
Analyses de conformité de quelques probiotiques prescrits par le vétérinaire lors de diarrhées aiguës chez le chien

Auteur : Thilmany, Amandine

Promoteur(s) : Daube, Georges

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2022-2023

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/17729>

Avertissement à l'attention des usagers :

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

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

**ANALYSES DE CONFORMITÉ DE QUELQUES PROBIOTIQUES PRESCRITS
PAR LE VÉTÉRINAIRE LORS DE DIARRHÉES AIGÜES CHEZ LE CHIEN.**

***COMPLIANCE ANALYSIS OF SOME PROBIOTICS PRESCRIBED
BY THE VETERINARIAN FOR ACUTE DIARRHEA IN DOGS.***

Amandine Thilmany

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade

de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022/2023

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

**ANALYSES DE CONFORMITÉ DE QUELQUES PROBIOTIQUES PRESCRITS
PAR LE VÉTÉRINAIRE LORS DE DIARRHÉES AIGÜES CHEZ LE CHIEN.**

***COMPLIANCE ANALYSIS OF SOME PROBIOTICS PRESCRIBED
BY THE VETERINARIAN FOR ACUTE DIARRHEA IN DOGS.***

Amandine Thilmany

Tuteur : Professeur Georges Daube

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade

de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022/2023

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

Analyses de la conformité de quelques probiotiques prescrits par le vétérinaire lors de diarrhées aiguës chez le chien

OBJECTIFS

L'objectif de ce travail est de comparer la composition annoncée sur l'étiquette de trois probiotiques utilisés chez le chien en cas de diarrhée aiguë avec leur composition réelle. Au préalable, une synthèse des connaissances sur la composition du microbiote digestif chez les chiens sains et ceux souffrant de diarrhée aiguës sera développée ainsi qu'un inventaire des produits prébiotiques, probiotiques et synbiotiques disponibles sur le marché belge pour cette indication.

RÉSUMÉ

Au cours des dernières décennies, de nombreuses recherches ont été réalisées sur le microbiote intestinal du chien. Ce dernier est principalement composé de bactéries et chaque individu possède son propre écosystème microbien. Lorsqu'un chien est atteint d'une diarrhée aiguë, une modification significative de la composition du microbiome avec une réduction de sa diversité est observée. Ce changement a pu être montré plus précisément qualitativement et semi quantitativement grâce aux nouvelles technologies de séquençage à haut débit. Ce déséquilibre a un impact significatif sur la dégradation de l'état de santé de l'animal et l'utilisation des compléments à base de probiotiques aident à améliorer l'homéostasie du microbiote intestinal, voire à restaurer sa composition initiale.

Afin de s'assurer que le probiotique puisse agir de façon préconisée, il est nécessaire que ce dernier contienne réellement ce qui est mentionné sur l'étiquette. Dans le cadre de ce travail, trois échantillons des probiotiques Fortiflora[®], Ultradiar[®] et WeBiotic[®] ont été analysés par métagénomique visant le fragment V1-V3 du gène de l'ARN ribosomal 16S bactérien et le fragment ITS2 fongique. Les analyses ont permis de vérifier la présence d'*Enterococcus faecium* SF 68 dans le complément Fortiflora[®] et la présence de *Saccharomyces cerevisiae* et d'*Enterococcus faecium* dans le probiotique WeBiotic[®]. De l'ADN de plusieurs autres bactéries a aussi été détecté. L'analyse sur base de l'ADNr 16S et d'ITS2 du complément Ultradiar[®] n'ont donné aucun résultat étant donné qu'il s'agit d'un hydrolysate de ferments lactiques et potentiellement de levure hydrolysée. La méthode utilisée ne permet pas de vérifier la conformité de ce produit.

COMPLIANCE ANALYSIS OF SOME PROBIOTICS PRESCRIBED BY THE VETERINARIAN FOR ACUTE DIARRHEA IN DOGS.

AIM OF THE WORK

The objective of this work is to compare the composition announced on the label of three probiotics used in dogs in case of acute diarrhea with their actual composition. Beforehand, a synthesis of knowledge on the composition of the digestive microbiota in healthy dogs and those suffering from acute diarrhea will be developed as well as an inventory of prebiotic, probiotic and synbiotic products available on the Belgian market for this indication.

SUMMARY

Over the last few decades, a lot of research has been done on the dog's intestinal microbiota. The microbiota is mainly composed of bacteria and each individual has his own microbial ecosystem. When a dog suffers from acute diarrhea, a significant change in the composition of the microbiota with a reduction in its diversity is observed. This change could be shown more precisely qualitatively and semi quantitatively thanks to the new technologies of high-throughput sequencing. This imbalance has a significant impact on the degradation of the animal's health status and the use of probiotic-based supplements helps to improve the homeostasis of the intestinal microbiota or even to restore its initial composition.

In order to ensure that the probiotic can act in the recommended way, it is necessary that it really contains what is mentioned on the label. In this work, three samples of probiotics Fortiflora[®], Ultradiar[®] and WeBiotic[®] were characterized by metagenetics targeting V1-V3 fragment of bacterial 16S rDNA and fungal ITS2 DNA fragment. The analyses allowed to verify the presence of *Enterococcus faecium* SF 68 in the Fortiflora[®] supplement and the presence of *Saccharomyces cerevisiae* and *Enterococcus faecium* as dominant microflora in the probiotic WeBiotic[®]. ADN from other bacteria was also detected in both products. The 16S DNA and ITS2 analysis of the Ultradiar[®] supplement yielded no results, as it is a lactic ferment hydrolysate and potentially a hydrolyzed yeast hydrolysate. The used method don't permit to verify the compliance of this product.

REMERCIEMENT

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail de fin d'études.

En premier lieu, mon promoteur, le Docteur Georges Daube, pour ses précieux conseils, sa grande disponibilité ainsi que le temps consacré pour la relecture de mon TFE. Je tenais également à remercier Monsieur Taminiau pour le temps pris pour l'analyse des échantillons, ses explications et sa disponibilité.

En deuxième lieu, je remercie le docteur Decoster Thomas, le cabinet vétérinaire Pevenage et le cabinet Vetalliance chez qui j'ai pu réaliser des stages durant mon cursus. Merci de m'avoir donné davantage confiance, de m'avoir transmis votre savoir, de la technique et d'avoir renforcé mon amour pour la Médecine vétérinaire.

Je tenais également à remercier mon entourage. Tout d'abord, mes parents qui m'ont permis de poursuivre des secondes études afin de réaliser mon rêve. Ensuite, ma famille, mon compagnon et mes amis qui m'ont entourée et soutenue au cours de ces six années d'études.

Je remercie également mon groupe d'amis vétérinaires, sans qui, ces années n'auraient pas eu le même goût. En particulier, mon binôme Mathilde, qui a rendu cette dernière année mémorable.

En dernier lieu, je tenais à rendre un hommage à mon Pony et à remercier mes quatre pattes qui ont joué un rôle indéniable dans la réussite de mes études et dans mon envie de devenir vétérinaire.

Du fond du cœur, à tous, merci.

TABLE DES MATIÈRES

- Avant-propos : contexte et motivation de l'étude
- Introduction
 - Microbiote digestif canin
 - Composition
 - Rôle
 - Modifications lors de diarrhée aigue
 - Pro-/pré-/syn-/post-biotiques
 - Probiotiques
 - Prébiotiques
 - Synbiotiques
 - Postbiotiques
 - Probiotiques sur le marché belge contre la diarrhée chez le chien
 - Méthodes de caractérisation du microbiote
 - Culture
 - qPCR
 - Métagénomique
 - Analyse après traitement au PMA
- Objectifs
- Matériels et Méthodes
- Résultats et discussions
- Conclusions

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1 : pré-/syn-/post-biotiques vétérinaires ayant une indication digestive chez le chien (Recard-Conort, 2015)
- Tableau 2 : Principaux pro-/syn-/post-biotiques vétérinaires à visée digestive chez le chien en Belgique (2023)

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Taxons bactériens pertinents dans le microbiome fécal des chiens. (Pilla et Suchodolski (2021)
- Figure 2 : Le tractus gastro-intestinal canin et ses micro-organismes dominants (Grzeškowiak et al., 2015)
- Figure 3 : Complément alimentaire Ultradiar[®] pour chien et chat, produit par MP labo, https://www.pharmapets.be/nl/ultradiar200caps.html?gclid=CiwKCAjw0N6hBhAUEiwAXab-TdbplgnJFPi5oiRyRy1fGQ3m3OC83ehZ0m8JZmhOAJ8_H-ITDza_EBoC-CEQAvD_BwE, consulté le 12 avril 2023
- Figure 4 : complément alimentaire WeBiotic[®] pour chien et chat, produit par Wepharma[®], <https://www.ruffdog.pt/product/webiotic>, consulté le 12 avril 2023
- Figure 5: Complément alimentaire Fortiflora, produit par Purina Pro Plan, complément pour chien, <https://www.purina.be/fr/chien/alimentation-chien/produit-proplan-veterinary-diets-fortiflora-supplement>, consulté le 12 avril 2023
- Figure 6 : Analyse Métagénétique bactérienne du produit WeBiotic[®]
- Figure 7 : Analyse Métagénétique fongique du produit WeBiotic[®]
- Figure 8 : Analyse Métagénétique bactérienne du produit Fortiflora[®]

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- AGCC : Acide gras à chaîne courte
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- ARN : Acide ribonucléique
- EDTA : Éthylènediaminetétraacétique
- FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
- FOS : Fructo-oligosaccharides
- GOS : Galacto-oligosaccharides
- IL : Interleukine
- ISAPP : International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics
- ITS : Internal Transcribed Spacer
- MOS : Mannane-oligosaccharides
- OMS : Organisation mondiale de la santé
- PCR : Réaction en chaîne par polymérase
- PMA : Monoazide de propidium
- qPCR : Réaction en chaîne par polymérase quantitative
- TLR : Toll-like receptors
- UE : Union européenne
- UFC : Unité formant colonie

LISTE DES ANNEXES

- Annexe 1 : Résultat brut d'analyse métagénomique bactérienne des produits WeBiotic® et Fortiflora®
- Annexe 2 : Résultat brut d'analyse métagénomique fongique du produit WeBiotic®

1 Avant-propos : contexte et motivation de l'étude

Au cours des stages vétérinaire que j'ai pu réaliser, j'ai à plusieurs reprises observé des vétérinaires prescrire différents pro et/ou prébiotiques afin d'aider la flore digestive à se rétablir suite à un diarrhée aigüe. Par ce biais, j'ai pu remarquer que de nombreux pro/prébiotiques étaient présents sur le marché et que chaque vétérinaire avait sa préférence. Dès lors, au travers de discussions avec eux, il m'a paru intéressant de me pencher davantage sur l'étude de ceux-ci afin de connaître les différences qui existaient entre ces derniers. De plus, les pro/prébiotiques étant des compléments alimentaires, il me semblait judicieux de réaliser une comparaison entre l'étiquette du produit et sa composition réelle.

2 Introduction

Les chiens sont des carnivores qui se nourrissaient auparavant d'un régime majoritairement composé de protéines alors qu'actuellement la plupart des chiens urbains bénéficie d'une alimentation riche en glucides. Ces modifications alimentaires ont un impact sur le microbiote intestinal qui joue un rôle non négligeable dans la santé et le bien-être des animaux de compagnie. Cet écosystème est composé d'une communauté microbienne diversifiée comprenant des bactéries, des virus, des archées et des champignons. L'absorption et le métabolisme des nutriments, les défenses de l'hôte contre les agents pathogènes et la régulation du système immunitaires de l'hôte sont influencés par le microbiote.

Une perturbation dans la composition ou l'activité de ce dernier peut donc entraîner divers troubles tant gastro-intestinaux que d'autres systèmes tels que des allergies, de l'insuffisance rénale chronique, du diabète, des maladies cardiaques, de l'obésité et des symptômes de stress. (Suchodolski, 2021)

Suite à une diarrhée aigue, la flore microbienne va être modifiée. Afin d'aider cette dernière à récupérer sa composition initiale, un traitement à base de pro/prébiotique ou synbiotique peut être prescrit par le vétérinaire.

2.1 Microbiote digestif canin

2.1.1 Composition

Le microbiote intestinal se compose à 98% de bactéries, 1% d'archées et le pourcentage restant est composé de virus et champignons. La charge bactérienne présente dans l'intestin grêle du chien en bonne santé est inférieure à celle du colon. Selon la méthode de culture bactériologique, la charge bactérienne chez le chien en bonne santé est comprise entre 10^2 UFC par gramme de contenu luminal dans l'intestin grêle et 10^{11} UFC/g dans le colon. Cependant, des bactéries non cultivable du tractus digestif canin ont été identifiées grâce aux méthodes moléculaires. Désormais, il est estimé que la charge microbienne totale se situe entre 10^{12} et 10^{14} UFC/g de contenu luminal. (Pilla et Suchodolski, 2020)

L'intestin grêle est colonisé essentiellement par des bactéries aérobies et anaérobies facultatives alors que le colon contient presque uniquement des bactéries anaérobies strictes.

Une étude réalisée par Suchodolski et ses collaborateurs en 2008, via la métagénomique a permis d'identifier quatre lignées phylogénétiques majeures dans le tractus gastro-intestinal du chien sain : les Firmicutes (47,7%), les Proteobacteria (23,3%), les Fusobacteria (16,6%) et les Bacteroidetes (12,4 %). Une seconde étude, réalisée via une méthode de séquençage bactérien par Suchodolski en 2011, a permis d'identifier que la communauté bactérienne du tractus digestif, est composée à 95% par les phyla Firmicutes, Bacteroidetes et Fusobacteria suivis par les phyla Proteobacteria et Actinobacteria qui constituent entre 1 et 5% du total des bactéries identifiées. Au travers de leur étude Deng et ses collaborateurs (2015) ont montré que, selon eux, les quatre phyla bactériens prédominants dans le tractus digestif sont les Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria et Actinobacteria. Une différence quant aux phyla prédominants est conclue entre les études réalisées par Suchodolski et Deng avec leur collaborateurs respectifs. Cependant, Deng et ses collaborateurs ont également démontré que, suivant la technique d'analyse utilisée, le pourcentage de chaque phyla composant le microbiote intestinal peut varier. En effet, l'utilisation de la métagénomique ciblée via le pyroséquencage 454 a révélé que les excréments d'un chien sain était composé de 23-40% de Fusobacteria, 14-28% de Firmicutes, 31-34% de Bacteroidetes, 5-7% de Proteobacteria et 0.8-1.4% d'Actinobacteria (Middelbos et al., 2010), alors que via la métagénomique globale, le même échantillon serait composé de 37-38% de Bacteroidetes, 31-35% de Firmicutes, 13-15% de Proteobacteria, 7-9% de Fusobacteria et 1% d'Actinobacteria. (Swanson and al, en 2011). Ces deux études montrent donc des différences de

concentration en phyla bactériens qui peuvent être expliqués par des méthodes d'analyse différentes. (Deng et al., 2015)

Le phylum Firmicutes, groupe bactérien présent abondamment tout le long du tractus digestif canin, comprend majoritairement les Clostridia et minoritairement les Bacilli. (Suchodolski, 2011). Cependant, une diminution de la concentration en Clostridia est observée le long du tractus digestif. En effet, au niveau du duodénum, les Clostridia représentent 40% des clones d'ADNr 16S, 39% dans le jéjunum, alors qu'il ne compte que pour 25% dans l'iléon et 26% au niveau du colon. (Blake et Suchodolski, 2016 ; Suchodolski et al., 2008). Les entérobactéries, appartenant au phylum Proteobacteria, sont également davantage présentes dans l'intestin grêle que dans le colon. (Suchodolski et al., 2008). Les phyla Fusobacteria et Bacteroidetes sont quant à eux l'ordre bactérien présent en majorité dans l'iléon et le colon. (Grzeškowiak et al., 2015 ; Suchodolski et al., 2008). Les Lactobacilles, appartenant au phylum Firmicutes sont présents dans tout le tractus gastro-intestinal, allant de 10^4 à 10^8 UFC/ml. (Grzeškowiak et al., 2015)

Au niveau des fèces des chiens, les phyla signalés prédominants sont les Firmicutes (principalement les Clostridiales), Bacteroidetes et Fusobacteria. Cependant, le pourcentage de présence du phylum Firmicutes varie de 25 à 95% selon les études. En effet, ces fluctuations sont probablement causées par l'utilisation de méthodes d'extraction d'ADN différentes et par la sélection d'amorce de PCR universelles différentes. De plus, le phylum Actinobacteria serait systématiquement sous-estimé lorsque des amorces bactériennes universelles sont utilisées. L'utilisation des amorces spécifiques de groupe pour *Bifidobacterium* spp., appartenant au phylum Actinobacteria, permet de les mettre davantage en évidence et de confirmer leur présence chez la majorité des chiens. (Suchodolski, 2011)

Au sein du phylum Bacteroidetes, l'abondance relative entre les espèces *Prevotella* et *Bacteroides* sont très variables entre les chiens. (Pilla & Suchodolski 2021)

Dans une autre étude réalisée par Swanson et ses collaborateurs, (2010) à partir de matières fécales canines, les phyla Bacteroidetes et Firmicutes représentent respectivement 35% des séquences, suivis par Proteobacteria à 15%, Fusobacteria à 8% et finalement les Actinobacteria qui ne constituent que 1% des séquences. Une étude réalisée par Grzeškowiak et ses collaborateurs (2015), conclut également que les phyla bactériens prédominants dans les excréments canins sont les Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria et Fusobacteria. Jia et ses collaborateurs (2010), ont, quant à eux, déterminé via l'hybridation in situ (FISH) que les

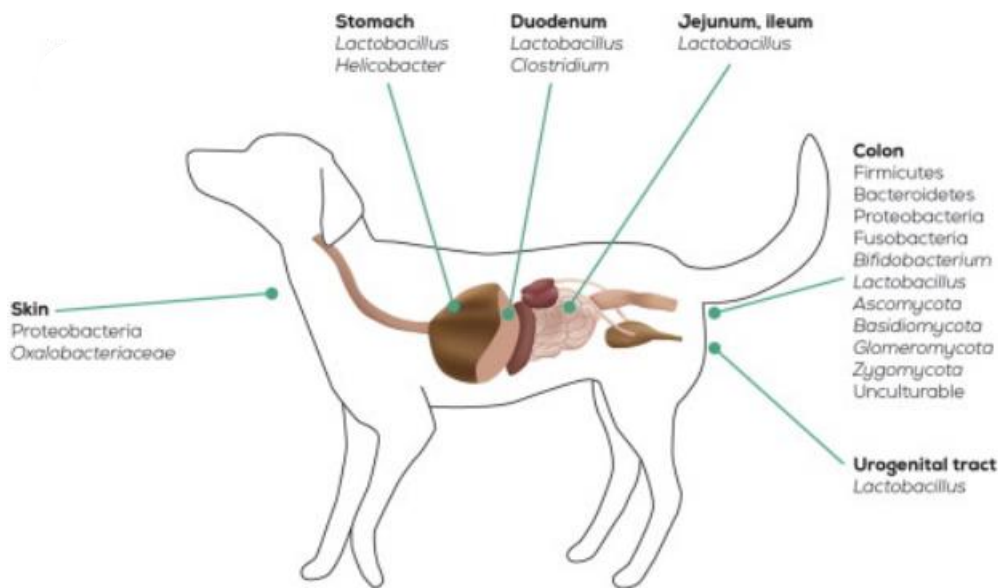
matières fécales des chiens contiennent plus de 10^8 cellules/g de bifidobactéries. (Grzeńkowiak et al., 2015)

Pilla et Suchodolski (2021) appuient la présence des phyla Proteobacteria et Actinobacteria dans les matière fécaux des chiens en bonne santé. En effet, ces phyla sont couramment identifiés dans l'intestin grêle des chiens et sont présents en quantité réduite dans les échantillons fécaux. Cependant, la présence anormalement élevé des entérobactéries dans les excréments canins sont caractéristiques d'une dysbiose canine. (Pilla & sudolski 2021)

Figure 1 : Taxons bactériens dominants dans le microbiote des chiens. (Pilla et Suchodolski, 2021)

Phylum	Class	Family	Genus/Species
Actinobacteria	Coriobacteriia	<i>Coriobacteriaceae</i>	<i>Collinsella</i>
Bacteroidetes	Bacteroidetes	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>
		<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>
Firmicutes	Clostridia	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium</i>
		<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>
		<i>Peptostreptococcaceae</i>	<i>Peptostreptococcus</i>
		<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Blautia</i>
		<i>Veillonellaceae</i>	<i>Megamonas</i>
	Bacilli	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>
		<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>
		<i>Turicibacteraceae</i>	<i>Turicibacter</i>
	Fusobacteria	Fusobacteriia	<i>Fusobacteriaceae</i>
Proteobacteria	Betaproteobacteria	<i>Alcaligenaceae</i>	<i>Sutterella</i>
	Gammaproteobacteria	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i>

Figure 2 : Le tractus gastro-intestinal canin et ses micro-organismes dominants (Grzeškowiak et al., 2015)



Outre les bactériophages très nombreux, les virus qui peuvent être retrouvés dans la flore intestinale sont notamment les Astrovirus, Coronavirus, Norovirus, et Rotavirus. En ce qui concerne les champignons, les phyla Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota, Zygomycota sont recensés en quantités variables dans le microbiote intestinal. Le phyla fongique Ascomycota est le plus abondant chez le chien (99,62 %) (Blake et Suchodolski, 2016 ; Pilla et Suchodolski, 2021 ; Grzeškowiak et al., 2015)

La composition du microbiote est influencée par l'alimentation, l'âge, les maladies gastro-intestinales, les antibiotiques, les différentes niches intestinales et l'environnement du chien. Chaque animal de compagnie possède donc son propre écosystème microbien et le maintien de l'équilibre de ce dernier est essentiel pour son homéostasie. (Suchodolski, 2011)

2.1.2 Rôle

Le microbiote exerce un rôle dans le système immunitaire de l'hôte en protégeant ce dernier contre la colonisation par des micro-organismes entéropathogènes via un mécanisme de compétition pour les sites de fixation et les nutriments entre les bactéries pathogènes et commensales de l'intestin. La microflore digestive va défavoriser les colonisations bactériennes en créant un milieu hostile au développement de ces dernières par le maintien d'un niveau de pH bas, un faible taux en oxygène et la synthèse de peptides antimicrobiens.

De plus, les bactéries peuvent produire elles-mêmes des métabolites tels que les vitamines et les acides gras à chaîne courte. Les métabolites de l'hôte peuvent également être convertis par les

enzymes bactériennes en métabolites secondaires comme par exemple les acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires. Ces derniers jouent un rôle dans la digestion des lipides mais également dans la défense des muqueuses intestinales et possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Blake et Suchodolski, 2016 ; Pilla et Suchodolski, 2020).

Les acides gras à chaîne courte tels que l'acétate, le butyrate et le propionate ont un rôle important dans l'intestin et leur production est réalisée par les bactéries suivantes : *Blautia* spp., *Ruminococcus* spp., *Faecalibacterium praunitzii* et *Turicibacter* spp. En effet, certains glucides ne sont pas digérés dans l'intestin grêle et arrivent au colon où a lieu la fermentation microbienne avec la production d'AGCC. Ceux-ci contrôlent la motilité intestinale, apportent de l'énergie aux cellules épithéliales et augmentent les lymphocytes T régulateurs (CD4+) exprimant des cytokines pourvues de propriétés anti-inflammatoires (IL-10). La motilité intestinale est également un mécanisme de défense important contre les bactéries adhérentes. (Blake et Suchodolski, 2016 ; Bai et al., 2023).

2.1.3 Modifications lors de diarrhée aigüe

La diarrhée est définie par une augmentation du volume et de la fréquence d'émission des selles avec une consistance molle à liquide. Une diarrhée aigüe dure quelques jours et est présente de manière occasionnelle (Freiche et Hernandez 2010).

Chez le chien atteint de diarrhée aigüe, une modification significative de la composition du microbiote est observée avec une réduction de sa diversité. En effet, une augmentation significative des *Clostridium* ainsi qu'une diminution significative du phylum Bacteroidetes et de *Faecalibacterium* est présente dans le microbiote canin atteint de diarrhée aigüe. (Guard et al., 2015 ; Bai et al., 2023) Selon une étude réalisée par Guard et ses collaborateurs en 2015, chez le chien malade, Bacteroidetes est présent à une médiane de 15.3% (chien sain 32.6%), Firmicute de 72.2% (chien sain 60.9%), Fusobacteria de 16.5% (chien sain 4.5%), Protéobacteria de 0.1% (chien sain 0.1%), *Clostridium* de 31.2% (chien sain 13.2%) et *Faecalibacterium* de 0.1% (chien sain 1.5%). (Guard et al., 2015)

En cas de diarrhée aigüe, l'abondance des bactéries productrices d'AGCC est diminuée dont essentiellement *Faecalibacterium* qui est une bactérie productrice de butyrate. Cependant, dans les matières fécales des chiens, uniquement une diminution significative de la concentration en propionate est observée, le taux de butyrate étant quant à lui légèrement augmenté. Cette augmentation pourrait être expliquée par une diminution de l'absorption ou de l'utilisation du

butyrate par les entérocytes. Notons que *Clostridium* peut produire du butyrate à partir de protéine via une voie alternative. (Pilla et Suchodolski, 2020 ; Bai et al., 2023)

Il a également été démontré que chez le chien atteint de diarrhée aigue plusieurs bactéries à effet probiotiques telles que *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Bifidobacterium* sont présentes en moindre quantité. Ces bactéries permettent la production d'acides, ce qui réduit le pH intestinal, inhibe la reproduction des entéropathogènes et a un rôle non négligeable dans la digestion et l'absorption des nutriments ainsi qu'au niveau du système immunitaire. (Bai et al., 2023)

Le maltotriose, oligosaccharide pouvant agir comme un prébiotique, est lui aussi présent en quantité significativement moindre chez le chien souffrant de diarrhée aigue. (Bai et al., 2023)

De plus, lors d'un état pathologique, une diminution de production de mucus et de peptides antimicrobiens, comme les bactériocines, est présente ce qui augmente la perméabilité intestinale et donc le passage de bactéries. Les lipopolysaccharides présents en surface des bactéries vont être reconnus par les récepteurs TLR présents en surface des globules blancs, polynucléaires, macrophages, lymphocytes T et B et cellules dendritiques, ce qui va provoquer la libération de cytokines pro-inflammatoires (Blake et Suchodolski, 2016).

Les causes de la diarrhée sont diverses et cette dernière peut être provoquée par des agents entériques pathogènes tels que des bactéries, des virus, des parasites ou des champignons. Les bactéries sont les causes les plus fréquentes de diarrhée en médecine vétérinaire et, parmi celles-ci, les plus régulièrement identifiées lors d'une diarrhée aigue sont *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens* et certains *Escherichia coli*. (Blake et Suchodolski, 2016).

2.2 Pro-/pré-/syn-/post-biotiques

2.2.1 Probiotiques

L'amélioration des connaissances du microbiote et la nécessité de diminuer l'utilisation des antibiotiques poussent le monde vétérinaire à prescrire davantage un traitement partiel ou total à base de prébiotiques et/ou probiotiques en cas de diarrhée aigue chez le chien. Les probiotiques sont « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte » (OMS et FAO, 2001).

La majorité des probiotiques présents sur le marché sont constitués de *Lactobacillus* spp, *Enterococcus faecium* SF68 et *Bifidobacterium* pour les bactéries et de *Saccharomyces cerevisiae* pour les levures. Afin qu'un probiotique puisse exercer son rôle, il est nécessaire que ce dernier survive à l'acidité gastrique et à la bile, soit capable de proliférer dans le colon, de combattre les

entéropathogènes, de moduler le système immunitaire et de ne pas exercer un effet pathogène, mutagène, cancérigène ou toxique pour l'hôte. (Redfern et al., 2017)

De plus, les effets bénéfiques des probiotiques sont fonction de la souche, la dose, la durée du traitement et les synergies avec les autres souches bactériennes.

Les probiotiques peuvent entre autres diminuer la diarrhée, améliorer le système immunitaire et inhiber la colonisation par des entéropathogènes. Concernant la modulation du système immunitaire, les probiotiques vont stimuler la production d'immunoglobuline de type A qui exerce un rôle capital dans la défense immunitaire des muqueuses, augmenter la production de cytokines anti-inflammation type IL-10 et diminuer la production de cytokines pro-inflammatoires notamment de type IL-6. Ils vont réduire la colonisation par des agents pathogènes en stimulant la production de peptides antimicrobiens qui exercent un effet défensif et augmenter la production de mucus qui diminue la perméabilité intestinale. La production d'acides gras à chaîne courte augmente aussi lors de la prise de probiotique. (Azad et al., 2018).

2.2.2 Prébiotiques

Les prébiotiques sont quant à eux des « Ingrédients alimentaires non digestibles par l'hôte et ayant un effet bénéfique par leur métabolisme sélectif dans le tractus intestinal. Selon l'ISAPP, trois critères sont requis pour un effet prébiotique : la résistance à la dégradation par l'acide gastrique, les enzymes ou l'hydrolyse, la fermentation du prébiotique par les germes intestinaux et la stimulation sélective de la croissance et/ou de l'activité des micro-organismes positifs de l'intestin. » (Hill et al., 2014). Les prébiotiques utilisés sont principalement des oligo-ou polysaccharides tels que les fructo-oligosaccharides (FOS), mannane-oligosaccharides (MOS), xylooligosaccharides, polydextrose et galactooligosaccharides. Des prébiotiques à longue chaîne comme l'inuline sont également souvent utilisés.

L'ajout de prébiotiques semble être une manière efficace d'agir sur le microbiote des chiens permettant d'augmenter la proportion de bactéries bénéfiques et de diminuer celle de bactéries néfastes. Les prébiotiques, tels que les MOS et FOS, seraient les plus performants pour influencer la composition du microbiome et augmenter l'absorption intestinale des minéraux. Ils n'auraient par contre pas d'effet sur le système immunitaire canin. (Pinna et Biagi, 2014).

Les prébiotiques disponibles sur le marché vétérinaire européen pour les chiens présentant des troubles gastro-intestinaux sont présentés dans le tableau 1 .

Tableau 1 : pré-/syn-/post-biotiques vétérinaires ayant une indication digestive chez le chien

(Recard-Conort, 2015)

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

2.2.3 Synbiotiques

Des synbiotiques peuvent également être prescrits par le vétérinaire, il s'agit d'une « Association d'un probiotique à son substrat prébiotique dans un seul mélange. Ce mélange a la capacité d'assurer la survie et la persistance du probiotique dans la flore digestive dans laquelle il se trouve ». (Schrezenmeir et de Vrese, 2001).

Certaines souches bactériennes vont préférentiellement utiliser un type de substrats fermentescibles plutôt qu'un autre comme par exemple le GOS qui est rapidement métabolisé par les bifidobactéries. Les FOS, sont quant à eux, facilement utilisés par *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* mais non utilisés par *Lactobacillus rhamnosus*.

Une synergie est également observée lors de l'utilisation d'un synbiotique plutôt que d'un prébiotique ou probiotique séparément. Comme le montre cette étude réalisée par d'Ogué-Bon et al. (2010), l'utilisation simultanée de GOS et de *Bifidobacterium bifidum* induit davantage de modulation du microbiote fécal canin par rapport au GOS seul. La combinaison de FOS et de *Lactobacillus acidophilus* entraîne une réduction significative des concentrations fécales d'ammoniac et de certains catabolites par rapport à l'administration séparée de l'une ou l'autre

des deux préparations. Il a également été prouvé que l'administration d'un synbiotique contenant des *Enterococcus*, des *Streptococcus*, des *Bifidobacterium*, des *Lactobacillus*, des FOS et des arabinogalactanes provoque un accroissement significatif des concentrations en *Streptococcus* et *Enterococcus* spp dans le microbiote canin lors de l'administration du synbiotique. (Pinna et Biagi, 2014).

2.2.4 Postbiotiques

Un postbiotique est défini comme « une préparation de micro-organismes inactivés et/ou de leurs composants qui confère un bénéfice pour la santé de l'hôte. Un postbiotique doit inclure une certaine biomasse microbienne non vivante, qu'il s'agisse de cellules microbiennes entières ou de composants cellulaires » selon l'ISAAP (2019). Un processus technologique a donc été réalisé sur le micro-organisme vivant tels que les bactéries ou les levures pour le tuer. De ce fait, ces dernières sont plus stables que leur forme vivante et sont donc plus sécuritaires. (ISAAP 2019). Parmi les postbiotiques utilisés, les AGCC tels que le butyrate est fréquemment cité, mais également les lipopolysaccharides, paroi cellulaires, la lysine, l'acide lactique,.. (Moradi et al., 2021).

2.2.5 Probiotiques sur le marché belge contre la diarrhée chez le chien

Les différents probiotiques commercialisés en Belgique sont repris dans le tableau suivant. Ils sont commercialisés par divers laboratoires et les doses des probiotiques présents dans chacun de ceux-ci peuvent fortement varier.

Tableau 2 : Principaux pro-/syn-/post-biotiques vétérinaires à visée digestive chez le chien en Belgique (2023)

Souche	Nom commercial	Dose	Fabriquant
<i>Enterococcus faecium</i> (NCIMB 10415)	Canigest [®]	6,6 x 10 ¹¹ UFC/kg	TRM Pet Nutrition
	Canikur pro [®]	2 x 10 ¹² UFC/kg	Boehringer Ingelheim
	Fortiflora [®]	1 x 10 ¹² UFC/kg	PURINA [®] PROPLAN [®]
	Pro-kolin [®]	2 x 10 ¹¹ UFC/kg	TVM
	SYNBIOTIC D-C [®]	2 x 10 ¹³ UFC/kg	TVM
	Protecdiar KH [®]	2 x 10 ¹⁰ UFC/kg	Ecuphare
	Enteroferm Gel [®]	1,5 x 10 ¹² UFC/kg	Medpets
	Enteromicro [®]	1,15 x 10 ¹² UFC/kg	MP Labo
	Fidavet kaodyn [®] , fidavet fiberdyn [®] , fidavet benedyn [®]	3,5 x 10 ¹² UFC/kg	Elanco
WeFiber	Non mentionné	Wexo	

<i>Enterococcus faecium</i> (NCIMB10415) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	WeBiotic Fast® WeBiotic®	1,05 x 10 ¹⁰ UFC/kg 2.12g/kg 1,05x10 ⁹ UFC /comprimé 10mg/comprimé	WePharm®
<i>Bacillus subtilis</i> (DSM 5750) et <i>Bacillus licheniformis</i> (DSM 5749) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Vedistop pâte	Pour les 2 bactéries : 2,56.10 ¹¹ UFC/kg 1,5 mg/kg	Agona Sara scrI
Hydrolysats de ferments lactiques <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ultradial®	Non mentionné Non mentionné	MP labo
Ferments lactiques <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Vedistop poudre/gélules	Non mentionné 18 mg/kg	Agona Sara scrI
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Intesyl	Non mentionné	Sogeval
	Canizyme	76 x 10 ⁹ UFC/kg	Ornis
<i>Enterococcus faecium</i> 25 mg <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 25 mg	Bioprotect	2,5x10 ⁹ UFC/kg 2,5x10 ⁹ UFC/kg	Obione
<i>Enterococcus faecium</i> (NCIMB10415) <i>Lactobacillus acidophilus</i> (DSM13241) <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (DSM7133) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Enteromicro	≥4,5x10 ⁸ UFC/comprimé ≥4,5x10 ⁸ UFC/comprimé ≥4,5x10 ⁸ UFC/comprimé 1.125 x 10 ⁹ UFC/kg	MP labo
<i>Bifidobacterium lactis</i> (LA303/LA304) <i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA201) <i>Lactobacillus plantarum</i> (LA 301) <i>Lactobacillus salivarius</i> (LA302)	Flore équilibre	Pour les 5 bactéries : 17,8.10 ¹² UFC/kg	Wamine
<i>Lactobacillus fermentum</i> (NCIMB41636) <i>Lactobacillus plantarum</i> (NCIMB 41638) <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (NCIMB 41640)	Procanicaire	Pour les 3 Lactobacillus : ≥3x10 ¹¹ UFC/kg	Ecuphar

3 Méthodes de caractérisation du microbiote

3.1 Culture

La culture a longtemps été l'unique moyen de connaître les bactéries rencontrées dans le microbiote canin. Cependant, cette dernière ne permet pas d'identifier l'entière des espèces présentes. En effet, certaines bactéries ne croissent que sur des milieux de cultures spécifiques ou sur des milieux non définis ou non disponibles. De plus, le microbiote canin est essentiellement composé de bactéries anaérobies strictes qui sont susceptibles, dès lors, de ne pas être préservées lors du prélèvement mais qui nécessitent également des milieux de culture spécifiques pour croître.

La culture demeure malgré tout essentielle pour tester la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique. (Suchodolski, 2021)

3.2 qPCR

Une fois le séquençage du fragment du gène codant pour l'ARNr 16S réalisé pour les bactéries ou un séquençage du gène ITS2 pour les levures et les moisissures, une PCR quantitative, qPCR, est aussi utile afin de quantifier de façon absolue les organismes détectés. Cette dernière méthode nécessite donc une connaissance préalable des séquences d'ADN à amplifier.

Dans la qPCR, la mesure de l'amplification se fait en temps réel grâce à un marqueur fluorescent dont la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés par la PCR. Une PCR quantitative est donc une analyse rapide (moins de 24h) et hautement reproductible (Suchodolski, 2021)

3.3 Métagénétique

3.3.1 Métagénétique bactérienne

Afin d'avoir une analyse bactérienne qualitative dans un échantillon, la méthode de séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S peut être utilisée. En effet, l'ADNr 16S est présent dans toutes les bactéries et est contenu dans la petite sous-unité 30S des ribosomes 70S. L'ADNr 16S est composé de régions conservées, qui vont permettre de capturer des fragments du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S via des amorces (par exemple pour séquencer le fragment V1-V3), et de régions variables grâce à laquelle les taxons bactériens vont être discriminés. Pour cette méthode d'identification bactérienne, l'ADN est en premier lieu amplifié, puis séquencé et finalement analysé sur base d'un fichier informatique afin de connaître les bactéries présentes dans l'échantillon. (Suchodolski, 2021 ; Church et al., 2020)

3.3.1 Métagénétique fongique

Comme pour les bactéries où c'est l'ADNr 16S qui est utilisé, la partie ITS2 de l'ADN ribosomique des levures et moisissures est étudiée afin d'analyser qualitativement les levures présentes dans l'échantillon. La partie ITS, englobant les régions ITS 1 et ITS2, possède une grande variabilité selon le statut de l'espèce et est non codante. Les amorces sont donc souvent conçues sur la base des séquences des régions codantes pour l'ADNr étant donné que ces dernières contiennent des régions hautement conservées et peu variables. L'ADNr 5.8S peut permettre de donner des informations taxonomiques précises. La partie ITS est située entre les gènes codant pour l'ARNr 18S et 28S. (Ciardo et al., 2005 ; Ceugniet et al., 2017).

Grâce à la métagénétique, il est désormais possible d'identifier des espèces du microbiote intestinal qui ne sont pas cultivables. Cependant, la métagénétique ne fournit pas d'information

sur les capacités fonctionnelles, ni sur la viabilité des agents présents dans le microbiote, ni même sur leurs concentrations absolues.

3.4 Analyse après traitement au PMA

Un traitement à base de monoazide de propidium peut être réalisé afin de neutraliser la présence d'ADN libre et celui de bactéries mortes dans un échantillon. Le PMA est un colorant, qui soumis à la photo activation, forme des liaisons covalentes avec l'ADN. En effet, ce dernier se lie préférentiellement à de l'ADN double brin, et ce, de manière permanente. Cependant, afin que le PMA puisse se lier à de l'ADN double brin, il est impératif que celui-ci se trouve libre dans le milieu étant donné que la membrane cellulaire intacte est imperméable au PMA. Une différenciation entre les bactéries vivantes et mortes est donc réalisable. Cette distinction est essentielle car elle permet de réaliser une PCR quantitative uniquement sur les bactéries vivantes et donc potentiellement actives. (Wagner et al., 2008)

4 Objectifs

L'objectif des analyses de laboratoire réalisées dans le cadre de ce travail est de comparer la composition mentionnée sur l'étiquette des probiotiques sélectionnés à savoir Ultradiar®, WeBiotic® et Fortiflora® à la composition réelle du produit.

5 Matériels et Méthodes

5.1 Caractérisations générales

Trois probiotiques régulièrement prescrits par des vétérinaires canins suite à une diarrhée aigüe ont été sélectionnés. Il s'agit :

- Ultradiar®, produit par MP labo, est composé de Poudre de baie de myrtilles, poudre de caroube, argile montmorillonite, levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*), charbon actif, hydrolysats de ferments lactiques (*Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*).

Ce probiotique est vendu par boîte de 200 gélules. Il est recommandé de donner 1 à 2 gélules par jour pour 10 kg de poids de chien. Il peut être soit avalé directement par le chien lors d'un repas ou il peut être mélangé à la nourriture après ouverture de la gélule. Aucune publication n'est disponible pour ce probiotique.



Figure 3 : Complément alimentaire Ultradiar® pour chien et chat, produit par MP labo, https://www.pharmapets.be/nl/ultradiar-200caps.html?clid=CjwKCAjwON6hBhAUEiwAXab-TdbplqJFPj5oiRvRy1fGQ3m3OC83ehZ0m8JZmhOAJ8_H-ITDzo_EBoC-CEQAVD_BwE, consulté le 12 avril 2023

- WeBiotic® qui est produit par Wepfarm®. Chaque comprimé est composé de bentonite : 100mg, pectine : 55 mg, FOS: 20 mg, levures (*Saccharomyces cerevisiae*) : 10 mg, *Enterococcus faecium* : 1,05x10⁹ UFC (54 mg), glutamine (protéine de soja/acide glutamique) : 100 mg / 14 mg, vitamine B1 (thiamine) : 4,8 mg, vitamine B2 (riboflavine) : 14,4 mg, vitamine B6 (pyridoxine) : 3,6 mg. Ce probiotique se vend par boîte de 30 ou 120 comprimés. Les comprimés sont à donner directement dans la bouches durant 7 jours consécutifs. Le dosage recommandé est de : < 8kg : 1 comprimé/jour ; 8-16 kg : 2 comprimés/jour ; 16-30kg : 3 comprimés/jour ; >30kg : 4 comprimés/jour.



Figure 4 : complément alimentaire WeBiotic® pour chien et chat, produit par Wepfarm®, <https://www.ruffdog.pt/product/webiotic>, consulté le 12 avril 2023

- Fortiflora®, produit par Purina® Pro Plan®. Ce probiotique est composé de viande et sous-produits d'origine animale, sulfate de fer monohydraté : 730 mg/kg, iodate de calcium anhydre : 18 mg/kg, cuivre E4 : 110 mg/kg, sulfate de manganèse monohydraté : 340 mg/kg, sulfate de zinc monohydraté : 1.100 mg/kg, sélénium : 1,0 mg/kg, *Enterococcus faecium* SF 68 NCIMB 10415 (4b1705) : 1x10¹² CFU/kg.



Figure 5: Complément alimentaire Fortiflora, produit par Purina Pro Plan, complément pour chien, <https://www.purina.be/fr/chien/alimentation-chien/produit-proplan-veterinary-diets-fortiflora-supplement>, consulté le 12 avril 2023

Pour administrer ce probiotique, il est conseillé de donner en une seule prise la totalité du sachet sur la nourriture du chien et ce pendant au moins 30 jours. Ce complément est vendu dans une boîte contenant 30 sachets.

Quatre publications ont été réalisées sur le complément alimentaire Fortiflora®.

Une étude randomisée a été réalisée sur la stabilité du microbiote oral canin de 13 chiens (valeur moyenne de 13,5 mois et 26 kg) après administration durant 4 semaines du probiotique Fortiflora® selon les recommandations du fabricant. Tous les chiens ont reçu une alimentation Purina® Pro Plan® agneau, poulet ou saumon. Des échantillons oraux ont été prélevés à raison d'une fois par semaine durant sept semaines. L'administration du probiotique n'a pas eu d'effet significatif sur l'abondance relative des taxons bactériens buccaux lorsque le groupe test et le groupe témoin ont été comparés. (Bell et al., 2020)

Une seconde étude randomisée en simple aveugle a été réalisée sur l'évaluation de la complémentarité du probiotique Fortiflora® comme traitement d'appoint pour des chiens

adultes atteints de dermatite atopique environnementale sensible à l'oclocitinib. L'étude a été réalisée sur 40 chiens durant 12 semaines, dont la dermatite atopique était préalablement stable durant minimum 6 mois. Les chiens du groupe test ont reçu deux fois par jour 1g du complément soit 1×10^8 UFC/g d'*Enterococcus faecium* SF68 et ceux du groupe témoin ont reçu un placebo. Après 8 semaines de traitement, les doses d'oclocitinib ont été diminuées de 25% chez le groupe test. Sur base des signes cliniques visuels de dermatite atopique, la supplémentation en probiotique n'a montré aucune différence clinique suite à la réduction de la dose d'oclocitinib par rapport au groupe témoin. (Yamazaki et al., 2019)

La troisième étude randomisée en simple aveugle a été réalisée sur l'effet de l'administration du probiotique Fortiflora® sur le microbiote fécal et les signes gastro-intestinaux (vomissement et diarrhée) chez des chats ayant reçu l'antibiotique amoxicilline-clavulanique. Les 27 chats de l'étude ont reçu durant 7 jours l'antibiotique soit avec une complémentation pendant 14 jours du probiotique, selon les recommandations du fabricant, pour le groupe test soit sans complémentation pour le groupe témoin. Aucune différence quant à la diversité du microbiote fécal n'a été détectée entre le groupe témoin et le groupe test, cependant, une complémentation en *Enterococcus faecium* SF68 a pu atténuer la diarrhée associée à l'administration d'amoxicilline-acide clavulanique. (Torres-Henderson et al., 2017)

La dernière étude réalisée sur le complément Fortiflora® a porté sur 32 chiens de refuge atteints de diarrhée ayant reçu du métronidazole avec et sans probiotique. Les chiens étaient atteints par un ou plusieurs des agents entériques suivants : *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp., et l'entérotoxine de *Clostridium perfringens*. Les chiens ont reçu du métronidazole durant 7 jours avec ou sans *Enterococcus faecium* SF68 à dose de 5×10^8 UFC/dose 1 fois par jour. L'étude permet de conclure que les chiens ayant reçu la bithérapie avaient un pourcentage de jours avec des selles normales significativement plus élevé que ceux du groupe témoin. (Fenimore et al., 2017)

5.2 Analyses des échantillons

Les échantillons ont été analysés sans avoir subi préalablement de traitement au PMA.

5.2.1 Extraction et purification de l'ADN

Chacun des échantillons de probiotique Fortiflora[®], Ultradiar[®] et WeBiotic[®] ont été solubilisés dans le tampon de lyse du kit Qiagen et l'extraction de l'ADN total de chaque suspension primaire a été réalisée avec le kit d'extraction DNeasy Blood & Tissue DNA (Qiagen, Venlo, Pays-Bas) suivant les recommandations du fabricant. L'ADN total obtenu a été élué dans de l'eau sans DNase/RNase et quantifié à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop ND-1000 (Isogen, St-Pieters-Leeuw, Belgique). Finalement, le stockage des échantillons d'ADN pur a été réalisé à - 20 °C jusqu'à leur utilisation pour le séquençage. (Ceugniez et al., 2017).

5.2.2 Analyses bactériennes via ARN 16S

1. Amplification et séquençage de la bibliothèque des fragments V1-V3 du gène de l'ARNr 16S

Des librairies d'ADN bactérien ont été préparées pour chacun des échantillons : Fortiflora[®], Ultradiar[®] et WeBiotic[®]. L'utilisation des amorces (avec des adaptateurs Illumina), en sens direct (5'-GAGAGTTTGATYMTGGCTCAG-3 ') et en sens inverse (5'-ACCGCGGCTGCTGGCAC-3'), ont permis de réaliser une amplification par PCR de la région hypervariable V1-V3 de l'ADNr 16S bactérien. (Nguyen Cong et al., 2020).

Un procédé de purification a pu être réalisé pour chaque produit de PCR à l'aide du kit de billes Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Pasadena, CA, USA). Ensuite, chacun de ses produits ont été soumis à un second cycle de PCR pour indexation à l'aide des amorces d'index Nextera XT 1 et 2. Ils seront ensuite quantifiés via le Quant-IT PicoGreen (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) et dilué à 10 ng / µL.

Finalement, chaque échantillon de la bibliothèque a été soumis à une PCR quantitative (quantification finale) en utilisant le kit KAPA SYBR FAST qPCR (Kapa- Biosystems, Wilmington, MA, USA) avant normalisation, regroupement et séquençage sur un séquenceur MiSeq à l'aide du réactif v3 (Illumina, San Diego, Californie, États-Unis).

Un contrôle positif utilisant l'ADN de 20 espèces bactériennes définies et un contrôle négatif (de l'étape PCR) ont été inclus lors des cycles de séquençage (Nguyen Cong et al., 2020).

2. Traitement bioinformatique des séquences

Le logiciel MOTHUR v1.39.5 et l'algorithme VSEARCH ont été utilisés pour l'alignement, le regroupement et la détection des chimères. Une distance de 0,03 a été utilisée afin de générer des unités taxonomiques opérationnelles (OTU). « L'alignement de référence 16S et l'attribution taxonomique étaient basés sur la base de données SILVA (v1.28) de séquences d'ARNr 16S pleine longueur » (Nguyen Cong et al., 2020).

Au départ, un nombre « X » de séquences brutes est présent. Ces dernières vont subir un nettoyage, suivant la longueur et la qualité des séquences, ainsi qu'une élimination des contaminants chimériques, ce qui donne un nombre « Y » de séquences. Un pourcentage de ce nombre « Y » de séquence est utilisé comme un sous-échantillonnage pour le regroupement en OTU et leur assignation taxonomique à partir du même nombre de séquences de départ (Nguyen Cong et al., 2020).

3. Analyse qualitative et quantitative

Un tableau reprenant les espèces des bactéries présentes dans les échantillons ainsi que leur valeur quantitative relative a été réalisée.

5.2.3 Analyses des levures via ITS

1. Construction et séquençage d'une bibliothèque de gènes d'ADN 5.8S-ITS2

Des amorces universelles avec des adaptateurs Overhang Illumina ciblant la région ITS2 ont permis de préparer des bibliothèques de PCR d'ADNr 5.8S-ITS2 pour chacun des échantillons Ultradiar® et WeBiotic®. L'amorce directe ITS3KYO2 (5'-GATGAAGAACGYAGYRAA-3') et l'amorce inverse ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ont été utilisées. La purification de chaque produit de PCR a été réalisée avec le kit de billes Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Pasadena, USA). La deuxième PCR d'indexation a été effectuée à l'aide des amorces d'index Nextera XT 1 et 2 (Illumina, San Diego, USA). Les produits de PCR ont été purifiés comme précédemment et les quantifications ont été réalisées avec le Quant-IT PicoGreen (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA). (Ceugniez et al., 2017)

Après quantification, chaque produit PCR a été dilué à 10 ng/μL avec du Tris 10 mM Tween 20 0,05 % et ensuite tous les produits de PCR ont été mélangés ensemble. Afin de vérifier que la librairie était exempte de bandes indésirables, un gel d'agarose 1% a été utilisé. Dans le cas contraire, une nouvelle purification a été effectuée avec des billes AMPure XP. Le kit KAPA SYBR®

FAST qPCR (KapaBiosystems, Wilmington, USA) a permis une quantification précise, via qPCR, de chaque échantillon de la bibliothèque. Finalement une étape de normalisation, pooling et séquençage sur un séquenceur MiSeq à l'aide de réactifs v3 (Illumina, USA) a été effectué. (Ceugniez et al., 2017).

2. Analyse bio-informatique

Le traitement des lectures de séquence a été réalisé via le progiciel MOTHUR v1.35 et de l'algorithme UCHIME (http://drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html). Une distance de 0,03 a été utilisée afin de générer l'unité taxonomique opérationnelle (OTU). La base de données UNITE v6 des séquences d'ADNr ITS1-5.8S-ITS2 pleine longueur a servi de base pour l'alignement de référence de l'ADNr ITS2-5.8S et l'attribution taxonomique. La longueur moyenne est de 351 pb. (Ceugniez et al., 2017).

6 Résultats

6.1 WeBiotic®

Le résultat de l'analyse Métagénomique bactérienne est présenté à la figure 6 et montre que l'ADN de 4 bactéries majoritaires a été détecté. Le graphique montre une nette supériorité des *Enterococcus faecium* à raison de 69.54%, suivis par les *Paraclostridium bifermentans/benzoelyticum* à 25.51%, *Peptostreptococcus russellii* à 3.25% et *Clostridium perfringens* à 0.2%. Les autres bactéries présentent en minorité et non pathogènes ont été rassemblées sous l'appellation « autres » et représentent ensemble 1.5%. Cette analyse a aussi mis en évidence de l'ADN ribosomal de chloroplastes de Soja à hauteur de 25.24% des séquences totales séquencées. Ces séquences ont été éliminées pour les calculs de pourcentage de séquences bactériennes.

Figure 6 : Analyse Métagénomique bactérienne du produit WeBiotic®



Sur base de l'analyse Métagénétique fongique, figure 7, les analyses montrent que *Saccharomyces cerevisiae* est présent à hauteur de 100% après élimination des séquences issues de chloroplastes de soja et qui représentaient 32,18% des séquences obtenues.

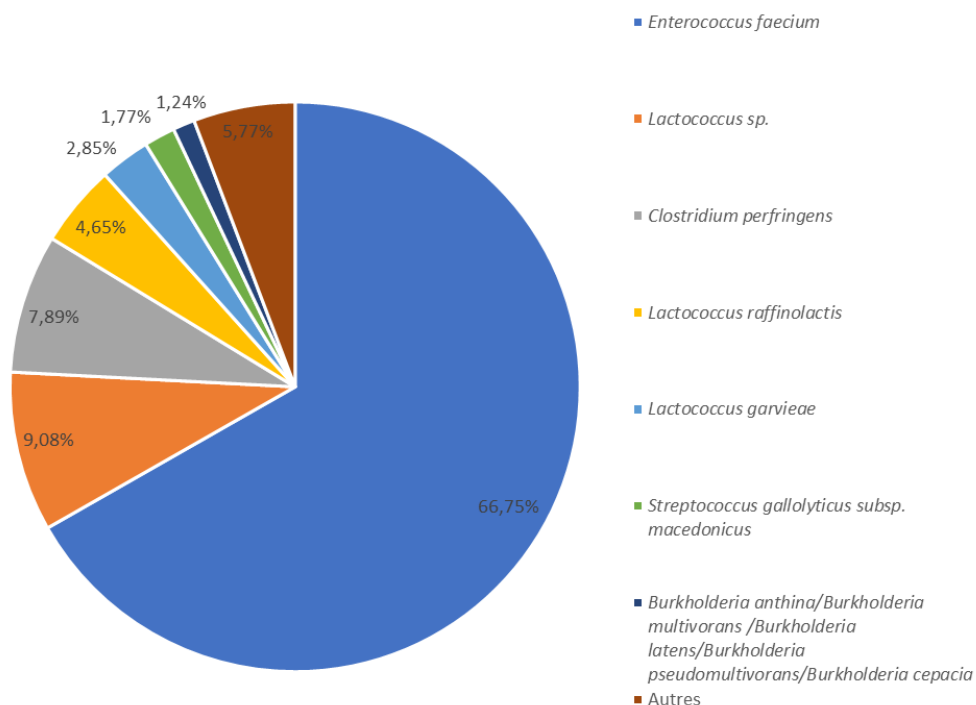
Figure 7 : Analyse Métagénétique fongique du produit WeBiotic®



6.2 Fortiflora®

La figure 8 montre la nature de l'ADN bactérien présent dans le probiotique Fortiflora®. Le graphique montre une nette supériorité des *Enterococcus faecium* à raison de 66.75%, suivi de *Lactococcus* sp. à 9.08%, *Clostridium perfringens* à 7.89%, *Lactococcus raffinolactis* à 4.65%, *Lactococcus garvieae* à 2.85%, *Streptococcus gallolyticus subsp. Macedonicus* à 1.77%, les *Burkholderi* à 1.24% et finalement un ensemble de 166 autres bactéries représentant 5.77% .

Figure 8 : Analyse métagénétique bactérienne du produit Fortiflora®



6.3 Ultradiar®

Les analyses Métagénomiques bactérienne et fongique du complément Ultradiar® n'ont donné aucune amplification. Le dosage PCR Kapa n'a également pas donné de résultat, il n'y a pas donc pas d'ADN de bactéries, ni de levure dans le produit en quantité suffisante pour être amplifié.

7 Discussions

Il est nécessaire de rester prudent quant à l'interprétation des résultats. En effet, les résultats ont été obtenu sur base d'un seul échantillon par produit et ne représentent donc pas la population bactérienne et fongique moyenne retrouvée dans chacun de ces produits. De plus, il faut rester prudent quant à la comparaison entre l'étiquette du produit et les résultats des échantillons car la méthode d'analyse utilisée nous impose des limites. En effet, idéalement un prétraitement à base de monoazide de propidium aurait dû être préalablement réalisé pour s'assurer de la viabilité des souches dont l'ADN a été retrouvé. Les conséquences de la présence de ces autres espèces bactériennes, même si elles sont inactivées, pose quand même question. De plus, une analyse quantitative aurait permis de davantage comparer l'étiquette avec les résultats obtenu.

7.1 WeBiotic®

Selon l'étiquette, le complément alimentaire WeBiotic® doit contenir 54mg d'*Enterococcus faecium* et 10mg de *Saccharomyces cerevisiae* par comprimé. Les analyses sur base de l'ADN r 16S et de l'ITS2 ne sont pas prévues pour quantifier un dosage précis de bactéries ou de levures, une analyse qPCR, réalisée en parallèle, aurait pu répondre à cette question. L'étude réalisée dans le cadre de ce travail peut donc seulement attester de la présence d'ADN d'*Enterococcus faecium* ainsi que de *Saccharomyces cerevisiae* dans ce probiotique, mais ne peut pas quantifier leur dosage, ni valider leur viabilité. La bactérie *Enterococcus faecium* et la levure *Saccharomyces cerevisiae* représentent néanmoins la majorité des séquences obtenues.

Sur base de cette analyse, la présence d'ADN de soja et d'autres bactéries comme *Paraclostridium bifementans*, *Paraclostridium benzoelyticum*, *Peptostreptococcus russellii* et *Clostridium perfringens* a également été retrouvé.

Le soja est la source principale de protéines présentes dans le probiotique. La provenance du soja n'est pas mentionnée sur l'emballage du produit. Dès lors, sur base du règlement (UE) n°619/2011, il est supposé que le probiotique contient moins de 0.9% d'organisme

génétiquement modifié. En effet, la loi mentionne que « les denrées alimentaires contenant une quantité correspondante ne dépassant pas 0.9% d'organisme génétiquement modifié, pour autant qu'elle soit fortuite ou techniquement inévitable, ne sont pas soumis à une information écrite obligatoire sur le produit ». (règlement (UE) No 619/2011 de la commission du 24 juin 2011)

Le soja est une des principales sources végétales d'*Enterococcus spp.* Lors de la fermentation du soja, la bactérie *Enterococcus faecium* se développe et atteint des concentrations de 10^6 - 10^7 UFC/g en 48h de fermentation. Le lait de soja est quant à lui un excellent milieu de croissance pour les bactéries lactiques étant donné que le soja apporte des hydrates de carbone fermentescibles. De plus, les bactéries *Enterococcus* sont peu exigeantes en facteurs de croissance et se multiplient donc aisément sur les géloses ordinaires Trypticase-Soja (TS) après incubation. La raison de la présence du soja dans le produit demeure inconnue, des suppositions peuvent cependant être réalisées quant à son rôle. En effet, il peut être présent comme source d'*Enterococcus*, comme excipient ou comme contaminant d'un ingrédient présent dans le produit. (Aguilar-Galvez et al., 2012 ; Mital et Steinkraus, 1975).

Étant donné qu'aucun traitement à base de monoazide de propidium n'a été réalisé avant l'analyse du complément alimentaire WeBiotic®, les bactéries *Paraclostridium bifermentans*, *Paraclostridium benzoelyticum*, *Peptostreptococcus russellii* et *Clostridium perfringens* ne sont pas forcément présents sous forme viable dans le produit. Les conséquences de leur présence sont tout de même développées ci-dessous.

Une étude a récemment démontré que lorsqu'une souris est infectée par *Clostridioides difficile*, l'ajout de *Paraclostridium bifermentans* a un impact positif sur la survie de la souris. En effet, *Paraclostridium bifermentans* entre en compétition pour les acides aminés avec *Clostridium difficile*, ces derniers étant nécessaires à la croissance de la bactérie pathogène. Cette compétition module donc la colonisation, la croissance et la virulence de *Clostridium difficile* ce qui impacte la survie de l'hôte en réduisant la gravité de la maladie. (Girinathan et al., 2021).

Chez la souris gnotobiotique, il a également été démontré qu'un déficit en tryptophane d'origine alimentaire provoque des colites et qu'une supplémentation en cet acide aminé essentiel aide à lutter contre le processus inflammatoire. *Peptostreptococcus russellii* est une bactérie qui métabolise le tryptophane et protège donc l'hôte de la colite en transformant le tryptophane en acide indoleacrylique, qui, via son récepteur, améliore la fonction de la barrière épithéliale. De plus, le tryptophane provenant de l'alimentation a également une influence sur l'immunité

épithéliale via la stimulation de la production de peptides antimicrobiens qui aident à réguler la composition du microbiote intestinal et protègent des infections par des agents pathogènes opportunistes. (Schröder et al., 2020)

La bactérie *Clostridium perfringens* est une composante de la flore commensale du chien. Cependant, lorsqu'une surcroissance de cette dernière est présente, elle est responsable de la diarrhée aiguë hémorragique chez le chien. La raison de la présence de cette bactérie ainsi que son origine demeure inconnue. Il est supposé qu'il s'agit d'une contamination indésirable dans le produit.

7.2 Fortiflora®

Selon l'étiquette, le complément Fortiflora® doit contenir 1×10^{12} CFU/kg d'*Enterococcus faecium* SF 68. Les résultats obtenus suite à l'analyse permettent de confirmer la présence en proportion notable d'ADN de cette bactérie.

Sur base de l'analyse, de l'ADN d'une espèce non identifiée de *Lactococcus* et des bactéries *Clostridium perfringens*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus gallolyticus subsp. macedonicus*, *Burkholderia* et encore de 166 autres espèces bactériennes sont également présents dans le complément. Cette multitude d'espèces différentes avec pour réservoir, dans l'ordre, les produits fermentés, l'environnement et/ou le tube digestif pose question sur la maîtrise de la qualité des matières premières utilisées pour la fabrication de ce complément alimentaire.

Clostridium perfringens est présent en proportion non négligeable dans le produit. Elle peut provenir d'une matière première ou d'une recontamination. C'est une bactérie présente naturellement dans l'intestin du chien. De plus, même si quelques études indiquent que *Clostridium perfringens* peut être un entéropathogène primaire chez le chien la plupart des études suggèrent qu'il s'agit plutôt d'un agent opportuniste dans cette espèce. Il demeure cependant inexpliqué la raison pour laquelle l'ADN de cette bactérie est présent en telle quantité dans l'échantillon. (Mehdizadeh Gohari et al., 2020 ; Silva et Lobato, 2015)

De l'ADN de *Lactococcus* est également présent dans ce probiotique. Une étude réalisée par Jung et al. en 2020, suggère que *Lactococcus raffinolactis* a des applications industrielles potentielles. En effet, cette dernière est capable de fermenter les α -galactosides comme le raffinose qui sont prédominant dans les aliments dérivés du soja. Les α -galactosides peuvent provoquer des flatulences et de la diarrhée chez le chien et par conséquent l'utilisation de cette bactérie est un

avantage significatif. *Lactococcus garvieae* est quant à lui un pathogène mortel des poissons. Chez l'homme, elle peut provoquer de rares bactériémies et endocardites et atteint très rarement le chien. La bactérie peut être présente suite à une contamination ou présente dans le complément sous forme vivante ou morte. (Jung et al., 2020 ; Thiry et al., 2021)

Préalablement, dans l'alimentation humaine, un enrichissement en acide folique était obligatoire. Cependant, les scientifiques ont remis en question cette obligation à cause des effets secondaires indésirables potentiels lors de consommation excessive. La bactérie *Streptococcus gallolyticus subsp. macedonicus* est capable de produire des formes naturelles de folate qui pourraient prévenir les carences sans causer d'effets indésirables. Il s'agit donc d'une bactérie prometteuse dans les applications technologiques. (Laiño et al, 2019).

7.3 Ultradiar®

L'analyse sur base de l'ADNr 16S n'a donné aucun résultat car les bactéries présentes dans le produit sont hydrolysées. En effet, l'hydrolyse a fragmenté de manière trop intensive les composants des bactéries ; aucun fragment d'ADN de plus de 500 bases n'était donc présent, et, de ce fait, l'amplification n'a donné aucun résultat. Il est donc impossible d'aller plus loin sur l'étude de la composition bactérienne de départ de ce probiotique avec les techniques qui ont été utilisées pour ce travail. Cependant, ce n'est pas pour autant que ces bactéries n'ont pas été utilisées pour la fabrication de ce produit. Des techniques basées sur le séquençage de plus petits fragments d'ADN pourraient être utilisées pour la caractérisation de produits hydrolysés. (Suchodolski, 2021)

L'analyse métagénomique fongique et le dosage PCR Kapa du complément Ultradiar® n'ont également donné aucun résultat. Sur l'étiquetage du produit il n'est pas mentionné s'il s'agit de levure vivante ou hydrolysée. En effet, une hydrolyse trop intensive de la levure pourrait expliquer l'absence de résultat avec les méthodes d'analyse utilisée dans le cadre de ce travail.

8 Conclusions

Au cours de la vie du chien, le microbiote intestinal évolue tout en demeurant unique et spécifique pour chaque individu. Ce dernier est composé majoritairement par des bactéries et minoritairement par des virus, des champignons et des archées. Il exerce un rôle essentiel pour la santé canine en influençant l'absorption et le métabolisme des nutriments, la défense de l'hôte contre les agents pathogènes et la régulation de son système immunitaire. Une modification dans sa composition qualitative ou quantitative a donc un impact significatif sur la santé du chien. Lorsque le chien est atteint de diarrhée aiguë, un déséquilibre est observé et a pu être étudié plus précisément grâce aux nouvelles technologies de séquençage à haut débit. La problématique de l'antibiorésistance étant un sujet critique depuis quelques années, de nouvelles recherches scientifiques ont été publiées afin de limiter l'utilisation des antibiotiques. L'utilisation des pro-/pré-/syn-/post-biotiques a été étudiée afin d'avoir une approche plus écologique en vue d'améliorer l'équilibre du microbiote intestinal voir de restaurer sa composition initiale. Les effets observés chez le chien sont fonction du type de pro-/pré-/syn-/post-biotiques, de sa posologie et de son alimentation. Dès lors, un résultat observé chez un individu pour un complément donné ne peut donc pas être étendu à un autre produit. Les connaissances actuelles des scientifiques ne permettent donc pas de restaurer un microbiote intestinal physiologique.

Les analyses réalisées dans le cadre de ce travail permettent de certifier la présence d'ADN d'*Enterococcus faecium* SF68 en proportion notable dans le complément Fortiflora® et également de prouver la présence de *Saccharomyces cerevisiae* et d'*Enterococcus faecium* en proportions non négligeables dans le probiotique WeBiotic®. L'analyse sur base de l'ADNr 16S et d'ITS2 du complément Ultradiar® n'ont donné aucun résultat étant donné qu'il s'agit d'un hydrolysate de ferments lactiques et potentiellement de levure hydrolysée. Les conséquences de la présence des autres espèces bactériennes dans les probiotiques Fortiflora® et WeBiotic®, même si elles sont inactivées, pose quand même question.

Afin d'aller plus loin, il serait intéressant de réaliser une étude de quantification des formes viables des micro-organismes revendiqués et sur l'efficacité des probiotiques Fortiflora®, WeBiotic® et Ultradiar® sur des chiens atteints de diarrhée aiguë.

BIBLIOGRAPHIE

- Aguilar-Galvez, A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., Campos, D., & Thonart, P. (2012). Les entérocoques : Avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*
- Azad, Md. A. K., Sarker, M., & Wan, D. (2018). Immunomodulatory Effects of Probiotics on Cytokine Profiles. *BioMed Research International*, 2018, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2018/8063647>
- Bai, H., Liu, T., Wang, S., Shen, L., & Wang, Z. (2023). Variations in gut microbiome and metabolites of dogs with acute diarrhea in poodles and Labrador retrievers. *Archives of Microbiology*, 205(3), 97. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03439-6>
- Barko, P. C., McMichael, M. A., Swanson, K. S., & Williams, D. A. (2018). The Gastrointestinal Microbiome : A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 9-25. <https://doi.org/10.1111/jvim.14875>
- Bell, S. E., Nash, A. K., Zanghi, B. M., Otto, C. M., & Perry, E. B. (2020). An Assessment of the Stability of the Canine Oral Microbiota After Probiotic Administration in Healthy Dogs Over Time. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 616. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00616>
- Blake, A. B., & Suchodolski, J. S. (2016). Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Animal Frontiers*, 6(3), 37-42. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0032>
- Ceugniesz, A., Taminiau, B., Coucheney, F., Jacques, P., Delcenserie, V., Daube, G., & Drider, D. (2017). Fungal diversity of “Tomme d’Orchies” cheese during the ripening process as revealed by a metagenomic study. *International Journal of Food Microbiology*, 258, 89-93. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.015>
- Church, D. L., Cerutti, L., Gürtler, A., Griener, T., Zelazny, A., & Emler, S. (2020). Performance and Application of 16S rRNA Gene Cycle Sequencing for Routine Identification of Bacteria in the Clinical Microbiology Laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(4), e00053-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00053-19>
- Ciardo, D. E., Schär, G., Böttger, E. C., Altwegg, M., & Bosshard, P. P. (2006). Internal Transcribed Spacer Sequencing versus Biochemical Profiling for Identification of Medically Important Yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(1), 77-84. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.1.77-84.2006>
- Coman, M. M., Verdenelli, M. C., Cecchini, C., Belà, B., Gramenzi, A., Orpianesi, C., Cresci, A., & Silvi, S. (2019). Probiotic characterization of *Lactobacillus* isolates from canine faeces. *Journal of Applied Microbiology*, 126(4), 1245-1256. <https://doi.org/10.1111/jam.14197>
- Deng, P., & Swanson, K. S. (2015). Gut microbiota of humans, dogs and cats : Current knowledge and future opportunities and challenges. *British Journal of Nutrition*, 113(S1), S6-S17. <https://doi.org/10.1017/S0007114514002943>
- Fenimore, A., Martin, L., & Lappin, M. R. (2017). Evaluation of Metronidazole With and Without Enterococcus Faecium SF68 in Shelter Dogs With Diarrhea. *Topics in Companion Animal Medicine*, 32(3), 100-103. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2017.11.001>
- Flickinger, E. A., Loo, J. V., & Fahey, G. C. (2003). Nutritional Responses to the Presence of Inulin and Oligofructose in the Diets of Domesticated Animals : A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1), 19-60. <https://doi.org/10.1080/10408690390826446>
- Gardner, D., & Hini, D. (2006). Work-related stress in the veterinary profession in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 54(3), 119-124. <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36623>
- Girinathan, B. P., DiBenedetto, N., Worley, J. N., Peltier, J., Arrieta-Ortiz, M. L., Immanuel, S. R. C., Lavin, R., Delaney, M. L., Cummins, C. K., Hoffman, M., Luo, Y., Gonzalez-Escalona, N., Allard, M., Onderdonk, A. B., Gerber, G. K., Sonenshein, A. L., Baliga, N. S., Dupuy, B., & Bry, L. (2021). In vivo commensal control of *Clostridioides difficile* virulence. *Cell Host & Microbe*, 29(11), 1693-1708.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.09.007>

- Grzeškowiak, Ł., Endo, A., Beasley, S., & Salminen, S. (2015). Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. *Anaerobe*, 34, 14-23. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.04.002>
- Guard, B. C., Barr, J. W., Reddivari, L., Klemashevich, C., Jayaraman, A., Steiner, J. M., Vanamala, J., & Suchodolski, J. S. (2015). Characterization of Microbial Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea. *PLOS ONE*, 10(5), e0127259. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127259>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Huang, Z., Pan, Z., Yang, R., Bi, Y., & Xiong, X. (2020). The canine gastrointestinal microbiota : Early studies and research frontiers. *Gut Microbes*, 11(4), 635-654. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1704142>
- Jensen, A. P., & Bjørnvad, C. R. (2019). Clinical effect of probiotics in prevention or treatment of gastrointestinal disease in dogs : A systematic review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(5), 1849-1864. <https://doi.org/10.1111/jvim.15554>
- Journiac, G. (2022). *Enterococcus faecium SF 68 comme probiotique chez le chat lors de diarrhées d'origine bactérienne*. (Master de Spécialisation en Médecine vétérinaire spécialisée / Option Santé Publique vétérinaire : Module Sciences des Aliments), Université de Liège, Liège, 63 p.
- Jugan, M. C., Rudinsky, A. J., Parker, V. J., & Gilor, C. (2017). Use of probiotics in small animal veterinary medicine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 250(5), 519-528. <https://doi.org/10.2460/javma.250.5.519>
- Jung, M. Y., Lee, C., Seo, M.-J., Roh, S. W., & Lee, S. H. (2020). Characterization of a potential probiotic bacterium *Lactococcus raffinolactis* WiKim0068 isolated from fermented vegetable using genomic and in vitro analyses. *BMC Microbiology*, 20(1), 136. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01820-9>
- Kröger, H., Donner, I., & Skiello, G. (1975). Influence of a new virostatic compound on the induction of enzymes in rat liver. *Arzneimittel-Forschung*, 25(9), 1426-1429.
- Lahrssen, M., & Zentek, J. (2002). [Efficacy of probiotic feed additives : Guidelines for the evaluation of the efficiency of microorganisms in dogs, cats, and horses]. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 109(1), 22-25.
- Laiño, J. E., Levit, R., de Moreno de LeBlanc, A., Savoy de Giori, G., & LeBlanc, J. G. (2019). Characterization of folate production and probiotic potential of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *Macedonicus* CRL415. *Food Microbiology*, 79, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.10.015>
- Lauková, A., Marciňáková, M., Strompfová, V., & Ouwehand, A. C. (2008). Probiotic potential of enterococci isolated from canine feed. *Folia Microbiologica*, 53(1), 84-88. <https://doi.org/10.1007/s12223-008-0012-3>
- Lee, D., Goh, T. W., Kang, M. G., Choi, H. J., Yeo, S. Y., Yang, J., Huh, C. S., Kim, Y. Y., & Kim, Y. (2022). Perspectives and advances in probiotics and the gut microbiome in companion animals. *Journal of Animal Science and Technology*, 64(2), 197-217. <https://doi.org/10.5187/jast.2022.e8>
- Lucena, R., Novalés, M., Blanco, B., Hernández, E., & Ginel, P. J. (2019). Effect of probiotic *Enterococcus faecium* SF68 on liver function in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(6), 2628-2634. <https://doi.org/10.1111/jvim.15625>
- Massart, M. (2021). *Etude du microbiote bactérien des amygdales du porc en fonction de l'âge et*

- corrélations avec le portage de Yersinia enterocolitica.* (Master en médecine vétérinaire), Université de Liège, Liège, 47 p.
- Mehdizadeh Gohari, I., Unterer, S., Whitehead, A. E., & Prescott, J. F. (2020). NetF-producing *Clostridium perfringens* and its associated diseases in dogs and foals. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(2), 230-238. <https://doi.org/10.1177/1040638720904714>
- Mital, B. K., & Steinkraus, K. H. (1975). UTILIZATION OF OLIGOSACCHARIDES BY LACTIC ACID BACTERIA DURING FERMENTATION OF SOY MILK. *Journal of Food Science*, 40(1), 114-118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb03749.x>
- Moradi, M., Molaei, R., & Guimarães, J. T. (2021). A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*, 143, 109722. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109722>
- Nguyen Cong, O., Taminiau, B., Pham Kim, D., Daube, G., Nguyen Van, G., Bindelle, J., Abdulaye Fall, P., Vu Dinh, T., & Hornick, J.-L. (2020). Effect of increasing levels of rice distillers' by-product on growth performance, nutrient digestibility, blood profile and colonic microbiota of weaned piglets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(5), 788-801. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0278>
- Patra, A. K. (2011). Responses of feeding prebiotics on nutrient digestibility, faecal microbiota composition and short-chain fatty acid concentrations in dogs : A meta-analysis. *Animal*, 5(11), 1743-1750. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000887>
- Pilla, R., & Suchodolski, J. S. (2020). The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 498. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00498>
- Pilla, R., & Suchodolski, J. S. (2021). The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 51(3), 605-621. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.002>
- Pinna, C., & Biagi, G. (2014). The Utilisation of Prebiotics and Synbiotics in Dogs. *Italian Journal of Animal Science*, 13(1), 3107. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3107>
- Pinna, C., Vecchiato, C. G., Bolduan, C., Grandi, M., Stefanelli, C., Windisch, W., Zaghini, G., & Biagi, G. (2018). Influence of dietary protein and fructooligosaccharides on fecal fermentative end-products, fecal bacterial populations and apparent total tract digestibility in dogs. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1436-x>
- Recart-Conort, M. (2015). *Prébiotiques et probiotiques en gastroentérologie des carnivores domestiques : État de preuves.* (Doctorat de vétérinaire), Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Paris, 97 p.
- Redfern, A., Suchodolski, J., & Jergens, A. (2017). Role of the gastrointestinal microbiota in small animal health and disease. *Veterinary Record*, 181(14), 370-370. <https://doi.org/10.1136/vr.103826>
- Règlement (UE) no 619/2011 de la Commission du 24 juin 2011 fixant les méthodes d'échantillonnage et d'analyse du contrôle officiel des aliments pour animaux en vue de la détection de matériel génétiquement modifié faisant l'objet d'une procédure d'autorisation ou dont l'autorisation a expiré Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE. (s. d.).
- Rentas, M. F., Pedreira, R. S., Perini, M. P., Risolia, L. W., Zafalon, R. V. A., Alvarenga, I. C., Vendramini, T. H. A., Balieiro, J. C. C., Pontieri, C. F. F., & Brunetto, M. A. (2020). Galactooligosaccharide and a prebiotic blend improve colonic health and immunity of adult dogs. *PLOS ONE*, 15(8), e0238006. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238006>
- Roche, L. (2020). *Dysbioses intestinales associées aux maladies inflammatoires de l'intestin et aux diarrhées aiguës chez le chien.* (Master en médecine vétérinaire), Université de Liège, Liège, 36 p.
- Rose, L., Rose, J., Gosling, S., & Holmes, M. (2017). Efficacy of a Probiotic-Prebiotic Supplement on

- Incidence of Diarrhea in a Dog Shelter : A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(2), 377-382. <https://doi.org/10.1111/jvim.14666>
- Schmitz, S., & Suchodolski, J. (2016). Understanding the canine intestinal microbiota and its modification by pro-, pre- and synbiotics – what is the evidence? *Veterinary Medicine and Science*, 2(2), 71-94. <https://doi.org/10.1002/vms3.17>
- Schröder, L., Kaiser, S., Flemer, B., Hamm, J., Hinrichsen, F., Bordoni, D., Rosenstiel, P., & Sommer, F. (2020). Nutritional Targeting of the Microbiome as Potential Therapy for Malnutrition and Chronic Inflammation. *Nutrients*, 12(10), 3032. <https://doi.org/10.3390/nu12103032>
- Silen, W., Machen, T. E., & Forte, J. G. (1975). Acid-base balance in amphibian gastric mucosa. *The American Journal of Physiology*, 229(3), 721-730. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1975.229.3.721>
- Silva, R. O. S., & Lobato, F. C. F. (2015). Clostridium perfringens : A review of enteric diseases in dogs, cats and wild animals. *Anaerobe*, 33, 14-17. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.01.006>
- Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., & Chaiyasut, C. (2021). Influence of Probiotic Supplementation on Health Status of the Dogs : A Review. *Applied Sciences*, 11(23), 11384. <https://doi.org/10.3390/app112311384>
- Strompfová, V., Lauková, A., & Ouwehand, A. C. (2004a). Lactobacilli and enterococci—Potential probiotics for dogs. *Folia Microbiologica*, 49(2), 203-207. <https://doi.org/10.1007/BF02931403>
- Strompfová, V., Lauková, A., & Ouwehand, A. C. (2004b). Selection of enterococci for potential canine probiotic additives. *Veterinary Microbiology*, 100(1-2), 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.02.002>
- Suchodolski, J. S. (2011). Intestinal Microbiota of Dogs and Cats : A Bigger World than We Thought. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 261-272. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.12.006>
- Suchodolski, J. S. (2022). Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 50(S1), 6-17. <https://doi.org/10.1111/vcp.13031>
- Suchodolski, J. S., Ruau, C. G., Steiner, J. M., Fetz, K., & Williams, D. A. (2005). Assessment of the qualitative variation in bacterial microflora among compartments of the intestinal tract of dogs by use of a molecular fingerprinting technique. *American Journal of Veterinary Research*, 66(9), 1556-1562. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1556>
- Tanprasertsuk, J., Jha, A. R., Shmalberg, J., Jones, R. B., Perry, L. M., Maughan, H., & Honaker, R. W. (2021). The microbiota of healthy dogs demonstrates individualized responses to synbiotic supplementation in a randomized controlled trial. *Animal Microbiome*, 3(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s42523-021-00098-0>
- Thiry, D., Billen, F., Boyen, F., Duprez, J.-N., Quenault, H., Touzain, F., Blanchard, Y., Clercx, C., & Mainil, J. G. (2021). Genomic relatedness of a canine Lactococcus garvieae to human, animal and environmental isolates. *Research in Veterinary Science*, 137, 170-173. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.032>
- Torres-Henderson, C., Summers, S., Suchodolski, J., & Lappin, M. R. (2017). Effect of Enterococcus Faecium Strain SF68 on Gastrointestinal Signs and Fecal Microbiome in Cats Administered Amoxicillin-Clavulanate. *Topics in Companion Animal Medicine*, 32(3), 104-108. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2017.11.002>
- Vanhoutte, T., Huys, G., Brandt, E., Fahey, G. C., & Swings, J. (2005). Molecular monitoring and characterization of the faecal microbiota of healthy dogs during fructan supplementation. *FEMS Microbiology Letters*, 249(1), 65-71. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.003>

- Wagner, A. O., Malin, C., Knapp, B. A., & Illmer, P. (2008). Removal of Free Extracellular DNA from Environmental Samples by Ethidium Monoazide and Propidium Monoazide. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(8), 2537-2539. <https://doi.org/10.1128/AEM.02288-07>
- Weese, J. S., & Arroyo, L. (2003). Bacteriological evaluation of dog and cat diets that claim to contain probiotics. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 44(3), 212-216.
- Wernimont, S. M., Radosevich, J., Jackson, M. I., Ephraim, E., Badri, D. V., MacLeay, J. M., Jewell, D. E., & Suchodolski, J. S. (2020). The Effects of Nutrition on the Gastrointestinal Microbiome of Cats and Dogs: Impact on Health and Disease. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1266. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01266>
- Yamazaki, C., Rosenkrantz, W., & Griffin, C. (2019). Pilot evaluation of *Enterococcus faecium* SF68 as adjunctive therapy for oclacitinib-responsive adult atopic dermatitis in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 60(8), 499-506. <https://doi.org/10.1111/jsap.13042>

ANNEXES

Annexe 1 : Résultat brute d'analyse ARN16S WeBiotic® et Fortiflora®

1	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Genus	Species	list_A OTU	I bitscore	Source_trac	webiotic_16	Fortiflora_16S	
2	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Enterococca	Enterococcus	Enterococcus_faecium	Enterococcus_faecium_LCT-E_AJKH0	Otu00	996	11862	5198	6664	
3	Bacteria	Cyanobacte	Cyanobacte	Chloroplast	Chloroplast	Chloroplast_ge	Chloroplast_ge_Vigna_r	Vigna_radiata/Glycine_soja	BABL0	Otu00	854	2525	2524	1
4	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Peptostrept	Paraclostridium	Paraclostridium_benzo	Paraclostridium_benzoelyti	LBBT0	Otu00	894	1907	1907	0
5	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Lactococcus	Lactococcus_lactis	KM024041.1.1403	KM024	Otu00	981	907	0	907
6	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiale	Clostridiace	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu_stric	Clostridium_perfringens_W	AMC10	Otu00	915	803	15	788
7	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Lactococcus	Lactococcus_raffinolacti	Lactococcus_raffinolactis	KC872!	Otu00	985	464	0	464
8	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Lactococcus	Lactococcus_garvieae	Lactococcus_garvieae	HQ407	Otu00	979	287	2	285
9	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Peptostrept	Peptostreptococcus	Peptostreptococcus_rus	Peptostreptococcus_russelli	HM10!	Otu00	924	246	243	3
10	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Streptococcus	Streptococcus_gallolytic	Streptococcus_gallolyticus_Z9401	Otu00	963	177	0	177	
11	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Burkholderi	Burkholderi	Burkholderia-Cabal	Burkholderia-Caballero	Burkholderia_anthina/Burkl	KC002!	Otu00	955	124	0	124
12	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Streptococcus	Streptococcus_AM420086	AM420086.1.1512	AM420	Otu00	981	57	44	13
13	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Streptococcus	Streptococcus_parauber	Streptococcus_parauberis/S	LRBJ0!	Otu00	981	55	0	55
14	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Latilactobacillus	Latilactobacillus_[Lacto	Lactobacillus_sakei_subsp	AST10!	Otu00	1024	49	0	49
15	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Weissella	Weissella_ceti	Weissella_ceti_NC36/Weiss	ANCA0	Otu00	1033	34	0	34
16	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Latilactobacillus	Latilactobacillus_[Lacto	Lactobacillus_curvatus/Lact	MKGC0	Otu00	1014	27	3	24
17	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Weissella	Weissella_oryzae	Weissella_oryzae	KR338	Otu00	955	20	0	20
18	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Ligilactobacillus	Ligilactobacillus_Lactob	Lactobacillus_aviarius_sub	AYZA0	Otu00	979	16	0	16
19	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Lactococcus	Lactococcus_piscium	Lactococcus_piscium_MKFS4	LC036!	Otu00	965	15	0	15
20	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Peptostrept	Romboutsia	Romboutsia_GQ897710	GQ897710.1.1462	GQ897	Otu00	894	15	0	15
21	Bacteria	Proteobacte	Alphaprote	Rickettsiale	Mitochondri	Mitochondria_ge	Mitochondria_ge_Glycin	Glycine_max_	JX4632	Otu00	941	15	15	0
22	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiale	Clostridiace	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu_stric	Clostridium_cochlearium	KC621!	Otu00	920	14	0	14
23	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillus	Lactobacillus_gallinaru	Lactobacillus_gallinarum	EF412!	Otu00	981	13	0	13
24	Bacteria	Cyanobacte	Cyanobacte	Chloroplast	Chloroplast	Chloroplast_ge	Chloroplast_ge_FJ47881	FJ478814.1.1451/FJ478480.1.1	FJ4788	Otu00	865	12	0	12
25	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Bifidobacte	Bifidobacte	Bifidobacterium	Bifidobacterium_pullori	Bifidobacterium_pullorum	LN998	Otu00	920	11	0	11
26	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge_Vagi	Vagococcus_humatus	KX247!	Otu00	965	11	4	7
27	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Weissella	Weissella_cibaria	Weissella_cibaria	AB362	Otu00	1005	9	9	0
28	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Weissella	Weissella_Otu0042	Otu0042	GQ480	Otu00	961	9	4	5
29	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiale	Clostridiace	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu_stric	Clostridium_tepidum/Clostr	KY322!	Otu00	911	9	0	9
30	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Burkholderi	Comamonas	Comamonas	Comamonas_kerstersi	Comamonas_kerstersi	LFYPO!	Otu00	946	9	0	9
31	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococci	Subdoligranulum	Subdoligranulum_GQ17	GQ175370.1.1452	GQ175	Otu22	859	8	0	8
32	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Micrococcal	Micrococcal	Rothia	Rothia_nasimurium	Mycobacterium_abscessus	DQ088	Otu21	929	7	0	7
33	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillus	Lactobacillus_LN612704	LN612704.1.1534	LN612	Otu00	1022	7	0	7
34	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Blautia	Blautia_Otu0039	Otu0039	EF398!	Otu00	861	7	0	7
35	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Catellibacilli	Catellibacillus	Catellibacillus_Otu0068	Otu0068	FNYY0	Otu00	739	6	0	6
36	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Ligilactobacillus	Ligilactobacillus_Lactob	Lactobacillus_salivarius	CP029!	Otu00	983	6	0	6
37	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Peptostrept	Peptostreptococcus	Peptostreptococcus_EU4	EU458333.1.1379	EU458	Otu19	913	6	1	5
38	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus_Lac	Lactobacillus_fermentum/L	LBDGC	Otu00	1007	5	5	0
39	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Family_XI	Tepidimicrobium	Tepidimicrobium_Otu01	Otu0196	LN881	Otu01	876	5	5	0
40	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Corynebacte	Corynebacte	Corynebacterium	Corynebacterium_testud	Corynebacterium_testudino	CP011!	Otu01	935	4	0	4
41	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus_Otu	Otu0088	AB559	Otu00	996	4	0	4

1	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Genus	Species	list_A OTU_l	bitscore	Source_trac	webiotic_16	Fortiflora_16S	
42	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus	Otu0086	KF984	Otu00	985	4	0	4
43	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus	Lactobacillus_reuteri/Lactob	MKQH	Otu00	1013	4	0	4
44	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Streptococci	Floricoccus	Floricoccus_tropicus	Floricoccus_tropicus	MKIR0	Otu01	976	4	0	4
45	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu0082	DQ342	Otu00	918	4	0	4
46	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	Otu2209	EU009	Otu22	846	4	0	4
47	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Corynebacte	Corynebacte	Corynebacterium	Corynebacterium	JX2903	JX2903	Otu01	900	3	0	3
48	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Aeribacillus	Aeribacillus	Bacillus_thermoamylovoran	JXLR01	Otu22	972	3	0	3
49	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillus	Lactobacillus	delbrueckii	CP018	Otu01	983	3	3	0
50	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Vagococcaceae	Vagococcus	Vagococcus	Otu0225	KY937	Otu02	922	3	0	3
51	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu_stric	FN868399.1.1508	FN868	Otu01	915	3	0	3
52	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	DQ793638.1.1393	DQ793	Otu02	952	3	0	3
53	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu0203	DQ800	Otu02	909	3	0	3
54	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu0204	EU508	Otu02	754	3	0	3
55	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu0201	FJ3675	Otu02	852	3	0	3
56	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	JQ248083.1.1512	JQ248	Otu02	917	3	0	3
57	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	Otu2203	AB559	Otu22	837	3	0	3
58	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	Otu0192	EU459	Otu01	837	3	0	3
59	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	FJ506006.1.1358	FJ506	Otu01	891	3	0	3
60	Bacteria	Bacteria_ph	Bacteria_cl	Bacteria_or	Bacteria_fa	Bacteria_ge	Bacteria_ge	Otu2011	Otu2011	Otu20	774	2	0	2
61	Bacteria	Bacteroidot	Bacteroidia	Flavobacter	Flavobacter	Myroides	Myroides	GQ443102.1.1476	GQ443	Otu22	939	2	0	2
62	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Carnobacter	Carnobacterium	Carnobacterium	Otu0233	JQMXC	Otu02	941	2	0	2
63	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillaceae_ge	Lactobacillaceae_ge	Otu0479	AB559	Otu04	911	2	2	0
64	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Ligilactobacillus	Ligilactobacillus	Lactobacillus_agilis	LC035	Otu02	977	2	2	0
65	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu1241	AB362	Otu12	830	2	0	2
66	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu1022	AHWJ	Otu10	902	2	1	1
67	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu1240	CP032	Otu12	869	2	2	0
68	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu1662	GQ458	Otu16	826	2	0	2
69	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Enterococcus_faecium	HQ641	Otu08	564	2	1	1
70	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridia	Clostridia	Clostridia_UCG-014	Clostridia_UCG-014	FJ365262.1.1373/DQ456230.1	FJ3652	Otu22	920	2	0	2
71	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu_stric	Clostridium_amazonitimon	CCFK0	Otu03	894	2	0	2
72	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu_stric	Clostridium_novyi	CP029	Otu03	915	2	0	2
73	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Blautia	Blautia	GQ175480.1.1454	GQ175	Otu03	896	2	0	2
74	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu0307	DQ057	Otu03	872	2	0	2
75	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	GQ175396.1.1454	GQ175	Otu03	894	2	0	2
76	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Sellimonas	Sellimonas	Lachnoclostridium_phocaeae	LT635	Otu03	941	2	0	2
77	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Faecalibacterium	Faecalibacterium	DQ342337.1.1494	DQ342	Otu03	922	2	0	2
78	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Faecalibacterium	Faecalibacterium	Otu0315	JQ248	Otu03	898	2	0	2
79	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Negativibacillus	Negativibacillus	FJ508957.1.1359	FJ5089	Otu03	891	2	0	2
80	Bacteria	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes_ge	Firmicutes_ge	Otu2252	EU773	Otu22	784	2	0	2

1	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Genus	Species	list_A OTU bitscore	Source_trac	webiotic_16	Fortiflora_16S		
81	Bacteria	Fusobacteri	Fusobacteri	Fusobacteri	Fusobacteri	Fusobacteriaceae_g	Fusobacteriaceae_ge_L	LT671592.1.1430	LT671592.1.1430	Otu22	852	2	0	2
82	Bacteria	Proteobacte	Alphaprote	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobiaceae_ge	Rhizobiaceae_ge_Otu22	Otu2235	FJ6748	Otu22	824	2	0	2
83	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Corynebacte	Corynebacte	Corynebacterium	Corynebacterium_flaves	Corynebacterium_flavescen	CP009	Otu22	918	1	0	1
84	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Corynebacte	Nocardiaceae	Gordonia	Gordonia_CU926972.1.13	CU926972.1.1342/CU926280.1	CU926	Otu22	878	1	0	1
85	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Micrococcal	Intrasporan	Intrasporangiaceae	Intrasporangiaceae_ge	Otu2177	GU552	Otu21	828	1	0	1
86	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Micrococcal	Microbacter	Leucobacter	Leucobacter_Otu2176	Otu2176	KC845	Otu21	865	1	0	1
87	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Micrococcal	Microbacter	Leucobacter	Leucobacter_Otu2173	Otu2173	LC0934	Otu21	859	1	0	1
88	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Micrococcal	Microbacter	Microbacterium	Microbacterium_oxylan	Microbacterium_oxydans	DQ417	Otu21	913	1	0	1
89	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Micrococcal	Microbacter	Pseudoclavibacter	Pseudoclavibacter_FPLM	FPLM01004495.11.1510	FPLM0	Otu21	920	1	0	1
90	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Micrococcal	Micrococcal	Kocuria	Kocuria_Otu2175	Otu2175	LTEY0	Otu21	902	1	0	1
91	Bacteria	Actinobacte	Actinobacte	Propionibac	Propionibac	Propionibacteriaceae_g	Propionibacteriaceae_g	Otu2152	KJ8081	Otu21	804	1	0	1
92	Bacteria	Actinobacte	Coriobacteri	Coriobacteri	Atopobiaceae	Olsenella	Olsenella_Otu2012	Otu2012	LT1618	Otu20	869	1	0	1
93	Bacteria	Bacteria_ph	Bacteria_cl	Bacteria_or	Bacteria_fa	Bacteria_ge	Bacteria_ge_Otu2009	Otu2009	EU460	Otu20	780	1	0	1
94	Bacteria	Bacteroidot	Bacteroidia	Bacteroida	Bacteroida	Bacteroidales_ge	Bacteroidales_ge_Otu21	Otu2158	EF098	Otu21	763	1	0	1
95	Bacteria	Bacteroidot	Bacteroidia	Bacteroida	Rikenellaceae	Alistipes	Alistipes_Otu2222	Otu2222	JRGF0	Otu22	846	1	0	1
96	Bacteria	Bacteroidot	Bacteroidia	Flavobacter	Crocinitomix	Fluviicola	Fluviicola_KP686647.1.14	KP686647.1.1446	KP6866	Otu22	907	1	0	1
97	Bacteria	Bacteroidot	Bacteroidia	Flavobacter	Flavobacter	Myroides	Myroides_phaeus	Myroides_phaeus	FNDQ	Otu22	933	1	0	1
98	Bacteria	Cyanobacte	Vampirivibr	Gastranaer	Gastranaer	Gastranaerophilales	Gastranaerophilales_ge	Otu2196	AB555	Otu21	797	1	0	1
99	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Anoxybacillus	Anoxybacillus_Otu2230	Otu2230	CP025	Otu22	939	1	0	1
100	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus_Otu2226	Otu2226	CP024	Otu22	845	1	1	0
101	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus_cytotoxicus	Bacillus_cytotoxicus/Bacillu	CP024	Otu22	963	1	1	0
102	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus_amyloliquefaci	Bacillus_amyloliquefaciens	JXAT0	Otu22	976	1	1	0
103	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillales_f	Bacillales_ge	Bacillales_ge_Otu2228	Otu2228	CP023	Otu22	822	1	0	1
104	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcac	Planococcaceae_ge	Planococcaceae_ge_Otu	Otu2229	AB507	Otu22	928	1	0	1
105	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacilli_or	Bacilli_fa	Bacilli_ge	Bacilli_ge_Otu2124	Otu2124	AB362	Otu21	830	1	0	1
106	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacilli_or	Bacilli_fa	Bacilli_ge	Bacilli_ge_Otu2157	Otu2157	ABFUC	Otu21	603	1	0	1
107	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Erysipelotri	Erysipelatoc	Erysipelatoclostridi	Erysipelatoclostridium_	DQ805036.1.1385	DQ805	Otu21	942	1	0	1
108	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Carnobacter	Carnobacterium	Carnobacterium_Otu115	Otu1158	FLLU0	Otu11	946	1	0	1
109	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Companilactobacill	Companilactobacillus_L	Lactobacillus_nantensis_DS	AZFV0	Otu06	989	1	0	1
110	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Leuconostoc	Leuconostoc_carnosum	Leuconostoc_carnosum_JB1	CP003	Otu03	970	1	1	0
111	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Levilactobacillus	Levilactobacillus_Lactob	Lactobacillus_brevis	JXUE0	Otu07	985	1	0	1
112	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Ligilactobacillus	Ligilactobacillus_Lactob	Lactobacillus_animalis_KCT	AYYW	Otu05	1003	1	0	1
113	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus_Lac	Lactobacillus_oris_DSM_486	AZGE0	Otu17	1007	1	0	1
114	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus_Otu	Otu0737	CP002	Otu07	957	1	0	1
115	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus_Otu	Otu0577	DQ318	Otu05	941	1	0	1
116	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus_Lac	Lactobacillus_mucosae	EF120	Otu07	1002	1	0	1
117	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Pediococcus	Pediococcus_Otu0524	Otu0524	AF515	Otu05	881	1	0	1
118	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Weissella	Weissella_minor	Weissella_minor	JQCD0	Otu10	1027	1	0	1
119	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge_Otu	Otu0381	AB362	Otu03	837	1	0	1

1	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Genus	Species	list_A OTU_l bitscore	Source_trac	webiotic_16	Fortiflora_16S		
120	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0565	AHWK Otu05	830	1	0	1	
121	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0814	AJAD0 Otu08	874	1	1	0	
122	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0699	AJBN0 Otu06	802	1	0	1	
123	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0870	ASW10 Otu08	856	1	0	1	
124	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0347	AYSH0 Otu03	929	1	0	1	
125	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0552	BAWR Otu05	808	1	0	1	
126	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0385	CP012 Otu03	795	1	0	1	
127	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu1044	CP023 Otu10	918	1	0	1	
128	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0627	CP033 Otu06	857	1	1	0	
129	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu1331	CXSA0 Otu13	907	1	0	1	
130	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0413	EU460 Otu04	830	1	0	1	
131	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0343	EU472 Otu03	791	1	0	1	
132	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0376	EU472 Otu03	891	1	1	0	
133	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0405	EU473 Otu04	865	1	0	1	
134	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0595	FPLP0 Otu05	658	1	0	1	
135	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0700	JF947 Otu07	545	1	0	1	
136	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0505	JX457 Otu05	833	1	0	1	
137	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0332	KC415 Otu03	789	1	0	1	
138	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0450	KF621 Otu04	900	1	0	1	
139	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0372	KJ782 Otu03	821	1	0	1	
140	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0723	KX687 Otu07	760	1	0	1	
141	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Lactobacilla	Lactobacillales_ge	Lactobacillales_ge	Otu0696	LT631 Otu06	769	1	0	1	
142	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Vagococcace	Vagococcus	Vagococcus	Otu0474	EU276 Otu04	948	1	0	1	
143	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Vagococcace	Vagococcus	Vagococcus	Otu0513	JN245 Otu05	920	1	0	1	
144	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacilla	Vagococcace	Vagococcus	Vagococcus	MG753544.1	MG753544.1	979	1	0	1	
145	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Staphylococ	Staphylococ	Staphylococcus	Staphylococcus	saproph	Staphylococcus_saprophytic	JUUE0 Otu21	976	1	0	1
146	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridia	Clostridia	Clostridia_UCG-014	Clostridia_UCG-014	Otu2241	JQ248 Otu22	791	1	0	1	
147	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridia	Clostridia	Clostridia_UCG-014	Clostridia_UCG-014	Otu2242	JX198 Otu22	824	1	0	1	
148	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiale	Clostridiace	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu	strict	Clostridium_botulinum_B	CP001 Otu17	905	1	0	1
149	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiale	Clostridiace	Clostridium_sensu	Clostridium_sensu	strict	Clostridium_algidicarnis	JNLN0 Otu17	905	1	0	1
150	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Eubacteria	Eubacteriac	Eubacteriaceae_ge	Eubacteriaceae_ge	Otu2156	JN245 Otu21	660	1	0	1	
151	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Eubacteria	Eubacteriac	Eubacterium	Eubacterium	limosum	Eubacterium_limosum	CP019 Otu20	933	1	0	1
152	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Blautia	Blautia	Otu2169	EF025 Otu21	815	1	0	1	
153	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Blautia	Blautia	Otu2166	EU778 Otu21	856	1	0	1	
154	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	DC	DQ057458.1	891	1	0	1	
155	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2164	DQ071 Otu21	833	1	0	1	
156	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2162	DQ795 Otu21	824	1	0	1	
157	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2160	DQ794 Otu21	833	1	0	1	
158	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2168	EU452 Otu21	776	1	0	1	

1	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Genus	Species	list_A	OTU	bitscore	Source_track	webiotic_16	Fortiflora_16S
159	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2167	EU455	Otu21	787	1	0	1
160	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2171	FQLT0	Otu21	880	1	0	1
161	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2170	GQ175	Otu21	845	1	0	1
162	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	JQ248111.1.1514	JQ248	Otu21	929	1	0	1
163	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Lachnospira	Lachnospira	Lachnospiraceae_ge	Lachnospiraceae_ge	Otu2161	KJ8812	Otu21	830	1	0	1
164	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Monogloba	Monogloba	Monoglobus	Monoglobus	Otu2221	LC028	Otu22	730	1	0	1
165	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Butyricicocc	Butyricococcus	Butyricococcus	Otu2214	DQ327	Otu22	846	1	0	1
166	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Butyricicocc	Butyricococcus	Butyricococcus	Otu2215	DQ394	Otu22	859	1	0	1
167	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Oscillospira	NK4A214_group	NK4A214_group	DQ057382.1.1396	DQ057	Otu22	922	1	0	1
168	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Oscillospira	NK4A214_group	NK4A214_group	DQ793690.1.1393/DQ799986.1	DQ793	Otu22	937	1	0	1
169	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Incertae_Sedis	Incertae_Sedis	Otu2208	GQ175	Otu22	843	1	0	1
170	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Ruminococcaceae_ge	Ruminococcaceae_ge	DQ799850.1.1386	DQ799	Otu22	926	1	0	1
171	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	Otu2204	DQ456	Otu22	835	1	0	1
172	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	Otu2201	DQ799	Otu22	894	1	0	1
173	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	Otu2202	FJ506	Otu22	837	1	0	1
174	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospira	Ruminococc	Subdoligranulum	Subdoligranulum	GQ175460.1.1452	GQ175	Otu22	902	1	0	1
175	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Family_XI	Peptoniphilus	Peptoniphilus	Otu1876	DQ337	Otu18	782	1	0	1
176	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Family_XI	Peptoniphilus	Peptoniphilus	Otu1964	KF705	Otu19	898	1	0	1
177	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Family_XI	Sporanaerobacter	Sporanaerobacter	HM107095.1.1494	HM107	Otu18	941	1	0	1
178	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostrept	Peptostrept	Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcaceae	Otu1869	JF3127	Otu18	688	1	1	0
179	Bacteria	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes_ge	Firmicutes_ge	Otu2250	EU458	Otu22	769	1	0	1
180	Bacteria	Firmicutes	Negativicute	Veillonella	Selenomon	Megamonas	Megamonas	Otu2198	DQ071	Otu21	950	1	0	1
181	Bacteria	Firmicutes	Thermoana	Caldicellulc	Caldicellulc	Caldicellulosiruptor	Caldicellulosiruptor	Otu2014	KR027	Otu20	929	1	1	0
182	Bacteria	Firmicutes	Thermovenz	Thermovenz	Thermovenz	Tepidanaerobacter	Tepidanaerobacter	Otu2216	AM500	Otu22	782	1	0	1
183	Bacteria	Fusobacteri	Fusobacteri	Fusobacteri	Fusobacteri	Fusobacteriales_ge	Fusobacteriales_ge	Otu2245	AJ867	Otu22	730	1	0	1
184	Bacteria	Patescibact	Saccharimoi	Saccharimoi	Saccharimoi	Saccharimonadales	Saccharimonadales	LC002961.1.1438	LC002	Otu20	891	1	0	1
185	Bacteria	Proteobacte	Alphaprotec	Rhodobacte	Rhodobacte	Paracoccus	Paracoccus	AB255111.1.1421	AB255	Otu20	857	1	0	1
186	Bacteria	Proteobacte	Alphaprotec	Rickettsiale	Mitochondri	Mitochondria_ge	Mitochondria_ge	Otu2217	CBTL0	Otu22	994	1	0	1
187	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Burkholderi	Comamonac	Comamonas	Comamonas	FJ893904.1.1355	FJ893	Otu21	904	1	0	1
188	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Burkholderi	Comamonac	Comamonas	Comamonas	GU454930.1.1492	GU454	Otu21	942	1	0	1
189	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Cardiobacte	Wohlfahrtii	Wohlfahrtiimonas	Wohlfahrtiimonas	Otu2155	HQ407	Otu21	874	1	0	1
190	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Cardiobacte	Wohlfahrtii	Wohlfahrtiimonas	Wohlfahrtiimonas	chitinici	LVDX0	Otu21	957	1	0	1
191	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Enterobacte	Aeromonad	Aeromonas	Aeromonas	KT851853.1.1509	KT851	Otu21	955	1	0	1
192	Bacteria	Proteobacte	Gammaprot	Enterobacte	Vibrionaceae	Vibrio	Vibrio	furnissii	Vibrio_furn	Otu21	970	1	0	1
193	Bacteria	Verrucomicr	Verrucomicr	Verrucomicr	Akkermansi	Akkermansia	Akkermansia	muciniphila	FJ3695	Otu21	893	1	0	1

Annexe 2 : Résultat brute d'analyse ITS WeBiotic®

1	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	list_Accession	OTU_label	bitscore	Source_track	webiotic_ITS
2	k_Viridiplani	p_Anthophyc	c_Eudicotyle	o_Fabales	f_Fabaceae	g_Glycine	s_Glycine_max	SH1605504.08FU_FJ60973	Otu002	726	unknown_sou	3218
3	k_Fungi	p_Ascomycc	c_Saccharo	o_Saccharo	f_Saccharo	g_Saccharomyces	s_Saccharomyces_cerevisiae	SH1613178.08FU_MH931	Otu001	769	unknown_sou	6777
4	k_Fungi	p_Ascomycc	c_Leotiomyc	o_Helotiales	f_Helotiace	g_Phaeohelotium	Otu024	undefined_GQ866223	Otu024	180	unknown_sou	1
5	k_Fungi	p_Ascomycc	c_Eurotiomyc	o_Eurotiales	f_Aspergilla	g_Aspergillus	Otu030	undefined_JN157802	Otu030	313	unknown_sou	1
6	k_Fungi	p_Ascomycc	c_Leotiomyc	o_Helotiales	f_Helotiace	g_Phaeohelotium	Otu067	undefined_JQ990194	Otu067	141	unknown_sou	2