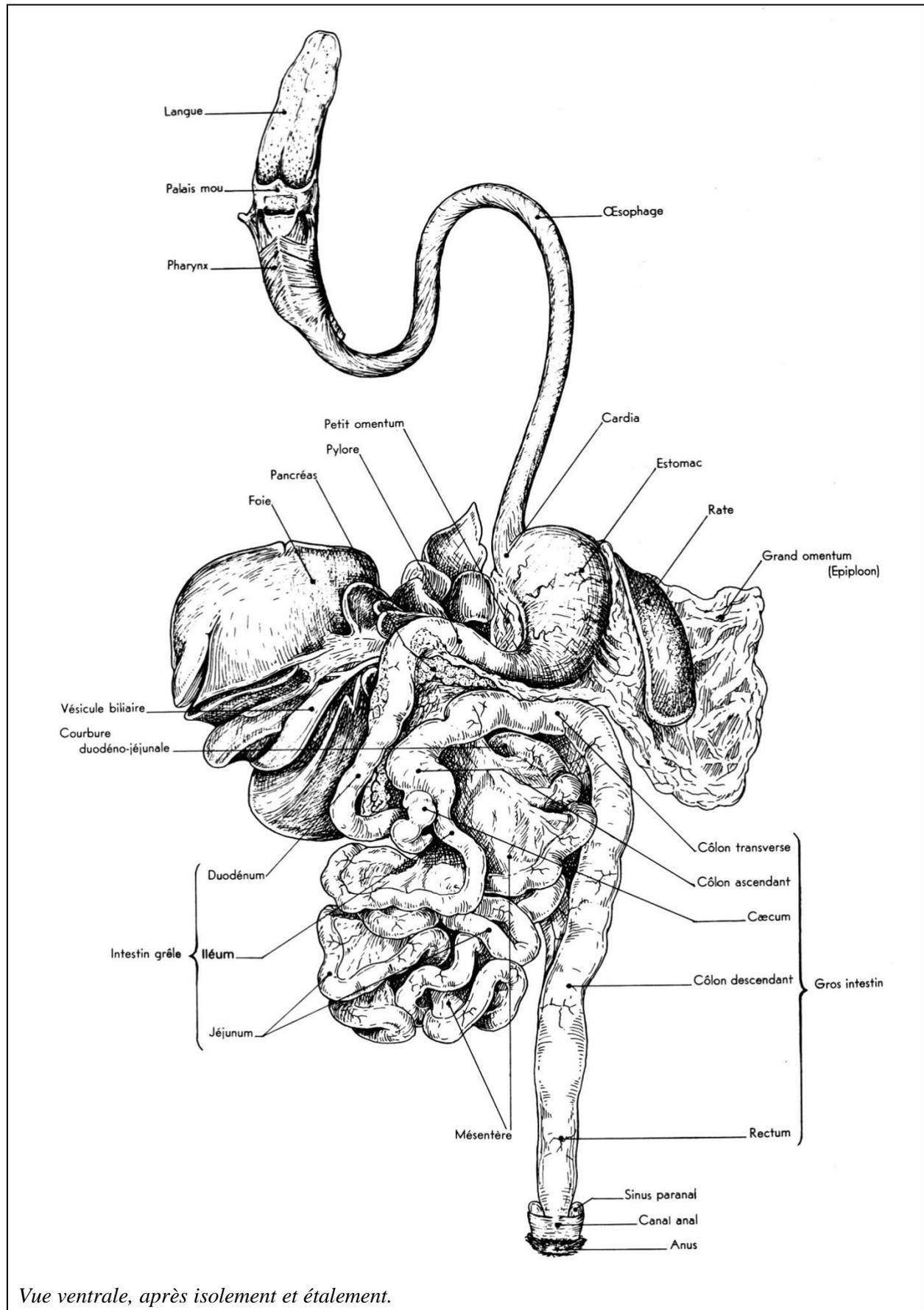
#### I. 1. 1. 1. Intestin grêle

L'intestin grêle est la portion la plus grande du tube digestif. Sa longueur varie selon la race et la taille du chien, et peut s'étendre de 1,70 à 6 mètres. La capacité volumique moyenne de cette portion est chez le chien de 1,6 litre. (BARONE, 2009)

Il se décompose en trois parties : le duodénum, le jéjunum et l'iléum. Anatomiquement, les limites du duodénum sont nettement visibles, ce qui n'est pas le cas entre le jéjunum et l'iléum, c'est pourquoi on parle parfois de jéjuno-iléum. (BARONE, 2009), (BACHA, et al., 2012)

##### (i) Duodénum

Le duodénum est la première partie de l'intestin. Il commence au pylore et se termine à la courbure duodéno-jéjunale. Il mesure en moyenne 25 centimètres chez le chien et peut s'étendre sur 20 à 60 centimètres selon les races. Il est constitué des parties descendante, transverse et enfin ascendante, décrivant ainsi une boucle dans le sens cranio-caudal, ouverte crânialement (Figure 3). (BARONE, 2009), (EVANS, et al., 2012)



*Vue ventrale, après isolement et étalement.*

**Figure 1 : Anatomie de l'appareil digestif du chien**

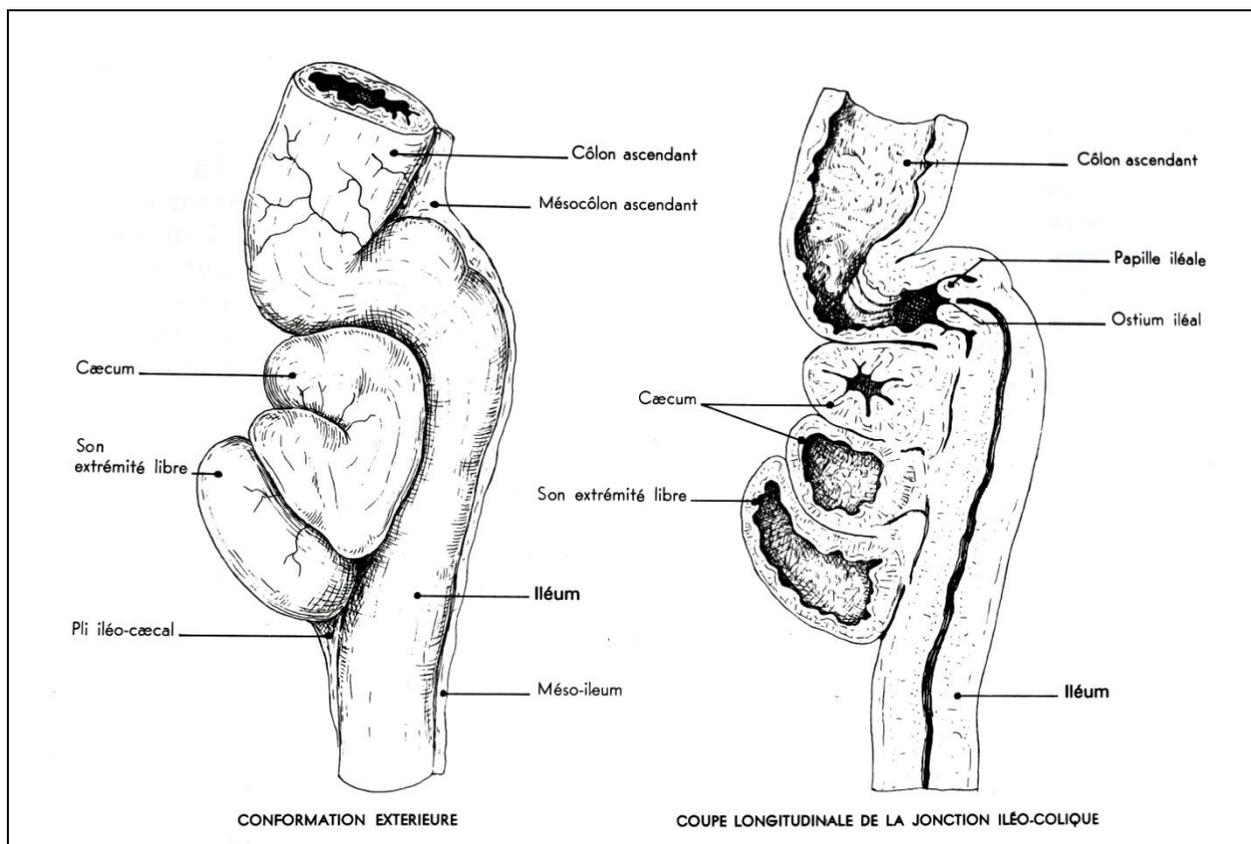
D'après R. Barone (2009)

Les conduits pancréatique et cholédoque s'abouchent tous les deux dans la partie proximale du duodénum au niveau de la papille duodénale majeure. Proche de celle-ci, une papille duodénale mineure porte l'ouverture d'un conduit pancréatique accessoire. (BARONE, 2009) Le duodénum est donc le siège du mélange du chyme acide provenant de l'estomac avec les sécrétions basiques du pancréas, du foie et des glandes de l'intestin grêle. (EVANS, et al., 2012)

(ii) Jéuno-iléum

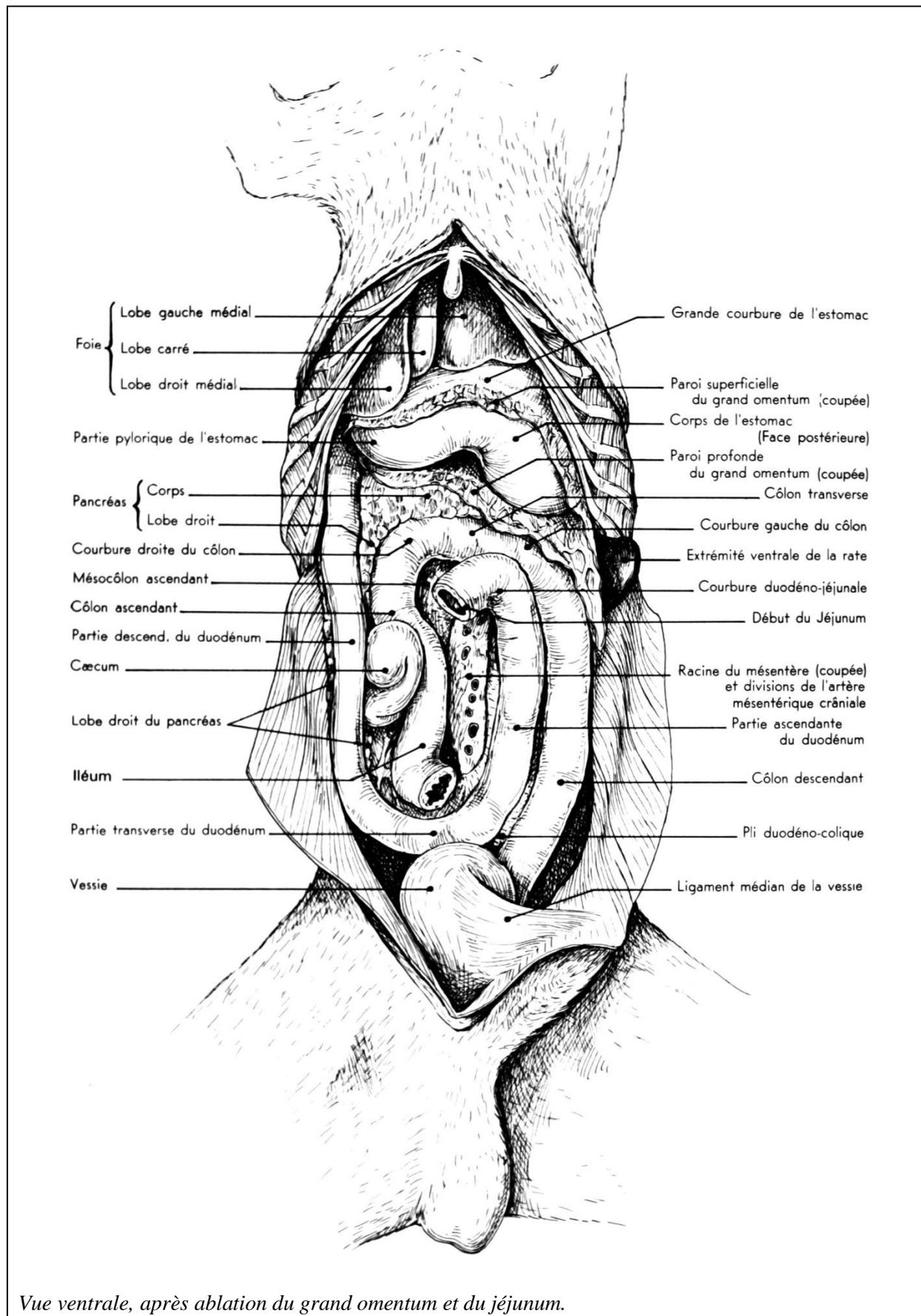
Le jéuno-iléum est la partie la plus longue de l'intestin, mesurant environ 3,5 mètres chez le chien. Il est suspendu dans la cavité abdominale par le mésentère qui lui apporte son innervation et sa vascularisation par des vaisseaux provenant de l'artère mésentérique crâniale (Figure 4). L'iléum est la dernière partie de l'intestin grêle. Il correspond approximativement aux 15 derniers centimètres de ce dernier et se termine par la papille iléale. (BARONE, 2009), (EVANS, et al., 2012)

Chez le chien, la valvule iléo-cæcale débouche directement dans le côlon. Elle est pourvue d'un sphincter bien développé qui permet une véritable séparation physique entre l'intestin grêle et le gros intestin (Figure 2). (BARONE, 2009)



**Figure 2 : Anatomie de la valvule iléo-cæcale**

D'après R. Barone (2009)



*Vue ventrale, après ablation du grand omentum et du jéjunum.*

**Figure 3 : Anatomie du duodénum et du côlon du chien**

D'après R. Barone (2009)

### **I. 1. 1. 2. Le gros intestin**

Le gros intestin est une portion beaucoup plus courte et légèrement plus large que l'intestin grêle. Chez les carnivores, son volume est extrêmement réduit par rapport à un herbivore, sa capacité n'étant que de 0,7 litre environ chez le chien. Chez cette espèce, il mesure selon les races de 0,30 à 1 mètre. (BARONE, 2009)

Il comporte quatre parties : le cæcum, le côlon, le rectum et le canal anal. (BACHA, et al., 2012)

#### **(i) Cæcum**

Chez le chien, le cæcum est très peu développé, il est spiroïde, petit et lisse. Il ne mesure que de 5 à 6 centimètres en moyenne. Il communique avec le côlon par l'ostium cæco-colique, mesurant environ 1 centimètre de diamètre et étant renforcé d'un sphincter cæcal chez cette espèce. (BARONE, 2009)

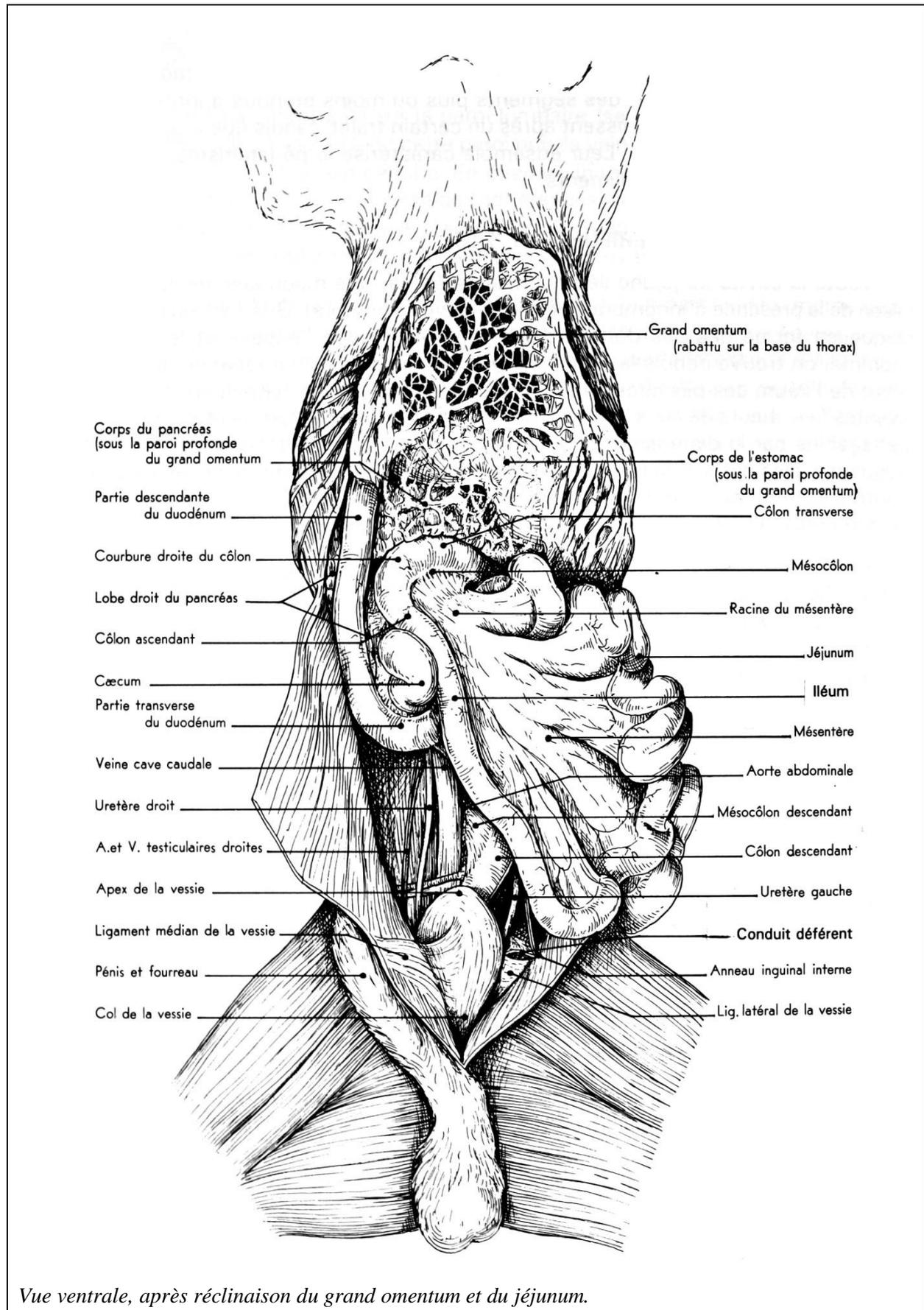
#### **(ii) Côlon**

Le côlon compose la plus grande partie du gros intestin. Il mesure en moyenne 25 à 60 centimètres de long. Il possède une anatomie très simple chez le chien. Il est constitué du côlon ascendant, transverse et descendant, décrivant ainsi une boucle inversée par rapport au duodénum : dans le sens caudo-crânial et ouverte caudalement (Figure 3). (BARONE, 2009)

#### **(iii) Rectum et le canal anal**

Le côlon est suivi du rectum qui mesure de 4 à 6 centimètres, lui-même s'ouvrant sur le canal anal. Ce dernier est une portion très courte, de 10 à 12 millimètres chez le chien, qui fait la jonction entre la fin du tube digestif et l'extérieur. Sa partie distale est fermée par un double sphincter puissant empêchant l'incontinence fécale. Il s'ouvre sur l'anus. (BARONE, 2009)

La muqueuse rectale a la particularité de former des plis irréguliers qui disparaissent à la distension. La muqueuse du canal anal forme, quant à elle, des plis longitudinaux dans sa partie proximale : les colonnes anales. Celles-ci se rejoignent distalement pour former des plis transversaux : les valvules anales. La muqueuse devient ensuite lisse avant de laisser sa place au revêtement cutané de l'anus. (BARONE, 2009)



*Vue ventrale, après réclinaison du grand omentum et du jéjunum.*

**Figure 4 : Anatomie de l'intestin du chien**

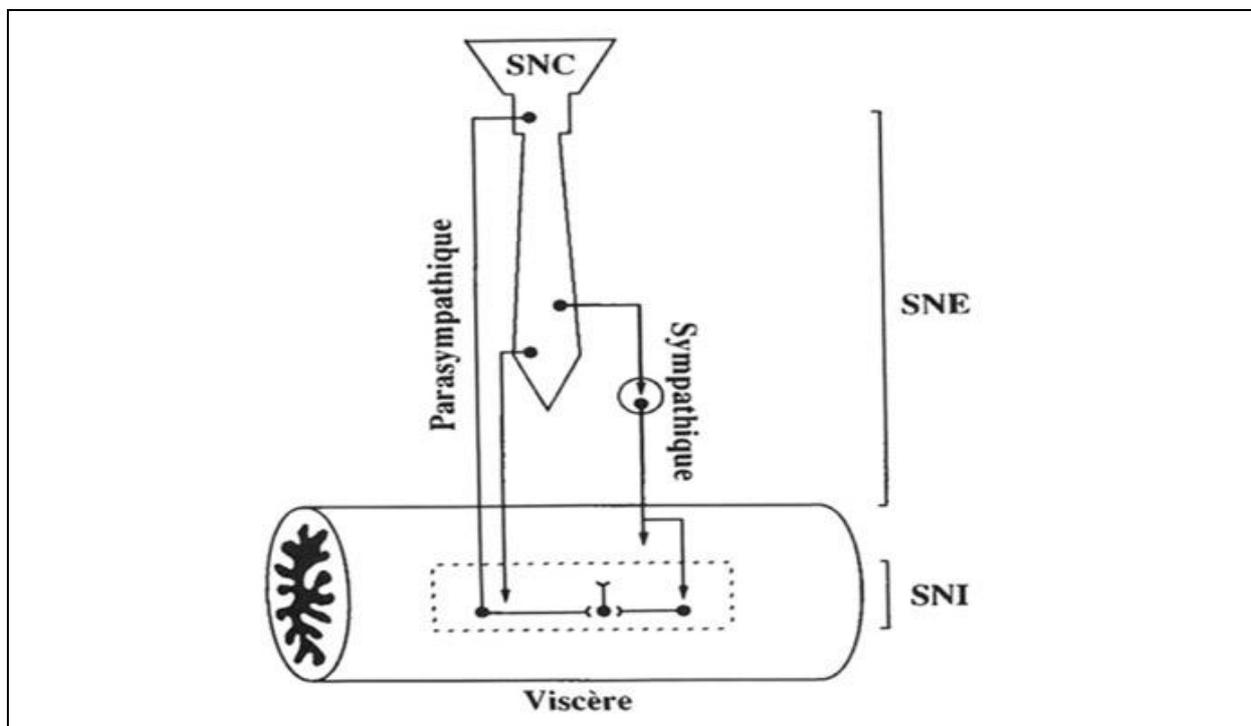
D'après R. Barone (2009)

### I. 1. 1. 3. Innervation digestive

L'intestin possède une innervation intrinsèque qui contrôle sa motricité et son activité sécrétoire, et une innervation extrinsèque qui peut moduler la précédente par stimulation ou inhibition. Ces deux composantes appartiennent au système nerveux végétatif. (Figure 5)

Le système nerveux intrinsèque (SNI) de l'intestin correspond au plexus nerveux myentérique ou d'Auerbach, qui régule la motricité intestinale, et au plexus nerveux sous-muqueux ou de Meissner, qui contrôle l'activité sécrétoire. Le premier se situe entre les couches musculaires longitudinale et circulaire de la musculature, et le second à la jonction de la musculature avec la sous-muqueuse (cf. I.1.2.). (BARONE, 2009), (KLEIN, 2012)

Le système nerveux extrinsèque (SNE) est composé des systèmes parasympathique et orthosympathique. L'innervation parasympathique est effectuée par les nerfs vague et pelvien. Ceux-ci innervent directement les plexus du système nerveux intrinsèque pour provoquer une stimulation des sécrétions digestives et de la motricité intestinale. Le système orthosympathique innerve lui aussi les plexus, mais innerve aussi directement les cellules sécrétrices et les fibres musculaires lisses. Il provoque ainsi une inhibition des sécrétions digestives ; une inhibition de la motricité existe aussi mais elle est peu importante. (KLEIN, 2012)



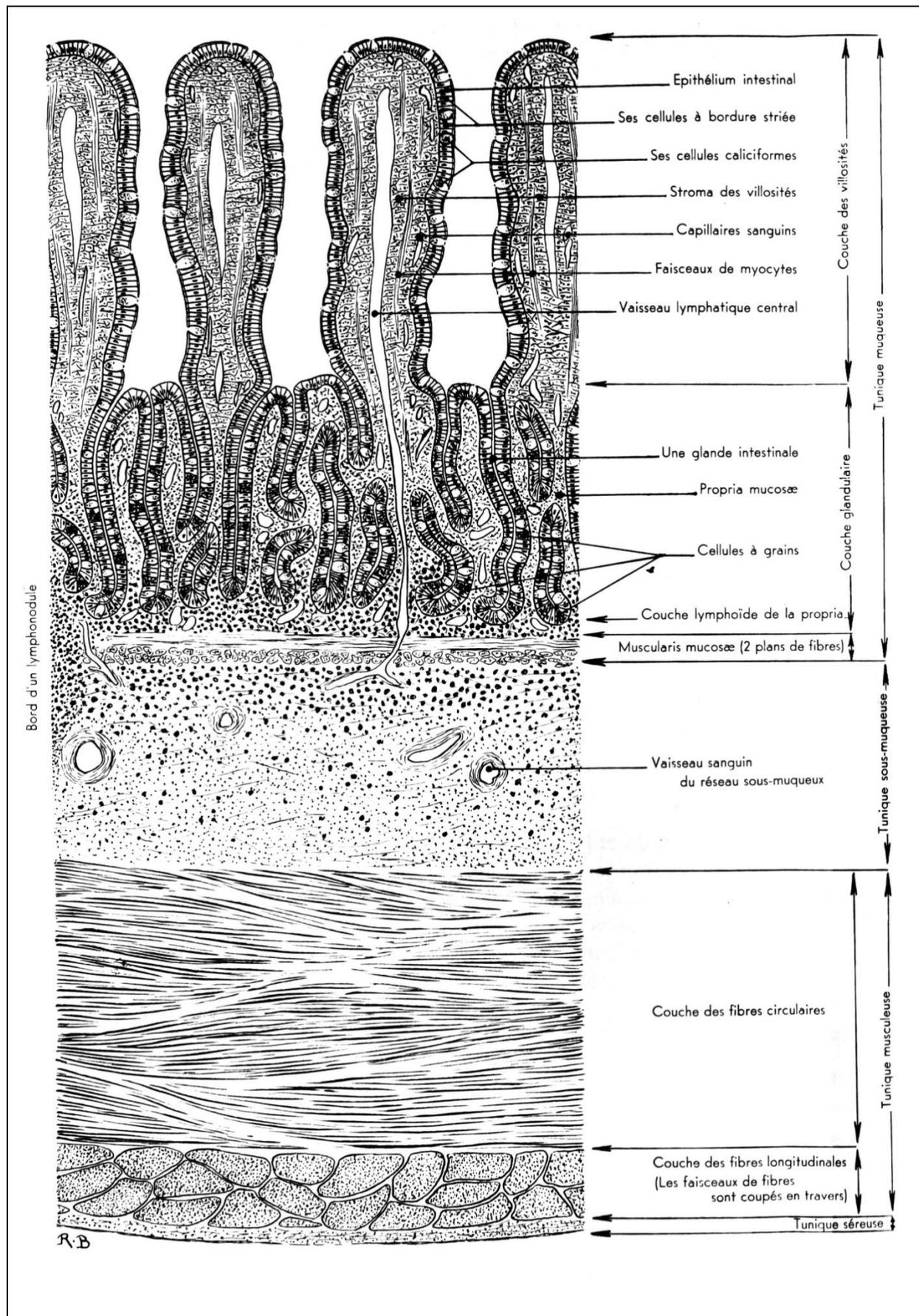
*SNC : Système nerveux Central ;*

*SNI : Système Nerveux Intrinsèque ;*

*SNE : Système Nerveux Extrinsèque.*

**Figure 5 : Innervation du tube digestif**

D'après C. Porcher (2007)



**Figure 6 : Structure histologique de l'intestin grêle**

D'après R. Barone (2009)

#### **I. 1. 1. 4. Vascularisation sanguine et lymphatique digestive**

Toutes les artères irriguant l'intestin proviennent des deux artères mésentériques, à l'exception de la partie crâniale du duodénum qui est irriguée par des rameaux de l'artère cœliaque. L'artère mésentérique crâniale, la plus volumineuse, permet via de nombreuses ramifications, l'irrigation du reste du duodénum, du jéjuno-iléum et du mésentère, ainsi que d'une partie du côlon ; tandis que l'artère mésentérique caudale, de plus petit calibre, irrigue uniquement la fin du côlon descendant et le début du rectum. (BARONE, 2009)

Le mésentère est extrêmement riche en vaisseaux lymphatiques de petits calibres aux abords de l'intestin. Puis, en s'éloignant, ceux-ci se rejoignent pour former des vaisseaux de plus gros calibres parallèles aux vaisseaux sanguins. Ils sont ensuite drainés par une multitude de nœuds lymphatiques répartis dans le mésentère. Les nœuds lymphatiques duodénaux, hépatiques, cœliaques et mésentériques crâniens drainent ainsi le duodénum ; les nombreux nœuds lymphatiques jéjunaux, organisés en amas, drainent le jéjunum ; et les nœuds lymphatiques cœcaux, coliques, mésentériques caudaux et sacraux drainent le côlon et le cæcum. (BARONE, 2009)

#### **I. 1. 2. Histologie digestive**

##### **I. 1. 2. 1. Structure générale**

La paroi intestinale est composée de quatre tuniques, de la plus interne vers la plus externe : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse. (EVANS, et al., 2012) (Figure 6) Cette structure est commune aux différentes parties de l'intestin, bien que l'on note quelques différences.

##### **(i) Muqueuse**

La muqueuse est composée d'un épithélium de revêtement, d'une *lamina propria* (aussi appelée *propria mucosae*) et d'une *muscularis mucosae*.

La partie la plus interne de la muqueuse revêt un épithélium unistratifié composé majoritairement de deux types cellulaires reposant sur une lame basale : des épithéliocytes colonnaires très majoritaires entre lesquels sont intercalées des cellules sécrétantes beaucoup moins nombreuses, les cellules caliciformes. Celles-ci sont beaucoup plus nombreuses dans le gros intestin que dans l'intestin grêle. (BACHA, et al., 2012) Les épithéliocytes colonnaires portent une extrémité striée de microvillosités importantes pour l'absorption des nutriments, et les cellules caliciformes sécrètent le mucus protégeant la muqueuse. D'autres cellules, encore moins nombreuses, sont également présentes comme les endocrinocytes gastrointestinaux qui jouent un rôle dans la motricité intestinale (elles sécrètent de

la sérotonine et de la bradykinine), ainsi que des lymphocytes, migrant depuis la *propria mucosae* vers la lumière intestinale, appelées cellules migratrices. (BARONE, 2009)

La *propria mucosae* est un chorion conjonctif servant de structure de soutien à l'épithélium. Elle contient un grand nombre de lymphocytes et de granulocytes éosinophiles issus des capillaires sanguins. Elle repose sur une *muscularis mucosae* composée de fibres musculaires lisses permettant la mobilité de la couche muqueuse par rapport à la sous-muqueuse. (BARONE, 2009)

(ii) **Sous-muqueuse**

La sous-muqueuse est une couche de tissu conjonctif lâche. Elle porte une importante vascularisation veineuse et artérielle, ainsi qu'un riche réseau lymphatique et le plexus veineux sous-muqueux. (BARONE, 2009)

(iii) **Musculeuse**

La musculeuse est composée de fibres musculaires lisses organisées en deux plans : une couche longitudinale superficielle et une couche circulaire profonde. (BARONE, 2009)

(iv) **Séreuse**

La séreuse correspond au feuillet viscéral du péritoine, c'est une fine lame conjonctive et vasculaire. Elle adhère à la musculeuse et est reliée aux mésos qui permettent le maintien de l'intestin dans la cavité abdominale. (BARONE, 2009)

### **I. 1. 2. 2. L'intestin grêle**

La muqueuse de l'intestin grêle est recouverte d'innombrables villosités, longues et minces chez le chien. Celles-ci permettent une absorption intestinale optimale et sont donc richement vascularisées en conséquence. (BACHA, et al., 2012)

Entre les villosités, on observe des invaginations de l'épithélium : les glandes intestinales ou cryptes de Lieberkühn. Ces dernières sont composées de plusieurs types cellulaires. Les cellules à grains, ou cellules de Paneth, sécrètent de nombreuses enzymes digestives et les cellules caliciformes sécrètent un mucus protecteur. Au sein de ces cryptes, une forte activité mitotique permet le renouvellement des cellules de l'épithélium à partir de cellules progénitrices. (BARONE, 2009)

La portion proximale de la sous-muqueuse du duodénum a la particularité de comporter des glandes tubuloacinaires : les glandes duodénales, ou glandes de Brünner. Celles-ci sécrètent un mucus alcalin participant à la neutralisation du suc gastrique. (BACHA, et al., 2012)

Dans cette portion, la couche circulaire profonde de la musculature est plus large que la couche longitudinale superficielle. La musculature est assez mince au niveau du duodénum, mais elle s'épaissit dans le jéjunum puis encore dans l'iléon. (BARONE, 2009)

### **I. 1. 2. 3. Gros intestin**

Par rapport à l'intestin grêle, la muqueuse du gros intestin est plus épaisse et ne comporte aucune villosité. Les cryptes de Lieberkühn sont également plus longues et plus nombreuses et ne possèdent pas de cellules de Paneth dans cette portion. (BACHA, et al., 2012) Par contre, elles sont très riches en cellules caliciformes. (BARONE, 2009)

La *propria mucosae* et la *muscularis mucosae* de la muqueuse sont plus développées dans cette partie de l'intestin. La première est très riche en lymphocytes, tandis que la seconde est relativement épaisse. (BARONE, 2009)

Dans le gros intestin du chien, en comparaison à l'intestin grêle, la couche circulaire de la musculature reste mince et la couche longitudinale est encore plus fine. La musculature reste relativement continue et régulière tout au long de l'organe. Cependant, au niveau du rectum les deux couches de la musculature deviennent relativement épaisses. (BARONE, 2009)

La séreuse ne recouvre pas entièrement le rectum, elle s'arrête en formant un cul-de-sac annulaire périrectal. La partie distale du rectum est donc recouverte d'un tissu conjonctif dense, une adventice. (BARONE, 2009)

La partie interne du canal anal est recouverte d'un épithélium pavimenteux stratifié. Celui-ci est non kératinisé proximale et devient kératinisé distalement, bien que sans poils, et en continuité avec la peau. (BACHA, et al., 2012)

La partie distale du canal anal est fermée par un double sphincter puissant. Le muscle sphincter interne de l'anus est constitué d'un épaississement brutal de la couche circulaire de la musculature, composée de fibres musculaires lisses. Le muscle sphincter externe de l'anus est composé quant à lui de myocytes striés. (BARONE, 2009)

### **I. 1. 3. Physiologie digestive**

Les deux portions intestinales, bien qu'ayant une anatomie similaire, possèdent des fonctions différentes. Ainsi l'intestin grêle est le siège de la digestion chimique et de l'absorption intestinale des nutriments, tandis que le gros intestin est le siège le plus important de la déshydratation du contenu fécal et de la réabsorption d'eau. (EVANS, et al., 2012) C'est également dans cette portion que se concentre la majorité des micro-organismes digestifs. Le microbiote colique joue de nombreux rôles qui seront détaillés ultérieurement (cf. **II.3.**)

### **I. 1. 3. 1. Motilité intestinale**

L'intestin grêle est sujet à plusieurs types de mouvements, certains sont microscopiques et d'autres macroscopiques.

Les **mouvements microscopiques** sont ceux des microvillosités et des villosités qui se contractent et oscillent pour augmenter le contact avec les nutriments et donc favoriser l'absorption.

Les **mouvements macroscopiques** sont au nombre de trois. Les **contractions pendulaires** sont dues aux contractions de la couche musculaire longitudinale de la musculature. Les **contractions segmentaires** sont dues aux contractions de la couche musculaire circulaire. Ces deux types de contractions assurent le brassage du chyme avec les différentes sécrétions digestives, pancréatiques et biliaires, ce qui favorise la digestion. Elles permettent par ailleurs un ralentissement du temps de transit intestinal et donc une augmentation du temps de contact entre le chyme et la muqueuse, d'où une meilleure absorption. Les **contractions péristaltiques**, ou péristaltisme, sont, quant à elles, provoquées par l'association des contractions des deux couches de la musculature. Elles permettent l'avancée caudale du chyme dans l'intestin. (KLEIN, 2012)

Chez le chien, après un repas, les mouvements de brassage sont largement majoritaires par rapport aux contractions péristaltiques, cela permet d'améliorer la digestion et l'absorption intestinale. Le péristaltisme prime par contre entre les repas, de façon à faire progresser le bol alimentaire. (KLEIN, 2012)

La fréquence des vagues péristaltiques diminue progressivement du duodénum aux parties aborales de l'intestin grêle. Le transit se ralentit ensuite au niveau de la papille iléale, et dans le gros intestin. Dans ce dernier, des contractions segmentaires continuent à brasser le contenu non absorbé par l'intestin grêle ce qui permet l'absorption finale, notamment de l'eau et des électrolytes. L'eau étant absorbée, les fèces déshydratées sont plus dures à mobiliser. Des **mouvements de masses** permettent donc plusieurs fois par jour l'avancée sur une longue distance des selles vers le rectum. Ces mouvements sont dus à d'importantes contractions péristaltiques. (KLEIN, 2012)

### **I. 1. 3. 2. Sécrétions digestives et la digestion intestinale**

L'intestin fait directement suite à l'estomac dans lequel l'action protéolytique du suc gastrique permet une importante digestion des protéines, notamment grâce à la pepsine. L'alimentation du chien étant essentiellement carnée, son estomac est particulièrement développé, comme celui de tous les carnivores. Le brassage des aliments solides et des sécrétions stomacales permet la formation du chyme, de consistance pâteuse. (FONTY, et al., 2007) La digestion est ensuite terminée par l'intestin.

L'intestin grêle est l'organe où se déroule la majorité de la digestion grâce à l'intervention de la bile et de nombreuses enzymes d'origine pancréatiques et intestinales (Tableau I). Il est donc un passage essentiel dans la digestion, notamment des lipides, des glucides solubles et de l'amidon. (FONTY, et al., 2007) Il est par ailleurs le siège le plus important de l'absorption, particulièrement intense dans le jéjuno-iléum. (BARONE, 2009)

**Le foie** stocke, dans la vésicule biliaire, la bile produite. Elle est composée d'une majorité d'acides biliaires, ainsi que de pigments biliaires, de cholestérol, de phospholipides et d'électrolytes. Après un repas, la vésicule se contracte pour déverser son contenu dans le duodénum. La bile se mélange alors dans le chyme pour former une émulsion avec les lipides. La formation de micelles de lipides en suspension dans le chyme permet une meilleure action des lipases pancréatiques. (KLEIN, 2012)

Lors du repas, **le pancréas** du chien sécrète environ 10 mL/h de suc pancréatique, cette sécrétion étant négligeable hors des phases d'alimentation. Ce suc est composé de 98% d'eau, d'électrolytes et d'enzymes. Ces dernières se classent en quatre classes : les protéases, les nucléases, les glycosidases et les lipases. (KLEIN, 2012)

Les cryptes de Lieberkühn de **l'intestin grêle** contiennent à leur base des cellules exocrines appelées cellules à grains ou cellules de Paneth. Ces cellules sécrètent de nombreuses enzymes intestinales. (BARONE, 2009)

**Les protéases** digèrent les protéines en substrats plus petits : des peptides, des oligopeptides (deux à quelques dizaines d'acides aminés) et des acides aminés libres. Elles sont sécrétées sous formes inactivées appelées proenzymes. Par exemple, ce sont les glandes intestinales qui sécrètent l'entérokinase, une enzyme permettant l'hydrolyse du trypsinogène inactif en trypsine active. Il existe deux groupes de protéases : les endoprotéases et les exoprotéases. Les endoprotéases coupent les chaînes polypeptidiques à des liaisons souvent très spécifiques entre les acides aminés. Elles agissent loin des extrémités et forment donc des peptides plus petits. Les plus importantes sont la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine. Les exoprotéases coupent les liaisons en bout de chaîne pour former des oligopeptides et des acides aminés. Ce sont les carboxypeptidases, les aminopeptidases et les dipeptidases. (KLEIN, 2012)

**Les nucléases** dégradent les acides nucléiques. De la même façon, on peut les séparer en endonucléases, hydrolysant les polynucléotides au milieu, et en exonucléases, retirant les nucléotides terminaux.

**Les glycosidases** coupent les liaisons glycosidiques pour former des composés osidiques. L'amylase pancréatique coupe l'amidon en polymères de plus en plus petits pour former des molécules de maltose, elles-mêmes dégradées par les maltases intestinales en glucose. La lactase permet la dégradation du lactose, elle est très présente chez les jeunes chiots. (KLEIN, 2012)

**Les lipases** dégradent les lipides. Ceux-ci n'étant pas solubles dans le chyme, l'action des lipases, et notamment la lipase pancréatique, n'est possible qu'après leur mise en suspension obtenue grâce la bile. Les produits de digestion de ces lipases se regroupent dans des micelles lipidiques formées par les acides biliaires pour être absorbés par les entérocytes. (RASTOGI, 2008)

**Tableau I : Principales enzymes digestives**

Modifié d'après S.C. Rastogi (2008)

<i>Organe excréteur</i>	<i>Classe</i>	<i>Enzymes</i>	<i>Substrats</i>	<i>Produits</i>
<b>Estomac</b>	Protéase	Pepsine	Protéines	Peptides
<b>Pancréas</b>	Protéase	Trypsine	Protéines	Peptides
		Chymotrypsine	Protéines	Peptides
		Carboxypeptidase	Peptides	Oligopeptides et Acides aminés
	Nucléase	Ribonucléase Désoxyribonucléase	ARN ADN	Nucléotides Nucléotides
Glycosidase	Amylase pancréatique	Amidon	Maltose	
Lipase	Lipase Pancréatique Cholestérol estérase	Triglycérides Esters de cholestérol	Acides gras et Monoglycérides Cholestérols et Acides gras	
<b>Intestin grêle</b>	Protéase	Aminopeptidase	Peptides	Oligopeptides et Acides aminés
		Dipeptidase	Dipeptides	Acides aminés
	Nucléase	Nucléosidase	Nucléotides	Bases azotées
	Glycosidase	Maltase	Maltose	Glucose
Lactase		Lactose	Glucose et Galactose	
Saccharase		Saccharose	Glucose et Fructose	

Le gros intestin possède une microflore plus développée que les segments antérieurs, et bien que la digestion soit principalement effectuée dans l'intestin grêle, l'activité fermentaire des micro-organismes reste importante dans le processus de la digestion et de l'absorption dans ce segment. (FONTY, et al., 2007)

### **I. 1. 3. 3. Sécrétion de mucus**

Du mucus est sécrété dans tout l'intestin par les **cellules caliciformes** de l'épithélium digestif. Il forme ainsi à la surface de la muqueuse un film continu protecteur.

De plus, dans l'intestin grêle, la muqueuse de la partie proximale du duodénum est en contact régulier avec le chyme acide et donc irritant. On trouve dans cette région les **glandes de Brunner** qui sécrètent un mucus alcalin riche en bicarbonate ayant un rôle protecteur pour cette muqueuse. Viennent s'ajouter à celui-ci les diverses sécrétions basiques pancréatiques, hépatiques et intestinales que nous venons de voir de façon à neutraliser l'acidité du chyme. (KLEIN, 2012)

Le gros intestin ne sécrète pas d'enzymes digestives, car les cellules de Paneth sont absentes de cette portion. Cependant, les **cryptes de Lieberkühn** sécrètent dans cette partie énormément de mucus qui protège la muqueuse, aide à former les fèces et régule les populations bactériennes. (KLEIN, 2012)

Le mucus possède plusieurs propriétés protectrices. Il évite la digestion de la muqueuse intestinale par les enzymes, mais possède également des propriétés antimicrobiennes. Le mucus permet effectivement de capturer certains agents pathogènes, ce qui les empêche de pénétrer dans la muqueuse intestinale. De plus, le mucus contient des mucines, lesquelles peuvent inactiver certaines entérotoxines bactériennes. (WILLARD, 1992) En plus de ces propriétés protectrices, le mucus a également des propriétés lubrifiantes qui aident à faire avancer et à expulser les selles.

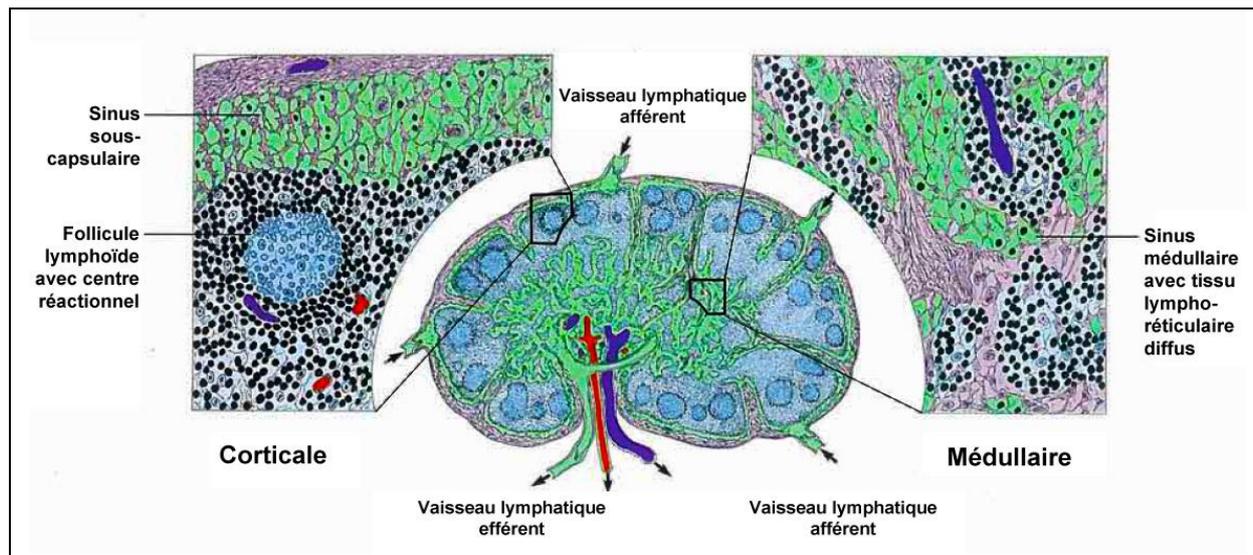
#### **I. 1. 4. Système immunitaire intestinal**

Le tube digestif est en permanence agressé par une multitude d'antigènes et de pathogènes, c'est pourquoi celui-ci dispose d'un système immunitaire complexe et très développé. Les différents acteurs de cette immunité intestinale sont les nœuds lymphatiques, le GALT (*Gut associated lymphoid tissue*) et le système des phagocytes mononucléés.

##### **I. 1. 4. 1. Nœuds lymphatiques**

Les nœuds lymphatiques sont des organes lymphatiques secondaires dont le rôle est de capturer et éliminer les antigènes. Ceux-ci sont répartis tout autour des intestins, et notamment dans le mésentère, et chacun d'eux draine une portion du tube digestif correspondant à son emplacement anatomique (cf. **I.1.1.4.**). (BARONE, 2009)

Ils sont composés d'un parenchyme lymphoïde entouré d'une capsule, ouverte au niveau des vaisseaux lymphatiques afférents et efférents (Figure 7). Le parenchyme est composé de trois parties ; une corticale superficielle, formée de follicules lymphoïdes riches en lymphocytes B ; une corticale profonde, ou para-cortex, formée de nodules para-corticaux riches en lymphocytes T ; et une médullaire, formée de cordons cellulaires radiés et anastomosés convergeant vers le hile, contenant de nombreux plasmocytes. Au sein du nœud lymphatique de trouve un sinus sous-capsulaire s'étendant en sinus médullaire vers le hile. Ceux-ci permettent l'arrivée des antigènes par les vaisseaux lymphatiques et la circulation de la lymphe. (KÖNIG, et al., 2004)



**Figure 7 : Structure interne d'un nœud lymphatique**

Modifié d'après H.E. König et al. (2004)

Les antigènes qui arrivent au nœud lymphatique sont capturés soit au niveau de la corticale par des cellules dendritiques, soit au niveau de la médullaire par des phagocytes mononucléés. Les cellules, une fois activées par les antigènes, migrent dans le cortex et les présentent aux lymphocytes B et T. (GUILFORD, 1996)

#### I. 1. 4. 2. GALT

Le système immunitaire gastro-intestinal, également appelé GALT est composé de nombreuses cellules lymphoïdes réparties dans toute la muqueuse et la sous-muqueuse intestinale. Il représente le tissu lymphoïde le plus important de l'organisme.

Dans l'intestin grêle, il se compose de nombreux nodules ou formations lymphoïdes contenant des cellules immatures. Certains nodules sont isolés, d'autres s'agrègent en structures plus grandes. Les plus volumineuses, mesurant environ 2 centimètres de long sur 15 millimètres de large, sont appelées les plaques de Peyer. On dénombre une vingtaine de ces agrégats chez le chien, la majorité se trouvant dans la paroi du duodénum et de la première moitié du jéjunum ; ensuite leur nombre diminue jusqu'à leur disparition dans l'iléum. On trouve, de plus, de multiples cellules lymphoïdes matures isolées disséminées dans la *lamina propria* et l'épithélium de la muqueuse des villosités. La plupart de ces cellules sont originaires des plaques de Peyer. (BARONE, 2009), (FONTY, et al., 2007)

Dans le gros intestin, de très nombreux lymphonodules sont également disséminés dans la sous-muqueuse. Ceux-ci ne forment pas d'agrégats comme décrit précédemment, mais ils sont très abondants dans le cæcum et le rectum et sont en général plus volumineux que dans l'intestin grêle. La muqueuse colique est également très riche en cellules lymphoïdes disséminées. (BARONE, 2009)

On peut réunir toutes ces structures composant le GALT en deux entités : le tissu lymphoïde organisé, correspondant aux lymphonodules et plaques de Peyer ; et le tissu lymphoïde diffus, correspondant aux cellules lymphoïdes disséminées dans la *lamina propria*

et l'épithélium. Ces dernières cellules étant composées principalement de lymphocytes et de plasmocytes, mais aussi de macrophages, de monocytes et de polynucléaires en moindre quantité. (GUILFORD, 1996), (ROCCABIANCA, et al., 2000)

Une grande quantité d'antigènes est continuellement en contact avec le GALT, notamment toutes les protéines alimentaires ainsi que les différents micro-organismes composant le microbiote intestinal. Ces antigènes modulent, par un mécanisme complexe, la réponse du GALT de façon à induire une tolérance à leur égard. Ce phénomène permet d'éviter que l'organisme ne développe une réponse immunitaire inflammatoire inadaptée. (ISOLAURI, et al., 2001), (FONTY, et al., 2007)

#### **I. 1. 4. 3. Système des phagocytes mononucléés**

Le système des phagocytes mononucléés n'est pas propre à l'appareil digestif. Il est composé de macrophages disséminés dans tout l'organisme. Dans les intestins, ces macrophages circulent dans le GALT sous l'épithélium des lymphonodules et à l'intérieur du système lymphoïde diffus. (GUILFORD, 1996)

Ces macrophages ont un rôle de cellules présentatrices d'antigènes. Après phagocytose de ceux-ci, ils présentent aux lymphocytes des fragments antigéniques associés au CMH de type II (complexe majeur d'histocompatibilité de type II). Ces macrophages ont également une fonction de synthèse de cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine-1. Ils ont également la capacité d'exercer une activité cytotoxique à l'encontre des cellules infectées et des cellules tumorales. (GUILFORD, 1996)

Les macrophages du système des phagocytes mononucléés ont donc un rôle crucial dans l'initiation, la régulation et la réalisation de la réponse immunitaire, mais également de l'inflammation.



## **I. 2. LES DIARRHÉES CHRONIQUES DU CHIEN**

---

### **I. 2. 1. Généralités**

#### **I. 2. 1. 1. Caractérisation de la diarrhée**

La diarrhée est caractérisée par une ou plusieurs des trois anomalies suivantes : une émission plus fréquente de selles, une augmentation du volume fécal quotidien, et une consistance molle à liquide. C'est un symptôme digestif extrêmement fréquent lors de maladie intestinale. (JERGENS, 2005)

On parle de diarrhée chronique lorsque les symptômes évoluent d'une manière permanente ou intermittente sur une période de plus de deux à quatre semaines. (YIN, 2007), (HALL, et al., 2009)

La diarrhée peut être originaire de l'intestin grêle ou du gros intestin, voire des deux.

L'intestin grêle étant responsable de la digestion et de l'absorption, toute source de maldigestion ou de malabsorption peut provoquer une diarrhée. Une diarrhée chronique de l'intestin grêle est donc généralement accompagnée d'une perte de poids, ce qui est la différence majeure avec la diarrhée chronique du gros intestin. Les diarrhées de l'intestin grêle sont également caractérisées par de grandes quantités de selles molles ou liquides émises avec une fréquence normale voire légèrement augmentée. On peut retrouver une stéatorrhée, un méléna et la présence d'aliments non digérés. On peut également observer des flatulences et des borborygmes.

Les diarrhées du gros intestin se traduisent par des émissions plus fréquentes que la normale de petites quantités de matières fécales glaireuses, semi-solides à solides avec épreintes. Parfois, il peut y avoir incontinence fécale, dyschésie, et/ou hématochézie. Si l'atteinte est limitée au gros intestin, l'animal reste le plus souvent actif et alerte, avec un appétit normal et sans perte de poids. (YIN, 2007), (LECOINDRE, et al., 2010)

Le tableau II expose les principales différences entre les deux localisations de diarrhée. Cependant, ces critères ne sont pas absolus et de nombreux chiens présentent des symptômes mixtes qui suggèrent une atteinte généralisée du tube digestif.

**Tableau II : Différences cliniques entre une diarrhée chronique  
de l'intestin grêle ou du gros intestin**

Modifié d'après S. Yin (2007) et P. Lecoindre (2010)

<i>Caractéristiques</i>	<i>Intestin grêle</i>	<i>Gros intestin</i>
<b>Fèces</b>		
<b>Volume de défécation</b>	Augmenté	Normal à diminué
<b>Mucus</b>	Non	Oui
<b>Sang (<i>si présent</i>)</b>	Digéré	Frais
<b>Stéatorrhée</b>	Oui	Non
<b>Défécation</b>		
<b>Fréquence</b>	Légèrement augmentée ; 2 à 4 fois par jour	Augmentée Plus de 5 fois par jour
<b>Dyschésie</b>	Non	Oui
<b>Ténesme</b>	Non	Oui
<b>Autres signes</b>		
<b>Flatulence/Borborygmes</b>	Parfois	Parfois
<b>Perte de poids</b>	Oui	Non
<b>Prurit anal</b>	Non	Parfois
<b>Vomissements</b>	Parfois	Parfois

### **I. 2. 1. 2. Etiologie**

L'étiologie des diarrhées chroniques est très variée, et parfois même incomprise. On peut les classer en causes systémiques et extra-système.

Les **causes systémiques** correspondent aux **insuffisances organiques** pouvant avoir une répercussion sur le système digestif. Elles comprennent l'insuffisance rénale, hépatique, cardiaque, pancréatique et la maladie d'Addison (ou insuffisance surrénalienne primaire).

Les **causes extra-système** se séparent en différentes origines. On note ainsi des causes **alimentaires**, notamment une intolérance ou une allergie alimentaire ; des causes

**infectieuses**, bactériennes (*Campilobacter spp.*, *Clostridium spp.*, ...), parasitaires (Trichures, Giardia, ...) ou virales ; une origine **néoplasique** ou un syndrome paranéoplasique ; diverses **maladies inflammatoires**, notamment les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ou le syndrome de prolifération bactérienne ; ou encore des origines **idiopathiques**, notamment le syndrome de l'intestin irritable (ou du côlon irritable).

### I. 2. 1. 3. Démarche diagnostique

La méthode diagnostique pour déterminer la cause de la diarrhée chronique est détaillée dans l'arbre de décision figure 8. On commence par un examen clinique complet et quelques analyses de base. Les résultats obtenus permettent généralement d'orienter la diarrhée vers une origine intestinale : intestin grêle ou gros intestin, ou systémique. Ces résultats peuvent également être à l'origine de plus amples investigations. Dans certains cas des examens d'imagerie ou encore des analyses spécifiques de certaines fonctions gastrointestinales seront indiquées. (JERGENS, 2005)

#### (i) Examen clinique

Un examen clinique complet, ainsi que l'écoute attentive de l'anamnèse de la maladie restent d'une importance capitale dans l'établissement du diagnostic final. Les informations recueillies permettent de plus de juger de la chronicité et de la sévérité de la diarrhée.

Il est important de détecter un **amaigrissement**, souvent secondaire à une malnutrition par malabsorption, un **aspect terne du pelage**, pouvant être causé par une malassimilation, la présence de **fièvre**, indiquant potentiellement une origine infectieuse, des **œdèmes et effusions**, généralement secondaires à une entéropathie exsudative provoquant une perte importante de protéine.

La palpation abdominale permet de détecter des **masses**, secondaires à une tumeur, un corps étranger ou encore une intussusception, un **épaississement des anses digestives**, compatible avec une infiltration de la paroi intestinale, une **douleur**, souvent due à une inflammation ou une distension gazeuse ou liquide de l'intestin, ou encore une **adénomégalie mésentérique**. (JERGENS, 2005)

#### (ii) Analyses de base

Les analyses de base comprennent généralement une analyse sanguine avec une **numération et une formule sanguine** et un **profil biochimique** comprenant au minimum l'urée, la créatinine, les phosphatases alcalines (PAL), les alanines amino-transférase (ALAT), les protéines totales et l'albumine.

On effectuera également une **analyse d'urine** et une **analyse fécale**, à savoir une coproscopie pour la recherche de parasites intestinaux et une culture fécale pour la recherche de bactéries pathogènes. (JERGENS, 2005)

(iii) **Imagerie**

Certains examens complémentaires d'imagerie peuvent avoir un intérêt.

On peut effectuer des **radiographies abdominales** pour identifier une ou des masses intestinales ou encore la présence de liquides ou de gaz anormaux. Les radiographies peuvent également s'effectuer avec un **produit de contraste** pour effectuer un transit baryté, on peut alors évaluer des anomalies de la muqueuse intestinale ou encore la présence d'une obstruction digestive partielle ou totale.

Une **échographie abdominale** apporte généralement des résultats complémentaires de la radiographie. Elle permet de détecter des masses, des épaissements et désorganisations de la paroi intestinale et/ou une adénomégalie mésentérique. La présence d'une lymphangiectasie intestinale peut également orienter vers une infiltration de la paroi. Diverses ponctions échoguidées de masses ou de nœuds lymphatiques peuvent également être réalisées, pour effectuer des analyses histologiques.

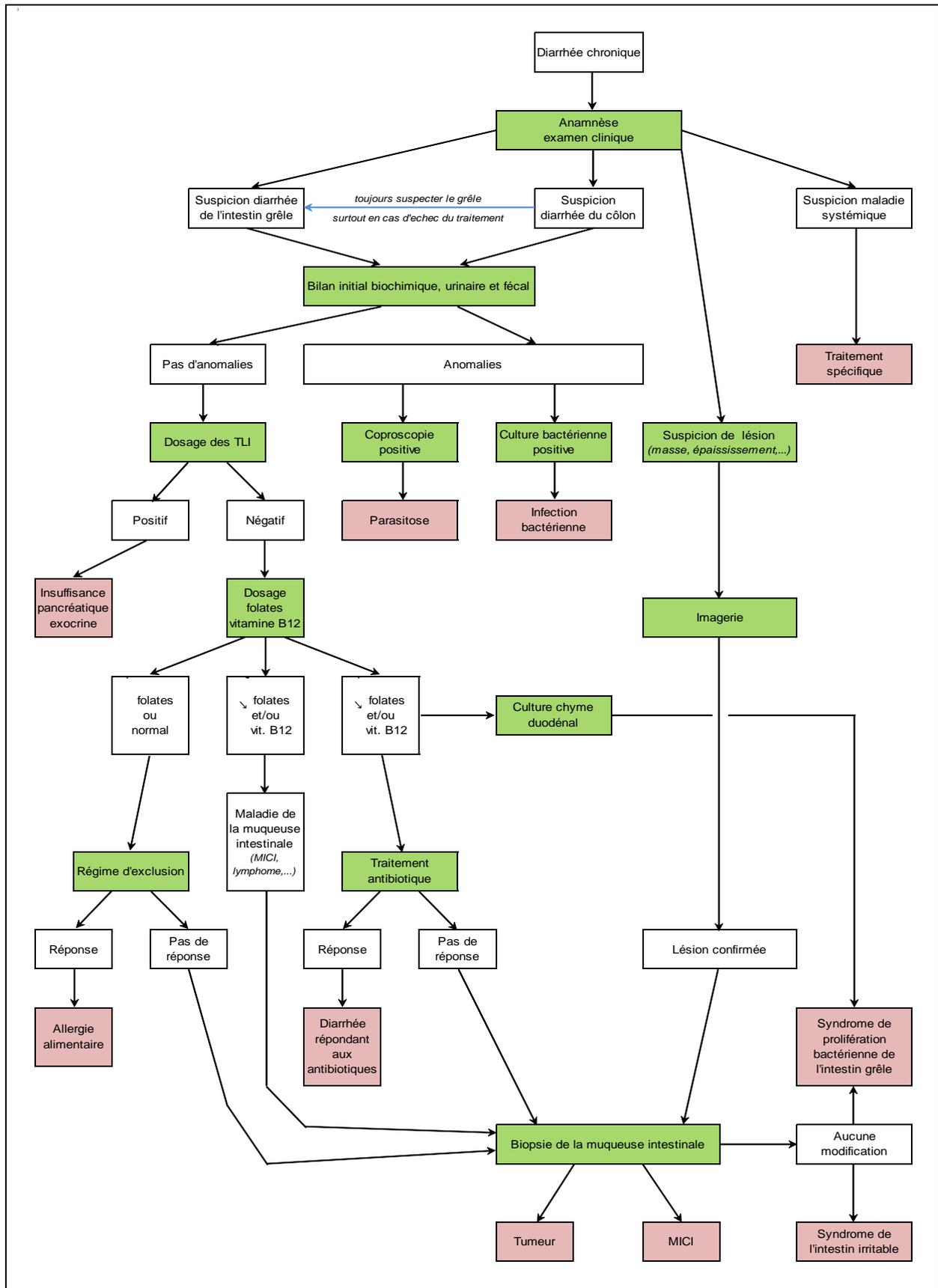
Un **examen endoscopique** du tube digestif, par coloscopie ou par oesogastroduodéoscopie, peut également être réalisé. Cet examen, bien qu'invasif, est très intéressant. Il permet en effet de visualiser directement les lésions de la muqueuse intestinale et surtout de réaliser des biopsies de muqueuse (un minimum de 10 biopsies est recommandé). Une **analyse histopathologique** de ces biopsies est généralement nécessaire pour établir un diagnostic de certitude et délivrer des informations pronostiques précises au patient. (JERGENS, 2005)

(iv) **Analyses des fonctions gastrointestinales**

Diverses analyses des fonctions gastrointestinales sont fréquemment réalisées.

L'analyse de la fonction exocrine du pancréas, par **dosage des TLI** (*trypsin-like immunoreactivity*), permet de diagnostiquer une insuffisance pancréatique exocrine (IPE) provoquant des diarrhées de l'intestin grêle par maldigestion et malabsorption. (JERGENS, 2005) La mesure doit être effectuée sur un animal à jeun depuis au moins trois heures, avec un optimum de douze heures. En effet la concentration des TLI augmente avec les repas. On diagnostique une IPE lorsque on obtient un résultat inférieur à 2,5 µg/L, la valeur usuelle basse étant d'environ 5 µg/L chez le chien. Si on obtient un résultat compris entre 2,5 et 5 µg/L celui-ci sera qualifié de douteux. Dans cette situation un nouveau dosage est conseillé environ un mois plus tard. (PRICE, et al., 1991)

Un **dosage des vitamines B9 (folates) et B12 (cobalamine)** peut s'avérer intéressant puisque ces vitamines reflètent la fonction d'absorption de l'intestin grêle. De plus, leur taux peut aider à localiser la dysfonction. En effet, le taux de folates et le taux de cobalamine sont respectivement représentatifs de l'absorption de la partie proximale (jéjunum) et distale de l'intestin grêle (iléum). (JERGENS, 2005) Chez le chien, les valeurs usuelles de la concentration sérique en folates et en vitamine B12 sont respectivement de 3,5 à 8,5 µg/L, et de 215 à 500 ng/L. On note une diminution de ces valeurs lorsque la partie de l'intestin correspondant est concernée. Ce dosage se fait à partir de sérum prélevé sur un chien à jeun depuis au moins 12 heures. (PRICE, et al., 1991)



**Figure 8 : Arbre de décision pour le diagnostic des diarrhées chroniques du chien**  
 Modifié d'après A. Jergens et al. (2005) et E. Hall et al. (2009)

Parmi les causes de diarrhées chroniques, nous ne présenterons que les trois suivantes : les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, le syndrome de prolifération bactérienne et le syndrome de l'intestin irritable. Ces maladies ont en effet la particularité d'être difficilement soignables et d'une étiologie mal définie à ce jour.

## **I. 2. 2. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin**

### **I. 2. 2. 1. Définition**

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, ou maladies inflammatoires cryptogéniques de l'intestin (MICI), désignent un groupe d'affections idiopathiques chroniques du tractus digestif d'origine inflammatoire. Elles se traduisant par des troubles digestifs peu spécifiques dominés par des diarrhées et des vomissements chroniques. Ce groupe de maladies est qualifié de « *inflammatory bowel diseases* » (*IBD*) dans la littérature anglo-saxonne. (JERGENS, 2009), (CERQUETELLA, et al., 2010)

Chez l'homme, le terme de MICI fait spécifiquement référence à deux maladies idiopathiques : la colite ulcéraive ou rectocolite hémorragique, et la maladie de Crohn encore appelée entérocolite granulomateuse ou entérite régionale (cf. **III.3.2.1.**). (MODIGLIANI, 1993), (VAN KRUININGEN, 1972)

Chez le chien, plusieurs maladies similaires sont observées, avec notamment la **colite lymphoplasmocytaire** canine, relativement fréquente dans cette espèce, qui se rapproche de la rectocolite hémorragique de l'homme, et l'**entérocolite granulomateuse transmurale** canine qui est parfois assimilée à la maladie de Crohn. En effet de nombreuses ressemblances sont respectivement observées entre ces maladies telles que la localisation et l'aspect des lésions, ainsi que la nature de l'infiltrat inflammatoire les composant.

Il est donc rentré dans l'usage, en médecine vétérinaire, d'utiliser également le terme de MICI pour désigner le groupe hétérogène d'affections auxquelles appartient ces deux maladies. (JERGENS, 1999)

### **I. 2. 2. 2. Classification des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin**

Les MICI sont caractérisées par un processus inflammatoire intestinal idiopathique toujours associé à une infiltration diffuse de la *lamina propria* de l'intestin grêle et/ou du côlon, et parfois aussi de l'estomac.

On peut classer les MICI selon le type d'infiltrat inflammatoire identifié à l'histologie et selon les zones digestives majoritairement atteintes (Tableau III). Ces infiltrats sont composés de populations de cellules inflammatoires, et notamment de lymphocytes et plasmocytes, de polynucléaires éosinophiles, de macrophages, et/ou de polynucléaires neutrophiles, donnant respectivement leurs noms aux infiltrations lymphoplasmocytaire, éosinophilique, histiocytaire et neutrophilique.

Les **MICI lymphoplasmocytaires** sont les formes les plus courantes chez le chien, la colite lymphoplasmocytaires est d'ailleurs l'une des premières causes de diarrhée chronique chez cette espèce. (TAMS, 2003), (JERGENS, 1999), (HAYDEN, et al., 1982), (JACOBS, et al., 1990), (JERGENS, et al., 1992), (ROTH, et al., 1990) Cependant, ce diagnostic est potentiellement surestimé. (WILCOCK, 1992)

Les **MICI éosinophiliques** arrivent, en terme de fréquence, juste après les MICI lymphoplasmocytaires. Chez le chien, la gastroentérite éosinophilique en est la forme la plus fréquente. Le nombre de polynucléaires éosinophiles dans la muqueuse intestinale est cependant fréquemment élevé chez les chiens en diarrhée parasitaire ou suite à une allergie alimentaire, et ce en l'absence de MICI. (WILCOCK, 1992)

Les **MICI granulomateuses** sont généralement moins fréquentes. Elles correspondent à un infiltrat histiocytaire qui est retrouvé lors des colites histiocytaires ulcéreuses du Boxer et du Bouledogue français, ou encore lors d'entéocolite granulomateuse transmurale. (GUILFORD, 1996)

Les **MICI neutrophiliques** restent relativement rares. (TAMS, 2003)

Des associations de ces différents infiltrats peuvent s'associer lors de MICI. Un infiltrat pur est ainsi peu fréquent. C'est la population cellulaire majoritaire qui donne le nom à l'infiltrat.

**Tableau III : Classement des différentes maladies inflammatoires chroniques de l'intestin du chien**

Modifié d'après C. Levent (2002) et M. Cerquetella (2010)

<i>Nature de l'infiltrat</i>	<i>Dénomination de la MICI</i>
<b>Lymphoplasmocytaire</b>	Gastroentérite lymphoplasmocytaire Entérite lymphoplasmocytaire Entéocolite lymphoplasmocytaire <b>Colite lymphoplasmocytaire</b> Entéropathie immunoproliférative du Basenji Entéropathie immunoproliférative du Lundehund Entéropathie chronique du Shar peï
<b>Eosinophilique</b>	<b>Gastroentérite éosinophilique</b> Entérite éosinophilique Entéocolite éosinophilique Colite éosinophilique Granulome éosinophilique intestinal
<b>Histiocytaire</b>	<b>Colite histiocytaire ulcéreuse du Boxer (= colite granulomateuse)</b> Colite histiocytaire ulcéreuse du Bouledogue français <b>Entéocolite granulomateuse transmurale (= entérite régionale)</b>
<b>Neutrophilique</b>	Colite suppurative chronique (= colite neutrophilique)

### I. 2. 2. 3. Etiopathogénie

La pathogénie et l'étiologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin sont mal connues. Ces affections sont, semble-t-il, provoquées par une réponse immunitaire exacerbée résultant d'interactions complexes entre des facteurs environnementaux et génétiques. (JERGENS, 2009)

Le développement de ces maladies serait ainsi la conséquence d'une dérégulation de l'immunité muqueuse chez des animaux prédisposés. L'hypothèse la plus probable est que ce processus inflammatoire soit déclenché par une perte de tolérance à divers antigènes intestinaux, qu'ils soient alimentaires, bactériens ou autres. (CERQUETELLA, et al., 2010) Les antigènes stimuleraient alors anormalement le système immunitaire. Cependant aucun antigène, ni aucun gène commun aux différentes MICI n'ont pour le moment été identifiés.

Bien que pour la plupart des MICI, aucune cause déclenchante n'ait été identifiée, l'hypothèse d'une implication bactérienne est parfois évoquée. C'est notamment le cas des colites histiocytaires ulcéreuses du Boxer et du Bouledogue français. Il semblerait en effet que la colite histiocytaire soit la conséquence d'une réponse exacerbée du système immunitaire à la présence de bactéries dans le côlon chez certains chiens génétiquement prédisposés. (FREICHE, et al., 2010), (KRAFFT, et al., 2010)

Cette maladie a, de plus, souvent été comparée à la maladie de Whipple chez l'homme, laquelle est une entérite chronique provoquée par une bactérie, *Tropheryma whipplei*, associée à un dysfonctionnement immunitaire. (VAN KRUININGEN, et al., 1965) Ces observations ont motivé l'étude de cette hypothèse et une association bactérienne a pu être mise en évidence chez le chien. Ainsi il est maintenant reconnu que les colites histiocytaires ulcéreuses sont associées à des *Escherichia coli* **adhérent-invasifs** (ECAI). Un traitement antibiotique avec des fluoroquinolones semble d'ailleurs donner de bons résultats contre cette maladie (JERGENS, 2009), (MANCHESTER, et al., 2013) et le pronostic est maintenant favorable dans 60 à 70% des cas. (FREICHE, et al., 2010)

### I. 2. 2. 4. Epidémiologie

En général, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ont une incidence similaire chez les mâles et les femelles. Les chiens d'**âge moyen** semblent plus souvent affectés par ces maladies. De plus certaines races de chiens semblent prédisposées à certaines formes de MICI. (CERQUETELLA, et al., 2010)

#### (i) MICI lymphoplasmocytaires

Les **Bergers Allemands** et les **Boxers** semblent être des races prédisposées à toutes les formes lymphoplasmocytaires des MICI. Dans une moindre mesure, les Fox Terriers et les Caniches ont été décrits comme étant enclins aux formes coliques de ces MICI. La maladie se déclare chez des animaux d'âge moyen à âgé, cependant certains patients développent les

symptômes durant leur jeune âge. Des entérocolites lymphoplasmocytaires ont d'ailleurs été diagnostiquées chez des chiots de 8 mois. (JERGENS, 1999), (GUILFORD, 1996)

Il existe également des formes de MICI lymphoplasmocytaires spécifiques à certaines races. C'est par exemple le cas de l'entéropathie immunoproliférative du Basenji, ou de celle du Lundehund, ou encore de l'entéropathie chronique du Shar peï pour lesquelles une composante héréditaire est fortement suspectée. (GUILFORD, 1996)

(ii) **MICI éosinophiliques**

Aucune prédisposition de race n'a réellement été observée dans le cas des MICI éosinophiliques du chien. (JERGENS, 1999)

(iii) **MICI granulomateuses**

La colite histiocytaire ulcéreuse affecte principalement les **jeunes Boxers** âgés de moins de 2 ans et les **Bouledogues français**. Des signes similaires à cette maladie ont également été décrits dans d'autres races comme le Bouledogue anglais, le Doberman, le Malamute ou encore le Mastiff, cependant le diagnostic de colite histiocytaire ulcéreuse n'a pas été établi chez ces derniers. (FREICHE, et al., 2010), (KRAFFT, et al., 2010), (CERQUETELLA, et al., 2010)

L'entérocolite granulomateuse transmurale semble quant à elle affecter plus fréquemment les mâles et les individus de moins de 4 ans. (JERGENS, 1999) Aucune prédisposition raciale n'est observée.

(iv) **MICI neutrophiliques**

Les MICI neutrophiliques étant relativement rares, trop peu de données sont actuellement disponibles dans la littérature pour observer des prédispositions.

### **I. 2. 2. 5. Expression clinique**

Lors de MICI, les signes cliniques digestifs prédominent, avec principalement de la diarrhée et des vomissements. Une atteinte de l'état général est fréquente avec une anorexie et un amaigrissement. On peut également rencontrer des douleurs abdominales, de la léthargie, des atteintes hépatiques ainsi que d'autres symptômes moins fréquents.

(i) **Diarrhée**

Chez le chien, la diarrhée est le signe clinique le plus fréquemment observé. Elle évolue généralement de façon chronique de plusieurs semaines à plusieurs années, de manière permanente ou intermittente (c'est-à-dire en alternant des crises et des rémissions). Elle peut moins souvent survenir de façon brutale, sans antécédents digestifs antérieurs. Il est important

de déterminer l'origine de cette diarrhée, savoir si c'est une diarrhée du petit intestin, du gros intestin ou des deux. (TAMS, 2003)

Une hématochézie est parfois observée chez les chiens à MICI. Ces saignements sont fréquents lors de colite histiocytaire ulcérate, du fait de l'ulcération de la muqueuse intestinale.

(ii) **Vomissements**

Chez le chien avec une MICI, des vomissements sont fréquemment observés et accompagnent souvent les diarrhées du côlon. Ils peuvent être liés à une atteinte de l'estomac, de l'intestin grêle ou du gros intestin. (GUILFORD, 1996) Leur fréquence est variable, cependant elle a tendance à augmenter au cours de l'évolution de la maladie. Leur apparition est similaire à celle de la diarrhée, elle peut être brutale, sans antécédent de signes gastro-intestinaux, ou évoluer de façon chronique généralement intermittente. Les vomissements surviennent sans réel rapport avec les repas. Leur aspect est liquide et clair, avec présence de bile ou d'écume. De la nourriture fraîche ou partiellement digérée est parfois retrouvée, ce signe peut faire suspecter un retard de la vidange gastrique. Une hématomèse est parfois observée, mais elle reste exceptionnelle. (TAMS, 2003)

(iii) **Complications digestives**

Certaines complications graves, telles que des fistules péri-anales, ainsi que des ruptures et perforations digestives, peuvent survenir chez les chiens atteints de MICI. Celles-ci peuvent mettre le pronostic vital de l'animal en danger et nécessitent une intervention d'urgence. Elles sont cependant rares dans cette espèce. (VAN DER GAAG, et al., 1983), (VAN KRUININGEN, 1972)

(iv) **Perte de poids**

Un amaigrissement est très fréquemment associé aux MICI. Cette perte de poids est souvent d'origine multiple. Elle est provoquée par l'anorexie, les vomissements et également les lésions de la muqueuse intestinale qui engendrent une malassimilation et une malabsorption des nutriments ainsi qu'une fuite protéique. L'amaigrissement n'apparaît qu'après une longue période d'évolution ; il peut être rapidement corrigé après la mise en place du traitement. (TAMS, 2003)

(v) **Atteintes hépatiques**

Il est fréquent d'observer une élévation des taux sanguins des enzymes hépatiques chez les animaux atteints de MICI. Les hypothèses principales sont une contamination bactérienne ascendante du foie par les voies biliaires ou par bactériémie portale. Un mécanisme dysimmunitaire contre le tissu hépatique a également été évoqué. (GUILFORD, 1996)

(vi) **Autres manifestations cliniques**

(vi.i) ***Altération de l'appétit***

Une anorexie est fréquemment associée à la MICI. Cependant, on observe parfois un appétit augmenté chez certains chiens dont le signe clinique principal est la diarrhée chronique. (TAMS, 2003)

(vi.ii) ***Changements comportementaux***

Lors des crises de MICI, on peut parfois observer des modifications comportementales chez l'animal. On note notamment un état dépressif ou au contraire d'excitation avec parfois de l'agressivité. Peuvent se manifester aussi une anxiété inexplicée et/ou des défécations dans des endroits inhabituels. Ce dernier point peut être également dû à une difficulté à se retenir. (TAMS, 2003)

(vi.iii) ***Déshydratation***

Suite aux vomissements ou à une diarrhée sévère, une déshydratation peut s'installer. Il est donc important que l'animal ait accès à suffisamment d'eau. En cas de déshydratation sévère une réhydratation en milieu hospitalier est parfois nécessaire. (TAMS, 2003)

(vi.iv) ***Perte protéique***

Lors d'atteinte sévère de la muqueuse intestinale, on peut observer une perte protéique importante. L'hypoprotéïnémie qui en résulte est à l'origine de divers symptômes comme l'ascite, des œdèmes périphériques, voire un hydrothorax. (TAMS, 1987), (JERGENS, 2005)

(vi.v) ***Aspect général***

Il n'est pas rare que les animaux atteints de MICI présentent un poil piqué, terne et mal soigné. Cela peut notamment s'expliquer par la malassimilation des nutriments. (TAMS, 2003)

(vi.vi) ***Autres***

On peut observer dans de rares cas divers symptômes associés aux MICI, tels que des douleurs abdominales, une polyuro-polydipsie, de la fièvre, des coagulopathies dues à l'état proinflammatoire, une polyarthrite non érosive, une alopecie régionale symétrique, ... (GUILFORD, 1996), (JERGENS, 1999)

### **I. 2. 2. 6. Diagnostic**

Le diagnostic des MICI doit se faire par **exclusion**. Il convient de prendre en compte le diagnostic différentiel des diarrhées et vomissements chroniques et d'en éliminer les principales causes.

Les symptômes digestifs et/ou un amaigrissement d'origine inconnue doivent être jugés chroniques et persistants, c'est-à-dire évoluant depuis plusieurs mois et au minimum depuis 2 à 4 semaines. (GUILFORD, 1996), (CERQUETELLA, et al., 2010)

Le diagnostic de certitude devra par contre être réalisé par **histologie**. C'est en effet le seul examen permettant d'établir un diagnostic définitif de MICI et d'évaluer par la même occasion la sévérité des lésions et de l'atteinte inflammatoire. (GUILFORD, 1996), (TAMS, 2003)

Pour se faire, une endoscopie digestive doit être réalisée. Elle permet non seulement de visualiser directement les lésions, ce qui participe au diagnostic, mais elle permet surtout la réalisation de biopsies de la muqueuse intestinale sur lesquelles seront effectuées des analyses histopathologiques.

Le vétérinaire clinicien et l'histopathologiste doivent alors établir la nature idiopathique de l'inflammation gastro-intestinale observée et éliminer toutes les autres causes connues d'inflammation. (GUILFORD, 1996), (CERQUETELLA, et al., 2010)

#### **(i) Examen clinique**

Un examen clinique complet doit comme toujours être réalisé, et notamment la palpation abdominale.

Chez le chien, lors de MICI, la palpation abdominale peut mettre en évidence des douleurs, un épaissement des anses intestinales ou encore une irrégularité de la muqueuse lorsque le côlon est impliqué dans la maladie. Elle peut également révéler une hépatomégalie, une splénomégalie ou une adénomégalie périphérique et/ou mésentérique. Parfois, une masse bien délimitée peut être palpée, elle peut être le signe d'une entérite régionale. (TAMS, 2003)

Une fois la suspicion de MICI établie cliniquement, d'autres examens et analyses doivent être réalisés pour compléter le tableau clinique et permettre d'éliminer les autres causes possibles.

#### **(ii) Diagnostic différentiel des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin**

Le diagnostic différentiel des MICI est extrêmement varié et comprend les différentes étiologies des vomissements et diarrhées chroniques (Tableau IV). (GUILFORD, 1996), (JERGENS, 1999), (TAMS, 2003), (VETAGRO SUP, 2015)

Les différentes causes infectieuses, parasitaires, bactériennes et fongiques, ainsi que les causes métaboliques, nutritionnelles, néoplasiques et autres affections diverses doivent être exclues pour pouvoir établir le diagnostic.

**Tableau IV : Diagnostic différentiel des MICI du chien**

D'après W.G. Guilford (1996), A.E. Jergens (1999) , T.R. Tams (2003) et Vetagro Sup (2015)

<i>Groupes</i>	<i>Etiologies</i>	
<b>Maladies infectieuses intestinales ou systémiques</b>	Bactéries	<i>Helicobacter spp.</i> <i>Clostridium spp.</i> <i>Campylobacter spp.</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Yersinia spp.</i> <i>Mycobacterium spp.</i> <i>Neorickettsia helminthoeca</i>
	Protozoaires	<i>Giardia intestinalis</i> <i>Isospora canis</i> <i>Sarcocystis spp.</i>
	Coccidies	<i>Cryptosporidium spp.</i> <i>Coccidia spp.</i> <i>Toxoplasma spp.</i>
	Champignons	<i>Histoplasma spp.</i> <i>Candida spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i>
	Algues	<i>Prototheca spp.</i>
	Nématodes	<i>Toxocara canis</i> <i>Toxascaris leonina</i> <i>Uncinaria stenocephala</i> <i>Ankylostoma caninum</i> <i>Trichuris vulpis</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Ollulanus spp.</i> <i>Physaloptera spp.</i>
	Cestodes	<i>Dipylidium caninum</i> <i>Taenia spp.</i> <i>Echinococcus spp.</i>
<b>Causes nutritionnelles</b>	Intolérance alimentaire	
	Hypersensibilité alimentaire	

**Tableau IV : Diagnostic différentiel des MICI du chien**

D'après W.G. Guilford (1996), A.E. Jergens (1999) , T.R. Tams (2003) et Vetagro Sup (2015)

<i>Groupes</i>	<i>Etiologies</i>	
<b>Affections métaboliques</b>	Affections endocriniennes	Hypocorticisme Diabète
	Insuffisance pancréatique exocrine	
	Insuffisance hépatique	
	Insuffisance rénale	
	Maladie à médiation immune	
<b>Causes néoplasiques</b>	Tumeurs malignes	Lymphome malin Adénocarcinome Mastocytome Fibrosarcome Léiomyosarcome
	Tumeurs bénignes	Léiomyome
<b>Affections diverses</b>	Prolifération bactérienne de l'intestin grêle Diarrhée répondant aux antibiotiques	
	Syndrome de l'intestin irritable	
	Lymphangiectasie	
	Syndrome obstructif partiel	Corps étrangers Masse tumorale Adhérences mésentériques Sténose pylorique
	Ulcères gastro-intestinaux	
	Iatrogènes	AINS Tétracycline Digoxine Adriamycine
	Malformations	Hernie hiatale Intussusception cæco-colique
	Stress	

### **(iii) Examens complémentaires**

On effectue diverses analyses sanguines avec un bilan hématologique complet et un bilan biochimique comprenant le dosage des protéines sériques, des paramètres hépatiques, des acides biliaires, de l'urémie et de la cholestérolémie. On réalise également une analyse des fèces avec une recherche de parasites et éventuellement des cultures bactériennes, ainsi que des analyses urinaires et le dosage des TLI, des folates et de la vitamine B12.

Aucun des résultats des analyses effectuées ne sont cependant pathognomoniques des MICI. Par contre certaines anomalies, même non spécifiques, peuvent conforter cette hypothèse. (TAMS, 2003) Seule la biopsie de muqueuse digestive permet, après exclusion des autres causes de diarrhées chroniques, de confirmer le diagnostic. Les anomalies fréquemment rencontrées chez les animaux atteints de MICI sont résumées ci-dessous.

#### **(iii.i) *Hématologie***

- Une augmentation de l'hématocrite. Elle est la conséquence d'une déshydratation, généralement par pertes de fluides par vomissements et/ou diarrhée.
- Une légère anémie normochrome normocytaire non régénérative. Cette anomalie est fréquemment observée lors de maladie inflammatoire chronique
- Une anémie régénérative microcytaire hypochrome modérée. Elle est souvent la cause de saignements digestifs persistants, notamment dans le cas des ulcérations gastro-intestinales. (GUILFORD, 1996), (JERGENS, et al., 1992), (TAMS, 2003)
- Une leucocytose. On l'observe lors d'érosions ou d'ulcérations de la muqueuse ou lorsque celle-ci est infiltrée par des neutrophiles. (GUILFORD, 1996)
- Une lymphopénie. Elle est généralement secondaire au recrutement massif de lymphocytes provoqué par l'inflammation intestinale. On observe également lors des phases actives de MICI une exsudation de fluides riches en lymphocytes dans la lumière intestinale. (GUILFORD, 1996)

#### **(iii.ii) *Biochimie sanguine***

- Une augmentation anormale des phosphatases alcalines (PAL) et/ou des transaminases hépatiques (ALAT). (GUILFORD, 1996)
- Une hyperamylasémie. Elle est attribuée à l'inflammation du tube digestif. (GUILFORD, 1996), (JERGENS, et al., 1992)
- Une hypocholestérolémie. Celle-ci fait suite à la baisse de l'absorption intestinale. (TAMS, 2003)
- Une légère hyperglycémie. (GUILFORD, 1996)
- Une hypoprotéinémie. Elle résulte soit d'une fuite protéique secondaire aux lésions de la muqueuse intestinale, soit d'un manque d'apport nutritionnel en cas d'anorexie, de vomissements fréquents ou de malabsorption des nutriments. Une fuite protéique peut également avoir lieu par pertes sanguines si la muqueuse gastro-intestinale est ulcérée et saigne. L'hypoprotéinémie liée aux MICI est généralement caractérisée par une diminution simultanée de l'albuminémie et de la globulinémie. (TAMS, 2003)

- Une hypokaliémie. Celle-ci fait souvent suite à l'anorexie et aux pertes de fluides digestifs par vomissements et diarrhée. (JERGENS, et al., 1992), (TAMS, 2003)
- Une hypocalcémie. Elle provient de la malabsorption du calcium intestinal.

### *(iii.iii) Analyse des fèces*

La réalisation d'une coproscopie et d'une culture sur les selles est utile pour explorer et exclure les hypothèses parasitaires et infectieuses du diagnostic différentiel. En cas de MICI, ces analyses ne révèlent aucune anomalie. (GUILFORD, 1996)

### *(iii.iv) Radiographie abdominale*

La réalisation de radiographies abdominales est également principalement utilisée pour exclure d'autres hypothèses du diagnostic différentiel. Elles permettent de visualiser certains corps étrangers et certaines masses tumorales. La réalisation de clichés avec produit de contraste pour un transit baryté peut aussi permettre de détecter des désordres de la vidange gastrique ou exclure des occlusions partielles de l'intestin. Cependant, les radiographies peuvent également être employées pour diagnostiquer des complications de MICI. (GUILFORD, 1996)

### *(iii.v) Echographie abdominale*

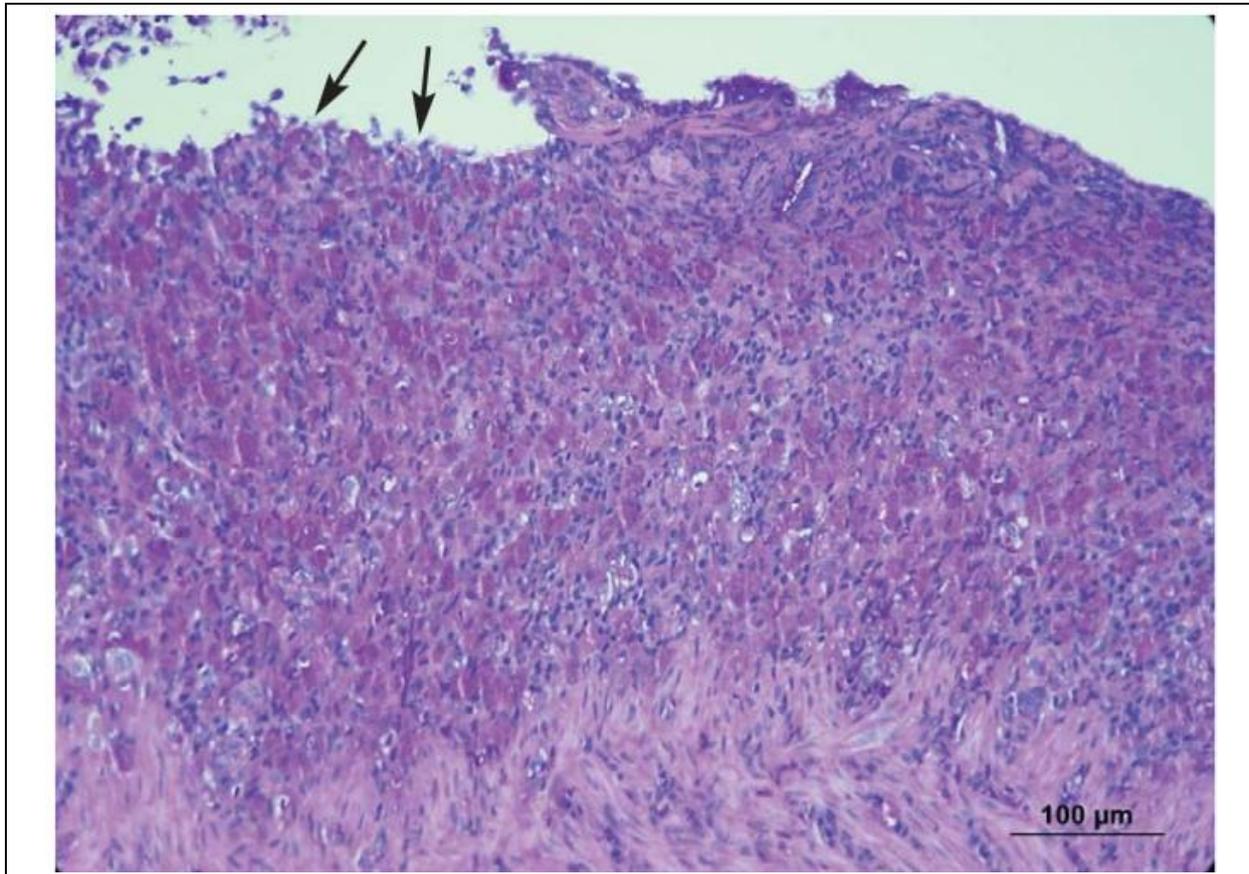
L'échographie est complémentaire de l'endoscopie, elle permet en effet l'identification d'anomalies indétectables par ce dernier examen. Elle permet notamment de visualiser les parois intestinales et de mesurer leur épaisseur, ainsi que d'explorer les différents organes de la cavité abdominale. Elle permet de plus de déterminer s'il vaut mieux réaliser les biopsies par une laparotomie exploratrice ou une endoscopie. (GUILFORD, 1996)

### *(iii.vi) Endoscopie digestive*

L'endoscopie est un examen indispensable au diagnostic de MICI. Elle permet de visualiser, décrire, cartographier et photographier directement les lésions digestives ainsi que d'en apprécier l'étendue et la sévérité. Lors de cet examen, il est nécessaire de réaliser au moins dix **biopsies** de la muqueuse intestinale. Des cytologies et des prélèvements de fluides pourront également être effectués. Des **analyses histologiques** seront réalisées sur ces différents échantillons. (TAMS, 2003)

Chez un chien atteint de MICI, on observe, du fait de l'inflammation, une augmentation de la granularité et de la friabilité de la muqueuse intestinale, qui saigne donc facilement au passage de l'endoscope. On note également une diminution de la visualisation des vaisseaux sous-muqueux du fait de l'épaississement de la muqueuse. Dans certains cas, un érythème et une congestion de la paroi peuvent être observés, ainsi que des lésions de fibrose et/ou des érosions ou ulcérations de la muqueuse. Dans certains types de MICI, les lésions sont plutôt diffuses, comme pour la colite lymphoplasmocytaire, et dans d'autres, elles sont principalement focales, comme pour la colite granulomateuse (ou colite histiocytaire ulcérate). (PRICE, et al., 1991), (TAMS, 2003)

Lors de l'analyse histologique, il est important de mettre en évidence une inflammation chronique du tube digestif et notamment de la *lamina propria* de l'intestin grêle et/ou du côlon et/ou de l'estomac. Cette inflammation est caractérisée par une infiltration inflammatoire de la muqueuse intestinale (cf. **I.2.2.2.**) (Figure 9). C'est seulement l'observation de cet infiltrat associé à l'exclusion des autres causes de diarrhées qui permet d'établir le diagnostic définitif de maladie inflammatoire chronique de l'intestin.



*On note une infiltration marquée du chorion par une population d'histiocytes.  
Flèches : Erosions de la muqueuse colique.*

**Figure 9 : Coupe histologique d'une biopsie colique d'un Boxer atteint de colite histiocytaire ulcéreuse**

D'après E. Krafft (2010)

**I. 2. 2. 7. Traitement**

Il n'existe actuellement aucun traitement totalement efficace contre les MICI. Une guérison complète n'est généralement pas possible ; une rémission clinique peut cependant être obtenue sur des périodes plus ou moins longues. La maladie évolue en effet sous forme cyclique, alternant des phases de rémissions et des phases de poussées lors desquelles on note une intensification des symptômes. La prise en charge thérapeutique des MICI consiste alors à améliorer les symptômes et le confort de vie de l'animal et du propriétaire.

Ce traitement est basé sur une prise en charge diététique, et éventuellement médicale avec des traitements immunosuppresseurs, anti-infectieux et des modificateurs de la motilité digestive.

Il est crucial d'informer le propriétaire sur le pronostic et le caractère chronique et cyclique de la maladie pour obtenir son consentement éclairé avant de démarrer la prise en charge thérapeutique de l'animal. (GUILFORD, 1996)

(i) **Prise en charge diététique**

Lors de MICI, la première et principale mesure à prendre est d'adapter l'alimentation de l'animal. Pour les formes les plus bénignes, la prise en charge diététique est parfois suffisante pour obtenir la rémission clinique. Dans tous les cas, la diététique permet d'améliorer et d'accélérer l'efficacité du traitement médical, ainsi que de diminuer les doses minimales efficaces des divers médicaments prescrits lors du contrôle à long terme de la maladie. (TAMS, 2003)

On prescrit généralement un régime contrôlé, c'est-à-dire une alimentation où tous les ingrédients, ou au moins une grande partie, sont contrôlés par le vétérinaire. Idéalement on choisit de n'utiliser qu'une seule source de protéines et une seule source de glucides, chacune étant hautement digestible. On évite également les additifs alimentaires, les conservateurs et colorants, le gluten et le lactose. On préfère une ration à faible teneur en graisse qui soit hypoallergénique, isotonique et avec suffisamment de potassium et de vitamines pour répondre aux besoins de l'animal. Une bonne appétence, un bon équilibre nutritionnel et une certaine commodité de préparation sont également nécessaires. (BROWN, et al., 1995), (GUILFORD, 1997)

Dans des cas de MICI plus sévères, il peut être nécessaire de mettre en place une nutrition assistée entérale ou parentérale. (TAMS, 2003)

La prise en charge diététique du chien malade permet notamment de diminuer les réactions d'hypersensibilité aux antigènes alimentaires, de lutter contre la malnutrition et de modifier la motilité gastro-intestinale. Elle permet également d'obtenir des effets bénéfiques sur la morphologie et les fonctions de la muqueuse intestinale ainsi que sur la composition quantitative et qualitative du microbiote intestinal. (GUILFORD, 1996)

(ii) **Prise en charge médicale**

Le traitement médical des MICI est composé de traitements spécifiques permettant de moduler la réponse immunitaire, de diminuer l'inflammation intestinale et de réguler la composition du microbiote intestinal, ainsi que de traitements symptomatiques permettant notamment de limiter la diarrhée et les vomissements.

## **(ii.i) Traitement symptomatique**

### Anti-diarrhéiques

Il est intéressant d'utiliser certains opioïdes pour ralentir le transit intestinal et réduire la diarrhée. On utilise généralement le **lopéramide** (LOPERAL<sup>NDV</sup>), à la dose de 0,1 à 0,2 mg/kg deux à trois fois par jour, ou dans une moindre mesure le **diphénoxylate** (LOMOTIL<sup>NDH</sup>), à la dose de 0,1 à 0,2 mg/kg trois fois par jour. On effectue des traitements de courte durée pour ne pas induire d'iléus iatrogène.

Ces médicaments permettent de diminuer les contractions péristaltiques et d'augmenter l'amplitude des contractions segmentaires. La diminution du transit permet également d'augmenter l'absorption hydrique et d'électrolytes dans l'intestin grêle et le côlon. De plus, ces opioïdes inhibent l'activité de certains médiateurs de l'inflammation (comme l'entérotoxine d'E. coli, les acides biliaires, les prostaglandines E2, ou encore le VIP (*vasoactive intestinal peptide*). (GUILFORD, 1996), (SHERDING, 2003), (FOLLIOU, et al., 2004), (BOOTHE, 1999)

Avant toute utilisation, il est nécessaire de s'assurer de l'absence de bactérie pathogène. En effet, dans cette situation, un ralentissement du transit pourrait favoriser la multiplication de cette bactérie ainsi qu'une translocation bactérienne pouvant conduire à une septicémie.

### Anticholinergiques

Les anticholinergiques ont également une légère action inhibitrice du péristaltisme intestinal, mais celle-ci n'est pas très efficace sur la motilité du côlon. Ils n'ont donc que peu d'intérêt dans le traitement des MICI et on préférera utiliser les opioïdes pour cette fonction. Ils sont cependant parfois utilisés chez certains chiens à colite pour soulager les douleurs abdominales résultant de spasmes coliques, bien que leur efficacité ne soit pas démontrée. Il est également envisageable d'utiliser des antispasmodiques, comme le phloroglucinol (SPASMOGLUCINOL<sup>NDV</sup>), pour ce type de douleur, mais leur efficacité n'est pas non plus démontrée pour cette application. (GUILFORD, 1996)

### Antivomitifs

Le métopramide (PRIMPERID<sup>NDV</sup>) est un anti-vomitif pro-kinétique. Il accélère la vidange gastrique et améliore la motilité de l'intestin grêle. Sa durée d'action est relativement courte, c'est pourquoi une administration fréquente est préconisée. On l'utilise à une dose de 0,2 à 0,5 mg/kg *per os* trois à quatre fois par jour une demi-heure avant le repas, sans dépasser 10 mg par prise. (GUILFORD, 1996)

### Pansements gastro-intestinaux

Il est fréquent lors de vomissements et de diarrhée d'utiliser des protecteurs gastro-intestinaux pour protéger les muqueuses digestives. Il en existe plusieurs ayant chacun un site d'action préférentiel. (LEVENT, 2002), (PETIT, 2014)

Le phosphate d'aluminium (PHOSPHALUVET<sup>NDV</sup>) protège principalement les muqueuses gastrique et duodénale proximale. On l'emploie à la dose de 0,5 mg/kg trois fois par jour.

La smectite (SMECTVET<sup>NDV</sup>) protège essentiellement la muqueuse colique et un peu celle de l'intestin grêle. Elle est utilisée à la dose de 250 mg/kg deux fois par jour.

Le KAOPECTATE<sup>NDV</sup> est une préparation intéressante lors de colite de part son association entre la pectine et le kaolin. La pectine permet de protéger la muqueuse intestinale et de ralentir le transit digestif. Le kaolin quant à lui, absorbe les toxines bactériennes et les acides organiques secondaires à la maldigestion.

Le sucralfate (ULCAR<sup>NDH</sup>) protège surtout la muqueuse gastrique. Il est utile lors d'ulcères gastro-intestinaux.

### Antiacides

Dans certains cas de MICI accompagnés d'une gastrite chronique et de vomissements, il peut être intéressant de prescrire des antiacides.

La cimétidine (ZITAC<sup>NDV</sup>), un antihistaminique de type 2 (anti-H2), est la molécule la plus fréquemment utilisée. On l'emploie chez le chien à la dose de 5 mg/kg trois fois par jour pendant 2 à 4 semaines. (TAMS, 2003)

La ranitidine (AZANTAC<sup>NDH</sup>), un autre anti-H2, peut également être utilisé à la dose de 2 mg/kg trois fois par jour pendant la même durée.

### Fluidothérapie

Dans certains cas sévères de MICI, une hospitalisation et une mise sous perfusion de l'animal est nécessaire pour couvrir les pertes hydriques occasionnées par la diarrhée et les vomissements. La fluidothérapie doit être mise en place sur tout animal déshydraté, lors d'anorexie et d'adipsie et lors de diarrhée et/ou vomissements fréquents. On utilise généralement des cristalloïdes comme le NaCl à 0,9% ou le Ringer Lactate. Lors d'hépatite secondaire à la MICI, on préférera l'emploi du premier.

Il est également intéressant d'effectuer un ionogramme pour évaluer et corriger les déséquilibres ioniques et acido-basiques pouvant être occasionnés par la diarrhée et les vomissements. (SEGALEN, 2008)

### ***(ii.ii) Traitement immunosuppresseur***

Lors de MICI, l'utilisation de médicaments immunosuppresseurs en association avec le régime alimentaire a prouvé l'augmentation de la rapidité de la résolution des symptômes et de la période de rémission.

### Corticothérapie

Les corticoïdes sont le traitement de choix des MICI. Leur efficacité est principalement liée à leurs propriétés anti-inflammatoires et immunosuppresseuses, mais leur effet orexigène ainsi que l'augmentation de l'absorption d'eau, de sodium et de glutamine par la muqueuse intestinale contribuent aussi largement à l'amélioration de l'état général de l'animal. La prednisolone et la prednisone sont les corticoïdes les plus couramment utilisés. (GUILFORD, 1996), (MARKS, 1998)

Lors de MICI légères à modérées, on les emploie à une dose d'induction de 0,5 à 1,5 mg/kg/jour *per os* pendant 2 à 4 semaines. On diminue ensuite la dose de moitié toutes les deux à trois semaines, puis on passe à un traitement à jours alternés (un jour sur deux ou un jour sur trois). Le but est d'obtenir la dose minimale efficace. Celle-ci est généralement comprise entre 0,5 et 1 mg/kg de prednisolone une fois tous les deux jours. Une fois la rémission clinique obtenue, il faut attendre deux à trois mois avant de tenter d'arrêter la corticothérapie, les récurrences à l'arrêt du traitement sont cependant possibles. (TAMS, 1987)

Lors de MICI modérées à sévères, ainsi que lors de MICI associées à une hypoprotéinémie sévère, il faut employer des doses plus élevées de corticoïdes. On prescrit alors une dose initiale d'environ 2,2 mg/kg/jour pendant 2 à 4 semaines avant d'entamer une diminution des doses comme précédemment. Pour les formes graves avec amaigrissement et anorexie, il est fréquent de commencer à des doses de 4 mg/kg/jour pendant au moins 1 mois. Les chiens dans ces situations ont parfois besoin de maintenir par la suite un traitement à jours alternés de plusieurs mois, voire années, pour maintenir la rémission. Dans certains cas, une corticothérapie à vie est nécessaire. (TAMS, 1987)

Cependant la corticothérapie est à l'origine de nombreux effets secondaires au long terme. Dans le cas où ceux-ci deviennent préoccupants, il faut arrêter le traitement pendant environ 12 à 36 h, puis réintroduire la prednisolone à une dose réduite de 25 à 50 % de la dose précédente. Il est également intéressant de remplacer la prednisolone ou la prednisone par la dexaméthasone à la dose de 0,01 à 0,02 mg/kg/jour, cette molécule est en effet mieux tolérée par la plupart des chiens. (TAMS, 2003)

Dans la plupart des cas, une fois la rémission clinique obtenue, il faut essayer de la maintenir à l'aide du seul régime alimentaire contrôlé. Les rechutes sont malheureusement fréquentes et nécessitent généralement des cures répétées de corticoïdes.

L'utilisation d'une association de la corticothérapie avec d'autres traitements anti-inflammatoires et/ou antibiotiques, comme la sulfasalazine et le métronidazole, est fortement recommandée en début d'évolution pour contrôler la maladie plus rapidement. (TAMS, 1987) Une telle association est également recommandée lors des cas nécessitant un traitement corticoïde à vie.

Dans ces cas de MICI graves ou réfractaires aux traitements classiques, ou encore pour pouvoir diminuer la dose de corticoïdes, il est parfois indiqué d'utiliser d'autres molécules immunosuppressives, comme l'azathioprine ou encore la ciclosporine. (GUILFORD, 1996)

### Azathioprine

L'azathioprine (IMUREL<sup>NDH</sup>) est un médicament uniquement disponible en médecine humaine sous forme de comprimé de 50 mg, qu'il faudra généralement faire reconditionner en pharmacie. Il possède des propriétés immunosuppressives, antimétaboliques et cytotoxiques. On l'utilise couramment chez le chien comme traitement adjuvant des MICI sévères ou réfractaires (MARKS, 1998), ou lorsque le dosage de corticoïdes nécessaire au maintien de la rémission est mal toléré. L'association de l'azathioprine avec les corticoïdes permet en effet de diminuer la dose de ces derniers d'au moins un facteur 2, et parfois même de s'en passer complètement. (TAMS, 1987)

Chez le chien, on emploie cette molécule à la dose de 2 à 2,5 mg/kg une fois par jour, puis après 4 semaines, on diminue la dose à 0,3 mg/kg un jour sur deux. Le traitement est généralement maintenu pour une période de 3 à 9 mois. (TAMS, 1987), (LEIB, et al., 1991)

Les résultats obtenus avec l'azathioprine sont généralement satisfaisants à court terme, une amélioration étant notée en 2 à 8 semaines. Cependant l'efficacité semble s'amoinrir sur le long terme. De plus cette molécule peut provoquer divers effets secondaires, dont une aplasie médullaire souvent réversible avec l'arrêt du traitement. (GUILFORD, 1996)

#### Autres immunosuppresseurs

D'autres molécules immunosuppressives sont parfois utilisées en association avec les corticoïdes dans le traitement des MICI.

On emploie parfois des agents alkylants, comme la cyclophosphamide (CYTOXAN<sup>NDH</sup>), qui possède une action immunosuppressive secondaire à la lymphopénie qu'elle entraîne. Chez le chien, cette molécule peut provoquer une aplasie médullaire ou une cystite hémorragique stérile. (GUILFORD, 1996), (MARKS, 1998)

On peut également utiliser la ciclosporine A (ATOPICA<sup>NDV</sup>), un autre agent immunosuppresseur qui inhibe diverses cytokines et notamment l'interleukine-2, laquelle est à l'origine de la prolifération des cellules de l'immunité. L'efficacité de cette molécule a été montrée dans le traitement de chiens atteints de MICI réfractaires aux corticoïdes à dose élevée (ALLENSPACH, et al., 2006). Ces chiens ont été traités avec une dose quotidienne de 5 mg/kg *per os* pendant 10 semaines. De plus la ciclosporine A ne provoque que peu d'effets secondaires, c'est donc un traitement très intéressant malgré son prix élevé.

#### **(ii.iii) Traitement antibiotique**

##### Métronidazole

Le métronidazole (FLAGYL<sup>NDH</sup>) est un antibiotique possédant une forte action bactéricide contre les bactéries anaérobies, lesquelles sont souvent impliquées dans divers troubles digestifs. De plus, cette molécule possède une activité anti-protozoaire, notamment contre *Giardia spp.*, et une action immunorégulatrice par l'inhibition de l'immunité à médiation cellulaire. Cette dernière action est très intéressante lors de MICI en complément des corticoïdes, un processus dysimmunitaire intervenant dans cette maladie. Le métronidazole a également un effet bénéfique sur le taux des enzymes de la muqueuse digestive et sur l'absorption intestinale de divers nutriments, comme le glucose ou encore les acides aminés. (GUILFORD, 1996), (FOLLIOT, et al., 2004)

Pour ces diverses propriétés, cet antibiotique est fréquemment utilisé dans le traitement de diverses maladies intestinales, dont les MICI, à la fois en médecine humaine et animale.

Chez le chien, lors de MICI, on utilise souvent le métronidazole en association avec d'autres molécules. Il est en effet la molécule de choix à combiner à la prednisolone dans les situations où les traitements corticoïdes et diététique ne suffisent pas. Cette association permet également de diminuer les doses des autres médicaments. On l'utilise à la dose de 10 à 20 mg/kg deux à trois fois par jour pendant 2 à 4 semaines. On diminue ensuite la dose pendant 1 à 3 mois supplémentaires. (GUILFORD, 1996), (TAMS, 2003)

### Autres antibiotiques

D'autres antibiotiques sont également parfois utilisés pour traiter les chiens atteints de MICI. (GUILFORD, 1996), (TAMS, 2003), (GUILFORD, 1996) On trouve décrit dans la littérature :

- La tylosine à la dose de 5 mg/kg deux fois par jour ;
- La tétracycline à la dose de 10 à 20 mg/kg trois fois par jour ;
- La doxycycline à la dose de 5 mg/kg deux fois par jour ;
- L'amoxicilline à la dose de 10 à 20 mg/kg trois fois par jour.

### *(ii.iv) Traitement anti-inflammatoire*

#### Sulfasalazine

La sulfasalazine (SALAZOPYRINE<sup>NDH</sup>) est un anti-inflammatoire non stéroïdien appartenant à la fois à la famille des sulfamides (antibiotique) et des salicylés. On l'utilise principalement dans le traitement à long terme des MICI coliques. Il arrive effectivement que les corticoïdes ne soient pas complètement efficaces lors de ces affections, d'où l'association des deux. (GUILFORD, 1996)

Ce médicament est composé de l'union d'une molécule de sulfapyridine et d'une d'acide 5-amino-salicylique. Ces deux composés sont ensuite libérés par une réaction bactérienne ; la sulfapyridine est absorbée et métabolisée par le foie, tandis que l'acide 5-amino-salicylique reste dans la lumière colique où elle exerce une activité immunosuppressive et anti-inflammatoire locale en inhibant l'activité de la lipo-oxygénase à l'origine d'une baisse de la synthèse des leucotriènes.

La sulfasalazine est généralement utilisée chez le chien à la dose d'environ 12,5 mg/kg trois à quatre fois par jour pendant 2 semaines, puis deux à trois fois par jour pendant encore 4 semaines à plusieurs mois selon la gravité des symptômes. (GUILFORD, 1996), (JERGENS, 1999) Cependant, les dosages utilisés sont variés et des quantités plus élevées sont parfois préconisées par certains auteurs, allant de 30 jusqu'à 200 mg/kg/jour répartis en deux à trois prises quotidiennes, le tout à dose dégressive pendant plusieurs semaines. Le choix des modalités du traitement anti-inflammatoire est fonction du type de MICI, de l'animal et du praticien. Le traitement est également souvent maintenu plusieurs semaines après la rémission de l'animal. (JERGENS, 1999), (SHERDING, 2003)

Chez le chien, des effets secondaires relativement fréquents sont observés, les plus courants sont l'anorexie et les vomissements. (GUILFORD, 1996), (JERGENS, 1999)

#### Dérivés de la sulfasalazine

Divers dérivés de la sulfasalazine, utilisables chez le chien, ont également été développés en médecine humaine, comme la mésalazine (PENTASA<sup>NDH</sup>) ou encore l'olsalazine (DIPENTUM<sup>NDH</sup>). Ceux-ci ont l'avantage de provoquer moins d'effets secondaires, cependant peu de données sont disponibles à ce sujet dans l'espèce canine. (GUILFORD, 1996), (PEPPERCORN, 1990)

#### (ii.v) *Arrêt du traitement médical*

Un essai d'arrêt du traitement médical est généralement entrepris après 2 à 3 mois de contrôle de la maladie avec un traitement administré deux fois par semaine. Si les signes cliniques réapparaissent, le traitement est alors repris tous les jours pendant 1 à 2 semaines avant d'entreprendre de nouveau une diminution des doses.

La décision d'arrêter le traitement dépend cependant d'une évaluation régulière de la réponse clinique et biologique de l'animal par le vétérinaire, des doses de médicaments nécessaires au maintien de la rémission et dans l'idéal d'un suivi des lésions histologiques qui n'est généralement pas effectué pour des raisons de coût et de confort de l'animal. (TAMS, 1987)

### **I. 2. 3. Syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle et diarrhées répondant aux antibiotiques**

#### **I. 2. 3. 1. Définition et étiologie**

Le syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal, dénommé « *small intestinal bacterial overgrowth* » (*SIBO*) dans la littérature anglo-saxonne, est une affection digestive existant chez le chien et l'être humain, secondaire à un développement anormal de la flore bactérienne intestinale à l'origine d'une diarrhée chronique.

Ce syndrome est décrit pour la première fois chez le chien dans les années 1980. (HOENIG, 1980) Il correspond normalement à une augmentation du nombre absolu de bactéries dans la portion la plus proximale de l'intestin grêle du chien à jeun.

Chez le chien, on parle de prolifération bactérienne de l'intestin grêle lorsqu'on observe dans la lumière du duodénum ou du jéjunum une augmentation du nombre total de bactéries, c'est-à-dire **plus de 10<sup>5</sup> bactéries par millilitre**, ou du nombre de bactéries anaérobies, c'est-à-dire **plus de 10<sup>4</sup> bactéries anaérobies par millilitre**. (BATT, et al., 1983)

Cependant, la définition de ce syndrome est controversée. Ainsi certains auteurs le définissent d'après l'augmentation du nombre de bactéries (RUTGERS, et al., 1995), (RUTGERS, et al., 1996), d'autres comme l'association d'une entité clinique caractérisée par une diarrhée chronique et de résultats positifs de culture bactérienne (WILLARD, et al., 1994), et d'autres encore comme une affection digestive chronique touchant les chiens de grande race et répondant aux antibiotiques pour laquelle aucune cause sous-jacente n'a pu être déterminée. (GERMAN, et al., 2003), (WESTERMARCK, et al., 2005)

On classe actuellement ce syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal en deux catégories. Il peut être qualifié soit de **primaire** ou idiopathique, soit de **secondaire** s'il existe une cause sous-jacente à la prolifération bactérienne. (GERMAN, et al., 2003)

Cependant, lors de diarrhées chroniques pour lesquelles aucune cause n'a été trouvée, et répondant complètement à un traitement antibiotique, certains auteurs préfèrent employer le

terme de diarrhées idiopathiques répondant aux antibiotiques, terminologie qui a aujourd'hui remplacé celle de syndrome de prolifération bactérienne idiopathique dans la mesure où une augmentation du nombre de bactéries n'a pas été prouvée comme cause des symptômes. (WESTERMARCK, et al., 2005), (HALL, et al., 2009) En effet, il semblerait que les diarrhées répondant aux antibiotiques du chien ne soient pas réellement l'équivalent du syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle de l'homme. Dans cette espèce, contrairement à l'homme, les cultures de contenu duodéal des chiens atteints de la maladie n'ont pas montré d'augmentation significative du nombre de bactéries par rapport aux chiens sains. Il est donc suggéré que ce syndrome résulte soit d'une altération de la distribution des espèces bactériennes de la flore intestinale, soit d'une modification de la réponse de l'hôte à ses bactéries digestives. (WILLARD, et al., 1994) Dans la littérature anglo-saxonne on parle de « *antibiotic responsive diarrhoea* » (ARD).

C'est pourquoi il peut être plus judicieux dorénavant d'utiliser les termes suivants pour définir ce syndrome :

- **La diarrhée idiopathique répondant aux antibiotiques**, pour le syndrome de prolifération bactérienne idiopathique de l'intestin grêle proximal, lorsque la cause sous-jacente est inconnue.
- **Le syndrome de prolifération bactérienne secondaire de l'intestin grêle proximal**, lorsque la prolifération bactérienne est due à une cause sous-jacente identifiée. Les étiologies de cette affection sont nombreuses. Elle peut être secondaire à :
  - Une maldigestion ou une malabsorption de l'intestin grêle ;  
Celle-ci peut provenir d'une insuffisance pancréatique exocrine, qui est actuellement considérée comme la première cause de SIBO secondaire, d'une atrophie des villosités intestinales, d'une obstruction extrahépatique des voies biliaires, ou encore d'une insuffisance enzymatique des entérocytes d'origine congénitale.
  - Une altération du péristaltisme à l'origine de modifications des populations du microbiote intestinal ;  
Elle peut être causée par une obstruction digestive partielle par un corps étranger, une masse ou une sténose, un iléus paralytique, ou des anomalies anatomiques congénitales ou acquises.
  - Une diminution des facteurs de régulation de la croissance des populations bactériennes intestinales ;  
Elle peut par exemple être secondaire à une baisse de la production d'acide gastrique, généralement secondaire à un traitement antiacide chez l'animal.

### **I. 2. 3. 2. Epidémiologie**

Les diarrhées idiopathiques répondant aux antibiotiques touchent préférentiellement les races de chiens de grande taille, et notamment les **Bergers Allemands** qui semblent être prédisposés. Les jeunes chiens entre 2 et 2,5 ans ainsi que les mâles semblent plus fréquemment atteints, bien que cela ne soit pas démontré. (GUE, 1988), (RUTGERS, et al., 1996)

L'épidémiologie du syndrome de prolifération bactérienne secondaire de l'intestin grêle dépend quand à elle de la cause initiale.

### **I. 2. 3. 3. Expression clinique**

L'essentiel de la clinique des diarrhées idiopathiques répondant aux antibiotiques est représenté par une diarrhée chronique intermittente en début d'évolution, qui peut devenir continue par la suite. Elle possède les caractéristiques d'une diarrhée de l'intestin grêle, c'est-à-dire des selles molles, abondantes, avec une fréquence d'émission peu ou pas augmentée.

Cette diarrhée peut être accompagnée de stéatorrhée, ainsi que d'une perte de poids et/ou d'un retard de croissance, et s'associe souvent à une production excessive de gaz à l'origine de flatulences et de borborygmes. Des vomissements et des signes de colite sont également parfois rapportés. De plus, il est commun d'observer des troubles du comportement alimentaire chez les chiens atteints de cette maladie, avec notamment une polyphagie ou plus rarement une anorexie, et éventuellement du pica dont de la coprophagie. (WESTERMARCK, et al., 1993), (RUTGERS, et al., 1995), (JOHNSTON, 1999), (LECOINDRE, 2000), (WESTERMARCK, et al., 2005), (HALL, et al., 2009)

Le tableau clinique du syndrome de prolifération bactérienne secondaire de l'intestin grêle est également largement dominé par les troubles digestifs, et notamment la diarrhée chronique. Les autres symptômes observés dépendent généralement de la cause de la prolifération bactérienne. (HALL, et al., 2009)

### **I. 2. 3. 4. Diagnostic**

Chez le chien, le diagnostic de ce syndrome est difficile. Il correspond, comme pour les MICI, à un **diagnostic différentiel d'exclusion** des diarrhées chroniques (cf. **I.2.2.6.(ii)**) qui doit être conduit rigoureusement après la suspicion de la maladie sur des critères épidémiologiques et cliniques.

Plusieurs examens complémentaires doivent être effectués pour conforter l'hypothèse de la maladie et surtout exclure les autres causes potentielles de diarrhée chronique.

#### **(i) Bilan initial**

On commence par réaliser un bilan initial comprenant une analyse des selles, des analyses sanguines et une analyse d'urine.

On effectue une coproscopie pour éliminer les infestations parasitaires à Nématodes, Cestodes ou Protozoaires.

Un bilan biochimique de routine est réalisé. Il comprend notamment le dosage sérique des protéines totales, des enzymes hépatiques : les PAL et les ALAT, des acides biliaires, du cholestérol, de la TLI, et des amylases et lipases pancréatiques. Ces analyses permettent d'éliminer une partie des affections organiques extra-digestives notamment hépatiques et pancréatiques.

La réalisation d'une numération et formule sanguine et d'un bilan électrolytique s'avère également intéressante.

## (ii) Examens complémentaires

### (ii.i) *Test direct : Culture de chyme duodéal*

La culture de chyme duodéal est l'examen de référence pour le diagnostic du syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal. C'est en effet le seul test direct permettant le diagnostic de certitude d'une prolifération bactérienne. (LECOINDRE, 2000), (GERMAN, et al., 2003)

Un prélèvement de chyme duodéal est réalisé sous anesthésie générale par endoscopie ou laparotomie. Les échantillons obtenus sont ensuite immédiatement mis en culture aérobie et anaérobie.

Si la concentration du chyme duodéal en bactéries est supérieure à  $10^5$  germes totaux par millilitre, on confirme l'existence d'une prolifération microbienne (BATT, et al., 1983), bien que dans cette situation la valeur soit généralement proche de  $10^9$ . (LECOINDRE, 2000)

### (ii.ii) *Tests indirects*

Divers tests indirects sont également parfois réalisés pour mettre en évidence des témoins de la présence de bactéries en excès. Ceux-ci ont été développés pour pallier aux difficultés de réalisations du test direct. Bien que moins invasifs, ils ne sont pas toujours de réalisations faciles ni d'interprétation aisées.

## Dosages des folates et de la vitamine B12

Une grande partie des bactéries digestives sont capables de synthétiser des folates ensuite fortement absorbés par la muqueuse de l'intestin grêle. De plus ces bactéries ont la capacité de capter et d'utiliser la vitamine B12, et donc de limiter son absorption.

En cas de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal, on peut donc observer une augmentation de la concentration sérique en folates et/ou une baisse de la concentration sérique en vitamine B12. (BATT, et al., 1982), (RUTGERS, et al., 1995), (GERMAN, et al., 2003)

Ce test diagnostique est très peu sensible, il est cependant hautement spécifique, surtout lors de l'association de l'augmentation des folates et de la diminution de la vitamine B12 où l'on atteint une spécificité de 100% (Tableau V). (RUTGERS, et al., 1995)

**Tableau V : Efficacité diagnostique du dosage sérique des folates et de la vitamine B12 dans le cas du syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal**

D'après H.C. Rutgers (1995)

<i>Concentration sérique</i>	<i>Sensibilité</i>	<i>Spécificité</i>	<i>Valeur prédictive négative</i>	<i>Valeur prédictive positive</i>
<b>Folates &gt; 8,8 µg/L</b>	51%	79%	61%	72%
<b>Vit B12 &lt; 200 ng/L</b>	24%	87%	52%	67%
<b>Folates &gt; 8,8 µg/L et Vit B12 &lt; 200 ng/L</b>	5%	<b>100%</b>	50%	<b>100%</b>

Autres tests indirects

D'autres examens d'analyses indirectes de la surpopulation bactérienne sont également réalisés par certains laboratoires. Ils ne sont cependant généralement pas accessibles facilement aux vétérinaires généralistes.

On peut mesurer le taux d'hydrogène expiré. En effet celui-ci est représentatif du métabolisme des glucides par le microbiote intestinal, il augmente donc en même temps que la flore bactérienne. (GAMET, 1999)

Le dosage sérique des acides biliaires non conjugués totaux est un autre test indicateur de prolifération bactérienne. En effet, certaines bactéries, et principalement les anaérobies, ont la capacité de déconjuguer les acides biliaires, d'où une élévation de leur valeur de base lors d'une augmentation de la population bactérienne intestinale. (GERMAN, et al., 2003)

On peut également effectuer une analyse histologique sur des biopsies de la muqueuse duodénale. Lors de prolifération bactérienne, on peut parfois observer une subatrophie des villosités, ainsi qu'un infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire modéré. Cependant, ces lésions ne sont pas constantes et ne sont pas du tout spécifiques d'une prolifération bactérienne. (RUTGERS, et al., 1996), (LECOINDRE, 2000)

**(iii) Diagnostic thérapeutique**

Devant les difficultés de diagnostic découlant de la praticabilité et de l'efficacité des différents tests, un **traitement d'épreuve aux antibiotiques** est généralement recommandé au lieu des divers examens cités ci-dessus. (WILLARD, et al., 1994)

Si la réponse au traitement antibiotique est favorable, un diagnostic de diarrhée idiopathique répondant aux antibiotiques peut être établi à condition que le diagnostic d'exclusion ait été préalablement correctement conduit. (GERMAN, et al., 2003)

### I. 2. 3. 5. Traitement

#### (i) Traitement de la diarrhée idiopathique répondant aux antibiotiques

Le traitement de la diarrhée idiopathique répondant aux antibiotiques repose, comme son nom l'indique, sur une antibiothérapie. Celle-ci doit être raisonnée et prendre en considération les critères habituels tels que le spectre d'activité, les résistances, la voie d'administration et la pharmacocinétique de la molécule, la toxicité éventuelle du produit selon la race et l'âge de l'animal, et bien sûr le critère financier, important pour certains propriétaires.

Les antibiotiques permettent de réduire la prolifération bactérienne de façon à rétablir un écosystème microbien stable dans les premières portions digestives afin d'interrompre le processus pathologique. C'est pourquoi il faut utiliser des antibiotiques à large spectre d'activité à la fois actif sur les bactéries Gram + et Gram -. (HALL, et al., 2009), (GERMAN, et al., 2003) Il existe toutefois, avec les antibiotiques à larges spectres, un risque de perturber le microbiote intestinal et/ou de sélectionner des germes résistants.

La durée appropriée du traitement antibiotique est inconnue, cependant un traitement initial d'un mois est préconisé. (WILLIAMS, 1996)

Plusieurs antibiotiques répondant aux critères cités ci-dessus peuvent être utilisés en première intention (RUTGERS, et al., 1995), (HALL, et al., 2009) :

- Les **nitro-imidazoles**, comme le métronidazole (FLAGYL<sup>NDH</sup>) à la dose de 10 à 20 mg/kg deux à trois fois par jour pendant 4 semaines ;
- Les **tétracyclines**, comme la doxycycline (DOXYVAL<sup>NDV</sup>) à la dose de 5 à 10 mg/kg deux fois par jour pendant 4 semaines ;
- Les **macrolides**, comme la tylosine (TYLAN<sup>NDV</sup>) à la dose de 10 à 20 mg/kg deux à trois fois par jour pendant 4 semaines ; ou encore la spiramycine en association avec le métronidazole (STOMORGYL<sup>NDV</sup>) aux doses respectives de 150 000 UI/kg/jour et 25 mg/kg/ jour pendant 3 à 4 semaines.

La tylosine a par ailleurs montré une grande efficacité lors du traitement de certaines diarrhées répondant aux antibiotiques. Une sous catégorie de ce syndrome a ainsi été formée et qualifiée de diarrhées répondant à la tylosine, appelée « *tylosin-responsive diarrhea* » (TRD) dans la littérature anglo-saxonne. (WESTERMARCK, et al., 2005)

En deuxième intention, on utilise généralement les **fluoroquinolones** telles que la marbofloxacin ou l'enrofloxacin.

Après un traitement antibiotique d'une durée de 3 à 4 semaines, il est recommandé d'effectuer de nouveaux dosages sériques des folates et de la vitamine B12. En cas de guérison clinique et de normalisation des taux sériques des vitamines mesurées, il est possible d'arrêter le traitement. Si l'évolution clinique de l'animal ainsi que résultats des dosages ne sont pas satisfaisants, le vétérinaire doit soit changer d'antibiotiques, soit réévaluer le

diagnostic en essayant de trouver une cause favorisant de prolifération bactérienne, soit prolonger le même traitement antibiotique.

L'échec de l'antibiothérapie est le plus souvent dû à une cause sous-jacente (non diagnostiquée et/ou non traitée), à l'association de la maladie avec des lésions intestinales graves, à une antibiorésistance ou à une affection intercurrente. (LECOINDRE, 2000)

(ii) **Traitement du syndrome de prolifération bactérienne secondaire de l'intestin grêle**

Lorsqu'il existe une cause sous-jacente à la prolifération bactérienne, la prise en charge thérapeutique repose sur le traitement de toutes les affections intervenant dans le processus pathologique. Une fois la cause principale traitée, on observe généralement une amélioration significative voire complète de la prolifération bactérienne.

Une insuffisance pancréatique exocrine est traitée par l'apport externe d'enzymes pancréatiques (TRYPLASE<sup>NDV</sup>). Une giardiose se traite avec du métronidazole, à la dose de 25 mg/kg/jour pendant cinq jours ou du fenbendazole à la dose de 50 mg/kg/jour pendant trois jours. Lors de suspicion d'hypomotilité de l'intestin grêle proximal, on peut employer des prokinétiques tel que le cisapride à la dose de 0,2 à 0,5 mg/kg trois fois par jour. En cas de lésions graves de la muqueuse, des immunosuppresseurs peuvent être administrés, comme la prednisone à la dose de 1 à 2 mg/kg/jour en deux prises quotidiennes, l'azathioprine à la dose de 1 à 2 mg/kg/jour, ou encore la ciclosporine à la dose de 0,5 à 8,5 mg/kg deux fois par jour. (WILLIAMS, 1996), (LECOINDRE, 2000), (WESTERMARCK, et al., 2005)

(iii) **Prise en charge diététique**

Dans tous les cas, une prise en charge diététique avec une alimentation hautement digestible et une teneur réduite en graisses est préconisée. Celle-ci permet d'améliorer la diarrhée et d'aider à contrôler la surpopulation bactérienne. La supplémentation de la ration avec des prébiotiques comme les fructo-oligo-saccharides (FOS) est également intéressante pour stimuler certaines populations bactériennes bénéfiques qui permettent d'améliorer, de stabiliser le microbiote intestinal et de contrôler le développement de certaines espèces pathogènes. (LECOINDRE, 2000), (WILLARD, et al., 1994)

De plus, il est nécessaire de supplémenter les chiens présentant une malabsorption de la vitamine B12. Cette vitamine joue en effet un rôle crucial dans le renouvellement cellulaire de la muqueuse intestinale. Une injection sous-cutanée de 500 µg de vitamine B12 est alors réalisée tous les mois pendant 6 mois. (LECOINDRE, 2000)

## I. 2. 4. Syndrome de l'intestin irritable

### I. 2. 4. 1. Définition

Le syndrome de l'intestin irritable, ou syndrome du côlon irritable, est une affection digestive chronique d'origine fonctionnelle sans lésion anatomique associée. Dans la littérature anglo-saxonne, on parle de « *irritable bowel syndrome* » (*IBS*). Ce syndrome est parfois appelé côlon spastique, diarrhée fonctionnelle ou encore diarrhée nerveuse. (LECOINDRE, et al., 2010)

Trois formes de «côlon irritable» ont été décrites dans la littérature. Une forme caractérisée par de la **diarrhée**, une autre par de la **constipation**, et une **mixte** associant les deux symptômes. (LECOINDRE, 2011)

### I. 2. 4. 2. Etiologie

L'étiopathogénie du syndrome de l'intestin irritable est encore mal connue. On considère actuellement que cette maladie est principalement provoquée par des problèmes comportementaux et le **stress** chez des animaux prédisposés.

Chez le chien, comme chez l'homme, la somatisation du stress et de l'anxiété a des répercussions intestinales qui peuvent être à l'origine de l'apparition de signes cliniques digestifs comme de la diarrhée ou de la constipation. On parle parfois de troubles psychogènes. Chez l'animal un abandon, un conflit au sein de la famille, des perturbations hiérarchiques, certains comportements du propriétaire, ou encore diverses modifications de l'environnement immédiat de l'animal peuvent déclencher ces signes cliniques.

Certains chiens semblent plus sujets à l'anxiété et sont incapables d'ajuster leur réponse au stress. Ceux-ci sont généralement prédisposés à présenter diverses réponses organiques à des situations de stress important ou chronique. Ils présentent alors régulièrement la symptomatique du syndrome de l'intestin irritable. (LECOINDRE, et al., 2010)

Bien que le stress soit souvent déterminant dans l'apparition de ce syndrome, il semble qu'il ne soit pas le seul élément capable de déclencher cette maladie. Divers facteurs aggravant ont également été identifiés dans le cas du syndrome du côlon irritable.

Une alimentation inadaptée augmente le risque de développer des troubles digestifs. Une carence en fibres alimentaires ou une ingestion inhabituelle d'aliments gras sont ainsi reconnus comme étant des facteurs aggravants, voire déclencheurs de troubles fonctionnels digestifs.

Des processus allergiques ainsi que des phénomènes d'intolérance digestive à certains aliments pourraient également être à l'origine du développement de ce syndrome.

Il est suggéré que le stress, en plus de son rôle déterminant dans le développement de la maladie, puisse également être un des facteurs aggravant principaux de ce syndrome en

stimulant la libération d’histamine par les mastocytes, ce qui entretient une inflammation chronique, notamment au niveau intestinal. (LECOINDRE, et al., 2010)

#### **I. 2. 4. 3. Expression clinique**

L’expression clinique du syndrome de l’intestin irritable est dominée par des symptômes gastro-intestinaux auxquels sont associés des signes extradiigestifs. Les troubles sont consécutifs à un dysfonctionnement moteur du côlon voire de tout le tube digestif. On note cependant l’absence de lésions anatomiques. (LECOINDRE, et al., 2010)

Les chiens atteints de ce syndrome présentent souvent une douleur et une distension abdominale, ainsi que des troubles du transit, comme des épisodes isolés de constipation ou de diarrhée, ou une alternance entre les deux. Un ténesme et une émission de glaires sont également fréquemment observés lors des défécations. De plus, les animaux malades présentent fréquemment des vomissements, des régurgitations ou du ptyalisme. Dans de rares cas, certains chiens souffrent d’hématochézie.

Les divers symptômes apparaissent généralement brusquement sous la forme de crises, faisant suite à un stress chez des patients semblant en bonne santé. (LECOINDRE, et al., 2010)

#### **I. 2. 4. 4. Diagnostic**

Chez le chien, le diagnostic du syndrome de l’intestin irritable est un **diagnostic d’exclusion**. Il convient d’éliminer, comme pour les maladies présentées précédemment, toutes les affections de l’intestin responsables d’une diarrhée chronique (cf. **I.2.2.6.(ii)**).

Aucun des symptômes observés chez les animaux malades n’est spécifique. On suspecte donc généralement un côlon irritable chez des chiens présentant une diarrhée chronique idiopathique associée à une douleur abdominale à la suite de stress répétés ou intenses, ou chez les chiens avec des troubles du comportement ou à tempérament anxieux et présentant ces mêmes symptômes. (LECOINDRE, et al., 2010)

Comme pour les maladies précédentes, il est intéressant d’effectuer une coproscopie, ainsi qu’une coloscopie et des biopsies de la muqueuse intestinale. Diverses analyses sanguines peuvent également être réalisées. Ces différents examens complémentaires doivent revenir négatifs pour exclure les différentes causes de diarrhée. (LECOINDRE, et al., 2010)

#### **I. 2. 4. 5. Traitement**

Le traitement des chiens atteints du syndrome de l’intestin irritable est multimodal et adaptable en fonction de la sévérité des symptômes. Il repose essentiellement sur une prise en charge diététique et la suppression des différents facteurs de stress.

(i) **Traitement symptomatique**

Pour cette maladie, l'établissement d'un traitement médical est controversé, cependant les antispasmodiques neurotropes et surtout musculotropes, comme la scopolamine (SCOPALGINE<sup>NDV</sup>) et le phloroglucinol (SPASMOGLUCINOL<sup>NDV</sup>), ainsi que les spasmogènes comme le loperamide (LOPERAL<sup>NDV</sup>) ou le diphénoxylate (LOMOTIL<sup>NDH</sup>) sont très utiles pour soulager l'animal des douleurs abdominales. (LECOINDRE, et al., 2010)

Divers autres traitements symptomatiques peuvent également être prescrits pour lutter contre la diarrhée (cf. **I.2.2.7.(ii.i)**) ou la constipation.

(ii) **Prise en charge diététique**

La place de la nutrition dans le traitement du syndrome de l'intestin irritable est primordiale. Il est ainsi impératif d'établir une prise en charge diététique. Un changement alimentaire doit être opéré vers une **alimentation enrichie en fibres**. Celle-ci associée à un traitement comportemental adéquat peut dans certains cas permettre une résolution partielle, voire la guérison de la diarrhée. (LEIB, 2000)

Il a de plus été montré que certains aliments vétérinaires hypoallergéniques peuvent aider à diminuer la fréquence d'apparition des crises. Cette observation renforce par ailleurs l'hypothèse d'une composante d'intolérance alimentaire favorisant ou déclenchant le syndrome chez certains individus prédisposés à développer une affection digestive fonctionnelle.

Il semble également que l'utilisation de probiotiques puisse être à l'origine de légères améliorations. (LECOINDRE, et al., 2010)

(iii) **Prise en charge comportementale**

Chez les chiens pour lesquels un trouble du comportement a été diagnostiqué, une prise en charge comportementale doit être mise en place et guidée par un vétérinaire comportementaliste avec éventuellement l'administration des médicaments adaptés, comme des anti-stress ou des psychotropes, tels que l' $\alpha$ -caséine (ZYLKENE<sup>NDV</sup>), la sélégiline (SELGIAN<sup>NDV</sup>), la clomipramine (CLOMICALM<sup>NDV</sup>), ou encore la fluoxétine (PROZAC<sup>NDH</sup>). Le choix de la molécule dépend de l'ensemble du tableau clinique présenté par l'animal. (LECOINDRE, et al., 2010)

## **I. 2. 4. 6. Pronostic**

La guérison complète de ce syndrome est peu fréquente et reste hypothétique. Elle n'est généralement obtenue que pour des animaux où la cause (environnementale ou stress répétés) est identifiée et complètement supprimée. La plupart des cas nécessite un traitement à vie, qui reste cependant difficile du fait de l'évolution de la maladie alternant crises et phases de rémissions plus ou moins longues. (LECOINDRE, et al., 2010)

Comme nous venons de le voir, il existe de nombreuses étiologies aux diarrhées chroniques du chien. Lorsqu'une cause à cette diarrhée est déterminée (parasitaire, infectieuse, néoplasique, insuffisances organiques) un traitement spécifique est généralement mis en place et permet dans certains cas d'obtenir une guérison relativement rapide.

Cependant, il existe également plusieurs « grands syndromes » inflammatoires et idiopathiques à l'origine de diarrhées chroniques pour lesquels aucune cause ou pathogénie n'a été clairement identifiée. C'est le cas des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, du syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle proximal et des diarrhées répondant aux antibiotiques, ou encore du syndrome de l'intestin irritable. Chez le chien, comme dans l'espèce humaine chez qui des équivalents de ces syndromes existent, il est généralement compliqué de traiter efficacement ces maladies et d'obtenir une guérison complète. Ainsi, malgré les divers traitements utilisés, aucun n'est pleinement efficace et ces maladies perdurent de façon chronique permanente, ou le plus souvent intermittente avec des phases de rémissions, durant toute la vie de l'individu.

Cependant, des données récentes sur le microbiote intestinal ont révélé que celui-ci jouait un rôle clé dans de nombreux mécanismes importants au maintien de la santé de leur hôte. Il semblerait de plus que certains de ces mécanismes soient impliqués dans les diverses maladies à l'origine des diarrhées chroniques du chien. Ces découvertes ouvrent donc actuellement de nouvelles perspectives sur la compréhension de ces maladies et sur de nouvelles possibilités de traitement ciblant directement la flore intestinale, avec notamment la transplantation de microbiote fécal.

***DEUXIEME PARTIE :***  
***LE MICROBIOTE INTESTINAL***



## II. 1. COMPOSITION ET REPARTITION DU MICROBIOTE INTESTINAL

---

### II. 1. 1. Composition

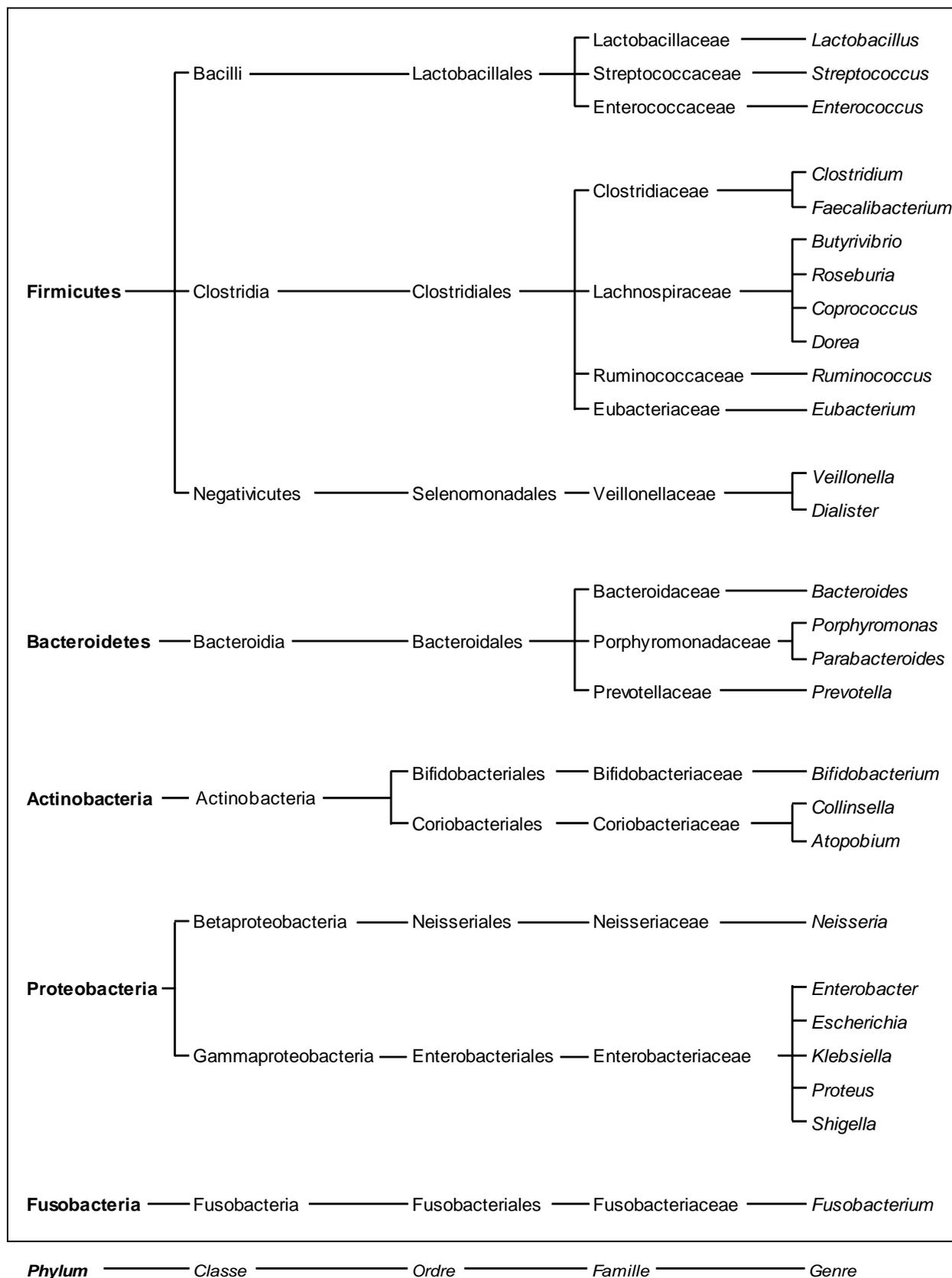
L'homme et le chien évoluent côte à côte depuis la domestication de ce dernier au paléolithique il y a au moins 12 000 ans. Toutes ces années d'évolution commune ont permis une forte adaptation de l'espèce canine et de son microbiote intestinal à notre environnement et notre alimentation. C'est une des raisons qui fait que la composition microbienne du tube digestif du chien est proche de celle de l'homme. Il a de plus été prouvé que les propriétaires de chien partageaient plus de microbiotes cutané, oral ou fécal avec leur propre chien qu'avec d'autres animaux de cette espèce, démontrant ainsi un fort impact de la cohabitation de nos deux espèces dans l'échange de nos microbiotes respectifs. (DENG, et al., 2015)

Nous allons dans cette partie décrire brièvement la composition des microbiotes de nos deux espèces et analyser leur répartition tout au long du tube digestif. Pour une meilleure compréhension, la figure 10 représente un arbre phylogénétique simplifié des principaux groupes bactériens constitutifs des microbiotes intestinaux de l'homme et du chien.

Le microbiote intestinal des chiens comme des humains est composé des trois grands domaines de la classification de Woese : les Eucaryotes (notamment les Fungi, ou champignons, et les Procaryotes), les Archées et les Bactéries, auxquels s'ajoutent divers virus. Cependant, les **bactéries** seraient largement majoritaires et représenteraient environ **98%** du microbiote total. (FONTY, et al., 2007), (GARCIA-MAZCORRO, et al., 2013)

On parle de flore digestive, ou de microbiote digestif, pour évoquer les **populations endogènes** de micro-organismes se trouvant dans le tube digestif. Ces populations constituent un réservoir microbien stable dans l'espace et dans le temps. Cette flore digestive endogène a la particularité d'être composée majoritairement de bactéries anaérobies, celles-ci représentent 90 à 99% des espèces bactériennes.

On ne parle réellement de flore digestive que pour la flore buccale, et les flores des différentes parties du gros intestin, la flore principale étant le microbiote colique. En effet, les flores de l'estomac et de l'intestin grêle existent, mais elles restent négligeables par rapport aux autres. De plus leur étude est très difficile puisque la majorité des bactéries retrouvées dans ces deux organes n'appartiennent pas au microbiote de l'hôte mais uniquement aux **populations exogènes** de bactéries apportées par les aliments, et donc simplement en transit dans le système digestif. (PERSON, 1982), (STROMBECK, 1996)



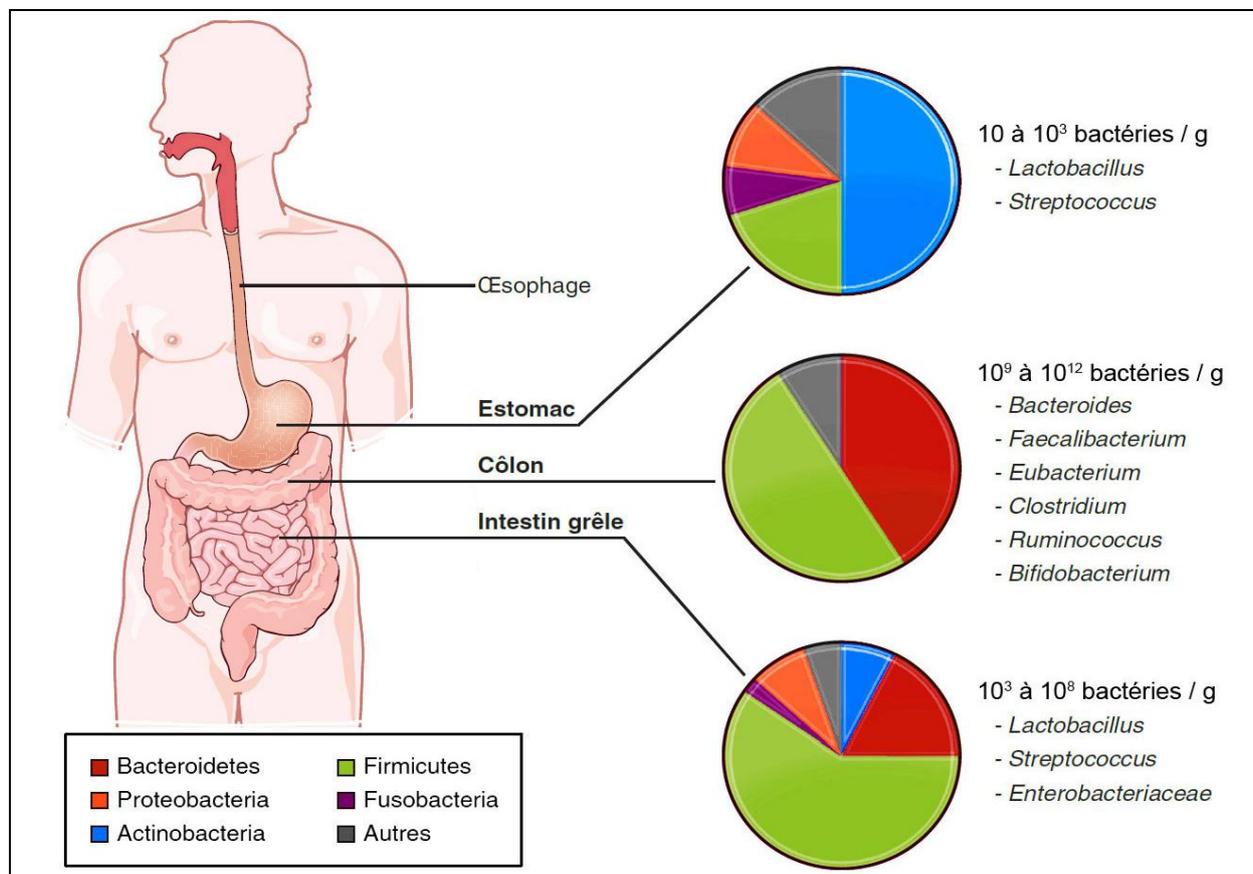
**Figure 10 : Arbre phylogénétique simplifié des principaux phylums bactériens du microbiote intestinal de l'homme et du chien**

D'après A. Hakansson et al. (2011), K. Swanson et al. (2011)  
et le Taxonomy Browser de NCBI (2014)

## II. 1. 1. 1. Chez l'homme

Des populations microbiennes ont colonisé toutes les surfaces du corps humain, que ce soit la peau, le cuir chevelu, la cavité buccale, ... Cependant la plus grande densité de micro-organismes est concentrée dans le tube digestif et notamment au niveau de l'intestin distal. On dénombre ainsi un total de plus de **cent mille milliards de bactéries** ( $10^{14}$ ) dans la totalité du tube digestif, et on estime la présence d'environ 1150 espèces bactériennes différentes. De plus le microbiome, c'est-à-dire le génome confondu de tout le microbiote intestinal, dépasse le génome humain d'un facteur 100. (HILL, 1995), (BORODY, et al., 2011b), (DAVE, et al., 2012)

Le **côlon** est l'organe où l'on recense la plus grande quantité de microbes. Dans cette partie le nombre de micro-organismes dépasse le nombre de cellules du corps humain d'un facteur 10. En effet, la flore colique humaine est constituée d'une quantité colossale d'individus, on compte ainsi  **$10^{11}$  à  $10^{12}$  bactéries par gramme de contenu**. (DAVE, et al., 2012), (BORODY, et al., 2011b) L'estomac et l'intestin grêle sont quant à eux composés de beaucoup moins de micro-organismes. On ne dénombre ainsi qu'entre 10 et 1000 bactéries par gramme de contenu dans l'estomac, et 10<sup>3</sup> à 10<sup>8</sup> bactéries par gramme dans l'intestin grêle. La composition générale des microbiotes digestifs de l'homme est représentée de façon simplifiée par la figure 11. (DAVE, et al., 2012), (BEAUGERIE, et al., 2014)



**Figure 11 : Composition bactérienne des microbiotes digestifs de l'homme**

Modifié d'après M. Dave et al. (2012) et L. Beaugerie et al. (2014)

La composition du microbiote colique est généralement estimée à partir des selles de l'individu. On considère en effet que les micro-organismes retrouvés dans les fèces, appelés microbiote fécal, sont représentatifs des populations du côlon. (FONTY, et al., 2007) Trois phylums bactériens composent à eux seuls la plus grande majorité du microbiote fécal, ce sont les *Firmicutes* et les *Bacteroidetes*, qui sont les deux groupes les plus représentés, et les *Actinobacteria*. Les phylums des *Proteobacteria* et des *Fusobacteria* sont également fréquemment présents, mais en bien moins grande quantité. De façon plus anecdotique, quatre autres phylums ont été identifiés dans le côlon humain, ce sont les *Verrucomicrobia*, les *Cyanobacteria*, les *Spirochaetes* et les *VadinBE97*. (DAVE, et al., 2012), (OTTMAN, 2012), (DENG, et al., 2015)

Le phylum des *Firmicutes* est très fortement représenté chez tous les individus, il compose environ 50 à 80% du microbiote fécal de l'homme. Il est composé du groupe des *Clostridium coccoides*, ou *Clostridium* cluster XIVa, qui correspond à lui seul à 14 à 31% de toutes les bactéries présentes. Ce groupe est composé de bactéries des genres *Eubacterium* (dont *Eubacterium rectale*), *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Butyrivibrio*, dont font partie de nombreuses bactéries productrices de butyrates, indispensables au métabolisme de l'hôte (cf. **II.3.5**). Un autre groupe très important compose ce phylum, c'est celui des *Clostridium leptum*, ou *Clostridium* cluster IV, qui correspond à 16 à 22% des bactéries totales. Il se compose notamment de plusieurs espèces importantes pour la santé de l'individu, comme *Faecalibacterium prausnitzii*, et certaines espèces du genre *Ruminococcus* (cf. **II.3.5**). Les lactobacilles et les streptocoques, qui sont plus rarement observés, appartiennent également au phylum des *Firmicutes* sans faire partie des populations dominantes du microbiote. (HAKANSSON, et al., 2011), (DAVE, et al., 2012), (BEAUGERIE, et al., 2014).

Le phylum des *Bacteroidetes* constitue également un groupe majeur de bactéries constant chez tous les individus. Il représente en moyenne 40 à 60% du microbiote fécal de l'homme. Ce phylum est composé principalement des genres *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas* qui correspondent à 9 à 42% des bactéries présentes. (LAGIER, et al., 2012), (BEAUGERIE, et al., 2014)

Le phylum des *Actinobacteria* n'est pas toujours détecté en tant qu'un des phylums dominants. Cependant, il représente toujours quelques pourcents des bactéries totales, à savoir en moyenne 1 à 10% du microbiote fécal humain. Ce phylum est composé du genre des *Bifidobacterium* (0,7 à 10%), jouant un rôle essentiel dans la santé intestinale, ainsi que de bactéries du groupe dit « *Collinsella - Atopobium* » (0,3 à 3,7%). (HAKANSSON, et al., 2011), (BEAUGERIE, et al., 2014)

Le phylum des *Proteobacteria*, composé principalement de bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*, communément appelées entérobactéries, est plus rarement observé dans la composition du microbiote fécal dominant. Ces bactéries sont cependant systématiquement retrouvées dans le côlon de tous les individus et représentent en moyenne 0,4 à 1% des bactéries totales. (BEAUGERIE, et al., 2014)

Le phylum des *Fusobacteria* est généralement présent en faible quantité dans le côlon humain, où il ne représente normalement qu'environ 2% du microbiote colique total. On remarque cependant de fortes variations individuelles sur la quantité des bactéries de ce

phylum qui peuvent, chez certaines personnes en bonne santé, représenter jusqu'à 40% des bactéries coliques. (LAGIER, et al., 2012)

Les populations d'eucaryotes intestinaux sont, chez l'homme, très peu explorées du fait du peu d'intérêt qui a été porté à ces micro-organismes. La majorité des espèces de Fungi identifiées appartient au phylum des *Ascomycota*, et plus particulièrement aux genres des *Gloeotinia/Paecilomyces* et des *Galactomyces*, et dans une moindre mesure au phylum des *Basidiomycota*. (LAGIER, et al., 2012), (HOFFMANN, et al., 2013)

La principale population représentative des Archées correspond à la flore méthanogène, dont le genre prédominant est celui des *Methanobrevibacter* qui compose environ 30% des Archées intestinales. Cependant, ce groupe de micro-organismes n'est pas retrouvé chez la totalité des individus, seulement 50% de la population possèderaient une flore méthanogène. (FONTY, et al., 2007), (HOFFMANN, et al., 2013)

Sur toutes les séquences virales identifiées dans le microbiome humain, la grande majorité des virus à ADN, environ 99%, sont des bactériophages, et la plupart des virus à ARN se trouvent être des virus spécifiques des plantes. (LAGIER, et al., 2012)

### II. 1. 1. 2. Chez le chien

Comme celui de l'homme, le tube digestif du chien est très riche en bactéries. On en dénombre environ  $10^7$  par gramme de contenu dans sa partie proximale, à savoir la cavité buccale et le pharynx. On en compte très peu dans l'estomac et l'intestin grêle proximal, surtout lorsque l'animal est à jeun. Le nombre de bactéries varie ainsi dans ces organes d'environ 10 à 100 bactéries par gramme de contenu lorsqu'ils sont vides, à environ  $10^2$  à  $10^5$  bactéries par gramme de contenu lorsque l'estomac et l'intestin grêle proximal sont remplis d'aliments. La quantité de bactéries augmente ensuite progressivement tout au long de l'intestin grêle pour atteindre  $10^3$  à  $10^4$  bactéries par gramme de contenu dans sa partie la plus distale. C'est dans la partie la plus distale du tube digestif, à savoir le gros intestin avec le cæcum, le côlon et le rectum, que l'on dénombre le plus de bactéries où leur proportion atteint  $10^{10}$  à  $10^{13}$  par gramme. (PERSON, 1982), (STROMBECK, 1996)

Actuellement, peu de données sont disponibles sur la composition du microbiote canin par rapport aux données recueillies chez l'homme. Plus d'études sont donc nécessaires pour pouvoir décrire précisément la structure et les rôles métaboliques des populations microbiennes intestinales dans cette espèce. De plus, la majorité des informations recueillies proviennent de l'analyse des selles d'animaux de laboratoires. Elles sont donc principalement applicables à l'analyse de la flore colique, mais quasiment aucune information n'est disponible sur la composition microbienne des segments proximaux du tube digestif. (DENG, et al., 2015)

Le domaine des **Bactéries** représente, comme nous l'avons déjà précisé, la majorité du microbiote intestinal, avec 98% de sa composition.

**Le microbiote de l'intestin grêle** n'a été, comme nous venons de le dire, que peu étudié. Le duodénum est la partie la plus pauvre en bactéries. On y retrouve principalement des bactéries des genres *Clostridium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*, ainsi que quelques levures. La plupart des espèces sont dans cette portion acido-résistantes du fait du passage fréquent du chyme très acide. Dans le jéjunum et l'iléum, le nombre de bactéries augmente progressivement jusqu'à la valvule iléo-caecale. On retrouve dans cette portion principalement des *Clostridium*, et de façon moins abondante des *Bacteroides* et des *Bifidobacterium*. On dénombre également un nombre croissant d'entérobactéries du duodénum jusqu'au côlon. (PERSON, 1982), (STROMBECK, 1996), (WALKER, 2004)

La population dominante de l'intestin grêle proximal (duodénum et jéjunum) correspond principalement aux bactéries de l'ordre des *Clostridiales*. Celles-ci représentent environ 40% de la population dans le duodénum, et 39% dans le jéjunum. Les bactéries de ce groupe sont également abondantes dans l'iléum, où elles composent environ 25% de la flore bactérienne. L'ordre des *Clostridiales* appartient au phylum des *Firmicutes*, il est notamment composé des bactéries des *Clostridium* cluster IV, XI et XIVa qui sont comme chez l'homme abondantes et d'importance capitale dans le maintien de la santé digestive. (SUCHODOLSKI, et al., 2008a)

La population dominante retrouvée dans l'iléum est composée de bactéries du phylum des *Fusobacteria*, elle représente 33% des bactéries totales de cette portion intestinale. (SUCHODOLSKI, et al., 2008a)

**Le microbiote colique** du chien se compose de nombreux phylums bactériens, dont les principaux sont les phylums des *Firmicutes*, des *Bacteroidetes*, des *Fusobacteria*, des *Proteobacteria* et des *Actinobacteria*. On retrouve donc dans l'espèce canine les mêmes phylums dominants que chez l'homme, leurs proportions semblent toutefois quelque peu différentes. (SWANSON, et al., 2011), (DENG, et al., 2015)

On observe cependant de fortes variations de la proportion de ces phylums au sein de la littérature. Les raisons potentielles de ces variations seront évoquées plus tard (cf. II.4.). Le tableau VI rassemble les principales études menées sur la composition du microbiote intestinal canin, et les abondances relatives des phylums bactériens majoritairement dénombrés.

Comme chez l'homme, les populations bactériennes dominantes du côlon appartiennent aux phylums des *Firmicutes* et des *Bacteroidetes*. On note de plus dans cette portion une forte abondance des *Clostridium* cluster IV, XI et XIVa. Chez le chien cependant, les bactéries appartenant au phylum des *Fusobacteria* sont très représentées, alors qu'elles ne représentent que quelques pourcents du microbiote total de l'homme. De plus, on remarque une proportion d'*Actinobacteria* plus faible chez le chien que dans l'espèce humaine.

### Tableau VI : Composition bactérienne du microbiote fécal canin

D'après J. Suchodolski et al. (2008a), I. Middelbos et al. (2010), K. Swanson et al. (2011),  
et P. Deng et al. (2015)

<i>Etude</i>	<i>Méthode d'analyse</i>	<i>Composition</i>				
		<i>Firmicutes</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Fusobacteria</i>	<i>Proteobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>
<b>J. Suchodolski et al. (2008)</b>	Séquençage de Sanger	47,7%	12,4%	16,6%	23,3%	
<b>I. Middelbos et al. (2010)</b>	Pyroséquençage-454	14 - 28%	31 - 34%	23 - 40%	5- 7%	0,8 - 1,4%
<b>K. Swanson et al. (2011)</b>	Pyroséquençage-454	31 - 35%	37 - 38%	7 - 9%	13 - 15%	1%

Le domaine des **Archées** ne représente qu'environ 1% du microbiote fécal du chien. Deux phylums majoritaires ont pu être identifiés : les *Crenarchaeota* et les *Euryarchaeota*, la majorité de celles-ci étant des archées méthanogènes. (SWANSON, et al., 2011)

Le règne des **Fungi**, parfois appelés champignons, serait également très peu abondant, voire inconstant chez le chien. Ceux-ci représentent moins de 1% du microbiote total et n'ont été mis en évidence que chez un quart à un peu plus de la moitié des chiens environ. Deux phylums seulement ont été observés dans cette espèce, les *Ascomycota*, qui représentent environ 98% de l'ADN fongique identifié, et les *Basidiomycota*. (MENTULA, et al., 2005), (SUCHODOLSKI, et al., 2008b), (DENG, et al., 2015)

Les **virus** représentent également moins de 1% du microbiote. Deux ordres ont été identifiés : les *Iridoviridae* et les *Caudovirales*. Les *Caudovirales* identifiés sont tous des bactériophages. (SWANSON, et al., 2011)

Le microbiote des chiens étant à ce jour encore peu étudié, et les proportions d'Archées, de Fungi et de virus étant très faibles, il est fort probable que la diversité et le rôle de ces derniers soit sous-estimés.

Comme nous l'avons dit précédemment, la longue coévolution des espèces humaine et canine a permis un rapprochement de leurs microbiotes. Ces similarités ont pu être observées. En effet, en 2011 est parue une étude visant à comparer le microbiote intestinal des chiens avec celui des êtres humains, qui est beaucoup plus étudié. Il a été démontré à cette occasion que la composition des microbiotes des deux espèces était relativement similaire et que les métagénomés gastro-intestinaux de l'homme et du chien étaient proches phylogénétiquement. De plus, une comparaison des fonctions métaboliques de ces microbiotes a également démontré une très forte ressemblance entre nos deux espèces. (SWANSON, et al., 2011) On peut par conséquent supposer que le microbiote fécal du chien a les mêmes fonctions et réagit de façon similaire à celui de l'homme.

## II. 1. 2. Répartition et régulation

La répartition des différentes espèces de micro-organismes au sein de l'intestin dépend de leur environnement. L'anatomie du tube digestif, l'activité de celui-ci avec des zones de transit rapide et de stase alimentaire, ou encore la composition de la lumière intestinale avec les diverses sécrétions exocrines et endocrines qui s'y trouvent sont autant de facteurs favorisant l'implantation de certains micro-organismes dans différents compartiments. (FONTY, et al., 2007)

### II. 1. 2. 1. Régulations intrinsèques

La disposition spatiale du microbiote intestinal, ainsi que les populations de bactéries le composant sont en grande partie régulées par l'hôte lui-même, de part l'anatomie et le fonctionnement physiologique de son tube digestif, ainsi que son système immunitaire.

#### (i) Valvule iléo-cæcale

La valvule iléo-cæcale est l'élément anatomique qui permet de séparer l'intestin grêle du côlon. Ces caractéristiques structurelles en font une véritable **barrière physique** qui empêche les bactéries du gros intestin de remonter dans l'iléon. Cela permet le maintien de l'intégrité de deux flores différentes de part et d'autre de la valvule, préservant ainsi deux organes avec des fonctions différentes. De plus, la papille iléale permet de séparer physiquement la flore colique, véritable réserve de micro-organismes, du reste du tube digestif. (STROMBECK, 1996), (WALKER, 2004), (BARONE, 2009)

Après la résection chirurgicale de cette valvule on observe la colonisation de l'intestin grêle par les bactéries composant la flore colique, démontrant ainsi l'importance de cette structure dans la régulation spatiale des populations bactériennes. L'absence de cette valvule prédispose alors fortement l'individu au développement de syndrome de prolifération bactérienne de l'intestin grêle (cf. **I.2.3.**) (JOHNSTON, 1999)

#### (ii) Motilité digestive

Le péristaltisme intestinal est à l'origine de l'avancé du bol alimentaire dans le tube digestif, et avec lui de toutes les bactéries exogènes. Ainsi le transit, à sa vitesse normale, permet l'avancée puis l'**élimination des bactéries** dans les fèces.

Lors de troubles digestifs accompagnés d'hypopéristaltisme, ou lors de l'administration de certains spasmolytiques, on observe une augmentation significative du nombre de bactéries dans la lumière intestinale, et notamment dans l'intestin grêle. La prolifération des bactéries est alors favorisée et prédispose au développement d'une prolifération bactérienne de l'intestin grêle, et aux reflux cæco-coliques. (STROMBECK, 1996), (JOHNSTON, 1999), (WALKER, 2004)

La motilité du tube digestif a donc un rôle important dans la régulation des espèces exogènes en les éliminant et en empêchant leur implantation, et dans la régulation des espèces endogènes en empêchant leur prolifération démesurée.

(iii) *Muqueuse intestinale*

La muqueuse intestinale est une structure complexe servant à la fois d'échanges entre l'hôte et la lumière intestinale, mais également de barrière entre ces deux mêmes compartiments.

Les cellules épithéliales qui la composent ont un renouvellement rapide d'environ trois à quatre jours. Ce processus permet entre autre l'**élimination** régulière des micro-organismes adhérents à la muqueuse dans la lumière digestive.

De plus, les cellules caliciformes sécrètent une épaisse couche de mucus de 25 à 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, venant recouvrir l'intégralité de la muqueuse. Ce mucus exerce un rôle de **barrière** physique, empêchant l'adhérence des bactéries à la muqueuse et donc leur colonisation de l'intestin. (PERSON, 1982), (STROMBECK, 1996), (WALKER, 2004)

(iv) *Sécrétions gastriques*

L'estomac est un milieu subissant de fortes variations de pH. Son contenu est extrêmement acide au repos du fait des sécrétions d'**acide chlorhydrique**, ce qui en fait l'organe du tube digestif avec le moins de bactéries. Entre les repas, il devient quasiment stérile avec uniquement 10 à 100 bactéries par gramme de contenu. Cependant, après un repas, son contenu peut atteindre les  $10^5$  bactéries par gramme. En effet, les aliments apportent à ce moment une quantité importante de bactéries exogènes. De plus, la dilution du contenu stomacal engendre une augmentation du pH rendant le milieu plus favorable au développement des bactéries. On observe par la suite une diminution rapide du pH qui retrouve sa valeur acide autour de 2,5 à 3. (PERSON, 1982), (STROMBECK, 1996), (WALKER, 2004)

Dans le duodénum, l'acidité du suc gastrique est neutralisée par les sécrétions pancréatiques et intestinales basiques permettant progressivement le développement des bactéries dans les parties plus distales. L'action chimique de l'acide chlorhydrique permet ainsi de contrôler les populations bactériennes et notamment d'éviter l'implantation des bactéries exogènes par un effet bactéricide.

(v) *Sécrétions intestinales*

Le **suc pancréatique** a la particularité d'être composé d'une grande partie de bicarbonate basique, et ainsi d'exercer un puissant **effet tampon** sur le milieu intestinal. Celui-ci vient non seulement neutraliser les sécrétions digestives, mais également les différents acides organiques issus de la fermentation microbienne. Le suc pancréatique permet ainsi de garantir l'activité et l'efficacité des micro-organismes intestinaux. (FONTY, et al., 2007)

D'autres sécrétions, comme la **bile**, interagissent également avec le microbiote intestinal. Celles-ci ont la propriété de favoriser certaines espèces bactériennes, notamment les bactéries Gram -, qui sont le groupe majoritaire peuplant l'intestin. De plus, environ 5% des acides biliaires échappent au cycle entérohépatique et arrivent ainsi jusqu'au côlon où ils exercent leur capacité de **sélection bactérienne**. (BEGLEY, et al., 2005), (FONTY, et al., 2007)

La paroi intestinale est constituée de nombreuses cellules glandulaires à l'origine de la libération de diverses substances dans la lumière intestinale. C'est notamment le cas des cellules de Paneth, dans les cryptes de l'intestin grêle, qui sécrètent de nombreux **peptides et protéines à activité antimicrobienne**, comme les  $\beta$ -défensines ou les cryptines. Celles-ci ont une **action non spécifique** sur de nombreux micro-organismes et permettent de réguler leur population. (FONTY, et al., 2007)

#### (vi) Immunoglobulines

Le système immunitaire de l'hôte joue également un rôle important dans la régulation des différentes espèces de micro-organismes, avec notamment la sécrétion d'immunoglobulines par les plasmocytes sous-muqueux. Ceux-ci synthétisent principalement des **immunoglobulines A** qui traversent alors les cellules de la muqueuse jusqu'à la lumière intestinale. Des immunoglobulines G et M sont également synthétisées dans une moindre mesure. Ces anticorps constituent une **défense spécifique** extrêmement efficace à l'encontre des bactéries de la lumière digestive, et notamment les bactéries pathogènes. (PERSON, 1982)

### II. 1. 2. 2. Régulations extrinsèques

De nombreuses relations existent entre les différents micro-organismes intestinaux. On observe des interactions de neutralisme, de mutualisme, de synergisme, d'antagonisme, de compétition, d'amensalisme, de parasitisme et même de prédation. Tout cela forme un réseau complexe d'interactions positives ou négatives pour chaque espèce qui permet aux différents individus de cohabiter à différents niveaux. (WEIMER, 2002)

Le neutralisme correspond à l'absence d'interaction entre deux espèces ; le mutualisme et le synergisme sont des relations dont les deux espèces tirent profit en s'associant ; l'antagonisme est une relation défavorable à l'une des deux espèces, voire les deux ; la compétition correspond à la dépendance des deux espèces pour un nutriment, d'où une limitation réciproque de leur développement, c'est un processus très important au sein du microbiote digestif ; l'amensalisme est la suppression d'une espèce par une autre via l'utilisation d'agents toxiques ; le parasitisme correspond à la déviation des nutriments d'une espèce au profit d'une autre ; et la prédation correspond à l'ingestion d'une espèce par une autre, elle est fréquente chez certains protozoaires. (WEIMER, 2002)

Toutes ces interactions favorisent ainsi l'association de certaines espèces entre elles, ou au contraire l'intérêt d'un développement topographiquement éloigné. Les micro-organismes intestinaux sont de plus capables par leur métabolisme de modifier le milieu qui les entoure et ainsi de favoriser ou non d'autres espèces de micro-organismes.

Ils sont notamment capables de faire **varier les paramètres physicochimiques** comme le pH, le potentiel d'oxydoréduction, ou encore la concentration de certains constituants. Les archées méthanogènes sont ainsi extrêmement sensibles aux pH acides, et cohabitent difficilement avec des bactéries acidifiant le milieu comme les bactéries lactiques. Un autre exemple est l'association de la flore majoritaire anaérobie stricte avec une flore minoritaire anaérobie facultative. La première communauté ne peut se développer que dans un milieu avec un potentiel d'oxydoréduction bas, la seconde population a donc un rôle protecteur envers celle-ci en consommant et en éliminant l'oxygène, ce qui abaisse le potentiel d'oxydoréduction. (FONTY, et al., 2007), (BEVINS, et al., 2011), (ABEDI, et al., 2013)

Les micro-organismes peuvent également **synthétiser des substances toxiques ou inhibitrices** pour certaines espèces, comme par exemple l'acide lactique. (FONTY, et al., 2007), (BEVINS, et al., 2011), (ABEDI, et al., 2013)

Tous ces facteurs permettent une régulation temporelle et spatiale de la flore intestinale par la flore intestinale et sont à l'origine de la dominance de certaines espèces, mais aussi de la diversité du microbiote et de sa répartition étagée tout au long du tube digestif.

Ces mêmes interactions s'appliquent aux bactéries exogènes, potentiellement pathogènes, provenant du milieu extérieur. La flore intestinale peut de cette façon empêcher l'implantation de ces bactéries et préserver leur milieu. Cet effet protecteur et antimicrobien sera détaillé plus loin (cf. **II.3.3.**).



## II. 2. ANALYSE DU MICROBIOTE

---

A l'origine le microbiote intestinal était étudié à partir de méthodes classiques de cultures microbiennes. Cependant, moins de 1% des microbes de l'organisme peuvent être cultivés et étudiés en laboratoire. C'est pourquoi l'importance du microbiote intestinal a longtemps été sous-estimé, notamment chez les carnivores. Le développement récent du **séquençage haut débit** ou de nouvelle génération, dénommé « *high-throughput sequencing* » ou encore « *next-generation sequencing* » dans la littérature anglo-saxonne, associé aux nouvelles **méthodes d'analyses bioinformatiques** ont radicalement changé la recherche sur les populations de l'écosystème intestinal, et ont permis la réalisation de nouvelles découvertes. (DENG, et al., 2015)

Actuellement, lors de l'étude des populations microbiennes, la cible moléculaire la plus utilisée est le gène codant l'ARN ribosomique constituant la petite sous-unité des ribosomes, c'est-à-dire le gène de l'ARN ribosomique 16S ou **ARNr 16S**. En effet, ce gène a la particularité d'être ubiquiste, on le retrouve notamment chez toutes les bactéries, archées et procaryotes. Il possède des séquences bien conservées, qui permettent de définir le phylum, ainsi que d'autres variables, caractéristiques du genre et de l'espèce. Ce sont ces petites variations qui permettent de différencier les micro-organismes à différents niveaux phylogénétiques.

Plusieurs méthodes d'analyses basées sur l'ARNr 16S des micro-organismes ont ainsi vu le jour pour identifier et quantifier précisément les microbes d'un milieu. C'est le cas de la réaction en chaîne par polymérase quantitative (qPCR), de l'hybridation fluorescente *in situ* (FISH), de l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP), de l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE), et des techniques traditionnelles de séquençage de l'ADN, comme la méthode de séquençage de Sanger, ou à haut débit, comme le séquençage HiSeq Illumina ou le pyroséquençage-454. (DENG, et al., 2015)

Ces dernières années, il est devenu évident que l'étude complète du microbiome, plutôt que de la seule phylogénie, est cruciale pour comprendre pleinement le rôle du microbiote et les interactions avec son hôte. Cependant de telles analyses dépassent complètement les capacités des chercheurs et doivent être réalisées par des ordinateurs, d'où l'importance du développement des méthodes d'analyses bioinformatiques. (DENG, et al., 2015)

## **II. 2. 1. Etudes microbiologiques**

Les cultures microbiennes effectuées en routine de laboratoire sont intéressantes pour cibler la recherche sur un échantillon d'un agent pathogène en particulier, à condition que celui-ci soit en quantité très augmentée alors qu'il n'est normalement présent qu'en faible abondance. (SUCHODOLSKI, 2011) Les méthodes d'indentifications culturelles demandent par ailleurs le maintien de conditions bien précises. Une anaérobie stricte est ainsi indispensable à la croissance de la majorité des micro-organismes digestifs. De plus, cette technique n'est pas utilisable pour caractériser des écosystèmes microbiotiques complets du fait du faible nombre d'organismes identifiables. Dans cette situation, la culture provoquerait d'énormes erreurs sur l'abondance des espèces, ainsi que sur la richesse et la diversité de l'échantillon analysé. (GREETHAM, et al., 2002), (FONTY, et al., 2007)

## **II. 2. 2. Etudes métagénomiques**

La métagénomique est une science récente qui considère l'ensemble des génomes d'une communauté microbienne ou d'un écosystème comme un seul génome appelé métagénome. (FONTY, et al., 2007) Elle permet d'étudier le potentiel génétique d'une population et donc de toutes ses fonctions potentielles. Cette discipline connaît un essor important ces dernières années, notamment avec le développement des techniques de séquençage haut débit.

### **II. 2. 2. 1. Extraction d'ADN et PCR**

Pour l'étude du microbiome intestinal, c'est-à-dire du métagénome du microbiote intestinal, des échantillons biologiques sont prélevés, généralement dans les selles, puis l'ADN est extrait de ces échantillons. Avant que l'ADN récolté ne puisse être analysé, une étape d'amplification par une technique de PCR est nécessaire. Cette technologie permet de multiplier l'ADN obtenu en de multiples fragments, chacun amplifié des milliers de fois, ce qui permet la détection de fragment d'ADN appartenant à des espèces sous représentées qui n'auraient pas été identifiées par une autre méthode. Les amplicons ainsi obtenus peuvent ensuite être séquencés de façon à analyser la composition du microbiome. (KEBSCHULL, et al., 2015) Pour l'analyse de la composition des microbiotes, les techniques récentes de séquençage s'appuient sur l'identification de l'ADN codant pour l'ARNr 16S, appelé ADNr 16S. C'est donc cette partie uniquement qui est amplifiée et qui sert à former les amplicons.

## II. 2. 2. 2. Séquençage

### *(i) Séquençage classique*

Les premières méthodes de séquençage de l'ADN étaient longues, laborieuses, chères, et manquaient d'efficacité pour produire des segments précis et de la bonne longueur. Il a fallu attendre 1977 pour que F. Sanger développe une méthode efficace utilisant les didésoxyribonucléotides (ddATP, ddCTP, ddGTP et ddTTP) qui agissent comme des terminateurs de chaîne une fois incorporés au nouveau brin synthétisé. On obtient ainsi de multiples répliques incomplètes du brin d'ADN à séquencer, chacune terminée par le didésoxyribonucléotide adapté sur lequel est placé un marqueur fluorescent permettant son identification. Ces brins sont ensuite séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide (PAGE). Cette méthode permettait à l'origine le séquençage de brins d'ADN d'une longueur de 15 à 300 bases. L'amélioration de cette technique et les progrès récents des méthodes d'électrophorèse autorisent aujourd'hui le séquençage de brins de 900 bases. Cette technique, dénommée **méthode de séquençage de Sanger**, est encore largement utilisée aujourd'hui du fait de sa **capacité à lire de longs brins d'ADN**. (SANGER, et al., 1977), (LIU, et al., 2012)

Cependant, cette méthode est relativement chère puisqu'elle coûte environ \$2400 par million de bases séquencées. Bien qu'elle permette la lecture de brins d'ADN plus longs que les méthodes de séquençage haut débit, ces dernières, développées récemment, ne coûtent que quelques centimes à quelques dollars par million de bases séquencées (Tableau VII), et permettent d'analyser une quantité considérable de données en un temps bien plus court. (LIU, et al., 2012)

### *(ii) Séquençage haut débit*

Bien que les méthodes de séquençage haut débit ne permettent d'analyser que des séquences d'ADN plus courtes que les méthodes classiques, ces techniques sont en constante amélioration et autorise le séquençage de brins de plus en plus longs.

Ces nouvelles méthodes sont couplées à des ordinateurs avec des systèmes d'**analyse bioinformatique** performants et en temps réel, permettant ainsi la complète automatisation du processus, ainsi que le séquençage de centaines de milliers de brins simultanément. Chaque « *run* » du séquenceur permet ainsi la synthèse de plusieurs millions, voire milliards, de bases contre quelques milliers seulement avec la méthode de Sanger. (LIU, et al., 2012)

**Tableau VII : Taille des brins séquencés et prix des méthodes de séquençage**

D'après L. Liu et al. (2012)

<i>Méthode de séquençage haut débit</i>	<i>Prix par 10<sup>6</sup> bases séquencées</i>	<i>Longueur maximale du brin séquencé</i>
<b>Séquençage classique</b>		
<b>Méthode de Sanger</b>	\$2400	<b>900 bases</b>
<b>Séquençage haut débit</b>		
<b>Pyroséquençage 454, de Roche</b>	<b>\$12,5</b>	700 bases
<b>HiSeq 2000, de Illumina</b>	<b>\$0,02</b>	100 bases
<b>SOLiD, de Applied Biosystems</b>	<b>\$0,04</b>	85 bases

La plateforme de pyroséquençage-454 développée par le laboratoire Roche est la première plateforme de séquençage de nouvelle génération à avoir été commercialisée en 2005. Cette technique utilise l'association de quatre enzymes qui permettent la reconstitution du brin nucléotide par nucléotide. A chaque fois qu'une base est incorporée au brin, une réaction produit un signal lumineux analysé par l'ordinateur.

Les plateformes de séquençage du laboratoire Illumina, comme le Genome Analyser ou le HiSeq 2000, font partie des méthodes d'analyse les plus utilisées avec le pyroséquençage-454. Ces séquenceurs embarquent un autre type de technologie moléculaire pour séquencer les fragments d'ADN qui sont analysés en temps réel par ordinateur. Le séquenceur de Illumina a la particularité de proposer des séquençages à très faible coût, bien que la taille des fragments analysés soit inférieure à la méthode de pyroséquençage-454 (Tableau VII). Dans un futur proche, cette méthode pourrait permettre l'analyse d'un génome humain complet en à peine quelques jours et pour moins de \$1000. (LIU, et al., 2012)

### **II. 2. 3. Etudes métabolomiques**

Les approches métagénomiques offrent énormément de données sur la composition quantitative et qualitative d'un microbiote. Cependant, elles ne fournissent aucun renseignement sur les différentes voies métaboliques de l'écosystème étudié. Il est ainsi impossible par ces méthodes d'obtenir des informations sur les liens existant entre le microbiote intestinal et le métabolisme de l'hôte.

L'approche métabolomique est une science récente. Elle permet d'analyser les métabolites et les substances produites par les réactions chimiques de notre organisme. La métabolomique peut ainsi étudier le profil métabolique des micro-organismes composant

notre flore digestive. Cette méthode a ainsi pu identifier les différentes fonctions métaboliques de notre microbiote intestinal et les interactions avec son hôte. Elle permet de plus d'identifier les modifications métaboliques intervenant lors de processus pathologiques.

Ces nouvelles techniques utilisent la spectrométrie de masse et la résonance magnétique nucléaire associées à des systèmes d'analyse bioinformatique. (DE PRETER, et al., 2013)

## II. 2. 4. Etude statistique

### II. 2. 4. 1. Diversité spécifique et « Operational Taxonomic Unit »

Lors de l'analyse de la diversité d'un écosystème, comme le microbiote intestinal, on cherche à analyser le nombre d'espèces différentes sur un territoire, celle-ci correspond à la **diversité spécifique**. Cette diversité est définie par l'association de deux index, la richesse spécifique et la régularité.

La **richesse spécifique** correspond au nombre d'espèces vivant dans l'écosystème étudié. La **régularité** correspond à la façon dont le nombre d'individus présents dans l'écosystème se répartissent entre toutes les espèces, c'est-à-dire à l'abondance relative de ces espèces. (FONTY, et al., 2007) Chez les monogastriques, dont le chien fait partie, ces index sont plus élevés dans le gros intestin que dans l'intestin grêle ou encore l'estomac. Ce qui concorde avec le fait que le côlon constitue un réservoir de micro-organismes en étant le siège principal du microbiote intestinal. (GARCIA-MAZCORRO, et al., 2013)

En microbiologie, le terme d'espèce, défini habituellement selon des critères phénotypiques, n'est parfois pas complètement adapté. On préfère ainsi utiliser le concept d'espèce moléculaire défini par l'unité taxonomique opérationnelle, appelée « *operational taxonomic unit* » (OTU) dans la littérature anglo-saxonne.

Un OTU permet de standardiser les taxons en regroupant les individus d'une même espèce selon les similarités entre les nucléotides composant leur séquence d'ARNr 16S. On considère que deux individus appartiennent au même OTU lorsque leurs séquences d'ARNr 16S présentent une similitude déterminée à au moins 97%. (GALIMBERTI, et al., 2012), (FONTY, et al., 2007)

Les séquences d'ADN obtenues par le séquençage peuvent être comparées à une base de données de référence par des systèmes bioinformatiques. Elles sont ensuite classées selon les OTU, et ainsi assignées à un phylotype particulier. Ces systèmes bioinformatiques permettent ainsi d'analyser la population ou la communauté microbienne de l'échantillon recueilli grâce à différents indices statistiques mesurant sa diversité.

## II. 2. 4. 2. Indices de diversité

Il existe de nombreux indices statistiques utiles, basés sur des algorithmes mathématiques, qui servent à analyser les différentes données biologiques d'un écosystème ainsi que sa biodiversité. Les **indices non paramétriques** sont les plus utilisés, car ils sont les mieux adaptés pour traduire le degré de diversité d'une population microbienne. Ceux-ci permettent d'estimer la richesse spécifique, c'est-à-dire le nombre d'OTU, à partir d'un échantillon de petite taille. Pour se faire, ces indices comparent les espèces observées plus d'une fois par rapport à celles observées une seule fois ; plus la diversité du biotope diminue, plus la probabilité d'observer plusieurs fois la même espèce augmente.

Les indices non paramétriques les plus utilisés sont l'indice de Shannon souvent accompagné de l'indice de régularité, l'indice de Simpson et l'indice de Hill. (FONTY, et al., 2007)

### (i) Richesse de l'échantillon

La richesse de l'échantillon se mesure facilement puisque qu'elle correspond au nombre total d'espèces rencontrées dans celui-ci ; il suffit donc d'effectuer un simple comptage des micro-organismes. Elle ne tient cependant pas compte des abondances relatives de ces espèces. De plus la richesse mesurée n'est en réalité qu'une approximation du nombre d'espèces réellement présentes dans l'écosystème, c'est-à-dire de la richesse spécifique. Elle est très dépendante de la qualité de l'échantillonnage.

### (ii) Indice de Shannon

L'indice de Shannon ( $H'$ ) indique la **diversité spécifique** d'une communauté microbienne en fonction du nombre d'espèces et du nombre d'individus par espèce. On le qualifie d'indice de biodiversité. C'est l'indice le plus fréquemment utilisé. Il s'écrit :

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2(p_i)$$

*S* correspond au nombre total d'espèces dans l'écosystème étudié, c'est la richesse spécifique de l'échantillon ;

$p_i$  correspond à la fréquence relative de l'espèce  $i$  dans la communauté ;

$p_i = n_i / \sum n_i$ , où  $n_i$  est le nombre d'individus de l'espèce  $i$ , et  $\sum n_i$  le nombre total d'individus de la communauté.

---

$H'$  augmente lorsque la proportion des espèces rares est élevée et celle des espèces abondantes est faible. Son maximum ( $H_{\max}$ ) est limité dans un échantillon donné par la richesse spécifique de cet échantillon. Dans un écosystème naturel, il tend vers l'infini.  $H'$  est maximum lorsque chaque individu de l'échantillon appartient à une espèce différente

des autres. Il est minimum lorsque la communauté n'est composée que d'une seule espèce, dans cette situation on a  $H'=0$ .

(iii) **Indice de régularité**

L'indice de régularité (R) est complémentaire de l'indice de Shannon. Il est insensible à la richesse et permet d'exprimer uniquement l'**abondance relative** des différentes espèces. Il est utilisé pour comparer les dominances entre différents territoires (par exemple différents compartiments digestifs) ou sur un même territoire en fonction du temps. Il s'écrit :

$$R = \frac{H'}{H_{max}}$$

$H'$  correspond à l'indice de Shannon ;

$H_{max}$  correspond à la diversité maximale d'une communauté de même richesse spécifique que celle étudiée ; il correspond donc à une équirépartition des individus dans chaque espèce.

$$H_{max} = \log_2 S.$$

---

R varie entre 0 et 1. Il est égal à 1 lorsque toutes les espèces ont la même abondance, c'est-à-dire que chaque espèce présente comporte un nombre identique d'individus. Il est égal à 0 lorsque une seule espèce domine largement toutes les autres.

(iv) **Indice de diversité de Simpson**

L'indice de probabilité de Simpson (D) correspond à la probabilité que deux individus choisis au hasard appartiennent à la même espèce. Cet indice permet de donner plus de poids aux **espèces abondantes** de l'écosystème, ainsi les variations des espèces rares ne modifient quasiment pas la valeur de D. On le qualifie d'indice d'abondance. Il s'écrit :

$$D = 1 - \sum_{i=1}^s \frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

$n_i$  correspond au nombre d'individus de l'espèce  $i$  ;

$N$  correspond au nombre total d'individus ;

$$N = \sum n_i.$$

---

D varie entre 0 et 1, il est proportionnel à la diversité. Le maximum de diversité est indiqué par une valeur de 1, et le minimum par une valeur de 0.

(v) **Indice de Hill**

L'indice de Hill associe les indices de Shannon et de diversité de Simpson pour mesurer l'**abondance proportionnelle**. Il permet ainsi une analyse plus fine de la diversité des différents territoires de l'écosystème.

$$Hill = \left( \frac{1}{\lambda / e^{H'}} \right)$$

$\frac{1}{\lambda}$  correspond à l'inverse de l'indice de Simpson, il mesure le nombre effectif d'individus très abondants ;

$e^{H'}$  correspond à l'exponentielle de l'indice de Shannon, il mesure le nombre effectif d'individus abondants mais surtout des espèces rares.

---

L'indice de Hill varie entre 0 et 1, il est inversement proportionnel à la diversité. Une valeur de 1 correspond au minimum de diversité, et une valeur de 0 au maximum.

## **II. 2. 5. Projets internationaux d'analyse du microbiote**

Le développement de ces nouvelles biotechnologies a permis d'augmenter les capacités d'analyses génétiques, et notamment des micro-organismes intestinaux. De gros efforts sont ainsi actuellement réalisés par d'importants projets internationaux pour étudier le microbiome humain, c'est le cas du « *Human Microbiome Project* » (HPM) aux Etats-Unis (<https://www.hmpdacc.org>) ou encore du « *Metagenomics of the Human Intestinal Tract* » (MetaHIT) en Europe (<https://www.metahit.eu>). Ceux-ci ont pour objectif de caractériser les différentes communautés microbiennes du corps humain et de déterminer leurs fonctions ainsi que leurs implications dans le maintien d'une bonne santé comme dans l'apparition de maladies. (BORODY, et al., 2011b) Ils ont aujourd'hui déjà analysé de nombreux échantillons et décrit les microbiotes de plusieurs niches écologiques appartenant notamment aux cavités orale et nasale, à la peau, à l'appareil urogénital et à l'appareil digestif. Les données récoltées ont déjà permis de conforter les suspicions de l'implication d'une dysbiose microbienne dans différentes maladies comme l'obésité, le diabète, les MICI ou encore certaines allergies (cf. **III.3.**). (DENG, et al., 2015)

Lorsque un animal est en bonne santé, la diversité spécifique de son microbiote intestinal, et plus particulièrement sa richesse spécifique, doit être élevée. Une baisse de cette diversité est généralement le signe d'un processus pathologique sous-jacent. La diversité de la flore intestinale peut donc servir d'indicateur de la santé de cette flore. Il est ainsi intéressant à mesurer dans bon nombre de maladies digestives ou extradiigestives pour déterminer si oui ou non le microbiote joue un rôle dans le développement de celles-ci.

## II. 3. LES GRANDES FONCTIONS DU MICROBIOTE INTESTINAL

---

Nous savons maintenant que le microbiote intestinal a co-évolué avec son hôte depuis des milliers d'années jusqu'à faire partie intégrante de sa physiologie. (KELLY, et al., 2015) C'est grâce à de nombreuses études sur l'espèce humaine et les animaux de laboratoire que nous avons pu démontrer cette grande implication du microbiote intestinal dans différents processus physiologiques tels que la résistance contre l'invasion par des pathogènes, la production de diverses molécules utilisées comme source d'énergie par les cellules intestinales, la modulation du système immunitaire, la création d'énergie à partir des particules alimentaires non digérées, ou encore la stimulation de l'angiogenèse intestinale importante à la digestion. (GARCIA-MAZCORRO, et al., 2013) On peut supposer qu'il en est de même chez toutes les espèces animales et plus particulièrement chez le chien.

Ces découvertes ont notamment été possibles grâce à l'étude d'animaux élevés dans des environnements microbiologiquement contrôlés. On classe ces animaux en fonction de la composition de leurs microbiotes. (FONTY, et al., 2007)

- Les **sujets holoxéniques** sont des animaux élevés en conditions normales. Ils ont donc une flore digestive normale qui s'est développée en conditions réelles. Ils permettent l'étude de l'impact de l'alimentation, des antibiotiques, des probiotiques, ... sur la flore intestinale.
- Les **sujets axéniques**, ou encore « germ-free », sont des animaux élevés en isolateur stérile. Ils n'ont aucune flore digestive.
- Les **sujets gnotoxéniques** sont des animaux axéniques auxquels on inocule une flore intestinale connue et contrôlée. Ils sont élevés en isolateur stérile. La flore peut être soit complexe, avec de nombreuses espèces différentes, soit simple, avec uniquement une à quelques espèces de micro-organismes. Ils permettent l'étude des fonctions et des impacts d'une microflore donnée. En cas de flore composée d'une espèce unique, on peut parler d'animal monoxénique.
- Les **sujets méroxéniques** sont des animaux axéniques auxquels on inocule une fraction encore inconnue de la flore d'un animal holoxénique. Ils sont élevés en isolateur stérile.
- Les **sujets néoholoxéniques** sont des animaux axéniques auxquels on inocule la totalité de la flore d'un animal holoxénique. Ils sont ensuite élevés dans des conditions normales.
- Les **sujets défaunés** sont des animaux dépourvus de protozoaires.

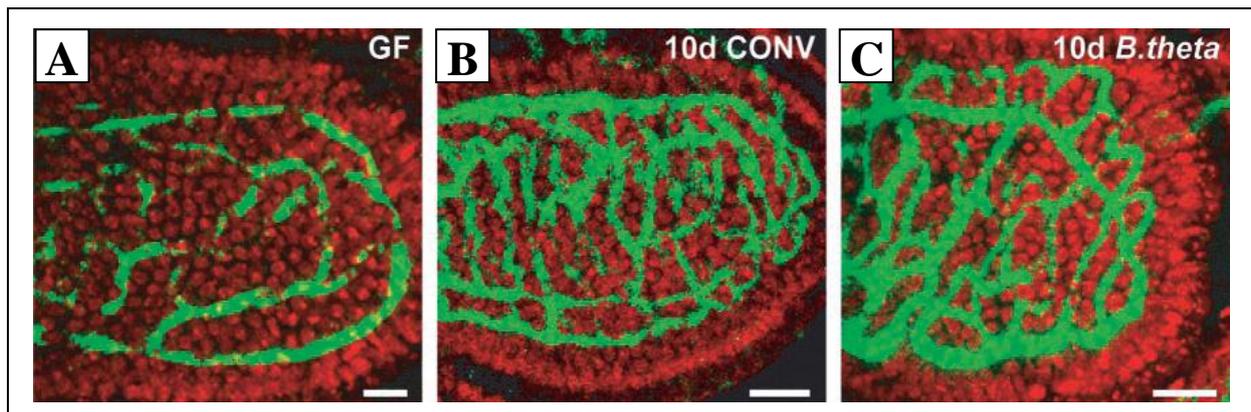
### II. 3. 1. Anatomie et métabolisme de la muqueuse digestive

L'étude des animaux axéniques a permis de découvrir qu'en l'absence de microbiote intestinal les propriétés de la muqueuse digestive étaient modifiées. Les espèces bactériennes composant la flore intestinale permettraient donc de moduler son développement et son métabolisme. En effet, en l'absence de microbiotes, la *lamina propria* de l'épithélium digestif est plus fine et peu développée. Elle est de plus quasiment dépourvue de lymphocytes. Les animaux axéniques présentent également un transit intestinal ralenti et le temps de renouvellement cellulaire de leur muqueuse intestinale est deux fois plus lent que chez les animaux holoxéniques. (DUCLUZEAU, 1999), (DUCLUZEAU, et al., 1979)

En 1989, T. Midtvedt invente le concept MAC/GAC (*Microflora Associated Characteristics / Germ-free Associated Characteristics*) à partir de ses observations sur les différences anatomiques, physiologiques et biochimiques existant entre les tubes digestifs des animaux holoxéniques et axéniques. Ce concept permet d'illustrer les actions du microbiote intestinal sur l'activité des intestins. G. Fonty (2007) résume dans son livre le concept MAC/GAC ainsi que les différents micro-organismes à l'origine des modifications observées (Tableau VIII). Il a été démontré que de nombreuses caractéristiques du tube digestif sont modulées par la flore intestinale ; chaque paramètre étant influencé de façon complexe par une multitude d'espèces différentes de micro-organismes ayant chacune des rôles précis. Ainsi le microbiote intestinal permet le bon développement du tube digestif (taille et épaisseur de ses parois), et permet de stimuler le renouvellement cellulaire. Les différentes espèces de micro-organismes permettent également, via leur métabolisme, de modifier leur milieu et ainsi de maintenir l'homéostasie intestinale. Elles participent ainsi à la régulation des taux d'oxygène et des autres gaz, de l'osmolarité et du potentiel oxydo-réducteur du tube digestif. De plus, les diverses bactéries agissent sur les molécules du milieu et permettent ainsi la dégradation des mucines et du cholestérol ou encore la déconjugaison des acides biliaires qui permet la synthèse des acides biliaires secondaires et de l'acide lithocholique. Elles interviennent également dans la modulation de l'activité de certaines enzymes, comme l'inactivation de l'activité trypsique. (MIDTVEDT, 1989), (MACKIE, et al., 1999)

Pour assurer une bonne absorption des nutriments, le tube digestif doit avoir un réseau capillaire extrêmement dense, notamment au niveau des villosités de l'intestin grêle. Chez les individus normaux, le développement d'un réseau vasculaire de qualité dans la paroi intestinale est contrôlé par des mécanismes mal connus. Des études d'imagerie en trois dimensions ont permis de révéler que ce réseau se met en place durant le développement postnatal, période à laquelle s'installe également une flore intestinale complexe et variée. C'est l'intérêt porté à cette coïncidence qui a permis de démontrer que les micro-organismes digestifs jouent un rôle prépondérant dans le développement de la vascularisation de la muqueuse intestinale.

T.S. Stappenbeck a ainsi montré en 2002 que les bactéries synthétisent des signaux inducteurs de l'angiogénèse. En effet, la comparaison de souris axéniques et holoxéniques a permis de visualiser une forte différence des réseaux capillaires de l'épithélium des villosités intestinales, peu développés en l'absence de microbiote mais très importants chez les souris normales. De plus, les souris néoholoxéniques développent rapidement une bonne vascularisation de leur épithélium intestinal. Il en est de même pour les souris gnotoxéniques inoculées avec *Bacteroides thetaiotaomicron*, une bactérie dominante des flores digestives des hommes et des souris, affirmant ainsi le rôle de cette espèce dans le processus d'angiogénèse (Figure 12). (STAPPENBECK, et al., 2002)



*Les capillaires sanguins des microvillosités sont observés chez des souris âgées de 10 jours par microscopie confocale après injection rétro-orbitale de dextran marqué à l'ITCF (isothiocyanate de fluorescéine)*

A : Souris axénique ;

B : Souris néoholoxéniques ;

C : Souris gnotoxéniques inoculées avec *Bacteroides thetaiotaomicron*.

**Figure 12 : Rapide induction microbienne de l'angiogénèse au niveau des villosités intestinales d'anciennes souris axéniques**

D'après T.S. Stappenbeck et al. (2002)

Cependant, la flore bactérienne n'est pas le seul acteur jouant un rôle dans l'induction de ce processus. Il a en effet été prouvé que les souris axéniques dépourvues de cellules de Paneth possèdent un réseau capillaire significativement moins complexe que les souris axéniques normales. Cette découverte démontre l'importance de ces cellules, qui produisent probablement des facteurs stimulant l'angiogénèse. De plus, chez les souris axéniques dépourvues de ces cellules, l'inoculation de bactéries ne permet aucun développement de la vascularisation des villosités intestinales. Le processus d'angiogénèse n'est donc possible que grâce à une étroite interaction entre les bactéries de la flore intestinale d'une part et les cellules de Paneth d'autre part. (STAPPENBECK, et al., 2002)

**Tableau VIII : Récapitulatif des actions de la microflore sur l'activité intestinale**  
**illustré par le concept MAC/GAC**

Modifié d'après G. Fonty et al. (2007), R. Ducluzeau et al. (1979), T. Midtvedt (1989),  
R.I. Mackie et al. (1999) et T.S. Stappenbeck et al. (2002)

<i>Paramètres</i>	<i>MAC</i>	<i>GAC</i>	<i>Micro-organismes impliqués</i>
<b>Anatomiques, Physiologiques</b>			
<b>Paroi intestinale</b>	Epaisse	Fine	Inconnus
<b>Taille du cæcum</b>	Normal	Plus développé	Partiellement Inconnus
<b>Renouvellement cellulaire</b>	Rapide	Plus lent	Inconnus
<b>Vascularisation de la paroi</b>	Importante	Peu développée	Plusieurs espèces ( <i>Bacteroides</i> )
<b>Vitesse du transit</b>	Normale	Ralentie	Inconnus
<b>Oxygène</b>	Faible	Elevée	Plusieurs espèces
<b>Osmolarité</b>	Normale	Réduite	Inconnus
<b>Potentiel redox</b>	Faible	Elevé	Inconnus
<b>Biochimiques</b>			
<b>Métabolisme des sels biliaires</b>	Déconjugaison	Pas de déconjugaison	Nombreuses espèces ( <i>Clostridium</i> )
	Réduction	Pas de réduction	Nombreuses espèces ( <i>Eubacterium, Clostridium</i> )
<b>Cholestérol</b>	Coprostanol	Pas de coprostanol	Quelques espèces ( <i>Eubacterium</i> )
<b>Gaz intestinaux</b>	CO <sub>2</sub>	Un peu de CO <sub>2</sub>	Nombreuses espèces
	H <sub>2</sub>	Peu H <sub>2</sub>	Plusieurs espèces
	CH <sub>4</sub>	Pas de CH <sub>4</sub>	Quelques espèces ( <i>Methanobrevibacter</i> )
<b>Mucines</b>	Dégradées	Non dégradées	Nombreuses espèces
<b>Activité trypsique</b>	Inactivation	Forte activité	Quelques espèces ( <i>Bacteroides</i> )

*MAC : Microflora Associated Characteristics ;*

*GAC : Germ-free Associated Characteristics.*

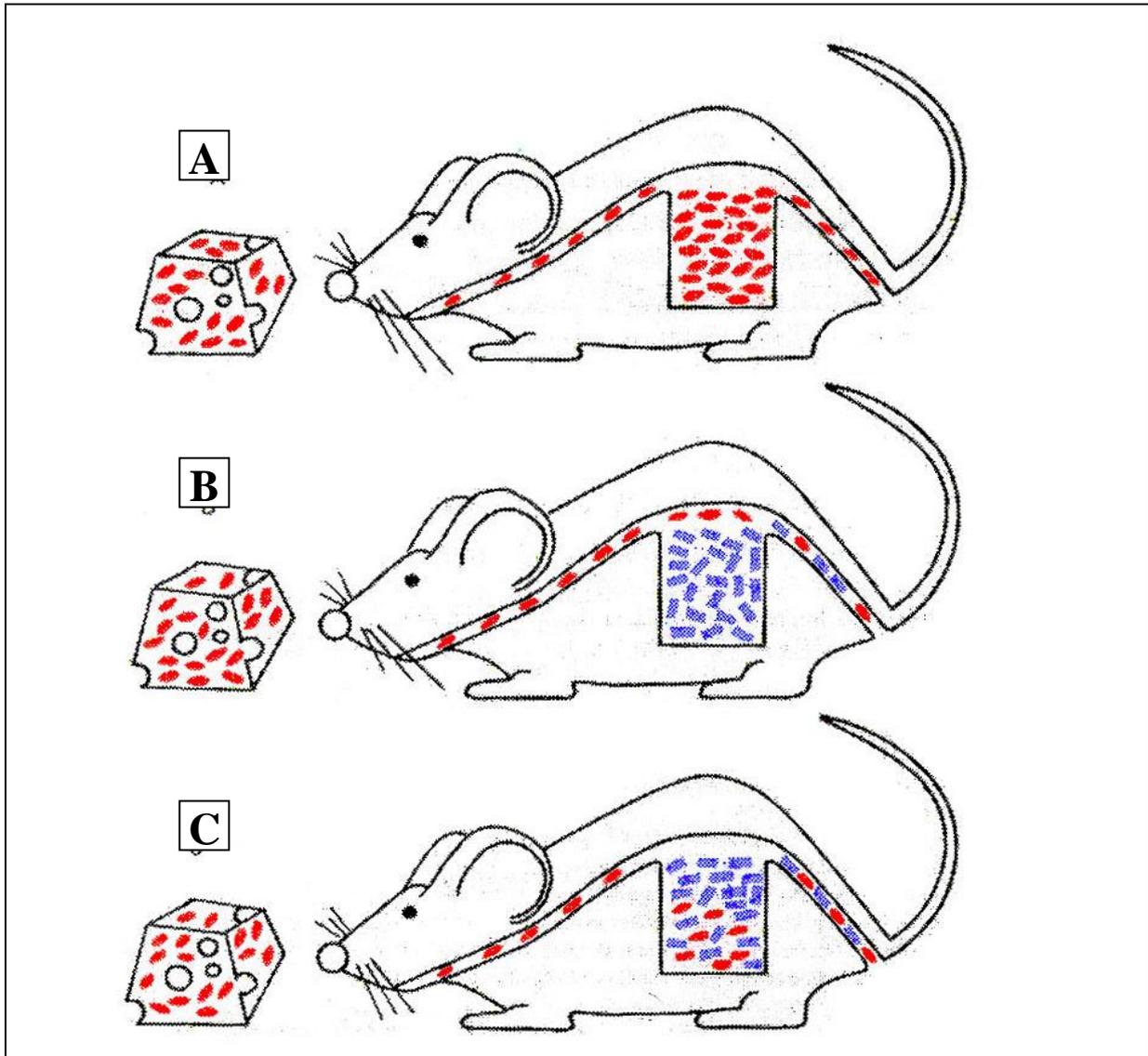
### II. 3. 2. Stimulation de l'immunité intestinale

Le système immunitaire digestif, ou GALT, est très peu développé chez les nouveau-nés, lesquels naissent avec un tube digestif stérile. Il met ensuite un certain temps à se développer et ne devient mature qu'en environ six semaines chez les souris et deux ans chez les enfants. Cependant, chez les souris axéniques adultes, le GALT ne se développe pas et reste similaire à celui des nouveau-nés. C'est donc la mise en place du microbiote intestinal qui est à l'origine du développement du GALT, le délai nécessaire à sa mise en place étant lié au caractère progressif de l'établissement de la flore. (MOREAU, 2004), (MOREAU, et al., 1982), (HOOPER, 2004)

Pour étudier la corrélation entre le microbiote et le GALT, M.C. Moreau s'est intéressé en 1982 à la mesure du taux d'IgA produit. En effet, le système plasmocytaire à IgA du GALT produit de plus en plus d'anticorps au fur et à mesure de sa maturation ; le taux d'IgA est donc représentatif du développement du système immunitaire. Certaines espèces bactériennes ont ainsi pu être identifiées comme jouant un rôle plus important dans le développement de l'immunité. C'est le cas de bactéries Gram négatives comme *Escherichia coli* ou *Bacteroides spp.* qui sont capables à elles seules chez des animaux gnotoxéniques d'induire une stimulation immunitaire égale à la moitié de celle mesurée chez des animaux holoxéniques. (MOREAU, et al., 1982) De plus, les lipopolysaccharides (LPS) de la paroi des bactéries induisent, via les lymphocytes T, la maturation des lymphocytes B en plasmocytes à IgA. (MCGHEE, et al., 1984)

### II. 3. 3. Rôle antimicrobien

En 1970, R. Ducluzeau et P. Raibaud inventent la notion d'**effet de barrière** du microbiote autochtone. Le principe étant que les micro-organismes implantés de façon pérenne dans le tube digestif empêchent la colonisation de leur milieu par les micro-organismes exogènes issus principalement de l'alimentation. Cet effet de barrière consiste donc à un effet bactériostatique de la flore autochtone sur les espèces allochtones, lesquelles sont éliminées par les voies naturelles en suivant le transit digestif. On distingue deux cas de figure pour cet effet de barrière. Soit le microbiote intestinal de l'animal empêche complètement l'implantation de la bactérie exogène, laquelle est entièrement éliminée et ne fait que transiter dans les intestins, on parle alors de **barrière drastique** ; soit l'espèce exogène parvient à se maintenir et à se développer au sein du microbiote, on parle alors de **barrière permissive** (Figure 13). Dans ce cas de figure, le portage de la nouvelle espèce bactérienne peut devenir définitif, l'espèce intègre donc le microbiote de façon pérenne. (DUCLUZEAU, et al., 1970), (DUCLUZEAU, et al., 1979) Cette résistance à la colonisation du tractus digestif par les autres bactéries explique en partie la stabilité du microbiote intestinal à l'âge adulte et permet de protéger les individus contre l'invasion par des micro-organismes pathogènes ou contre l'apparition d'une dysbiose. Cette barrière joue donc un rôle primordial dans la santé digestive.



- A : Une souche bactérienne exogène (rouge) est ensemencée chez une souris axénique, elle s'implante et se développe ;
- B, C : Une souche bactérienne exogène (rouge) est ensemencée chez une souris porteuse d'un microbiote autochtone (bleu) :
- B : Barrière drastique : La souche exogène ne s'implante pas, elle est éliminée ;
- C : Barrière permissive : La souche exogène se maintient dans la population sous-dominante malgré le microbiote autochtone.

**Figure 13 : Illustration de l'effet de barrière du microbiote intestinal autochtone**

Modifié d'après G. Fonty et al. (2007) et R. Ducluzeau et al. (1970)

Cependant, dans certaines situations, la flore digestive peut être déséquilibrée. C'est le cas lors de stress intense, de changement brutal de régime alimentaire ou encore lors de l'utilisation d'antibiotique. La protection octroyée par le microbiote intestinal est alors altérée et des espèces exogènes normalement éliminées peuvent s'installer. En fonction de leur nature, des troubles digestifs peuvent apparaître. (GRIESS, 2001), (FONTY, et al., 2007)

## **II. 3. 4. Dégradation, fermentation et synthèses bactériennes**

La localisation de l'activité fermentaire dans le tube digestif est variable d'une espèce à l'autre. Chez les monogastriques, la majorité de l'activité bactérienne se déroule dans le gros intestin. Dans ces espèces, une première digestion enzymatique est réalisée dans l'intestin grêle avant la digestion par les micro-organismes dans le gros intestin. Les molécules dégradées par la flore intestinale sont donc majoritairement des substrats indégradables par l'hôte, c'est-à-dire les polymères constitutifs des parois végétales et certains amidons, mais également des substrats dégradables mais non digérés et absorbés dans leur totalité par l'intestin grêle, ou des substrats produits directement dans le côlon. (FONTY, et al., 2007)

### **II. 3. 4. 1. Digestion des glucides complexes**

On estime qu'environ 5 à 20% des **amidons** d'origine alimentaire ne sont pas absorbés par l'intestin grêle. (WONG, et al., 2007) L'amidon qui parvient au côlon est donc dégradé par la flore amylolytique colique suivant différentes chaînes fermentaires qui se déroulent majoritairement dans le côlon proximal. (HIJOVA, et al., 2007) Celles-ci produisent principalement du gaz et des acides gras à chaîne courte (AGCC), mais aussi de l'éthanol, du formate et du lactate. (PRYDE, et al., 2002) Tous ces processus permettent avec différents rendements de produire de l'énergie en régénérant de l'ADP en ATP. (MÜLLER, 2001) La fermentation bactérienne des glucides produit divers gaz, et notamment du dihydrogène (H<sub>2</sub>), la majorité duquel est réutilisée par les micro-organismes hydrogénotrophes. Du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) est également produit. Les gaz non utilisés sont ensuite évacués au niveau rectal, produisant des flatulences, et par voie pulmonaire dans une moindre mesure. (FONTY, et al., 2007) Les AGCC produits, et notamment le butyrate, ont divers effets sur la santé et le métabolisme du tube digestif. Ceux-ci seront détaillés dans la partie suivante (cf. **II.3.5**).

### **II. 3. 4. 2. Digestion des protéines**

La plus grande partie des **protéines** est digérée et absorbée dans l'intestin grêle. Cependant environ 10 % de l'azote protéique ingéré parvient au côlon. (CUIILLERIER, et al., 2002) Ces protéines non digérées ainsi que les protéines endogènes servent principalement à la nutrition azotée des micro-organismes autochtones, laquelle n'a pas de réel intérêt pour l'hôte. Les produits que cette protéolyse microbienne génère sont cependant en majorité des métabolites toxiques comme des phénols, des indoles, de l'ammoniaque et des amines. L'ammoniaque est malgré tout utile à la croissance des bactéries intestinales et est donc nécessaire. Un équilibre est donc entretenu entre la flore bactérienne et leurs produits de dégradation. Cela illustre encore une fois l'importance de la bonne santé du microbiote intestinal, puisque en cas de dysbiose (par exemple due à une mauvaise alimentation) certains métabolites sont produits en trop grande quantité et ont des effets néfastes sur l'organisme. (FONTY, et al., 2007)

#### II. 3. 4. 3. Digestion des lipides

Les **lipides** sont également principalement digérés dans l'intestin grêle. Cependant leur digestion par les micro-organismes coliques joue un rôle important notamment dans l'élimination du cholestérol. En effet, une partie du microbiote intestinal a la faculté comme nous l'avons vu précédemment de dégrader le cholestérol en coprostanol, lequel, contrairement à son substrat, n'est que très peu absorbé et donc éliminé dans les selles. (FONTY, et al., 2007) Cependant des études suggèrent que cette microflore coprostanolinégique est présente en quantité variable d'un sujet à l'autre. (VEIGA, et al., 2005)

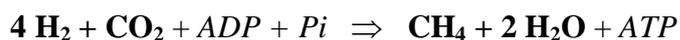
#### II. 3. 4. 4. Dégradation des substrats endogènes

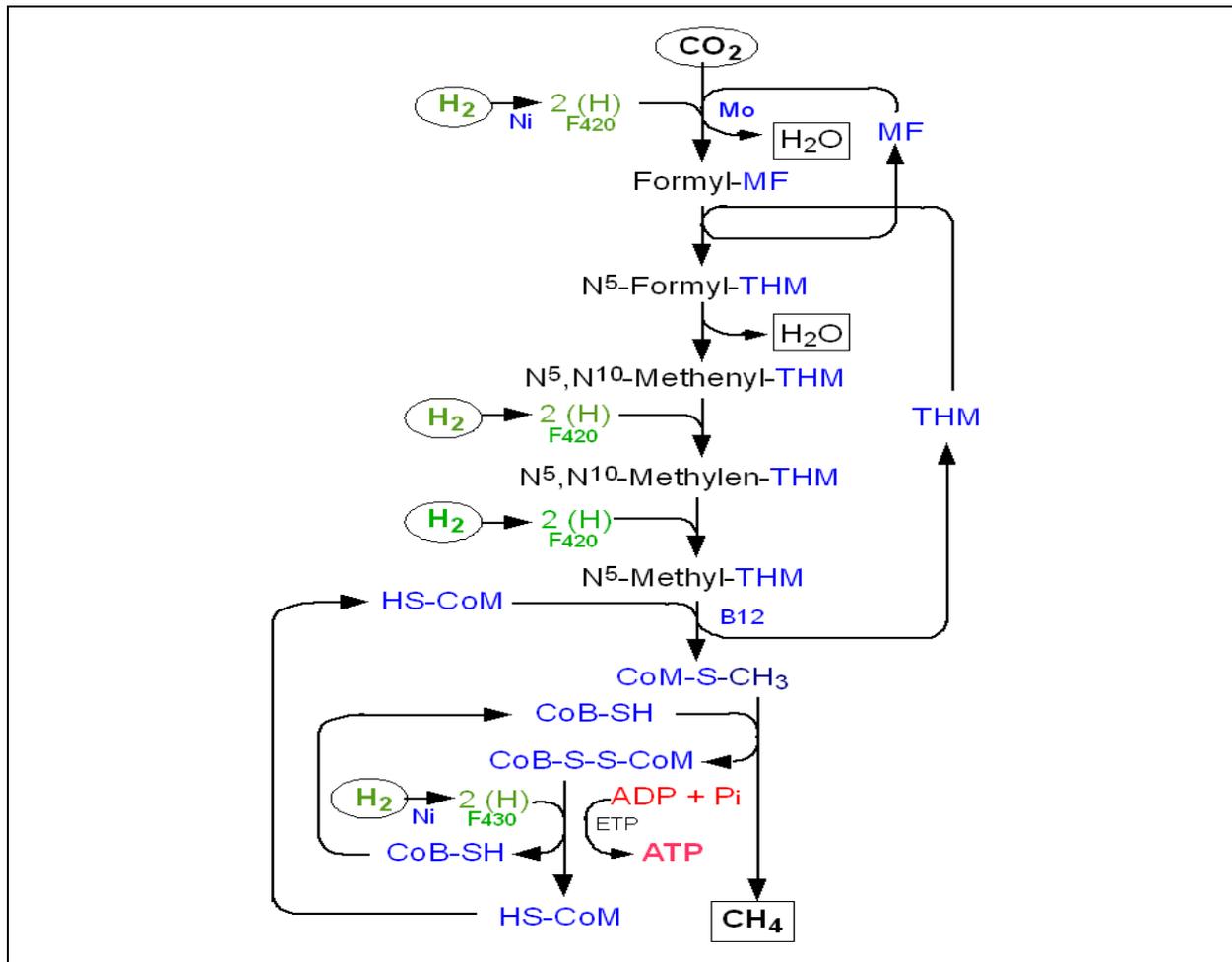
Le microbiote intestinal dégrade également les divers **substrats endogènes**. Ceux-ci peuvent venir de l'intestin grêle (comme les enzymes pancréatiques, les stérols, les acides biliaires, la bilirubine, les mucines et également les cellules épithéliales desquamées) ou bien du côlon, d'où proviennent principalement des mucines et des mucopolysaccharides. (BERNALIER-DONADILLE, 2004)

#### II. 3. 4. 5. Métabolismes hydrogénotrophes

L'hydrogène est formé en grande quantité dans le tube digestif. Celui-ci est utilisé par divers écosystèmes anaérobies pour lesquels il joue un rôle fondamental dans les processus fermentaires. On parle de **métabolismes hydrogénotrophes** ; les plus importants étant la méthanogénèse, réalisée uniquement par les Archées et produisant du méthane (CH<sub>4</sub>), l'acétogénèse réductrice conduisant à la formation d'acétate (CH<sub>3</sub>COOH), et la sulfatoréduction produisant des sulfures (H<sub>2</sub>S) toxiques pour l'organisme. La flore méthanogène ne semble pas constante dans la population humaine. Ainsi seulement 50% des individus produisent du méthane. (FONTY, et al., 2007)

Tous ces processus fermentaires permettent la production d'énergie via des réactions d'oxydoréduction, le dihydrogène jouant en effet le rôle de donneur d'électron. Par exemple au cours de la méthanisation, une grande quantité d'H<sub>2</sub> est utilisée pour réduire le CO<sub>2</sub> en CH<sub>4</sub> de façon à régénérer un ADP en ATP (Figure 14). Le bilan de cette réaction peut donc s'écrire :





*MF* : Méthanofurane ; *THM* : Tétrahydrométhanoptérine ;  
*CoM* : Coenzyme M ; *CoB* : Coenzyme B ; *B12* : Cofacteur à vitamine B12 ;  
*Ni* : Hydrogénase et cofacteur à nickel et hydrogénase ;  
*Mo* : Déshydrogénase et cofacteur à molybdène ;  
*F420* : Coenzyme F 420 ; *F430* : Coenzyme F430.

**Figure 14 : Méthanogenèse à partir du dioxyde de carbone**

D'après Brudersohn (2010)

#### II. 3. 4. 6. Synthèse des vitamines

Les bactéries digestives ont également un rôle majeur dans la santé de leur hôte par la production d'une large gamme de **vitamines**, notamment les vitamines du groupe B et la vitamine K. (HILL, 1997), (LEBLANC, et al., 2013)

Il a ainsi été mis en évidence, après séquençage de leur génome, que certaines espèces de bactéries appartenant aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* sont capables de synthétiser divers précurseurs des **folates** (vitamine B9), vitamine impliquée dans de nombreuses cascades métaboliques telles que la réplication, la réparation et la méthylation de l'ADN, ou encore la synthèse de nucléotides, d'acides aminés et de certaines autres vitamines. La **riboflavine** (vitamine B2), essentielle pour le métabolisme cellulaire et notamment les réactions d'oxydoréductions, pourrait également être en partie synthétisée par des bactéries

coliques comme certains *Bifidobacterium* ou même *Escherichia coli*. La **cobalamine** (vitamine B12) a, quant à elle, la particularité d'être exclusivement synthétisée par les micro-organismes, principalement anaérobies. En effet, les animaux, les plantes et les champignons sont tous incapables de produire cette vitamine, (ROTH, et al., 1996) bien qu'elle soit indispensable à leur bon fonctionnement. La **vitamine K**, essentielle dans le processus de coagulation sanguine, serait également en partie synthétisée par certaines espèces bactériennes du tube digestif. (LEBLANC, et al., 2013)

Il semble finalement que les voies métaboliques de synthèse des vitamines soient très représentées dans la flore colique. En effet, chez l'homme, les entérotypes 1 et 2 sont extrêmement enrichis en gènes nécessaires à la synthèse de différentes vitamines, notamment la biotine, la riboflavine, le pantothénate et l'ascorbate pour l'entérotype 1, et la thiamine et les folates pour l'entérotype 2. Les différences des produits entre les entérotypes et les espèces révèlent que la synthèse des vitamines est issue de la combinaison et de la coopération de différentes chaînes trophiques au sein de la flore intestinale. (ARUMUGAM, et al., 2011)

#### **II. 3. 4. 7. Métabolisation des xénobiotiques naturels**

Les micro-organismes digestifs métabolisent également certains **xénobiotiques naturels** issus des plantes (comme les phyto-œstrogènes ou les flavonoïdes) et produisent généralement de cette façon des micronutriments ayant des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, comme la production de composés anticancéreux. Certaines espèces peuvent également produire de cette façon des composés néfastes, notamment cancérigènes. (FONTY, et al., 2007)

#### **II. 3. 4. 8. Neutralisation des toxines**

Outre l'effet de barrière bactérienne décrite précédemment, l'activité métabolique de la flore intestinale peut également s'avérer protectrice à l'encontre de certains pathogènes. En effet, certaines bactéries **neutralisent ainsi diverses toxines** bactériennes voire alimentaires. C'est par exemple le cas de *Escherichia coli* et de *Bifidobacterium spp.* qui inactivent l'entérotoxine de *Clostridium difficile* (CORTHER, et al., 1986) ; ou encore de *Oxalobacter formigenes* qui, par la bioconversion de l'oxalate, évite son accumulation et prévient par la même occasion l'apparition de lithiases rénales. (STEWART, et al., 2004) Il a en effet été montré par J.S. Gnanandarajah en 2012 que les chiens de race en bonne santé, sans urolithiase, possédaient un taux plus élevé de *Oxalobacter formigenes* dans leur microbiote que les chiens présentant des cristaux d'oxalates de calcium (CaOx). (GNANANDARAJAH, et al., 2012)

Tous ces éléments prouvent l'importance du microbiote intestinal dans toutes les espèces et même chez les monogastriques où la flore se situe principalement dans le gros intestin. En effet, par la production de micronutriments les micro-organismes sont indispensables au fonctionnement de l'épithélium intestinal dont ils modulent le bon développement. Ils sont également nécessaires à l'établissement d'un système immunitaire intestinal performant et à l'opposition contre les divers pathogènes exogènes. Le microbiote intestinal est donc en réelle symbiose avec son hôte, son développement pérenne contribuant nettement à la santé de ce dernier.

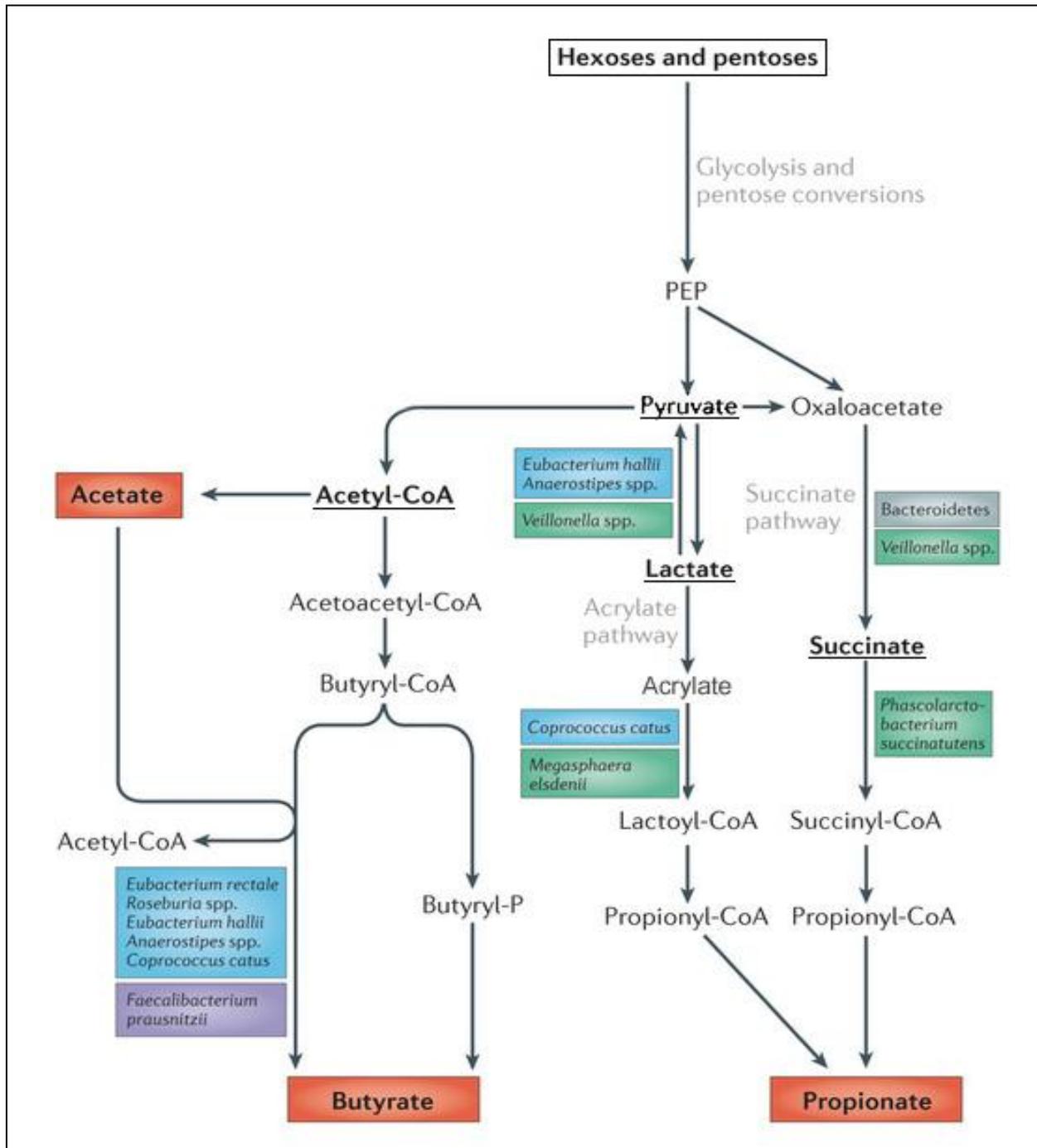
### **II. 3. 5. Production d'acides gras à chaîne courte**

Comme nous l'avons vu précédemment, la fermentation bactérienne des glucides complexes, et notamment des amidons résistants, permet la production de gaz mais aussi d'acides gras à chaîne courte (AGCC) : l'acétate, le propionate et le butyrate. Dans l'intestin, ceux-ci sont respectivement produits avec un ratio d'environ 60%:20%:20%, l'acétate étant majoritaire et le butyrate minoritaire. (WONG, et al., 2007) Ces molécules existent sous deux formes, une ionisée ( $A^-$ ) et une protonée (AH). On parle respectivement d'acétate, de propionate et de butyrate pour les formes ionisées ; et d'acide acétique, d'acide propionique ou propanoïque et d'acide butyrique ou butanoïque pour les formes protonées ; ces dernières ont la particularité d'être liposolubles. L'équilibre entre les deux états est déterminé par le pH. Au pH normal du côlon, la forme ionisée est majoritaire, la forme protonée ne représentant qu'environ 1% des acides gras à chaîne courte. (COOK, et al., 1998)

Chez les herbivores, et principalement les ruminants, les AGCC fournissent une grande partie de l'énergie pour l'animal. Bien qu'ils aient un impact moins grand chez les monogastriques omnivores et carnivores, tels l'homme et le chien, ils n'en restent pas moins importants. (PRYDE, et al., 2002) En effet, les AGCC jouent un rôle crucial dans la santé colonique ; et parmi eux, le butyrate assure la majorité des besoins énergétiques des colonocytes. (GRIESS, 2001), (WONG, et al., 2006)

#### **II. 3. 5. 1. Biosynthèse des acides gras à chaîne courte**

Les différents processus fermentaires de glycolyse, à l'origine de la synthèse des AGCC, permettent directement la création d'énergie par la formation d'ATP et de  $NADH, H^+$ . Les principales voies métaboliques utilisées, ainsi que les bactéries les réalisant, sont résumées par la figure 15.



La liste des espèces bactériennes impliquées dans les voies de biosynthèses présentées ci-dessus n'est en aucun cas exhaustive.

PEP : Acide phosphoénolpyruvique.

Bactéries :

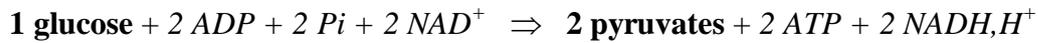
- En gris : Phylum des Bacteroidetes ;
- En bleu : Famille des Lachnospiraceae (Phylum des Firmicutes) ;
- En violet : Famille des Ruminococcaceae (Phylum des Firmicutes) ;
- En vert : Classe des Negativicutes (Phylum des Firmicutes).

**Figure 15 : Voies de biosynthèse des acides gras à chaîne courte (AGCC) résultant de la fermentation glucidique, et espèces bactériennes impliquées**

Modifié d'après P. Louis et al. (2014)

(i) Synthèse du pyruvate

La première étape de la synthèse de tous les AGCC est la transformation d'une molécule de glucose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) (ou d'un autre glucide) en pyruvate (C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>). Cette molécule est le précurseur de la synthèse de tous les AGCC.



Cette réaction permet la production d'énergie sous forme de 2 moles d'ATP par mole de glucose, utilisable directement. Cependant elle forme également 2 moles de NADH, H<sup>+</sup> par mole de glucose, lesquelles seront régénérées en NAD<sup>+</sup>, qui constitue le pouvoir oxydant, lors des étapes suivantes de la glycolyse. (SCHMID, 2004)

(ii) Synthèse de l'acétate

De nombreuses espèces bactériennes coliques sont capables de synthétiser de l'acétate (CH<sub>3</sub>-COO<sup>-</sup>). Celui-ci est formé à partir d'acétyl-CoA issu du pyruvate. (LOUIS, et al., 2014)



(iii) Synthèse du butyrate

Chez l'homme, les bactéries productrices de butyrates (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-COO<sup>-</sup>) sont principalement Gram positives et anaérobies. Elles appartiennent au phylum des *Firmicutes*, les espèces les plus représentées faisant partie du Clostridium cluster IV : principalement *Faecalibacterium prausnitzii* et du Clostridium cluster XIVa : principalement *Eubacterium rectale* et *Roseburia spp.* (LOUIS, et al., 2009) Cependant les bactéries productrices de butyrates sont également représentées en moindre quantité dans les Clostridium cluster I, XV et XVI. (PRYDE, et al., 2002) Bien que chez les autres monogastriques, aucune espèce ne soit identifiée, les bactéries butyrogènes font probablement également partie du phylum des *Firmicutes*. Le butyrate est également synthétisé en utilisant des molécules d'acétyl-CoA, lesquelles sont réduites en butyryl-CoA. (LOUIS, et al., 2014)



Cette réaction permet de produire de l'énergie en produisant 3 moles d'ATP par mole de glucose et en régénérant le NAD<sup>+</sup> à partir du NADH, H<sup>+</sup>. (MÜLLER, 2001) Cependant, un gain d'énergie supplémentaire serait permis lors de la production de butyrate. En effet la conversion de crotonyl-CoA en butyryl-CoA entraînerait une cascade de réactions conduisant à la génération d'une force proton motrice. Cette force dirige un mouvement de protons à travers une ATP-synthase membranaire, ce qui permet le fonctionnement de l'enzyme dans le sens de la synthèse d'ATP. (LOUIS, et al., 2009)

(iv) Synthèse du propionate

Dans le tube digestif, il existe deux voies de biosynthèse du propionate (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-COO<sup>-</sup>), la voie du succinate et la voie de l'acrylate. Ces deux voies permettent

également la synthèse d'une molécule d'acétate. (MÜLLER, 2001) Le bilan de leur réaction peut dans les deux cas s'écrire comme ci-dessous :



Il existe en effet un équilibre entre le pyruvate et le lactate. Le pyruvate est métabolisé en lactate puis en acrylate pour la voie de l'acrylate. Mais le lactate peut également être remétabolisé en pyruvate, puis en oxaloacétate et enfin en succinate pour la voie du succinate. (PRYDE, et al., 2002)

La voie du succinate est la voie majoritaire. Celle-ci est principalement réalisée par des bactéries appartenant au phylum des *Bacteroidetes*. Puis quelques *Firmicutes* interviennent pour synthétiser le propionate à partir du succinate. (LOUIS, et al., 2014) Dans cette voie le pyruvate est transformé en oxaloacétate, lequel est réduit en succinate via les mêmes intermédiaires que dans le cycle de Krebs. Il n'y a pas de production d'ATP par les différentes étapes de réduction, mais celle-ci provoque un gradient ionique engendrant une force motrice qui active une ATP-synthase membranaire. Ce mécanisme permet alors, comme lors de la synthèse du butyrate, une production importante d'ATP. (MÜLLER, 2001)

La voie de l'acrylate est également réalisée par des bactéries appartenant au phylum des *Firmicutes*. (LOUIS, et al., 2014) Cette voie n'a cependant pas un bon rendement en ATP, puisqu'il n'est que de 0,3 mole d'ATP produit par mole de lactate consommée. (MÜLLER, 2001)

### II. 3. 5. 2. Transport et métabolisation des acides gras à chaîne courte

Après leur synthèse, 90 à 95% des AGCC sont absorbés par l'épithélium colique, le reste étant éliminé dans les fèces. (HIJOVA, et al., 2007) Cette absorption se fait majoritairement par diffusion des AGCC sous forme protonée (donc liposolubles) à travers la membrane plasmique des colonocytes, ce mécanisme permet le passage d'au moins 60% de ceux-ci. Il existe également un second mécanisme d'absorption via un antiport membranaire. Celui-ci permet l'échange d'un AGCC contre une molécule de bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) (COOK, et al., 1998), (WONG, et al., 2007) Les AGCC passent ensuite dans la circulation sanguine via la veine porte et sont acheminés aux organes de l'hôte. Il sont majoritairement métabolisés par trois types cellulaires différents., (FONTY, et al., 2007)

- Les **cellules de la muqueuse colique** utilisent tous les AGCC comme substrats dans les différentes voies de leur métabolisme énergétique. Cependant le butyrate semble être la source principale d'énergie pour les cellules intestinales. Il assure d'ailleurs la majorité des besoins des colonocytes en leur fournissant environ 75% de leur énergie. (DARCY-VRILLON, et al., 1993)
- Les **cellules hépatiques** utilisent principalement le propionate comme précurseur de la néoglucogenèse. Le foie métabolise également le butyrate résiduel ainsi que 50 à 70% de l'acétate. (HIJOVA, et al., 2007)
- Les **cellules musculaires** du myocarde et des muscles squelettiques produisent quant à elles de l'énergie par oxydation de l'acétate résiduel en acide gras libre. (WONG, et al., 2007) Une partie de l'acétate résiduel est dans une moindre mesure métabolisée de

la même façon par l'encéphale (FONTY, et al., 2007), ou encore utilisée pour la lipogénèse dans le tissu adipeux et les glandes mammaires. (HIJOVA, et al., 2007)

### **II. 3. 5. 3. Autres propriétés des acides gras à chaîne courte**

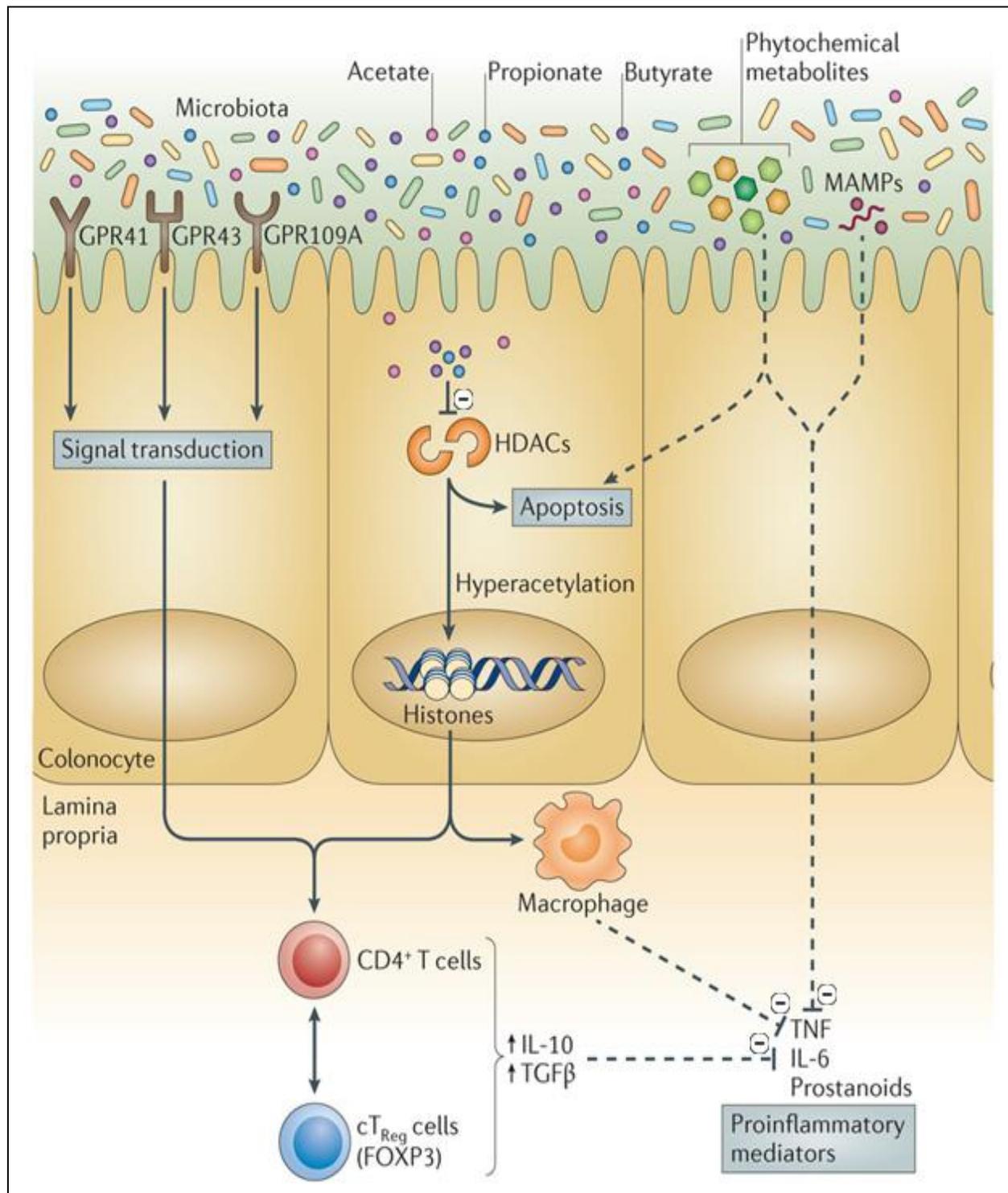
En plus de leurs fonctions nutritives et énergétiques, les AGCC produits par les bactéries coliques sont à l'origine de nombreuses réactions cellulaires cruciales dans le maintien de la santé intestinale (Figure 16).

#### **(i) Effet anti-inflammatoire**

Ceux-ci peuvent se fixer à certains récepteurs couplés aux protéines G (GPR41, GPR43 et GPR109A) situés sur la face apicale des membranes des colonocytes. Cela provoque une cascade de transduction à l'intérieur de la cellule. Les AGCC sont également absorbés par les cellules intestinales, comme détaillé précédemment. Une fois à l'intérieur, le butyrate et le propionate ont la capacité d'inhiber l'histone désacétylase (HDAC), ce qui provoque une hyperacétylation des histones nucléaires et donc la présentation de l'ADN sous une forme plus ouverte. Il a été démontré que les AGCC avaient également les mêmes interactions moléculaires avec des cellules immunitaires, notamment les macrophages et les lymphocytes T. Ces deux mécanismes (transduction de signal et hyperacétylation des histones) permettent de moduler l'expression génique des colonocytes et des cellules immunitaires ce qui a pour conséquence d'augmenter la population des lymphocytes T régulateurs au niveau du côlon (cT<sub>Reg</sub>) ainsi que d'induire la production des cytokines anti-inflammatoires suivantes : l'interleukine-10 (IL-10) et le facteur de croissance transformant  $\beta$  (TNF $\beta$ ). Ces cytokines, ainsi que d'autres mécanismes encore inconnus médiés notamment par les macrophages et les lymphocytes T, permettent d'inhiber un certain nombre de médiateurs de l'inflammation comme le facteur de nécrose tumoral (TNF), l'interleukine-6 (IL-6) ou encore les prostanoïdes. (LOUIS, et al., 2014), (PRYDE, et al., 2002)

D'autres métabolites des micro-organismes coliques ainsi que différents motifs moléculaires associés aux micro-organismes (MAMP) auraient des effets anti-inflammatoires similaires sur la muqueuse colique. Les mécanismes impliqués étant ce jour inconnus. (LOUIS, et al., 2014)

Il a de plus été montré qu'une diminution des populations bactériennes butyrogènes et du taux de butyrate survenait en cas de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin comme la maladie de Crohn ou encore de colite ulcéreuse. (MANICHANH, et al., 2006), (SOKOL, et al., 2007) Ce qui laisse supposer que le manque de butyrate est un facteur de l'entretien, voire de l'installation, de cet état inflammatoire chronique. Tout ceci démontre que les AGCC, et notamment le butyrate, possèdent des propriétés anti-inflammatoires importantes.



*GPR* : Récepteur couplé aux protéines G ;

*MAMPs* : Motifs moléculaires associés aux micro-organismes ;

*HDACs* : Histone désacétylases ;

*cT<sub>Reg</sub> cells* : Lymphocytes T régulateurs du côlon

**Figure 16 : Effets anti-inflammatoire et anti-cancérigène des acides gras à chaîne courte (AGCC) et des autres métabolites des bactéries coliques**

Modifié d'après P. Louis et al. (2014)

(ii) **Effet anti-cancérigène**

Le butyrate joue un rôle important dans la régulation de la prolifération et de la différenciation cellulaire. Cependant il a sur ce point des effets opposés ; on parle de « paradoxe du butyrate ». En effet, via la modulation de l'expression des gènes de la muqueuse colique, le butyrate a la capacité de stimuler la croissance et la différenciation des cellules intestinales normales. Par contre il semble arrêter la prolifération des cellules tumorales (WONG, et al., 2007) mais également induire leur apoptose, via l'inhibition de l'histone désacétylase. Des études ont en effet prouvé que, in vitro, le butyrate permettait d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses. (PRYDE, et al., 2002) Le butyrate se révèle donc être une molécule importante dans la protection contre le cancer colorectal.

(iii) **Protection cardiovasculaire**

Le propionate jouerait un rôle dans la régulation de l'hyperlipidémie. En effet, l'augmentation de sa production par la fermentation bactérienne colique pourrait inhiber la synthèse de cholestérol par le foie. (HIJOVA, et al., 2007) Il a ainsi été montré chez l'homme que chez des sujets avec un taux de cholestérol supérieur à 5,5 mmol/L, la prise quotidienne de propionate pendant deux semaines permettait de diminuer le taux de cholestérol et de LDL. (AMARAL, et al., 1993) De telles observations ont également été réalisées chez l'animal, avec toutefois aucun consensus sur leurs mécanismes d'action. L'hypothèse proposée est que l'augmentation de la synthèse de propionate provoquerait la chute du ratio acétate/propionate ce qui serait le véritable déclencheur de l'inhibition du métabolisme lipidique hépatique. (WONG, et al., 2007) Quoi qu'il en soit, le propionate se révèle par ce mécanisme être un important protecteur cardiovasculaire qui limiterait le risque de maladies coronariennes et cardiaques.

Toutes ces propriétés font des acides gras à chaîne courte, et notamment du butyrate et du propionate, des protecteurs de la muqueuse colique importants pour la santé intestinale en prévenant l'apparition de colites inflammatoires ou encore de cancer du côlon. Mais leurs effets bénéfiques ne se limitent pas à la sphère digestive puisque ces molécules sont également utilisées par de nombreuses voies métaboliques dans diverses cellules de l'organisme. Leur impact sur la santé des individus est donc multiple, notamment par leur rôle de protecteur cardiovasculaire. Ce sont cependant les bactéries de la flore colique qui permettent leur synthèse, faisant d'elles les véritables actrices de la santé de leurs hôtes.

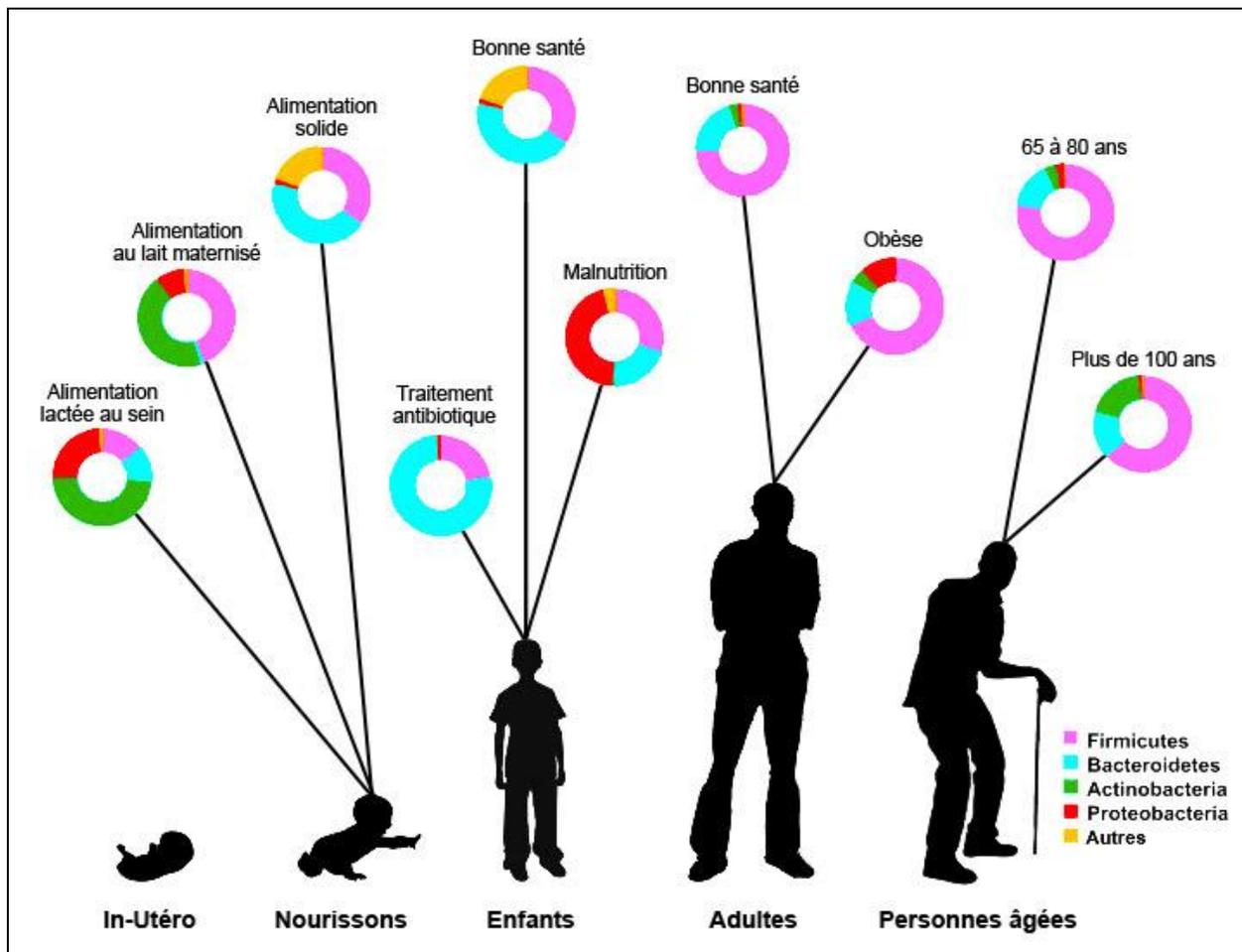


## II. 4. VARIABILITES

Les phylums bactériens principaux à l'intérieur de l'intestin du chien et de l'homme en bonne santé sont les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes*, les *Proteobacteria*, les *Fusobacteria* et les *Actinobacteria*. Cependant leurs proportions varient selon les sujets et les études dans la littérature.

Les variations observées sont probablement dues aux animaux eux-mêmes, de part leurs gènes, leur race et leur âge, mais également à leur environnement de vie et leur alimentation. Il ne faut bien sûr pas oublier que les différences entre les études puissent également être influencées par la façon dont celles-ci sont menées. De plus, divers médicaments ainsi que divers processus pathologiques peuvent également être à l'origine de variations (Figure 17).

On observe ainsi des variations de la composition du microbiote entre les individus d'une même espèce, mais également des variations temporelles durant la vie d'un même sujet.



**Figure 17 : Aperçu des variations du microbiote humain au cours de la vie et des perturbations environnementales**

Modifié d'après N. Ottman et al. (2012)

### **II. 4. 1. Expérimentales**

Les différentes études portant sur l'analyse du microbiote intestinal du chien ont toutes été réalisées par différentes équipes de recherche. Ainsi, un premier biais dans les résultats peut provenir d'une différence lors de la collection des échantillons et lors de leur manipulation. De plus, dans chaque étude un matériel et une méthode différents sont utilisés. La technique d'analyse n'est donc jamais la même ; la composition de certains microbiotes a ainsi été obtenue après extraction d'ADN ou bien d'ARN, amplifications avec des amorces différentes, puis séquencée avec différentes méthodes (séquençage par la méthode de Sanger, la méthode de Shotgun, par pyroséquençage-454, ...). (DENG, et al., 2015)

### **II. 4. 2. Physiologiques**

#### **II. 4. 2. 1. Métabolisme et immunité**

Comme nous l'avons vu, le métabolisme de l'hôte, et notamment ses produits excrétés dans la lumière digestive, ainsi que son système immunitaire jouent un rôle important dans la composition et la répartition des micro-organismes dans le tube digestif (cf. **II.1.2.**). Les différences individuelles de ces mécanismes et leurs variations aux différents moments de l'existence peuvent donc être à l'origine de variabilités du microbiote intestinal par la modification de leur biotope.

#### **II. 4. 2. 2. Génétique**

L'implication de facteurs génétiques et héréditaires dans la composition et la variation individuelle du microbiote est probable, elle n'a cependant pas été démontrée ce jour. Malgré tout, certaines observations confortent l'hypothèse d'une flore intestinale influencée par les gènes de son hôte. Par exemple, chez l'homme, les espèces méthanogènes ne sont présentes que chez 30 à 50% des individus de la population occidentale. De plus, cette flore est transmissible des parents à leurs enfants, puisque 92% des enfants méthanoexcréteurs ont des parents qui le sont aussi. (FONTY, et al., 2007)

Il faut cependant considérer la possibilité que cette transmission de microbiote puisse se faire par l'environnement, ou au contact des parents, sans support génétique associé.

#### **II. 4. 2. 3. Race**

La race est un critère fréquemment cité comme étant potentiellement à l'origine de différences de composition du microbiote intestinal chez le chien. (DENG, et al., 2015) Cette hypothèse semble tout à fait pertinente au vu des variations impressionnantes de

morphologie observées entre les différences races de l'espèce canine. On note en effet un patrimoine génétique varié, ainsi que des changements de la taille, voire même du métabolisme du tube digestif. De plus les variations physiques et les aptitudes propres à chaque race les prédisposent à des modes de vie différents, que ce soit le lieu de vie, l'activité effectuée ou encore l'alimentation.

Tous ces facteurs, qu'ils soient directs ou indirects, sont probablement à l'origine de variations spécifiques de la composition des communautés microorganiques dans chaque race.

#### II. 4. 2. 4. Age

##### (i) Mise en place du microbiote

A la naissance d'un individu, homme ou animal, l'intestin est stérile. Par la suite, le microbiote intestinal va subir une étape de maturation au cours de laquelle les différents micro-organismes vont s'implanter progressivement et séquentiellement. L'écosystème digestif finit par se stabiliser et atteint un état d'équilibre appelé climax. (FONTY, et al., 2007) C'est donc au cours de la période entre la naissance et le sevrage, puis jusqu'au développement complet du microbiote au cours de l'enfance, que s'opère la majorité des modifications du microbiote intestinal. C'est la raison pour laquelle la principale variation physiologique du microbiote s'observe entre les jeunes individus non sevrés et les adultes. Ainsi, dans l'espèce canine, du fait de l'alimentation principalement lactée avant le sevrage, la flore lactique est deux fois plus importante chez le chiot que chez le chien adulte. (STROMBECK, 1996)

La mise en place du microbiote durant la première période de la vie se sépare en plusieurs étapes. On a tout d'abord l'**installation des espèces pionnières**. Celles-ci sont généralement peu spécialisées et forment des réseaux trophiques simples. Leur multiplication est rapide ce qui leur permet de vite coloniser le milieu. Ensuite, on remarque une **diversification des communautés microbiennes**. Des espèces à croissance lente apparaissent et se développent dans la lumière intestinale, celles-ci permettent la création de réseaux trophiques plus complexes que les précédents. L'augmentation de la diversité du microbiote intestinal permet ainsi une meilleure exploitation des ressources disponibles. L'écosystème atteint enfin un **stade mature** possédant une grande richesse spécifique et composé de beaucoup d'espèces à croissance lente. A cette étape du développement du microbiote, on observe la présence de nombreuses chaînes trophiques, interagissant entre elles de multiples façons et de manière très complexes. L'écosystème possède alors un très bon rendement et exploite au mieux les nutriments à sa disposition. Ce stade correspond au climax, un équilibre dynamique entre les différentes espèces. (LEVEQUE, et al., 2008)

Dans certains cas, on peut observer une étape supplémentaire de vieillissement au cours de laquelle certaines espèces ont tendance à se développer outre mesure et à éliminer les autres. Dans le cas du microbiote intestinal, cette étape est très progressive et n'arrive généralement qu'à un âge avancé.

(ii) **Vieillessement du microbiote**

Même si l'on considère qu'elle est stable chez l'adulte, la composition du microbiote continue à évoluer, bien que ces modifications soient de moindre importance. Chez l'être humain, on observe une diminution du nombre et de la diversité des bactéries des genres *Bacteroides* et *Bifidobacterium* chez les personnes âgées, celle-ci s'accompagne par ailleurs d'une baisse de la synthèse des acides gras à chaîne courte. On observe également une augmentation générale des bactéries anaérobies facultatives et plus particulièrement des bactéries des genres *Fusobacterium*, *Eubacterium* et *Clostridium*, avec notamment la bactérie pathogène *Clostridium difficile*. (WOODMANSEY, 2007)

L'évolution semble identique chez le chien, puisque dans cette espèce le nombre de bactéries des genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et *Peptostreptococcus* diminue avec l'âge, alors que la quantité de *Clostridium perfringens* et des *Streptococcus* est plus élevée chez les individus âgés. (RINKINEN, 2006), (KUZMUK, et al., 2005)

Bien que relativement stable durant la majorité de l'existence d'un individu, la diversité du microbiote intestinal semble s'appauvrir doucement avec l'âge, ce qui favorise l'installation de bactéries pathogènes chez les sujets âgés du fait de l'atténuation de l'effet de barrière (cf. II.3.3.).

#### II. 4. 2. 5. **Alimentation**

Le régime alimentaire joue, tout comme l'âge, un rôle important dans la composition du microbiote, et ce notamment pendant les premières années de vie, en orientant la maturation et la diversification du microbiote lors de l'introduction de nouveaux types d'aliments.

De plus, il a été démontré que diverses prises en charges nutritionnelles peuvent être utiles pour rétablir la composition normale d'une flore intestinale altérée. (DENG, et al., 2015)

Les différents aliments sont un des nombreux facteurs à l'origine de la sélection positive ou négative de certaines catégories de micro-organismes. Certains régimes permettent de fournir les nutriments nécessaires au développement de certaines populations de microbes, tout en privant d'autres espèces de ceux dont ils ont besoin.

Ainsi des individus adultes avec un régime alimentaire différent possèdent des variations dans la composition de leur microbiote intestinal. Ceci a notamment été observé chez l'homme entre les populations asiatiques et occidentales. De plus, chez un même individu, une modification du régime sur le long terme induit des modifications qualitatives et quantitatives de ses populations microbiennes intestinales. (FINEGOLD, et al., 1978), (DETHLEFSEN, et al., 2006)

Dans l'espèce humaine, les chercheurs du consortium européen MetaHIT ont caractérisé l'impact du régime alimentaire par la définition de groupes ayant chacun une composition bactérienne intestinale spécifique. On les dénomme entérotypes. Ces groupes s'avèrent totalement indépendants de l'origine géographique d'un individu, de son âge ou de

son état de santé. On dénombre ainsi trois entérotypes distincts dans lesquels se répartissent la pluparts des individus (ARUMUGAM, et al., 2011) :

- L'entérotipe de **type 1** se caractérise par une forte abondance des bactéries du genre *Bacteroides*, il correspond à un régime riche en **viandes** et en **graisses**, comme le régime occidental.
- L'entérotipe de **type 2** n'est composé que de peu de *Bacteroides*, il se caractérise par une abondance des bactéries du genre *Prevotella*, il correspond à un régime riche en **glucides**.
- L'entérotipe de **type 3** se caractérise par une abondance des bactéries du genre *Ruminococcus*.

Plusieurs études ont été menées chez l'être humain pour identifier plus précisément l'impact du régime sur les modifications des populations bactériennes. Celles-ci sont résumées dans le tableau IX. On observe notamment qu'une consommation importante de fibre augmente la quantité de bifidobactéries, lesquelles sont bénéfiques à la santé de l'individu, elles sont cependant diminuées par un taux de graisse trop important. Un régime riche en sucre raffiné favorise la colonisation du tube digestif par des bactéries pathogènes comme *Clostridium difficile* et *Clostridium perfringens*. (BROWN, et al., 2012)

On peut supposer que les différents nutriments influencent de la même façon les micro-organismes canins lors de changement d'aliments chez le chien. Cependant, comparé à l'homme, cette espèce consomme très peu de sucres raffinés ce qui est une bonne chose puisque cela limite l'implantation des espèces de *Clostridium* pathogènes.

Il a également été démontré que certains compléments alimentaires, comme les prébiotiques, pouvaient engendrer des modifications durables de la composition du microbiote intestinal. Les prébiotiques sont en effet le plus souvent des oligosaccharides ou des polysaccharides à chaîne courte, non digérés par l'intestin, qui ont la capacité de servir de substrats sélectifs à une ou plusieurs souches bactériennes coliques et de stimuler leur croissance pour favoriser le maintien ou le retour à un microbiote intestinal sain.

La complémentation de l'alimentation de chiens avec des fructo-oligosaccharides (FOS) ou des mannan-oligosaccharides (MOS) permet ainsi d'augmenter la quantité des Bifidobactéries et des Lactobacilles et de diminuer la population d'*Escherichia coli*, ce qui a un effet bénéfique sur la digestion et l'immunité du côlon. (GRIESHOP, et al., 2004), (SWANSON, et al., 2002)

**Tableau IX : Effet de la composition du régime alimentaire  
sur la composition bactérienne intestinale de l'homme**

Modifié d'après K. Brown (2012)

<i>Régime alimentaire</i>	<i>Populations bactériennes altérées</i>	<i>Modification quantitative observée</i>
<b>Riche en graisses</b>	<i>Bifidobacteria spp.</i>	Diminution
<b>Riche en graisses saturées (lait)</b>	<i>Proteobacteria</i>	Augmentation
<b>Riche en graisses et sucres</b>	<i>Enterococcus spp.</i> <i>Clostridium innocuum</i>	Augmentation
	<i>Bacteroides spp.</i>	Diminution
<b>Riche en sucres raffinés</b>	<i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium perfringens</i>	Augmentation
<b>Pauvre en glucides</b>	Bacteroidetes	Augmentation
<b>Riche en glucides complexes</b>	<i>Bifidobacteria spp.</i> <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	Augmentation
	Enterobacteriaceae	Diminution
<b>Hypocalorique</b>	<i>Lactobacillus spp.</i> <i>Bifidobacteria spp.</i> <i>Clostridium coccoides</i>	Diminution
<b>Végétarien</b>	<i>Escherichia coli</i>	Diminution
<b>Riche en oméga-6</b>	Firmicutes Actinobacteria Proteobacteria	Augmentation
	Bacteroidetes	Diminution

### **II. 4. 3. Pathologiques**

#### **II. 4. 3. 1. Changement brutal de régime alimentaire**

Comme nous venons de le voir, le régime alimentaire influence la composition du microbiote intestinal. Ainsi, des régimes complètement déséquilibrés peuvent favoriser l'implantation de bactéries pathogènes, ou diminuer la composition qualitative du microbiote

et ainsi provoquer diverses maladies au long terme. Cependant, la composition du microbiote a tendance à rester stable, et un changement alimentaire ou l'introduction de nouveaux aliments n'engendre généralement qu'un déplacement de la composition microbienne vers un nouvel équilibre également stable, même si parfois moins efficace.

En effet, un changement progressif de l'alimentation laisse le temps à la flore intestinale de s'adapter aux nouveaux nutriments en modifiant son métabolisme et sa composition. L'être humain ayant un régime omnivore très varié, son intestin comporte une grande richesse de micro-organismes s'adaptant ainsi rapidement aux modifications de leur milieu. De plus, cette alimentation couvrant la plupart des types de nutriments, il est rare qu'un changement de régime provoque une réelle rupture nutritionnelle.

Ce n'est pas le cas des animaux de compagnie et notamment le chien. En effet, ceux-ci sont généralement habitués à ne recevoir qu'un seul aliment (croquettes ou pâtée d'une seule marque) durant la majorité de leur vie. Leur microbiote intestinal s'est donc adapté à assimiler les composants de cet aliment unique et a souvent perdu la capacité de digérer correctement les nutriments avec lesquels il n'est jamais en contact. Les animaux de compagnie ont donc une flore intestinale moins adaptable aux changements alimentaires. C'est pourquoi il est conseillé chez le chien d'effectuer des périodes de transition de plusieurs semaines lors du changement de l'alimentation, ce qui n'est jamais réalisé chez un être humain puisque chacun de ses repas est différent.

Chez nos animaux de compagnie, un changement brutal de régime alimentaire pourra donc occasionner une rupture toute aussi brutale entre les micro-organismes intestinaux et les nutriments qu'ils ont l'habitude d'assimiler. La flore en place n'étant pas capable de digérer correctement le nouvel aliment, cette rupture risque de provoquer une malassimilation durant la période d'adaptation du microbiote. Celle-ci est généralement la cause d'une diarrhée plus ou moins intense qui se résout le plus souvent seule lorsque le microbiote a réussi à s'adapter. Cependant, cette période d'adaptation est critique puisque la rupture alimentaire occasionne un déséquilibre de la flore pouvant favoriser l'implantation de micro-organismes pathogènes ou conduire à une dysbiose suffisamment importante pour empêcher le retour à une composition normale.

#### **II. 4. 3. 2. Stress**

Chez le chien comme chez l'homme, le stress est réputé avoir un impact sur le système digestif et être à l'origine de diarrhées et de maladies digestives comme le syndrome de l'intestin irritable (cf. **I.2.4.2.**). L'hypothèse de l'implication du microbiote intestinal dans ce processus a été évoquée et des études ont alors prouvé que l'exposition à un stress impacte la stabilité de l'écosystème microbien ce qui favorise l'installation d'une dysbiose intestinale ainsi que les translocations bactériennes.

Une étude menée sur des souris de laboratoire a récemment objectivé un réel lien entre le stress et les variations de microbiote. Des groupes de souris ont ainsi été exposés pendant six jours consécutifs à un stress social quotidien de deux heures, à savoir l'introduction temporaire d'un congénère agressif dans leurs cages. Le microbiote de ces souris a ensuite été

analysé, soit immédiatement après le dernier cycle de stress, soit le lendemain, à savoir 15 heures après les autres, puis comparé à la flore de souris témoins non stressées. (BAILEY, et al., 2011)

Une modification significative de la composition des populations microbiennes a ainsi été observée chez les souris stressées, les perturbations de l'écosystème intestinal étant bien plus importante juste après le stress que le lendemain. L'exposition au stress provoque ainsi chez les souris une diminution de l'abondance relative des *Bacteroides* parallèle à l'augmentation des populations du genre *Clostridium*. De plus, un impact métabolique du stress a également été identifié et relié aux bactéries intestinales. En effet, le stress provoque une augmentation du taux circulant de certaines cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL-6 ou les MCP-1, lesquels sont corrélés avec l'augmentation de trois genres bactériens, les *Coprococcus*, les *Pseudobutyrvibrio* et les *Dorea*.

Ces découvertes impliquent non seulement que le stress est à l'origine d'une variation du microbiote intestinal, mais également que c'est entre autre les variations de celui-ci qui provoquent par la suite des modifications physiologiques à l'origine de certains processus pathologiques comme les diarrhées nerveuses. (BAILEY, et al., 2011)

#### II. 4. 3. 3. Médicaments

##### (i) Antibiotiques

Divers médicaments peuvent interagir avec la flore intestinale et provoquer des variations de celle-ci. C'est évidemment le cas des antibiotiques puisque ceux-ci ont la capacité d'agir directement pour tuer ou inhiber le développement des micro-organismes qui leur sont sensibles. Ainsi, lors d'une antibiothérapie, la molécule utilisée n'agit pas uniquement sur l'espèce bactérienne ciblée mais également sur toutes les bactéries du microbiote intestinal faisant partie du spectre d'activité de cet antibiotique.

Il a donc été prouvé que les traitements par voie orale avec des antibiotiques, surtout s'ils ont un large spectre, sont à l'origine de modifications du microbiote intestinal. De plus, il est fréquent d'observer une diarrhée modérée chez les patients recevant un traitement antibiotique au long cours. Ce symptôme est en effet une conséquence classique d'un déséquilibre de la flore. Les variations du microbiote ainsi provoquées sont généralement sans grande importance, et restent transitoires pendant la durée du traitement, la flore retrouvant sa composition à l'arrêt de celui-ci. (FONTY, et al., 2007)

Cependant, il semblerait que les individus en bas âge se trouvent dans une période critique au cours de laquelle de tels traitements soient capables de désorganiser la composition des populations de leurs micro-organismes intestinaux sur le long terme. (TANNOCK, 2002) Il a ainsi été prouvé avec différents antibiotiques, que les enfants subissant une antibiothérapie voient le nombre de bactéries anaérobies présentes dans leurs selles diminuer drastiquement pendant le traitement. Dix semaines après l'arrêt de celui-ci, une réaugmentation de la population bactérienne anaérobie est mesurée, sans cependant retrouver une composition et une richesse égale aux enfants témoins. (CONWAY, 1997) Une

autre étude menée sur dix jeunes enfants ayant reçu des traitements avec de l'amoxicilline ou de la flucloxacilline a montré que 70% d'entre eux présentaient une modification sensible de la flore intestinale avec un effet majoritaire sur les bifidobactéries qui n'étaient plus détectées chez plusieurs d'entre eux. Seulement 50% des enfants ont retrouvé la composition initiale de leur microbiote après l'arrêt du traitement. (TANNOCK, 2002)

Les personnes immunodéprimées ou exposées à un risque infectieux sont également à risque lors de traitements antibiotiques à large spectre. Chez de tels individus, un traitement antibiotique favorise en effet les infections secondaires et l'installation d'agents pathogènes.

Il semblerait par ailleurs que de nombreuses maladies, pour lesquelles une implication du microbiote intestinal ou de bactéries pathogènes soit avérée ou suspectée, se déclarent peu de temps après un traitement antibiotique.

#### (ii) Autres médicaments

D'autres médicaments modifient également la composition du microbiote intestinal de façon indirecte, en modulant les conditions physico-chimiques des niches écologiques digestives. C'est par exemple le cas des antiacides, comme les inhibiteurs de la pompe à proton ou encore les antihistaminiques-H<sub>2</sub>, qui provoquent des variations du pH digestif, des AINS, qui modulent la sécrétion du mucus protecteur, ou encore des antispasmodiques, des opioïdes ou des laxatifs, qui font varier la motilité intestinale. Ces modifications du milieu de vie entraînent la sélection positive ou négative de certaines espèces bactériennes par rapport à d'autres. (SIMREN, et al., 2013)

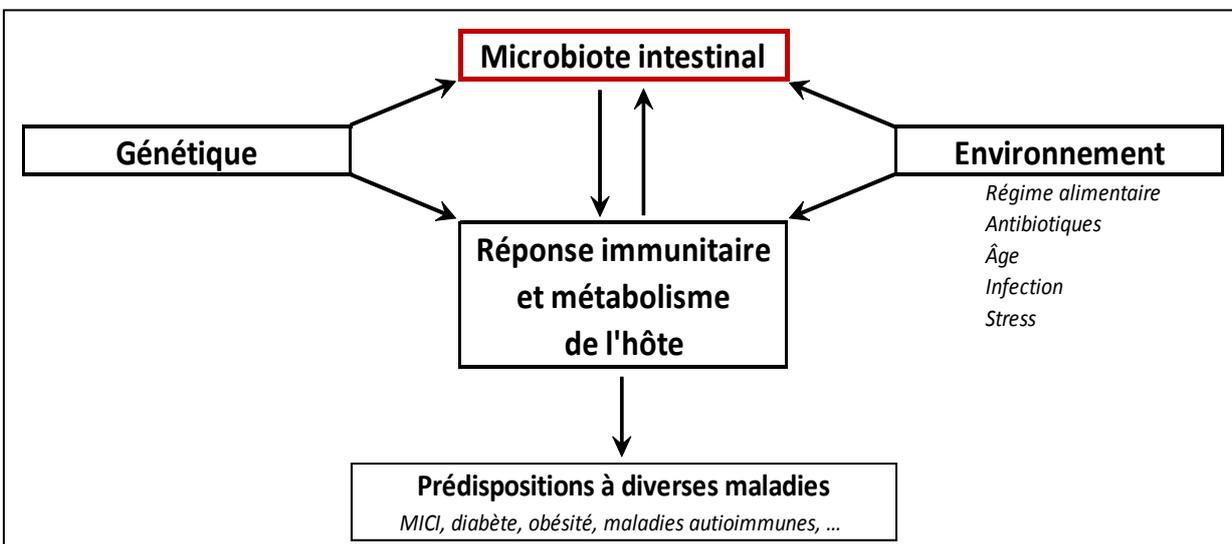
### II. 4. 3. 4. Hygiène et infections

La flore intestinale est constamment soumise à des pressions environnementales qui peuvent venir modifier sa composition. C'est le cas des différents agents pathogènes se trouvant dans le milieu de vie d'un individu, la présence de ces éléments infectieux est cependant très dépendante des conditions d'hygiène de l'environnement. Il a en effet été montré que le microbiote intestinal d'un Africain des zones rurales vivant dans des conditions d'hygiène faible était différent de celui d'un Européen citadin avec une forte hygiène de vie. Ainsi, la première population possède un microbiote plus riche en *Bacteroidetes* que la seconde, avec une forte abondance de bactéries des genres *Prevotella* et *Xylanibacter*. Les Européens présentent quant à eux une plus grande quantité de *Firmicutes*, et également d'entérobactéries des genres *Escherichia* et *Shigella*. Cependant, les deux populations ont également un régime alimentaire très différent. (DE FILIPPO, et al., 2010), (SIMREN, et al., 2013)

Il a de plus été montré que de faibles conditions d'hygiène, surtout durant la petite enfance, favorisent la recrudescence d'infections, notamment digestives. Ces infections sont alors à l'origine de dysbioses. On observe ainsi une augmentation des bactéries aérobies et une diminution des anaérobies strictes.

Dans la majorité des cas, la composition du microbiote retrouve son état d'équilibre lors de l'élimination complète de l'agent infectieux, ou après l'amélioration de l'hygiène de vie. (JOLY, et al., 2007) Cependant, la rupture de la composition est parfois trop importante et une dysbiose persistante s'installe.

Le microbiome intestinal, c'est-à-dire les micro-organismes et leur matériel génétique, est influencé à la fois par le patrimoine génétique de l'hôte et par son environnement, dont l'alimentation, l'administration de médicaments et le stress qu'il apporte. Ces différents facteurs modulent également l'expression du métabolisme et de la réponse immunitaire de l'hôte qui viennent à leur tour interagir avec le microbiote intestinal et le modifier. Toutes ces altérations de la flore peuvent, à terme, également affecter l'immunité et le métabolisme de l'hôte, ce qui, conjointement aux interactions environnementales, pourrait prédisposer l'individu à diverses maladies digestives, métaboliques ou même auto-immunes (Figure 18).



**Figure 18 : Influence de l'hôte et de l'environnement sur le microbiote intestinal**

Modifié d'après K. Brown et al.

## II. 5. DYSBIOSE INTESTINALE

---

### II. 5. 1. Notion de seuil de la stabilité du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal peut, comme nous venons de le voir, subir diverses variations normales liées à l'individu et à son évolution, ou anormales provoquées par des perturbations extérieures. Cependant, le microbiote intestinal a la capacité, comme tous les écosystèmes, de résister en partie aux facteurs externes, et ainsi de se maintenir dans un état qui reste plus ou moins identique sur le long terme, cette capacité est appelée **stabilité** du microbiote. Ainsi chez un animal d'âge adulte, un microbiote sain se trouvant à l'état de climax possède une bonne stabilité, empêchant les changements significatifs dans la taille et la composition des populations le composant. La stabilité est elle-même fonction de deux capacités intrinsèques à l'écosystème microbien, la résilience et la résistance. (LEVEQUE, et al., 2008)

La **résistance**, ou inertie, du microbiote correspond à sa capacité à rester constant et à ne répondre que très modérément aux variations provoquées par les facteurs abiotiques, c'est-à-dire l'alimentation, les sécrétions digestives ou encore les antibiotiques et autres médicaments.

La **résilience**, ou homéostasie, est la capacité du microbiote à retrouver sa structure initiale après avoir été affecté par une perturbation. Elle intègre une notion de **seuil de réversibilité** correspondant à la limite de réaction de la flore. Si une perturbation quelconque produit une variation du microbiote suffisante pour passer au-delà du seuil, l'écosystème microbien bascule alors dans un nouvel état pathologique appelé **dysbiose**. (LEVEQUE, et al., 2008)

### II. 5. 2. Conséquences d'une dysbiose intestinale

En cas de déséquilibre de la flore intestinale, ou dysbiose, certaines bactéries pathogènes ou opportunistes qui devraient normalement être éliminées peuvent s'implanter au sein du tube digestif et causer des maladies par une action directe ou indirecte via la production de toxines. C'est par exemple le cas de *Clostridium difficile*.

Cependant, même sans l'intervention d'agent pathogène, un déséquilibre dans les populations bactériennes autochtones peut avoir des effets néfastes. En effet, une espèce bactérienne se retrouvant en trop grande quantité peut alors produire trop de composés néfastes pour les cellules intestinales. Par exemple, la microflore protéolytique produit des amines et des polyamines par décarboxylation des acides aminés. Si cette microflore se développe de façon disproportionnée, le taux d'amines produites, et donc absorbées au niveau de la muqueuse colique, sera trop élevé et causera divers symptômes. L'implication des amines dans différentes maladies comme les migraines, la schizophrénie ou certaines gastroentérites est d'ailleurs suspectée. De même, l'ammoniaque issue de la protéolyse bactérienne est capable d'altérer la morphologie et le métabolisme des colonocytes ;

l'hypothèse de leur implication dans l'initiation du cancer colique a donc été évoquée. (BERNALIER-DONADILLE, 2004)

Bien évidemment, lorsque certaines espèces de micro-organismes se retrouvent en trop faible quantité, divers troubles peuvent également apparaître. Par exemple, nous avons vu que la flore colique était importante dans une partie de l'élimination du cholestérol via la production de coprostanol. Si l'activité coprostanolinégique n'est pas suffisante, le sujet risque donc d'être prédisposé à diverses maladies cardiovasculaires et notamment à l'infarctus du myocarde. (VEIGA, et al., 2005)

Une dysbiose intestinale engendre généralement divers troubles digestifs. En cas d'excès de méthanogénèse par une trop grande proportion d'Archée, des flatulences sont par exemple observés par excès de gaz.

Au cours des soixante dernières années, le microbiote intestinal a été sous agression antibiotique constante, de part les traitements médicaux et l'utilisation d'antibiotiques dans les productions animales. Ce n'est que depuis quelques années que l'on prend conscience de leur impact potentiel sur la santé, et notamment leur implication dans de nombreux processus pathologiques associés au mode de vie occidental. Parmi ceux-ci on compte la constipation, les MICI, le syndrome de l'intestin irritable, la prolifération bactérienne de l'intestin grêle, diverses maladies neurologiques et cardiovasculaires, l'obésité, divers syndromes métaboliques et maladies dysimmunitaires, l'asthme ou encore des allergies. La plupart de ces maladies ayant au cours de ces dernières années atteint des proportions épidémiques. On les suspecte aujourd'hui d'être provoquées par des altérations du microbiote intestinal (cf. **III.3.**). (BORODY, et al., 2011b)

***TROISIEME PARTIE :***  
***LA TRANSPLANTATION DE***  
***MICROBIOTE FÉCAL***



# III. 1. PRINCIPE ET HISTORIQUE DE LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL

---

## III. 1. 1. Principe

La **transplantation de microbiote fécal (TMF)** est un traitement visant à **rétablir une microflore intestinale équilibrée**, pour traiter une maladie spécifique. Il consiste en une introduction de matériel fécal contenant des micro-organismes, issu d'un **donneur sain**, directement dans le **tractus gastro-intestinal** d'un patient receveur de façon à réensemencer une flore saine en lieu et place de la flore déséquilibrée. (ANSM, 2014) Cette thérapie est parfois aussi nommée transplantation fécale, greffe fécale, transfusion fécale, bactériothérapie fécale ou encore transfaunation. (*Termes anglais : Fecal Microbiota Transplantation (FMT), fecal transplant, stool transplant, fecal transfusion, fecal bacteriotherapy, fecal enema*)

Cette technique, encore émergente, est actuellement surtout utilisée en médecine humaine pour traiter les infections récurrentes à *Clostridium difficile*. (ARONIADIS, et al., 2013) Cependant, bien qu'il y ait un regain d'intérêt récent pour cette thérapeutique, elle n'est en rien nouvelle, le principe existant depuis au moins 1700 ans. (ZHANG, et al., 2012)

## III. 1. 2. Historique

Dès le IV<sup>ème</sup> siècle en Chine, durant la dynastie Dong-jin, Gê Hóng (281-341) administrait des suspensions orales de fèces humaines à ses patients atteints d'intoxications alimentaires ou de diarrhées sévères. Il obtint de bons résultats, alors considérés comme des miracles ramenant des malades du « bord de la mort ». Ce célèbre médecin et alchimiste chinois fut le premier à décrire cette technique, qu'il détaille notamment dans le premier manuel chinois de prescriptions d'urgences, le « *Zhou Hou Bei Ji Fang* ». (ZHANG, et al., 2012), (SAPRIEL, et al., 2006)

Au XVI<sup>ème</sup> siècle, durant la dynastie Ming, un autre médecin et herboriste chinois, Li Shizhen (1518-1593) décrit à son tour l'utilisation de diverses préparations à base de fèces pour traiter des maladies digestives accompagnées de douleur, de fièvre, de diarrhées sévères, de vomissements et/ou de constipation. Il détaille ces traitements dans un livre de médecine traditionnelle chinoise, le « *Ben Cao Gang Mu* ». (ZHANG, et al., 2012), (SAPRIEL, et al., 2006).

Il faut attendre le XVII<sup>ème</sup> siècle pour que la transplantation de micro-organismes digestifs soit décrite en médecine vétérinaire par le célèbre anatomiste italien Girolamo Fabrizi d'Acquapendente, de nom latin Hieronymus Fabricius (1537-1619). Ce dernier utilise alors le terme de « transfaunation ». Cette technique consistait à administrer à une vache ne ruminant plus des portions alimentaires régurgitées par une autre vache, et donc de transférer

sa flore ruminale. La transfaunation est de nos jours fréquemment utilisée en médecine des animaux d'élevage pour traiter des acidoses ruminales sévères. (BORODY, et al., 2004)

C'est en 1958 que B. Eiseman et son équipe utilisent pour la première fois un traitement sous la forme de lavement digestif. Leur étude prouve alors l'efficacité de la transplantation de microbiote fécal sur quatre patients atteints d'entérococolite pseudomembraneuse, infection causée par *Clostridium difficile*. (ARONIADIS, et al., 2013), (EISEMAN, et al., 1958) Cette technique a cependant été délaissée pendant des années jusqu'à la première publication en 1983 d'un cas confirmé d'infection à *Clostridium difficile* (ICD) traité efficacement avec une TMF. Depuis, l'intérêt de la communauté scientifique pour ce traitement n'a cessé de grandir. (KELLY, et al., 2015)

Aujourd'hui, la transplantation de microbiote fécal a été déclinée en de nombreuses techniques d'applications, par lavements, par sondes nasogastriques, par sondes entérales, ou encore gastroscopies pour soigner différentes maladies digestives et extradiigestives.

Depuis les années 2000, le Professeur Thomas J. Borody, gastroentérologue et directeur du « *Centre for Digestive Diseases* » (CDD), à Sydney en Australie, a énormément travaillé et développé la technique de transplantation de microbiote fécal. Il a découvert de nouvelles indications pour ce traitement et a amélioré les protocoles d'administration de celui-ci.

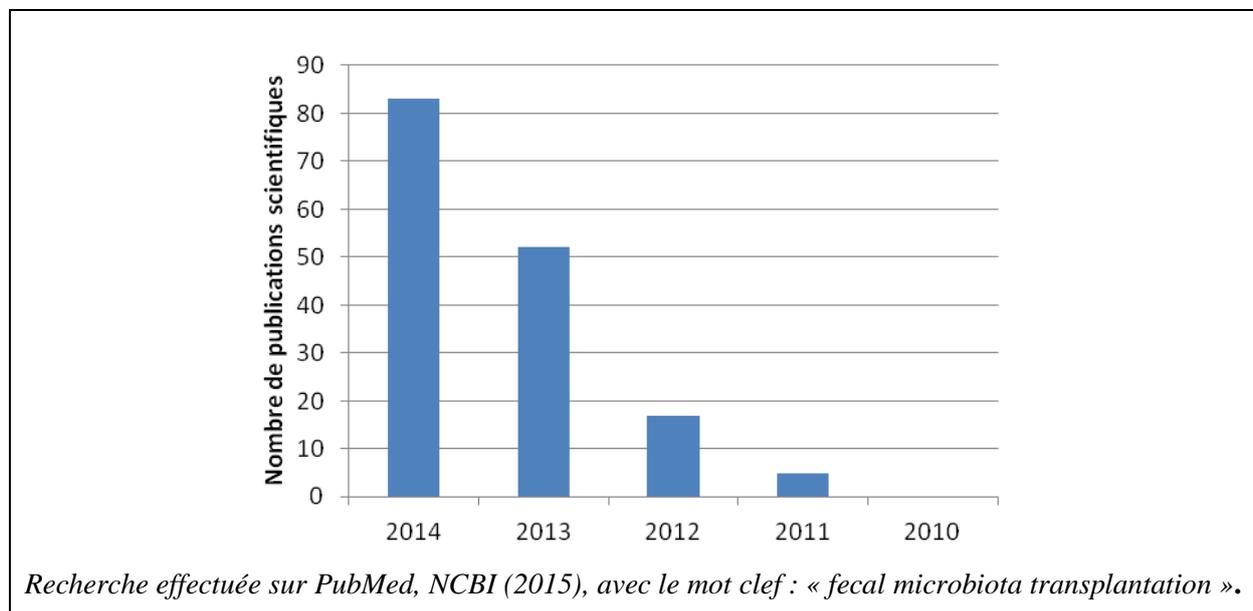
Il est également le créateur du « *Probiotic Therapy Research Centre* » (PTRC), centre spécialisé dans le traitement des maladies gastrointestinales par la TMF. Les objectifs de ce centre sont aujourd'hui les suivants : (BORODY, 2000)

- Faire un point clinique sur les troubles dont l'étiologie peut être liée à la flore intestinale ;
- Effectuer des essais cliniques et recueillir des données sur l'utilisation de différents probiotiques, principalement dans le traitement des troubles gastro-intestinaux ;
- Diagnostiquer et traiter des troubles associés à une dysbiose intestinale ;
- Traiter divers troubles gastro-intestinaux en facilitant l'accès à des produits de type probiotiques, allant du simple probiotique, en passant par des produits issus de mélanges, jusqu'à finalement la transplantation de microbiote fécal ;
- Développer de nouveaux probiotiques pour diverses maladies et les essayer dans la pratique clinique.

Ce traitement semblant révolutionnaire, on a également pu observer depuis 2010 un effet de mode dans la population, notamment américaine. De nombreuses personnes se sont mises à effectuer leur propre TMF à la maison, et de nombreux sites internet ont commencé à proposer des protocoles pour réaliser soit même sa transplantation. Face au développement de ces pratiques non encadrées, les diverses agences de santé mondiales ont défini des statuts et proposé des mesures de sécurité, de façon à limiter les déviations et à encadrer ce traitement, qui n'est malgré tout pas dénué de risque.

En 2012, une petite équipe de microbiologistes fonde la première banque de selles, « *OpenBiome* » à Boston, aux Etats-Unis. Cette entreprise, à but non lucratif, a pour principal objectif de fournir aux hôpitaux des matières fécales prêtes à l'utilisation clinique pour traiter les infections à *Clostridium difficile*. Pour attirer les donateurs, *OpenBiome* offre à ceux-ci 40\$ par échantillon. (SMITH, et al., 2014), (OPENBIOME, 2012) Depuis, plusieurs hôpitaux ont développé leur propre banque de selles aux Etat-Unis, comme par exemple le *Massachusetts General Hospital* à Boston ou encore le *Emory University Hospital* à Atlanta. (SMITH, et al., 2014)

On peut observer depuis quelques années un gain d'intérêt croissant pour la TMF au sein de la communauté scientifique. Aussi le nombre de publications et d'informations disponibles à ce sujet ne cesse d'augmenter d'année en année (Figure 19).



**Figure 19 : Evolution du nombre de publications scientifiques relatives à la transplantation de microbiote fécal au cours des dernières années**

De nombreuses recherches sont actuellement en cours pour mieux comprendre le fonctionnement du microbiote intestinal et développer la TMF et ses nouveaux domaines d'application. (ClinicalTrials.gov, 2015)



## III. 2. REGLEMENTATION ET RECOMMANDATIONS

---

Suite à la délibération d'un comité scientifique spécialisé temporaire sur la transplantation de microbiote fécal, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) publie le 20 mars 2014 un rapport sur la TMF et son encadrement dans les essais cliniques. Ce dernier a pour objectif d'encadrer cette pratique par diverses recommandations nationales, de façon à minimiser le risque associé à cette technique dans le cadre de la recherche biomédicale et ainsi garantir la sécurité des patients. Ce rapport éclaire également l'application réglementaire de ce traitement. (ANSM, 2014)

L'ANSM encourage également les recherches visant à mettre en évidence les constituants du microbiote fécal qui possèdent un effet thérapeutique. En effet leurs découvertes permettraient la création de produits composés de ces constituants actifs et purifiés. Leurs fabrications garantiraient alors la reproductibilité et la stabilité du produit, pour une utilisation plus sécurisée. (ANSM, 2014)

### III. 2. 1. Statut du microbiote fécal

#### III. 2. 1. 1. Statut national

**En France**, le microbiote fécal ne dispose d'aucun statut dans le Code de la Santé Publique. Cependant, le microbiote fécal étant ici employé à visée curative contre diverses maladies humaines ou animales, il faut lui appliquer l'article L. 5111-1 du Code de la Santé Publique (CSP) : *«On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. [...]»* (CSP, 2007). Le microbiote fécal doit donc être considéré comme un **médicament**. (ANSM, 2014)

Ce dernier ne possédant pas encore d'autorisation de mise sur le marché (AMM), il doit être employé dans le cadre législatif et réglementaire applicable soit aux préparations magistrales et hospitalières, soit aux médicaments expérimentaux destinés à un essai clinique, ces derniers étant définis respectivement dans les articles L. 5121-1 et L. 5121-1-1 du Code de la Santé Publique. (ANSM, 2014)

### III. 2. 1. 2. Statut international

**Au niveau international**, le microbiote fécal n'a pas encore de statut commun entre les différents pays. Les Etats-Unis le considèrent, à l'instar de la France, comme un médicament, mais certains pays de l'Union Européenne, comme le Royaume-Uni, le considèrent comme un **tissu**. (ANSM, 2014)

Il n'y a d'ailleurs pas encore de consensus au sein de la communauté scientifique. Certains considèrent qu'au vu de ses propriétés le microbiote fécal se rapprocherait plus d'un tissu ou d'un organe. En effet comme nous l'avons vu précédemment, de part ses multiples fonctions physiologiques (dont son implication dans le métabolisme énergétique, ses propriétés de synthèse et ses interactions avec les différentes parties de l'organisme) le microbiote intestinal agit de façon similaire à un organe indépendant. Comme n'importe quel organe, il est composé de cellules spécialisées : les différentes lignées de micro-organismes, qui ont chacune leurs propres fonctions et travaillent en symbiose entre elles et avec l'hôte. (BORODY, et al., 2011b)

Dans les pays dans lequel le statut de médicament a été choisi, la protection des patients par des règles strictes est assurée. Cependant, ce statut limite considérablement l'accès aux soins. C'est pourquoi, reclasser les selles comme un tissu permettrait de continuer à protéger les malades, tout en permettant un plus large accès à cette technique qui faciliterait les soins et la recherche. (SMITH, et al., 2014)

### III. 2. 2. Réglementation de la fabrication du transplant

Pour réaliser des transplantations de microbiote fécal, un établissement de santé doit déposer une **demande d'autorisation d'essai clinique à l'ANSM**, et obtenir de celle-ci la délivrance d'une autorisation d'essai clinique. Cette demande doit comporter un **dossier sur le médicament expérimental** utilisé, à savoir le transplant de microbiote fécal. Le procédé de sa fabrication étant relativement simple, il n'est pas standardisé à ce jour. Cependant, le **protocole de fabrication** utilisé doit être détaillé dans le dossier. Ce dernier doit notamment contenir les locaux, le matériel utilisé et les différentes étapes du procédé de fabrication. Ce protocole doit garantir la qualité du don et l'absence de contamination. (ANSM, 2014)

Le microbiote fécal étant en France considéré comme un médicament, sa préparation en transplant et le protocole de fabrication associé, sont placés sous la **responsabilité d'une Pharmacie à Usage Intérieur (PUI)** d'un établissement de santé. Cependant, pour plus de commodité, le contrôle de la préparation des fèces peut être effectué au **laboratoire de microbiologie** de l'établissement de santé. (ANSM, 2014)

### **III. 2. 3. Création de bases d'informations relatives aux essais cliniques sur la transplantation de microbiote fécal**

Toutes les études cliniques réalisées sont enregistrées dans le **répertoire national dédié aux essais cliniques de médicaments**, lequel est placé sous l'autorité de l'ANSM par les articles L. 1121-15 et L. 1123-12 du Code de la Santé Publique. (CSP, 2011a), (CSP, 2011b) Ce répertoire a pour objectif « *d'informer le public, notamment les patients et les associations de patients, et les professionnels de santé (médecins traitants et chercheurs)* » (ANSM, 2009). Il contient diverses informations fixées par arrêté du ministre chargé de la santé. Certaines sont accessibles à tous, « *sauf si le promoteur de l'essai s'y oppose pour des motifs légitimes* » (CSP, 2011a). On y trouve notamment le titre de la recherche ; l'origine de son financement ; une courte description de celle-ci ; son état d'avancement ; les médicaments étudiés, ici le microbiote fécal, et leurs voies d'administration ; ainsi que l'identité, les coordonnées et le statut du promoteur pour toute question ou demande d'informations supplémentaires concernant l'essai clinique. (ANSM, 2009)

Toutes les informations récoltées sont ensuite transmises par l'ANSM à l'Agence Européenne des Médicaments (« *European Medicines Agency* » (EMA)) qui est l'organisme gestionnaire de la base de données européenne des essais cliniques de médicaments, la **base de données EudraCT**. (MINISTERE DE LA SANTE ET DES SOLIDARITES, 2006) Cette base de données permet de recenser toutes les données relatives aux essais cliniques de médicaments réalisés au sein des pays membres de l'Union Européenne. Elle « *est confidentielle et accessible uniquement aux autorités compétentes des Etats membres, à l'EMA et à la Commission* » (AFSSAPS, 2004). Tout essai clinique doit obtenir un identifiant unique EudraCT, conformément à la directive européenne 2001/20/CE.

### **III. 2. 4. Recommandations d'utilisation du microbiote fécal**

#### **III. 2. 4. 1. Quand utiliser la transplantation de microbiote fécal**

Actuellement, il n'existe **aucun rapport bénéfice/risque** bien établi sur cette technique. Aussi il est conseillé de la réserver aux **cas graves ou rares**, s'il y a **échec du traitement** conventionnel ou si **aucune alternative** thérapeutique n'existe. (ANSM, 2014)

#### **III. 2. 4. 2. Informer le patient**

Avant toute transplantation, il est important d'expliquer le **caractère expérimental** du traitement au patient. Les risques connus et hypothétiques doivent également lui être détaillés et aboutir à la signature d'un **consentement éclairé écrit**. (ANSM, 2014)

### **III. 2. 4. 3. Tenir une traçabilité**

L'ANSM demande à tous les centres réalisant des transplantations de microbiote fécal de mettre en place une **traçabilité rigoureuse**. Celle-ci doit pouvoir faire le lien entre les donneurs et les receveurs ; mais aussi entre les différentes étapes du protocole, depuis les premiers prélèvements pour analyses jusqu'au prélèvement final pour le don, puis jusqu'à la préparation du transplant. (ANSM, 2014)

Pour ce faire, une **coprothèque** doit être réalisée. Celle-ci doit contenir au moins deux échantillons par donneur et un par receveur :

- Un échantillon de selles brutes, provenant du donneur le jour du premier prélèvement pour analyses.
- Un échantillon de selles brutes, provenant du donneur le jour du don.
- Un échantillon de selles après préparation, provenant du transplant le jour de l'administration au receveur.

Ces différents échantillons doivent ensuite être conservés au moins 2 ans à une température de -80°C. (ANSM, 2014)

Dans le cas où la transplantation serait faite à partir de **selles congelées**, et non fraîches, il convient de recueillir dans un dossier les données concernant le temps de décongélation des selles d'une part, et le délai entre la décongélation et l'administration de la préparation. (ANSM, 2014)

Les patients transplantés devront à la suite du traitement faire l'objet d'une surveillance ; à court terme, dans les heures suivant l'administration ; puis à long terme, durant au moins 2 ans (durée à corréliser avec le temps de conservation de la coprothèque). (ANSM, 2014)

### **III. 2. 4. 4. Recommandations sur la sélection des donneurs**

L'ANSM recommande, dans son rapport, de prendre en compte diverses **mesures critiques** lors du protocole de **sélection des donneurs**, de façon à minimiser les risques pour le receveur. Cette sélection doit être rigoureuse et standardisée et sera détaillée plus tard (cf. **III.4.1.**).

### III. 3. INDICATIONS ET CONTRE-INDICATIONS

---

La transplantation de microbiote fécal est d'un intérêt grandissant en médecine humaine. Comme dit précédemment, elle est actuellement surtout utilisée pour soigner les infections récurrentes à *Clostridium difficile* (IRCD), mais d'autres applications se sont révélées fructueuses.

Ainsi, la TMF a permis de traiter des cas de maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI), de syndrome de l'intestin irritable, de constipations idiopathiques, mais aussi diverses maladies extra-digestives. (ARONIADIS, et al., 2013)

#### III. 3. 1. Infection récurrente à *Clostridium difficile*

En 2010, un groupe de travail sur la TMF est formé par divers spécialistes de façon à promouvoir un consensus sur l'emploi de ce traitement. Trois situations, toutes causées par une infection à *Clostridium difficile* (ICD), sont alors proposées comme indication de la TMF (KELLY, et al., 2015) :

- Une récurrence d'ICD ou une IRCD après :
  - o Trois épisodes ou plus d'ICD légères à modérées et un échec du traitement à la vancomycine pendant 6 à 8 semaines ;
  - o Ou au moins deux épisodes d'ICD ayant provoqué une hospitalisation ;
- Une ICD modérée sans aucune réponse aux traitements standards durant au moins 1 semaine ;
- Une ICD sévère ou fulgurante sans aucune réponse aux traitements standards au bout de 48 heures.

En avril 2013, le Collège Américain de Gastroentérologie (American College of Gastroenterology) publie également des directives pour le traitement des infections récurrentes à *Clostridium difficile*. Celles-ci conseillent l'emploi de la transplantation de microbiote fécal à partir de la troisième récurrence, au lieu du traitement antibiotique habituel. (SURAWICZ, et al., 2013) En mars 2014, c'est au tour de la Société Européenne de Microbiologie Clinique et des Maladies Infectieuses (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID) de publier des recommandations internationales proposant la TMF comme traitement dans les infections à *Clostridium difficile* multirécidivantes. (DEBAST, et al., 2014)

Le traitement des infections récurrentes à *Clostridium difficile* est à ce jour la seule indication officielle de la TMF. Nous allons détailler un peu plus cette maladie dans cette partie pour mieux comprendre son fonctionnement.

(i) **Définition et épidémiologie**

*Clostridium difficile* est une bactérie anaérobie sporulée. Elle est naturellement présente au sein de la flore intestinale de 3% des adultes et de 66% des enfants. Cette bactérie ne pose aucun problème de santé chez les individus sains, cependant dans certaines situations une multiplication anormale peut survenir et être à l'origine de troubles digestifs. (AHMED, et al., 2012)

Ces quinze dernières années, la prévalence des infections à *Clostridium difficile* (ICD) a énormément augmenté jusqu'à atteindre des proportions épidémiques. Aux Etats-Unis, le nombre d'ICD est ainsi passé de 98 000 cas en 1996 à 178 000 cas en 2003, et on estime aujourd'hui la prévalence dans ce pays de 500 000 à 700 000 cas annuels. (ARONIADIS, et al., 2013)

L'infection récurrente à *Clostridium difficile* (IRCD) est généralement causée par une dysbiose associée à une prolifération anormale de *Clostridium difficile*. Cette maladie touche principalement les personnes âgées de plus de 65 ans, lesquelles sont souvent atteintes d'autres maladies concomitantes. Les récurrences de ces infections sont fréquentes, atteignant facilement les 30% à 65%. (BRANDT, et al., 2012), (ECKERT, et al., 2015)

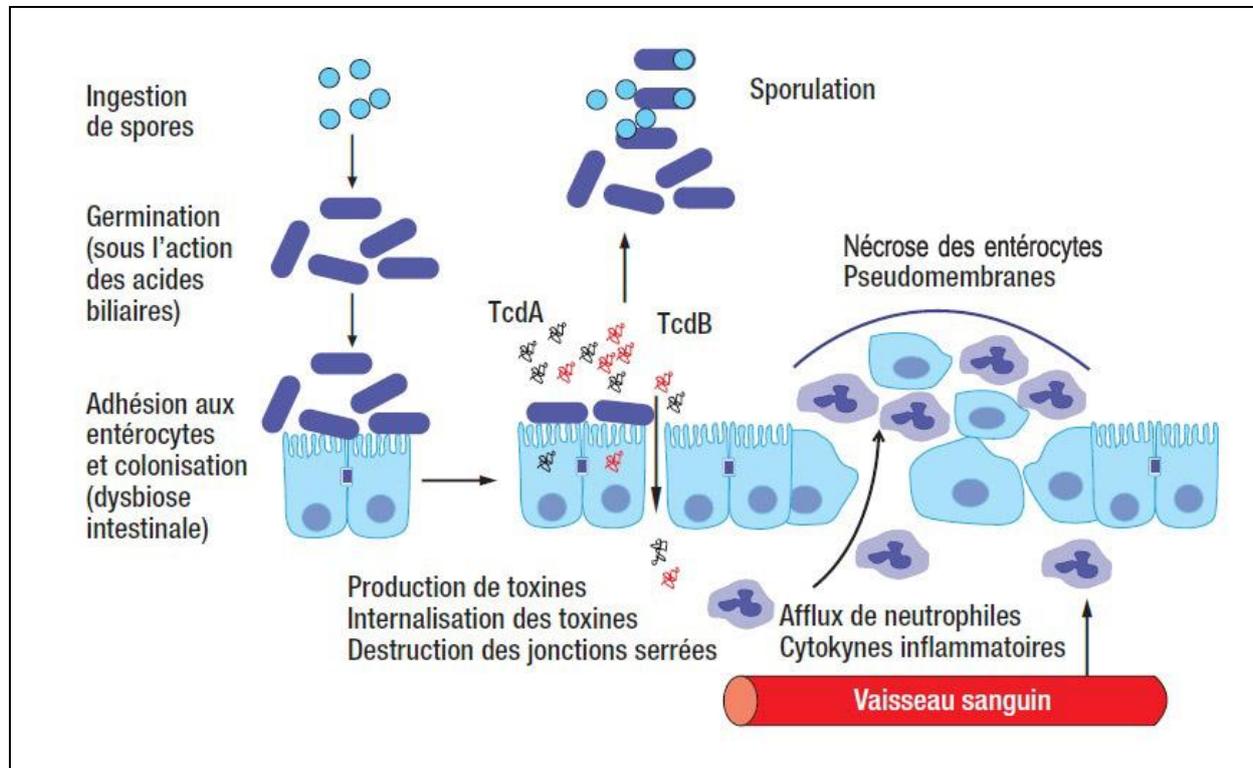
(ii) **Physiopathologie et facteurs de risque**

Plusieurs facteurs de risque ont été identifiés lors du développement de cette maladie. Le plus important n'est autre que l'utilisation d'**antibiotiques**. En effet, une antibiothérapie récente augmente d'un facteur 10 le risque d'ICD. De plus, l'âge avancé prédispose également à cette maladie, de même que l'existence d'une maladie chronique sous-jacente, comme un cancer, une immunodépression, ou encore une insuffisance organique. Une hospitalisation récente ou un séjour dans une structure pour personnes âgées semble également augmenter le risque d'infection.

Cependant, ces dernières années, de plus en plus d'ICD ont été identifiées chez des patients jeunes ne présentant aucun des facteurs de risque décrits ci-dessus. (ECKERT, et al., 2015)

La première étape du développement de la maladie correspond à l'ingestion de spores de *C. difficile*. Ces spores résistent à l'acidité du suc gastrique et se transforment dans l'intestin en formes végétatives. Une dysbiose intestinale, généralement due à la prise d'antibiotiques, aide alors à l'implantation et à la multiplication des bactéries dans le côlon. Dans un second temps, les *C. difficile* produisent deux toxines, A et B. Celles-ci sont dotées d'activités entérotoxiques et cytotoxiques. Elles provoquent la destruction des jonctions serrées des entérocytes et sont à l'origine d'une forte réaction inflammatoire de la *lamina propria*. L'inflammation intense aboutit au recrutement de polynucléaires qui provoquent une nécrose de la muqueuse intestinale, à l'origine de lésions coliques sévères (Figure 20).

Des études récentes ont également montré que les patients développant une ICD possèdent un taux plus faible d'anticorps sériques anti-toxine A que les porteurs asymptomatiques. Une baisse d'immunité est donc potentiellement associée au développement de la maladie. (ECKERT, et al., 2015)



*TcdA* : Toxine A de *Clostridium difficile* ;

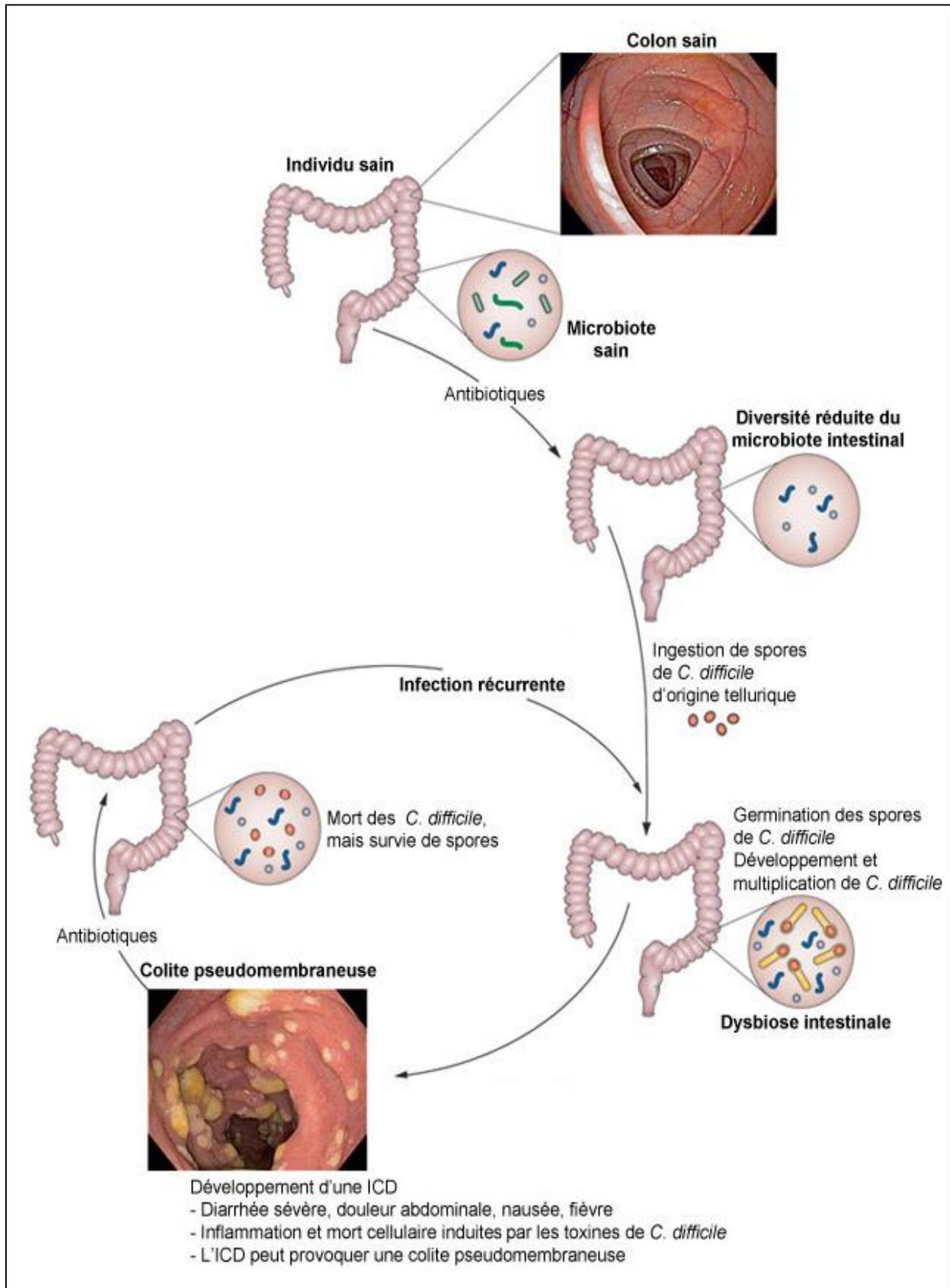
*TcdB* : Toxine B de *Clostridium difficile*.

**Figure 20 : Physiopathologie des infections à *Clostridium difficile***

Modifié d'après C. Eckert et al. (2015)

### (iii) Expression clinique

Les ICD peuvent se présenter sous différentes formes cliniques relativement bénignes à sévères. Elles peuvent n'occasionner qu'une **simple diarrhée** sans atteinte de l'état général mais sont également à l'origine de la **colite pseudomembraneuse**. Cette dernière correspond à une diarrhée aiguë très sévère, associée à des coliques et une déshydratation souvent marquée. La maladie peut se compliquer de mégacôlon toxique ou encore de perforation digestive provoquant un choc septique. Ces formes sévères ou compliquées représentent 10% des ICD et sont la cause d'une mortalité élevée, pouvant aller jusqu'à 30%. (ECKERT, et al., 2015)



*ICD : Infection à Clostridium difficile.*

**Figure 21 : Récurrence des infections à *Clostridium difficile* (ICD)**

Modifié d'après T.J. Borody et al. (2011b)

(iv) **Diagnostic**

Le diagnostic de l'ICD passe par la mise en évidence de toxines libres ou d'une souche toxigène de *C. difficile* dans les selles du patient. Leur identification est respectivement réalisée par des tests immunoenzymatiques ou le test de cytotoxicité des selles pour les toxines, ou bien par culture ou biologie moléculaire pour la souche bactérienne. L'identification d'une souche toxigène est très sensible mais peu spécifique du fait de la prévalence du portage sain. A l'inverse, l'identification des toxines est très spécifique mais peu sensible. Il est également possible de réaliser une coloscopie. En effet, l'observation de pseudomembranes sur la muqueuse intestinale est pathognomonique de l'ICD. Cependant, cet examen est long, invasif et peu sensible puisque les pseudomembranes ne sont présentes ni lors de forme bénigne, ni en début d'évolution de l'infection. (ECKERT, et al., 2015)

(v) **Traitement**

L'ICD est traitée en première intention avec des antibiotiques, comme le **métronidazole**, la **vancomycine**, la **fidaxomicine** ou la **rifaximine**, seuls ou en association. Le métronidazole est généralement utilisé lors des formes d'ICD sans gravité, tandis que la vancomycine et la fidaxomicine sont réservées aux formes sévères et aux malades à risque de récurrence (Tableau X).

**Tableau X : Principaux traitements antibiotiques des infections à *Clostridium difficile* selon les recommandations européennes de 2014**

D'après C. Eckert et al. (2015)

<i>Infection à C. difficile</i>	<i>Antibiotique</i>	<i>Posologie</i>
<b>Forme non sévère</b>	Métronidazole oral	500 mg TID pendant 10 jours
<b>Risque de récurrence ou première récurrence</b>	Vancomycine orale	125 mg QID pendant 10 jours
	Fidaxomicine orale	200 mg BID pendant 10 jours
<b>Récurrences multiples (&gt;1)</b>	Vancomycine orale	125 mg QID pendant 1 semaine, puis dose dégressive pendant 5 semaines
	Fidaxomicine orale	200 mg BID pendant 10 jours
<b>Forme sévère ou compliquée</b>	Vancomycine orale	125 mg QID pendant 10 jours, <i>Voire 500 mg QID pendant 10 jours</i>

*BID : Deux fois par jour ;*

*TID : Trois fois par jour ;*

*QID : Quatre fois par jour.*

Cependant de tels traitements ne traitent pas la cause de la maladie qui serait le déséquilibre du microbiote intestinal. En effet, bien que le spectre de ces antibiotiques inclut *Clostridium difficile*, il agit également sur de nombreuses autres bactéries digestives et risque donc d'aggraver encore plus la dysbiose en altérant la flore autochtone. (BORODY, et al., 2013), (ECKERT, et al., 2015) Le traitement antibiotique occasionne donc un « cercle vicieux » à l'origine des récurrences de la maladie (Figure 21). (BORODY, et al., 2011b)

#### (vi) Évolution

Bien que les symptômes puissent rétrocéder durant le traitement antibiotique, à l'arrêt de celui-ci, l'**aggravation de la dysbiose** provoque une nouvelle prolifération de *Clostridium difficile*, parfois plus importante et sévère que l'épisode précédent. Il en résulte un taux de récurrence très élevé après traitement, celui-ci avoisinant les 15 à 30% dans les 2 mois suivant la première infection et augmentant à chaque épisode clinique, atteignant ainsi des taux de récurrence de 40% après la première récurrence et 65% dès la troisième. (BORODY, et al., 2013), (ARONIADIS, et al., 2013), (ECKERT, et al., 2015)

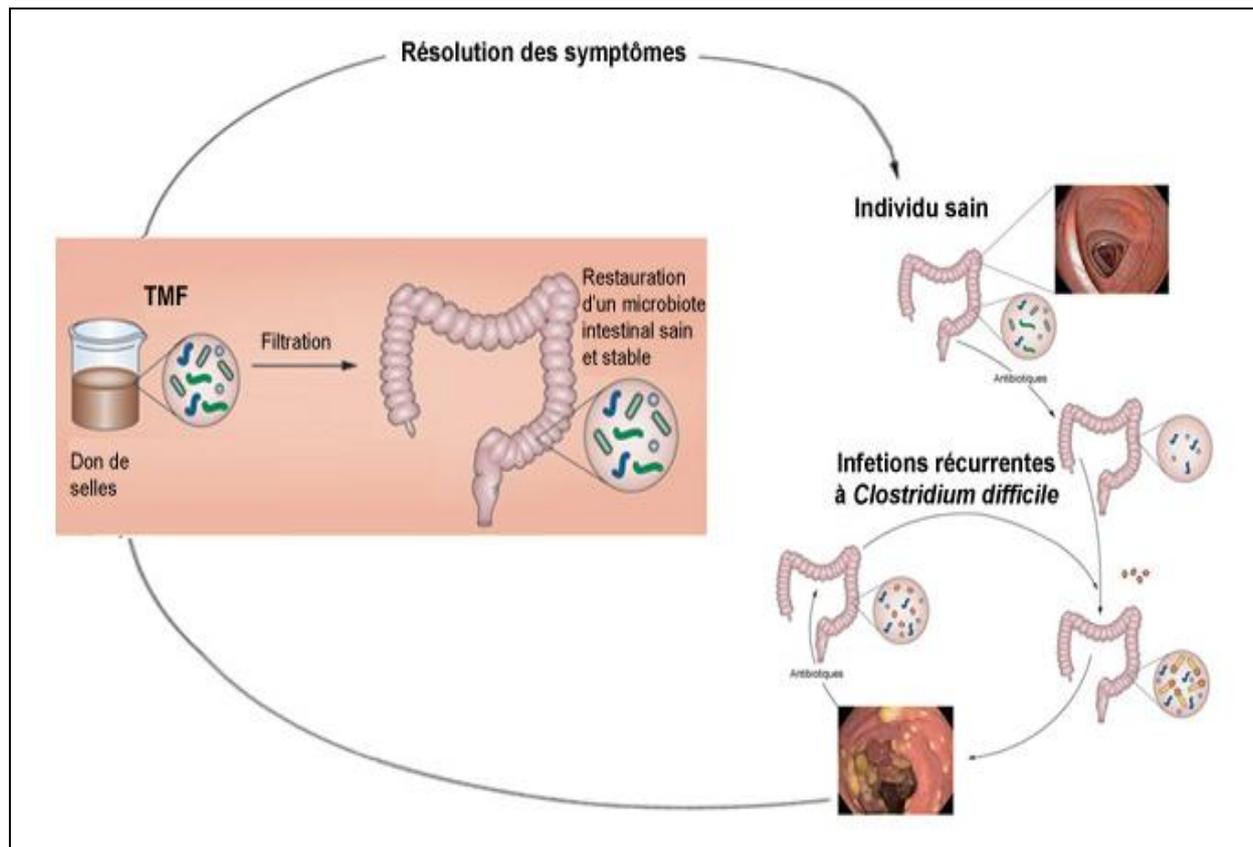
Outre la persistance de la dysbiose, associée à une baisse de la diversité du microbiote, d'autres hypothèses ont été faites pour justifier les récurrences dans le cas des infections récurrentes à *Clostridium difficile*. La **persistance de spores** de cette bactérie ainsi qu'une **diminution de la réponse immunitaire** contre ses toxines ont été évoquées. (VAN NOOD, et al., 2013)

#### (vii) Rôle du microbiote

Il a été prouvé que les malades ayant souffert de multiples récurrences d'ICD étaient également atteints d'un fort déséquilibre des populations bactériennes de leur microbiote intestinal, avec une perte de diversité de celui-ci, notamment au niveau des phylums des *Bacteroidetes* et des *Firmicutes*. Cette rupture de la composition microbienne est aussi bien observée en les comparant à des individus sains, qu'en les comparant à des patients atteints de leur première infection. (HAMILTON, et al., 2013)

La principale hypothèse est que les traitements répétés d'antibiotiques pour traiter les récurrences ICD, l'action des toxines de *Clostridium difficile* ainsi que les autres traitements antimicrobiens administrés pour traiter diverses infections sont à l'origine d'une perturbation de la flore colique. Cette dernière ne faisant que s'amplifier à chaque nouveau traitement, ce qui rend les récurrences inévitables. (HAMILTON, et al., 2013)

C'est pour cette raison que cette maladie est une bonne indication pour la TMF. En effet, on suspecte que ce traitement restaure un microbiote colique sain et stable, ce qui permet ensuite de protéger le tube digestif contre la colonisation par des agents pathogènes, notamment *Clostridium difficile*, et d'empêcher leur croissance ainsi que la production de toxines. Ce traitement permettrait donc de rompre le « cercle vicieux » des récurrences en rééquilibrant la flore intestinale (Figure 22). (HAMILTON, et al., 2013)



**Figure 22 : Résolution des infections récurrentes à Clostridium difficile par restauration du microbiote fécal**

Modifié d'après T.J. Borody et al. (2011b)

### **III. 3. 2. Autres maladies digestives**

#### **III. 3. 2. 1. Maladie inflammatoire chronique de l'intestin**

##### **(i) Définition et épidémiologie**

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont des troubles digestifs résultant d'une inflammation chronique, intermittente ou continue, de l'intestin. En médecine humaine, elles se subdivisent en deux entités différentes par leur localisation et leur expression clinique, la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, cependant environ 10% des MICI restent inclassées. (VIGNERON, et al., 2011)

La **maladie de Crohn**, identifiée en 1931, atteint en France environ 6 pour 100 000 habitants par an. Son incidence est en augmentation ces dernières années, notamment pour ce qui est des formes pédiatriques atteignant les enfants de moins de 15 ans. Cette maladie se déclare préférentiellement chez les jeunes adultes, notamment entre 20 et 30 ans. Elle peut atteindre tout le tube digestif, mais est généralement localisée à l'iléon, le côlon et le périnée. (VIGNERON, et al., 2011), (VIDAL, 2015a)

La **rectocolite hémorragique**, identifiée en 1859, atteint en France environ 4 pour 100 000 habitants par an. Son incidence semble stable ces dernières années, contrairement à la maladie de Crohn. Cette maladie se déclare également chez les jeunes adultes, elle est généralement diagnostiquée entre 30 et 40 ans. La rectocolite hémorragique est une maladie spécifique du gros intestin, elle ne touche que le côlon avec une atteinte systématique du rectum. (VIGNERON, et al., 2011), (VIDAL, 2015b)

(ii) **Physiopathologie et étiologie**

La physiopathologie des MICI est encore mal connue. Ces maladies sont caractérisées par une dysrégulation de la réponse immunitaire muqueuse, laquelle cible alors divers éléments du microbiote intestinal. On parle de **rupture de tolérance** à l'encontre la flore intestinale. Cette réponse immunitaire exacerbée s'observe par une production anormalement élevée de cytokines pro-inflammatoires par les cellules de la muqueuse intestinale ainsi que le recrutement de cellules inflammatoires sanguines par la paroi de l'intestin. (VIGNERON, et al., 2011)

Une origine multi-causale, faisant intervenir plusieurs facteurs est plus probable qu'une cause unique. Une hypothèse de plus en plus reconnue est d'ailleurs que les MICI résulteraient d'une stimulation antigénique constante par certains micro-organismes commensaux non pathogènes. Ce processus serait alors à l'origine d'une réponse immunitaire exagérée chez certains individus génétiquement prédisposés. Une dysbiose, ou une rupture de l'équilibre entre les bactéries commensales nuisibles et les protectrices pourrait être à l'origine de cette stimulation. (ARONIADIS, et al., 2013)

Des études récentes ont d'ailleurs démontré l'importance d'une **dysbiose** dans le développement des MICI. En effet des anomalies du microbiote intestinal, tant quantitatives que qualitatives, sont observées chez les patients atteints de ces maladies. On remarque premièrement chez les malades une surabondance des *Enterobacteriaceae* et un manque de *Faecalibacterium prausnitzii*, une bactérie butyrogène majeure (cf. **II.3.5.1.(iii)**). Deuxièmement, les individus souffrant de MICI présentent une réduction de 30 à 50% de la biodiversité de leur microbiote intestinal, principalement due à une réduction des populations de *Bacteroidetes* et *Firmicutes*. Enfin, une étude a révélé qu'aucune souris génétiquement prédisposée ne présentait de colite lorsqu'elle était axénique, ce qui n'est pas le cas de leurs congénères holoxéniques. Cependant, trop peu de données sont actuellement disponibles pour définir si la dysbiose est bien primitive, et donc la cause de l'apparition de la MICI, ou si celle-ci est secondaire à la maladie. (ARONIADIS, et al., 2013), (BORODY, et al., 2013), (FUMERY, et al., 2014), (DENG, et al., 2015)

(iii) Facteurs de risques

Bien qu'aucune étiologie n'ait à ce jour été mise en évidence, l'impact des facteurs environnementaux dans le développement des MICI est démontré. Ainsi, divers facteurs de risque ont été identifiés, certains ayant des effets protecteurs par rapport à la maladie, et d'autres augmentant le risque de la développer (Tableau XI).

**Tableau XI : Facteurs de risque environnementaux dans le développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin**

D'après M. Fumery et al. (2014)

<i>Facteurs de risque</i>		<i>Maladie de Crohn</i>	<i>Rectocolite hémorragique</i>
<b>Tabac</b>	<b>Fumeur</b>	+	-
	<b>Ancien fumeur</b>	+	+
	<b>Non fumeur</b>	-	+
<b>Appendicectomie</b>		+ ?	-
<b>Contraceptifs oraux</b>		+	+
<b>Antibiotiques durant l'enfance</b>		+ ?	+ ?
<b>Facteurs périnataux</b>	<b>Allaitement</b>	- ?	- ?
	<b>Diarrhées infectieuses</b>	+ ?	+ ?
<b>Stress</b>		+ ?	+ ?
<b>Alimentation</b>	<b>Oméga-6</b>	+	+
	<b>Oméga-3</b>	-	-
<b>Infection</b>	<b>Mycobacterium</b>	+ ?	NE
	<b>Escherichia coli</b>	+ ?	NE
<b>Vie dans un environnement urbain</b>		+ ?	+ ?
<b>Hygiène</b>		+ ?	+ ?
<b>Faible exposition à la lumière</b>		+ ?	+ ?
<b>Pollution atmosphérique</b>		+ ?	+ ?

+ : Augmente le risque ; + ? : Augmentation du risque suspectée ;

- : Effet protecteur ; - ? : Effet protecteur suspecté ;

NE : Non étudié.

Il a été montré que le **tabagisme**, facteur très étudié, a des effets inverses entre la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Les fumeurs sont en effet 2 fois plus prédisposés à la maladie de Crohn, mais ont 2,5 fois moins de risque de développer une rectocolite hémorragique. Cependant, les anciens fumeurs ont plus de risque de développer une RCH, généralement dans l'année suivant l'arrêt du tabagisme. De plus, les fumeurs atteints de maladie de Crohn présentent des formes plus sévères de la maladie, tandis que ceux atteints de rectocolite hémorragique présentent des formes plus bénignes et moins étendues. Les **antibiotiques** ont fréquemment été associés à l'apparition de MICI, notamment lors d'antibiothérapie durant la petite enfance. La plupart des patients atteints de MICI ont en effet eu un traitement antibiotique au cours des 2 à 5 ans précédant le diagnostic de la maladie. (ARONIADIS, et al., 2013) Cependant, leur rôle dans le développement de ces maladies n'a pas été démontré. Divers **agents pathogènes** ont également été suspectés être la cause du déclenchement des MICI. En effet certains microbes sont plus fréquemment identifiés chez les patients atteints de maladie de Crohn. C'est le cas de *Mycobacterium avium paratuberculosis* ou encore de *Escherichia coli* entéro-invasifs. Le virus de la rougeole est également suspecté pouvoir jouer un rôle. Cependant, l'implication d'un micro-organisme unique n'a jamais pu être démontrée. Il est intéressant de remarquer que la plupart de ces facteurs de risque sont également connus comme facteurs prédisposant aux dysbioses intestinales. (FUMERY, et al., 2014)

#### (iv) Expression clinique

Le symptôme majeur des patients atteints de maladie de Crohn est la diarrhée, chronique et récurrente. Des douleurs abdominales ainsi qu'une hématochézie sont parfois associées. La symptomatologie peut changer d'un individu à l'autre en fonction de la topographie de la maladie. Une atteinte iléale provoque généralement de fortes coliques similaires à une appendicite ainsi que des diarrhées, tandis qu'une atteinte jéjunale se limite le plus souvent à des douleurs abdominales et un amaigrissement. Des aphtes se développent lors d'atteinte buccale, et des fistules et abcès périanaux sont possibles lors d'atteinte ano-périnéales. (VIGNERON, et al., 2011)

Les patients atteints de rectocolite hémorragique présentent presque toujours une rectorragie. A ce symptôme s'associent généralement des glaires, une diarrhée chronique, des coliques et des épreintes. Certaines formes plus sévères peuvent également altérer l'état général. (VIGNERON, et al., 2011)

Lors de MICI des symptômes extra-digestifs se déclarent généralement concomitamment aux troubles intestinaux. On observe le plus souvent des problèmes articulaires comme des rhumatismes, mais également cutanés avec de l'érythème, ou encore oculaires avec des uvéites. (VIGNERON, et al., 2011)

Des complications aiguës peuvent parfois survenir chez les patients atteints de MICI. Celles-ci peuvent être létales sur le court terme et nécessitent des interventions d'urgence. C'est le cas du développement d'une colite aiguë grave, d'une sténose pouvant engendrer un syndrome occlusif ou encore des perforations coliques. (VIGNERON, et al., 2011)

(v) **Diagnostic**

La suspicion de MICI se base sur la clinique que nous venons de citer. Dans une telle situation, la réalisation d'iléoscopie et de biopsie des lésions intestinales est l'examen de choix. Cet examen aide également à distinguer la maladie de Crohn de la rectocolite hémorragique. On observe à l'examen histologique une inflammation chronique caractérisée par une atrophie muqueuse, associée à un infiltrat lymphoplasmocytaire du chorion et une désorganisation de l'architecture des glandes. (VIGNERON, et al., 2011)

(vi) **Traitement**

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement curatif pour les MICI, les guérisons restent également rares. Chez les patients malades, un traitement symptomatique peut être mis en place pour réguler le développement de la maladie. Lors des poussées de MICI, les traitements généralement utilisés sont les corticoïdes à dose immunosuppressive ou encore les dérivés amino-salicylés. Lors de poussées sévères, des anti-TNF- $\alpha$  ou la ciclosporine, un immunosuppresseur rapide, sont parfois utilisés. Lors d'échec du traitement médical ou lors de complications, une coloproctectomie peut être indiquée. Les rechutes sont cependant quasi systématiques. Après rémission, un traitement d'entretien est parfois indiqué pour limiter les rechutes. On utilise généralement des immunosuppresseurs comme l'azathioprine ou le méthotrexate. Lors de complications sévères, l'hospitalisation est nécessaire (Figures 23, 24). (LEMANN, et al., 2005), (VIDAL, 2015a), (VIDAL, 2015b)

La **dysbiose intestinale** associée à ces maladies étant potentiellement la cause de leur développement, il est naturel de considérer les MICI comme une indication possible de la transplantation de microbiote fécal. Ce traitement pourrait en effet guérir les MICI si la dysbiose est d'origine primaire, ou au moins améliorer les symptômes si elle se trouve être secondaire à la maladie.

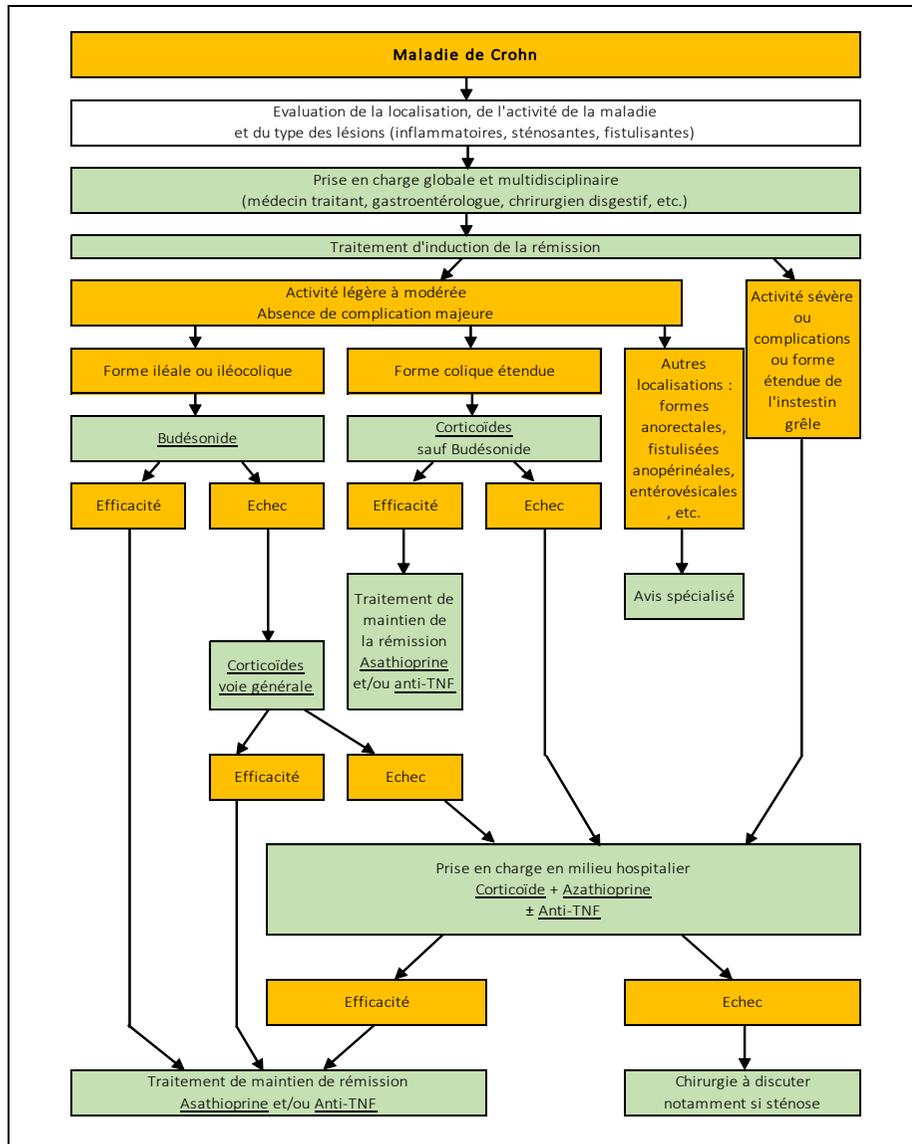
### III. 3. 2. 2. **Syndrome de l'intestin irritable**

(i) **Définition et épidémiologie**

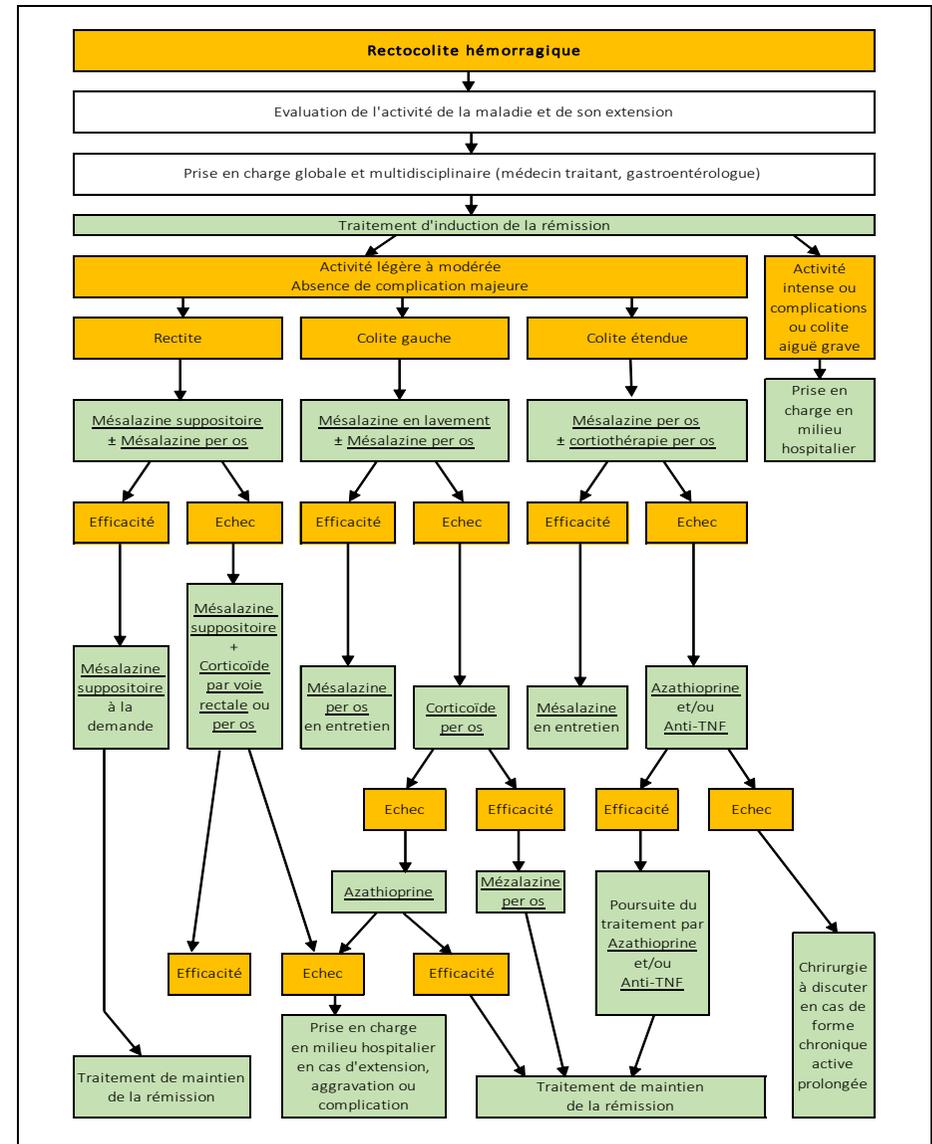
Le syndrome de l'intestin irritable ou syndrome du côlon irritable est une maladie digestive chronique bénigne touchant 9 à 12% des adultes dans les pays d'Occident. Cette maladie atteint préférentiellement les femmes. Les symptômes se déclarent généralement au cours de l'adolescence et prédominent entre 20 et 40 ans.

(ii) **Physiopathologie et étiologie**

Aucune étiologie n'est à ce jour établie. L'hypothèse principale est que cette maladie serait due à une hypersensibilité intestinale généralement imputée à un état de stress ou d'anxiété. (VIDAL, 2015c) Cependant, de nouvelles études sur ce syndrome ont révélé des



**Figure 23 : Prise en charge de la Maladie de Crohn**  
Modifié d'après VIDAL (2015a)



**Figure 24 : Prise en charge de la Rectocolite Hémorragique**  
Modifié d'après VIDAL (2015b)

modifications de la composition du microbiote intestinal chez les patients atteints de syndrome de l'intestin irritable, avec notamment une diminution des populations de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* et une augmentation des populations de *Enterobacteraceae spp.*, de *Bacteroidetes* et de bactéries Coliformes. Ces données ne font cependant pas consensus. Certains médecins évoquent également un lien entre le syndrome de l'intestin irritable et les proliférations bactériennes de l'intestin grêle. En effet, il semblerait qu'environ 51% des patients atteints de SIBO souffrent de symptômes similaires à ceux observés lors de syndrome de l'intestin irritable. Cependant une étude récente révèle qu'uniquement 2 à 8% des patients atteints de syndrome de l'intestin irritable ont également une SIBO, mais ce chiffre augmente considérablement avec l'âge, passant à 38% chez les personnes âgées. (PINN, et al., 2015) De nombreuses autres hypothèses ont depuis été proposées pour expliquer le développement de cette maladie, notamment une dysbiose intestinale, une dérégulation de l'axe cerveau-intestin (cf. **III.3.3.3.**), ou encore la présence de neuropeptides et d'hormones intestinales en quantité anormale. Il est intéressant de remarquer qu'un déséquilibre de la flore pourrait être à l'origine de toutes ces hypothèses. (GHOSHAL, et al., 2012)

### (iii) Expression clinique

Les patients atteints de syndrome de l'intestin irritable souffrent de coliques, de ballonnements, de flatulences et de troubles du transit intestinal comme la **diarrhée** et/ou la **constipation**. Ces symptômes évoluent de façon **chronique** sur plusieurs mois. Les malades présentent des phases d'intensification des symptômes entrecoupées de phases de rémission. (VIDAL, 2015c)

### (iv) Diagnostic et traitement

Le diagnostic du syndrome de l'intestin irritable est strictement clinique, et aucun traitement curatif n'existe actuellement. La prise en charge thérapeutique des malades vise à améliorer leur qualité de vie en diminuant les troubles fonctionnels. Elle passe principalement par l'adaptation de l'alimentation, en supprimant certains aliments comme les pois, les haricots, les lentilles, le chou, le pain, ..., ainsi qu'en augmentant l'apport de fibres. Une prise en charge psychothérapique est également envisageable pour diminuer le stress et l'anxiété du patient.

En cas de constipation, des laxatifs peuvent être administrés, et en cas de diarrhée des ralentisseurs du transit peuvent être prescrits. Des antispasmodiques sont généralement délivrés aux patients souffrant de douleurs abdominales. (VIDAL, 2015c)

Ces dernières années, des traitements ciblant la flore intestinale ont été essayés. Ainsi, l'utilisation de probiotiques et d'antibiotiques s'est révélée efficace pour traiter certains patients atteints de syndrome de l'intestin irritable, confortant de cette manière l'hypothèse d'une implication du microbiote intestinal dans le développement et la persistance de la maladie. (GHOSHAL, et al., 2012)

### **III. 3. 2. 3. Carcinome colorectal**

En France, le cancer colorectal est actuellement le troisième cancer le plus fréquent, il représente par ailleurs la deuxième cause de mortalité par cancer. Son incidence n'a cessé d'augmenter ces dernières années avec environ 40 000 nouveaux cas et 16 000 décès par an.

Environ 95% des cancers colorectaux sont des adénocarcinomes. Il est aujourd'hui admis que ceux-ci se développent généralement à partir d'un polype adénomateux considéré comme le précurseur de la maladie. Il a été démontré qu'une implication génétique et des mutations somatiques intervenaient au cours du développement du cancer. De plus, chez les individus apparentés au premier degré à des sujets atteints d'un cancer colorectal, le risque de développement de la maladie est multiplié par 2 à 3, prouvant ainsi une part d'hérédité dans la maladie. Cependant, uniquement 5% des cancers colorectaux sont considérés comme étant la cause d'une mutation constitutionnelle, c'est-à-dire transmissible de génération en génération. Cette observation a poussé à considérer une part environnementale au développement de cette maladie. (AMIOT, 2014), (VIDAL, 2015d)

Des études récentes ont ainsi montré la présence significative de bactéries pathogènes et d'un déséquilibre du microbiote intestinal chez les malades atteints de cancer du côlon. (SEARS, et al., 2014) De plus, l'utilisation d'imagerie par fluorescence combinatoire, une technique consistant à éclairer différentes espèces bactériennes pour visualiser la structure en trois dimensions d'un microbiote, a permis de constater une association entre le cancer colorectal et une organisation particulière de la communauté microbienne. En effet, chez les patients atteints de ce cancer, la présence de biofilms bactériens localisés sur le tissu cancéreux, mais également sur de nombreux autres sites sans tumeurs, a été identifiée. (DEJEA, et al., 2014)

Ces découvertes prouvent l'implication du microbiote intestinal dans le développement du cancer du côlon, et donc l'éventuel intérêt de la TMF dans la prévention de cette maladie. L'imagerie combinatoire pourrait également s'avérer être un outil diagnostique précoce de ce type de cancer.

### **III. 3. 3. Maladies extra digestives**

En plus des maladies digestives, dont le lien avec le microbiote intestinal peut paraître évident, plusieurs découvertes récentes permettent de suggérer une implication des micro-organismes digestifs dans de nombreux troubles extra-digestifs tel que les syndromes métaboliques, des troubles neuro-développementaux, diverses maladies auto-immunes, des allergies, des maladies pulmonaires, rhumatologiques et même cardiovasculaires. (HealthPACT, 2014)

### III. 3. 3. 1. Syndrome métabolique

Le syndrome métabolique correspond à une association de plusieurs problèmes de santé ayant en commun un mauvais métabolisme corporel. On ne sait pas actuellement si ce syndrome correspond à une maladie à part entière ou à la réunion de plusieurs facteurs de risque ayant une origine commune.

Les personnes atteintes de ce syndrome métabolique sont prédisposées à de nombreuses maladies graves comme l'obésité, le diabète de type 2, des troubles cardiovasculaires, et notamment les accidents vasculaires cérébraux (AVC).

L'obésité et le diabète sont deux maladies souvent associées et caractérisées par un état inflammatoire chronique, avec notamment l'expression anormale de médiateurs inflammatoires comme les TNF ou diverses interleukines. (LARSEN, et al., 2010)

#### (i) Obésité

La prévalence mondiale de l'obésité encourage depuis des années la recherche pour identifier les causes intrinsèques et environnementales qui altèrent le métabolisme énergétique de ces malades. Hors, comme nous l'avons vu, le microbiote intestinal métabolise les nutriments ingérés en divers substrats énergétiques pour l'hôte et la flore (cf. II.3.). Le dérèglement de la flore a donc été supposé pouvoir créer un dérèglement du métabolisme énergétique pouvant causer une prise de poids excessive.

Une étude récente a mis en évidence des différences de composition du microbiote de l'intestin distal de souris génétiquement obèses par rapport à celui des souris minces issues de la même portée. R.E. Ley a ainsi montré en 2005 que les souris obèses ont une inversion du ratio entre le phylum *Bacteroidetes*, dont l'abondance diminue de 50%, et le phylum des *Firmicutes*, qui augmente proportionnellement. (LEY, et al., 2005) Ces modifications augmentent la capacité de ces souris à stocker de l'énergie à partir des nutriments digérés. (TURNBAUGH, et al., 2006) Les mêmes observations ont été réalisées chez l'homme entre les personnes obèses et les individus minces, avec notamment une inversion des proportions entre les mêmes phylums bactériens. (ARMOUGOM, et al., 2009)

Par ailleurs, lors de la transplantation du microbiote de souris obèses à des souris axéniques, ces dernières subissent une augmentation de 60% de leur graisse corporelle ainsi qu'une augmentation de l'insulinorésistance. (ARONIADIS, et al., 2013) De plus, P.J. Turnbaugh et son équipe ont démontré que le phénotype obèse (ob/ob) était transmissible de façon définitive lorsque le microbiote fécal de souris obèses était transplanté à des souris axéniques. (TURNBAUGH, et al., 2006)

Ces découvertes prouvent que l'obésité est associée à un microbiote intestinal particulier augmentant la capacité de stockage énergétique, lequel est un facteur supplémentaire contribuant à l'apparition de cette maladie

(ii) **Diabète sucré**

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique principalement due à une insulino-résistance, laquelle est souvent liée à l'obésité. Cependant, d'autres facteurs comme le stress, certaines infections ou des prédispositions génétiques peuvent provoquer l'apparition de ce diabète. (LARSEN, et al., 2010)

Comme dans le cas des patients obèses, une modification des principaux phylums bactériens a été observée chez les diabétiques. N. Larsen rapporte ainsi en 2010 une forte diminution du phylum des *Firmicutes*, et notamment de la classe des *Clostridia*, chez les patients atteints de diabète de type 2. De plus, il observe une corrélation positive et significative entre le taux de glucose sanguin et les rapports des populations bactériennes suivantes : le rapport des *Bacteroidetes* sur les *Firmicutes*, de même que le rapport du groupe des *Bacteroides* et *Prevotella* sur le groupe des *Clostridium* cluster XIVa. De façon similaire, la classe des *Betaproteobacteria* était fortement augmentée chez les patients diabétiques, et également corrélée positivement à la glycémie. (LARSEN, et al., 2010)

Ces résultats prouvent, comme pour l'obésité, que le diabète sucré de type 2 est, chez l'homme, associé à une dysbiose intestinale, ou du moins à un microbiote particulier.

(iii) **Troubles cardiovasculaires**

Les maladies cardiaques sont responsables chaque année d'environ un tiers des décès dans le monde, ce qui en fait la première cause mondiale de mortalité. Récemment plusieurs études ont permis d'envisager une cause métabolique d'origine microbienne pour certaines de ces maladies, notamment l'athérosclérose.

Le microbiote intestinal est impliqué dans la métabolisation de la lécithine (ou phosphatidylcholine) et de la L-carnitine en trois métabolites, la choline, la bétaine et l'oxyde de triméthylamine (TMAO), lesquels sont absorbés par la muqueuse intestinale. Les études ont montré que ces trois produits sont à l'origine de l'activation des « récepteurs éboueurs » (aussi appelés récepteurs scavengers) de certains macrophages, un processus favorisant l'apparition d'athérosclérose et prédisposant à différentes maladies cardiovasculaires. (WANG, et al., 2011), (TANG, et al., 2014)

### **III. 3. 3. 2. Maladies auto-immunes et allergiques**

(i) **Polyarthrite rhumatoïde**

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie inflammatoire chronique des articulations dont l'étiologie est mal connue. Cette inflammation est d'origine auto-immune et finie par déformer les articulations du malade en l'absence de traitement. Des facteurs de prédisposition environnementaux, mais également génétiques sont suspectés, ainsi les malades semblent exprimer une plus grande quantité de certains type de protéines HLA (Human Leucocyte Antigen), notamment HLA-DR1 et HLA-DR4. (JORGENSEN, 2011)

Cette protéine DR1 semble par ailleurs associée avec d'autres maladies auto-immunes, comme certaines myasthénies, mais également chez des patients souffrant de schizophrénie, de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique.

De nombreux micro-organismes pathogènes ont jusqu'à ce jour été associés avec le développement de la polyarthrite rhumatoïde, comme *Mycobacterium tuberculosis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, ou encore le virus d'Epstein-Barr, certains rétrovirus, et le parvovirus B19. Mais aucun d'entre eux n'a été clairement identifié comme un facteur environnemental clé dans l'apparition de la maladie.

Des études comparatives des microbiote fécaux des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et des individus sains ont permis de mettre en évidence des modifications de la flore intestinale chez les malades. Les résultats ont montré que les patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde possédaient une moins grande proportion des groupes de *Bifidobacteria*, ou des *Bacteroides-Propyromonas-Prevotella*, ainsi que du sous-groupe des *Bacteroides fragilis* et du groupe des *Clostridium* cluster XIVa (ou groupe *Eubacterium rectale- Clostridium coccoïdes*). (EDWARDS, 2008)

Ces découvertes laissent à nouveau penser qu'une dysbiose intestinale pourrait être une cause favorisante lors de l'apparition de maladies auto-immunes.

#### (ii) Myasthénie

Le microbiote intestinal semble également impliqué dans l'étiopathogénie d'autres maladies auto-immunes. C. Gower-Rousseau a par exemple soigné en 1993 un patient atteint de myasthénie en procédant à une proctocolectomie. Cette chirurgie avait à l'origine été réalisée pour le traitement de la rectocolite hémorragique dont souffrait également le patient. L'association de ces deux maladies et leur guérison concomitante laisse supposer une origine commune. Hors il a déjà été prouvé qu'une dysbiose intestinale pouvait être à l'origine d'une colite ulcéreuse. (GOWER-ROUSSEAU, et al., 1993)

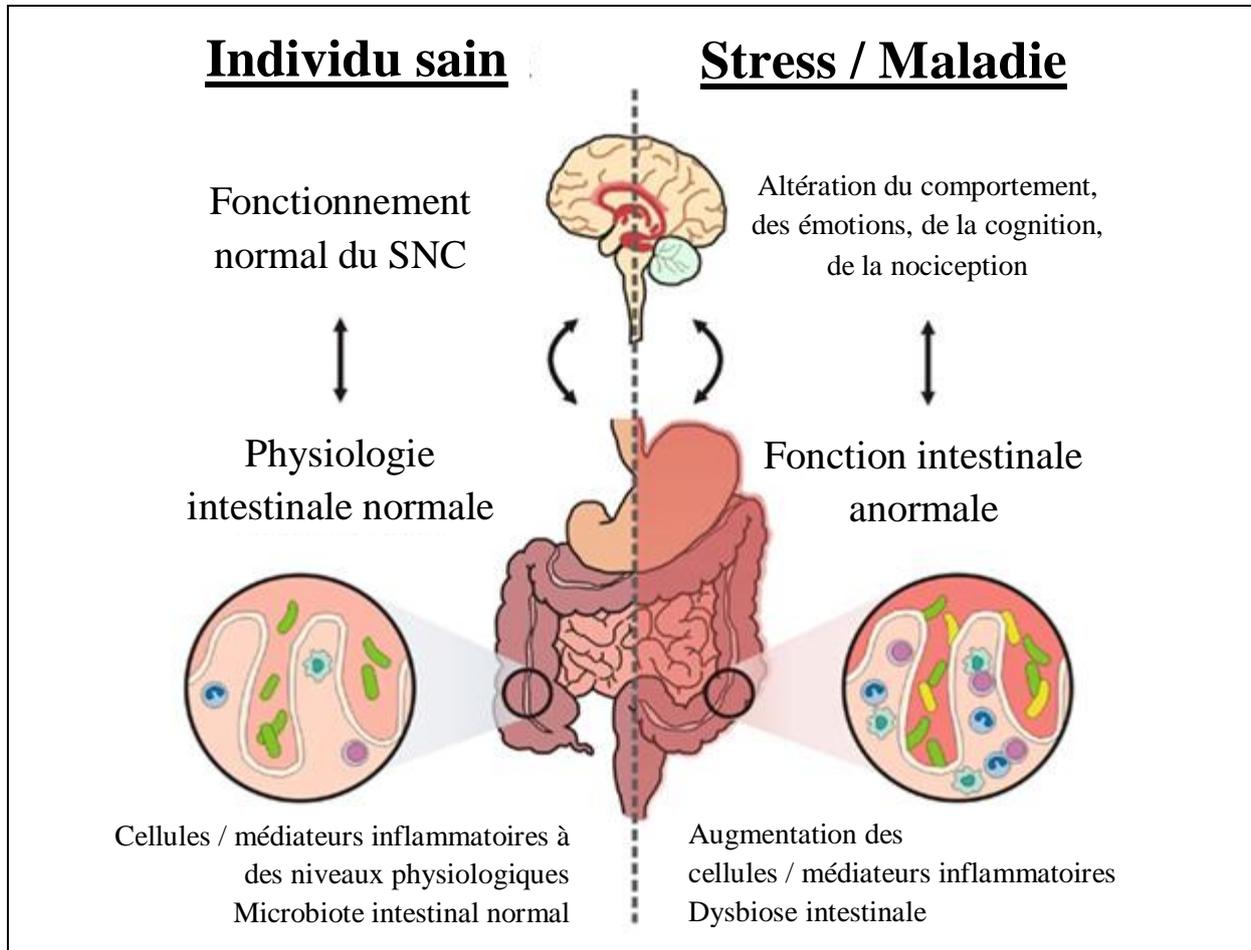
#### (iii) Allergie et eczéma

Le rôle des bactéries de la flore intestinale a été démontré lors de certaines allergies. Des enfants souffrant d'eczéma ont ainsi montré avoir un taux significativement plus faible de bactéries des groupes des *Bifidobacterium* et des *Clostridium* que les enfants sains. Ils possèdent également un nombre anormalement élevé de bactéries productrices d'acide lactique. (EDWARDS, 2008)

### III. 3. 3. 3. Maladies neurologiques

Depuis des années, un axe entre les intestins et le cerveau a été mis en évidence. Ainsi le cerveau peut influencer le microbiote intestinal en modifiant la fonction de l'épithélium ou des cellules endocrines intestinales, en modulant la production de mucine et la motilité du

tube digestif. A l'inverse, le microbiote intestinal peut modifier la fonction du système nerveux central et le comportement de son hôte, en activant des voies neuronales ou en produisant des métabolites agissant directement sur le cerveau. Cet axe, qui passe principalement par le nerf vague, est vital pour le maintien de l'homéostasie. Cependant, lors du déséquilibre de l'un des deux organes, leur communication provoque le mauvais fonctionnement de l'autre (Figure 25). (GRENHAM, et al., 2011)



**Figure 25 : L'axe microbiote-intestin-cerveau et les communications chez les individus sains ou malades**

Modifié d'après S. Grenham et al. (2011)

Il a en effet été montré que les troubles neurologiques influencent le fonctionnement intestinal et provoquent des troubles digestifs ; il en est de même pour le stress. Cependant les récentes études laissent penser que cet axe est bidirectionnel, les modifications du microbiote intestinal pouvant également avoir un impact sur la santé du système nerveux. Le nerf vague permet par exemple le transport des neurotoxines de *Clostridium tetani*. Il est donc pertinent d'envisager une origine dysmicrobienne intestinale pour un certain nombre de maladies neurologiques. (BORODY, et al., 2012a)

(i) Autisme

L'autisme, ou trouble du spectre autistique (TSA), correspond à un ensemble de troubles du développement humain caractérisé par des problèmes de communication et une interaction sociale anormale, les malades présentant des comportements restreints et répétitifs. Cette maladie, qui atteint les enfants, est généralement diagnostiquée durant les deux premières années de vie. (LEVY, et al., 2009)

Il a été montré que le développement de l'autisme est très fréquemment associé à des troubles digestifs et souvent précédé d'un traitement antibiotique. K. Horvath a ainsi montré en 2002 que 84% des enfants autistes présentent au moins un trouble digestif. (HORVATH, et al., 2002), (SEKIROV, et al., 2010) De plus, plusieurs études rapportent un déséquilibre du microbiote intestinal chez les autistes avec notamment des surpopulations de certaines espèces bactériennes. (FINEGOLD, 2011) L'incidence des bactéries appartenant aux groupes des *Clostridium* semble ainsi considérablement augmentée chez les patients souffrant d'autisme. On dénote particulièrement une forte présence des *Clostridium histolytium* (appartenant aux *Clostridium* cluster I et II), ces bactéries sont connues pour leur production de toxines ce qui pourrait donc expliquer les symptômes digestifs. Ces toxines pourraient également exercer un effet systémique notamment sur le cerveau. (PARRACHO, et al., 2005)

Des découvertes similaires ont été réalisées en s'intéressant à un type particulier d'autisme, l'autisme régressif. Contrairement aux enfants atteints de troubles autistiques depuis leur naissance, ceux qui appartiennent à cette sous catégorie présentent un développement normal jusqu'à un certain âge, généralement entre 18 et 36 mois. Puis ils régressent brusquement jusqu'à présenter tous les signes d'un autisme profond.

Chez ces enfants, le nombre total d'espèces bactériennes du genre *Clostridium* est bien plus élevé que chez les enfants sains. On a notamment identifié chez eux la présence de neuf espèces de *Clostridium* absentes des microbiotes d'enfants en bonnes santé. De plus, certaines bactéries anaérobies non sporulées et certaines bactéries microaérophiles normalement absentes des intestins ont été retrouvées en quantité significative chez les enfants atteints d'autisme régressif. (FINEGOLD, et al., 2002)

Ces découvertes montrent que l'autisme est généralement associé à des altérations significatives du microbiote intestinal. Le fait que certains cas d'autismes régressifs ont été fortement améliorés par des traitements antibiotiques à la vancomycine (laquelle reste dans le tube digestif puisqu'elle n'est que peu absorbée) laisse supposer une origine dysbiotique à cette maladie. (SEKIROV, et al., 2010)

Une hypothèse évoquée sur la pathogénie de l'autisme régressif passe par la production d'une quantité trop importante de propionate par la flore intestinale. Ainsi cette maladie ferait éventuellement suite à une cause encore indéterminée, comme par exemple un traitement antibiotique, à la suite de laquelle une souche de *Clostridium* se développerait en trop grande proportion. Le *Clostridium* produirait alors de l'acide propionique en trop grande quantité, lequel va atteindre le cerveau et modifier le comportement de l'enfant, et peut-être avoir un effet modulateur sur l'expression génique. (GOOD, 2014)

(ii) **Maladie de Parkinson**

Plusieurs maladies neurologiques sont parfois associées à des troubles digestifs. Par exemple, environ 60 à 80% des patients souffrant de la maladie de Parkinson sont également atteints de constipation. Les troubles digestifs sont généralement apparus dans les vingt ans précédant le début des troubles moteurs. (UEKI, et al., 2004) La constipation étant facilement provoquée par une dysbiose intestinale, on pourrait supposer que la maladie de Parkinson en est un trouble tardif. De plus, en 2009, T.J. Borody rapporte le cas d'un malade atteint de Parkinson associé à des constipations chroniques, lesquelles ont été traitées avec de la colchicine et des antibiotiques : la vancomycine et le métronidazole. Après trois semaines de traitement, celui-ci présentait une forte amélioration de ses troubles digestifs, mais également de sa maladie de Parkinson, les tremblements ayant commencé à diminuer dix jours après le début de l'antibiothérapie. Après dix mois du même traitement les troubles neurologiques ont complètement disparu. (BORODY, et al., 2009)

L'étonnante guérison de la maladie de Parkinson en même temps que celle de la constipation laisse fortement suspecter l'implication du microbiote fécal dans ces deux affections. Cette théorie a d'ailleurs été appuyée par une découverte de H. Braak qui émet l'hypothèse, d'après des analyses histopathologiques, que le point de départ de la maladie de Parkinson serait intestinal avec une extension tardive au cerveau. (BORODY, et al., 2012a), (BRAAK, et al., 2003)

(iii) **Sclérose en plaque**

En 2005, en étudiant une lignée de souris utilisée comme modèle pour la sclérose en plaque, S.K. Mazmanian met en évidence que la présence de bactéries filamenteuses segmentées (bactéries Gram positives apparentées au genre *Clostridium*) dans le tube digestif joue un rôle dans le développement d'encéphalomyélite auto-immune. En effet ces bactéries permettent l'induction des lymphocytes Th17 qui produisent alors une quantité trop élevée d'interleukine-17 (IL-17) dans l'intestin et la moelle épinière, ce qui est responsable des symptômes. (MAZMANIAN, et al., 2005) Un lien est par ailleurs bien établi entre la sclérose en plaque et un taux élevé d'IL-17, ce qui laisse supposer une origine digestive aux réactions auto-immunes observées dans certains cas de sclérose en plaque. (BORODY, et al., 2012a)

### **III. 3. 4. Contre-indications**

En l'état des connaissances actuelles de la médecine, la transplantation de microbiote fécal ne présente à ce jour aucune contre-indication. (ANSM, 2014) Cependant, certains auteurs suggèrent d'exclure les patients atteints de maladies immunodépressives majeures, de cirrhose du foie décompensée, sous chimiothérapies antinéoplasiques, ou ayant eu une greffe récente de moelle osseuse, (CAMMAROTA, et al., 2014) bien qu'aucun impact de la TMF sur de tels patients n'ait été démontré.

## III. 4. PROTOCOLE

---

### III. 4. 1. Sélection des donneurs

#### III. 4. 1. 1. Présélection

##### (i) *Don dirigé ou don anonyme*

Il n'existe encore aucun consensus quant au choix d'un don dirigé, c'est-à-dire effectué par un proche du receveur, une personne de son entourage ou apparentée, ou d'un don anonyme. En effet **aucune preuve scientifique** ne prouve l'avantage de l'un par rapport à l'autre. (ANSM, 2014)

Certaines études considèrent que les personnes proches, par le milieu de vie ou la génétique, sont plus à même de disposer d'un microbiote intestinal proche de l'état physiologique de celui du donneur. Il est donc recommandé sur des **critères d'efficacité**, de choisir en première intention le **partenaire de vie** du receveur. En seconde intention, ce sont les **parents au premier degré** (père, mère, frères et sœurs, enfants) de celui-ci qui seront sélectionnés. Si aucun n'est disponible, on choisira un **donneur anonyme**. (CAMMAROTA, et al., 2014)

De plus, sélectionner un partenaire vivant avec le patient depuis longtemps a l'avantage théorique de minimiser le risque de transmission de maladies, lesquelles devraient déjà avoir été véhiculées avant le traitement par transplantation de microbiote fécal. (BORODY, et al., 2004) Par ailleurs, le don peut être psychologiquement mieux accepté par le receveur si ce dernier connaît son donneur. (ANSM, 2014) De même, les dons de selles n'étant pas encore très répandus il est plus facile d'en demander un à une personne de l'entourage que de recruter des donneurs anonymes.

Cependant, l'ANSM préconise en France, sur des **critères de sécurité et d'éthique**, le choix d'un **donneur anonyme** sans pour autant interdire les dons dirigés. Elle considère en effet qu'il est préférable d'appliquer ici l'article L. 1211-5 du Code de la Santé Publique, relatif au don et utilisation des éléments et produits du corps humain : « *Le donneur ne peut connaître l'identité du receveur, ni le receveur celle du donneur. [...]* » (CSP, 2002).

Un donneur anonyme peut évidemment effectuer plusieurs dons pour des receveurs différents. Cette pratique est d'ailleurs encouragée de façon à faciliter la mise en place de banque de selles et la standardisation des dons. (ANSM, 2014)

(ii) *Entretien médical et questionnaire de présélection*

Il est nécessaire d'effectuer un entretien médical approfondi des potentiels donneurs. Ceux-ci doivent également remplir un questionnaire de présélection. Les réponses obtenues lors de cette procédure statueront de l'inclusion ou de l'exclusion du donneur dans le protocole. (ANSM, 2014)

En plus de récolter différentes informations sur le candidat, cet entretien doit être l'occasion de lui fournir des recommandations visant à minimiser le risque de contamination jusqu'au jour du don. Parmi celles-ci doivent figurer l'importance d'avoir une alimentation saine et équilibrée, de ne pas effectuer de voyage à l'étranger, et d'éviter tout comportement à risque. (ANSM, 2014)

Aucun questionnaire standardisé n'existant à ce jour, l'ANSM recommande de se baser sur celui utilisé dans le cadre des dons de sang (Annexe 1). Celui-ci est disponible en libre accès sur le site internet de l'Etablissement Français du Sang (EFS). Il faut cependant ajouter à ces questions diverses mesures additionnelles de manière à adapter ce questionnaire au don de selles et à la transplantation de microbiote fécal. (ANSM, 2014)

L'ANSM a également publié une liste de critères de non inclusion à considérer lors de la présélection des donneurs. Ceux-ci, ainsi que les recommandations de certains auteurs, sont détaillés dans le tableau XII.

Il convient de demander divers renseignements au donneur potentiel : sur les maladies l'affectant, de façon à en éviter leur portage au receveur ; sur les traitements suivis, car ceux-ci pourraient altérer le microbiote et donc diminuer l'efficacité du traitement ; sur les potentiels séjours à l'étranger effectués, de façon à éviter la transmission de maladies tropicales ou de bactéries multi-résistantes ; sur l'âge de celui-ci, les mineurs n'étant pas autorisés au don d'un point de vue légal et les personnes âgées ayant souvent un microbiote modifié et un risque de co-morbidité plus élevé ; et sur son statut pondéral, en effet le microbiote intestinal des personnes obèses est généralement modifié. (ANSM, 2014) De plus, des études ont montré que des maladies comme le diabète ou l'obésité pourraient être transmises par le microbiote fécal (cf. **III.6.2.**). (TURNBAUGH, et al., 2006) Il convient également d'éviter un donneur avec un comportement qui risquerait de modifier son microbiote ou qui le prédisposerait à contracter certaines maladies graves.

**Tableau XII : Critères de non inclusion absolue et relative à considérer  
lors du questionnaire de présélection**

Modifié d'après les recommandations de l'ANSM (2014), de G. Cammarota et al. (2014),  
de L. Brandt et al. (2013), et de T.J. Borody et al. (2011)

<i>Informations</i>	<i>Critères de non inclusion absolue</i>	<i>Critères de non inclusion «relative»</i>
<b>Co-morbidités</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Donneur avec une <b>maladie chronique connue</b></li> <li>• Maladies auto-immunes (Sclérose en plaque, ...)</li> <li>• Antécédent de <b>fièvre typhoïde</b></li> <li>• Troubles neurologiques</li> <li>• Troubles digestifs (<i>diarrhée aiguë ou chronique, constipation, polypes colorectaux, ...</i>) dans les 3 mois précédant le don</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Allergies alimentaires ou respiratoire</li> <li>• Atopie (asthme, eczéma)</li> <li>• Syndrome de fatigue chronique</li> <li>• Donneur avec antécédents familiaux :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- MICI (<i>lien de parenté</i>)</li> <li>- Maladies auto-immunes (<i>lien de parenté</i>)</li> <li>- Cancer colique (<i>lien de parenté et âge d'apparition</i>)</li> </ul> </li> </ul>
<b>Traitement médicamenteux et/ou chirurgical</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Donneur suivant un <b>traitement curatif au long cours</b></li> <li>• Donneur suivant un traitement immunosuppresseur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Donneur traité par anti-infectieux au cours des 3 mois précédant le don</li> <li>• Donneur ayant récemment subi une chirurgie gastro-intestinale majeure</li> </ul>
<b>Voyages</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Séjour en zone intertropicale</b> au cours des 3 mois précédant le don</li> <li>• Résidence de plusieurs années en zone intertropicale</li> <li>• <b>Hospitalisations à l'étranger</b> de plus de 24h dans les 12 derniers mois (<i>y compris membres de l'entourage du donneur</i>)</li> </ul>	
<b>Âge</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Donneur mineur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Donneur âgé de plus de 65 ans</li> </ul>
<b>Statut pondéral</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Donneur avec IMC&gt;30</li> </ul>
<b>Comportement à risque</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comportement sexuel à risque</li> <li>• Consommation de drogue</li> <li>• Incarcération récente</li> <li>• Tatouage ou piercing dans les 3 mois précédant le don</li> </ul>	

### III. 4. 1. 2. Tests de dépistage

Les donneurs retenus à l'étape de présélection doivent ensuite effectuer plusieurs tests de dépistages d'agents pathogènes. Ceux-ci seront recherchés dans le sang et dans les selles par des méthodes de sérologie type ELISA, PCR ou cultures bactériennes. L'ANSM recommande une liste d'agents à dépister, ceux-ci sont présentés dans le tableau XIII. Des comptages d'œufs et de parasites seront également réalisés sur les selles.

**Tableau XIII : Liste des agents infectieux à dépister chez les donneurs**

Modifié d'après les recommandations de l'ANSM (2014)  
et de L. Brandt et al. (2013)

	<i>Sang</i>	<i>Selles</i>
<b>Bactéries</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Treponema pallidum</i> (agent de la syphilis)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Clostridium difficile</i></li> <li>• <i>Listeria monocytogenes</i></li> <li>• <i>Vibrio cholerae</i> / <i>Vibrio parahaemolyticus</i></li> <li>• <i>Salmonella</i></li> <li>• <i>Shigella</i></li> <li>• Bactéries multirésistantes aux antibiotiques</li> <li>• <i>Helicobacter pylori</i></li> </ul>
<b>Virus</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Virus de l'immunodéficience humaine (HIV)</b></li> <li>• Virus T-lymphotropique humain (HTLV)</li> <li>• <b>Virus des hépatites A, B et C (HVA, HVB, HVC)</b></li> <li>• Cytomégalovirus (CMV) / Virus Epstein-Barr (EBV)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adénovirus</li> <li>• Astrovirus</li> <li>• Calcivirus (norovirus, sapovirus)</li> <li>• Picornavirus (entérovirus, Virus Aichi)</li> <li>• Rotavirus</li> <li>• Virus des hépatites A et E</li> </ul>
<b>Parasites</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Strongyloides stercoralis</i></li> <li>• <i>Toxoplasma gondii</i></li> <li>• <i>Trichinella sp.</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Strongyloides stercoralis</i></li> <li>• <b><i>Cryptosporidium sp.</i></b></li> <li>• <i>Cyclospora sp.</i></li> <li>• <i>Entamoeba histolytica</i></li> <li>• <b><i>Giardia intestinalis</i></b></li> <li>• <i>Isospora sp.</i></li> <li>• <i>Microsporidies</i></li> </ul>

Si le résultat d'un test revient positif, le candidat sera alors exclu des donneurs potentiels. Les autres candidats sont ensuite recontactés pour l'entretien de sélection.

### III. 4. 1. 3. Sélection

#### (i) Donneur unique ou donneurs multiples

Il n'existe actuellement **aucun argument scientifique** démontrant une meilleure efficacité d'un pool de fèces de différents donneurs par rapport à un donneur unique. (ANSM, 2014)

#### (ii) Entretien médical et questionnaire de sélection

Dans le cas où l'on souhaite utiliser des selles fraîches, il est important d'avoir un nouvel entretien médical avec les donneurs potentiels immédiatement avant le don. En effet, les fèces utilisées pour les analyses ne sont pas celles servant à la préparation du transplant puisqu'un délai entre la présélection et le don est inévitable du fait des dépistages effectués. Ce délai doit cependant être le plus court possible car il correspond à une « **période critique** » durant laquelle le statut sain du donneur pourrait changer. Dans l'idéal il doit correspondre exactement au délai d'obtention des résultats des tests de dépistage. Il ne doit en aucun cas excéder 7 jours. (ANSM, 2014)

Il convient lors de cet entretien de s'assurer de la bonne santé du donneur et de lui demander de remplir un nouveau questionnaire allégé pour obtenir des renseignements sur les **événements survenus depuis la visite de présélection**. Le candidat sera exclu du protocole si lui ou une personne de son entourage a présenté un épisode de diarrhée ; s'il présente des lésions anales, pour éviter la transmission du virus du papillome humain et des virus de l'herpès ; ou s'il s'est retrouvé dans une situation à risque de contamination pour le receveur, comme par exemple un voyage à l'étranger, un contact avec du sang humain (piercing, tatouage, plaie importante,...), un comportement sexuel à risque (ANSM, 2014), ou encore l'ingestion récente d'un composé dont le receveur est allergique (CAMMAROTA, et al., 2014). De plus, toute visite médicale, prise de médicaments ou maladie contractée récemment seront investiguées et pourront aboutir à une exclusion du candidat du protocole si l'investigateur le juge nécessaire. (ANSM, 2014)

A la fin de ce second entretien, suite à l'analyse des données par l'investigateur, le candidat sera ou non sélectionné définitivement pour le don. Il devra, le cas échéant, rapporter tout événement médicalement intéressant survenant les semaines suivant le don de façon à encore minimiser les risques de transmissions d'agents pathogènes.

#### (iii) Cas des selles congelées

Dans le cas où l'on souhaite utiliser des selles congelées, l'étape de présélection correspond en fait à une étape de sélection. Il n'y a pas besoin de revoir le donneur pour le deuxième entretien puisqu'un échantillon de selles à congeler aura été récupéré en même

temps que l'échantillon de selles à analyser. Si le donneur est sélectionné, les selles pourront être stockées et conservées en attente de leur utilisation, sinon elles seront détruites.

En plus d'éviter l'étape de présélection, les selles congelées présentent l'avantage de minimiser les risques de recueillir un don contaminé. En effet les selles servant au transplant sont les mêmes que les selles analysées.

### **III. 4. 2. Don**

#### **III. 4. 2. 1. Préparation du donneur**

Il convient de faire ingérer au donneur un léger laxatif la nuit avant la procédure. On peut par exemple utiliser du lait ou encore du sulfate ou carbonate de magnésium. (BRANDT, et al., 2013)

#### **III. 4. 2. 2. Récupération des selles**

Les selles sont récupérées dans un récipient **propre** en plastique. Dans le cadre de l'utilisation de selles fraîches, l'échantillon peut être réfrigéré avant utilisation. Il faut cependant réaliser la transplantation dans le plus court délai possible, (BRANDT, et al., 2013) à savoir, le jour d'émission des selles, ou de la décongélation.

Les selles doivent présenter un aspect macroscopique normal. Elles doivent être moulées, ni trop dures, ni trop molles, avec absence d'urine, de sang ou de pus. (ANSM, 2014)

### **III. 4. 3. Préparation du transplant**

#### **III. 4. 3. 1. Précautions (CHOSEWOOD, et al., 2009)**

Selon la classification des agents infectieux établie par le Centre pour le contrôle et la prévention des maladies des États-Unis, les selles humaines sont classées **niveau de sécurité biologique 2 (NSB-2)**. (BRANDT, et al., 2013) Cette classification internationale sépare les agents en 4 niveaux de risques, le minimum étant NSB-1 et le maximum NSB-4. Elle est détaillée, ainsi que les normes associées, dans le « *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* » (*BMBL*), 5<sup>ème</sup> édition (2009).

NSB-2 concerne toute activité impliquant des agents représentant un danger modéré pour les êtres humains et l'environnement. Sont compris dans la définition les agents de maladies humaines transmissibles par inoculation percutanée, par ingestion ou par exposition à une muqueuse. Ces agents peuvent se retrouver dans les selles. (CHOSEWOOD, et al.,

2009) Il est de ce fait préférable d'appliquer certaines mesures de précaution durant la préparation du transplant. Cependant ces mesures ne sont pas obligatoires du fait des précédentes analyses, relativement exhaustives, réalisées sur l'échantillon de fèces et le donneur. (BRANDT, et al., 2013) Leurs applications pouvant être compliquées, il est laissé à l'appréciation du responsable du laboratoire de les mettre en place ou non.

Les pratiques recommandées par la classification de biosécurité et ayant un intérêt dans la manipulation de matières fécales, sont les suivantes. (CHOSEWOOD, et al., 2009)

(i) **Pratiques microbiologiques standard**

- Application des règles d'accès au laboratoire.
- **Lavage des mains** après tout travail et avant de quitter le laboratoire.
- Interdiction de manger, boire, fumer, porter des lentilles de contact, se maquiller et stocker de la nourriture destinée à la consommation dans le laboratoire.
- Interdiction de pipeter avec la bouche.
- Application de règles pour la manipulation des piquants et coupants et la limitation des risques associés ; dont l'utilisation d'aiguilles et seringues jetables, et la disposition de conteneurs spécifiques résistants pour l'élimination de ces déchets.
- Prévenir la formation d'éclaboussures ou d'aérosols.
- **Désinfecter** toutes les surfaces après la fin du travail avec un désinfectant approprié.
- Désinfecter de façon efficace tous les matériels potentiellement infectieux (*ici les selles et matériels en contact*) avant de les jeter.
- Afficher à l'entrée du laboratoire le **sigle universel biohazard**.
- Afficher à l'entrée du laboratoire des informations suivantes : le niveau de biosécurité du laboratoire (*ici niveau 2*), le nom du responsable et son numéro de téléphone, le protocole d'entrée et de sortie du laboratoire.
- Application d'un programme de gestion des nuisibles.
- Formation adéquate du personnel du laboratoire et mises à niveau annuelles.

(ii) **Pratiques spécifiques au niveau BSL-2**

- Toute personne entrant dans le laboratoire doit être informée des risques potentiels et respecter les entrées et sorties dédiées.
- Prévoir une surveillance médicale du personnel du laboratoire, et demander sa vaccination contre les agents manipulés.
- Créer un **manuel de sécurité biologique spécifique au laboratoire**, qui doit être disponible et accessible à tous. Ce dernier définit les étapes de décontamination des déchets et les règles de surveillance médicale.
- S'assurer de la maîtrise du personnel des pratiques microbiologiques standard et spécifiques au niveau BSL-2.

- Le matériel potentiellement infectieux (*ici les selles*) doit être placé dans des containers étanches durant toute procédure de collecte, manipulation, traitement, stockage ou transport.
- Désinfecter de façon régulière tout l'équipement du laboratoire.
- Tout incident en relation avec une potentielle exposition aux matériels infectieux doit être immédiatement évalué et traité, et rapporté au responsable du laboratoire.
- Interdiction des animaux et des plantes dans le laboratoire.

(iii) **Equipement de sécurité**

- Utilisation obligatoire de **postes de sécurité microbiologique**, d'équipements de protection individuelle et de dispositifs de confinement à chaque procédure pouvant provoquer la formation d'aérosol ou d'éclaboussures (utilisation de pipettes, d'une centrifugeuse, d'un mixeur, d'un agitateur ou encore l'ouverture d'un container contenant du matériel infectieux).

*NB : Les postes de sécurité microbiologique sont des enceintes ventilées destinées à assurer une protection du manipulateur et de l'environnement. Ils sont généralement partiellement ouverts et composés d'un plan de travail, d'une hotte et de filtres. (BALTY, et al., 2003)*

- Port obligatoire d'une **blouse** de laboratoire et de **gants** jetables lors du travail, ainsi que de **lunettes** et d'un **masque** de protection lorsque le matériel infectieux doit être manipulé hors des postes de sécurité biologique. Ces équipements doivent être retirés avant de quitter le laboratoire et ne doivent en aucun cas être portés à l'extérieur. Ils sont traités comme des objets contaminés, donc jetés dans la poubelle appropriée ou désinfectés avant leur réutilisation.

(iv) **Aménagements du laboratoire de microbiologie**

- Fermeture automatique des portes du laboratoire.
- Présence obligatoire d'un **évier** pour le lavage des mains, situé près de la porte de sortie.
- Conception du laboratoire de façon à faciliter son nettoyage et sa désinfection.
- Eviter les fenêtres s'ouvrant sur l'extérieur.
- Installation d'une station de lavage oculaire en état de marche.
- Présence d'équipements pour désinfecter / stériliser le matériel et les déchets à l'intérieur du laboratoire (autoclave, désinfection chimique, incinération, ...).

**III. 4. 3. 2. Fabrication du transplant**

On prélève un échantillon de **50 à 60 g de fèces** et on l'ajoute respectivement à **250 à 300 mL de diluant**, l'idéal étant d'atteindre les 60 g pour 300 mL. Il faut cependant obtenir à la fin de la préparation une solution de consistance assez liquide pour être injectée, le volume

peut donc être adapté pour atteindre cet objectif. La solution ne doit pas être bactériostatique. On utilise généralement du **sérum physiologique** comme du NaCl 0,9%, mais du lait ou de l'eau du robinet ou minérale ont aussi été utilisés sans effets secondaires. (BRANDT, et al., 2013)

Ensuite, les selles sont **mises en suspension** et mélangées à cette solution, soit à la main à l'aide d'une spatule ou en remuant et secouant la mixture, soit avec l'aide d'un mixeur électrique. Si l'on mélange les selles à la main, l'administration du laxatif au donneur la veille du don aide à la mise en suspension du fait de l'obtention de matières fécales plus liquides. Si on utilise un mixeur, celui-ci devra être nettoyé et stérilisé entre chaque utilisation. (BRANDT, et al., 2013)

Une fois mélangée, on **filtre** la suspension fécale à travers une **gaze stérile** dans l'idéal. Des tamis, des passoire fines de cuisine ou encore des filtres à café ont aussi été utilisés. Cette étape permet d'éliminer les grosses particules qui pourraient venir obstruer le conduit d'administration du transplant (sonde nasogastrique, tube d'endoscopie, ...). (BRANDT, et al., 2013)

La solution obtenue est ensuite prélevée dans des **seringues de 60 mL** à embout adaptable sur cathéter. (BRANDT, et al., 2013)

### **III. 4. 3. 3. Cas des selles congelées**

Il n'y a actuellement aucune information quant à l'éventuelle dénaturation que pourrait subir le microbiote fécal lors des étapes de congélation et de décongélation. (ANSM, 2014) Cependant, le peu d'études ayant utilisé des selles congelées semblent obtenir d'aussi bons résultats qu'avec des selles fraîches (cf. **III.5.2.2.(ii)**).

Dans le cas où on veut congeler le transplant, la suspension fécale obtenue après filtration est **centrifugée** (6000 x g pendant 15 minutes), puis **remise en suspension** dans la moitié du volume original en utilisant à nouveau une solution isotonique non bactériostatique. On obtient de cette façon un transplant concentré. La préparation obtenue est ensuite **congelée** dans du glycérol à la concentration de 10%, lequel joue le rôle de cryoprotecteur pour les bactéries. Le produit final est enfin **stockée à -80°C** jusqu'à son utilisation. (HAMILTON, et al., 2012)

Le jour de la transplantation, la préparation précédente doit être **décongelée lentement**. Cette étape est réalisée en laissant la suspension se réchauffer pendant 2 à 4 heures dans un bain de glace. La préparation est ensuite à nouveau diluée dans du sérum physiologique jusqu'au volume initial (avant congélation), soit généralement 250 à 300 mL. (HAMILTON, et al., 2012)

Cette procédure, qui concentre, puis dilue à nouveau le transplant, permet l'obtention d'une solution presque inodorante avec une nette diminution de la viscosité, de la couleur et de la texture. (HAMILTON, et al., 2012)

### **III. 4. 4. Administration au patient-receveur**

#### **III. 4. 4. 1. Préparation du receveur**

Si le patient suit un traitement antibiotique, il est conseillé de l'arrêter, si possible, dans les 2 à 3 jours précédents l'intervention. (BRANDT, et al., 2013)

Il est intéressant d'administrer au patient un traitement à base de **lopéramide** une heure avant la transplantation. Cette molécule a un effet anti-sécrétoire et permet un ralentissement du transit colique grâce à une augmentation des contractions segmentaires. Ceci permet alors d'aider à la rétention du transplant pendant au moins 4 heures, et idéalement 6 heures. (BRANDT, et al., 2013) On peut par exemple donner 2 gélules de IMODIUM 2mg<sup>NDH</sup> (*chlorhydrate de lopéramide*) par voie orale une heure avant la procédure.

Il convient d'effectuer un **lavement intestinal** en grande quantité au receveur avant la transplantation. Cela permet de réduire la population bactérienne, notamment de clostridies, pour aider la colonisation du tube digestif par la nouvelle flore. (BRANDT, et al., 2013)

#### **III. 4. 4. 2. Voie d'administration**

Il existe différentes voies d'administration du transplant de microbiote fécal décrites dans la littérature. Chacune comporte des avantages et des inconvénients, le choix d'une technique est donc à mettre en relation avec les circonstances et le patient lui-même.

La **coloscopie** est actuellement la voie d'administration la plus favorable, bien qu'il n'y ait pas de consensus sur ce point. En effet cette technique permet la transplantation de l'ensemble du côlon. De plus, lors de l'examen, il est possible de visualiser les lésions et d'évaluer la sévérité et l'extension de la maladie. Cependant pour les cas les plus sévères, notamment lorsqu'une distension colique est associée, cette méthode peut présenter des risques non négligeables. On préférera alors d'autres voies d'administrations. (BRANDT, et al., 2013)

Les **lavements de rétention** sont faciles à mettre en place et très peu coûteux. Ceux-ci sont également réalisables à la maison du patient, bien qu'il soit recommandé que les TMF soient réalisées sous contrôle d'une équipe médicale. Cependant, cette méthode ne permet pas d'atteindre la partie proximale du côlon, le transplant s'arrêtant à l'angle splénique (limite entre le côlon transverse et le côlon descendant). (BRANDT, et al., 2013)

La voie d'administration **nasoduodénale** est rapide, facile à mettre en place et ne coûte pas cher. Par cette méthode, presque tout le tube digestif est exposé au transplant. Cependant, l'utilisation de volumes moindres pourrait nuire à l'efficacité du traitement. De

plus cette voie pourrait prédisposer à l'installation d'une prolifération bactérienne au sein de l'intestin grêle (SIBO). Il convient donc d'exclure les patients à risque de stase intestinale comme ceux atteints de diverticulose jéjunale ou de sténose intestinale. (BRANDT, et al., 2013)

(i) **Par coloscopie**

Pour réaliser la TMF par **coloscopie**, ou colonoscopie, on insère le colonoscope jusqu'au **caecum**, ou éventuellement dans l'**iléum distal**. Si l'intervention se révèle difficile ou si l'introduction complète de la sonde est jugée risquée, il peut être envisagé de s'arrêter au côlon ascendant ou transverse, voire dans le pire des cas au côlon descendant. (BRANDT, et al., 2013)

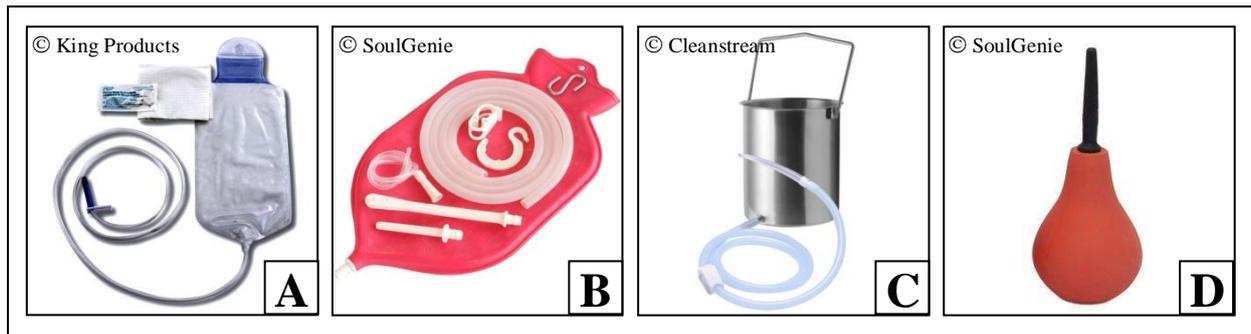
Une fois en place, on connecte le canal accessoire du colonoscope à un tuyau d'aspiration stérile sur lequel on insère l'une après l'autre les seringues remplies du transplant. On injecte alors le volume voulu de suspension fécale (environ 300 mL) sur 2 à 3 minutes. (BRANDT, et al., 2013)

A la fin de la transplantation, il convient de retirer doucement le colonoscope tout en aspirant l'air du côlon distal gauche jusqu'au rectum pour le confort du patient.

Le traitement par coloscopie permet de plus de réaliser des biopsies de la muqueuse colique qui pourront être analysées à des fins diagnostiques. (BRANDT, et al., 2013)

(ii) **Par lavement de rétention**

Le lavement par rétention est la technique la plus simple pour réaliser une transplantation de microbiote fécal. Celle-ci est tellement facile à effectuer qu'elle peut être faite à la maison. Le matériel nécessaire est peu coûteux et peut s'acheter dans des magasins spécialisés ou sur internet (Figure 26). Après avoir préparé le transplant (cf. **III.4.3.2.**), il suffit de remplir le réservoir utilisé (sac, seau ou poire à lavement) et d'administrer le transplant. Lorsqu'il est fait à la maison, il est conseillé de se placer dans une baignoire ou sur des serviettes, des écoulements de transplant étant possibles lors de l'administration. Avant l'administration, le malade doit se coucher en **décubitus latéral gauche**, pour permettre au transplant de se répartir au maximum dans les différentes anses coliques.



- A : Sac à lavement jetable ;  
 B : Sac à lavement réutilisable ;  
 C : Seau à lavement ;  
 D : Poire à lavement.

**Figure 26 : Matériel pour effectuer un lavement intestinal**

Dans le cas de l'utilisation d'une poire à lavement, il est conseillé d'administrer 50 à 60 mL de suspension fécale une à deux fois par jour. Le traitement pouvant être reconduit sur plusieurs jours, en utilisant à chaque fois des selles fraîches de la journée, ou un transplant décongelé le jour même. (BRANDT, et al., 2013) Il suffit d'introduire l'extrémité de la poire préalablement lubrifiée jusqu'à la garde, dans le rectum, puis d'administrer le transplant doucement par pression sur la poire.

Lors de l'utilisation d'un sac ou d'un seau à lavement, il faut attacher le réservoir en hauteur pour permettre l'écoulement du transplant par gravité. Il faut cependant faire attention à ne pas l'accrocher trop haut pour éviter un débit trop important qui pourrait être la cause d'une trop grande pression à l'origine de perforation colique. Il faut ensuite lubrifier la canule et l'insérer doucement du rectum jusqu'au côlon. Cette étape ne doit pas être douloureuse. Il suffit ensuite d'ouvrir le clamp pour laisser s'écouler le transplant. Il est conseillé d'administrer un volume d'environ 300 mL de suspension fécale. Si le malade éprouve la sensation d'avoir du mal à retenir le transplant, il faut arrêter l'opération, attendre quelques minutes que l'inconfort s'estompe, puis reprendre l'administration. Une fois celle-ci terminée, il faut retirer doucement la tubulure du rectum du malade. (BRANDT, et al., 2013), (MAC, 2012)

Il est ensuite crucial de retenir le transplant le plus longtemps possible. En effet, cela permet aux micro-organismes contenus dans la suspension fécale de s'implanter dans le tube digestif du malade. Le temps de rétention minimal conseillé est de **quatre heures**. C'est pourquoi, effectuer la transplantation avant de se coucher peut aider à tenir plus longtemps et maximise donc la rétention, et donc l'efficacité du traitement. (BRANDT, et al., 2013)

Durant le temps de rétention, il peut être utile de changer de position de façon à essayer de déplacer le transplant dans tout le côlon. On peut ainsi passer du décubitus latéral gauche, à un décubitus ventral, puis dorsal et enfin à un décubitus latéral droit, chaque position étant tenue environ dix minutes. Ces changements de position peuvent être accompagnés de légers massages de l'abdomen pour favoriser la répartition de la suspension et augmenter le contact avec la muqueuse colique. (MAC, 2012)

Il faut cependant faire attention, car la pratique de la TMF n'est pas sans risque. Devant l'efficacité de ce traitement, de plus en plus de gens se sont mis à effectuer leur propre transplantation chez eux sans prendre aucune précaution, ce qui est fortement déconseillé. C'est pourquoi l'ANSM a tenu à réguler cette technique en publiant une liste de recommandations et en attribuant au microbiote fécal le statut de médicament.

Il est donc préférable de laisser les professionnels de la santé effectuer ce traitement. Ceux-ci doivent à minima réaliser les étapes de sélection du donneur, avec notamment les analyses, ainsi que la préparation du transplant. Dans un milieu médical, les risques sont diminués grâce à un bon encadrement du protocole. L'utilisation de poche à lavement jetable sera favorisée dans ce milieu pour éviter les contaminations.

### **(iii) Par sonde nasoduodénale ou gastroduodéoscopie**

Dans ces situations, il est préférable que le patient reçoive un traitement anti-acide par un inhibiteur de la pompe à proton à cause des lésions que la sonde pourrait créer sur la muqueuse gastrique. (CAMMAROTA, et al., 2014)

Pour réaliser la TMF par les **voies digestives hautes**, on insère la sonde nasoduodénale ou d'endoscopie jusqu'au **duodénum proximal**, puis on contrôle sa position par des clichés radiographiques. (BRANDT, et al., 2013)

La méthode d'injection du transplant est similaire à celle de la coloscopie. Cependant, pour limiter les nausées et vomissements et éviter les risques de fausse déglutition, il convient **d'injecter plus lentement un volume moins important** de transplant. Un volume de **50 à 75 mL** est conseillé. (BRANDT, et al., 2013) Toutefois, dans une étude parue en 2013, E. van Nood et al. ont réalisé des TMF par cette voie avec un volume de suspension fécale de 500 mL passé lentement sur 20 à 30 minutes. Au cours de cette étude aucun effet indésirable n'a été noté. (VAN NOOD, et al., 2013)

## **III. 4. 5. Suivi**

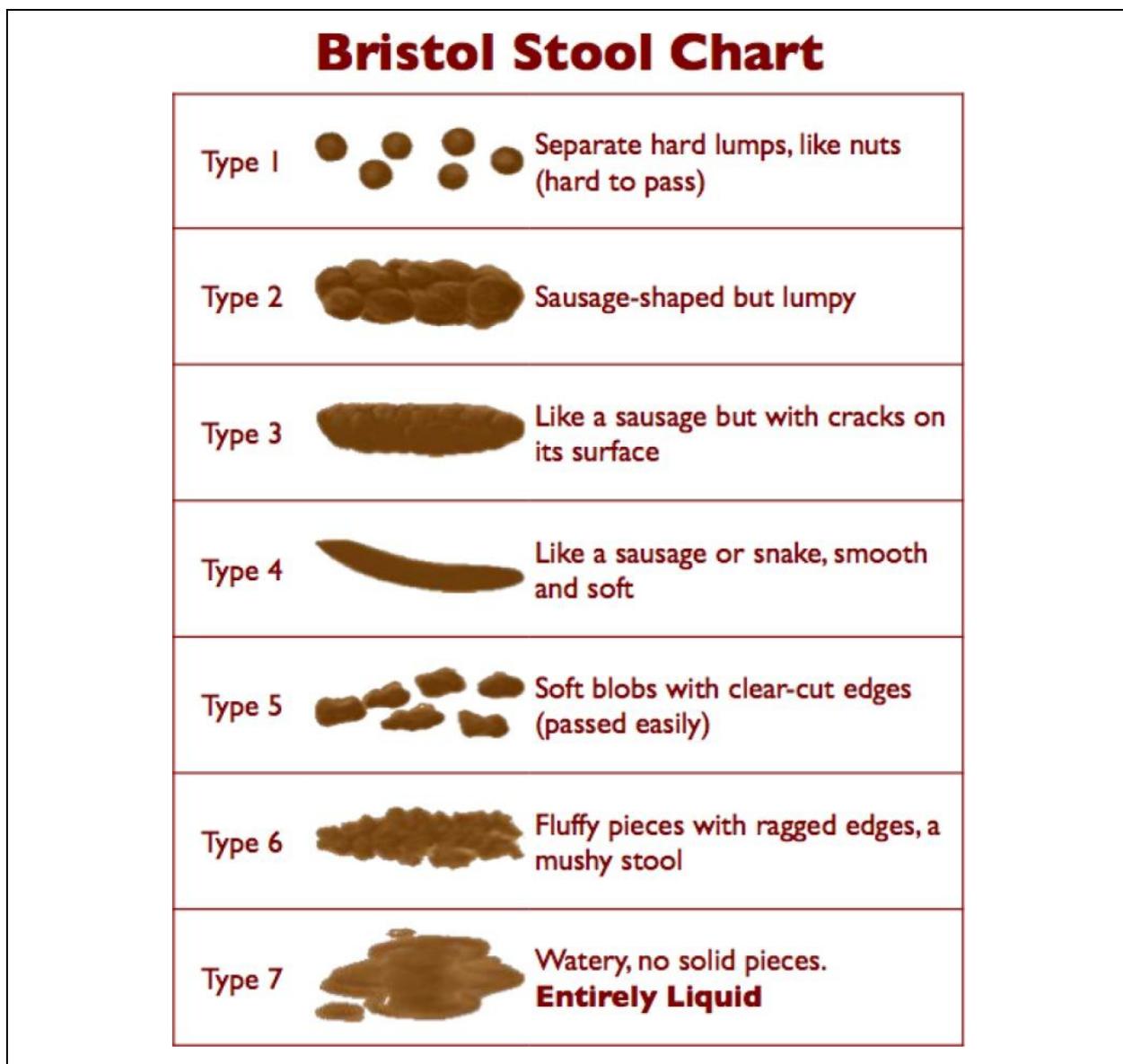
### **III. 4. 5. 1. A court terme**

Après le traitement, l'amélioration est généralement très rapide, de l'ordre de quelques jours. (cf. **III.5.1.**) Cependant certains patients mettent parfois un peu plus de temps à répondre au traitement. Durant la période suivant la TMF, il est important de suivre l'amélioration du patient, et surtout de s'assurer de l'absence d'apparition et/ou de la disparition rapide des effets secondaires indésirables (cf. **III.6.1.**)

(i) Aspects des selles

L'aspect des selles peut être un indicateur de la santé digestive. La présence d'éléments ajoutés comme du sang ou de la fibrine doit bien évidemment disparaître. Les selles étant généralement plus molles, voire diarrhéiques, celles-ci sont censées regagner en consistance.

Pour évaluer l'amélioration ou non de l'aspect des selles, il peut être intéressant d'utiliser une échelle fécale visuelle. L'échelle la plus commune en médecine humaine, bien que peu utilisée, est l'**échelle de Bristol** (Figure 27). Celle-ci a été développée par le Dr. K. Heaton à l'université de Bristol puis publiée en 1997. Elle permet de classer les fèces humaines en sept catégories allant de la consistance la plus dure à la consistance la plus liquide. K. Heaton a montré en 1997 que cette échelle permettait le suivi des changements de la fonction intestinale et était donc un outil non négligeable en clinique. (LEWIS, et al., 1997)



**Figure 27 : Echelle de Bristol**

D'après S.J. Lewis et K.W. Heaton (1997)

Sur cette échelle, les selles sont idéales quand elles sont de type 3 et en particulier de type 4. En effet, celles-ci sont faciles à déféquer tout en ne contenant aucun excès de liquide. Les fèces de type 1 et 2 signent une constipation, et celles de type 5 à 7 une diarrhée. Plus le type est à une extrémité (types 1 et 7), plus la consistance des selles est anormale. La classification est la suivante : (LEWIS, et al., 1997), (MONASTYRSKY, 2008)

- **Type 1 : Petites selles dures et séparées, ressemblant à des noisettes**

Ces selles sont dures et abrasives. Elles sont douloureuses à déféquer, et peuvent causer des lésions à la muqueuse ano-rectale et occasionner de l'hématochézie. Elles peuvent être dues à un manque de bactéries, et donc un manque de rétention d'eau dans les selles. Un traitement antibiotique peut parfois en être la cause.

- **Type 2 : Selles dures et grumeleuses, en forme de saucisse**

Ces selles correspondent à peu près à une agglomération des selles de type 1. Leur diamètre est généralement trop important (3 à 4 centimètres) par rapport à l'ouverture de l'anus, ce qui provoque des douleurs et un ténésme intense. La défécation de ces fèces peut être la cause de lésions, et même d'apparition d'hémorroïdes ou d'obstruction intestinale.

- **Type 3 : Selles craquelées en surface, en forme de saucisse**

**Type 4 : Selles lisses et douces, en forme de saucisse ou de serpent**

- Ces selles sont normales pour des individus déféquant une fois par jour. Celles de type 4 sont plus faciles et agréables à déféquer que celles de type 3.

- **Type 5 : Selles en morceaux mous à bords nets**

Ces selles sont subnormales et sans incidences néfastes. Elles sont souvent extériorisées un peu plus fréquemment, deux à trois fois par jour.

- **Type 6 : Selles détrempées, en morceaux cotonneux**

Ces selles ont presque perdu toute leur structure. Elles sont trop liquides et peuvent être difficiles à retenir. Elles sont la cause d'un transit colique accéléré et donc d'un manque de réabsorption d'eau.

- **Type 7 : Selles entièrement liquides**

Ces selles correspondent à une diarrhée liquide, les selles n'ayant plus aucune structure. Elles sont accompagnées d'épreintes et sont très dures à retenir. Elles peuvent être la cause de déshydratation par perte excessive d'eau.

Cependant, il faut garder à l'esprit que l'utilisation de l'échelle de Bristol n'est qu'un indicateur pour le suivi des selles. Un type n'est en aucun cas indicateur de la persistance ou non de l'infection, et encore moins un outil diagnostique. Il a en effet été montré dans le cadre des infections récurrentes à *Clostridium difficile* qu'il n'y avait aucune corrélation entre l'échelle fécale et la charge bactérienne, des selles d'aspects subnormaux pouvant être présentes chez des patients peu symptomatiques d'une infection à *Clostridium difficile*. (THABIT, et al., 2015)

(ii) Nombre de selles par jour

Il peut être également intéressant de suivre l'évolution du nombre d'émission de selles par jour. En effet, chez la plupart des malades il est augmenté. Après le traitement le nombre d'émission de selles doit progressivement diminuer jusqu'à redevenir à la normale de une à deux fois par jour.

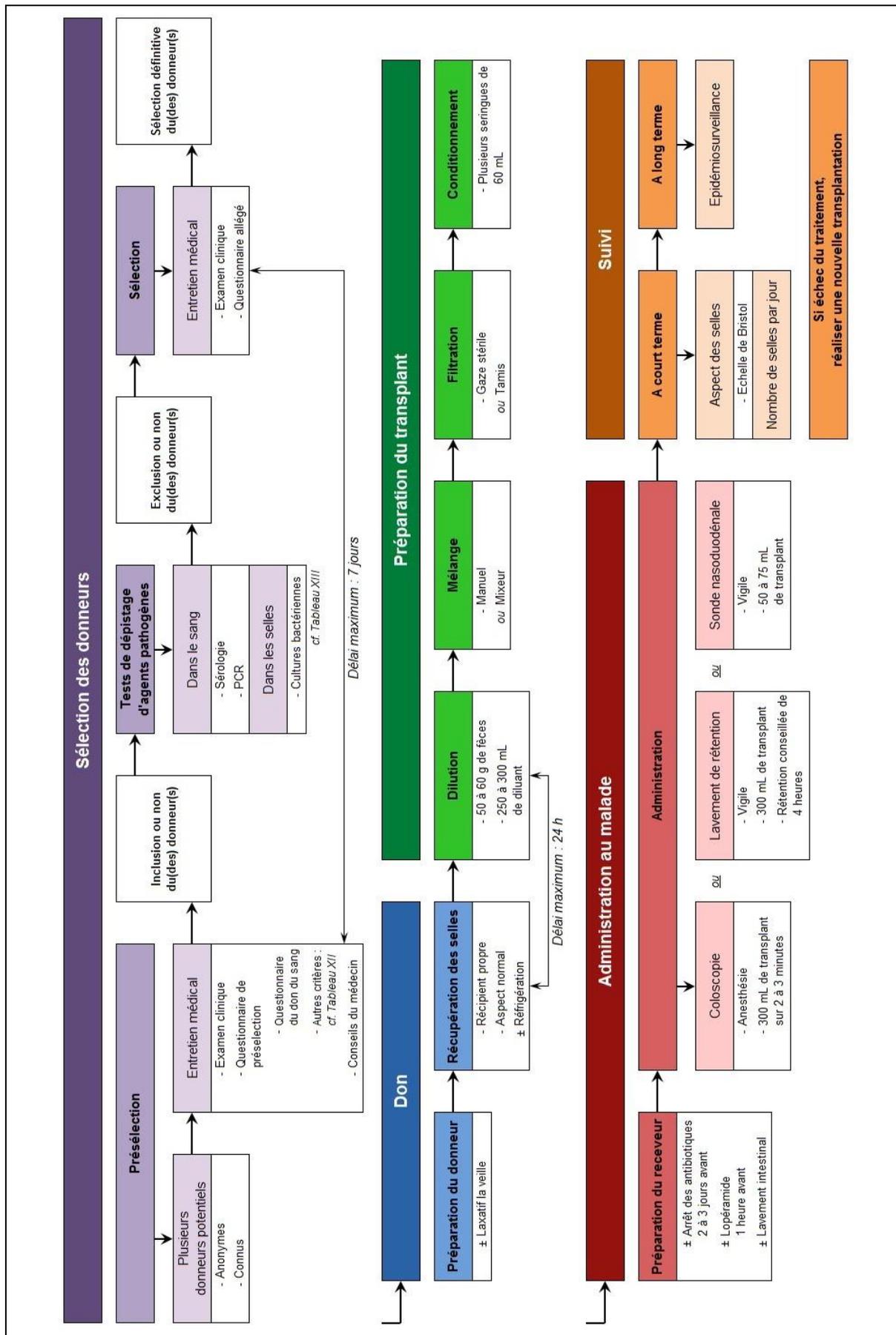
(iii) Lors d'échec du traitement

En cas de non résolution des symptômes, il est possible de **réitérer la transplantation** de microbiote fécal. Il peut être intéressant d'essayer des donneurs différents pour les traitements suivants. On peut également envisager de **réessayer un traitement antibiotique**. En effet, quelques cas d'infection récurrente à *Clostridium difficile* ne répondant pas à la TMF ont ensuite répondu à un traitement antibiotique avec de la vancomycine, alors que ce même traitement était inefficace avant la transplantation. (BRANDT, et al., 2012) Les mécanismes de cette situation sont inconnus, mais l'hypothèse est que la greffe de microbiote modifie tout de même la flore intestinale du patient, sans le guérir. Ce changement de microbiote favorise l'efficacité du traitement antibiotique et empêche les récurrences après l'arrêt de celui-ci. (WEESE, 2015)

**III. 4. 5. 2. A long terme**

Le TMF telle qu'elle est utilisée aujourd'hui est un traitement relativement récent. Très peu d'études sur le long terme ont été effectuées, c'est pourquoi nous ne disposons que de peu de données sur les effets secondaires pouvant survenir de façon retardée, ni sur comment les prévenir. Il est donc important de jouer un rôle d'épidémiologie à la suite d'une transplantation et de s'assurer de l'absence d'apparition de nouvelles maladies (cf. **III.6.2**). Cependant si une telle situation se présente, il est important de le signaler et d'essayer de mettre en évidence un éventuel lien épidémiologique avec le donneur pour mettre en cause ou non l'implication de la TMF dans le développement de ces troubles.

### III. 4. 6. Récapitulatif du protocole



**Figure 28 : Récapitulatif de la transplantation de microbiote fécal**



## III. 5. RÉSULTATS

---

### III. 5. 1. Efficacité et temps d'action de la transplantation de microbiote fécal

Depuis sa première utilisation contre *Clostridium difficile* en 1958 jusqu'à 2015, plus de 500 cas de patients atteints d'infection à *Clostridium difficile* (ICD) et traités par transplantation de microbiote fécal (TMF) ont été rapportés au sein de la littérature mondiale, offrant ainsi de nombreuses données sur l'efficacité et la rapidité d'action de ce traitement contre cette infection. (KELLY, et al., 2015)

En 2012, une étude rétrospective est menée par L.J. Brandt sur 77 malades souffrant d'infection récurrente à *Clostridium difficile* (IRCD) depuis en moyenne onze mois et ayant reçu une TMF par coloscopie plus de trois mois auparavant. (BRANDT, et al., 2012)

Après la TMF, les trois-quarts des patients (74%) ont observé une disparition de leur diarrhée en **moins de trois jours**. Au final, la diarrhée a été guérie chez 82% des malades et améliorée chez 17% d'entre eux, le tout en une moyenne de cinq jours.

**Après une seule TMF**, le taux de guérison était de 91%. Sept des patients n'ont en effet pas répondu au traitement ou ont récidivé. Sur ceux-ci, quatre ont été guéris après un nouveau traitement à la vancomycine, laquelle était inefficace avant la TMF, et deux ont été guéris après une deuxième TMF. Le dernier malade est quant à lui mort à l'hôpital. Le taux de guérison **après un second traitement** est donc de 98% (soit 76 patients sur 77). C'est pourquoi il est important de réessayer un traitement antibiotique ou une TMF en cas de récurrence (cf. III.4.5.1.(iii)).

Par ailleurs, une méta-analyse et une revue systématique ont permis de montrer que les taux de guérison d'IRCD avec ce traitement avoisinaient les 92%, avec un éventail de **81 à 100% de succès**. (GOUGH, et al., 2013), (SOFI, et al., 2011) La TMF est donc un traitement extrêmement efficace, avec des taux importants de guérison, et ce en très peu de temps puisque la majorité des malades est guérie en à peine quelques jours.

### III. 5. 2. Comparaison des différents traitements et protocoles

#### III. 5. 2. 1. Par rapport aux traitements de référence

En 2013, E. Van Nood et son équipe publient le **premier essai clinique contrôlé randomisé** sur la TMF, ce type d'étude étant le gold standard des essais cliniques pour comparer l'efficacité de différents traitements dans une population de patients. Cette étude a permis de démontrer la grande supériorité du traitement de transplantation de microbiote fécal par rapport au traitement antibiotique généralement utilisé. Les résultats étaient si

impressionnants qu'à la suite d'une analyse intermédiaire, l'étude a été arrêtée et certains patients censés suivre le traitement antibiotique ont également reçu une TMF. (VAN NOOD, et al., 2013)

Dans cette étude, les patients étaient tous des personnes âgées atteintes d'IRCD ayant fait au moins une récurrence. Ils ont été assignés aléatoirement dans 3 groupes, suivant chacun un traitement différent :

- Un groupe recevant le traitement par **transplantation de microbiote fécal**. Les patients de ce groupe ont reçu un traitement initial de 500 mg de vancomycine par voie orale 4 fois par jour pendant 4 jours, suivi d'un lavement intestinal, puis de la TMF. Celle-ci a été réalisée avec 500 mL de transplant administrés par sonde nasoduodénale.
- Un groupe recevant uniquement un traitement antibiotique à base de **vancomycine**, à la dose de 500 mg per os de vancomycine 4 fois par jour pendant 14 jours.
- Un groupe recevant le même traitement de **vancomycine associé à un lavement intestinal**.

Après l'initiation des différents traitements, les patients ont été suivis pendant 10 semaines pour dépister d'éventuelles récurrences. Les résultats de cette étude sont récapitulés dans le tableau ci-dessous (Tableau XIV). (VAN NOOD, et al., 2013)

**Tableau XIV : Taux de résolutions cliniques et de récurrences des infections récurrentes à *Clostridium difficile* en fonction du traitement**

Modifié d'après l'étude de E. Van Nood et al. (2013)

<i>Traitement</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Résolutions cliniques</i>	<i>Récurrences dans les 10 semaines</i>	<i>Guérisons sans récurrence</i>
<b>TMF</b>	16	16 patients <b>100%</b>	1 patient <b>6%</b>	15 patients <b>94%</b>
<b>Vancomycine seule</b>	13	12 patients <b>94%</b>	8 patients <b>67%</b>	4 patients <b>31%</b>
<b>Vancomycine + lavement</b>	13	10 patients <b>77%</b>	7 patients <b>70%</b>	3 patients <b>23%</b>

Il est à noter que sur les 16 résolutions obtenues avec la TMF, seulement 13 l'ont été après une seule transplantation. Les 3 autres patients ont nécessité une seconde administration et l'un d'eux a récidivé cinq semaines plus tard.

Cette étude obtient donc des taux de guérison sans récurrence de 94% pour la TMF et de 31% pour le traitement antibiotique à base de vancomycine, soit un **traitement 3 fois plus efficace** dans la résolution des infections récurrentes à *Clostridium difficile*. (VAN NOOD, et al., 2013)

### III. 5. 2. 2. En fonction de la technique utilisée

#### (i) Volume de selles administré

D'après une étude systémique de E. Gough et al. (2013), plus le volume de suspension administré est important, plus les résultats de la transplantation sont bons. Il en est de même pour la quantité de selles utilisées. Cette étude montre, sans prendre en compte la voie d'administration, que pour un volume administré inférieur à 200 mL, le taux de résolution clinique est de 80% avec un taux de récurrence de 6,2% ; tandis qu'avec un volume supérieur à 500 mL les taux sont respectivement de 97,3% et de 4,7%. De la même façon, en utilisant initialement une quantité de selles inférieure à 50 g, les résultats sont moins bons qu'avec une quantité supérieure à 50 g, les taux de résolution clinique étant respectivement de 82,8% avec 3,8% de récurrence et de 86,2% avec 1,0% de récurrence. (GOUGH, et al., 2013) Ces résultats semblant cohérents, il faut cependant les interpréter avec précaution du fait de la grande hétérogénéité des documents analysés dans cette étude.

#### (ii) Selles fraîches ou congelées

Actuellement, la préférence est à l'utilisation des selles fraîches pour minimiser les risques d'altération du microbiote contenu dans le transplant. Cependant, aucune étude ne semble prouver une meilleure efficacité de l'utilisation de selles fraîches par rapport à l'utilisation de selles congelées. L'étude de M. Hamilton et al (2012) montre une efficacité équivalente des deux techniques. Deux donneurs standards sont utilisés pour la préparation des transplants. 12 patients sont immédiatement transplantés avec une préparation fraîche et 21 autres le sont avec une préparation congelée à -80°C pendant 1 à 8 semaines. Les taux de guérison sont respectivement de 92% avec un taux de rechute de 6,4% pour le premier groupe, et de 90% avec un taux de rechute de 5,2% pour le second. (HAMILTON, et al., 2012)

Cette étude montre que l'utilisation de selles congelées est aussi efficace que l'utilisation de selles fraîches. Ces résultats sont très encourageants, et prometteurs pour le développement de cette technique. Cependant, des études répétées à plus grande échelle sont nécessaires avant de pouvoir réellement conclure.

#### (iii) Voie d'administration

Les données actuelles semblent montrer une meilleure efficacité des voies basses d'administration du transplant, comme la coloscopie ou le lavement par rétention, par rapport aux voies hautes, par sonde nasoduodénale ou gastroduodénoscopie.

L'étude de E. Gough et al. (2013), citée précédemment, compare également les différentes voies d'administration. Il en ressort un taux de succès de 88,7% avec 5,4% de récurrences pour la coloscopie et un taux de succès de 95,4% avec 4,8% de récurrences pour les lavements. Les voies d'administrations hautes atteignent quant à elles uniquement 76,4% de

réussite avec 3,6% de récives. Il faut bien sûr toujours interpréter ces résultats avec précaution du fait de l'hétérogénéité des études analysées. (GOUGH, et al., 2013)

Il est important de noter que bien que les transplantations par voie basse atteignent de très bons résultats, il est parfois nécessaire de réaliser plusieurs infusions par lavements pour obtenir la résolution des symptômes, tandis qu'elle est généralement obtenue après une seule transplantation par coloscopie. (BRANDT, et al., 2013)

**Tableau XV : Récapitulatif des taux de résolution clinique et de récive en fonction du protocole de transplantation de microbiote fécal utilisé**

D'après E. Gough et al. (2013) et M. Hamilton et al. (2012)

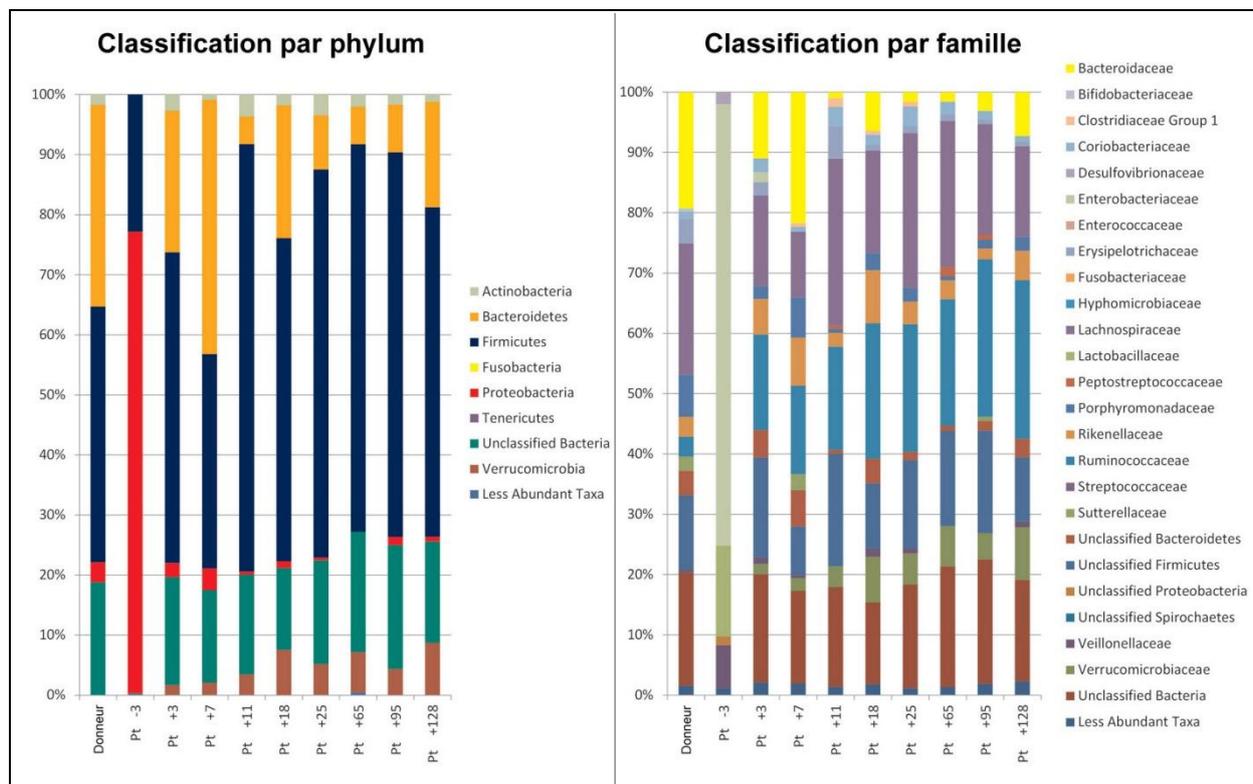
<i>Technique utilisée</i>	<i>Taux de résolution clinique</i>	<i>Taux de récive</i>
<b>Volume de transplant et quantité de selles utilisés</b>		
<b>Volume &lt; 200 mL</b>	80%	6,2%
<b>Volume &gt; 500 mL</b>	97,3%	4,7%
<b>Quantité &lt; 50 g</b>	82,8%	3,8%
<b>Quantité &gt; 50 g</b>	86,2%	1%
<b>Etat des selles</b>		
<b>Selles fraîches</b>	92%	6,4%
<b>Selles congelées</b>	90%	5,2%
<b>Voie d'administration</b>		
<b>Coloscopie</b>	88,7%	5,4%
<b>Lavement</b>	95,4%	4,8%
<b>Voies hautes</b>	76,4%	3,6%

### **III. 5. 3. Effets sur la flore**

Le but de la transplantation de microbiote fécal est de traiter diverses maladies en rééquilibrant la microflore intestinale. Nous venons de voir que ce traitement permettait de guérir les patients, donc de résoudre leurs symptômes, avec de bons résultats, mais qu'en est-il de l'impact sur le microbiote ?

En utilisant l'inverse de l'indice de Simpson (variant ici de 1 à 250 ; 1 correspondant au minimum de diversité et 250 au maximum), E. Van Nood et al. (2013) ont évalué la diversité du microbiote fécal de 9 patients avant et 14 jours après la TMF, et l'ont comparée avec la diversité du microbiote fécal des donneurs. Avant le traitement, la diversité obtenue à partir des selles des malades était basse ( $57 \pm 26$ ), mais 2 semaines après le traitement elle a considérablement augmenté et est devenue statistiquement identique à celle des donneurs (respectivement  $179 \pm 42$  et  $172 \pm 54$ ). De plus l'analyse des compositions bactériennes a montré des modifications significatives des populations du microbiote intestinal avant et après traitement. Ainsi après la TMF, on a observé une augmentation d'un facteur 2 à 4 des *Bacteroidetes* et des *Clostridium* clusters IV et XIVa (*Firmicutes*), et une diminution des *Proteobacteria* d'un facteur allant jusqu'à 100 en fonction des individus. (VAN NOOD, et al., 2013) Ces données montrent bien que la transplantation de microbiote fécal change la composition de la flore intestinale du patient pour retourner à un microbiote sain comme celui du donneur.

De plus, une étude utilisant des selles congelées a montré, par séquençage haut débit d'ARNr 16S, que l'implantation bactérienne était stable et durable après une TMF. (HAMILTON, et al., 2013) Cette étude a permis d'analyser la composition taxonomique par phylum et par famille des microbiotes fécaux des donneurs et des patients avant et après la TMF (Figure 29).



Pt : Patient, suivi du jour pré (-) ou post (+) TMF.

**Figure 29 : Composition du microbiote fécal d'un donneur et d'un receveur avant et après la transplantation de microbiote fécal**

Modifié d'après M.J. Hamilton et al. (2013)

Comme précédemment, l'augmentation des *Firmicutes* et des *Bacteroidetes* ainsi qu'une diminution des *Proteobacteria* et des *Actinobacteria* a été observée après transplantation. De plus des taxons très similaires ont été observés chez les donneurs et les receveurs après la transplantation, alors que ceux-ci étaient fortement différents avec le traitement. Plusieurs jours après la TMF les taxons restent les mêmes, bien que leur abondance relative varie en fonction du temps. Cela ne pose cependant pas de problème puisque malgré les proportions différentes des espèces bactériennes, les microbiotes conservent une grande diversité. Ces données prouvent donc la persistance dans le temps, sur au moins plusieurs mois, de la modification de la flore, engendrée par le microbiote fécal transplanté.

Les données récoltées ces dernières années ont permis de prouver que la TMF surpasse actuellement tous les traitements conventionnels de l'IRCD, et ce quelque soit la voie d'administration. Ce traitement d'une rare efficacité permet l'obtention de nombreuses rémissions et guérisons en un temps record de quelques jours. Si cette technique semble performante, c'est parce qu'elle agit directement sur la cause de la maladie, à savoir la dysbiose intestinale, en permettant de rétablir un microbiote digestif sain de façon pérenne.

### **III. 5. 4. Résultats dans le traitement d'autres maladies que l'infection récurrente à *Clostridium difficile***

#### **III. 5. 4. 1. Maladies digestives**

##### **(i) Maladie inflammatoire chronique de l'intestin**

Plusieurs séries de cas et études rapportent l'essai de la TMF comme traitement pour des patients atteints de maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI).

Dans le cas de la rectocolite hémorragique, plusieurs malades présentant des formes sévères de la maladie, réfractaire au traitement par les corticoïdes, les dérivés amino-salicylés et l'azathioprine sont décrits. Chez plusieurs d'entre eux, la transplantation a permis la résolution de tous les symptômes dans les 6 semaines après le traitement. Durant le suivi, ayant duré jusqu'à 13 ans pour le premier patient, aucune récurrence n'a été observée. Cependant, plus récemment, une étude rétrospective de 2012 sur 62 patients atteints de rectocolite hémorragique rapporte 91,9% de réponses à la TMF avec une rémission clinique complète d'uniquement 67,7% de malades. Une rémission partielle est observée chez 24,2% des patients et seulement 8% ne répondent pas au traitement. Bien que ces résultats soient prometteurs, l'utilisation de la TMF lors de rectocolite hémorragique semble moins efficace que lors d'ICD. Dans cette maladie de nombreuses infusions de selles sont souvent nécessaires pour obtenir et maintenir la guérison clinique. En effet, très peu de patients ont observé une guérison après uniquement une ou deux TMF, la plupart nécessitent de multiples

transplantations pendant au moins 14 jours et parfois plus en fonction de la réponse clinique. (BORODY, et al., 2012b), (ARONIADIS, et al., 2013), (BORODY, et al., 2014)

Pour ce qui est de la maladie de Crohn, des cas de patients également réfractaires aux corticoïdes et à la salazopyrine ont répondu à la TMF en trois jours, et n'ont observé aucune récurrence au cours des 18 mois de suivi. (ARONIADIS, et al., 2013) D'autres séries de cas n'ont permis de mettre en évidence aucune amélioration après la transplantation. Cependant, aucune étude n'est disponible sur l'efficacité de la TMF dans le cadre de cette maladie ; seul quelques cas cliniques ont été rapportés. Les données actuelles semblent toutefois montrer une plus grande résistance de la maladie de Crohn à la TMF comparé à la rectocolite hémorragique. De multiples transplantations sur des périodes encore plus prolongées sont alors nécessaires pour obtenir des résultats. (BORODY, et al., 2014)

Plusieurs études randomisées et contrôlées sont actuellement en cours de réalisation chez l'adulte et l'enfant, elles devraient, au cours des années à venir, apporter plus de données sur l'intérêt de la TMF dans le traitement des MICI.

#### (ii) **Syndrome de l'intestin irritable**

Actuellement, peu de publications ont étudié l'impact de la TMF dans le traitement du syndrome de l'intestin irritable. Peu de données sont donc disponibles à ce sujet.

Au cours d'une étude, 13 patients atteints de syndrome de l'intestin irritable, avec de la diarrhée, de la constipation, ou une forme mixte, ont été suivis pendant environ 11 mois. La majorité des malades (70%) a rapporté une amélioration des symptômes après la transplantation, et notamment des douleurs abdominales, de la dyspepsie, de la fréquence de défécation, du ballonnement et des flatulences. Près de la moitié d'entre eux a également reconnu une amélioration de leur sentiment de bien-être après avoir effectué la TMF. Cependant chez 4 patients sur 9 aucune amélioration n'a été notée. (PINN, et al., 2013), (PINN, et al., 2015) Ces résultats, bien que mitigés, restent prometteurs et des essais cliniques comparatifs et aléatoires seront nécessaires pour évaluer de façon plus précise si oui ou non la TMF a un réel intérêt pour traiter les malades atteints de syndrome de l'intestin irritable.

#### (iii) **Constipation**

En 1995, P. Andrews et al. soignent des malades atteints de constipation chronique sévère avec une TMF. Le traitement se révèle efficace puisque 89% des patients montrent une amélioration, avec une meilleure défécation et une disparition du ballonnement et des douleurs abdominales. Plusieurs mois plus tard, 60% continuent à rapporter une défécation normale. (ANDREWS, et al., 1995 )

### **III. 5. 4. 2. Maladies extra digestives**

La TMF s'est également révélée être une option thérapeutique dans diverses autres maladies aussi variées que l'halitose, l'acné, les néphrolithiases, mais aussi le syndrome

métabolique, l'autisme, la sclérose en plaque, la maladie de Parkinson, ... Nous allons ici détailler l'implication qui a pu être notée entre ce traitement et la résolution de certaines de ces maladies. (BORODY, et al., 2014)

(i) **Syndrome métabolique**

En 2010, A. Vrieze a rapporté les résultats d'une étude menée en double aveugle, où 18 hommes atteints de syndrome métabolique ont été transplantés aléatoirement, soit avec les selles d'un sujet sain et mince, soit avec leurs propres selles pour faire office de groupe témoin. Ces patients ont été répartis dans chaque groupe de façon équitable. Les individus du premier groupe ont présenté une augmentation du nombre de bactéries productrices de butyrate au sein de leur microbiote intestinal. Hors, comme nous l'avons vu précédemment, ces bactéries jouent un rôle majeur dans la santé et le maintien d'un bon métabolisme (cf. II.3.5.) Concomitamment à cette modification de la flore, les patients ont rapidement montré une diminution marquée du taux de triglycérides circulant à jeun. De plus, six semaines après la TMF, leur sensibilité périphérique et hépatique à l'insuline a été grandement améliorée. Aucune amélioration n'a été notée chez le groupe témoin. (VRIEZE, et al., 2012)

La TMF pourrait donc être extrêmement utile pour aider les patients obèses à réguler leur poids, voire à maigrir. Ce traitement pourrait également se révéler très efficace pour combattre l'insulinorésistance lors du diabète sucré de type 2.

(ii) **Anorexie**

En 2009, F. Armougom rapporte le cas de deux de ses patients souffrant du syndrome de l'intestin irritable. Ceux-ci sont également atteints d'anorexie nerveuse. Après plusieurs TMF, les deux malades ont retrouvé l'intérêt de la nourriture et repris du poids. (ARMOUGOM, et al., 2009)

(iii) **Maladies auto-immunes et neurologiques**

De nombreux cas cliniques rapportent une possible efficacité de la TMF dans certaines maladies auto-immunes ou neurologiques. Ces guérisons ont souvent été accidentelles et concomitantes à l'emploi d'une TMF pour traiter une ICD, un syndrome de l'intestin irritable ou une MICI. (BORODY, et al., 2014)

(iii.i) **Purpura thrombopénique idiopathique**

Chez un patient qui souffrait de rectocolite hémorragique associée à un purpura thrombopénique idiopathique, la TMF a non seulement permis la rémission de la diarrhée mais également de la maladie auto-immune sur le long terme. Chez cet individu, après le traitement, le taux de plaquettes a augmenté significativement de 97 à 195 x 10<sup>9</sup> cellules/ $\mu$ L. (BORODY, et al., 2011c)

### ***(iii.ii) Dystonie myoclonique***

Un cas de résolution de dystonie myoclonique a été rapporté. Le patient était atteint conjointement de cette maladie et de diarrhée chronique. Les troubles digestifs ont motivé l'essai thérapeutique d'une TMF. Après le traitement, les symptômes ont régressé de 90% et le patient a récupéré la capacité de s'habiller seul et d'exécuter des tâches minutieuses du quotidien, il a pu également retrouver un emploi. (BORODY, et al., 2011d)

### ***(iii.iii) Autisme***

Des améliorations des symptômes présentés ont été observées chez deux enfants atteints d'autisme après la réalisation d'une TMF. Des résultats similaires ont été rapportés chez cinq enfants qui ont reçu une transplantation uniquement d'une partie de microbiote, lequel était issu d'une culture de *Bacteroidetes* et de *Clostridia*. (ARONIADIS, et al., 2013)

### ***(iii.iv) Maladies de Parkinson***

Comme nous l'avons vu, les malades atteints de Parkinson ont fréquemment des troubles digestifs chronique (cf. **III.3.3.3.(ii)**). L'un d'eux a été traité par une TMF qui a non seulement soigné les symptômes digestifs, mais également provoquée une amélioration significative des symptômes neurologiques. (ANANTHASWAMY, 2011)

### ***(iii.v) Sclérose en plaque***

En 2011, T.J. Borody rapporte la guérison complète et prolongée pendant plus de quinze ans de trois patients atteints de sclérose en plaque. Ces malades, âgés respectivement de 29 ans, 30 ans et 80 ans, avaient tous les trois reçus une TMF pour soigner une constipation. Ils se déplaçaient initialement en fauteuil roulant, puis progressivement l'amélioration impressionnante de leurs troubles neurologiques leur a permis de récupérer la capacité de marcher sans assistance. L'hypothèse que la transplantation a permis l'éradication d'un agent pathogène gastro-intestinal inconnu, lequel serait à l'origine des symptômes observés lors de sclérose en plaque, a donc été évoqué. (BORODY, et al., 2011a)

### ***(iii.vi) Syndrome de fatigue chronique***

Le syndrome de fatigue chronique, ou encéphalopathie myalgique, est une maladie neurologique d'origine inconnue. Les hypothèses d'une cause auto-immune, virale ou d'une prédisposition génétique ont été évoquées. Cette maladie provoque un état de fatigue permanent qui ne disparaît pas après le repos.

34 patients atteints de ce syndrome ont été traités par une TMF et suivis sur 28 mois. 41% ont rapporté une amélioration permanente et 35% une amélioration tardive et minime. (BORODY, 1995)



## III. 6. RISQUES

---

Les risques associés à la transplantation de microbiote fécal sont encore pour la plupart méconnus. L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) encourage donc la réalisation d'essais cliniques contrôlés pour recueillir de nouvelles données. Ces études permettraient d'une part la mise en place d'une pharmacovigilance de façon à déclarer la survenue de tout évènement et effet indésirable grave, ou de tout fait nouveau ; et d'autre part un suivi au long terme des patients et de la tolérance du traitement. (ANSM, 2014)

La technique semble cependant sûre. Sur 500 cas de TMF publiés, aucun effet secondaire sévère pouvant être mis en relation avec le traitement n'a été observé. (LEIS, et al., 2014)

### III. 6. 1. Risques immédiats

Immédiatement après la transplantation, la majorité des patients rapportent quelques effets indésirables, le plus fréquent étant la diarrhée (pour 94% des patients). Plus rarement, certains patients présentent des douleurs abdominales, des nausées, des éructations, voire des vomissements. Cependant ces symptômes, bien que désagréables, ne sont d'aucune gravité et disparaissent assez rapidement, dans les 3 heures suivant la transplantation. (VAN NOOD, et al., 2013)

Aucun risque significatif n'a été mis en évidence à ce jour, à part ceux inhérents à la technique utilisée. On compte parmi ceux-ci le risque anesthésique lors de la coloscopie, surtout pour les patients extrêmement débilisés ; le risque de lésions de la muqueuse colique, voire de perforation du côlon lors de coloscopie et de lavement, ce dernier risque étant majoré chez les patients présentant initialement des lésions intestinales importantes ; ou encore le risque de fausse déglutition lors d'une régurgitation par administration nasoduodénale, ce risque pouvant être minimisé par une administration lente et de moindre volume. Ces risques sont cependant très rares.

Néanmoins, il faut quand même considérer la possibilité de complications infectieuses ou de réactions allergiques immédiates suite à la TMF. (CHALASANI, 2014)

### III. 6. 2. Risques à long terme

Aucun lien direct n'a actuellement été mis en évidence entre la technique de TMF et l'apparition de maladies. Cependant il est suspecté que certaines maladies, notamment infectieuses, métaboliques ou dysimmunitaires, pourraient être transmises du donneur au receveur, et ce même si le donneur est asymptomatique et semble en parfaite santé.

De rares cas ont ainsi attiré l'attention. Par exemple, quatre patients ayant reçu une TMF ont ensuite développé une maladie auto-immune différente : une polyarthrite rhumatoïde, un syndrome de Gougerot-Sjögren, un purpura thrombopénique idiopathique et une neuropathie périphérique. (BRANDT, et al., 2012)

Il a été démontré qu'en transplantant le microbiote fécal de souris obèses à des souris axéniques, on obtient une forte augmentation de la graisse corporelle totale chez ces dernières. Ce fait prouve que le caractère obèse est transmissible d'un individu à l'autre chez cette espèce, et qu'il est supporté par le microbiote intestinal. (TURNBAUGH, et al., 2006)

Par ailleurs, un cas de prise de poids a été récemment rapporté chez une femme de 36 ans après une TMF. Celle-ci souffrait d'une IRC. Elle n'avait aucun antécédent particulier et avait toujours eu un poids stable à 76 kg, pour un indice de masse corporelle (IMC) de 26 kg/m<sup>2</sup>. Lors de la réalisation de la TMF, la patiente a choisi comme donneur sa fille de 16 ans, bien portante, pesant 70 kg pour un IMC de 26,4 kg/m<sup>2</sup> le jour du don. La donneuse a ensuite pris du poids, jusqu'à 85 kg. (ALANG, et al., 2015)

Après la TMF la diarrhée s'est améliorée et les récurrences de l'ICD ont cessé. Cependant seize mois après le traitement, la patiente a rapporté une prise de poids non contrôlée de 17 kg, atteignant ainsi un IMC de 33 kg/m<sup>2</sup>, et rentrant alors dans la catégorie des gens obèses. Trois ans après la TMF, elle avait encore pris du poids jusqu'à atteindre 88,5 kg pour un IMC de 34,5 kg/m<sup>2</sup>, et ce malgré des régimes et une augmentation des exercices physiques.

Ce cas clinique est le premier rapporté de la transmission de maladie chez l'être humain, pour lequel un lien épidémiologique avec le donneur a pu être mis en évidence.

Il est probable que toutes les maladies pouvant être soignées par la TMF puissent également être transmises par celle-ci. Ce qui est logique, puisque théoriquement, si la TMF est efficace cela signifie que la maladie est en partie provoquée par une dysbiose intestinale. Donc, si l'on implante à un malade la même flore déséquilibrée, elle reproduit les mêmes déséquilibres dont souffrait le donneur. D'où l'importance de la stricte sélection de celui-ci.

Cependant, malgré une sélection rigoureuse, le danger de ce traitement réside dans le fait que certains donneurs peuvent être complètement asymptomatiques, certains déséquilibres de leur flore étant compensés d'une manière ou d'une autre. Mais certains receveurs, pouvant être par ailleurs prédisposés, vont alors développer une maladie que l'on n'avait pas su détecter.

## III. 7. PERCEPTION DE LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL PAR LES PATIENTS

---

J. Zipursky et son équipe ont publié en 2012 la première étude à grande échelle sur l'accueil du public vis-à-vis de la TMF, technique pouvant être considérée comme désagréable ou dégoûtante par certains. Ces résultats sont présentés ci-dessous. (ZIPURSKY, et al., 2012)

### III. 7. 1. Analyse descriptive

Dans cette étude, 400 questionnaires ont été distribués à des patients de cliniques du New Hampshire, aux Etats-Unis, ainsi qu'à leur famille ; mais seulement 192 ont été retournés complets.

Sur les 192 participants, un avait déjà eu un épisode d'infection récurrente à *Clostridium difficile*, il a donc été traité indépendamment des autres. Ce dernier avait reçu un traitement per os de métronidazole et n'a depuis jamais développé aucune récurrence. Il a donc signalé qu'en cas de récurrence, il choisirait un traitement antibiotique seul plutôt qu'une TMF, puisque selon lui, les antibiotiques seront suffisants pour soigner un nouvel épisode d'IRCD.

#### III. 7. 1. 1. Segmentation

La majorité des répondants était des femmes (70%). Près des trois-quarts d'entre eux étaient âgés de plus de 40 ans (75%) et environ un quart d'entre eux avait plus de 65 ans (26%). La moitié était diplômée d'une faculté (Tableau XVI). La plupart des répondants n'avaient jamais entendu parler de la transplantation de microbiote fécal et ne savait pas en quoi cette technique consistait.

**Tableau XVI : Informations démographiques sur les 191 répondants**

Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012)

<i>Caractéristiques</i>	<i>Pourcentage de la population</i>
<b>Sexe</b>	
<b>Homme</b>	30,1%
<b>Femme</b>	69,9%
<b>Âge</b>	
<b>18 à 39 ans</b>	24,9%
<b>40 à 64 ans</b>	48,6%
<b>Plus de 65 ans</b>	26,5%
<b>Niveau d'étude</b>	
<b>N'a pas terminé le lycée</b>	2,7%
<b>A terminé le lycée ou un équivalent</b>	46%
<b>Est diplômé d'une faculté (premier cycle ou études supérieures)</b>	49,7%
<b>Autre</b>	1,6%

### **III. 7. 1. 2. Préférence entre un traitement antibiotique seul ou son association à une transplantation de microbiote fécal**

Tous les répondants ont été mis en situation avec un scénario dans lequel on leur demandait d'imaginer qu'ils souffraient d'un nouvel épisode d'infection récurrente à *Clostridium difficile*. On leur décrivait ensuite les symptômes de cette maladie et on leur présentait deux traitements différents. Le premier étant une nouvelle cure d'antibiotique seule, avec 65% de chance de guérison, et le deuxième un traitement antibiotique suivi d'une « reconstitution de flore » avec 90% de chance de guérison. Le terme de « reconstitution de flore » (RF) a été ici employé à la place de la nomenclature classique pour éviter que les répondants ne comprennent en quoi consistait cette technique. Ils devaient ensuite choisir leur préférence de traitement, puis l'explication de la « reconstitution de flore » était donnée et les répondants devaient à nouveau choisir leur préférence.

Avant explication de la TMF, **85%** des 191 participants ont choisi de subir le **traitement antibiotique suivi de la RF** ; 7,8% ont préféré choisir un traitement antibiotique seul car ils pensaient qu'une cure de plus serait suffisante, et 7,2% parce qu'ils considéraient ne pas avoir suffisamment d'informations sur la RF. Après divulgation de la nature fécale de la TMF, seulement 8,2% des répondants ont changé leur choix pour les antibiotiques seuls et 4,2% ont changé pour choisir leur association avec la « reconstitution de flore ». Après compréhension de ce que la technique de transplantation de microbiote fécale impliquait, les résultats des choix entre les deux possibilités de traitement n'étaient pas significativement différents.

Après connaissance de tous les détails, 154 participants (**81%**) ont choisi l'association antibiotiques et RF. Cependant, ce nombre a augmenté à 171 (90%) si le traitement était proposé sous la forme de pilules, incolores et inodores. De plus, quelque soit la présentation, 179 (94%) des répondants étaient prêts à réaliser le traitement dans le cas où il serait recommandé par leur médecin (Tableau XVII).

**Tableau XVII : Préférences des 191 répondants pour les antibiotiques seuls ou leur association avec la « reconstitution de flore »**

Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012)

<i>Conditions</i>	<i>Antibiotiques et RF</i>	<i>Antibiotiques seuls</i>
<b>Avant explications sur la FR</b>	85%	15%
<b>Après explication sur la FR</b>	81%	19%
<b>FR en liquide incolore et inodore</b>	83%	17%
<b>FR en pilules incolores et inodores</b>	90%	10%
<b>Si recommandé par le médecin, peut importe la présentation</b>	94%	6%

*RF : "Reconstitution de flore" (=TMF).*

On a ensuite demandé aux participants qui ont choisi les antibiotiques seuls ce qui les dérangeait dans la TMF (Tableau XVIII). La moitié d'entre eux (51%) a évoqué des préoccupations sur la sécurité et l'impact sur la santé de ce traitement, et 43% ne voulaient pas réaliser ce traitement car ils le trouvaient trop dégoûtant. Sur les répondants refusant la FR, les femmes évoquaient plutôt l'aspect repoussant de la technique tandis que les hommes étaient plus susceptibles de citer des inquiétudes sur la sûreté.

**Tableau XVIII : Raisons évoquées par les 37 répondants  
qui ont décliné la « reconstitution de flore »**

Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012)

<i>Raison du choix des antibiotiques seuls</i>	<i>Pourcentage de la sous-population</i>
<b>Pense que la technique ne marchera pas</b>	5%
<b>Préoccupations sur la sécurité, uniquement</b>	43%
<b>Trouve la technique dégoûtante, uniquement</b>	35%
<b>Préoccupation sur la sécurité, et dégoût</b>	8%
<b>Autres</b>	8%

### **III. 7. 1. 3. Évaluation du désagrément occasionné par les différents aspects de la transplantation de microbiote fécal**

Il a ensuite été demandé à tous les participants de noter différents aspects de la RF de 1 à 5, 1 étant : « Je ne trouve pas du tout ça désagréable » et 5 étant : « Ceci est vraiment trop désagréable pour l'envisager ». Le point engendrant le moins de désagrément est le fait de discuter de sa maladie et de la FR à un potentiel donneur de selles (score moyen de 2,5/5). Les points les plus négatifs sont **la nécessité de manipuler des fèces** (score moyen de 4/5) et le fait de **recevoir le transplant par sonde nasogastrique** (score moyen de 4,1/5). Les autres voies d'administration, par lavement ou par coloscopie, ont été un peu mieux accueillies avec un score moyen d'environ 3/5 pour les deux.

Les résultats ont été regroupés en deux catégories, la catégorie 1 : « Désagréable, mais considération possible » pour les scores de 1 à 3, et la catégorie 2 : « Trop désagréable pour l'envisager » pour les scores de 4 et 5. En s'intéressant aux variables de segmentation (Tableau XIX), il ressort que les femmes sont significativement plus susceptibles que les hommes à classer l'odeur du transplant et la nécessité de manipuler les fèces comme trop désagréable pour envisager une TMF. Elles trouvent également l'idée de recevoir le transplant par sonde nasogastrique plus désagréable que les hommes. Globalement les femmes ont donné un score plus élevé à tous les aspects de la RF. Par rapport à l'âge, aucune différence significative n'a été observée dans le classement des différentes techniques d'administration du transplant. Cependant, les personnes âgées de plus de 65 ans montrent significativement moins de désagrément que les autres pour l'odeur ou la couleur marron du transplant, comme pour la nécessité de manipuler les fèces.

**Tableau XIX : Désagréments occasionnés par les différents aspects de la « reconstitution de flore »  
selon le sexe et l'âge des 191 répondants**  
Modifié d'après J. Zipursky et al. (2012)

<i>Aspects</i>	<i>Total</i>		<i>Sexe</i>				<i>Age</i>			
	<i>Cat. 1</i>	<i>Cat. 2</i>	<i>Hommes</i>		<i>Femmes</i>		<i>&lt;65 ans</i>		<i>&gt;65 ans</i>	
			<i>Cat. 1</i>	<i>Cat. 2</i>	<i>Cat. 1</i>	<i>Cat. 2</i>	<i>Cat. 1</i>	<i>Cat. 2</i>	<i>Cat. 1</i>	<i>Cat. 2</i>
<b>Nécessité de manipuler les fèces</b>	35%	65%	<b>53%</b>	<b>47%</b>	<b>28%</b>	<b>72%</b>	<b>28%</b>	<b>72%</b>	<b>54%</b>	<b>46%</b>
<b>Odeur du transplant</b>	52%	48%	<b>73%</b>	<b>27%</b>	<b>45%</b>	<b>55%</b>	<b>47%</b>	<b>53%</b>	<b>71%</b>	<b>29%</b>
<b>Couleur marron du transplant</b>	56%	44%	68%	32%	52%	48%	<b>52%</b>	<b>48%</b>	<b>72%</b>	<b>28%</b>
<b>Par lavement</b>	68%	32%	75,5%	24,5%	65,9%	34,1%	65%	35%	77%	23%
<b>Par coloscopie</b>	69%	31%	75%	25%	68%	32%	68%	32%	74%	26%
<b>Par sonde nasogastrique</b>	26%	74%	<b>37%</b>	<b>63%</b>	<b>23%</b>	<b>77%</b>	24%	76%	35%	65%
<b>Avoir à trouver un donneur</b>	72%	28%	76%	24%	70%	30%	71%	29%	72%	28%
<b>Discuter de la maladie avec le donneur</b>	74%	26%	76%	24%	74%	26%	74%	26%	76%	24%

*Cat. 1 : Catégorie 1 : Désagréable, mais considération possible de la « reconstitution de flore » (scores de 1 à 3) ;*

*Cat. 2 : Catégorie 2 : Trop désagréable pour envisager la « reconstitution de flore » (scores de 4 à 5).*

#### **III. 7. 1. 4. Evaluation du prix de la transplantation de microbiote fécal**

Sur les 191 répondants, 147, soit 77%, ont précisé être prêt à payer pour recevoir une transplantation de microbiote fécal. Sur ces 147 participants, 61% ont avoué être prêt à payer plus de 100 dollars et 6% étaient prêts à déboursier plus de 500 dollars, le quart de ces derniers étant des personnes âgées de plus de 65 ans.

#### **III. 7. 2. Conclusions**

De nos jours, la TMF n'est que peu utilisée dans le domaine médical. Cela est en partie dû à la réticence d'utiliser un tel traitement du fait du dégoût qu'il pourrait provoquer chez les patients. En effet, de nombreux médecins pensent que, de par sa nature, la plupart des gens ne voudront pas l'envisager.

Cependant, cette étude semble montrer que même si la plupart des gens trouve ce traitement désagréable à recevoir pour de multiples raisons, bien plus de patients que ce que nous ne le pensions seraient prêts à l'essayer s'ils souffraient d'IRCD. Ceux-ci seraient même prêts à payer des sommes assez élevées si le traitement est efficace. Cela peut sembler logique si l'on compare la souffrance chronique et les désagréments causés par cette maladie. Dans cette situation, recevoir un traitement potentiellement efficace, aussi repoussant soit-il, est un faible coût à payer. (ZIPURSKY, et al., 2012) Ces observations ont également été décrites par S.A. Kahn, qui a demandé l'avis de quelques malades atteints d'une autre maladie, la rectocolite hémorragique. La majorité d'entre eux était intéressée par la TMF. Selon eux, vivre avec une rectocolite hémorragique serait bien pire que l'idée de subir une TMF. (KAHN, et al., 2012) De plus, le Dr. Brandt a demandé à 77 patients réellement atteints d'IRCD et ayant eu des récurrences, éventuellement traitées par TMF, s'ils étaient prêts à recommencer ce traitement en cas de nouvel épisode. 97% d'entre eux voudraient effectivement réaliser ce traitement si leur maladie récidivait, et 53% d'entre eux choisiraient la TMF en première intention avant le traitement antibiotique. (BRANDT, et al., 2012)

Il est cependant important de noter que cette étude a été réalisée aux Etats-Unis, les résultats seraient donc potentiellement différents en Europe ou en France du fait des différences culturelles.

Tout cela laisse penser que la transplantation de microbiote fécal a le potentiel d'être bien accueilli par les malades. Il est donc important de développer cette technique et de délivrer plus d'informations à son sujet. Son expansion doit passer par l'éducation des patients et du personnel médical. En effet, le rôle de conseil et de source d'information détenu par le médecin est d'une importance capitale, l'acceptation des patients étant plus grande lorsque la proposition du traitement vient de celui-ci. De plus, l'amélioration du procédé d'administration par la recherche semble indispensable puisque la majorité des individus serait prête à consommer une présentation sous forme de pilules inodores et incolores, lesquelles n'existent pas encore.



## III. 8. APPLICATIONS FUTURES ET RECHERCHES

---

L'efficacité de la transplantation de microbiote fécal n'est plus à démontrer pour traiter les infections récurrentes à *Clostridium difficile*. Cependant, les découvertes récentes sur cette technique et le rôle joué par le microbiote intestinal dans le maintien de la santé ont ouvert la recherche à de nouvelles possibilités de traitement pour une multitude d'autres maladies gastrointestinales, mais aussi métaboliques, neurologiques ou encore auto-immunes (cf. III.5.4.). Les recherches futures et actuelles vont donc très certainement permettre de mieux définir le rôle joué par le microbiote intestinal dans ces maladies, et permettre de découvrir en conséquence des traitements efficaces contre celles-ci. (BORODY, et al., 2011b)

L'utilisation de **transplants concentrés et congelés** se révélant très efficace (cf. III.5.2.2.(ii)), il est envisageable de penser que dans un futur proche cette méthode de préparation deviendra le standard de la TMF. De plus une telle préparation permet de diminuer énormément les odeurs du transplant, et donc de rendre le traitement moins désagréable, et plus facilement acceptable par les malades. (BORODY, et al., 2013)

Le développement de la TMF pourrait également conduire à la production de transplant sous forme de **gélules**. En effet, après une forte concentration des suspensions fécales congelées, ou même la lyophilisation de celles-ci, on peut obtenir un transplant sous forme de poudre, ce qui permettrait de faciliter l'administration du médicament en utilisant une voie orale.

On imagine facilement leur micro-conditionnement dans des gélules avec un enrobage gastro-résistant qui pourraient alors être avalées, ou mélangées à l'alimentation pour l'administration aux jeunes enfants. De plus, une telle présentation permettrait des administrations plus longues de ce traitement, ce qui serait utile dans le cas des MICI ou du syndrome de l'intestin irritable. (BORODY, et al., 2012a)

I. Youngster a réussi en 2014, le développement de telles gélules à partir de selles congelées et fortement concentrées. Chaque capsule de 650  $\mu$ L a ainsi été fabriquée à partir d'environ 1,6 g de matière fécale, soit l'obtention de 30 gélules pour 50 g de selles. (YOUNGSTER, et al., 2014)

Au fur et à mesure des avancées de cette technique, il est possible d'envisager à l'avenir que la préparation des transplants soit réalisée par des **entreprises spécialisées**, capables de sélectionner les donneurs, de filtrer les suspensions fécales et de les transformer en transplants congelés, voire même lyophilisés. (BORODY, et al., 2012a) Ces structures pourraient alors fabriquer un grand nombre de transplants et ainsi alimenter les banques de selles des hôpitaux et cliniques alentours, ce qui rendrait plus facile l'accès à la TMF.

L'utilisation de selles pour réaliser les TMF n'est pas sans risque, avec notamment la possibilité de transmission d'agents pathogènes. De plus, la transplantation de la totalité du microbiote intestinal n'est peut-être pas utile pour rééquilibrer la flore. C'est pourquoi plutôt que d'utiliser des selles, le **développement de communautés synthétiques de micro-organismes** adaptées au traitement de maladies spécifiques serait intéressant. Des entreprises américaines ont déjà commencé à tester ces solutions synthétiques, comme *Seres Health* à Cambridge, Massachusetts, ou encore *Vedanta Biosciences*, à Boston, Massachusetts. (SMITH, et al., 2014) Le but de ces sociétés est de découvrir et développer de nouveaux médicaments permettant de moduler le microbiome humain et de traiter les maladies affectant celui-ci. *Seres Health* appelle ces nouveaux médicaments des écobiotiques, répondant à la définition de combinaison d'un petit nombre de micro-organismes sélectionnés qui ont pour fonction d'amorcer ou accélérer le passage d'un état pathologique à un état sain. (SERES HEALTH, 2012), (VEDANTA BIOSCIENCES, 2010) De tels médicaments pourraient alors être produits à grande échelle de façon industrielle, rendant inutile l'utilisation de donneur et supprimant par la même occasion les risques inhérents à celle-ci.

***QUATRIEME PARTIE :***  
***TRANSPOSITION DE LA***  
***TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE***  
***FECAL A L'ESPECE CANINE***



## IV. 1. LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL CHEZ LE CHIEN

---

La transplantation de microbiote fécal est utilisée chez l'animal depuis le XVII<sup>ème</sup> siècle. Mais ce n'est que ces dernières années que cette technique a connu un essor dans le milieu vétérinaire canin. Bien qu'aujourd'hui plusieurs vétérinaires utilisent cette technique dans le monde, notamment sur les chiens en diarrhée chronique, aucune étude scientifique n'a été publiée sur son application chez cet animal. Nous ne disposons donc pas à l'heure actuelle de données statistiques sur l'efficacité de ce traitement. Cependant, les vétérinaires ayant essayé cette technique semblent rapporter de bons résultats. Pour les mêmes raisons, aucun protocole n'est à ce jour défini, chaque vétérinaire procédant de façon similaire mais avec néanmoins quelques différences.

Nous allons dans cette partie présenter une synthèse des différentes idées et procédures concernant l'adaptation de la transplantation de microbiote fécal réalisée chez l'homme à une espèce comme le chien. La plupart de ces données a été obtenue via des échanges avec un vétérinaire canadien, pratiquant la TMF dans sa clientèle. Une autre partie est issue de sites internet développés par des vétérinaires utilisant cette technique, ainsi que d'extrapolations personnelles.

### IV. 1. 1. Recommandations

Du point de vue réglementaire, le microbiote fécal animal doit être considéré de la même façon que le microbiote fécal humain. Il convient donc d'appliquer ici les mêmes recommandations que celles cités précédemment. Il n'y a cependant toujours aucune obligation.

### IV. 1. 2. Indications

Les fonctions du microbiote fécal semblent être à peu près les mêmes chez tous les animaux, et ce malgré les différences de composition, on peut considérer que les indications humaines de la TMF sont similaires chez le chien. De plus, la proximité entre la composition des microbiotes humain et canin renforce cette hypothèse.

Les infections récurrentes à *Clostridium difficile*, première cause d'utilisation de la TMF chez l'homme, sont relativement rares et peu décrites chez le chien. Ces infections sont néanmoins une indication possible de cette technique. Cependant, la principale application de ce traitement dans l'espèce canine reste les cas de troubles digestifs, notamment les **diarrhées**

**chroniques.** Les différentes diarrhées chroniques du chien ayant déjà été détaillées précédemment (cf. **I.2.**), elles ne seront pas rappelées ici.

On pourrait également envisager d'essayer ce traitement à titre expérimental dans le cadre de l'obésité, du diabète sucré ou de maladies auto-immunes.

#### IV. 1. 3. Protocole (WEESE, 2015)

Il n'existe encore aucune approche standard pour la TMF chez l'animal. Les protocoles sont donc de nos jours principalement empiriques, avec un degré d'essais-erreurs.

##### IV. 1. 3. 1. Donneur et don

###### (i) Sélection du donneur

Il convient de choisir un donneur qui ne soit ni trop jeune, ni trop âgé ; c'est-à-dire idéalement entre 1 et 7 ans d'âge. Ce dernier doit évidemment être en bonne santé. De plus il est préférable qu'il n'ait eu aucun antécédent de vomissements, de diarrhée ou tout autre trouble gastrointestinal durant les six derniers mois.

On évitera également les animaux ayant reçu des antibiotiques par voie systémique durant les 6 derniers mois ; il est préférable que les antibiotiques par voie locale soient également évités du fait d'un passage systémique existant bien que non correctement évalué.

Il faut sélectionner un animal recevant une alimentation correcte. On préférera éviter une alimentation à base de viande crue, comme le BARF (*Bone And Raw Food*), pour limiter le risque de contamination parasitaire du donneur. Il est également important que celui-ci suive un programme antiparasitaire à spectre large et régulier.

Pour augmenter les chances que le microbiote intestinal du donneur soit compatible et donc efficace, il peut être intéressant de favoriser les donneurs vivant dans un cadre de vie similaire au receveur. Il est de même intéressant de sélectionner un animal de la même race, ou du moins du même format. De plus, si le patient est un chien de grande taille, il sera plus simple de récupérer suffisamment de selles pour la confection du transplant en prélevant un animal du même gabarit qu'un animal plus petit.

De la même façon que chez l'être humain, il est préférable de réaliser certains tests de dépistages. Les selles du donneur sont analysées une semaine avant le don. On effectue notamment la recherche de *Salmonella*, *Campylobacter* et de *Clostridium difficile* par culture fécale et de *Giardia* par ELISA. Une coproscopie parasitaire par une technique de flottation et lecture de lame au microscope doit également être analysée. L'ensemble des résultats doit revenir négatif, faute de quoi le donneur est exclu du protocole.

(ii) **Recueil du don**

Pour recueillir le don, on laisse l'animal faire ses besoins à l'extérieur. Lorsque ce dernier se met en position, on place un récipient propre sous lui de façon à récupérer ses selles. Il faut essayer de les récupérer de la façon la plus propre possible, sans urine et sans contaminant extérieur (herbe, gravier,...). On les récupère idéalement avant qu'elles ne touchent le sol.

Si le donneur ne veut pas déféquer, on peut le stimuler en massant le rectum avec le doigt, après avoir mis un gant préalablement lubrifié. S'il ne se met toujours pas en position, il est possible de lui administrer un laxatif par voie rectale, comme par exemple une pipette de MICROLAX<sup>NDH</sup> (*sodium citrate, sodium laurylsulfoacétate, sorbitol à 70%*).

**IV. 1. 3. 2. Préparation du transplant**

Le transplant est préparé de la même façon que pour l'être humain (cf. **III.4.3.2.**). On réalise donc une étape de dilution avec un liquide isotonique comme du sérum physiologique. On considère qu'il faut apporter environ quatre volumes de diluant pour un volume de selles. (par exemple, si l'on récupère 100 mL de fèces, ajoute 400 mL de diluant de façon à obtenir une solution de 500 mL) On homogénéise le tout, manuellement ou avec un mixeur, puis on filtre la suspension à travers un tamis ou des compresses de gaze de façon à éliminer les grosses particules.

La suspension fécale réalisée, on peut la conditionner dans des seringues avant administration. L'idéal est de l'utiliser à l'état frais, soit le plus rapidement possible dans la journée de récolte du don.

**IV. 1. 3. 3. Patient-receveur et transplantation**

On peut supposer que les problèmes de dégoût occasionné par la nature de ce traitement et poussant parfois au refus de son utilisation sont moins importants en milieu vétérinaire qu'en médecine humaine. De plus, les chiens étant parfois coprophages, cette idée semble moins choquer lors de son application chez l'animal.

Comme chez l'homme, il est possible d'administrer le transplant par voie digestive haute, via une sonde nasoduodénale, ou par voie digestive basse, via un lavement colique ou via coloscopie. Chez l'animal, les avantages et les inconvénients sont les mêmes que ceux détaillés précédemment (cf. **III.4.4.2.**). Certains vétérinaires ont également développé une forme d'administration orale.

(i) **Préparation du patient**

(i.i) ***Sevrage des traitements antimicrobiens***

Il convient d'arrêter tout traitement antibiotique le plus tôt possible et au moins 48 heures avant la transplantation. Cela permet d'éviter une action résiduelle de ces médicaments, qui pourraient alors agir sur le microbiote fécal nouvellement transplanté, et diminuer le taux de succès du traitement en tuant certaines espèces bactériennes.

Cependant, certains vétérinaires considèrent que cette étape n'est pas forcément nécessaire. Si l'animal a besoin de conserver son traitement du fait de l'intensité de ses symptômes, il est possible de n'arrêter les antibiotiques que le matin de la transplantation.

(i.ii) ***Sédation - Anesthésie***

Pour la coloscopie une anesthésie générale est toujours nécessaire. Cependant, contrairement aux êtres humains, l'administration du transplant par voie nasoduodénale ou par lavement doivent se faire sous sédation. En effet, l'état d'excitation des animaux ne permet généralement pas de poser la sonde et d'injecter tout le transplant vigile. De plus, dans le cas d'une administration par voie rectale, la sédation diminue le péristaltisme et évite ainsi que le chien n'élimine la solution durant la transplantation ou trop rapidement après celle-ci. Si le chien est ensuite gardé au calme, il reste normalement tranquille suffisamment longtemps pour la rétention du transplant, et il n'y a pas besoin de lui injecter de nouveaux sédatifs. Si l'animal est trop agité et la sédation insuffisante, une anesthésie générale peut être recommandée.

Cependant, bien qu'elle soit conseillée lors de l'administration par un lavement de rétention, certains vétérinaires choisissent de ne réaliser aucune sédation chez des animaux calmes et réussissent à réaliser une TMF sans incident avec un temps de rétention suffisant. Il est dans ce cas important de bien évaluer le tempérament du chien pour des raisons évidentes de sécurité des manipulateurs et de réussite du traitement. Il faut de plus garder à l'esprit qu'il y a plus de risque de créer des lésions de la muqueuse colique en réalisant un lavement vigile, car l'animal peut bouger et le péristaltisme n'est pas inhibé.

(i.iii) ***Lavement à l'eau tiède***

Si l'on souhaite réaliser une administration par voie digestive basse, après sédation, il est possible d'effectuer un lavement intestinal avec de l'eau tiède à raison de **30 à 50 mL/kg**. Celui-ci est réalisé en introduisant une sonde à lavement, ou une sonde urinaire, préalablement lubrifiée du rectum au côlon de l'animal. On relie cette sonde à une tubulure, elle-même reliée à un récipient propre contenant le volume d'eau tiède à administrer. On place ensuite le récipient en hauteur et on attend que tout le liquide remplisse le côlon, par gravité.

Ce lavement permet d'éliminer les selles encombrant le tube digestif et donc de faciliter l'administration du transplant. Il permet également de diminuer un peu la population

bactérienne autochtone déséquilibrée. Après son administration, il est nécessaire d'éliminer par voie rectale le contenu injecté en massant l'abdomen de l'animal.

Beaucoup de vétérinaires ne réalisent pas cette étape, jugée inutile par certains qui semblent obtenir d'aussi bons résultats sans qu'avec. De plus en effectuant un lavement sous sédation, on risque de ne pas réussir à éliminer tout le liquide injecté. S'il en reste un trop gros volume dans le côlon du chien, on aura alors une dilution et une moins bonne diffusion du transplant lors de son administration. On risque donc de diminuer les chances de réussite du traitement. Cependant aucune étude ne permet de comparer ces résultats.

#### *(i.iv) Administration rectale d'ozone*

Dans le cas d'administration par voie digestive basse, certains vétérinaires ont également décrit l'utilisation d'ozone (O<sub>3</sub>) pour diminuer la flore bactérienne du patient (ROMAN, 2014). En effet, l'ozone possède une action antimicrobienne principalement basée sur son puissant pouvoir oxydant, causant des dégâts irréversibles aux acides gras et glycoprotéines des membranes plasmiques, aux constituants des parois cellulaires et aux macromolécules intracellulaires, comme les protéines, les enzymes et l'ADN. L'ozone provoque par ces processus la désorganisation des parois bactériennes en formant des trous dans celle-ci. Cela provoque la lyse des bactéries (GREENE, et al., 2012) Cette molécule permet, outre les bactéries, d'inactiver un grand nombre de virus mais également de spores fongiques, et ce en un temps d'application très court. Des temps de 15 secondes de traitement ont permis in vitro de complètement inactiver ces micro-organismes. (BURLESON, et al., 1975)

Dans cette situation, on remplit une seringue d'ozone et on administre son contenu directement dans le côlon via une sonde lubrifiée. On retire ensuite la sonde et on maintient la queue de l'animal en position basse pendant 5 minutes pour éviter les fuites (Figure 30). On attend ensuite approximativement 15 minutes après l'insufflation rectale d'ozone avant de réaliser la transplantation. Si l'on compte réutiliser la même sonde pour l'administration du transplant, il est important de la rincer abondamment pour éliminer l'ozone qui pourrait être piégé à l'intérieur.

Cette étape est rarement effectuée. Elle pourrait cependant permettre d'améliorer les résultats de la transplantation en limitant les populations bactériennes et le biofilm qu'elles constituent, qui s'oppose à l'implantation de nouvelles espèces. Aucune donnée n'est cependant disponible quant à l'efficacité de cette étape. Aucun protocole standard n'existant, l'insufflation d'ozone peut s'effectuer en association avec le lavement à l'eau tiède, avant ou après celui-ci. Cette étape peut également se réaliser sur un animal vigile, non sédaté ; auquel cas l'animal peut être promené et même faire ses besoins durant les 15 minutes d'attente. (ROMAN, 2014)



- 1 : Injecter une seringue d'ozone, branchée sur une sonde après son introduction rectale ;  
 2 : Maintenir la queue en position basse pendant 5 minutes.

**Figure 30 : Administration rectale vigile d'ozone à un chien Boston terrier**

D'après Dr. Margo Roman

(ii) **Transplantation**

(ii.i) ***Par lavement de rétention***

Pour réaliser la transplantation par lavement de rétention, on administre à l'animal sédaté un volume de **10 mL/kg** de la suspension fécale que l'on vient de préparer via une sonde à lavement, ou une sonde urinaire, préalablement lubrifiée. Pour les chiens de grand format, on peut diminuer un peu la quantité.

L'injection doit être lente. Si des signes d'inconfort sont remarqués : contraction de l'anus, relèvement de la queue, ... ; il convient d'arrêter l'administration et d'attendre. Si ces signes ne sont que modérés et cessent en quelques temps, on peut reprendre la suite de l'injection. Une fois tout le volume transplanté, il faut laisser le chien au calme. La sédation doit normalement suffire à l'empêcher de déféquer pendant assez longtemps. Le temps de rétention du transplant doit être d'au moins 45 minutes à 1 heure; elle peut être plus longue. Idéalement, on conseille durant ce temps de bouger le chien dans différentes positions (décubitus latéral gauche et droit, décubitus sternal), le tout en douceur pour ne pas le réveiller. Cela permet de diffuser la suspension dans les anses coliques pour l'appliquer sur une plus grande partie de la muqueuse. Cependant cette étape n'est pas toujours nécessaire.

Si on choisit de ne pas anesthésier le chien, il faut alors maintenir sa queue abaissée pendant 5 minutes pour éviter les fuites. On peut en attendant masser doucement l'abdomen du chien pour remplacer les changements de position que l'on effectue sur animal sédaté. Il est ensuite important d'empêcher le chien de déféquer pendant au moins 45 minutes, ce qui peut ne pas être évident.

### ***(ii.ii) Par coloscopie***

L'administration par coloscopie peut se faire, suivant un protocole similaire à celui utilisé chez l'être humain. Cette voie d'administration est cependant rarement utilisée en médecine vétérinaire, puisqu'il faut alors réaliser une anesthésie générale. De plus cette méthode est relativement chère par rapport aux autres.

### ***(ii.iii) Par voie nasoduodénale***

Si on choisit de donner le transplant par voie digestive haute, à l'aide d'une sonde nasoduodénale ou par gastroduodénoscopie, on administre alors un volume de 0,5 mL/kg.

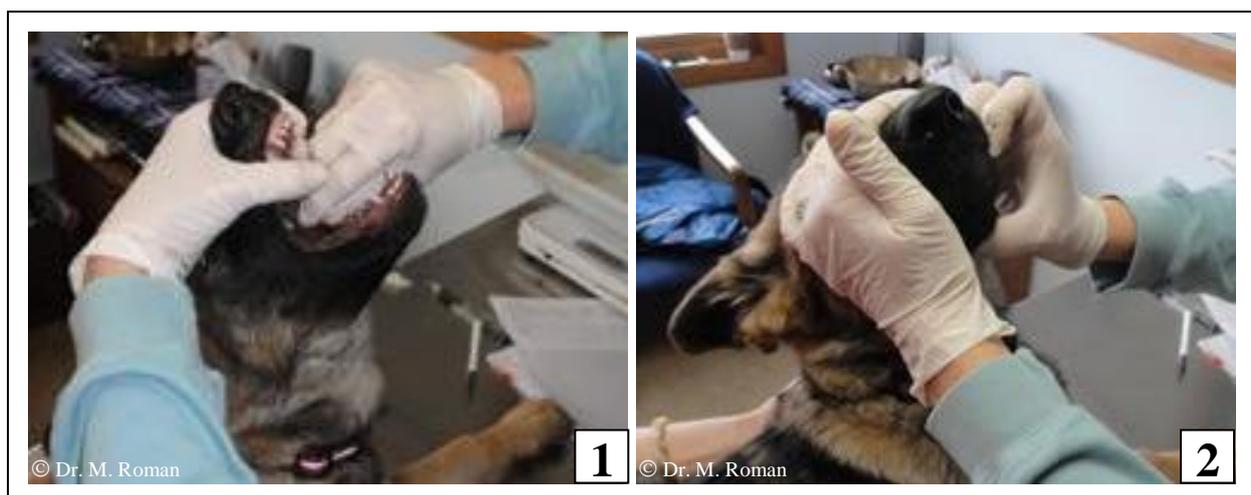
Cette voie d'administration peut être relativement intéressante, dans le cas du traitement d'une diarrhée chronique, lorsqu'une implication de l'intestin grêle est suspectée.

### ***(ii.iv) Par voie orale***

Certains vétérinaires ont également développé chez le chien une voie d'administration orale. En effet, même si cette voie peut sembler repoussante pour le propriétaire, la majorité des chiens n'aura aucune difficulté à consommer l'échantillon de fèces d'un autre animal, la coprophagie étant relativement rependue dans cette espèce. (ROMAN, 2014)

La réalisation d'une TMF par cette voie est extrêmement simple. L'animal receveur reste vigile, et on utilise les selles fraîches du donneur sans aucune préparation préalable, on ne réalise donc pas les étapes expliquées au point **IV.1.3.2**.

Pour ce faire, on ouvre la gueule de l'animal et on insère le transplant au fond de sa gorge. On lui ferme alors la gueule et on s'assure qu'il avale (Figure 31). (ROMAN, 2014)



*1 : Insérer l'échantillon au fond de la gorge ;*

*2 : Fermer la gueule pour faire avaler.*

**Figure 31 : Administration d'un échantillon de selles par voie orale à un chiot Malinois**

D'après Dr. Margo Roman

Il faut cependant faire attention aux risques de fausse déglutition. Si l'animal refuse d'avaler, on peut mélanger les selles avec de l'eau et injecter la suspension avec une seringue. On peut plus simplement mélanger les selles avec de la pâtée et les proposer au chien. On peut ensuite donner des friandises au chien pour le récompenser et l'aider à déglutir tout le transplant. (ROMAN, 2014)

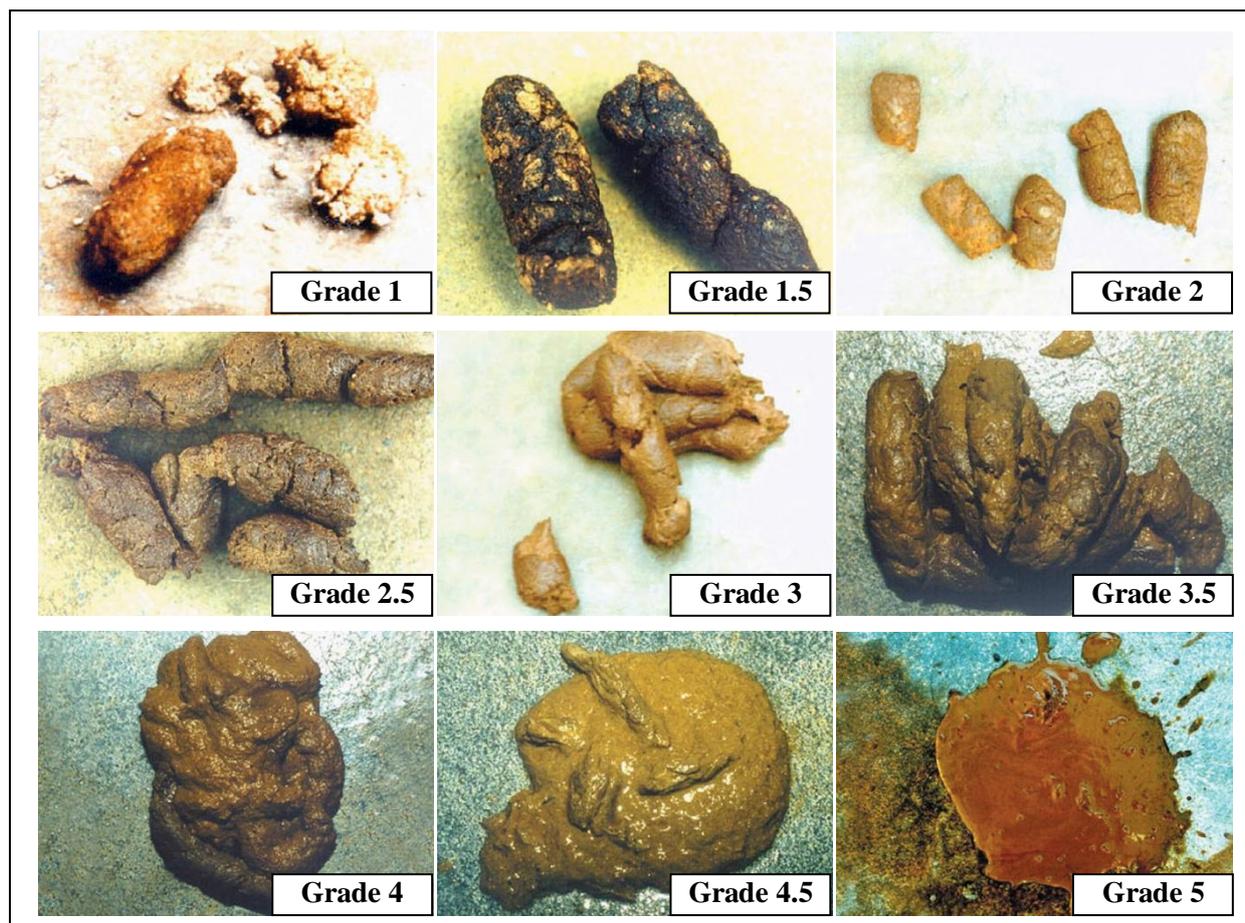
On ne dispose d'aucune donnée sur l'efficacité de cette technique, qui n'est pas la plus fréquemment utilisée. Dans le cas où une composante de l'intestin grêle est suspectée dans la maladie du patient, il peut être intéressant de coupler une administration orale à une administration par lavement pour couvrir tout le tube digestif. (WEESE, 2015)

#### IV. 1. 3. 4. Suivi

##### (i) Aspects des selles

Chez l'animal, l'aspect des selles peut également être un bon indicateur pour suivre l'évolution de la rémission des symptômes. Il existe, de la même façon qu'en médecine humaine, différentes échelles pour les fèces des chiens et des chats. Nestlé Purina a ainsi développé une échelle : « *The Nestlé PURINA Fecal Score Chart* », mise à disposition des vétérinaires (Annexe 2). Celle-ci est en sept niveaux à l'instar de l'échelle de Bristol. Un score de 1 correspond à une constipation et un score de 7 à une diarrhée liquide. L'optimum étant chez les carnivores domestiques le score de 2, donc des selles un peu plus fermes et sèches que pour l'homme.

Waltham, du groupe Mars, a également publié en 2001 sa propre échelle fécale : « *The WALTHAM Faeces Scoring System* ». Cette échelle comporte 9 niveaux allant du grade 1 au grade 5 avec à chaque fois des grades intermédiaires. Le premier grade étant à nouveau pour des matières fécales trop sèches, dures et friables, et le dernier grade pour des fèces liquides. L'idéal est ici d'obtenir un score entre 1,5 et 2,5 (Figure 32). Cette échelle est utilisée depuis des années par le groupe Waltham pour évaluer quotidiennement la consistance des selles de leurs chiens et chats et ainsi voir l'impact de l'alimentation sur le transit digestif des animaux. Elle a également été mise à libre disposition pour permettre aux vétérinaires, et aux propriétaires, d'évaluer la qualité des selles de leurs animaux, l'efficacité de l'échelle ayant été validée par Waltham. (MOXHAM, 2001)



*La qualité optimale des selles est obtenue pour un score de 1.5 à 2.5.*

*Grade 1 : Selle trop dure, sèche et friable. En forme de petite ogive ;*

*Grade 1.5 : Selle dure et sèche ;*

*Grade 2 : Selle bien formée, sécable. Ne laisse aucune marque sur le sol quand ramassée ;*

*Grade 2.5 : Selle bien formée, avec une surface légèrement humide. Légèrement collante au toucher. Laisse une légère marque sur le sol quand ramassée ;*

*Grade 3 : Selle humide, qui commence à perdre sa forme. Laisse une marque bien définie sur le sol quand ramassée ;*

*Grade 3.5 : Selle très humide, mais qui conserve encore un semblant de forme ;*

*Grade 4 : Selle visqueuse, de consistance médiocre. La majorité, sinon toute la forme est perdue ;*

*Grade 4.5 : Selle diarrhémique avec quelques morceaux encore consistant ;*

*Grade 5 : Selle diarrhémique, complètement liquide.*

**Figure 32 : Echelle de notation fécale de Waltham**

Modifié d'après G. Moxham (Waltham) (2011)

Le choix de l'une ou l'autre des échelles n'a aucune importance et ne dépend que des préférences du manipulateur, les deux présentées ci-dessus étant de qualité et accompagnées de photographies pour aider l'utilisateur à classer les fèces. L'échelle de Waltham possède néanmoins plus de grades et permet de séparer un peu plus les selles que celle de Nestlé Purina. Cependant les différences étant parfois infimes, il n'est pas toujours aisé de classer précisément les selles.

(ii) **Nombre de selles par jour**

Chez le chien, le nombre de selles par jour est un paramètre très difficile à suivre. En effet, lors de la journée le propriétaire est généralement absent et ne peut pas contrôler les défécations de son chien. Nous sommes généralement face à deux situations: soit l'animal est incapable de se retenir, dans ce cas le propriétaire retrouve souvent plusieurs selles diarrhéiques réparties dans la maison ou à l'extérieur si le chien a accès à un jardin, soit il est capable de se retenir, dans ce cas le nombre de selles émises correspond au maximum à la fréquence de sortie de l'animal, c'est-à-dire en moyenne une à trois fois par jour.

(iii) **Lors d'échec du traitement**

En cas d'échec du traitement, il est possible de réitérer les TMF toutes les semaines jusqu'à amélioration des symptômes. Pour les mêmes raisons qu'en médecine humaine, pour certains cas réfractaires à la transplantation, il peut être intéressant de recommencer les antibiotiques peu de temps après le traitement. Cependant l'idéal reste d'éviter tout traitement antimicrobien.

(iv) **Au long terme**

Le propriétaire peut ensuite évaluer au long terme le maintien de la santé intestinale de son chien. Pour cela il doit surveiller la réapparition de symptômes digestifs, notamment la diarrhée et les vomissements. Il est également possible pour le propriétaire de continuer à noter les selles de son animal à intervalle régulier (une fois par mois par exemple) pour s'assurer que celles-ci restent dans l'optimum de l'échelle.

De façon à éviter toute récurrence, il est préférable d'éviter toutes causes qui pourraient à nouveau déséquilibrer la flore intestinale de l'animal. Il est donc conseillé que celui-ci suive de façon régulière (une fois tous les 3 mois) un programme de vermifugation efficace, et qu'il dispose également d'une alimentation de qualité adaptée à sa condition physique.

#### **IV. 1. 4. Risques**

On peut probablement considérer que tous les risques de transmission de maladies, qu'elles soient infectieuses, métaboliques ou immunitaires sont les mêmes chez le chien que chez l'homme. Cependant, le risque de propagation parasitaire est probablement plus important chez les animaux du fait de leurs comportements alimentaires, d'où l'importance que le donneur suive un programme antiparasitaire efficace.

## IV. 2. CAS CLINIQUE

---

Jayden est un chien **Rottweiler** mâle entier de **1 an et 2 mois**, né le 27/03/2014. Il souffre de **diarrhée chronique** depuis environ un an, c'est la raison qui a poussé sa propriétaire à s'intéresser à la transplantation de microbiote fécal et à essayer ce traitement.

### IV. 2. 1. Présentation du cas

#### IV. 2. 1. 1. Commémoratifs

Jayden a été adopté à l'âge de 2 mois. Il vit depuis en appartement avec accès à un jardin. Il ne vit avec aucun autre animal et ne se déplace ni en France, ni à l'étranger. Il se nourrit actuellement de croquettes Ultima achetées en grande surface. Cependant de nombreux aliments ont été essayés avant celui-ci. Il a bon appétit et boit normalement.

Il est correctement vacciné avec les valences CHPPiL<sub>3</sub>R, le dernier rappel ayant eu lieu le 30/06/2014. Il est traité contre les parasites externes et internes tous les trois mois avec respectivement du BRAVECTO<sup>NDV</sup> (*fluralaner*) et du MILBEMAX<sup>NDV</sup> (*milbémycine oxime, praziquantel*), la dernière administration des deux produits remontant à trois semaines.

Malgré des cours d'éducation canine, Jayden a toujours eu un comportement hyperactif. Il est extrêmement excité, ne se repose jamais et est parfois stressé. Il a également un caractère destructeur envers certains objets de la maison. Le 05/05/2015, son vétérinaire traitant conclut à un syndrome d'hypersensibilité-hyperactivité (HSHA).

#### IV. 2. 1. 2. Anamnèse

**Fin juin 2014**, la propriétaire de Jayden, qui est alors âgé de 3 mois, consulte son vétérinaire traitant pour sa primovaccination. A cette occasion, elle rapporte des vomissements et diarrhées survenus après l'administration de Milbémax. Les symptômes régressent seuls sans traitement.

Cependant, environ un mois plus tard, **mi juillet 2014**, Jayden présente à nouveau des troubles digestifs caractérisés par une diarrhée, avec des selles molles de couleur claire, et des vomissements une à deux fois par semaine. Il reste néanmoins en bon état général. Sa propriétaire a également observé des vers dans les selles, disparus après l'administration de vermifuge.

Les symptômes persistant tout l'été, sa propriétaire consulte à nouveau son vétérinaire traitant **mi-septembre 2014**. Un traitement antiparasitaire et antibiotique est mis en place :

- **MILBEMAX<sup>NDV</sup>** (*milbémycine oxime, praziquantel*) : un comprimé per os une fois par semaine, pendant trois semaines ;
- **FLAGYL 250<sup>NDH</sup>** (*métronidazole*) : 15 mg/kg, soit un comprimé per os, deux fois par jour, pendant trois semaines.

Le traitement n'apportant aucune amélioration, une nouvelle consultation est réalisée **début octobre 2014**. A cette occasion une biochimie sanguine est réalisée (Tableau XX). La valeur des TLI (*trypsin-like immunoreactivity*) étant dans les normes, l'hypothèse d'insuffisance pancréatique exocrine est écartée. Cependant, les valeurs des B12 et surtout des folates étant augmentées, les hypothèses de prolifération bactérienne de l'intestin grêle ou d'entéropathie chronique, notamment parasitaire ou alimentaire, sont maintenues. Un changement d'alimentation pour des croquettes Gastrointestinal Junior de Royal Canin est alors réalisé. Le traitement antibiotique avec du Flagyl est prolongé à la même dose pour trois semaines supplémentaires.

**Tableau XX : Biochimie sanguine de Jayden le 09/10/2014.**

PARAMETRES	VALEURS	VALEURS USUELLES
<b>TLI</b> ( <i>ng/mL</i> )	31,6	3 - 35
<b>B12</b> ( <i>ng/L</i> )	881	> 800
<b>Folates</b> ( <i>µg/L</i> )	> 24	4 - 13

Une semaine plus tard, la propriétaire rapporte une forte amélioration des symptômes, et notamment de la consistance des selles, concomitante avec le changement d'alimentation. Cependant, dès l'arrêt du Flagyl, les troubles digestifs de Jayden récidivent avec réapparition de diarrhée liquide et de vomissements presque quotidiens. **Mi-décembre 2014** une échographie abdominale est réalisée par son vétérinaire traitant, sous sédation du fait de l'état d'excitation de Jayden. Elle ne révèle cependant rien de significatif. Une forte suspicion d'**entérocolite chronique type MICI** est alors évoquée. Un traitement symptomatique contre les vomissements est alors instauré avec de l'EMEPRID<sup>NDV</sup> (*métoclopramide*). Le traitement classique des MICI étant la corticothérapie associée à la sulfasalazine, le traitement suivant est mis en place :

- **MEGASOLONE 20<sup>NDV</sup>** (*prednisolone*) : 1 mg/kg/jour en deux prises, soit un comprimé per os deux fois par jour, pendant cinq jours ; puis 0,5 mg/kg/jour en deux prises, soit un demi comprimé per os, deux fois par jour, pendant dix jours.
- **SALAZOPYRINE 500<sup>NDH</sup>** (*sulfasalazine*) : 50 mg/kg/jour en deux prises, soit deux comprimés per os, deux fois par jour pendant huit jours ; puis 25 mg/kg/jour en deux prises, soit un comprimé deux fois par jour pendant trois semaines.

Une composante de dysbiose intestinale étant suspectée, il est également demandé à la propriétaire de Jayden de lui administrer un demi-flacon d'actimel une fois par jour pendant un mois, pour ses effets probiotiques. Un autre complément alimentaire probiotique et prébiotique, le CANIKUR PRO<sup>NDV</sup> (*Enterococcus faecium*, Bio-Mos®-C, montmorillonite) est également essayé.

Le traitement n'occasionne aucune amélioration des symptômes, qui s'aggravent même avec apparition d'hématochézie. **Début janvier 2015**, du Flagyl est de nouveau prescrit à Jayden par son vétérinaire traitant, à la même dose que précédemment. C'est en effet le seul médicament qui a eu un effet pour le moment. **Mi-janvier 2015**, une coproscopie est réalisée et révèle une infestation à *Toxocara canis*. Le traitement antiparasitaire suivant est donc prescrit :

- **PANACUR 500<sup>NDV</sup>** (fenbendazole) : 50 mg/kg/jour, soit quatre comprimés per os une fois par jour, pendant cinq jours.

Le traitement antibiotique par du Flagyl est prolongé pour les trois mois suivants avec des essais d'arrêt de l'antibiothérapie durant cette période. Du BAYTRIL 150<sup>NDV</sup> (enrofloxacin) à la dose de 5 mg/kg/jour per os pendant dix jours est également ajouté.

Dans la situation où les symptômes réapparaîtraient à l'arrêt du traitement antibiotique, le vétérinaire traitant de Jayden évoque la possibilité de réaliser un réensemencement du tube digestif par une technique de transplantation de microbiote fécal. Quelques mois après cette proposition, la propriétaire de Jayden prend contact avec nous.

Jayden présente donc une diarrhée chronique et depuis l'âge de 4 mois, une MICI et une dysbiose intestinale sont fortement suspectées. Bien que l'étiologie de cette maladie soit mal définie, les antécédents parasitaires de Jayden pourraient être l'élément déclencheur de cette dysbiose.

Malgré divers traitements antiparasitaires, antibiotiques, corticoïdes, probiotiques essayés ainsi que de multiples changements alimentaires, aucune guérison n'a été obtenue. De plus, seul le métronidazole a permis d'obtenir une légère amélioration des symptômes. En effet, ce traitement est le seul ayant permis une disparition de la diarrhée, malgré une persistance de quelques vomissements une à deux fois par semaine. Cependant, dès son arrêt, les symptômes récidivent en quatre à cinq jours.

#### **IV. 2. 1. 3. Examen clinique de dépôt**

Après plusieurs contacts téléphoniques avec la propriétaire, le 10/06/2015 Jayden est référé au service de médecine interne d'Oniris, à Nantes, pour la réalisation d'une transplantation de microbiote fécal.

Depuis deux mois, la propriétaire de Jayden trouve que celui-ci a perdu du poids. Il est en effet passé de 55 kg à 46 kg. Celle-ci a également changé de nouveau son alimentation il y a trois semaines, optant pour des croquettes Ultima. Depuis ce changement, Jayden n'a plus



**Photographie 1 : Bécher en verre**



**Photographie 2 : Pilon en céramique**



*A : Tamis en plastique à mailles fines ;  
B : Compresse de gaze.*

**Photographie 3 : Matériel de filtration du transplant**

présenté de vomissement. Il a été demandé à la propriétaire de Jayden d'arrêter l'antibiothérapie au métronidazole environ cinq jours avant l'intervention. Ce dernier présente donc à nouveau une diarrhée liquide depuis trois jours. Il présente également de multiples vomissements depuis deux jours. De plus une hyporexie est survenue concomitamment au retour des troubles digestifs.

L'hyperactivité de Jayden a rendu l'examen clinique difficile, mais néanmoins réalisable et sans aucune agressivité de sa part. Ce dernier ne présente aucune anomalie à l'examen général, hormis une légère hyperthermie à 39,8°C et une polypnée, explicables par son état de stress.

## **IV. 2. 2. Matériel et méthode**

### **IV. 2. 2. 1. Présentation du matériel utilisé**

Pour la réalisation de la TMF nous avons besoin de matériel pour préparer le transplant, pour administrer un lavement d'eau tiède au patient et pour réaliser la transplantation.

#### **(i) Matériel pour la préparation du transplant**

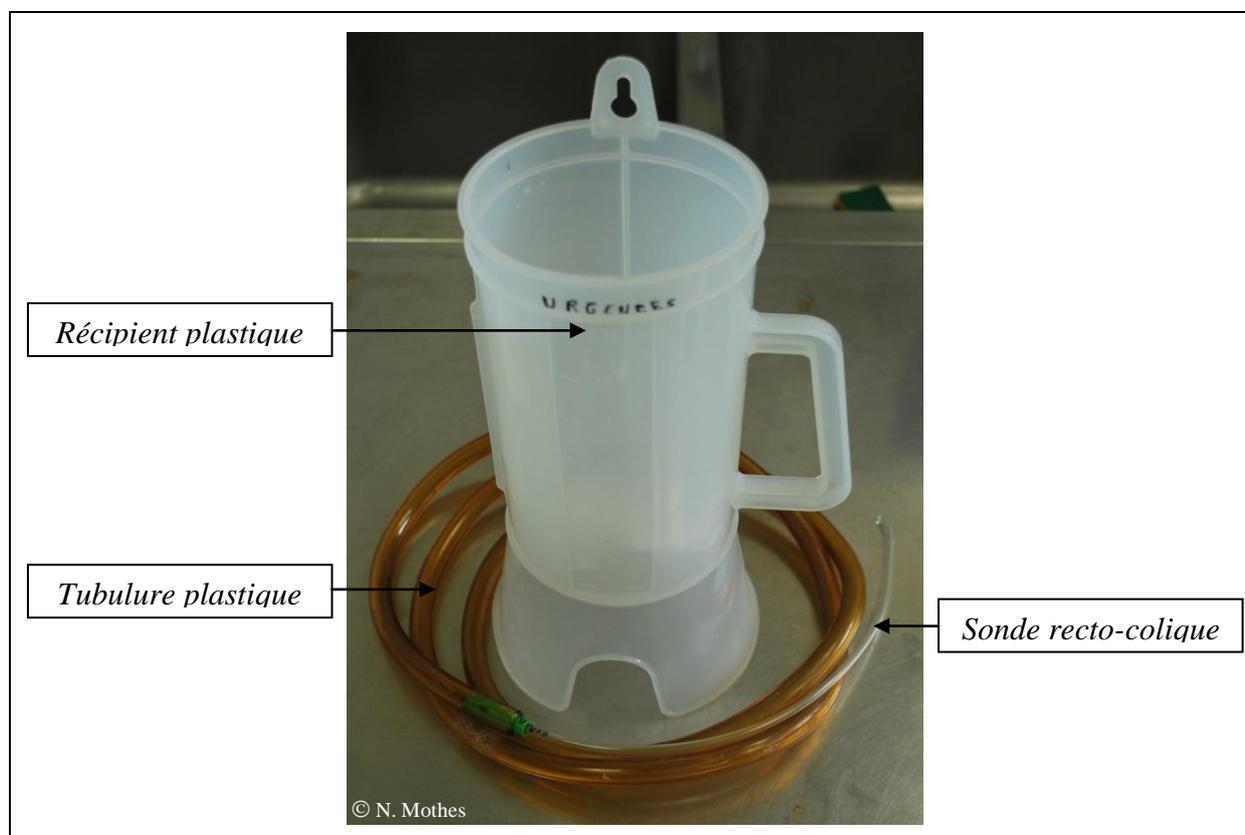
Pour préparer le transplant, il faut deux récipients propres, ici nous avons utilisé deux béchers en verre de 500 mL (Photographie 1). Il faut également un diluant isotonique pour les selles et de quoi les mélanger ; dans notre cas nous utilisons du NaCl à 0,9% et un pilon en céramique (Photographie 2). Pour filtrer, nous avons opté pour un tamis à mailles fines et une compresse de gaze (Photographie 3) utilisés ensemble de façon à augmenter la qualité de la filtration (Photographie 4).

#### **(ii) Matériel pour le lavement à l'eau tiède**

Pour effectuer le lavement, on utilise du matériel spécifique composé de trois parties. Un récipient en plastique pour accueillir la solution de lavement, ici de l'eau. Celui-ci est troué en dessous pour permettre l'écoulement de l'eau. Le trou est ensuite relié à une longue tubulure en plastique qui permet de maintenir le récipient en hauteur pendant le lavement, puisque plus le récipient est tenu haut, plus le débit d'écoulement du liquide est élevé. Enfin, cette tubulure est elle-même reliée à une sonde recto-colique, laquelle est introduite, après lubrification avec de la vaseline, dans le côlon de l'animal en passant par l'anus (Photographie 5).



**Photographie 4 : Association du tamis et de la compresse de gaze pour la filtration**



**Photographie 5 : Matériel pour réalisation de lavement**

**(iii) Matériel pour la pose du cathéter**

Pour la pose du cathéter, le matériel suivant a été utilisé (Photographie 6) : une tondeuse électrique pour réaliser la tonte du membre postérieur gauche de l'animal ; un plateau de désinfection, comportant des compresses imbibées de chlorhexidine savon à 4% et des compresses imbibées de chlorhexidine aqueuse diluée à 0,2% ; un cathéter vert de 18 gauges ; du Tensoplast® pour fixer ce dernier ; de la Softban Plus® et du Vetrap® pour la confection d'un pansement protecteur ; et une seringue de NaCl à 0,9% pour flusher le cathéter.

**(iv) Matériel pour la transplantation**

Pour réaliser la transplantation de microbiote fécal, il faut disposer de plusieurs seringues dans lesquelles est conditionné le transplant. Nous avons utilisé ici des seringues en plastique de 50 mL. Il faut également utiliser une sonde qui permettra, après lubrification, d'administrer la suspension fécale directement dans le côlon ; nous avons choisi d'utiliser une sonde urinaire de médecine humaine pour son large diamètre de 5 mm qui permet de faciliter l'administration. Cependant, n'importe qu'elle sonde flexible aurait pu faire l'affaire. La seringue ne s'abouchant pas sur la sonde urinaire, nous avons dû utiliser un adaptateur en plastique (Photographie 7). Les trois composants sont ensuite assemblés avant administration du transplant à l'animal (Photographie 8).

**(v) Nettoyage et désinfection du matériel**

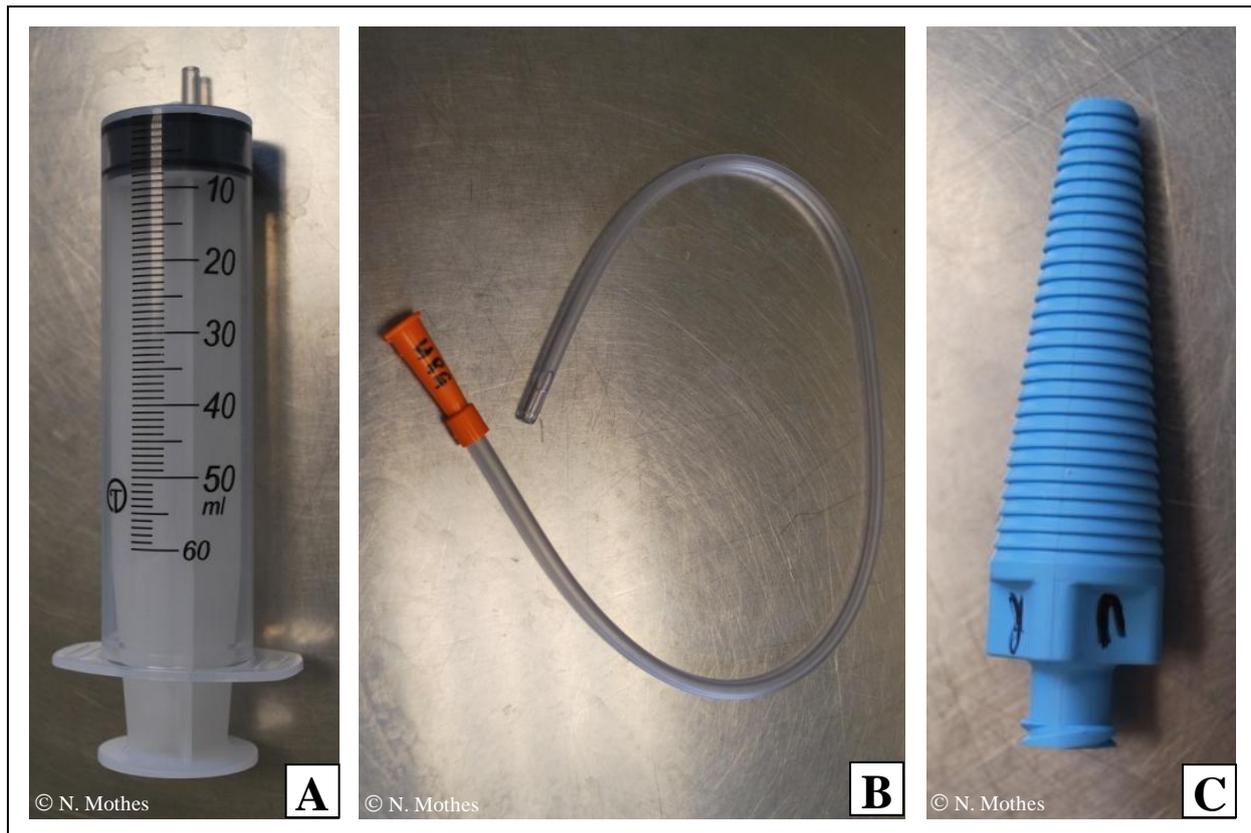
Une partie du matériel utilisé avait déjà été utilisé pour d'autres interventions. Notamment les béciers, le pilon et le tamis qui sont utilisés par le service de parasitologie pour réaliser des coproscopies. Tout le matériel a donc été nettoyé scrupuleusement à l'eau et au liquide vaisselle à l'aide d'une éponge.

Le matériel a ensuite subi une désinfection chimique (Photographie X). Cette étape a été réalisée avec du HEXANIOS G+R (chlorure de didécyldiméthylammonium, polyhexaméthylène biguanide, complexes détergents, agent séquestrant et dispersant), un détergent et désinfectant bactéricide, fongicide et également actif sur certains virus. Le matériel a donc été immergé dans le produit à la dilution de 0,5%, le temps de trempage étant de 15 minutes. Il a ensuite été rincé, puis séché. Le matériel a ensuite été placé sous emballage thermosoudé (Photographie X) en présence d'une pastille de trioxyméthylène. Cette pastille dégage du formaldéhyde, ce qui permet d'assurer l'assainissement du milieu, soit dans notre cas, l'intérieur de l'emballage et le matériel. Le matériel a été conservé dans ces conditions jusqu'à son utilisation.

Les seringues de 50 mL, à usage unique, sont quant à elles déjà conditionnées dans des emballages stériles qui n'ont été ouverts que lors de la confection du transplant.



**Photographie 6 : Matériel nécessaire à la pose de cathéter.**

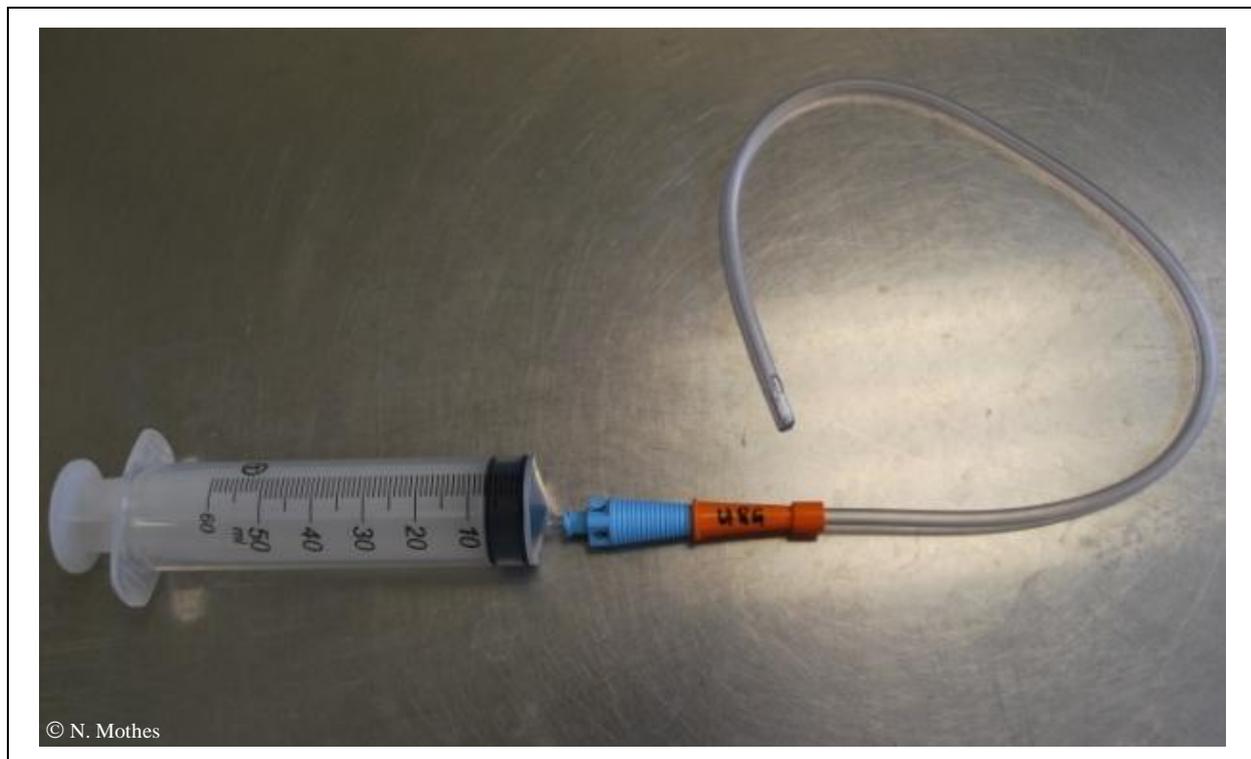


A : Seringue de 50 mL ;

B : Sonde urinaire de 5 mm de diamètre ;

C : Adaptateur plastique à positionner entre la seringue et la sonde.

**Photographie 7 : Matériel pour la réalisation de la transplantation**



**Photographie 8 : Assemblage de la seringue et de la sonde grâce à l'adaptateur**



*A : Bidon de Hexanios G+R ;  
B : Pastille de trioxyméthylène*

**Photographie 9 : Désinfectants chimiques utilisés**



**Photographie 10 : Matériel placé sous emballage thermosoudé**

#### IV. 2. 2. 2. Sélection du donneur

Pour plus de simplicité, il a été demandé à la propriétaire de Jayden si elle connaissait un donneur potentiel répondant aux critères évoqués précédemment (cf. **IV.1.3.1. (i)**), ce qui était le cas.

Nous avons donc été mis en contact avec le propriétaire de Tyson, un chien **Rottweiler** mâle entier de **2 ans**, en bonne santé. Tyson vit actuellement dans une maison avec accès à l'extérieur, et en présence d'un chat et de deux autres chiens, un Pékinois et un Rottweiler de 4 ans et demi. Il est nourri avec des croquettes Proplan achetées en animalerie.

Il est correctement vacciné avec les valences CHPPiL<sub>3</sub>R, le dernier rappel ayant eu lieu le 04/06/2015. Il est traité contre les parasites externes tous les trois mois avec du BRAVECTO<sup>NDV</sup> (*fluralaner*). Il suit également un **programme antiparasitaire interne efficace** puisqu'il reçoit tous les trois mois trois comprimés de MILBEMAX<sup>NDV</sup> (*milbémycine oxime, praziquantel*), la dernière administration remontant à un mois.

**Tyson n'a jamais présenté aucun trouble digestif durant son existence.** Il n'a, par ailleurs aucun antécédent médical ou chirurgical. Une légère otite externe bilatérale a cependant été diagnostiquée le 04/06/2015. Son vétérinaire traitant lui a donc prescrit un **traitement local antibiotique**, antifongique et corticoïde sous forme de pommade auriculaire : AURIZON<sup>NDV</sup> (marbofloxacin, clotrimazole, acétate de dexaméthasone), au rythme d'une application journalière dans chaque oreille pendant trois semaines. Le jour de la transplantation, et donc du recueil du don, Tyson suivait ce traitement depuis déjà une semaine. Il aurait été préférable qu'aucun traitement, surtout antibiotique, ne soit ou n'ait été administré durant les mois précédant le don. Cependant, le traitement étant local, il a été choisi de continuer le protocole.

Pour des raisons financières, aucun examen de dépistage des agents infectieux cités précédemment (cf. **IV.1.3.1. (i)**), ni aucune coproscopie parasitaire n'ont été effectués. Etant donné le bon état de santé de Tyson et l'absence d'antécédents médicaux et chirurgicaux, ce point n'a pas ici été jugé nécessaire au bon déroulement du protocole. Pour minimiser les risques de transmission d'agents parasites, il a cependant été demandé au propriétaire d'administrer une dose supplémentaire de vermifuge (Milbemax<sup>NDV</sup>) environ une semaine avant la transplantation, soit le 01/06/2015.

#### IV. 2. 2. 3. Don de selles

Le jour du don, le 10/06/2015, nous avons effectué un examen général complet sur Tyson. Celui-ci était en parfaite santé, malgré un léger stress. Il a cependant été noté un léger surpoids, la note d'état corporel de Tyson étant de 7/9 pour un poids de 56 kg.

Le don a été effectué le matin à 11h. Pour se faire, Tyson a été promené à l'extérieur. Ne voulant pas déféquer, il a alors été stimulé par un massage rectal réalisé avec un doigt

ganté préalablement lubrifié avec de la vaseline. Lorsqu'il s'est mis en position, nous avons placé un bécher de 500 mL sous lui et avons récupéré **environ 130 mL de selles** sans contamination avec le sol (Photographie 11). Les fèces étaient de bonne qualité, obtenant le score idéal de 2/5 sur l'échelle de Waltham (cf. **IV.1.3.4. (i)**). Tyson a ensuite été rendu à son propriétaire.



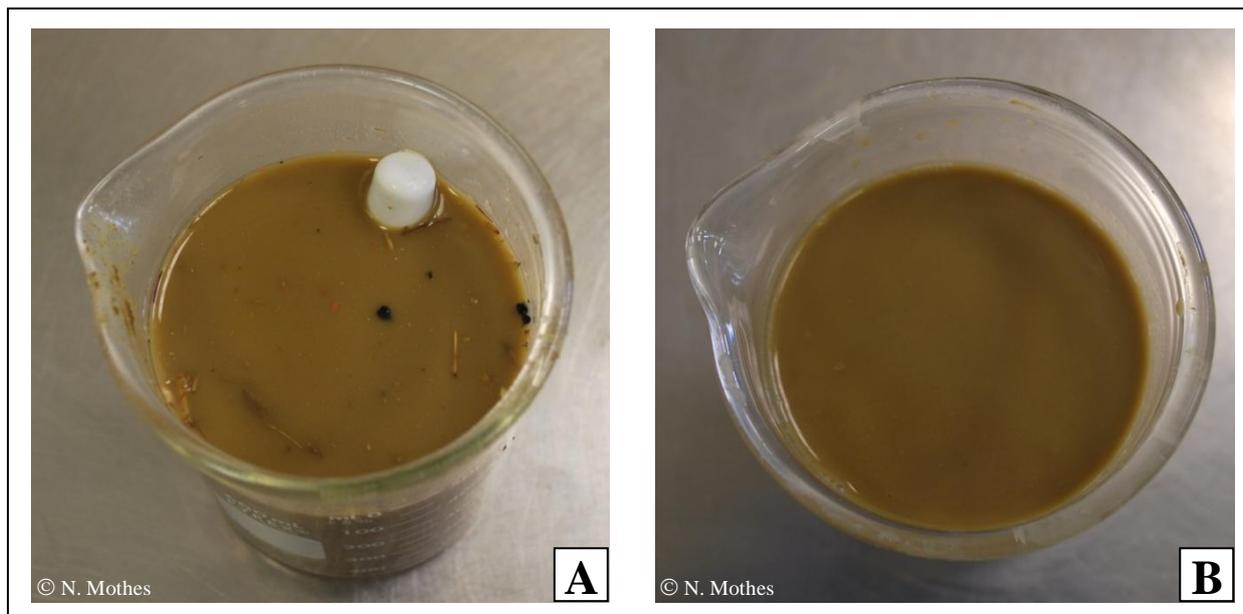
**Photographie 11 : Don d'environ 130 mL de selles recueillies dans un bécher de 500 mL**

#### **IV. 2. 2. 4. Préparation du transplant**

Les selles récupérées ont ensuite été mélangées avec du sérum physiologique aux proportions d'environ 1/5<sup>e</sup> de selles pour 4/5<sup>e</sup> de diluant. Une poche de 500 mL de NaCl à 0,9% a donc été ajoutée. Le mélange a ensuite été homogénéisé à l'aide du pilon (Photographie 12-A). Un volume d'environ **630 mL de suspension non filtrée** a donc été obtenu.

Le mélange a ensuite été filtré à travers la compresse de gaze associée au tamis, et récupéré dans le deuxième bécher. De grosses particules occluant le filtre, le pilon a été utilisé pour aider à le dégager et ainsi continuer la filtration (Photographie 13). Une suspension fécale homogène et dépourvue d'éléments grossiers a donc été obtenue. (Photographie 12-B). Une partie du volume avant filtration étant constitué de particules, nous n'avons récupéré qu'environ **500 mL de transplant filtré**.

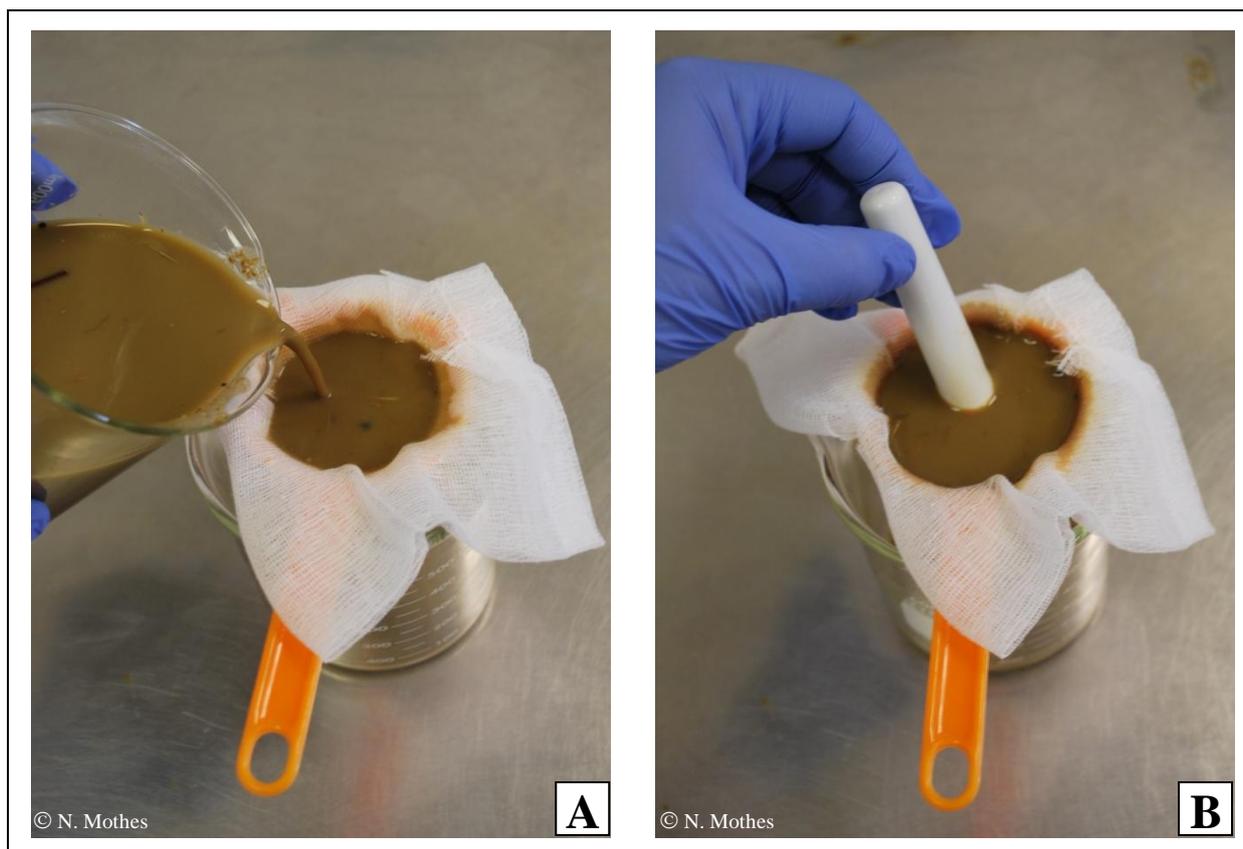
Le transplant a ensuite été conditionné dans différentes seringues de 50 mL (Photographie 14), lesquelles ont été mises de côté le temps de préparer Jayden pour la transplantation.



*A : Suspension fécale non filtrée, avec de nombreuses particules ;*

*B : Suspension fécale filtrée, débarrassée des particules.*

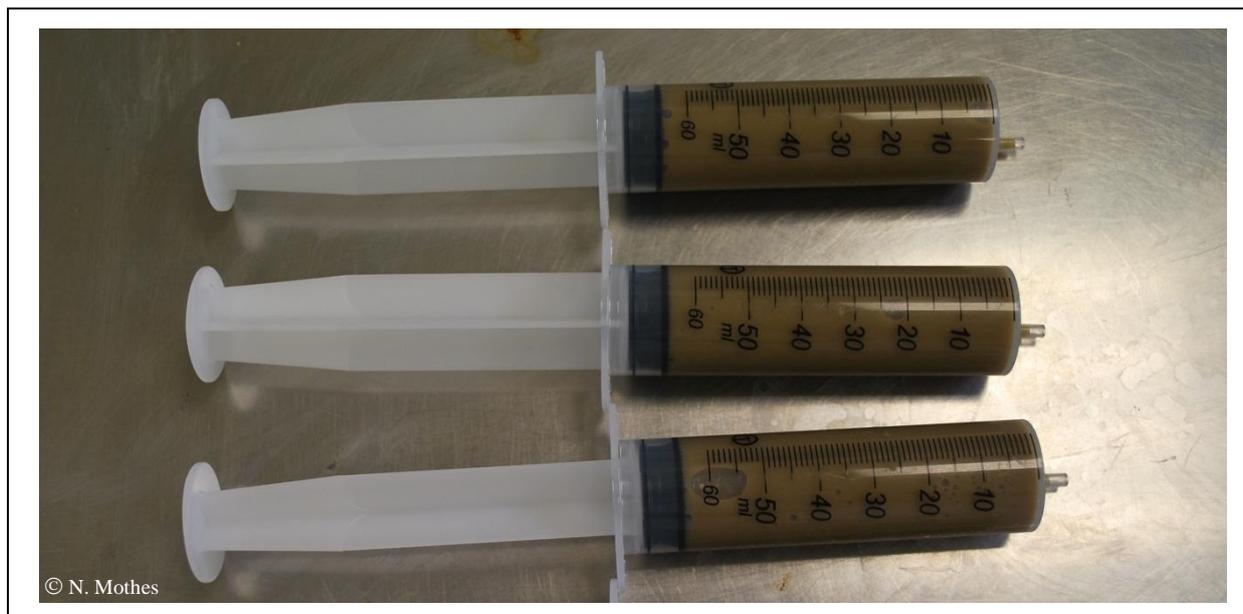
**Photographie 12 : Transplant fécal avant et après filtration**



*A : Passage de la suspension fécale initiale à travers le filtre ;*

*B : Utilisation du pilon pour désencombrer le filtre et accélérer la filtration.*

**Photographie 13 : Filtration du transplant fécal à travers la compresse de gaze et le tamis, aidée du pilon**



**Photographie 14 : Conditionnement du transplant dans des seringues de 50 mL**

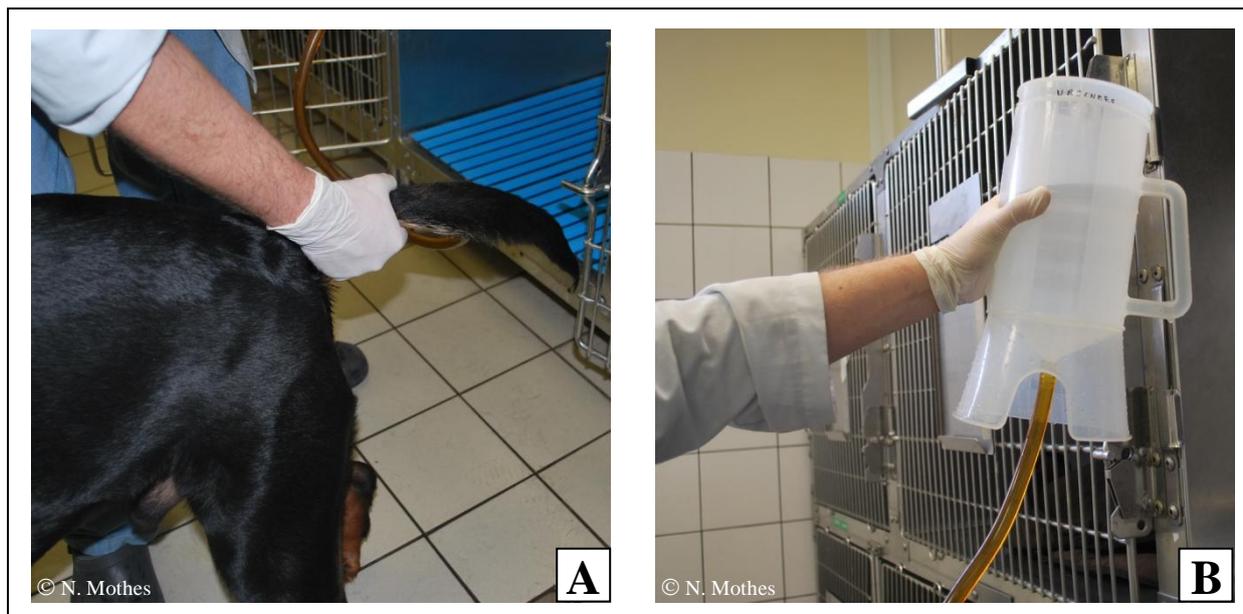
#### **IV. 2. 2. 5. Préparation de Jayden**

##### **(i) Lavement à l'eau tiède**

Bien que cette étape ne soit, selon certains vétérinaires, pas nécessaire, nous avons décidé de réaliser un lavement intestinal à l'eau tiède (cf. **IV.1.3.3. (i.iii)**). Comme évoqué précédemment, si celui-ci est réalisé sous sédation, il est plus difficile d'éliminer tout le liquide injecté, ce qui pourrait ensuite diluer le transplant. C'est pourquoi nous avons décidé de réaliser le lavement avant la sédation.

Le lavement à l'eau tiède a été réalisé à 13h30. Après lubrification à la vaseline, la partie sonde recto-colique du matériel à lavement a été introduite dans le côlon de Jayden. Un volume d'environ 30 à 50 mL devant être administré, et Jayden pesant 46 kg, **2 litres d'eau tiède** ont été placés dans le réservoir plastique. La température de l'eau est vérifiée à la main, pour ne pas brûler l'animal. Pendant qu'une personne réalisait la contention du chien, une autre maintenait d'une main la sonde en place dans le rectum de Jayden tout en maintenant le réservoir en hauteur de l'autre main. Les 2 litres de liquide de lavement ont donc été entièrement administrés (Photographie 15).

Etant vigile, à l'arrêt du lavement Jayden a rapidement éliminé les 2 litres d'eau tiède mêlées à des selles liquides par contractions abdominales et activation du péristaltisme colique. Il a ensuite été laissé au calme 20 minutes le temps de terminer d'éliminer le liquide contenu dans son côlon.



A : Sonde maintenue en place dans le rectum ;

B : Réservoir d'eau maintenu en hauteur pour permettre l'écoulement.

**Photographie 15 : Réalisation du lavement intestinal à l'eau tiède**

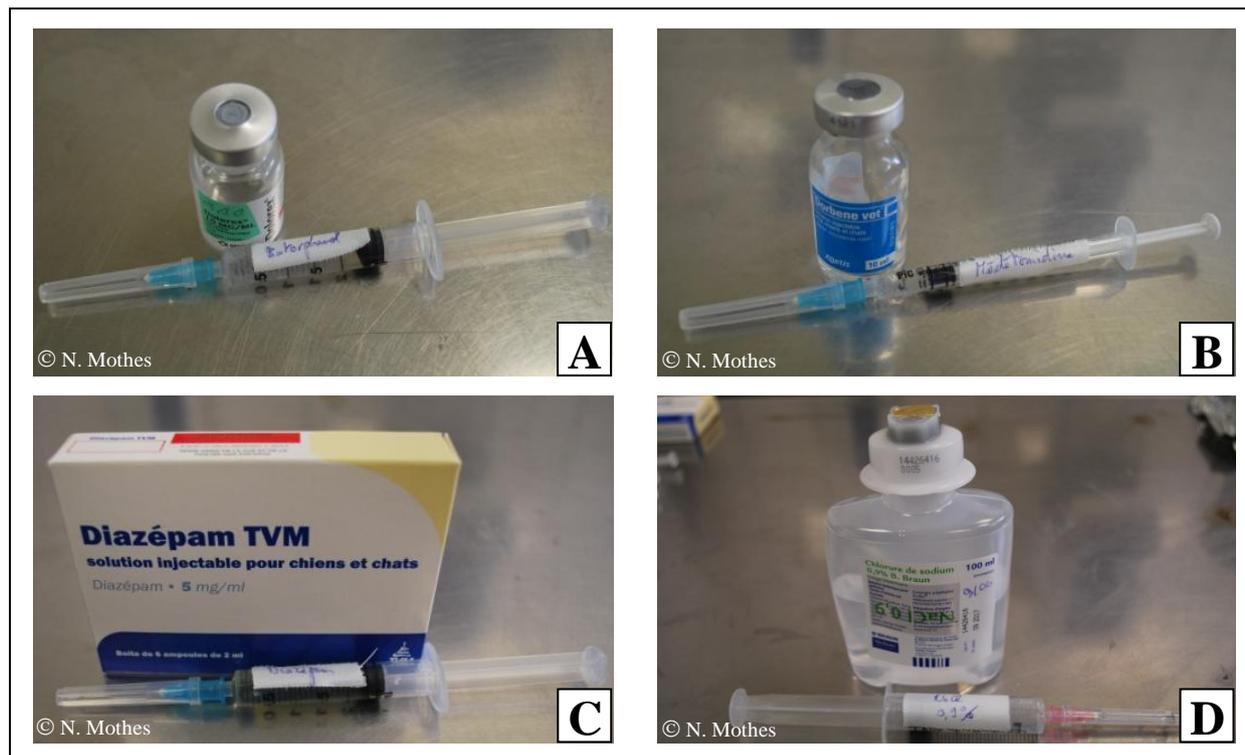
**(ii) Sédation – Anesthésie**

Jayden a ensuite été sédaté à 14h, ce dernier étant arrivé à jeun le matin. Un cathéter a donc été posé à la veine céphalique gauche, après pose et désinfection du membre postérieur gauche par trois passages de chlorhexidine solution alternés avec trois passages de chlorhexidine aqueuse.

Jayden étant très excité, il a été décidé d'utiliser une sédation un peu plus puissante qu'initialement prévue en utilisant de la médétomidine. Le protocole utilisé pour la sédation est le suivant (pour un poids de 46 kg) (Photographie 16) :

- DOLOREX<sup>NDV</sup> (butorphanol), à la dose de 0,3 mg/kg IV, soit 1,4 mL ;
- DORBENE<sup>NDV</sup> (médétomidine), à la dose de 5 µg/kg, soit 0,23 mL ;
- DIAZEPAM TVM<sup>NDH</sup> (diazépam), à la dose de 0,25 mg/kg, soit 2,3 mL.

Une solution de NaCl à 0,9% a été injectée dans le cathéter avant et après chaque produit.



- A : DOLOREX<sup>NDV</sup> (butorphanol), 1,4 mL dans une seringue de 2,5 mL ;  
 B : DORBENE<sup>NDV</sup> (médétomidine), 0,23 mL dans une seringue de 1 mL ;  
 C : DIAZEPAM TVM<sup>NDH</sup> (diazépam), 2,3 mL dans une seringue de 2,5 mL ;  
 D : Solution de NaCl à 0,9% dans une seringue de 5 mL.

**Photographie 16 : Anesthésiques et sérum physiologique utilisés pour la sédation**

**IV. 2. 2. 6. Transplantation**

Jayden pesant ce jour **46 kg**, et un volume de 10 mL/kg environ de transplant devant lui être administré, il a été décidé de transplanter la totalité de la préparation, soit **500 mL** (au lieu de 460 mL). En effet, les quantités sont empiriques et le volume à administrer n'a pas besoin d'être extrêmement précis. Un surplus d'uniquement 40 mL est donc tout à fait acceptable.

Une fois la sédation effectuée, la sonde urinaire lubrifiée avec de la vaseline a été introduite dans le côlon de Jayden. Les 10 seringues de transplant de 50 mL ont alors été injectées lentement les unes après les autres dans la sonde via l'adaptateur plastique, sur un temps de 20 minutes (Photographie 17). La transplantation de microbiote fécal a été effectuée de 14h10 à 14h 30.

Pour la transplantation, le postérieur de Jayden a été légèrement surélevé pour éviter les écoulements de liquide autour de la sonde. Au cours de l'injection des 500 mL de transplant, Jayden a parfois montré des signes d'inconfort comme des redressements de la queue et des contractions de l'anus, aboutissant parfois à une expulsion d'un peu de liquide. Lors de l'apparition de ces signes, l'injection était arrêtée, puis redémarrée dès la disparition de ceux-ci. Le volume des pertes de transplant par expulsion spontanée est évalué à environ 50 mL. Une fois la transplantation terminée, la sonde a été retirée doucement du rectum de Jayden et sa queue a été rabaissée pour limiter les fuites.



**Photographie 17 : Injection lente du transplant via la sonde urinaire insérée dans le rectum de Jayden**

Jayden a ensuite été laissé au calme dans une cage pour la rétention du transplant (Photographie 18). Il a été surveillé jusqu'à son réveil à 15h40. Pendant ce temps, il a été changé de position plusieurs fois pour permettre une meilleure diffusion du transplant dans les anses coliques (Photographie 19). Une fois éveillé, il a été sorti se promener et a expulsé une partie du transplant, mais pas la totalité, à 15h45. Le temps de rétention étant donc d'un minimum de 1h15, ce qui est amplement suffisant (cf. **IV.1.3.3. (ii.i)**).



**Photographie 18 : Jayden installé au calme dans une cage**



**Photographie 19 : Changement de position de Jayden**

#### IV. 2. 2. 7. Suivi

Pour suivre l'évolution de Jayden après son traitement, la traduction française de l'échelle de notation fécale de Waltham, ainsi qu'une fiche de suivi pour noter les scores ont été distribués à la propriétaire (Annexe 3). Lors de la présentation de ces documents, il a également été demandé au propriétaire du donneur de noter la moyenne des selles de son animal, et à la propriétaire du receveur de noter la moyenne des selles du malade pendant le traitement antibiotique et sans ce traitement.

Il avait également été demandé à la propriétaire de Jayden de photographier quotidiennement les selles de son animal dès l'arrêt du traitement antibiotique, à savoir le 05/06/2015, soit cinq jours avant la transplantation. Après la TMF, la propriétaire a continué à prendre des photographies pour permettre d'objectiver la progression de leur consistance visuellement.

Ces mesures ne sont pas nécessaires dans la pratique courante, l'involution des symptômes étant l'élément le plus important à surveiller. Cependant, elles nous permettent ici de recueillir de précieuses données sur le délai de disparition de la diarrhée et sur la qualité des selles après transplantation.

### IV. 2. 3. Résultats

#### IV. 2. 3. 1. Résultats à court terme

D'après l'échelle fécale de Waltham (cf. **IV.1.3.4. (i)**), le propriétaire de Tyson, le donneur, a évalué que la qualité des selles de son animal est généralement de 2/5, un score idéal. L'objectif est donc, par la TMF, que les selles de Jayden s'approchent le plus possible de ce niveau de qualité.

En effet, actuellement la propriétaire rapporte que, sans traitement antibiotique, les fèces de Jayden sont de grade 4,5/5 à 5/5, soit la pire qualité possible. Le traitement antibiotique permet de stabiliser un peu le problème, puisque lorsqu'il suit un traitement de FLAGYL<sup>NDH</sup> (métronidazole), ses selles s'améliorent à un grade de 3,5/5 environ, ce qui est mieux mais loin d'être parfait.

La diarrhée liquide permanente de Jayden était difficilement gérable par la propriétaire, c'est pourquoi celle-ci maintenait un traitement antibiotique constant. Lors des essais de l'arrêt de cette antibiothérapie, les symptômes mettaient environ quatre à cinq jours pour réapparaître. C'est pourquoi nous avons décidé d'arrêter ce traitement cinq jours avant la transplantation pour que l'amélioration des selles puisse être imputée uniquement à la TMF et non à l'antibiothérapie.



*J-5 : Selle le jour de l'arrêt du traitement antibiotique, cinq jours avant la transplantation.  
Grade 3,5 ;  
J0 : Selle le jour de la TMF, avant transplantation. Grade 4,5.*

**Photographie 20 : Dégradation de la qualité des selles entre l'arrêt du traitement antibiotique et le jour de la transplantation de microbiote fécal**



*J1 : Selle un jour après la transplantation. Grade 4,5 ;  
J3 : Selle trois jours après la transplantation. Grade 4 ;  
J4 : Selle quatre jours après la transplantation. Grade 3,5 ;  
J6 : Selle six jours après la transplantation. Grade 3 ;  
J8 : Selle huit jours après la transplantation. Grade 2,5 ;  
J10 : Selle dix jours après la transplantation. Grade 2,5.*

**Photographie 21 : Amélioration de la qualité des selles après la transplantation de microbiote fécal**

Ainsi, les selles de Jayden se sont progressivement dégradées, d'une qualité de 3,5/5, le jour de l'arrêt de l'antibiothérapie (05/06/2015), à une qualité de 4,5/5, le jour de la transplantation (10/06/2015) (Photographie 20). Les selles sont restées de mauvaise qualité (grade 4) les trois jours suivant la TMF. Le quatrième jour, une amélioration a été notée, les selles ayant le même aspect que lors du traitement antibiotique avec un grade de 3,5. Puis l'amélioration a continué, les selles obtenant des scores de 3/5 le sixième jour et de 2,5/5 le septième jour.

La qualité des fèces est ensuite restée stable durant tout le premier mois à un grade de 2,5 soit une qualité idéale (Photographie 21, Figure 33-A).

Au cours de ce premier mois d'observation, un seul épisode de selles diarrhéiques a été rapporté, le treizième jour après la transplantation, avec un score de 4/5 sur l'échelle fécale de Waltham. De plus, aucun vomissement n'a été observé durant cette période.

Dans le cas de Jayden, il n'aura fallu que **quatre jours pour noter une amélioration**, et **sept jours pour obtenir une rémission** des symptômes après la transplantation de microbiote fécal. Cette technique a donc eu de très bons résultats, et ce dans un délai court.

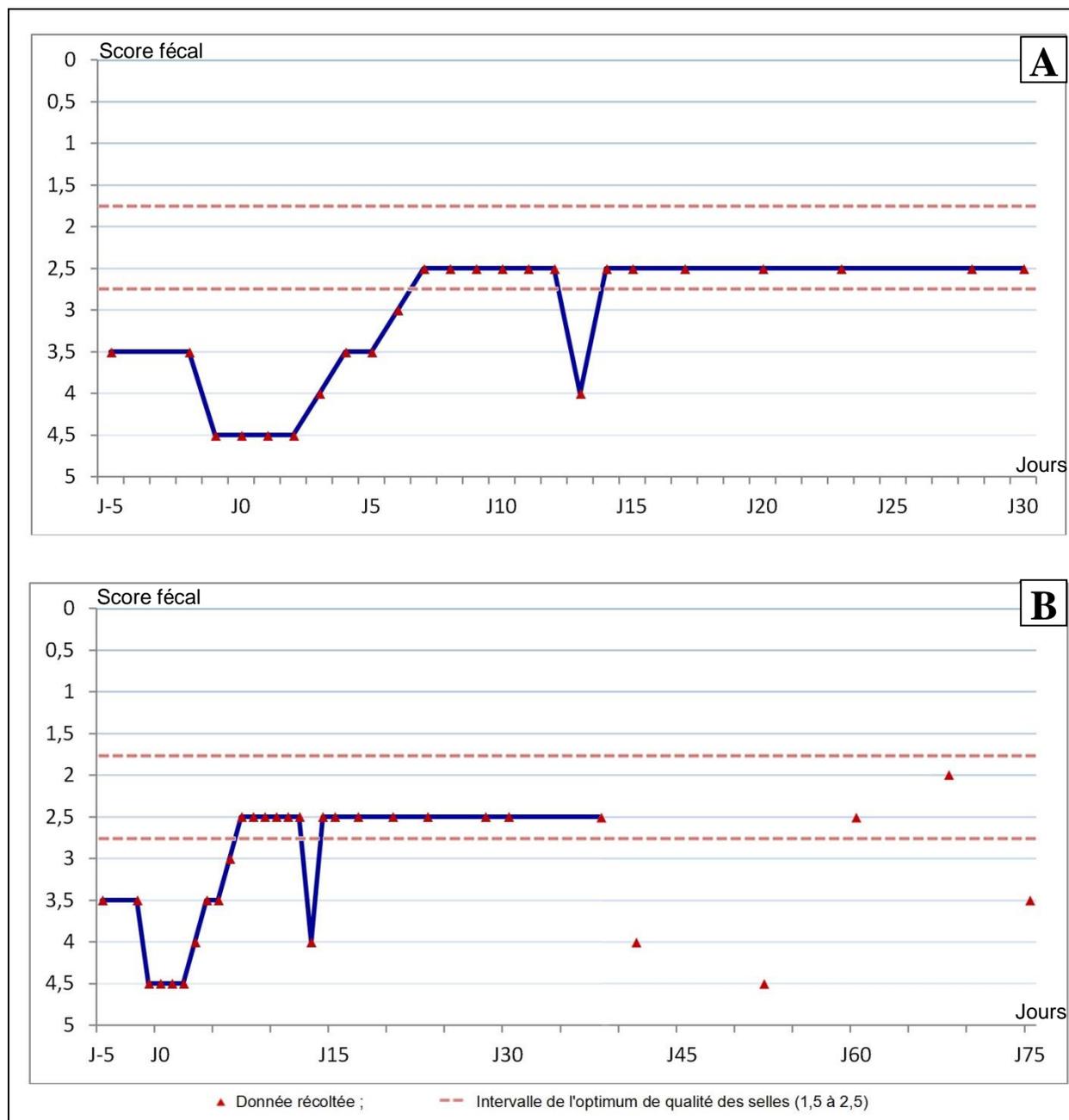
#### **IV. 2. 3. 2. Résultats à moyen terme**

Un mois après la transplantation de microbiote fécal (10/07/2015), la qualité des selles est toujours optimale. Elle reste stable autour du score de 2,5/5 avec parfois des selles un peu plus molles, de moins bonne qualité.

Cependant, à partir de mi-juillet 2015, c'est à dire environ un mois et demi après la transplantation, Jayden commence à présenter occasionnellement des selles molles, voire diarrhéiques. Celles-ci ont des scores compris entre 3,5 et 4,5/5.

Bien que la fréquence de ces selles de mauvaise qualité semble augmenter lentement au cours du mois suivant, Jayden conserve, la plupart du temps, une défécation normale. De plus, la qualité des selles observées à deux mois (10/08/2015) est toujours optimale, avec un score de 2,5/5.

Le dernier jour de notre suivi, à deux mois et demi, la qualité des selles est de 3,5/5 (Photographie 22). Cependant, la propriétaire rapporte toujours l'émission régulière de selles de bonne qualité.



A : Evolution de la qualité des selles au court du premier mois de suivi ;

B : Evolution de la qualité des selles au court des trois mois de suivi.

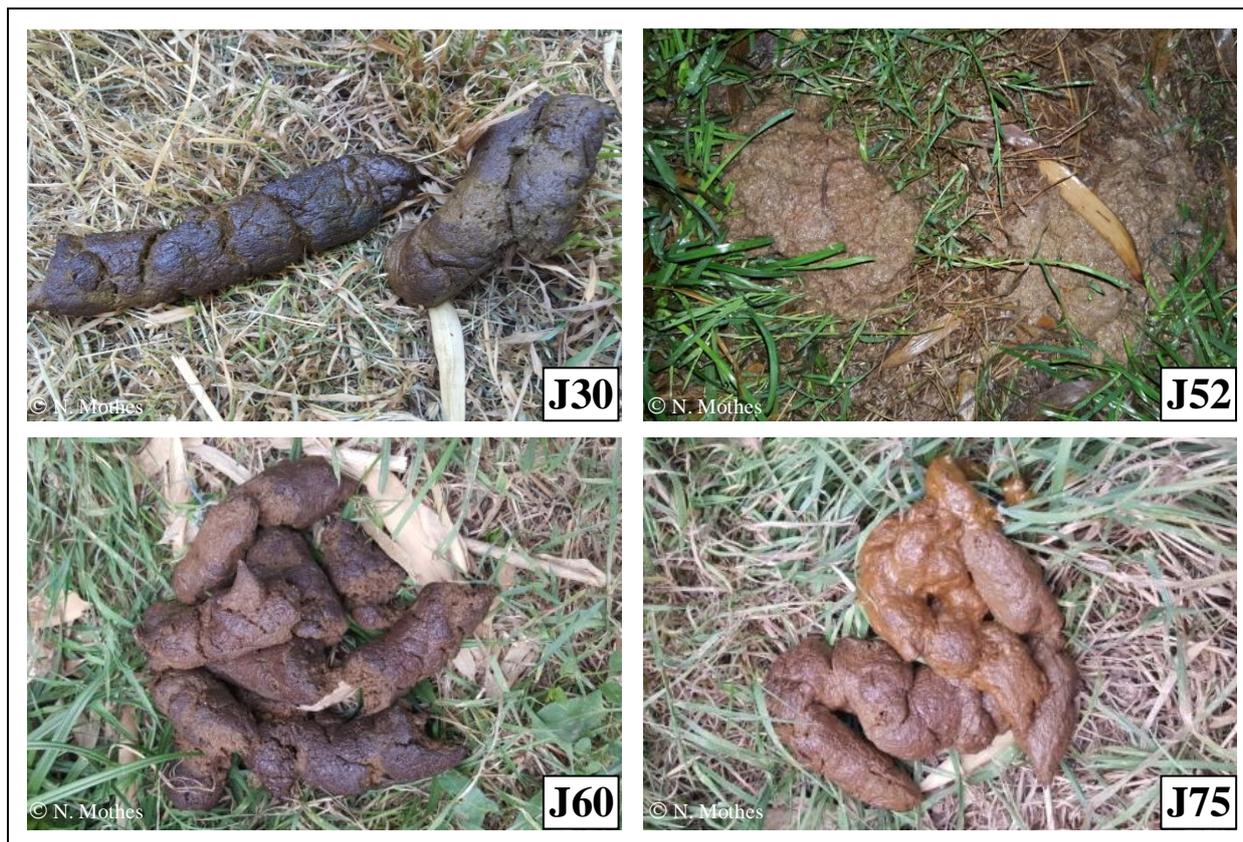
J-5 : Jour de l'arrêt du traitement antibiotique ;

J0 : Jour de la transplantation de microbiote fécal ;

J30:Un mois après la transplantation ;

J60:Deux mois après la transplantation.

**Figure 33 : Evolution du score de la qualité des selles en fonction du temps, suite à la transplantation de microbiote fécal**



*J30 : Selle un mois (30 jours) après la transplantation. Grade 2,5 ;*

*J52 : Selle un mois et demi (52 jours) après la transplantation. Grade 4,5 ;*

*J60 : Selle deux mois (60 jours) après la transplantation. Grade 2,5 ;*

*J75 : Selle deux mois et demi (75 jours) après la transplantation. Grade 3,5.*

---

**Photographie 22 : Maintien de la qualité des selles au long terme  
après la transplantation de microbiote fécal**

L'évolution de la qualité des selles, au cours des deux mois et demi de suivi, est détaillée par la figure 33-B. Sur ce graphique, chaque triangle rouge correspond au score des selles de la journée, effectué par la propriétaire. On peut observer qu'au cours des deux derniers mois de suivi, les scores s'espacent de plus en plus. On a donc une perte d'information conséquente sur le suivi de la qualité des selles.

En effet, à partir du mois de juillet, pour des raisons personnelles, la propriétaire de Jayden n'a pas pu maintenir la communication. Aucune information n'a été transmise entre mi-juillet et fin août, cependant le contact ayant été renoué fin août, des photos et quelques scores de selles ont pu être transmis.

De J30 à J75 nous n'avons obtenu que sept scores ce qui ne nous permet pas d'analyser finement cette période. La fin du graphique n'est pas complètement exploitable, puisque l'absence de mesures régulières ne nous permet pas de visualiser les variations d'un jour à l'autre. En effet, la propriétaire rapporte, durant cette période, une relativement bonne qualité des selles, avec néanmoins, certains jours, une dégradation de leur qualité en fin de journée.

Après la transplantation de microbiote fécal, une résolution rapide des symptômes a pu être observée. Au cours des deux mois et demi de suivi, la qualité des selles est restée tout à fait satisfaisante. Cependant, une légère diminution de leur consistance a été occasionnellement rapportée. Sur les dernières semaines de suivi, la fréquence de telles selles a progressivement augmentée. Malgré tout, l'état de Jayden s'est considérablement amélioré quand on compare sa situation avant le traitement par transplantation de microbiote fécal. Par ailleurs Jayden est à nouveau propre, ne défèque plus dans la maison et n'a plus de vomissement.

Les conditions de vie de Jayden se sont donc significativement améliorées, et cela en l'absence de tout traitement (antibiotiques ou corticoïdes) depuis quasiment trois mois. Les quelques épisodes de diarrhée sont gérés facilement par la propriétaire et sa propre qualité de vie s'est, elle aussi, améliorée.

#### **IV. 2. 4. Discussion**

##### **(i) Difficulté à convaincre les propriétaires**

Le cas décrit ci-dessus nous montre un bon résultat de la transplantation fécale. Cette étude aurait cependant été plus intéressante si plusieurs chiens en diarrhée chronique avaient pu participer au protocole, ce qui était initialement prévu. Cependant, il a été difficile de trouver des propriétaires motivés pour réaliser un tel traitement.

L'absence complète d'étude, et donc de données chiffrées sur l'efficacité du traitement dans le domaine vétérinaire, ainsi que le caractère peu commun de ce traitement ont semblé dissuader les participants potentiels. Cependant, la majorité des propriétaires ayant été contactés directement pour la proposition de cette technique a semblé intéressée par celle-ci et les résultats obtenus en médecine humaine. Mais du fait du caractère expérimental, les propriétaires préféraient effectuer de plus amples investigations sur la maladie de leur animal et essayer tous les traitements « classiques » (antibiotiques, corticoïdes, alimentation et probiotiques notamment) sur le long terme avant d'essayer ce nouveau traitement. Tous acceptaient toutefois d'envisager la TMF en cas d'échec des autres traitements, mais les délais de notre étude étant courts, il nous a été impossible d'attendre la fin de ceux-ci pour inclure ou non les animaux dans notre protocole. Aucun sondage n'a cependant été mené sur ces refus, c'est pourquoi ces commentaires ne restent que des suppositions.

Il est intéressant de remarquer que la seule personne ayant participé à ce protocole est également la seule à avoir reçu la proposition de traitement via son vétérinaire traitant. Il a été montré en médecine humaine que le taux de personnes prêtes à envisager la TMF était plus élevé lorsque le traitement était proposé par le médecin traitant du malade (cf. **III.7.1.2.**). La relation de confiance établie entre le vétérinaire traitant et le client pourrait donc être un élément favorisant l'acceptation d'un tel traitement.

(ii) **Interprétation des résultats**

Les bons résultats obtenus lors du cas de Jayden sont en accord avec les expériences similaires réalisées par d'autres vétérinaires, ainsi qu'avec les études menées en médecine humaine. Cependant, un cas isolé ne peut pas permettre de conclure sur la réelle efficacité de la transplantation de microbiote fécal dans le cadre des diarrhées chroniques du chien. De plus amples études sont donc nécessaires pour établir des données chiffrées et permettre le développement de cette technique. Les premiers résultats obtenus ici sont malgré tout prometteurs.

Suite à la légère dégradation des selles observée en fin de suivi, l'intérêt d'effectuer ou non une deuxième transplantation de microbiote fécal doit être envisagé. Cette éventualité a d'ailleurs été suggérée à la propriétaire de Jayden et à son vétérinaire traitant. Ces derniers étudieront cette possibilité par la suite, en fonction de l'évolution des symptômes.

(iii) **Analyse du microbiote avant et après transplantation**

Il aurait été extrêmement intéressant dans notre cas de pouvoir analyser la composition et/ou la diversité du microbiote fécal du donneur à partir d'un échantillon du don ; puis de faire la même chose avec un échantillon de selles du receveur avant le don, et plusieurs échantillons à des dates différentes après le don (par exemple une fois par semaine pendant un mois après le don).

On se serait alors attendu à obtenir une composition classique du microbiote chez le donneur, avec une forte diversité bactérienne, tandis que le receveur aurait probablement eu une composition différente et une flore intestinale moins riche avant le don. Ces analyses auraient également permis de montrer la modification du microbiote intestinal du receveur après le don, ainsi que le temps que mettait celui-ci à se stabiliser. Le microbiote du receveur aurait probablement augmenté en diversité, au fur et à mesure, pour atteindre une composition proche de celle du donneur. Ces hypothèses sont probables et similaires à ce qui a été observé chez l'être humain (cf. **III.5.3.**).

Cependant, de telles analyses étant relativement coûteuses, elles n'ont pas pu être réalisées ici pour des raisons financières. Une telle étude sur une population plus importante de chiens en diarrhée chronique serait cependant très intéressante à réaliser.

(iv) **Limites de l'étude**

(iv.i) ***Liées au donneur***

Lors de cette étude, les critères de sélection du donneur de selles n'ont pas été respectés. En effet, comme nous l'avons vu, la sélection du donneur devrait se faire selon un protocole d'inclusion et d'exclusion minutieuse. Il faut tenir compte de l'état de santé du potentiel donneur, ainsi que du respect de certaines conditions de vie. Puis différentes analyses doivent être menées pour éliminer tous les donneurs porteurs de maladies sous-jacentes.

Dans notre étude, le donneur est en bonne santé et reçoit un traitement antiparasitaire régulier. L'administration supplémentaire du traitement antiparasitaire a probablement permis l'élimination des éventuels parasites digestifs avant le don. Cependant, aucune coproscopie n'a été réalisée, il est donc impossible de vérifier cette hypothèse.

De plus, il est important de noter que le donneur présente un léger surpoids. Hors, il a été envisagé en médecine humaine que les problèmes pondéraux puissent être transmissibles par la TMF. Si plusieurs donneurs potentiels avaient été disponibles, ce critère aurait probablement provoqué l'exclusion de celui-ci au profit d'un autre.

Par ailleurs, le donneur suivait, lors du don, un traitement antibiotique local auriculaire. Bien que ce traitement ne soit pas effectué par voie générale, le passage systémique des molécules utilisées n'est actuellement pas évalué. Si plusieurs donneurs potentiels avaient été sélectionnés, ce critère aurait également probablement conduit à son exclusion.

Enfin, aucune autre analyse n'a été réalisée. Il est donc impossible, malgré le bon état général du donneur, d'affirmer l'absence de maladies métaboliques, organiques ou infectieuses non diagnostiquées à ce jour.

Le donneur sélectionné lors de cette étude présentait donc deux critères d'exclusion relative. De plus, les analyses normalement nécessaires à son inclusion dans le protocole n'ont pas été effectuées. Cependant, au vu du manque de moyens et de l'absence d'autres donneurs potentiels, ces problèmes ont été jugés mineurs et Tyson a été sélectionné.

#### *(iv.ii) Liées au receveur*

Lors de cette étude, aucun diagnostic de certitude de la maladie du patient n'a été établi. Diverses analyses et examens complémentaires ont permis l'exclusion d'une grande partie des hypothèses de diarrhée chronique. Tout ceci a conduit à l'évocation d'une hypothèse, probable, de MICI. Cependant, il aurait été préférable de réaliser une analyse histologique de biopsies de la muqueuse intestinale pour confirmer cette maladie avant la transplantation de microbiote fécal. Celle-ci n'a pas été réalisée par manque de moyens.

Par ailleurs, le patient présentant des troubles comportementaux, il est important d'envisager également l'hypothèse du syndrome de l'intestin irritable. En effet, le diagnostic de cette maladie se fait également par exclusion, et l'absence de résultats aux examens effectués associés au syndrome d'hypersensibilité-hyperactivité du patient peut conforter cette hypothèse. C'est pourquoi il a été conseillé à la propriétaire de consulter un vétérinaire comportementaliste pour gérer correctement ce problème.

De plus, la baisse de la consistance des selles du patient est concomitante aux problèmes personnels de sa propriétaire. Durant cette période, celle-ci n'a pas pu s'occuper elle-même de son animal. Dans le cas d'un syndrome de l'intestin irritable, cet événement pourrait être un stress supplémentaire, qui, chez un animal prédisposé, aurait pu être à l'origine d'une reprise des symptômes.

(v) *Antibiorésistance*

Si la TMF s'avère être d'une efficacité supérieure aux traitements conventionnels dans le cadre des diarrhées chroniques du chien, son utilisation en première intention pourrait devenir fortement intéressante. En effet, le traitement de première intention de ces maladies reste, outre les corticoïdes, les antibiotiques, lesquels sont généralement utilisés pendant de très longues durées. Dans le contexte actuel où l'antibiorésistance bactérienne croissante engendre diverses polémiques sur l'utilisation des antibiotiques (ANSES, 2014), notamment dans le domaine vétérinaire, un tel traitement pourrait aider à réduire leur utilisation. De plus ce traitement semble efficace sur les bactéries multi-résistantes là où les antibiotiques sont inefficaces (CRUM-CIANFLONE, et al., 2015).

A l'inverse, on peut également imaginer qu'en transplantant une flore d'un donneur possédant des bactéries résistantes, la TMF participerait à la propagation de celles-ci, et donc de l'antibiorésistance concernée. D'où l'importance d'effectuer une sélection minutieuse des donneurs tant qu'aucune étude sur le sujet n'est publiée.



# CONCLUSION

---

Depuis peu, une augmentation de la prévalence des maladies chroniques est observée dans les populations humaines et animales. Cependant, l'étiopathogénie de la plupart de ces affections, dont les maladies digestives chroniques, est actuellement mal connue, ce qui limite les possibilités de traitement.

C'est dans ce contexte que nous avons rapporté une expérience de transplantation de microbiote intestinal chez un chien victime d'une diarrhée chronique, réfractaire à tout traitement depuis plus d'un an. Si les conditions de réalisation de celle-ci n'ont pas été optimales, notamment parce que l'on ne connaît pas la cause de cette diarrhée, force est de constater que les résultats à 3 mois sont très encourageants.

Pendant de nombreuses années, le microbiote intestinal des omnivores et encore plus des carnivores a été jugé secondaire, n'ayant que peu d'impact sur le métabolisme digestif et l'équilibre des individus. Les récentes découvertes nous ont permis de nous rendre compte au contraire de son importance. Même si la communauté micro-organique digestive de ces espèces est bien moins développée que chez les herbivores, notamment les polygastriques, elle joue un rôle primordial dans le développement et le maintien de la santé à tous les stades de la vie d'un individu. La moindre perturbation de cet écosystème digestif peut entraîner l'apparition de maladies, soit en favorisant l'établissement d'un pathogène, soit directement à cause du déséquilibre, qui entraîne de nombreuses modifications métaboliques et fonctionnelles, tant au niveau intestinal que systémique. Le peu de connaissances sur ces maladies et leur étiologie nous a poussé durant des années à essayer divers traitements, souvent peu efficaces. Les traitements antibiotiques fréquents ne faisant généralement qu'aggraver et entretenir la dysbiose initiale.

La transplantation de microbiote fécal est donc une technique innovante et originale qui permet, comme nous l'avons vu, de modifier et rééquilibrer la flore digestive malade de façon durable, et ainsi de traiter directement la cause de la maladie.

Cette thèse se propose de mettre en valeur le traitement par la transplantation de microbiote fécal, et surtout de fournir, à travers la présentation d'un cas clinique, un protocole simple et peu coûteux, qui peut être réalisé par n'importe quel vétérinaire au sein de sa pratique clinique.

Historiquement cette technique a été développée chez l'être humain dans le cadre du traitement des infections récurrentes à *Clostridium difficile*. Elle semble être d'un grand intérêt dans un certain nombre de maladies chroniques, notamment digestives. Les recherches en médecine humaine sont actuellement très actives.

En médecine vétérinaire, cependant, aucune publication n'existe à ce jour. Il serait intéressant de lancer des études plus poussées portant sur plusieurs animaux, avec un suivi suffisamment long, afin de préciser l'intérêt de la technique et ses indications.



# ANNEXES

## ANNEXE 1 : Questionnaire préalable au don de sang

D'après l'Etablissement Français du Sang (2013)

Les réponses aux questions posées dans ce questionnaire sont obligatoires. Toutefois, si vous hésitez sur la réponse à apporter, passez à la question suivante et signalez l'existence de cette difficulté au médecin.

Les informations recueillies sont confidentielles et soumises au secret médical.

Ce questionnaire sera détruit après votre don.

Vous sentez-vous en forme pour donner votre sang ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Etes-vous en arrêt de travail ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Pensez-vous avoir besoin vous-même d'un test de dépistage viral ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Vous ou votre partenaire, êtes-vous porteur du VIH, de l'hépatite B, de l'hépatite C, ou du HTLV ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Y a-t-il une personne souffrant d'hépatite B dans votre entourage ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Vous ou un membre de votre famille, êtes-vous porteur ou atteint d'une anomalie du globule rouge (drépanocytose...)?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non

### **Avez-vous dans votre vie :**

Eu une maladie nécessitant un suivi médical régulier ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Été hospitalisé(e) ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Été opéré(e) ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu un diagnostic de cancer ou de maladie maligne ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Reçu une transfusion sanguine ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu une greffe de tissus d'un autre donneur (cornée, tympan, dure mère, os...)?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Reçu un traitement par hormone de croissance (extraits hypophysaires) avant 1989 ou par glucocorticoïdes ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Été traité(e) il y a moins de 2 ans, pour un psoriasis, par du Soriatane®?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu une maladie cardio-vasculaire (maladie valvulaire, trouble du rythme, angine de poitrine, artérite, infarctus du myocarde...) ou êtes-vous porteur d'une anomalie cardio-vasculaire congénitale ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu un accident vasculaire cérébral, des crises d'épilepsie, des convulsions, des épisodes répétés de syncope ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu des crises de tétanie ou de spasmophilie ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu une maladie du sang, une tendance anormale aux saignements ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu une anémie, un manque de globule rouge ou de fer ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu une allergie grave, de l'asthme ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu une ou des crises de paludisme (malaria), une maladie de Chagas ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Eu un membre de votre famille atteint de la maladie de Creutzfeldt-Jakob ?	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non



### Risques liés aux voyages :

- |  |                              |                              |
|--|------------------------------|------------------------------|
| Avez-vous voyagé depuis moins de 3 ans hors du continent européen ?              | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Avez-vous séjourné au moins une fois dans votre vie hors du continent européen ? | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Avez-vous séjourné (plus d'un an cumulé) au Royaume-Uni entre 1980 et 1996 ?     | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
- Si vous ou votre mère êtes né(e) hors du continent européen, signalez-le au médecin.

### Dans les 4 derniers mois, avez-vous :

- |  |                              |                              |
|--|------------------------------|------------------------------|
| Consulté un médecin ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Pris des médicaments ? Si oui, indiquez-les au médecin   | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Été opéré(e) au cours d'une hospitalisation et/ou subi une anesthésie générale ?                     | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Été en contact avec une personne ayant une maladie infectieuse ou contagieuse ?                      | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Été vacciné(e) ?   | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu une gastro-entérite fébrile (diarrhée avec fièvre) ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu une infection urinaire ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu une ou des hémorragies mêmes minimes ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu une plaie cutanée importante (ulcère variqueux, plaie infectée...)?                               | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu une endoscopie (fibroscopie, gastroscopie, coloscopie...)?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Été traité(e) par infiltrations, sclérose des varices, auriculothérapie, acupuncture, mésothérapie ? | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Été en contact avec du sang humain par piqûre, plaie, projection ?                                   | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu un tatouage ou un piercing (y compris boucles d'oreilles) ?                                       | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |

### Pour les femmes :

- |   |                              |                              |
|---|------------------------------|------------------------------|
| Etes-vous enceinte ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Avez-vous accouché ou eu une interruption de grossesse depuis moins de 6 mois ? | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |

### Depuis deux semaines, avez-vous :

- |  |                              |                              |
|--|------------------------------|------------------------------|
| Fait une allergie, eu une injection de désensibilisation ?                 | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu de la fièvre (> 38°C), un problème infectieux, pris des antibiotiques ? | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eu des troubles digestifs ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Pris des médicaments ? Si oui, lesquels ?                                  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Êtes-vous allé(e) chez le dentiste ?                                       | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |

- |   |                              |                              |
|---|------------------------------|------------------------------|
| Faites-vous l'objet d'une mesure de protection légale (tutelle, curatelle, sauvegarde de justice) ? | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Avez-vous lu les informations et questions précédentes ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Avez-vous des points à éclaircir ?  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Avez-vous des questions à poser ?   | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |

**Vous avez la possibilité de renoncer au don avant le début de celui-ci et la possibilité d'interrompre votre don à tout moment sans gêne ni embarras.**

Suite du questionnaire - page suivante



Des analyses de sang à la recherche de maladies transmissibles sont réalisées sur chaque don. Cependant, il existe toujours un délai entre le début d'une infection et le moment où le résultat de l'analyse est positif.

**C'est pourquoi l'entretien préalable au don doit apprécier le risque lié à une maladie transmissible.**

Le médecin explorera avec vous les points listés ci-dessous :

Si au cours de votre vie, vous avez utilisé des drogues ou des substances dopantes par voie intraveineuse.

Si dans les 4 derniers mois, vous avez :

- ▶ Changé de partenaire sexuel(le),
- ▶ Eu plus d'un(e) partenaire sexuel(le),
- ▶ Eu une relation sexuelle avec un(e) partenaire occasionnel(le),
- ▶ Eu une infection sexuellement transmissible (IST) dont la syphilis.

Si vous avez eu des relations sexuelles entre hommes.

### Risques liés aux maladies transmissibles :

Avez-vous été dans l'une des situations décrites ci-dessus ?  Oui  Non

Votre partenaire est-il ou a-t-il été dans l'une de ces situations ?  Oui  Non

**Après le don, vous pouvez contacter le médecin en téléphonant au numéro indiqué sur le document post-don qui vous sera remis.**

« En application des dispositions de la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés telle que modifiée par la loi n° 2004-801 du 6 août 2004, nous vous informons que certaines des informations qui vous sont demandées notamment à l'occasion du questionnaire pré-don et de l'entretien préalable au don feront l'objet d'un enregistrement informatique par l'Etablissement Français du Sang ainsi que certaines informations vous concernant collectées à l'occasion du don de sang lui-même. Les résultats de qualification biologique du don feront l'objet d'un traitement informatique par l'Etablissement Français du Sang. Ce traitement est destiné à permettre la gestion des donneurs et des receveurs de sang. Vous disposez d'un droit d'accès, et, en cas d'inexactitude, de rectification et de suppression.

Pour exercer ces droits, il suffit de s'adresser au directeur de l'établissement de transfusion sanguine de la région dont dépend le site de collecte.

Toutes les mesures nécessaires sont prises pour assurer la protection, la sécurité et la confidentialité des données personnelles concernant le donneur, fournies et collectées par nos services lors de l'entretien pré-don et du don en ce compris des résultats de qualification biologique du don, afin d'empêcher la divulgation non autorisée des données traitées et notamment de l'identité du donneur, des informations relatives à sa santé et des résultats des examens pratiqués. »



## ANNEXE 2 : Echelle fécale Nestlé PURINA

D'après M. Lappin (2012) et K. Nichols (2012)



Nestlé PURINA

# FECAL SCORE CHART

Fecal consistency is primarily a function of the amount of moisture in the stool and can be used to identify changes in colonic health and other problems. Ideally, in a healthy animal, stools should be firm but not hard, pliable and segmented, and easy to pick up (Score 2).



### Score 1

Very hard and dry; requires much effort to expel from the body; no residue left on ground when picked up. Often expelled as individual pellets.



### Score 2

Firm, but not hard; should be pliable; segmented in appearance; little or no residue left on ground when picked up.



### Score 3

Log-like; little or no segmentation visible; moist surface; leaves residue, but holds firm when picked up.



### Score 4

Very moist (soggy); distinct log shape visible; leaves residue and loses form when picked up.



### Score 5

Very moist but has distinct shape (piles rather than distinct logs); leaves residue and loses form when picked up.



### Score 6

Has texture, but no defined shape; occurs as piles or as spots; leaves residue when picked up.



### Score 7

Watery, no texture, flat; occurs as puddles. Leaves residue.

Trademarks owned by Société des Produits Nestlé S.A., Vevey, Switzerland



## ANNEXE 3 : Documents délivrés au client pour le suivi des selles

### Scoring des selles

Document joint : Waltham feces scoring system

Score des selles du donneur :

Score sans traitement antibiotique :

Score pendant le traitement antibiotique :

Score le jour de la transplantation (J0 : 10/06/2015) :

#### Semaine 1

Date	J1 11/06	J2 12/06	J3 13/06	J4 14/06	J5 15/06	J6 16/06	J7 17/06
Score							

#### Semaine 2

Date	J8 18/06	J8 19/06	J10 20/06	J11 21/06	J12 22/06	J13 23/06	J14 24/06
Score							

#### Semaine 3

Date	J15 25/06	J16 26/06	J17 27/06	J18 28/06	J19 29/06	J20 30/06	J21 01/07
Score							

#### Semaine 4

Date	J22 02/07	J23 03/07	J24 04/07	J25 05/07	J26 06/07	J27 07/07	J28 08/07
Score							

Score à 1 mois (J30 : 10/07/2015) :

Score à 2 mois (J60 : 09/08/2015) :

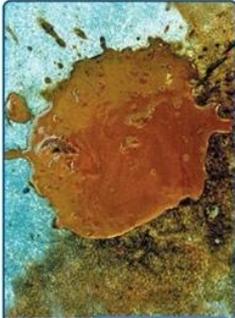
Score à 3 mois (J90 : 08/09/2015) :

Score à 4 mois (J120 : 08/10/2015) :

Score à 5 mois (J150 : 07/11/2015) :

Score à 6 mois (J180 : 07/12/2015) :

# The WALTHAM® Faeces Scoring System

		
<p><b>Grade 1</b></p> <p>Selles trop dures, sèches et friables. En forme de petites ogives.</p>	<p><b>Grade 1.5</b></p> <p>Selles dures et sèches.</p>	<p><b>Grade 2</b></p> <p>Selles bien formées, sécables. Ne laissent aucune marque sur le sol quand ramassées.</p>
		
<p><b>Grade 2.5</b></p> <p>Selles bien formées, avec une surface légèrement humide. Légèrement collantes au toucher. Laissent une légère marque sur le sol quand ramassées.</p>	<p><b>Grade 3</b></p> <p>Selles humides, qui commencent à perdre leur forme. Laissent une marque bien définie sur le sol quand ramassées.</p>	<p><b>Grade 3.5</b></p> <p>Selles très humides, mais qui conservent encore un semblant de forme.</p>
		
<p><b>Grade 4</b></p> <p>Selles visqueuses, de consistance médiocre. La majorité, sinon toute la forme est perdue.</p>	<p><b>Grade 4.5</b></p> <p>Selles diarrhéiques avec quelques morceaux encore consistants.</p>	<p><b>Grade 5</b></p> <p>Selles diarrhéiques, complètement liquide.</p>

Reference: Moxham, G. (2001) Waltham feces scoring system – A tool for veterinarians and pet owners: How does your pet rate? WALTHAM® Focus, 11, 24–25







# BIBLIOGRAPHIE

- 1) ABEDI D., FEIZIZADEH S., AKBARI V., et al. (2013). In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 8 (4), pp. 260-268.
- 2) AFSSAPS : AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES PRODUITS DE SANTE (actuellement ANSM). (2004). Informations concernant EudraCT, la base de données des essais cliniques de la Communauté européenne, 19 p. Saint-Denis : ANSM.
- 3) AHMED B., ORENI J. (2012). An audit on inappropriate repeat testing of *Clostridium difficile* toxin (CDT). *The Bulletin of The Royal College of Pathologists*, 157, pp. 42-44.
- 4) ALANG N., KELLY C. (2015). Weight gain after fecal microbiota transplantation. *Open Forum Infectious Diseases*, 2 (1), 2 p.
- 5) ALLENSPACH K., RÜFENACHT S., SAUTER S., et al. (2006). Pharmacokinetics and clinical efficacy of cyclosporine treatment of dogs with refractory inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (2), pp. 239-244.
- 6) AMARAL L., HOPPEL C., STEPHEN A. (1993). Effect of propionate on lipid metabolism in healthy human subjects. Strasbourg : *Falk Symposium No 73*.
- 7) AMIOT A. (2014). Microbiote et cancer du côlon. *Côlon Rectum*, 8 (3), pp. 146-152.
- 8) ANANTHASWAMY A. (2011). Faecal transplant eases symptoms of Parkinson's. *New Scientist*, 2796, pp. 8-9.
- 9) ANDREWS P., BORODY T., SHORTIS N., et al. (1995). Bacteriotherapy for chronic constipation : A long term follow-up. *Gastroenterology*, 108 (4), p. A563.
- 10) ANSES : AGENCE NATIONALE DE SECURITE SANITAIRE DE L' ALIMENTATION, DE L'ENVIRONNEMENT ET DU TRAVAIL. (2014). L'antibiorésistance. Consulté le 24 avril 2015, sur ANSES : <https://www.anses.fr/fr/content/lantibior%C3%A9sistance>
- 11) ANSM : AGENCE NATIONALE DE SECURITE DU MEDICAMENT ET DES PRODUITS DE SANTE. (2014). La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques, 14 p. Saint-Denis : ANSM.
- 12) ANSM : AGENCE NATIONALE DE SECURITE DU MEDICAMENT ET DES PRODUITS DE SANTE. (2009). Répertoires des essais cliniques de médicaments. Consulté le 3 février 2015, sur ANSM : <http://ansm.sante.fr/Activites/Essais-cliniques/Repertoires-des-essais-cliniques-de-medicaments/%28offset%29/1>
- 13) ARMOUGOM F., HENRY M., VIALETTES B., et al. (2009). Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and Methanogens in anorexic patients. *PLoS One*, 4 (9), 8 p.
- 14) ARONIADIS O., BRANDT L. (2013). Fecal microbiota transplantation : Past, present and future. *Current Opinion Gastroenterology*, 29 (1), pp. 79-84.

- 15) ARUMUGAM M., RAES J., PELLETIER E., et al. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473 (7346), pp. 174-180.
- 16) BACHA W., BACHA L. (2012). *Color Atlas of Veterinary Histology (3<sup>rd</sup> ed)*, 356 p. New Jersey : Wiley-Blackwell.
- 17) BAILEY M., DOWD S., GALLEY J., et al. (2011). Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota : Implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25 (3), pp. 397-407.
- 18) BALTU I., BELHANINI B., CLERMONT H., et al. (2003). Postes de sécurité microbiologique, Postes de sécurité cytotoxique - Choix et utilisation. *Cahiers de notes documentaires - Hygiène et sécurité du travail*, 193, pp. 37-52. Paris : Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS).
- 19) BARONE R. (2009). *Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 3 : Splanchnologie I (4<sup>ème</sup> éd.)*, 853 p. Paris : Vigot.
- 20) BATT R., MORGAN J. (1982). Role of serum folate and vitamin B12 concentrations in the differentiation of small intestinal abnormalities in the dog. *Research in Veterinary Science*, 32 (1), pp. 17-22.
- 21) BATT R., NEEDHAM J., CARTER M. (1983). Bacterial overgrowth associated with a naturally occurring enteropathy in the German shepherd dog. *Research in Veterinary Science*, 35 (1), pp. 42-46.
- 22) BEAUGERIE L., SOKOL H. (2014). *Les fondamentaux de la pathologie digestive*, 288 p. Paris : Elsevier-Masson.
- 23) BEGLEY M., GAHAN C., HILL C. (2005). The interaction between bacteria and bile. *Résultats de recherche*, 29 (4), pp. 625-651.
- 24) BERNALIER-DONADILLE A. (2004). Flore intestinale : Principales fonctions métaboliques. Dans RAMBAUD J., BUTS J., CORTHIER G., et al., *Flore microbienne intestinale, physiologie et pathologie digestives*, pp. 61-80. Montrouge : John Libbey Eurotext.
- 25) BEVINS C., SALZMAN N. (2011). Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nature reviews Microbiology*, 9 (5), pp. 356-368.
- 26) BOOTHE D. (1999). Gastrointestinal pharmacology. *Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice*, 29 (2), pp. 343-376.
- 27) BORODY T. (2000). Welcome to the Probiotic Therapy Research Centre. Consulté le 13 janvier 2015, sur *The Probiotic Therapy Research Centre* : <http://www.probiotictherapy.com.au/index.html>
- 28) BORODY T. (1995). Bacteriotherapy for chronic fatigue syndrome : A long term follow-up study. Sydney : *CFS National Consensus Conference*.
- 29) BORODY T., PARAMSOTHY S., AGRAWAL G. (2013). Fecal microbiota transplantation : Indications, methods, evidence, and future directions. *Current Gastroenterology Reports*, 15 (8), pp. 1-7.
- 30) BORODY T., WARREN E., LEIS S., et al. (2004). Bacteriotherapy using fecal flora : Toying with human motions. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 38 (6), pp. 475-483.

- 31) BORODY T., CAMPBELL J. (2012a). Fecal microbiota transplantation : Techniques, applications, and issues. *Gastroenterology Clinics of North America*, 41 (4), pp. 781-803.
- 32) BORODY T., KHORUTS A. (2011b). Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 9 (2), pp. 88-96.
- 33) BORODY T., BRANDT L., PARAMSOTHY S. (2014). Therapeutic faecal microbiota transplantation : Current status and future developments. *Current Opinion in Gastroenterology*, 30 (1), pp. 97-105.
- 34) BORODY T., CAMPBELL J., TORRES M., et al. (2011c). Reversal of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) with fecal microbiota transplantation (FMT). *The American Journal of Gastroenterology*, 106 (Suppl. 2), p. S352.
- 35) BORODY T., LEIS S., CAMPBELL J., et al. (2011a). Fecal microbiota transplantation (FMT) in multiple sclerosis (MS). *The American Journal of Gastroenterology*, 106 (Suppl. 2), p. S352.
- 36) BORODY T., ROSEN D., TORRES M., et al. (2011d). Myoclonus-dystonia affected by GI microbiota ? *The American Journal of Gastroenterology*, 106 (Suppl. 2), p. S352.
- 37) BORODY T., TORRES M., CAMPBELL J., et al. (2009). Treatment of severe constipation improves parkinson's disease (PD) symptoms. *The American Journal of Gastroenterology*, 104, (Suppl. 3), p. S366.
- 38) BORODY T., WETTSTEIN A., CAMPBELL J., et al. (2012b). Fecal microbiota transplantation in ulcerative colitis : Review of 24 years experience. *The American Journal of Gastroenterology*, 107 (Suppl. 1), p. S665.
- 39) BRAAK H., DEL TREDICI K., RÜB U., et al. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, 24 (2), pp. 197-211.
- 40) BRANDT L., ARONIADIS O. (2013). An overview of fecal microbiota transplantation : techniques, indications, and outcomes. *Gastrointestinal Endoscopy*, 78 (2), pp. 240-249.
- 41) BRANDT L., ARONIADIS O., MELLOW M., et al. (2012). Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection. *The American Journal of Gastroenterology*, 107 (7), pp. 1079-1087.
- 42) BROWN C., ARMSTRONG P., GLOBUS H. (1995). Nutritional management of food allergy in dogs and cats. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 17 (5), pp. 637-658.
- 43) BROWN K., DECOFFE D., MOLCAN E., et al. (2012). Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*, 4 (8), pp. 1095-1119.
- 44) BRUDERSOHN. (2010). Biochemical way of methanogenesis from carbondioxide by archaea, coupled with phosphorylation of ADP. Consulté le 17 mars 2015, sur Wikipedia : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Methanogenese\\_aus\\_CO2\\_biochemischer\\_Weg.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Methanogenese_aus_CO2_biochemischer_Weg.png)
- 45) BURLESON G., MURRAY T., POLLARD M. (1975). Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication. *Journal of Applied Microbiology*, 29 (3), pp. 340-344.
- 46) CAMMAROTA G., IANIRO G., GASBARRINI A. (2014). Fecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection : A systematic review. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 48 (8), pp. 693-702.

- 47) CERQUETELLA M., SPATERNA A., LAUS F., et al. (2010). Inflammatory bowel disease in the dog : Differences and similarities with humans. *World Journal of Gastroenterology*, 16 (9), pp. 1050-1056.
- 48) CHALASANI N. (2014). Fecal Microbiota Transplant Program. Consulté le 12 juin 2015, sur *Indiana University - Department of Medicine* : <http://medicine.iupui.edu/gast/programs/fecal-microbiota>
- 49) CHOSEWOOD L., WILSON D. (2009). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) (5<sup>th</sup> ed.)*, 438 p. Washington DC : Centers for Disease Control and Prevention / National Institutes of Health.
- 50) ClinicalTrials.gov. (2015). Ongoing studies on fecal transplant. Consulté le 16 juin 2015, sur *ClinicalTrials.gov* : <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=fecal+transplant&Search=Search>
- 51) CSP : CODE DE LA SANTE PUBLIQUE. (2011a). Code de la Santé Publique - Article L1121-15, du 29 décembre 2011. Consulté le 3 février 2015, sur *Legifrance.gov.fr* : <http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006685854&dateTexte=&categorieLien=cid>
- 52) CSP : CODE DE LA SANTE PUBLIQUE. (2011b). Code de la Santé Publique - Article L1123-12, du 29 décembre 2011. Consulté le 3 février 2015, sur *Legifrance.gov.fr* : [http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=C370FEA1C26E91E07744020EE2DFAC5C.tpdjo09v\\_3?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006685893&dateTexte=&categorieLien=cid](http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=C370FEA1C26E91E07744020EE2DFAC5C.tpdjo09v_3?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006685893&dateTexte=&categorieLien=cid)
- 53) CSP : CODE DE LA SANTE PUBLIQUE. (2002). Code de la Santé Publique - Article L1211-5, du 5 mars 2002. Consulté le 3 février 2015, sur *Legifrance.gov.fr* : [http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=3F3F632E44EC097BE9CCEDD8F206F508.tpdjo09v\\_3?idArticle=LEGIARTI000006686063&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20150204](http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=3F3F632E44EC097BE9CCEDD8F206F508.tpdjo09v_3?idArticle=LEGIARTI000006686063&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20150204)
- 54) CSP : CODE DE LA SANTE PUBLIQUE. (2007). Code de la Santé Publique - Article L5111-1, du 26 février 2007. Consulté le 3 février 2015, sur *Legifrance.gov.fr* : <http://legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006689866&dateTexte=&categorieLien=cid>
- 55) CONWAY P. (1997). Development of intestinal microbiota. Dans MACKIE R., WHITE B., *Gastrointestinal microbiology, Volume 2*, pp. 3-38. London : Chapman Hall.
- 56) COOK S., SELLIN J. (1998). Review article : Short chain fatty acids in health and disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 12 (6), pp. 499-507.
- 57) CORTHER G., DUBOS F., DUCLUZEAU R. (1986). Prevention of Clostridium difficile induced mortality in gnotobiotic mice by Saccharomyces boulardii. *Canadian Journal of Microbiology*, 32 (11), pp. 894-896.
- 58) CRUM-CIANFLONE N., SULLIVAN E., BALLON-LANDA G. (2015). Fecal microbiota transplantation and successful resolution of multidrug-resistant-organism colonization. *Journal of Clinical Microbiology*, 53 (6), pp. 1986-1989.
- 59) CULLERIER E., MARTEAU P. (2002). Physiologie gastro-intestinale de l'Homme. Dans ROBERFROID, M., *Aliments fonctionnels*, pp. 21-40. Paris : Tec & Doc Lavoisier.

- 60) DARCY-VRILLON B., MOREL M., CHERBUY C., et al. (1993). Metabolic characteristics of pig colonocytes after adaptation to a high fiber diet. *Journal of Nutrition*, 123 (2), pp. 234-243.
- 61) DAVE M., HIGGINS P., MIDDHA S., et al. (2012). The human gut microbiome : Current knowledge, challenges, and future directions. *Translational Research*, 160 (4), pp. 246-257.
- 62) DE FILIPPO C., CAVALIERI D., DI PAOLA M., et al. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107 (33), pp. 14691-14696.
- 63) DE PRETER V., VERBEKE K. (2013). Metabolomics as a diagnostic tool in gastroenterology. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 4 (4), pp. 97-107.
- 64) DEBAST S., BAUER M., KUIJPER E. (2014). European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases : Update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 20 (Suppl. 2), pp. 1-26.
- 65) DEJEA C., WICK E., HECHENBLEIKNER E., et al. (2014). Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 111 (51), pp. 18321-18326.
- 66) DENG P., SWANSON K. (2015). Gut microbiota of humans, dogs and cats : Current knowledge and future opportunities and challenges. *British Journal of Nutrition*, 113 (Suppl.), pp. S6-S17.
- 67) DETHLEFSEN L., ECKBURG P., BIK E., et al. (2006). Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends in Ecology Evolution*, 21 (9), pp. 517-523.
- 68) DUCLUZEAU, R. (1999). La flore intestinale de l'homme : Composition et rôle physiologique. Dans BERGOGNE-BEREZIN, E., *Impact intestinal de l'antibiothérapie*, pp. 9-23. Paris : Editions Médicales.
- 69) DUCLUZEAU R., RAIBAUD P. (1979). *Écologie microbienne du tube digestif : Ces microbes qui nous protègent, Volume 2 de Actualités scientifiques et agronomiques de l'INRA*, 94 p. Paris : Masson.
- 70) DUCLUZEAU R., BELLIER M., RAIBAUD P. (1970). Transit digestif de divers inoculums bactériens introduits per os chez des souris axéniques et holoxéniques (conventionnelles) : Effet antagoniste de la microflore du tractus gastro-intestinal. *Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg*, 213, pp. 533-548.
- 71) ECKERT C., LALANDE V., BARBUT F. (2015). Colites à *Clostridium difficile*. *La Revue du Praticien*, 65 (1), pp. 21-51.
- 72) EDWARDS C. (2008). Commensal gut bacteria and the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 35 (8), pp. 1477-1479.
- 73) EFS : ETABLISSEMENT FRANÇAIS DU SANG. (2013). Questionnaire pré-don pour la métropole. Consulté le 7 novembre 2014, sur *Etablissement Français du Sang* : <http://www.dondusang.net/rewrite/article/4276/ou-donner/conseils-pratiques/infos-predon/infos-pre-don.htm?idRubrique=1402>
- 74) EISEMAN B., SILEN W., BASCOM G., et al. (1958). Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*, 44 (5), pp. 854-859.

- 75) EVANS H., DE LAHUNTA A. (2012). *Miller's Anatomy of the Dog (4<sup>th</sup> ed.)*, 872 p. New York : Saunders.
- 76) FINEGOLD S. (2011). State of the art ; Microbiology in health and disease. Intestinal bacterial flora in autism. *Anaerobe*, 17 (6), pp. 367-368.
- 77) FINEGOLD S., SUTTER V. (1978). Fecal flora in different populations, with special reference to diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 31 (Suppl. 10), pp. S116-S122.
- 78) FINEGOLD S., MOLITORIS D., SONG Y., et al. (2002). Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clinical Infectious Diseases*, 35 (Suppl. 1), pp. S6-S16.
- 79) FOLLIOT C., KOLF-CLAUW M. (2004). Traiter les MICI avec des médicaments humains. *Le Point Vétérinaire*, (247), pp. 1-22.
- 80) FONTY G., CHAUCHERAS-DURAND F. (2007). *Les écosystèmes digestifs*, 310 p. Paris : Lavoisier.
- 81) FREICHE V., HERNANDEZ J. (2010). *Gastro-entérologie canine et féline. De la clinique à la thérapeutique*, 284 p. Paris : Masson.
- 82) FUMERY M., GOWER-ROUSSEAU C., DAUCHET L., et al. (2014). Epidémiologie, facteurs de risque et facteurs aggravants des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *La Revue du Praticien*, 64 (9), pp. 1210-1214.
- 83) GALIMBERTI A., SPADA M., RUSSO D., et al. (2012). Integrated operational taxonomic units (IOTUs) in echolocating bats : A bridge between molecular and traditional taxonomy. *PLoS One*, 7 (6), 11 p.
- 84) GAMET Y. (1999). Exploration biochimique du syndrome de malabsorption-maldigestion chez le chien et le chat. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 150 (7), pp. 635-644.
- 85) GARCIA-MAZCORRO J., MINAMOTO Y. (2013). Gastrointestinal microorganisms in cats and dogs : A brief review. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45 (2), pp. 111-124.
- 86) GERMAN A., DAY M., RUAUX C., et al. (2003). Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17 (1), pp. 33-43.
- 87) GHOSHAL U., SHUKLA R., GHOSHAL U., et al. (2012). The gut microbiota and irritable bowel syndrome : Friend or foe ? *International Journal of Inflammation*, 2012, 13 p.
- 88) GNANANDARAJAH J., ABRAHANTE J., LULICH J., (2012). Presence of Oxalobacter formigenes in the intestinal tract is associated with the absence of calcium oxalate urolith formation in dogs. *Urological Research*, 40 (5), pp. 467-473.
- 89) GOOD P. (2014). Autism and propionic acid. *OA Autism*, 2 (2), p. 12.
- 90) GOUGH E., SHAIKH H., MANGES A. (2013). Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. *Clinical Infectious Diseases*, 53 (10), pp. 994-1002.
- 91) GOWER-ROUSSEAU C., REUMAUX D., BELLARD M., et al. (1993). Remission of myasthenia gravis after proctocolectomy in a patient with ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 88 (7), pp. 1136-1138.

- 92) GREENE A., GÜZEL-SEYDIM Z., SEYDIM A. (2012). Chemical and physical properties of Ozone. Dans O'DONNELL C., TIWARI B., CULLEN P., et al., *Ozone in Food Processing*, pp. 19-32. Chichester : Wiley-Blackwell.
- 93) GREETHAM H., GIFFARD C., HUTSON R., et al. (2002). Bacteriology of the Labrador dog gut : A cultural and genotypic approach. *Journal of Applied Microbiology*, 93 (4), pp. 640-646.
- 94) GRENHAM S., CLARKE G., CRYAN J., et al. (2011). Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Frontiers in Physiology*, 2 (94).
- 95) GRIESHOP C., FLICKINGER E., BRUCE K., et al. (2004). Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. *Archives of Animal Nutrition*, 58 (6), pp. 483-493.
- 96) GRIESS D. (2001). La flore du tube digestif des animaux monogastriques, pp. 37-51. Toulouse : Journée EPA-ENVV, L'utilisation des probiotiques en alimentation animale.
- 97) GUE M. (1988). Stress et troubles digestifs. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 164 (10), pp. 773-778.
- 98) GUILFORD W. (1997). Effect of diet on inflammatory bowel diseases. *Veterinary Clinical Nutrition*, 4 (2), pp. 58-61.
- 99) GUILFORD W. (1996). Gastrointestinal immune system. Dans GUILFORD W., CENTER S., STROMBEC D., et al., *Strombeck's Small Animal Gastroenterology*, (3<sup>rd</sup> ed.), pp. 20-39. Philadelphia : Saunders.
- 100) GUILFORD W. (1996). Idiopathic inflammatory bowel diseases. Dans GUILFORD W., CENTER S., STROMBEC D., et al., *Strombeck's Small Animal Gastroenterology* (3<sup>rd</sup> ed.), pp. 451-486. Philadelphia : Saunders.
- 101) HAKANSSON A., MOLIN G. (2011). Gut microbiota and inflammation. *Nutrients*, 3 (6), pp. 637-682.
- 102) HALL E., GERMAN A. (2009). Diseases of the Small Intestine. Dans ETTINGER S. FELDMAN E., *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7<sup>th</sup> ed.), pp. 1333-1378. Philadelphia : Saunders.
- 103) HAMILTON M., WEINGARDEN A., SADOWSKY M., et al. (2012). Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *American Journal of Gastroenterology*, 107 (5), pp. 761-767.
- 104) HAMILTON M., WEINGARDEN A., UNNO T., et al. (2013). High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. *Gut Microbes*, 4 (2), pp. 125-35.
- 105) HAYDEN D., VAN KRUININGEN H. (1982). Lymphocytic-plasmacytic enteritis in German shepherd dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 18, pp. 89-96.
- 106) HealthPACT : HEALTH POLICY ADVISORY COMMITTEE ON TECHNOLOGY. (2014). Technology brief update : Faecal microbiota transplantation, 31 p. Herston : Queensland Department of Health.
- 107) HIJOVA E., CHMELAROVA A. (2007). Short chain fatty acids and colonic health. *Bratislava Medical Journal*, 108 (8), pp. 354-358 .

- 108) HILL M. (1995). Bacterial fermentation of complex carbohydrate in the human colon. *European Journal of Cancer Prevention*, 4 (5), pp. 353-358.
- 109) HILL M. (1997). Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *European Journal of Cancer Prevention*, 6 (Suppl. 1), pp. S43-S45.
- 110) HOENIG M. (1980). Intestinal malabsorption attributed to bacterial overgrowth in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 176 (6), pp. 533-535 .
- 111) HOFFMANN C., DOLLIVE S., GRUNBERG S., et al. (2013). Archaea and Fungi of the human gut microbiome : Correlations with diet and bacterial residents. *PLoS One*, 8 (6), 12 p.
- 112) HOOPER L. (2004). Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends in Microbiology*, 12 (3), pp. 129-134.
- 113) HORVATH K., PERMAN J. (2002). Autism and gastrointestinal symptoms. *Current Gastroenterology Reports*, 4 (3), pp. 251-258.
- 114) ISOLAURI E., SÜTAS Y., KANKAANPÄÄ P., et al. (2001). Probiotics : Effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73 (2, Suppl.), pp. 444S-450S.
- 115) JACOBS G., COLLINS-KELLY L., LAPPIN M., et al. (1990). Lymphocytic-plasmacytic enteritis in 24 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 4 (2), pp. 45-53.
- 116) JERGENS A. (2005). Chronic diarrhoea. Dans HALL E., SIMPSON J., WILLIAMS D., *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology (2<sup>nd</sup> ed.)*, pp. 82-86. Gloucester : British Small Animal Veterinary Association (BSAVA).
- 117) JERGENS A., MOORE F., HAYNES J., et al. (1992). Idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats : 84 cases (1987-1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201 (10), pp. 1603-1608.
- 118) JERGENS A. (2009). Host-Microbial Interactions in Gastrointestinal Health. Dans ETTINGER S., FELDMAN E., *Textbook of Veterinary Internal Medicine (7<sup>th</sup> ed.)*, pp. 1500-1504. Philadelphia : Saunders.
- 119) JERGENS A. (1999). Inflammatory bowel disease : Current perspectives. *Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice*, 29 (2), pp. 501-521.
- 120) JOHNSTON K. (1999). Small intestinal bacterial overgrowth. *Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice*, 29 (2), pp. 523-550.
- 121) JOLY F., COFFIN B., MESSING B. (2007). Rôle de la flore dans les pathologies digestives (maladie de Crohn, rectocolite ulcérohémorragique, cancer colorectal exclus). *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 21 (2), pp. 89-94.
- 122) JORGENSEN C. (2011). Polyarthrite rhumatoïde. Consulté le 25 juin 2015, sur INSERM : <http://www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/polyarthrite-rhumatoide>
- 123) KAHN S., GORAWARA-BHAT R., RUBIN D. (2012). Fecal bacteriotherapy for ulcerative colitis : Patients are ready, are we ? *Inflammatory Bowel Diseases*, 18 (4), pp. 676-684.
- 124) KEBSCHULL J., ZADOR A. (2015). Sources of PCR-induced distortions in high-throughput sequencing data sets. *Nucleic Acids Research*, 2015, 26 p.

- 125) KELLY C., KAHN S., KASHYAP P., et al. (2015). Update on fecal microbiota transplantation 2015 : Indications, methodologies, mechanisms, and outlook. *Gastroenterology*, 149 (1), pp. 223-237.
- 126) KLEIN B. (2012). *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology (5<sup>th</sup> ed.)*, 624 p. Saint Louis : Saunders.
- 127) KÖNIG H., LIEBICH H. (2004). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals : Textbook and Colour Atlas (3<sup>rd</sup> ed.)*, 824 p. Stuttgart, Germany : Schattauer.
- 128) KRAFFT E., MARCHAL T., GUILBAUD L. (2010). Colite histiocytaire chez le chien : Présentation de 3 cas cliniques. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 161 (8-9), pp. 376-380.
- 129) KUZMUK K., SWANSON K., TAPPENDEN K., et al. (2005). Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. *Journal of Nutrition*, 135 (8), pp. 1940-1945.
- 130) LAGIER J., MILLION M., HUGON P., et al. (2012). Human gut microbiota : Répertoire and variations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2 (136), 19 p.
- 131) LAPPIN M. (2012). Effect of probiotics on selected acute and chronic disease syndromes in dogs and cats, pp. 13-18. Orlando : *Critical Updates on Canine Feline Health 2012 - Symposium Proceedings from 2012 NAVC and WVC Conferences*.
- 132) LARSEN N., VOGENSEN F., VAN DEN BERG F., et al. (2010). Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*, 5 (2), p. e9085.
- 133) LEBLANC J., MILANI C., DE GIORI G., et al. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host : A gut microbiota perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, 24 (2), pp. 160-168.
- 134) LECOINDRE P. (2011). Chronic idiopathic large bowel diarrhea in the dog. *Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice*, 41 (2), pp. 447-456.
- 135) LECOINDRE P. (2000). Prolifération bactérienne chronique intestinale. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 35, pp. 511-514.
- 136) LECOINDRE P., CHEVALLIER M. (1997). Contribution to the study of feline inflammatory bowel disease : 51 cases (1991-1994). *Revue de Médecine Vétérinaire*, 148 (11), pp. 893-902.
- 137) LECOINDRE P., GASCHEN F., MONNET E. (2010). *Gastroentérologie du chien et du chat*, 575 p. Rueil-Malmaison : Les Editions du Point Vétérinaire.
- 138) LEIB M. (2000). Treatment of chronic idiopathic large-bowel diarrhea in dogs with a highly digestible diet and soluble fiber : A retrospective review of 37 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14 (1), pp. 27-32 .
- 139) LEIB M., MONROE W., CODNER E. (1991). Management of chronic large bowel diarrhea in dogs. *Veterinary Medicine*, 86 (9), pp. 922-929.
- 140) LEIS S., BORODY T., JIANG C., et al. (2014). Fecal microbiota transplantation : A 'How-To' guide for nurses. *Collegian*, 280, 7 p.
- 141) LEMANN M., ALLEZ M. (2005). Stratégies thérapeutiques dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *La Revue du Praticien*, 55 (9), pp. 984-992.

- 142) LEVENT C. (2002). *Contribution à l'étude des maladies inflammatoires intestinales chroniques du chien et du chat ; Comparaison avec les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin de l'Homme (maladie de Crohn, colite ulcérate)*. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 219 p.
- 143) LEVEQUE C., MOUNOLOU J. (2008). *Biodiversité : Dynamique biologique et conservation* (2<sup>ème</sup> éd.), 259 p. Paris : Dunod.
- 144) LEVY S., MANDELL D., SCHULTZ R. (2009). Autism. *The Lancet*, 374 (9701), pp. 1627-1638.
- 145) LEWIS S., HEATON K. (1997). Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 32 (9), pp. 920-924.
- 146) LEY R., BÄCKHED F., TURNBAUGH P., et al. (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 102 (31), pp. 11070-11075.
- 147) LIU L., LI Y., LI S., et al. (2012). Comparison of next-generation sequencing systems. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 11 p.
- 148) LOUIS P., FLINT H. (2009). Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiology Letters*, 294 (1), pp. 1-8.
- 149) LOUIS P., HOLD G., FLINT H. (2014). The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nature Reviews Microbiology*, 12 (10), pp. 661-672.
- 150) MAC T. (2012). Fecal Transplant At Home. Consulté le 12 mars 2015, sur *The Power of Poop* : <http://thepowerofpoop.com/epatients/fecal-transplant-instructions/>
- 151) MACKIE R., SGHIR A., GASKINS H. (1999). Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69 (5), pp. 1035S-1045S.
- 152) MANCHESTER A., HILL S., SABATINO B., et al. (2013). Association between granulomatous colitis in French Bulldogs and invasive *Escherichia coli* and response to fluoroquinolone antimicrobial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27 (1), pp. 56-61.
- 153) MANICHANH C., RIGOTTIER-GOIS L., BONNAUD E. (2006). Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut*, 55 (2), pp. 205-211.
- 154) MARKS S. (1998). Management of canine inflammatory bowel disease. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 20 (3), pp. 317-331.
- 155) MAZMANIAN S., LIU C., TZIANABOS A., et al. (2005). An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, 122 (1), pp. 107-118.
- 156) MCGHEE J., MICHALEK S., KIYONO H., et al. (1984). Mucosal immunoregulation : Environmental lipopolysaccharide and GALT T lymphocytes regulate the IgA response. *Microbiology and Immunology*, 28 (3), pp. 261-280.
- 157) MENTULA S., HARMOINEN J., HEIKKILÄ M., et al. (2005). Comparison between cultured small-intestinal and fecal microbiotas in Beagle dogs. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (8), pp. 4169-4175.

- 158) MIDDELBOSS I., VESTER BOLER B., QU A., et al. (2010). Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454-pyrosequencing. *PLoS One*, 5 (3), 9 p.
- 159) MIDTVEDT T. (1989). Monitoring the functional state of the microflora. Dans HATTORI T., *Recent advances in microbial ecology*, pp. 515-519. Tokyo : Japan Scientific Society Press.
- 160) MINISTERE DE LA SANTE ET DES SOLIDARITES. (2006). Arrêté du 27 avril 2006 fixant la liste des informations transmises par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé à l'organisme gestionnaire de la base de données européenne des essais cliniques de médicaments à usage humain. Consulté le 3 février 2015, sur *Legifrance.gouv.fr* : <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000460138>
- 161) MODIGLIANI R. (1993). Les maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin. *Médecine / Sciences*, 9 (8-9), pp. 851-852.
- 162) MONASTYRSKY, K. (2008). *Fiber Menace* (2<sup>nd</sup> ed.), 296 p. Lyndhurst : Kindle Edition.
- 163) MOREAU M. (2004). Influence de la microflore intestinale sur l'immunité de l'hôte : Conditions physiologiques. Dans RAMBAUD J., BUTS J. CORTHER G. et al., *Flore microbienne intestinale : Physiologie et pathologie digestives*, pp. 131-150. Montrouge : John Libbey Eurotext.
- 164) MOREAU M., RAIBAUD P., MULLER M. (1982). Relation entre le développement du système immunitaire intestinal à IgA et l'établissement de la flore microbienne dans le tube digestif du souriceau holoxénique. *Annales d'Immunologie, 133D* (1), pp. 29-39.
- 165) MOXHAM G. (2001). The WALTHAM faeces scoring system - A tool for veterinarians and pet owners : How does your pet rate ? *Waltham Focus*, 11 (2), pp. 24-25.
- 166) MÜLLER V. (2001). Bacterial Fermentation. *Encyclopedia of Life Sciences*, 2001, 7 p.
- 167) NCBI : NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. (2015). Fecal microbiota transplantation occurrence from 2010 to 2014. Consulté le 4 février 2015, sur *PubMed* : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=%22fecal+microbiota+transplantation%22>
- 168) NCBI : NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. (2014). Taxonomy Browser. Consulté le 1 octobre 2014, sur *NCBI* : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>
- 169) NICHOLS K. (2012). The scoop on poop. Consulté le 16 février 2015, sur *Mouse Breath* : <http://mousebreath.com/2012/06/the-scoop-on-poop/>
- 170) OPENBIOME. (2012). OpenBiome. Consulté le 4 février 2015, sur *OpenBiome* : <http://www.openbiome.org/>
- 171) OTTMAN N. (2012). The function of our microbiota : Who is out there and what do they do ? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2 (104), 11 p.
- 172) PARRACHO H., BINGHAM M., GIBSON G., et al. (2005). Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *Journal of Medical Microbiology*, 54 (10), pp. 987-991.
- 173) PEPPERCORN M. (1990). Advances in drugs therapy for inflammatory bowel disease. *Annals of Internal Medicine*, 112 (1), pp. 50-60.

- 174) PERSON J. (1982). Bactériologie du tube digestif des carnivores. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 158, pp. 37-45.
- 175) PETIT S. (2014). *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des produits de Santé Animale commercialisés en France (DMV) (19<sup>ème</sup> éd.)*, 2558 p. Paris : Les Editions du Point Vétérinaire.
- 176) PINN D., ARONIADIS O., BRANDT L. (2013). Follow-up study of fecal microbiota transplantation (FMT) for the treatment of refractory irritable bowel syndrome (IBS). *The American Journal of Gastroenterology*, 108 (Suppl. 1), p. S1862.
- 177) PINN D., ARONIADIS O., BRANDT L. (2015). Is fecal microbiota transplantation (FMT) an effective treatment for patients with functional gastrointestinal disorders (FGID) ? *Neurogastroenterology Motility*, 27 (1), pp. 19-29.
- 178) PORCHER C. (2007). Organisation du système nerveux. Consulté le 13 octobre 2014, sur Aix Marseille Université, Faculté des Sciences, Département de Biologie : [http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p83/Rappel\\_organisation\\_SN\\_L2.pdf](http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p83/Rappel_organisation_SN_L2.pdf)
- 179) PRICE C., BEDFORD P., SUTTON J. (1991). Investigation of chronic enteritis. Dans SIMPSON J. ELSE R., *Digestive Disease in the Dog and Cat*, pp. 170-185. Oxford : Wiley-Blackwell.
- 180) PRYDE S., DUNCAN S., HOLD G., et al. (2002). The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiology Letters*, 217 (2), pp. 133-139.
- 181) RASTOGI S. (2008). *Essential of Animal Physiology (4<sup>th</sup> ed.)*, 586 p. New Delhi : New Age International.
- 182) RINKINEN M. (2006). The intestinal microbiota of pets : Dogs and cats. Dans OUWEHAND A. VAUGHAN E., *Gastrointestinal Microbiology*, pp. 371-380. New York : Taylor Francis.
- 183) ROCCABIANCA P., WOO J., MOORE P. (2000). Characterization of the diffuse mucosal associated lymphoid tissue of feline small intestine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 75 (1-2), pp. 27-42.
- 184) ROMAN M. (2014). Procedures. Consulté le 15 juin 2015, sur Eat Sh\*t and Live : *Micro-Biome Restoration Therapy* : <http://eatsh-tandlive.com/procedure/>
- 185) ROTH J., LAWRENCE J., BOBIK T. (1996). Cobalamin (coenzyme B12) : Synthesis and biological significance. *Annual Review of Microbiology*, 50, pp. 137-181.
- 186) ROTH L., WALTON A., LEIB M., et al. (1990). A grading system for lymphocytic plasmacytic colitis in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2 (4), pp. 257-262.
- 187) RUTGERS H., BATT R., ELWOOD C., et al. (1995). Small intestinal bacterial overgrowth in dogs with chronicle intestinal disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 206 (2), pp. 187-193.
- 188) RUTGERS H., BATT R., PROUD F., et al. (1996). Intestinal permeability and function in dogs with small intestinal bacterial overgrowth. *Journal of Small Animal Practice*, 37 (9), pp. 428-434.
- 189) SANGER F., NICKLEN S., COULSON A. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74 (12), pp. 5463-5467.

- 190) SAPRIEL M., STOLTZ P. (2006). *Une introduction à la médecine traditionnelle chinoise*, 300 p. Paris : Springer.
- 191) SCHMID E. (2004). Metabolism II. Consulté le 26 avril 2015, sur Professor Schmid's Biology Website :  
<http://classroom.sdmesa.edu/eschmid/Lecture5-Microbio.htm>
- 192) SEARS C., GARRETT W. (2014). Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell Host and Microbe*, 25 (3), pp. 317-328.
- 193) SEGALEN M. (2008). *Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin chez le chat*. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 129 p.
- 194) SEKIROV I., RUSSELL S., ANTUNES L., et al. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*, 90 (3), pp. 859-904.
- 195) SERES HEALTH. (2012). Translating the Human Microbiome into Therapeutics. Consulté le 4 février 2015, sur Seres Health :  
<http://sereshealth.com/>
- 196) SHERDING R. (2003). Diseases of the large intestine. Dans TAMS T., *Handbook of Small Animal Gastroenterology* (2<sup>nd</sup> ed.), pp. 251-285. Philadelphia : Saunders.
- 197) SIMREN M., BARBARA G., FLINT H., et al. (2013). Intestinal microbiota in functional bowel disorders : A Rome foundation report. *Gut*, 62 (1), pp. 159-176.
- 198) SMITH M., KELLY C., ALM E. (2014). How to regulate faecal transplants. *Nature*, 506 (7488), pp. 290-291.
- 199) SOFI A., NAWRAS A., SODERMAN T. (2011). Fecal bacteriotherapy works for Clostridium difficile infection : A meta analysis. Las Vegas : *Annual Meeting of the American College of Gastroenterology (ACG)*.
- 200) SOKOL H., LEPAGE P., SEKSIK P., et al. (2007). Molecular comparison of dominant microbiota associated with injured versus healthy mucosa in ulcerative colitis. *Gut*, 56 (1), pp. 152-154.
- 201) STAPPENBECK T., HOOPER L., GORDON J. (2002). Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99 (24), pp. 15451-15455.
- 202) STEWART C., DUNCAN S., CAVE D. (2004). Oxalobacter formigenes and its role in oxalate metabolism in the human gut. *FEMS Microbiology Letters*, 230 (1), pp. 1-7.
- 203) STROMBECK D. (1996). Microflora of the gastrointestinal tract and its symbiotic relationship with the host. Dans GUILORD W., CENTER S., STROMBECK D., et al., *Strombecks's Small Animal Gastroenterology* (3<sup>rd</sup> ed.), pp. 14-19. Philadelphia : Saunders.
- 204) SUCHODOLSKI J. (2011). Intestinal microbiota of dogs and cats : A bigger world than we thought. *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, 41 (2), pp. 261-272.
- 205) SUCHODOLSKI J., CAMACHO J., STEINER J. (2008a). Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, 66 (3), pp. 567-578.

- 206) SUCHODOLSKI J., MORRIS E., ALLENSPACH K., JERGENS A., et al. (2008b). Prevalence and identification of fungal DNA in the small intestine of healthy dogs and dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Microbiology*, 132 (3-4), pp. 379-388.
- 207) SURAWICZ C., BRANDT L., BINION D., et al. (2013). Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *The American Journal of Gastroenterology*, 108 (4), pp. 478-498.
- 208) SWANSON K., DOWD S., SUCHODOLSKI J., et al. (2011). Phylogenetic and gene centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME Journal*, 5 (4), pp. 639-649.
- 209) SWANSON K., GRIESHOP C., FLICKINGER E., et al. (2002). Effects of supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides on colonic microbial populations, immune function and fecal odor components in the canine. *Journal of Nutrition*, 132 (6, Suppl.2), pp. 1717S-1719S.
- 210) TAMS T. (1987). Chronic canine lymphocytic plasmacytic enteritis. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 9 (12), pp. 1184-1194.
- 211) TAMS T. (2003). Chronic diseases of the small intestine. Dans TAMS T., *Handbook of Small Animal Gastroenterology* (2<sup>nd</sup> ed.), pp. 211-250. Philadelphia : Saunders.
- 212) TANG W., HAZEN S. (2014). The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *Journal of Clinical Investigation*, 124 (10), pp. 4204-4211.
- 213) TANNOCK G. (2002). Analysis of the intestinal microflora using molecular methods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56 (Suppl.4), pp. S44-S49.
- 214) THABIT A., NICOLAU D. (2015). Lack of correlation between bristol stool scale and quantitative bacterial load in *Clostridium difficile* infection. *Infectious Diseases : Research and Treatment*, 26 (8), pp. 1-4.
- 215) TURNBAUGH P., LEY R., MAHOWALD M., et al. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444, pp. 1027-1031.
- 216) UEKI A., OTSUKA M. (2004). Life style risks of Parkinson's disease : Association between decreased water intake and constipation. *Journal of Neurology*, 251 (Suppl. 7), pp. 18-23.
- 217) VAN DER GAAG I., HAPPE R., WOLVEKAMP W. (1983). Eosinophilic enteritis complicated by partial ruptures and a perforation of the small intestine in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 24 (9), pp. 575-581.
- 218) VAN KRUININGEN H. (1972). Canine colitis comparable to regional enteritis and mucosal colitis of man. *Gastroenterology*, 62 (6), pp. 1128-1142.
- 219) VAN KRUININGEN H., MONTALI R., STRANDBERG J., et al. (1965). A granulomatous colitis of dogs with histologic resemblance to Whipple's disease. *Veterinary Pathology*, 2 (6), pp. 521-544.
- 220) VAN NOOD E., VRIEZE A., NIEUWDORP M., et al. (2013). Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *The New England Journal of Medicine*, 368 (5), pp. 407-415.

- 221) VEDANTA BIOSCIENCES. (2010). A new class of drugs to modulate the Human Microbiome. *Consulté le 4 février 2015*, sur *Vedanta Biosciences* : <http://www.vedantabio.com/>
- 222) VEIGA P., JUSTE C., LEPERCQ P., et al. (2005). Correlation between faecal microbial community structure and cholesterol-to-coprostanol conversion in the human gut. *FEMS Microbiology Letters*, 242 (1), pp. 81-86.
- 223) VETAGRO SUP. (2015). Coproscopie chez le Chien. *Consulté le 28 juin 2015*, sur *VetAgro Sup* : [http://www2.vetagro-sup.fr/etu/copro/sommaire/diagnostic\\_par\\_especes/chien/intro\\_cn.htm](http://www2.vetagro-sup.fr/etu/copro/sommaire/diagnostic_par_especes/chien/intro_cn.htm)
- 224) VIDAL. (2015d). Cancer colorectal. *Consulté le 20 juin 2015*, sur VIDAL, *La base de données en ligne des prescripteurs libéraux* : [http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/3506/cancer\\_colorectal/la\\_maladie/](http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/3506/cancer_colorectal/la_maladie/)
- 225) VIDAL. (2015a). Maladie de Crohn. *Consulté le 17 avril 2015*, sur VIDAL, *La base de données en ligne des prescripteurs libéraux* : [http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/3751/crohn\\_maladie\\_de/la\\_maladie/](http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/3751/crohn_maladie_de/la_maladie/)
- 226) VIDAL. (2015b). Rectocolite hémorragique. *Consulté le 17 avril 2015*, sur VIDAL, *La base de données en ligne des prescripteurs libéraux* : [http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/4021/rectocolite\\_hemorragique/la\\_maladie/](http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/4021/rectocolite_hemorragique/la_maladie/)
- 227) VIDAL. (2015c). Troubles fonctionnels intestinaux. *Consulté le 10 juin 2015*, sur VIDAL, *La base de données en ligne des prescripteurs libéraux* : [http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/2499/troubles\\_fonctionnels\\_intestinaux\\_tfi/la\\_maladie/](http://vidal-app.univadis.fr/recommandations/2499/troubles_fonctionnels_intestinaux_tfi/la_maladie/)
- 228) VIGNERON B., CORTOT A. (2011). Maladie de Crohn et rectocolite hémorragique. *La Revue du Praticien*, 61 (10), pp. 1453-1460.
- 229) VRIEZE A., VAN NOOD E., HOLLEMAN F., et al. (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 143 (4), pp. 913-916.
- 230) WALKER R. (2004). Digestive system and associated organs. Dans HIRSH D., MACLACHLAN N., WALKER R., *Veterinary microbiology (2<sup>nd</sup> ed.)*, pp. 446-450. Davis : Wiley.
- 231) WANG Z., KLIPFELL E., BENNETT B., et al. (2011). Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472 (7341), pp. 57-63.
- 232) WEESE J. (2015). *Communications personnelles de mars à juin 2015*. Guelph, Ontario, Canada : J.S. Weese, DVM, DVSc, DipACVIM, Department of Pathobiology, Ontario Veterinary College, University of Guelph.
- 233) WEIMER P. (2002). Interactions among cellulolytic and noncellulolytic ruminal microorganisms. Dans MARTIN S. *Gastrointestinal microbiology in animals*, pp. 117-138. India : Research Signpost.
- 234) WESTERMARCK E., SILTANEN R., MAIJALA R. (1993). Small intestinal bacterial overgrowth in seven dogs with gastrointestinal signs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 34 (3), pp. 311-314.

- 235) WESTERMARCK E., SKRZYPCZAK T., HARMOINEN J., et al. (2005). Tylosin-responsive chronic diarrhea in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19 (2), pp. 177-186.
- 236) WILCOCK B. (1992). Endoscopic biopsy interpretation in canine or feline enterocolitis. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, 7 (2), pp. 162-171.
- 237) WILLARD M. (1992). Normal immune function of the gastrointestinal tract. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, 7 (2), pp. 107-111.
- 238) WILLARD M., SIMPSON R., FOSSUM T., et al. (1994). Characterization of naturally developing small intestinal bacterial overgrowth in 16 German shepherd dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204 (8), pp. 1201-1206.
- 239) WILLIAMS D. (1996). Malabsorption, small intestinal bacterial overgrowth, and protein-losing enteropathy. Dans GUILFORD W., CENTER S., STROMBECK D., et al., *Strombeck's Small Animal Gastroenterology (3<sup>rd</sup> ed.)*, pp. 367-380. Philadelphia : Saunders.
- 240) WONG J., JENKINS D. (2007). Carbohydrate digestibility and metabolic effects. *Journal of Nutrition*, 137 (11, Suppl.), pp. 2539S-2546S.
- 241) WONG J., DE SOUZA R., KENDALL C., et al. (2006). Colonic health : Fermentation and short chain fatty acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40 (3), pp. 235-243.
- 242) WOODMANSEY E. (2007). Intestinal bacteria and ageing. *Journal of Applied Microbiology*, 102 (5), pp. 1178-1186.
- 243) YIN S. (2007). *The Small Animal Veterinary Nerdbook (3<sup>rd</sup> ed.)*, 450 p. Davis : CattleDog Publishing.
- 244) YOUNGSTER I., RUSSELL G., PINDAR C., et al. (2014). Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *Journal of the American Medical Association*, 312 (17), pp. 1772-1778.
- 245) ZHANG F., LUO W., SHI Y., et al. (2012). Should we standardize the 1700-year-old fecal microbiota transplantation ? *American Journal of Gastroenterology*, 107 (11), pp. 1755-1756.
- 246) ZIPURSKY J., SIDORSKY T., FREEDMAN C., et al. (2012). Patient attitudes toward the use of fecal microbiota transplantation in the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clinical Infectious Diseases*, 55 (12), pp. 1652-1658.



# **INTEREST OF FECAL MICROBIOTA TRANSPLANTATION IN THE TREATMENT OF CHRONIC DIARRHOEA IN DOGS**

## **ABSTRACT :**

Fecal microbiota transplantation is a new treatment possibility which is increasingly being studied in human and veterinary medicine. Recent findings on the relationships between a host and his intestinal flora open the door to a lot of therapeutic perspectives using this technique, especially in the treatment of digestive diseases.

The author reports the case of a one-year-and-two-months old Rottweiler dog, suffering from chronic diarrhea for approximately one year. The etiology remains unknown and the disease was refractory to antibiotics and corticoid treatments. Fecal microbiota transplantation by intestinal enema was trialed on this dog, without any other treatment. Stool aspect and consistency have been monitored regularly for three months.

Results similar to those in human studies were obtained. Symptoms improved significantly within a few days; the amelioration persisted during the three months following. However, a slight deterioration of the stool consistency was observed in the long term. A new fecal microbiota transplantation may be considered in case of a subsequent recurrence.

This thesis provides an analysis of various studies done in human medicine on fecal microbiota transplantation treatment options and effectiveness.

It aims to help the understanding of the involvement of intestinal microbiota in the development of some chronic diseases. It provides, in addition, a simple and inexpensive protocol for veterinarians wishing to develop fecal microbiota transplantation in their clinical practice.

## **KEYWORDS :**

GASTROENTEROLOGY - CHRONIC DIARRHOEA - TRANSPLANTATION - ENEMA -  
INTESTINAL FLORA - MICROBIOTA - BACTERIA - DYSBIOSIS - STOOL -  
TREATMENT - SMALL ANIMAL - DOG - HUMAN - ONIRIS

## **JURY :**

President : Mister Stanislas BRULEY DES VARANNES  
Professor at Nantes Faculty of Medicine

Director : Mister Jack-Yves DESCHAMPS  
Professor at Oniris, Nantes-Atlantic National College of Veterinary Medicine,  
Food Science and Engineering

Assessor : Misses Odile SENECA  
Lecturer at Oniris, Nantes-Atlantic National College of Veterinary Medicine,  
Food Science and Engineering

## **AUTHOR'S ADDRESS :**

Mr. Nicolas MOTHE  
48 Rue Juliette Drouet  
45800 SAINT-JEAN-DE-BRAYE

## **PRINTER :**

Impression-thèse.com  
6 Allée des Sports  
31120 PORTET-SUR-GARONNE

# **PLACE DE LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL DANS LE TRAITEMENT DES DIARRHEES CHRONIQUES DU CHIEN**

## **RESUME :**

La transplantation de microbiote fécal est une nouvelle possibilité de traitement de plus en plus étudiée en médecine humaine et vétérinaire. Les récentes découvertes sur les relations qu'entretient un individu avec sa flore intestinale ouvrent de nombreuses perspectives thérapeutiques à cette technique, notamment dans le cadre des maladies chroniques digestives.

L'auteur présente le cas clinique d'un chien Rottweiler de un an et deux mois, atteint depuis environ un an d'une diarrhée chronique, d'étiologie inconnue et réfractaire aux traitements antibiotique et corticoïde. Un essai de transplantation de microbiote fécal par lavement de rétention intestinal a été expérimenté en l'absence de tout autre médicament. L'aspect et la consistance des selles ont ensuite été évalués régulièrement pendant trois mois.

Des résultats similaires à ceux rapportés en médecine humaine ont été obtenus. Les symptômes se sont nettement améliorés en quelques jours et cela a perduré durant tout le suivi de trois mois. Cependant, une légère dégradation de la consistance des selles a été observée au long terme. Une nouvelle transplantation de microbiote fécal pourrait être envisagée en cas de récurrence ultérieure.

Cette thèse apporte une analyse des différentes études réalisées en médecine humaine sur les possibilités de traitement et l'efficacité de la transplantation de microbiote fécal.

Elle a pour objectif d'aider à comprendre l'implication du microbiote intestinal dans le développement de certaines maladies chroniques. Elle fournit, de plus, un protocole simple et peu coûteux aux vétérinaires souhaitant développer la transplantation de microbiote fécal au sein de leur pratique clinique.

## **MOTS CLES :**

GASTRO-ENTEROLOGIE - DIARRHEE CHRONIQUE - TRANSPLANTATION - LAVEMENT - FLORE INTESTINALE - MICROBIOTE - BACTERIE - DYSBIOSE - FECES - TRAITEMENT - CARNIVORE - CHIEN - HOMME - ONIRIS

## **JURY :**

Président : Monsieur Stanislas BRULEY DES VARANNES  
Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Directeur : Monsieur Jack-Yves DESCHAMPS  
Professeur à Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Agro-alimentaire et de l'Alimentation, Nantes Atlantique

Assesseur : Madame Odile SENECAT  
Maître de conférences à Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Agro-alimentaire et de l'Alimentation, Nantes Atlantique

## **ADRESSE DE L'AUTEUR :**

M. Nicolas MOTHES  
48 Rue Juliette Drouet  
45800 SAINT-JEAN-DE-BRAYE

## **ADRESSE DE L'IMPRIMEUR :**

Impression-thèse.com  
6 Allée des Sports  
31120 PORTET-SUR-GARONNE



Vu: **Le Professeur Rapporteur**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire,  
Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes  
Atlantique ONIRIS

Professeur



Jack-Yves DESCHAMPS

Vu: **La Directrice Générale**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire,  
Agroalimentaire et de l'Alimentation  
Nantes Atlantique ONIRIS  
D. BUZONI-GATEL



Nantes, le 31/09/15

Vu:

**Le Président de la Thèse**

Professeur

**Pr S. Bruley des Varannes**

Institut des Maladies  
de l'Appareil Digestif (IMAD)

Hépatogastroentérologie  
CHU Hôtel-Dieu Nantes

Vu:

Le Doyen de la Faculté de  
Médecine de Nantes

Professeur Pascale JOLLIET

**Vu et permis d'imprimer**

NOTHE S. Nicolas

