

# REFERTO ESAME DEL MICROBIOTA

**Paziente: 61643**

Proprietario: COGNOME

DATA ESAME: 17/01/2024

## INFORMAZIONI SUL REFERTO

VETERINARIO REFERENTE: DOTT.

NOME DEL PAZIENTE: Amelie

SPECIE: cane	RAZZA:	SESSO: F	ETÀ:
NOME E COGNOME PROPRIETARIO:			
ANAMNESI:		ALIMENTAZIONE:	
CODICE CAMPIONE: 61643			
TIPO CAMPIONE: <i>Feci inviate in tubo con soluzione preservante</i>			
RICEVUTO IN DATA: 05/01/2024			

ANALISI EFFETTUATA: Analisi del microbioma presente nel campione in studio.

### METODICA ESEGUITA:

Sequenziamento Massivo Parallelo (MPS) mediante tecnica Next Generation Sequencing (NGS), con analisi della regione ipervariabile (V4) del 16S rRNA, da campioni di DNA estratto da feci raccolte e conservate in specifica provetta dotata di preservante.

Nelle pagine seguenti verranno fornite informazioni sul microbiota intestinale del paziente che saranno correlate con differenti condizioni metaboliche e di salute basandosi sui dati estrapolati dalla più recente letteratura scientifica pubblicata a livello internazionale.

**L'interpretazione dei dati ricavati dall'analisi deve essere effettuata esclusivamente da un veterinario clinico e da un nutrizionista veterinario esperto.**

## RISULTATI DELL'ANALISI

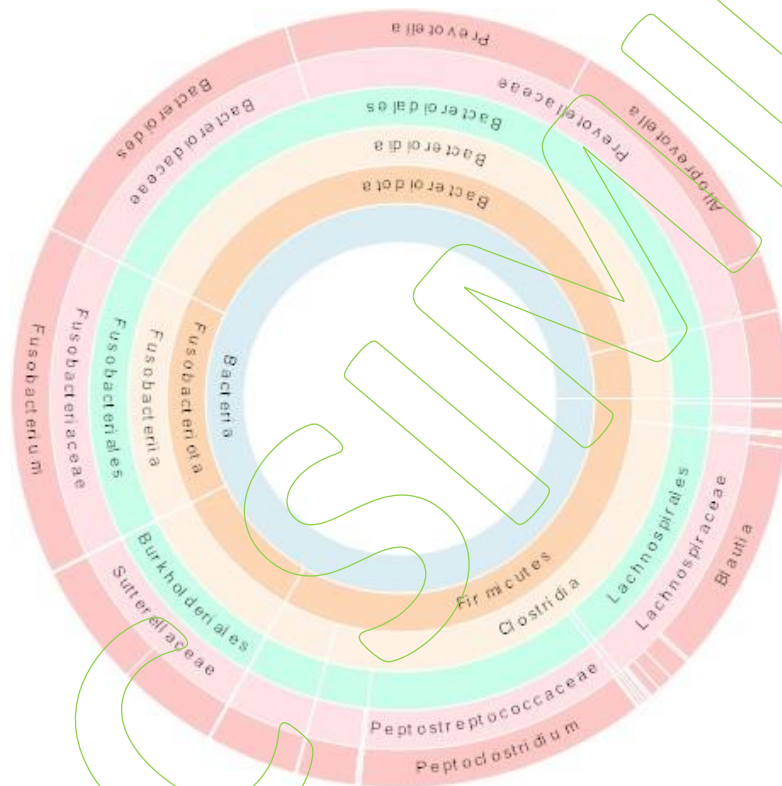
### QUANTITÀ E QUALITÀ DEL DNA ESTRATTO:

il campione estratto è risultato di quantità e qualità idonea al successivo protocollo di sequenziamento.

### RAPPRESENTAZIONE GRAFICA DEI DATI OTTENUTI:

rappresentazione grafica dei risultati di sequenziamento massivo del microbioma intestinale effettuati sul campione in studio. L'analisi approfondita delle letture ha consentito di effettuare la classificazione tassonomica delle specie presenti nel campione.

### VISUALIZZAZIONE KRONA



Di seguito riportiamo una spiegazione di alcuni batteri presenti nel vostro campione:

- BATTERIIDI:** Famiglia di batteri tra le più rappresentate nell'intestino insieme a quella dei Firmicuti. Sono per lo più coinvolti nella fermentazione dei carboidrati e proteine.
- FIRMICUTI:** Famiglia di batteri che si nutre di grassi animali e zuccheri. I firmicuti aiutano l'organismo ad assimilare questi nutrienti in elevate quantità e ne riducono l'espulsione con le feci. Sono quindi associati allo sviluppo di obesità e patologie come il diabete.
- PREVOTELLA:** Famiglia di batteri abbondanti nell'intestino in presenza di una dieta ricca di fibre vegetali.
- RUMINOCOCCHI:** Famiglia di batteri che contribuiscono alla digestione di zuccheri complessi, pertanto risultano abbondanti in soggetti che seguono diete ricche di carboidrati.
- PROTEOBATTERI:** Famiglia di batteri che si trovano in abbondanza nei soggetti che soffrono di malattie infiammatorie intestinali.

### INDICE DI BIODIVERSITÀ

BIODIVERSITÀ DEL CAMPIONE - NUMERO DI SPECIE: 43



BIODIVERSITÀ DEL CAMPIONE - SHANNON INDEX: 2.5



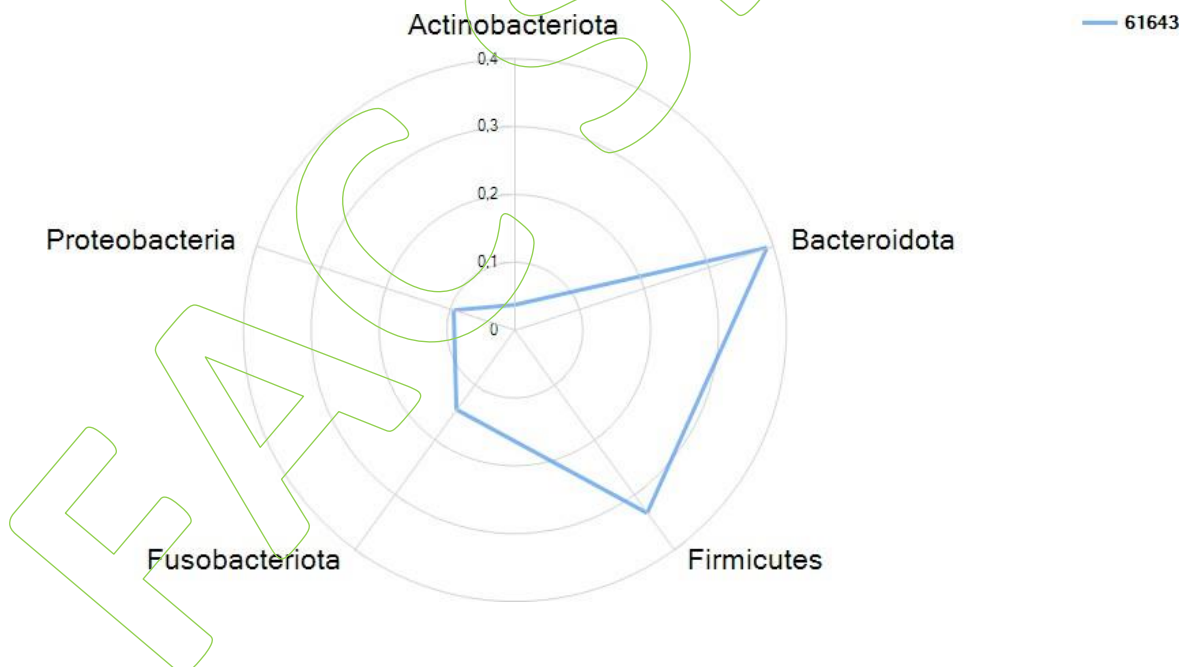
La biodiversità della flora batterica intestinale è un importante indicatore della salute, maggiore è la biodiversità (Shannon Index elevato) migliore è in genere lo stato di salute del nostro intestino. I batteri in simbiosi con il nostro intestino infatti aumentano il numero di enzimi presenti in grado di metabolizzare le sostanze ingerite con la dieta.

La biodiversità della flora batterica può essere influenzata da diversi fattori come la dieta o l'uso di antibiotici.

Il valore medio di biodiversità (numero di specie) riscontrato nella popolazione canina è pari a 65.

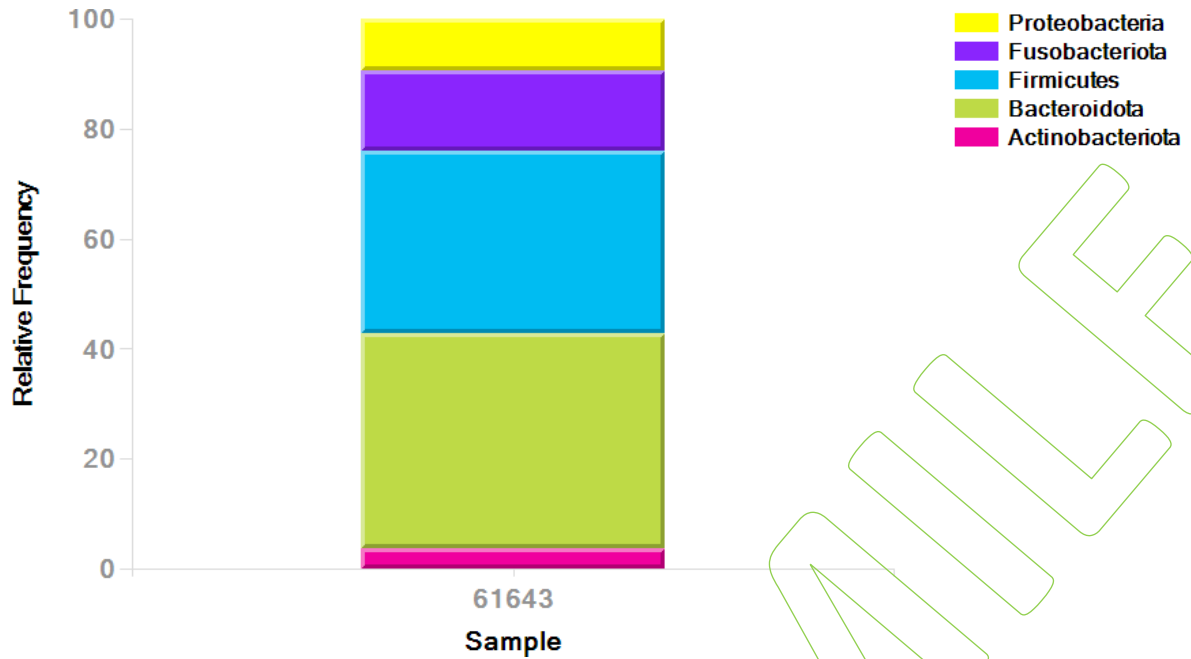
Il valore medio dell'indice di Shannon riscontrato nella popolazione canina è pari a 3.3.

### COMPOSIZIONE BATTERICA: RADAR PLOT - phylum

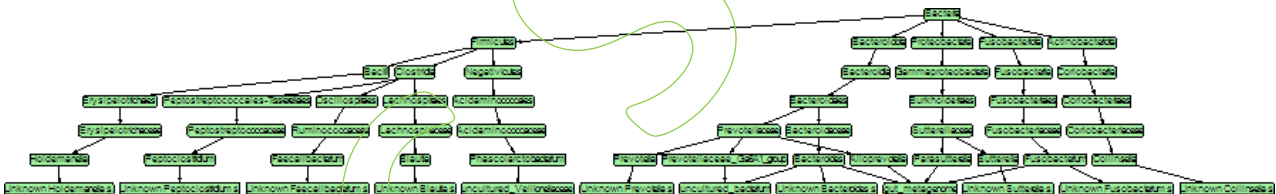


Il Radar plot descrive la composizione batterica del campione in esame in termini di tracciato (perimetro) all'interno del grafico. Il radar plot consente quindi di abbracciare a colpo d'occhio la composizione del microbiota nel suo complesso ed è particolarmente utile per monitorare il profilo delle specie batteriche nel tempo (e.g. prima, durante e dopo la dieta).

**COMPOSIZIONE BATTERICA: VISUALIZZAZIONE A BARRA - phylum**



**COMPOSIZIONE BATTERICA: VISUALIZZAZIONE AD ALBERO**



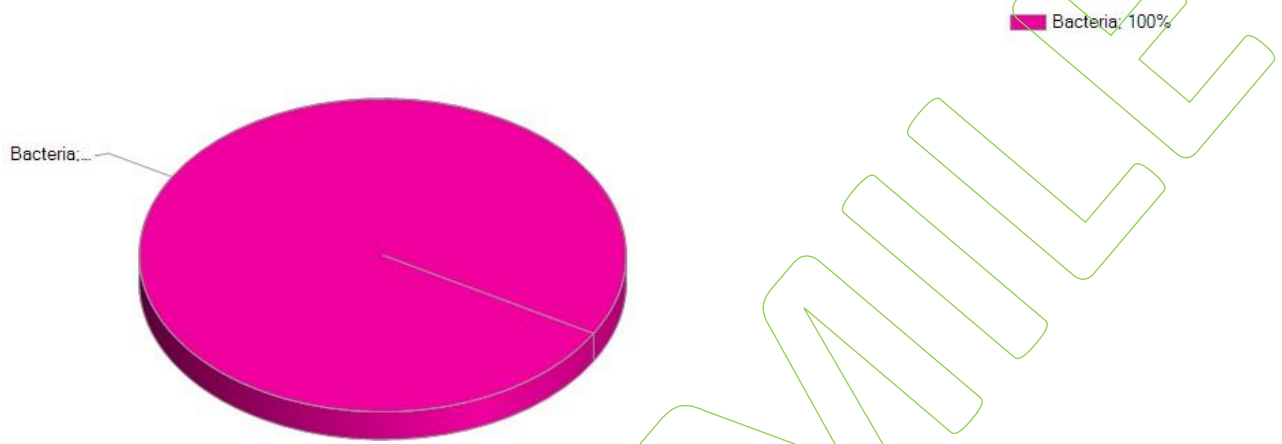
La visualizzazione ad albero delle specie batteriche presenti nel campione oggetto dell'analisi consente di abbracciare a colpo d'occhio tutte le specie batteriche, dal phylum (in alto) fino al dettaglio di genere e specie (in basso).

**COMPOSIZIONE BATTERICA: VISUALIZZAZIONE A TORTA**

La visualizzazione a torta consente di apprezzare nel dettaglio l'intera tassonomia delle specie batteriche presenti nel campione oggetto dell'analisi.

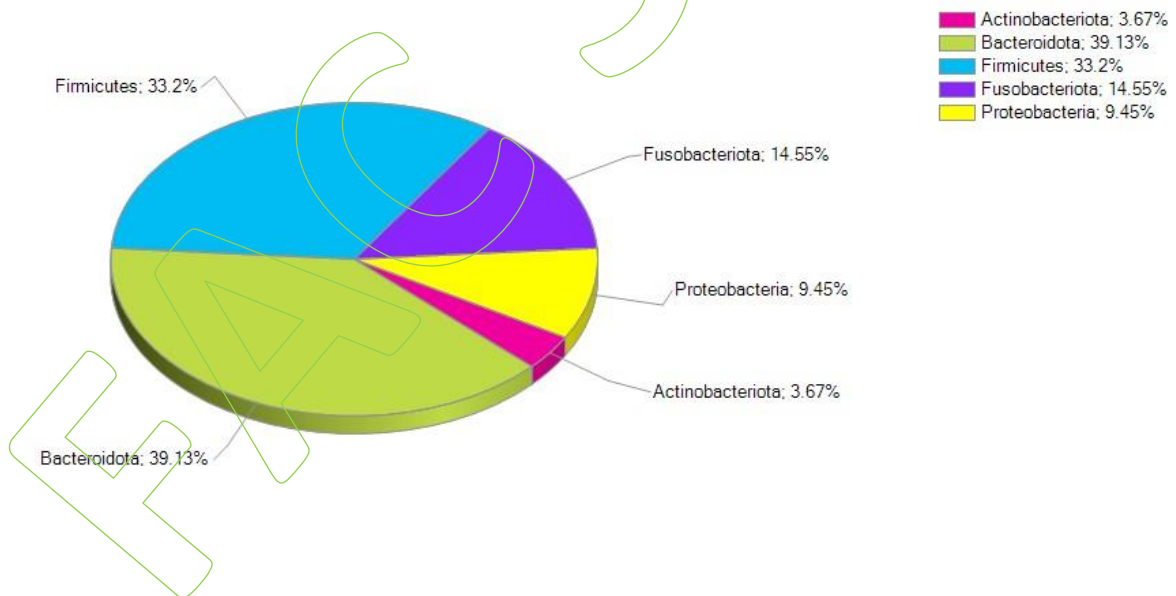
**Regno**

61643



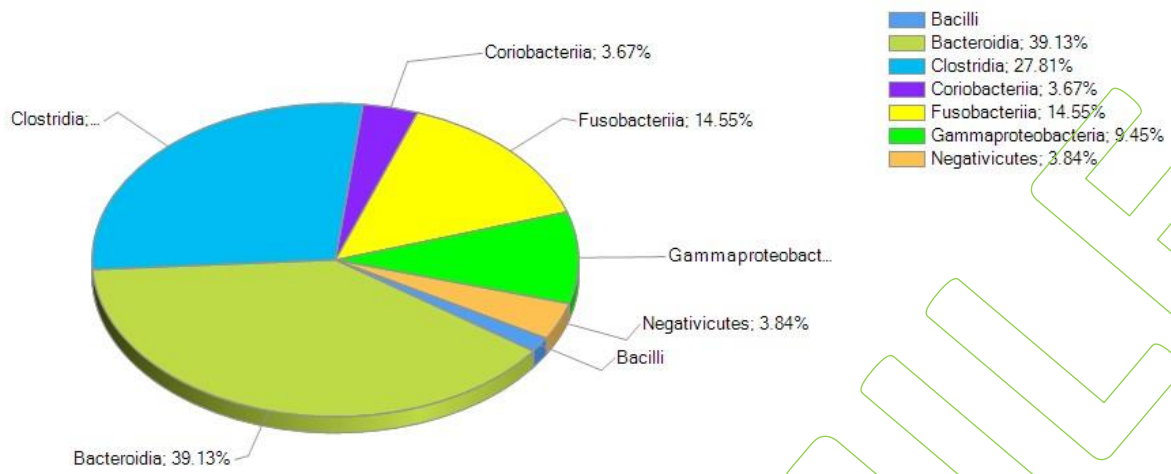
**Phylum**

61643



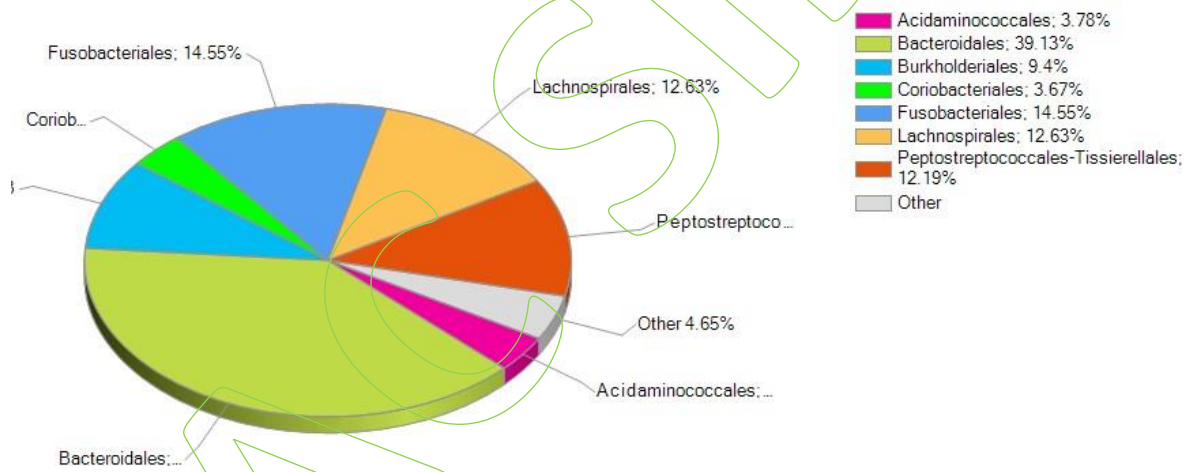
**Classe**

61643



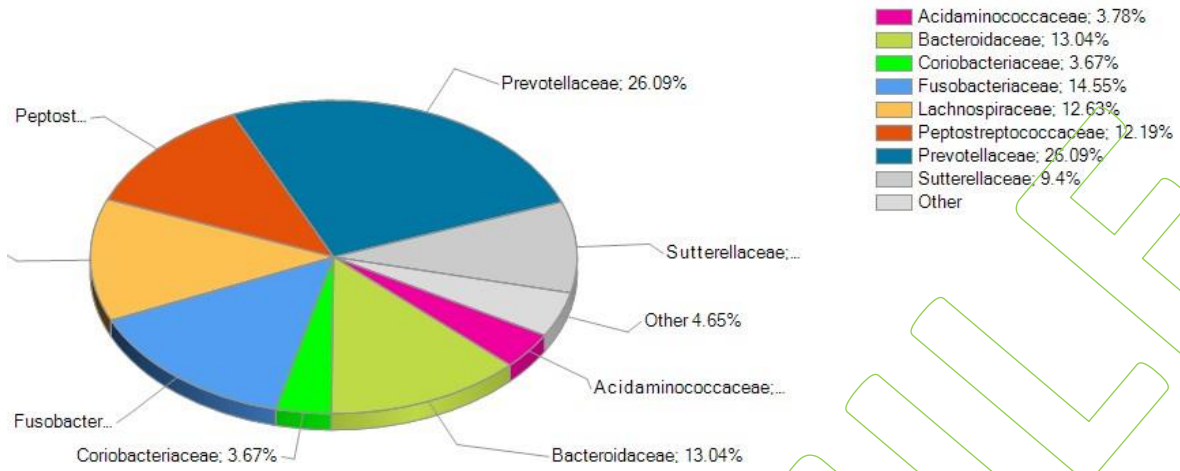
**Ordine**

61643



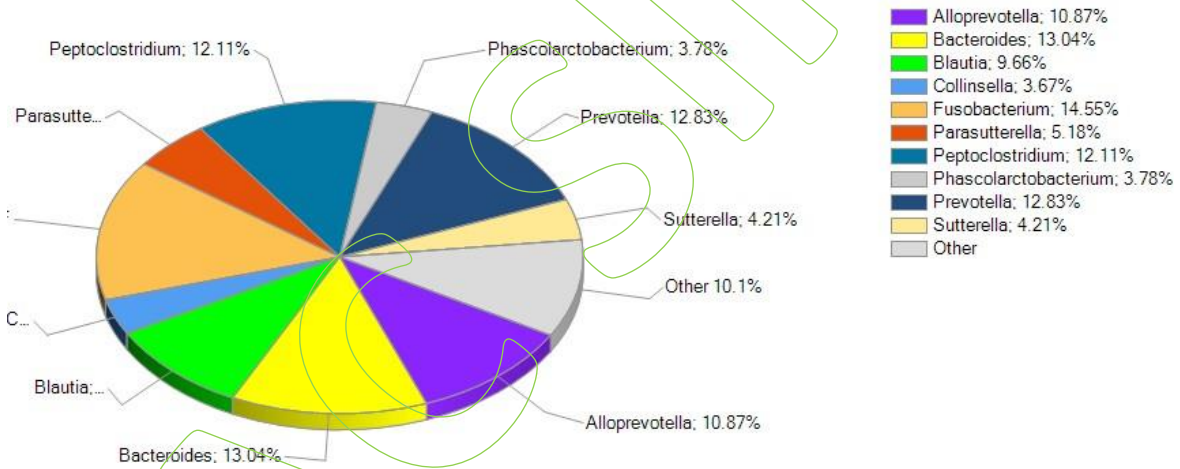
**Famiglia**

61643



**Genere**

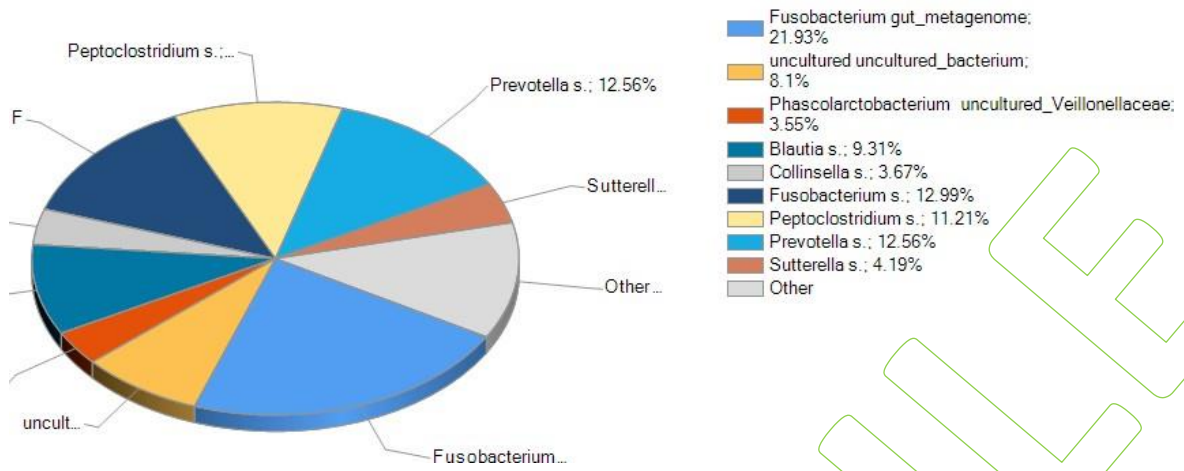
61643





**Specie**

**61643**



FAC SIMILE

**SPECIE BATTERICHE PATOGENE RISCONTRATE**  
**(percentuale sulla totalità del microbiota)**

Salmonella	0%
Haemophilus	0%
Helicobacter	0%
Pseudomonas	0%
Bacteroides fragilis	0%
Campylobacter jejuni	0%
Campylobacter upsaliensis	0%
Campylobacter helveticus	0%
Clostridioides difficile	0%
Clostridium perfringens	0,071%
Clostridium neonatale	0%
Enterococcus faecalis	0%
Escherichia Shigella	0,056%
Klebsiella pneumoniae	0%
Salmonella enterica	0%
Anaerobiospirillum succiniciproducens	0%
Anaerobiospirillum thomasi	0%
Streptococcus pyogenes	0%

**MALATTIA INFIAMMATORIA CRONICA DELL'INTESTINO**

Qui di seguito sono riportate le famiglie batteriche generalmente riscontrate in corso di malattia infiammatoria cronica dell'intestino, la percentuale riscontrata nel campione in esame e, tra parentesi, i valori di riferimento in un campione sano.

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Enterobacteriaceae	0,056	[0%]	*
Clostridiaceae	0,248	[6 - 84%]	*
Enterococcaceae	0	[0 - 3%]	
Streptococcaceae	0,242	[0 - 74%]	
Lachnospiraceae	12,483	[0 - 2%]	*
Arcobacteraceae (Campylobacterales)	0	[0 - 0.24%]	
Aerococcaceae	0	[0 - 3%]	
Atopobiaceae (Coriobacteriales)	0	[0 - 13%]	
Sutterellaceae (Burkholderiales)	9,376	[0%]	*
Prevotellaceae	26,092	[0 - 1.5%]	*
Collinsella	3,672	[0 - 13%]	
Erysipelotrichaceae	1,126	[0 - 45%]	
Desulfovibrionaceae	0	[0 - 45%]	
Escherichia-Shigella	0,056	[0%]	*

**VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ METABOLICA DEL MICROBIOTA INTESTINALE****PRODUZIONE DI ACETATO**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Bacteroides	13,036	[0 - 3%]	*
Bifidobacterium	0	[0 - 15%]	
Blautia	9,663	[0 - 28%]	
Ruminococcus	0	[0 - 46%]	
Streptococcus	0,242	[0 - 74%]	
Veillonella	0	[0 - 4%]	

**PRODUZIONE DI BUTIRRATO**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Eubacterium	0	[0 - 2%]	
Anaerostipes	0	[0 - 0.5%]	
Lachnospiraceae	12,483	[0 - 2%]	*
Butyrivibrio	0	[0 - 3%]	
Dorea	0	[0 - 0.1%]	
Faecalibacterium	2,471	[0 - 16%]	
Roseburia	0	[0 - 1%]	
Ruminococcaceae	2,529	[0 - 46%]	
Clostridium perfringens	0,071	[0%]	*
Fusobacterium varium	0	[0 - 11%]	

**PRODUZIONE DI LATTATO**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Bifidobacterium	0	[0 - 15%]	
Lachnospira	0	[0 - 0.5%]	
Lactobacillus	0	[0 - 74%]	
Ruminococcus	0	[0 - 46%]	
Streptococcus	0,242	[0 - 74%]	
Citrobacter	0	[0%]	

**PRODUZIONE DI PROPIONATO**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Eubacterium	0	[0 - 27%]	
Bacteroides	13,036	[0 - 3%]	*
Megasphaera	0,058	[0 - 15%]	
Megasphaera	0	[0 - 2%]	
Phascolarctobacterium	3,784	[0 - 1%]	*
Cutibacterium (Propionibacteriaceae)	0	[0%]	
Roseburia	0	[0 - 1%]	
Selenomonas	0	[0%]	
Veillonella	0	[0 - 4%]	
Prevotella	12,825	[0 - 1.5%]	*

**METABOLISMO LIPIDICO**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Phascolarctobacterium	3,784	[0 - 1%]	*
Megamonas	0,058	[0 - 15%]	
Megasphaera	0	[0 - 2%]	
Veillonella	0	[0 - 4%]	
Turicibacter	0,046	[0 - 10%]	

**METABOLISMO DEI CARBOIDRATI COMPLESSI (FIBRE/PECTINE)**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Bacteroidaceae	13,036	[0 - 12%]	*
Bacteroides	13,036	[0 - 3%]	*
Prevotella	12,825	[0 - 1.5%]	*
Ruminococcus	0	[0 - 46%]	
Phocaeicola	0	[0%]	
Prevotella copri	0	[0%]	
Prevotellaceae	26,092	[0 - 1.5%]	*
Ruminococcaceae	2,529	[0 - 46%]	

**METABOLISMO DEI CARBOIDRATI SEMPLICI**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
Bacteroides	13,036	[0 - 3%]	*
Bacteroidaceae	13,036	[0 - 4%]	*
Prevotella	12,825	[0 - 1.5%]	*
Peptoclostridium**	12,106	[0 - 49%]	
Clostridiaceae	0,248	[6 - 84%]	*
Ruminococcus	0	[0 - 46%]	
Lachnospiraceae	12,483	[0 - 2%]	*
Blautia	9,663	[0 - 28%]	
Parabacteroides	0	[0 - 0.5%]	
Bifidobacterium	0	[0 - 15%]	
Anaerostipes	0	[0 - 0.5%]	

\*\* Nel caso del genere Peptoclostridium, l'allineamento del dato a livello di specie non è univoco, pertanto è possibile arrivare ad una risoluzione certa solo a livello di genere.

E' tuttavia verosimile presupporre che parte delle reads assegnate al genere Peptoclostridium appartengano alla specie Clostridium hiranonis.

**METABOLISMO DEGLI ACIDI BILIARI**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
<b>Peptoclostridium**</b>	12,106	[0 - 49%]	

\*\* Nel caso del genere Peptoclostridium, l'allineamento del dato a livello di specie non è univoco, pertanto è possibile arrivare ad una risoluzione certa solo a livello di genere.

E' tuttavia verosimile presupporre che parte delle reads assegnate al genere Peptoclostridium appartengano alla specie Clostridium hiranonis.

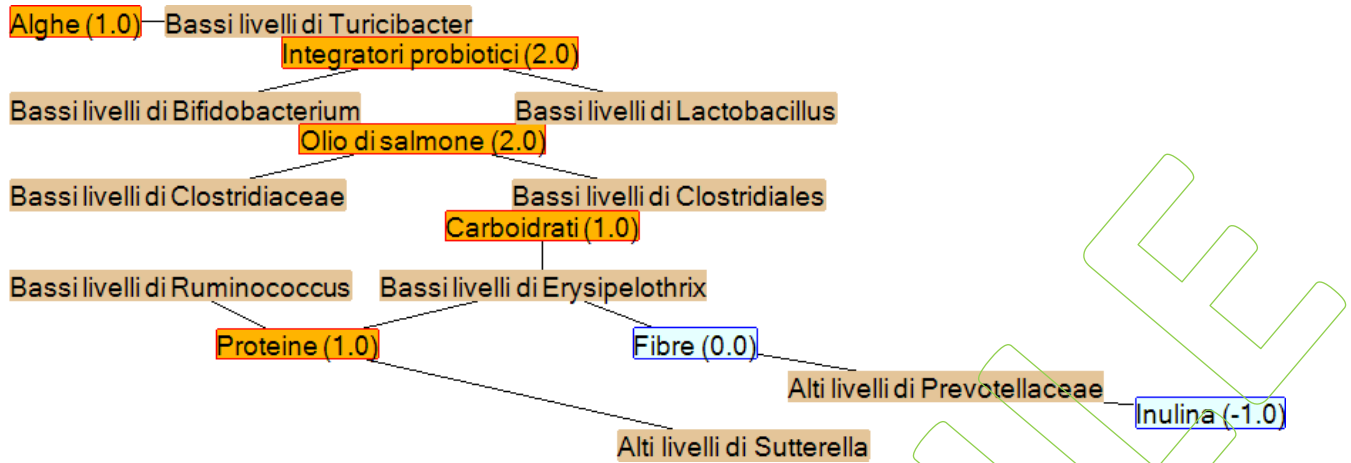
**PRODUZIONE DI IDROGENO SOLFORATO**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
<b>Bacilli</b>	1,497	[0 - 15%]	
<b>Bilophila</b>	0	[0 - 0.2%]	
<b>Corynebacterium</b>	0	[0%]	
<b>Desulfobacter</b>	0	[0%]	
<b>Desulfovibrio</b>	0	[0 - 0.4%]	
<b>Enterobacter</b>	0	[0%]	
<b>Staphylococcus</b>	0	[0%]	
<b>Klebsiella</b>	0	[0%]	
<b>Salmonella</b>	0	[0%]	

**ATTIVITÀ PROTEOLITICA**

	Valore ottenuto	Valore di riferimento	ANORMALE*
<b>Sutterella</b>	4,192	[0 - 0.5%]	*
<b>Lachnospirales</b>	12,483	[21 - 97%]	*
<b>Clostridiaceae</b>	0,248	[6 - 84%]	*
<b>Clostridia</b>	27,524	[21 - 79%]	
<b>Escherichia-Shigella</b>	0,056	[0%]	*
<b>Blautia</b>	9,663	[0 - 28%]	
<b>Bilophila</b>	0	[0 - 0.2%]	
<b>Parasutterella</b>	5,184	[0 - 1%]	*
<b>Peptostreptococcus</b>	0	[0 - 0.5%]	
<b>Fusobacterium varium</b>	0	[0 - 11%]	
<b>Lactobacillus</b>	0	[0 - 74%]	
<b>Erysipelothrix</b>	0	[0 - 45%]	

### Raccomandazioni alimentari in base all'analisi del microbiota intestinale



L'analisi di metagenomica del microbiota intestinale di Amelie, tramite software modulo specialistico Lampovet, ha identificato i macronutrienti da integrare nel piano nutrizionale del soggetto in studio al fine di promuovere uno stato di eubiosi del microbiota intestinale. Tali raccomandazioni non sono da intendersi come un piano nutrizionale ma come raccomandazioni per il medico veterinario nutrizionista responsabile di definire un piano nutrizionale specifico per le esigenze dell'animale. Il nutrizionista veterinario stabilirà la quantità necessaria dei seguenti macronutrienti in base al fabbisogno alimentare dell'animale.

Si suggerisce pertanto di far visionare l'esito dell'esame ad un veterinario esperto nell'interpretazione del microbiota intestinale.

### COMMENTO FINALE DEL MEDICO VETERINARIO ESPERTO IN INTERPRETAZIONE DEL MICROBIOTA INTESTINALE

L'analisi del microbiota intestinale di Amelie evidenzia una moderata riduzione dell'indice di Shannon .

**Phylum Bacteroidetes:** aumento dei batteri nel Phylum che appare composto per la maggior parte da Prevotelle e Paraprevotelle ( 26% totate su 39,15%) batteri che metabolizzano le fibre introdotte con la dieta, producendo H<sub>2</sub>. Si segnala che una elevata percentuale di Prevotelle potrebbe indurre un ridotto assorbimento di Butirrato a livello intestinale, fonte di energia per i colociti. In elevate percentuali le Prevotelle sono da considerarsi patobionti, in quanto in grado di indurre la produzione di Citochine pro-infiammatorie da parte delle cellule epiteliali della barriera intestinale. Inoltre, all'intero di questo Genus si osserva una elevata percentuale di Prevotelle Ga 61 correlati con il pathway LPS/TLR4/NF-κB, pro-infiammatorio. Moderata percentuale di Bacteroidacee e Bacteroides, batteri metabolizzatori di

carboidrati e proteine; assenza di Parabacteroides, batteri metabolizzatori di proteine con produzione di importanti Acidi Grassi a corta e media catena.

#### **Phylum Firmicutis:**

- lieve riduzione in percentuale dei batteri nel Phylum; in particolare le Famiglie batteriche produttori di Acidi grassi a corta e media catena ( Clostridiales e Clostridiacee) sono lievemente ridotte ; si osserva una minima percentuale di Cl. Perfringens, batterio patobionte produttore di enterotossine dannose per le cellule epiteliali della barriera intestinale. ;

-moderata riduzione in percentuale dei Ruminocchi/ Fecalibatteri, metabolizzatori delle fibre cellulosolitiche delle piante con produzione di Butirrato. Minima percentuale di Faecalibacterium prausnitzii, batterio marker di buona salute dell'intestino. I batteri della classe delle Lachnospiracee **sono invece notevolmente aumentati**; in genere l'aumento di Lachnospiracee è significativa di elevata concentrazione di Butirrato nel colon; L'acido butirrico in particolare, viene utilizzato come energia dai colociti per mantenere integra la barriera epiteliale può regolare l'espressione di geni legati al metabolismo del glucosio. Concentrazioni più elevate di butirrato nel colon e nelle feci, tuttavia, possono indicare che questi metaboliti vengono escreti piuttosto che assorbiti generalmente a seguito di patologie del piccolo intestino. Uno studio recente ha scoperto che concentrazioni elevate di butirrato nelle feci probabilmente causate dalla disbiosi del microbiota intestinale del piccolo intestino sono associati a patologie immunomediate, obesità, ipertensione patologie infiammatorie del piccolo intestino.

-minima percentuale di Megamonas e Phascolarbacterium, batteri correlati con il metabolismo lipidico e il metabolismo del propionato, sicuramente correlati con uno stato infiammatorio cronico dell'intestino.

-assenza di Erysipelotrichi correlati con il metabolismo delle proteine e assenza di Turicibacter sanguinis, batterio produttore di Acidi grassi a corta e media catena.

-adeguata percentuale di Clostridium Hiranonis, batterio correlato con il metabolismo degli Acidi Biliari, prima linea di difesa dell'intestino nei confronti degli agenti patogeni.

**Phylum Fusobatteri:** adeguata percentuale dei batteri nel Phylum. Tali batteri rappresentano una risorsa per il microbiota del cane sano in quanto sono degli attivi degradati di proteine producendo Acidi grassi a corta catena e la loro proliferazione generalmente favorita da una vita all'aria aperta e da un'adeguata stimolazione mentale.

**Phylum Proteobatteri:** adeguata percentuale di batteri nel Phylum che appare però costituito per la maggior parte da batteri della specie Sutterelle, batteri in grado di indurre alterate modulazioni cellulari fra il sistema immunitario locale e le cellule epiteliali della barriera intestinale. Minima percentuale di E.Coli/Shigella, batteri patogeni.

**Phylum Actinobatteri:** adeguata percentuale di batteri nel Phylum che appare rappresentato per la maggior parte da batteri del Genus Collinsella;

#### **Il veterinario referente**



## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- 1) Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease Panagiotis G. Xenoulis, Blake Palculict, Karin Allenspach Jörg M. Steiner, Angela M. Van House & Jan S. Suchodolski FEMS First published online 21 July 2008.
- 2) Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis Jan S. Suchodolski, Jennifer Camacho & Jorg M. Steiner FEMS First published online 16 June 2008.
- 3) Key bacterial families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) are related to the digestion of protein and energy in dogs Emma N. Bermingham, Paul Maclean, David G. Thomas, Nicholas J. Cave, and Wayne Young J PeerJ. 2017; 5: e3019.
- 4) 16S rRNA Gene Pyrosequencing Reveals Bacterial Dysbiosis in the Duodenum of Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease Jan S. Suchodolski, Scot E. Dowd, Vicky Wilke, Jörg M. Steiner, and Albert E. Jergens PLoS One. 2012; 7(6): e39333.
- 5) Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease Yasushi Minamoto, Cristiane C Otoni, Samantha M Steelman, Olga Büyükleblebici, Jörg M Steiner, Albert E Jergens & Jan S Suchodolski Gut Microbes 2015
- 6) Prevalence of Clostridium perfringens, Clostridium perfringens enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea Yasushi Minamoto, Naila Dhanani, Melissa E. Markel, Jörg M. Steiner, Jan S. Suchodolski Veterinary Microbiology 2014
- 7) The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease PLoS ONE · December 2012
- 8) Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. Panagiotis G. Xenoulis et al. FEMS 2017
- 9) Gut microbiota of humans, dogs, and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. British Journal of Nutrition (2015), 113,
- 10) Intestinal Microbes and Digestive System Disease in Dogs. an S. Suchodolski, MedVet, DrVetMed, PhD, AGAF, DACVM Texas A&M University 2017
- 11) Raw meat-based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs Misa Sandri, Simeone Dal Monego Giuseppe Conte, Sandy Sgorlon and Bruno Stefanon. BMC Veterinary Research (2017) 13:65
- 12) Understanding the canine intestinal microbiota and its modification by pro-pre- and synbiotics – what is the evidence? Silke Schmitz and Jan Suchodolski
- 13) Commensal Bacteria, Traditional and Opportunistic Pathogens, Dysbiosis and Bacterial Killing in Inflammatory Bowel Diseases Christopher Dennis Packey and R. Balfour Sartor Curr Opin Infect Dis. 2009 Jun; 22(3)
- 14) COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats J. S. Suchodolski 2014
- 15) Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs Julia B Honneffer, Yasushi Minamoto, Jan S Suchodolski 2015
- 16) Intestinal Microbiota of Dogs and Cats: a Bigger World than We Thought Jan S. Suchodolski 2015
- 17) Effects of the Dietary Protein and Carbohydrate Ratio on Gut Microbiomes in Dogs of Different Body Conditions Qinghong Lia et al. ASM 2014
- 18) Intestinal Microbes and Digestive System Disease in Dogs TVP 2017
- 19) Disentangling factors that shape the gut microbiota in German Shepherd dogs. Åsa Vilson, Ziad Ramadan, Qinghong Li Åke Hedhammar Arleigh Reynolds, Julie Spears<sup>2</sup>, Jeff Labuda, Robyn Pelker Bengt BjoË rksteÅn Johan Dicksved Helene Hansson-Hamlin PLoSone 2017
- 20) Immunity, Microbiota & Immune-related Disorders in German Shepherd dogs PLoSone 2017
- 21) The Gastrointestinal Microbiome: A Review C. Barko, M.A. McMichael, K.S. Swanson, and D.A. Williams Vet Intern Med. 2018
- 22) The canine gut microbiome is associated with higher risk of gastric dilatation-volvulus and high risk genetic variants of the immune system Meredith A. J. Hullar Johanna W. Lampe, Beverly J. Torok-Storb, Michael Harkey PLoSone 2017
- 23) Evaluation of mucosal bacteria and histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in German shepherd dogs with chronic enteropathies K. Allenspach a, A. House a, K. Smith c, F.M. McNeill a, A. Hendricks Vet Microbiol 2017
- 24) Faecal microbiota in lean and obese dogs Stefanie Handl FEMS 2013