VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2012 - Thèse n° 75

ETUDE DE L'EFFET DE SHAMPOOINGS TRAITANTS, ANTI-INFECTIEUX, SUR L'EFFICACITE DE LA BARRIERE CUTANEE CHEZ LE CHIEN, ET DE L'INTERET DE L'APPLICATION D'UN REHYDRATANT

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 10 Décembre 2012
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

BARTOLI Xavier
Né le 14 Janvier 1986
à EPERNAY(51)

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2012 - Thèse n°

ETUDE DE L'EFFET DE SHAMPOOINGS TRAITANTS, ANTI-INFECTIEUX, SUR L'EFFICACITE DE LA BARRIERE CUTANEE CHEZ LE CHIEN, ET DE L'INTERET DE L'APPLICATION D'UN REHYDRATANT

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 10 Décembre 2012
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

BARTOLI Xavier
Né le 14 Janvier 1986
à EPERNAY(51)

Départements et corps enseignants de l'ENVL

Directeur : Stéphane Martinot

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
ALOGNINOUWA	Théodore	Professeur 1ere cl	Pathologie du bétail
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences hors cl	Gestion des élevages
ARCANGIOLI	Marie-Anne	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
ARTOIS	Marc	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BECKER	Claire	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
BELLI	Patrick	Maître de conférences associé	Pathologie morphologique et clinique
BELLUCO	Sara	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences cl normale	Equine
BENOIT	Etienne	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BERNY	Philippe	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
BOULOCHER	Caroline	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
BOURDOISEAU	Gilles	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
BRUYERE	Pierre	Maître de conférences Contractuel	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BUFF	Samuel	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BURONFOSSE	Thierry	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
CACHON	Thibaut	Maître de conférences Contractuel	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CADORE	Jean-Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
CAROZZO	Claude	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CHABANNE	Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CHALVET-MONFRAY	Karine	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
COMMUN	Loic	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
DEMONT	Pierre	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
DESJARDINS PESSON	Isabelle	Maître de conférences Contractuel	Equine
DJELOUADJI	Zorée	Maître de conférences stagiaire	Santé Publique et Vétérinaire
ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
FAU	Didier	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
FOURNEL	Corinne	Professeur 1ere cl	Pathologie morphologique et clinique
FRANCK	Michel	Professeur 1ere cl	Gestion des élevages
FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
GANGL	Monika	Maître de conférences Contractuel	Equine
GARNIER	François	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
GENEVOIS	Jean-Pierre	Professeur cl ex	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur 2eme cl	Biologie Fonctionnelle
GONTHIER	Alain	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
GRAIN	Françoise	Professeur 2eme cl	Gestion des élevages
GRANCHER	Denis	Maître de conférences hors cl	Gestion des élevages
GREZEL	Delphine	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
GUERIN	Pierre	Professeur 2eme cl	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
GUERIN-FAUBLEE	Véronique	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
HUGONNARD	Marine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
JUNOT	Stéphane	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
KECK	Gérard	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
KODJO	Angeli	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LACHERETZ	Antoine	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
LAMBERT	Véronique	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
LE-GRAND	Dominique	Maître de conférences hors cl	Pathologie du bétail
LEBLOND	Agnes	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
LEPAGE	Olivier	Professeur 1ere cl	Equine
LOUZIER	Vanessa	Maître de conférences cl normale	Biologie Fonctionnelle
MARCHAL	Thierry	Maître de conférences hors cl	Pathologie morphologique et clinique
MIALET	Sylvie	Inspecteur de la santé publique vétérinaire (ISPV) faisant fonction de MC	Santé Publique et Vétérinaire
MOUNIER	Luc	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
PEPIN	Michel	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
PIN	Didier	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
PONCE	Frédérique	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
PORTIER	Karine	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
PROUILLAC	Caroline	Maître de conférences cl normale	Biologie fonctionnelle
REMY	Denise	Professeur 2eme cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
ROGER	Thierry	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SABATIER	Philippe	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
SAWAYA	Serge	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SERGENTET	Delphine	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
THIEBAULT	Jean-Jacques	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
VIGUIER	Eric	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Maître de conférences Contractuel	Pathologie morphologique et clinique
ZENNER	Lionel	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire

Remerciements

A Monsieur le Professeur Jean-François NICOLAS,
De la Faculté de Médecine de Lyon,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury de thèse,
Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Didier PIN,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,
Pour son encadrement tout au long de ce travail, pour sa disponibilité et ses nombreux conseils.
Avec toute ma gratitude et mes sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORE,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury de thèse,
Remerciements les plus sincères.

A Monsieur le Docteur Oscar FANTINI,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,
Pour son aide précieuse et sa bonne humeur.
J'ai vraiment apprécié travailler avec toi.
Encore merci.

Aux techniciennes du laboratoire d'hématologie et d'histologie et au personnel de l'Institut Claude Bourgelat,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,
Qu'ils soient remerciés pour leur aide et leur travail.

Table des matières

TABLE DES MATIERES ..... - 7 -

INDEX DES ABREVIATIONS UTILISEES ..... - 10 -

INDEX DES FIGURES ..... - 11 -

INDEX DES PHOTOGRAPHIES ..... - 14 -

INDEX DES TABLEAUX ..... - 15 -

INDEX DES ANNEXES ..... - 16 -

INTRODUCTION ..... - 17 -

I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE ..... - 19 -

A. STRUCTURE DE L'EPIDERME CHEZ LE CHIEN ..... - 19 -

1. La couche basale ..... - 21 -
2. La couche épineuse ..... - 22 -
3. La couche granuleuse ..... - 22 -
4. La couche cornée (ou *stratum corneum*) ..... - 22 -
5. Le film hydrolipidique superficiel ..... - 23 -

B. LA FONCTION DE BARRIERE CUTANEE ..... - 24 -

1. Les différents constituants de la barrière cutanée ..... - 24 -
   a) Le *stratum corneum* ..... - 25 -
      (1) Les cornéocytes ..... - 25 -
         (a) Les cornéodesmosomes ..... - 25 -
         (b) L'enveloppe cornée ..... - 25 -
         (c) La filaggrine ..... - 28 -
      (2) Les lipides ..... - 28 -
         (a) Les céramides ..... - 30 -
         (b) Les acides gras libres ..... - 30 -
         (c) Le cholestérol ..... - 30 -
   b) Les couches nucléées ..... - 30 -
2. Processus de kératinisation et de desquamation ..... - 31 -
   a) La kératinisation ..... - 31 -
   b) La desquamation ..... - 32 -
3. Homéostasie et réparation de la barrière cutanée ..... - 34 -
   a) Les différentes étapes de la réparation de la barrière cutanée ..... - 34 -
   b) Les signaux régulateurs de la restauration et du maintien de la barrière cutanée ..... - 35 -

(1) Les cytokines - 35 -
(2) L'AMPc (3', 5' adénosine-monophosphate cyclique) - 35 -
(3) Le calcium - 35 -
(4) Le pH - 36 -
4. Une aide à la restauration de la barrière cutanée : les réhydratants cutanés - 37 -
a) Les différents types de produits hydratants - 37 -
b) Composition de l'HUMIDERM® - 38 -
C. ETUDES CONCERNANT LA MESURE DE LA PERTE INSENSIBLE EN EAU - 39 -
1. Définition et importance de la perte insensible en eau - 39 -
2. Validation de l'utilisation de la perte insensible en eau comme reflet de l'efficacité de la barrière cutanée - 40 -
3. Différents appareils de mesure à disposition - 40 -
a) Les appareils à chambre ouverte - 41 -
b) Les appareils à condensateur - 42 -
c) Les appareils à chambre fermée non ventilée - 42 -
4. Facteurs de variation chez le chien - 43 -
a) Facteurs intrinsèques de variation de la PIE - 44 -
b) Facteurs extrinsèques de variation de la PIE - 44 -
D. UTILISATION DE SHAMPOOINGS EN MEDECINE VETERINAIRE - 45 -
1. Utilisation de shampooings lors d'affections d'origine infectieuse - 45 -
a) Shampooings antibactériens - 46 -
(1) Composition du DOUXO-CHLORHEXIDINE® - 47 -
(2) Composition du PAXCUTOL® - 47 -
b) Shampooings antiparasitaires - 48 -
c) Shampooings antifongiques - 48 -
2. Utilisation de shampooings lors de troubles kératoséborrhéiques - 49 -
3. Utilisation de shampooings lors de dermatite atopique - 50 -
II. ETUDE EXPERIMENTALE - 51 -
A. PRINCIPE ET HYPOTHESE - 51 -
B. MATERIEL ET METHODE - 51 -
1. Sujets - 51 -
2. Méthode - 52 -
a) Sites d'étude - 52 -
b) Traitements reçus par les différents sites - 54 -
c) Réalisation des mesures - 54 -
d) Réalisation des biopsies - 55 -
e) Analyse statistique - 56 -
C. RESULTATS - 56 -
1. Etude de l'influence de l'application biquotidienne de shampooing : comparaison des sites 1 et 4.- 57 -
a) Mesures de la PIE - 57 -
(1) Etude graphique - 57 -

(2) Etude statistique - 62 -
b) Mesures du pH - 65 -
(1) Etude graphique - 65 -
(2) Etude statistique - 69 -
2. Etude de l'effet de la pulvérisation de réhydratant après l'application de shampooing : comparaison des sites 1 et 2 - 73 -
a) Mesures de la PIE - 73 -
(1) Etude graphique - 73 -
(2) Etude statistique - 77 -
b) Mesures du pH - 81 -
(1) Etude graphique - 81 -
(2) Etude Statistique - 85 -
3. Etude de l'impact de l'application biquotidienne d'HUMIDERM® sur la barrière cutanée - 89 -
a) Mesures de la PIE - 89 -
(1) Etude graphique - 89 -
(2) Etude statistique - 91 -
b) Mesures du pH - 93 -
(1) Etude graphique - 93 -
(2) Etude statistique - 95 -
4. Examen histopathologique - 97 -
a) Coloration à l'hémalun-éosine - 98 -
(1) Biopsie en peau saine - 98 -
(2) Biopsies en sites traités - 99 -
b) Marquage à l'aide de l'anticorps anti-Ki-67 - 101 -
D. DISCUSSION - 105 -
1. Sur l'étude dans sa globalité - 105 -
2. Sur le protocole expérimental et les résultats obtenus - 105 -
a) Choix des shampooings testés - 105 -
b) Détermination des sites d'étude - 106 -
c) Choix de la perte insensible en eau comme paramètre d'évaluation de l'efficacité de la barrière cutanée - 106 -
(1) Facteurs liés aux sujets - 106 -
(2) Facteurs liés au mode opératoire - 107 -
d) Interprétation des résultats obtenus - 108 -
(1) Influence des shampooings testés sur nos paramètres cutanés - 108 -
(2) Influence de l'application d'HUMIDERM® sur nos paramètres cutanés - 109 -
(3) Etude histopathologique - 110 -
CONCLUSION - 112 -
ANNEXES - 113 -
BIBLIOGRAPHIE - 122 -

Index des abréviations utilisées

AMPc : Adénosine-Monophosphate Cyclique

NMF : Natural Moisturizing Factor

PIE : Perte Insensible en Eau

$sPLA_2$: secretory Phospholipase A_2

ABCA12 : ATP-Binding Cassette subgroup 1 member 12 transporter

SC : *Stratum Corneum*

UPSW : Ultra Pure Soft Water

Index des figures

Figure 1: Structure de la peau, colorée à l'hémalun-éosine (x200). Photographie du Dr. Didier PIN. ..... *- 20 -*
Figure 2: Structure schématique de l'épiderme [LLOYD, 2003] ..... *- 23 -*
Figure 3: Assemblage de la couche cornée [KALININ, 2002] ..... *- 27 -*
Figure 4: Formation des lamelles lipidiques extracellulaires [FEINGOLD, 2009] ..... *- 29 -*
Figure 5: La différenciation des kératinocytes, schéma adapté de [SCOTT, 2001a] ..... *- 33 -*
Figure 6: Appareil à chambre ouverte [IMHOF, 2009] ..... *- 41 -*
Figure 7: Appareil à chambre fermée IMHOF, 2009] ..... *- 43 -*
Figure 8: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 59 -*
Figure 9: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL® ..... *- 60 -*
Figure 10: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 61 -*
Figure 11: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL® ..... *- 61 -*
Figure 12: DOUXO® CHLORHEXIDINE : normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 4 . *- 62 -*
Figure 13: PAXCUTOL® : normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 4 ..... *- 63 -*
Figure 14: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les PIE des sites 1 et 4 ..... *- 64 -*
Figure 15: PAXCUTOL® : box-plot pour les PIE des sites 1 et 4 ..... *- 64 -*
Figure 16: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 66 -*
Figure 17: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL® ..... *- 68 -*
Figure 18: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 69 -*
Figure 19: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL® ..... *- 69 -*

Figure 20: DOUXO® CHLORHEXIDINE : Normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et des sites 4 ..... *- 70 -*
Figure 21: PAXCUTOL® : normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et 4 ..... *- 71 -*
Figure 22: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les pH des sites 1 et 4 ..... *- 72 -*
Figure 23: PAXCUTOL® : box-plot pour les pH des sites 1 et 4 ..... *- 72 -*
Figure 24: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 75 -*
Figure 25: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL® ..... *- 76 -*
Figure 26: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 77 -*
Figure 27: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL® ..... *- 77 -*
Figure 28: DOUXO® CHLORHEXIDINE : normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 2 . *- 78 -*
Figure 29: PAXCUTOL® : normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 2 ..... *- 79 -*
Figure 30: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les PIE des sites 1 et 2 ..... *- 80 -*
Figure 31: PAXCUTOL® : box-plot pour les PIE des sites 1 et 2 ..... *- 80 -*
Figure 32: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités au DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 82 -*
Figure 33: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités au PAXCUTOL® ..... *- 84 -*
Figure 34: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 2 pour les sujets traités au DOUXO® CHLORHEXIDINE ..... *- 84 -*
Figure 35: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 2 pour les sujets traités au PAXCUTOL® ..... *- 85 -*
Figure 36: DOUXO® CHLORHEXIDINE : normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et 2.- *86 -*
Figure 37: PAXCUTOL® : normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et 2 ..... *- 87 -*
Figure 38: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les pH des sites 1 et 2 ..... *- 88 -*
Figure 39: PAXCUTOL® : box-plot pour les pH des sites 1 et 2 ..... *- 88 -*
Figure 40: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 3 et 4 pour l'ensemble des sujets ..... *- 90 -*
Figure 41: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 3 et 4 pour l'ensemble des 6 sujets..- *91 -*
Figure 42: Normal QQ-plot pour les PIE des sites 3 et 4 ..... *- 92 -*

Figure 43: Box-plot pour les PIE des sites 3 et 4 .....- 93 -
Figure 44: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 3 et 4 pour l'ensemble des sujets .....- 94 -
Figure 45: Moyennes des valeurs du pH des sites 3 et 4 pour chacun des 6 sujets.....- 95 -
Figure 46: Normal QQ-plot pour les pH des sites 3 et 4.....- 96 -
Figure 47: Box-plot pour les pH des sites 3 et 4.....- 97 -
Figure 48: Structure schématique d'un follicule pileux.....- 120 -

Index des photographies

Photographie 1: Localisation anatomique des différents sites (vue latérale gauche).....- 53 -
Photographie 2: Localisation anatomique des différents sites (vue latérale droite).....- 53 -
Photographie 3: Peau saine, coloration hémalun-éosine (x200) .....- 99 -
Photographie 4: Site traité à l'aide de Paxcutol®, coloration à l'hémalun-éosine (x20).- 100 -
Photographie 5: Site traité à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE® et réhydraté, coloration à l'hémalun-éosine (x20).....- 101 -
Photographie 6: Site traité à l'aide de PAXCUTOL®, marquage du Ki-67 (x20).....- 102 -
Photographie 7: Site traité à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE®, puis réhydraté, marquage du Ki-67 (x20) .....- 103 -

Index des tableaux

Tableau 1: Détermination des différents sites d'étude ..... *- 52 -*

Tableau 2: Traitements réalisés en fonction du site d'étude ..... *- 54 -*

Tableau 3: Déroulement global des expérimentations. M = Mesures (PIE et pH) ; S = Shampooings (PAXCUTOL® ou Douxo® CHLORHEXIDINE) ; H = Humiderm® ; B = Biopsie ..... *- 56 -*

Tableau 4: Résultats de l'étude histopathologique ..... *- 104 -*

Index des annexes

Annexe 1 : Tableaux des valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez chacun des six sujets…….-113-

Annexe 2 : Compléments concernant la structure de la peau……-119-

INTRODUCTION

La peau est l'organe le plus étendu de l'organisme. Elle constitue un système dynamique, et possède un métabolisme important, assurant ses différentes fonctions, dont, en particulier, le rôle de barrière et le maintien de l'hydratation cutanée.

La peau a pour fonction principale le rôle de barrière. Elle agit en effet comme interface entre l'organisme et le milieu extérieur. Ce rôle est particulièrement important en milieu terrestre, et donc plus sec. Cette fonction de barrière est permise par la couche cornée. Couche la plus externe de l'épiderme, celle-ci présente une structure particulière, composée de cellules anucléées incrustées dans une matrice lipidique, qui assure une protection efficace.

L'épiderme est constamment soumis à des agressions diverses, qu'elles soient physiques, chimiques ou biologiques. Dans l'espèce canine, la survenue de dermatoses est fréquente, ne serait-ce que du fait du mode de vie des nos animaux domestiques. Les affections cutanées, notamment infectieuses, représentent un motif de consultation courant en médecine vétérinaire. Le développement de produits topiques, auxquels la peau n'est pas totalement imperméable, offre au vétérinaire dermatologue un arsenal thérapeutique de premier choix. Faciles d'usage, aux indications nombreuses (anti-infectieux, antiparasitaires, antifongiques), les shampooings représentent une solution thérapeutique souvent utilisée et efficace. Bien qu'ils soient souvent prescrits en association avec un réhydratant, leur effet sur la barrière cutanée n'a jamais été étudié dans l'espèce canine.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence de deux shampooings anti-infectieux, le DOUXO-CHLORHEXIDINE® et le PAXCUTOL®, sur l'efficacité de la barrière cutanée, lors de leur utilisation fréquente et répétée, comme il peut être nécessaire de le faire lors de pyodermites superficielle ou profonde.

Dans une première partie, bibliographique, nous faisons un rappel sur la structure de l'épiderme avant d'étudier cette fonction de barrière cutanée. Une présentation sera ensuite faite sur la mesure de la perte insensible en eau, paramètre choisi dans cette étude pour

évaluer l'efficacité de la barrière cutanée, avant d'étudier les différents shampooings anti-infectieux disponibles en médecine vétérinaire et leur utilisation.

Dans une seconde partie, nous présentons le protocole expérimental que nous avons élaboré afin d'évaluer l'influence du DOUXO-CHLORHEXIDINE® et du PAXCUTOL® sur l'efficacité de la barrière cutanée, ainsi que l'intérêt d'utiliser un réhydratant, l'HUMIDERM®, après de tels traitements. Les résultats de cette étude sont ensuite présentés et discutés.

I. Etude bibliographique

A. Structure de l'épiderme chez le chien

La peau est composée de 4 couches. De la surface vers la profondeur, nous retrouvons l'**épiderme**, le **derme**, l'**hypoderme** et le **peaucier**. Elles assurent de nombreuses fonctions primordiales pour l'organisme [SCOTT, 2001a]. En plus de fonctions diverses, telles que la sécrétion et l'excrétion de certaines molécules, la pigmentation ou le métabolisme d'hormones, la peau :

- est un **organe immunitaire** à part entière, de part l'activité des kératinocytes, des cellules de Langerhans et des lymphocytes.

- est un **organe sensitif majeur** (nociception, sensibilités, tactile ou thermique).

- permet la **régulation de la température interne**, par le biais de la circulation sanguine superficielle et du pelage.

- **produit les annexes** (poils, griffes) et constitue un **organe de stockage**, qui agit comme réservoir de vitamines, d'eau, d'électrolytes, de protéines ou de graisses.

Par ailleurs, et c'est ce qui nous intéresse particulièrement dans cette étude, la peau joue le **rôle capital de barrière entre l'organisme et le milieu extérieur**. Elle permet une certaine protection vis-à-vis des agressions extérieures (qu'elles soient physiques, chimiques ou infectieuses) et limite les fuites d'eau, d'électrolytes ou de macromolécules de l'intérieur vers l'extérieur [PROKSCH, 2008].

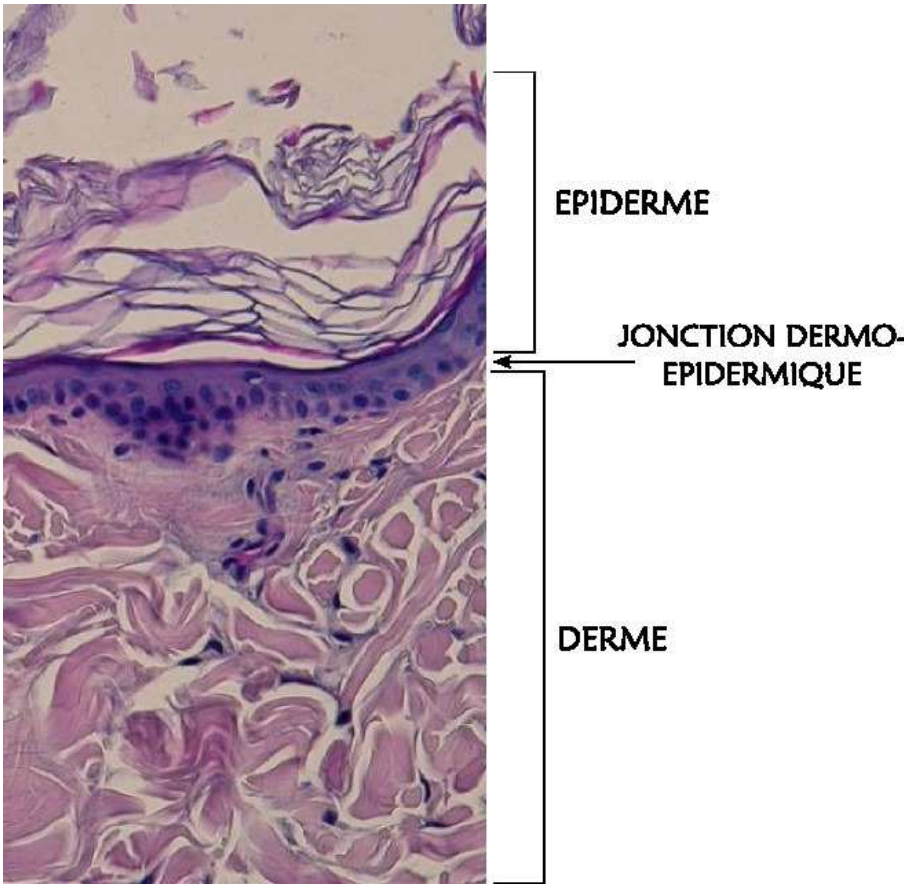


Figure 1: Structure de la peau, colorée à l'hémalun-éosine (x200). Photographie du Dr. Didier PIN.

La fonction de barrière cutanée, qui nous intéresse dans cette étude, est principalement assurée par l'épiderme. Nous détaillerons donc particulièrement sa structure. Des informations concernant les autres couches de la peau du chien sont disponibles en annexe 2.

L'épiderme est la couche la plus superficielle de la peau. Il est formé d'un épithélium malpighien kératinisé pluristratifié. Son renouvellement se fait en permanence durant la vie de l'animal. Son épaisseur varie, dans l'espèce canine, entre 0,1 mm et 0,5 mm. Il est particulièrement épais au niveau de la truffe et des coussinets.

L'épiderme est composé de différents types de cellules. Les kératinocytes y sont majoritaires (85%), mais des mélanocytes (5%), des cellules de Langerhans (3-8%) et des cellules de Merkel (2%) s'y trouvent également [SCOTT, 2001a]. La cohésion de cette structure est permise notamment par l'important réseau de kératines qu'elle contient.

Au sein de l'épiderme, nous retrouvons quatre couches cellulaires. De la profondeur vers la surface, nous distinguons la **couche basale**, la **couche épineuse**, la couche **granuleuse** et enfin la couche **cornée**. La première citée est constituée d'une unique assise cellulaire, tandis que la couche épineuse et la couche granuleuse comptent entre une et trois couches cellulaires [LLOYD, 2003]. La couche cornée présente une structure particulière, comprenant 45 à 52 strates cellulaires. Son épaisseur est variable, entre 5 µm et 1500 µm en fonction du site anatomique. Au niveau des flancs, auxquels nous nous intéresserons particulièrement dans cette étude, elle est de 13 µm environ [SCOTT, 2001a]. La couche cornée s'exfolie en permanence, phénomène compensé par la multiplication des cellules de la couche basale. Cet équilibre confère à l'épiderme une épaisseur constante, pour un site anatomique donné [MACHADO, 2010].

Etudions maintenant plus en détails chacune des différentes couches cellulaires qui composent l'épiderme.

1. La couche basale

Reposant sur la jonction dermo-épidermique, il s'agit de la couche la plus profonde de l'épiderme. La couche basale est composée d'une seule strate cellulaire, majoritairement des **kératinocytes** immatures en phase de multiplication [SCOTT, 2001a]. Ceux-ci présentent un noyau volumineux, entouré des filaments de kératine qui s'insèrent sur des desmosomes et hémidesmosomes. Suite au **processus de kératinisation**, ces kératinocytes donnent les cellules différenciées qui composent les couches supérieures.

En moindre proportion, nous retrouvons dans la couche basale des **mélanocytes** (on compte 1 mélanocyte pour 10 à 20 kératinocytes dans la couche basale). Ils élaborent la mélanine au sein des mélanosomes qu'ils contiennent. Ces derniers peuvent être transférés vers les kératinocytes par l'intermédiaire de prolongements dendritiques. Cette association, structurelle et fonctionnelle, est désignée sous le terme d'**unité de mélanisation épidermique**.

Enfin, la couche basale comprend des **cellules de Merkel**, mécanorécepteurs appartenant au système neuroendocrinien diffus, ainsi que des **cellules de Langerhans**, cellules dendritiques présentatrices d'antigènes. Ces dernières se retrouvent dans l'ensemble des couches épidermiques et sont d'origine hématopoïétique.

2. La couche épineuse

La couche épineuse repose sur la couche basale. Elle est composée de cellules issues de la différenciation des kératinocytes de la couche basale : les **acanthocytes**. Celles-ci forment une structure cohésive permise par trois systèmes principaux d'adhésion et de communication que sont les desmosomes, les cadhérines (à l'origine de zones d'adhérence localisées) et les jonctions gap [SCOTT, 2001a]. De la même manière qu'au sein de la couche basale, nous retrouvons des cellules de Langerhans dispersées parmi les acanthocytes.

3. La couche granuleuse

Au-dessus de la couche épineuse, nous retrouvons la couche granuleuse. Celle-ci est formée, dans les zones velues, d'une à deux strates cellulaires. Les kératinocytes continuent leur différenciation et ont ici la forme de cellules aplaties, parallèles à la surface cutanée, au noyau rétracté. Nous retrouvons les systèmes d'adhésion et de communication déjà observés au sein de la couche épineuse. Les kératinocytes contiennent au sein de leur cytoplasme **des grains de kératohyaline**, riches en protéines, et des **corps lamellaires**, principalement composés de lipide [WICKETT, 2006]. Ces structures jouent un rôle primordial dans la fonction de barrière cutanée, comme nous le verrons ultérieurement.

4. La couche cornée (ou *stratum corneum*)

Couche la plus superficielle de l'épiderme, la couche cornée est en constante desquamation [KASUMASA, 2003]. Il s'agit de la couche épidermique qui comprend le plus de strates cellulaires. Elle est composée de plusieurs couches de cellules issues des kératinocytes de la couche granuleuse. Ceux-ci, à la fin du processus de cornification, au cours duquel ils perdent leur noyau et leur contenu cytoplasmique, deviennent les **cornéocytes** de la couche cornée. Ils ne contiennent plus alors que des filaments de kératine. De volume comparable aux kératinocytes de la couche granuleuse, les cornéocytes présentent néanmoins le contenu intracellulaire le plus dense des cellules épidermiques [MARKS, 2004]. Ces cellules kératinisées sont reliées entre elles par des **cornéodesmosomes** et sont délimités par une structure hautement spécialisée, l'**enveloppe cornée**. Celle-ci est composée

essentiellement de protéines (90%) et de lipides [KALININ, 2002]. Sa structure sera étudiée plus en détails par la suite. Enfin, les cornéocytes sont entourés d'une matrice extracellulaire riche en lipides.

La partie la plus profonde de la couche cornée est qualifiée de ***stratum compactum***. Les cellules y sont encore très jointives. La partie la plus superficielle, où survient la desquamation des cornéocytes, est qualifiée de ***stratum disjunctum***.

Le *stratum corneum* (SC), est une des principales structures impliquées dans la fonction de barrière cutanée.

5. Le film hydrolipidique superficiel

Le film hydrolipidique, recouvrant la peau, est formé à partir du produit de sécrétion des glandes sébacées et sudoripares, des lipides intercellulaires épidermiques, ainsi que des débris cellulaires des cornéocytes. Il abrite la flore commensale et possède une action antibactérienne et antifongique. Il participe, de plus, à l'imperméabilité du pelage [SCOTT, 2001a].

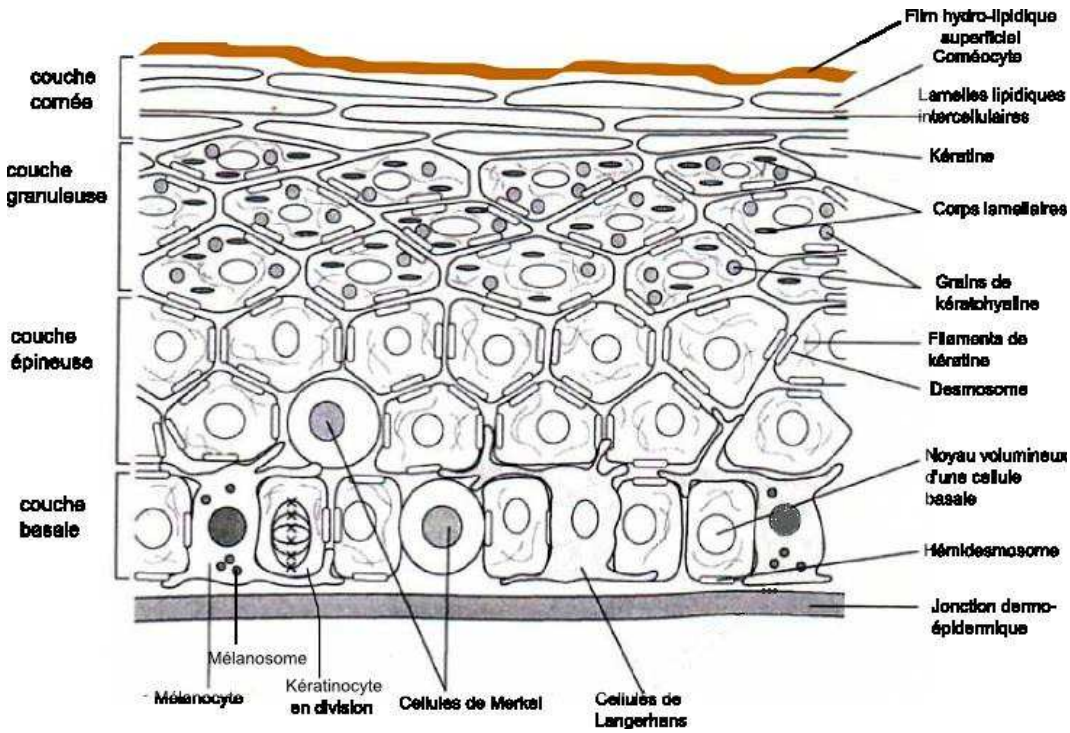


Figure 2: Structure schématique de l'épiderme [LLOYD, 2003]

B. La fonction de barrière cutanée

La peau constitue une interface entre l'organisme et le milieu extérieur. Elle est souvent vue comme un obstacle aux agressions extérieures, mais elle joue également un rôle essentiel en limitant la diffusion d'eau et d'électrolytes vers le milieu extérieur [MADISON, 2003]. Cette fonction de barrière cutanée est principalement assurée par la dernière couche épidermique, le *stratum corneum*, mais les cellules nucléées de l'épiderme interviennent également.

Le SC est ainsi une barrière physique et imperméable. Il permet, en effet, la restriction des mouvements d'eau et d'électrolytes vers le milieu extérieur grâce à des kératinocytes entièrement cornéifiés et à une matrice lipidique extracellulaire aux propriétés hydrophobes. Par ailleurs, il limite la pénétration en profondeur de substances potentiellement délétères pour l'organisme [FEINGOLD, 2009].

Le *stratum corneum* offre, de plus, une défense contre les agents infectieux. Défense physique d'abord, limitant leur pénétration, mais également chimique et biochimique, permise par les lipides, les enzymes hydrolytiques, les peptides antimicrobiens, et un pH cutané acide. Par ailleurs, la desquamation permanente du *stratum disjunctum* limite l'ancrage des pathogènes de surface [MARKS, 2004]. Enfin, intervient également une barrière immunologique composée des éléments cellulaires et humoraux du système immunitaire [PROKSCH, 2008].

1. Les différents constituants de la barrière cutanée

La barrière cutanée est essentiellement constituée par la couche cornée, ou *stratum corneum*. Il s'agit d'une structure solide composée d'espaces intercellulaires enrichis en lipides et de cornéocytes reliés entre eux par des cornéodesmosomes. En face interne de la membrane cytoplasmique des cornéocytes, se trouve l'enveloppe cornée, dont le rôle au sein de la barrière cutanée est important. Les cellules nucléées de l'épiderme interviennent également dans cette fonction de barrière cutanée, à un degré moindre.

a) Le *stratum corneum*

(1) Les cornéocytes

Comme nous l'avons vu, les cornéocytes sont le résultat de la différenciation des kératinocytes originaires de la couche basale de l'épiderme. Ce sont des cellules plates, anucléées et gorgées de filaments de kératine, semblables à des « lentilles de kératine » [PROKSCH, 2008]. Les filaments de kératine s'étendent à travers l'ensemble du cytoplasme. Ils sont condensés en de fins faisceaux parfaitement ordonnés. Cette organisation leur est conférée par leur interaction avec une protéine matricielle, la filaggrine [PALMER, 2006]. Les filaments de kératine s'ancrent au niveau des cornéodesmosomes, permettant une certaine cohésion de la couche cornée.

(a) Les cornéodesmosomes

Les **cornéodesmosomes**, sont des desmosomes spécifiques au SC. Ils relient les cornéocytes entre eux, jouant ainsi un rôle important dans la cohésion et l'intégrité du SC, et donc de la barrière cutanée. Notons que les desmosomes reliant les cornéocytes aux kératinocytes de la couche granuleuse sont appelés desmosomes de transition et ne sont présents qu'à cet endroit spécifique [KOCH, 1994 ; AL-AMOUDI, 2005].

Les cornéodesmosomes sont constitués de glycoprotéines transmembranaires appartenant (la cornéodesmosine notamment, qui est propre aux cornéodesmosomes) [RAWLINGS, 2005 ; RAWLINGS, 2008].

(b) L'enveloppe cornée

(i) Composition de l'enveloppe cornée

Les cornéocytes sont comme « encapsulés » dans l'**enveloppe cornée**. Il s'agit d'une structure insoluble, extrêmement stable, située sous la membrane cytoplasmique et constituée

de protéines et de lipides [PROKSCH, 2008]. En face interne, elle présente une couche protéique de 10 nm d'épaisseur environ, tandis qu'en face externe se trouve une couche lipidique de 5 nm d'épaisseur [KALININ, 2002].

L'**enveloppe lipidique**, est composée de céramides particuliers, liés à l'**enveloppe protéique** par l'intermédiaire de liaisons covalentes [MADISON, 2003].

L'**enveloppe protéique** est notamment composée d'**involucrine** et de **loricrine** [KASUMASA, 2003]. La première est exprimée lors du processus terminal de différenciation des kératinocytes [EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, 1998]. L'involucrine est le principal support pour l'attache des céramides de l'enveloppe lipidique. La loricrine, quant à elle, est synthétisée au sein de la couche granuleuse, en association avec les grains de kératohyaline [SCOTT, 2001a].

La liaison de ces différents éléments structuraux de l'enveloppe cornée, par des ponts disulfures et iso-peptidiques notamment, est permise par l'action de **transglutaminases** [NEMES, 1999 ; CANDI, 2005]. Ces enzymes jouent un rôle primordial dans l'élaboration de la couche cornée. Il a en effet été montré chez des souris qu'une déficience en transglutaminase 1 était à l'origine d'un SC défectueux et d'une mortalité néonatale importante due à une perte d'eau excessive [MATSUKI, 1998].

(ii) Formation de l'enveloppe cornée

L'assemblage de l'enveloppe cornée, au cours de la phase finale de différenciation des kératinocytes, peut se décomposer en trois étapes principales [KALININ, 2002]:

- la première étape consiste, d'une part, en l'expression d'envoplakine et de périplakine, qui se lient aux protéines desmosomales. D'autre part survient l'expression d'involucrine qui s'associe à la membrane plasmique des kératinocytes. Les molécules d'involucrine se lient, par ailleurs, entre elles, et à celles d'envoplakine. Cette première étape aboutit au recouvrement complet de la face interne de la membrane cytoplasmique des kératinocytes par des protéines. Ce processus, permis par l'action des transglutaminases, est dépendant d'une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium.

- la seconde étape consiste en la formation de l'enveloppe lipidique. Suite à l'extrusion des corps lamellaires contenus dans la couche granuleuse, des ω-hydroxycéramides à longue chaine sont libérés. Ils se lient au tapis protéique tout juste formé. Les autres lipides contenus dans les granules lamellaires s'organisent quant à eux en lamelles intercellulaires [PROKSCH, 2008].

- la dernière étape consiste en la formation de complexes spécifiques nés de l'association des particules de loricrine avec les SPRs (Small Proline-Rich proteins), permise par la transglutaminase 3 [NEMES, 1999 ; CANDI, 2005]. Ceux-ci viennent alors renforcer l'enveloppe cornée en formation.

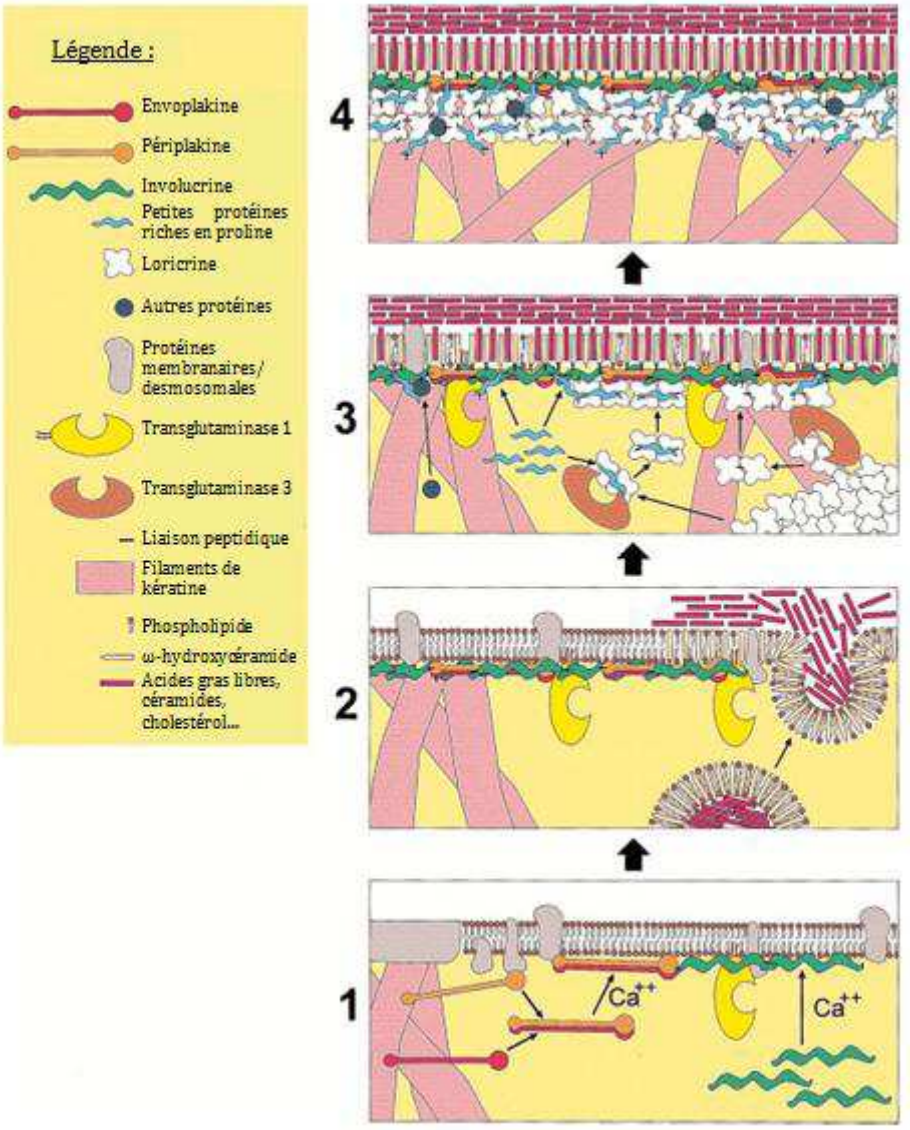


Figure 3: Assemblage de la couche cornée [KALININ, 2002]

(c) La filaggrine

La **filaggrine** est une protéine contenue dans la matrice extracellulaire du SC, et responsable de l'organisation de la kératine au sein des cornéocytes.

Elle est formée à partir de la profilaggrine, qui est le constituant principal des grains de kératohyaline de la couche granuleuse. Ce précurseur, phosphorylé, est incapable de s'associer aux filaments de kératine. Ceci permet d'éviter une condensation trop précoce de la kératine et donc une compaction prématurée des kératinocytes. Suite à sa déphosphorylation et son clivage, une molécule de profilaggrine donne 10 à 12 molécules de filaggrine. La transformation de la profilaggrine en filaggrine au cours de la différenciation des kératinocytes serait régulée par la concentration intracellulaire en calcium [SANDILANDS, 2009].

La filaggrine n'interagit qu'avec les filaments de kératine. Elle est à l'origine de l'affaissement caractéristique des cornéocytes. A elles seules, ces 2 molécules représentent 80% à 90% de la masse protéique de l'épiderme d'un mammifère [ROOP, 1995 ; NEMES, 1999].

Au-delà de son rôle dans l'agrégation terminale des filaments de kératine, la filaggrine permet le maintien d'une hydratation suffisante du *stratum corneum*. En effet, sa dégradation aboutit à la libération de **NMF**, **« Natural Moisturizing Factor »** (facteur naturel d'hydratation en Français) dans les kératinocytes. Cette protéolyse est influencée par l'humidité de l'air ambiant et tout changement dans la teneur en eau de la couche cornée [SANDILANDS, 2009].

(2) Les lipides

Les cornéocytes « baignent » dans une matrice extracellulaire riche en lipides non-polaires organisés en couches lamellaires [MENON, 1992]. Cette structure hydrophobe contribue à l'élaboration et au maintien de la barrière cutanée. Elle intervient également dans la cohésion et la desquamation des cornéocytes.

La majorité des données sur le métabolisme lipidique cutané concerne les espèces murine et humaine. Cependant, il a été démontré que la composition lipidique du *stratum corneum* chez le chien est comparable à celle observée chez l'homme [POPA, 2010].

Les lipides contenus dans le *stratum corneum* sont synthétisés par les kératinocytes puis exportés dans le milieu extracellulaire. Ils proviennent des corps lamellaires des couches épineuse et granuleuse. Ce sont des vésicules riches en lipides polaires (glucosylcéramides, sphyngomyélines, cholestérol, phospholipides) dérivées de l'appareil de Golgi [DOWNING, 1987]. Ces vésicules contiennent également un certain nombre d'enzymes (hydrolases, lipases) [FEINGOLD, 2009]. En réponse à certains signaux (une augmentation de la concentration calcique au sein de la couche granuleuse, par exemple), les corps lamellaires déversent leur contenu dans le milieu extracellulaire par exocytose [PROKSCH, 2008]. Les lipides ainsi libérés sont métabolisés par les enzymes précitées pour former les acides non-polaires que sont les **acides gras libres**, les **céramides** et le **cholestérol**. Ces derniers sont les constituants majeurs des lamelles lipidiques extracellulaires, et les principaux lipides du *stratum corneum* [PROKSCH, 2008].

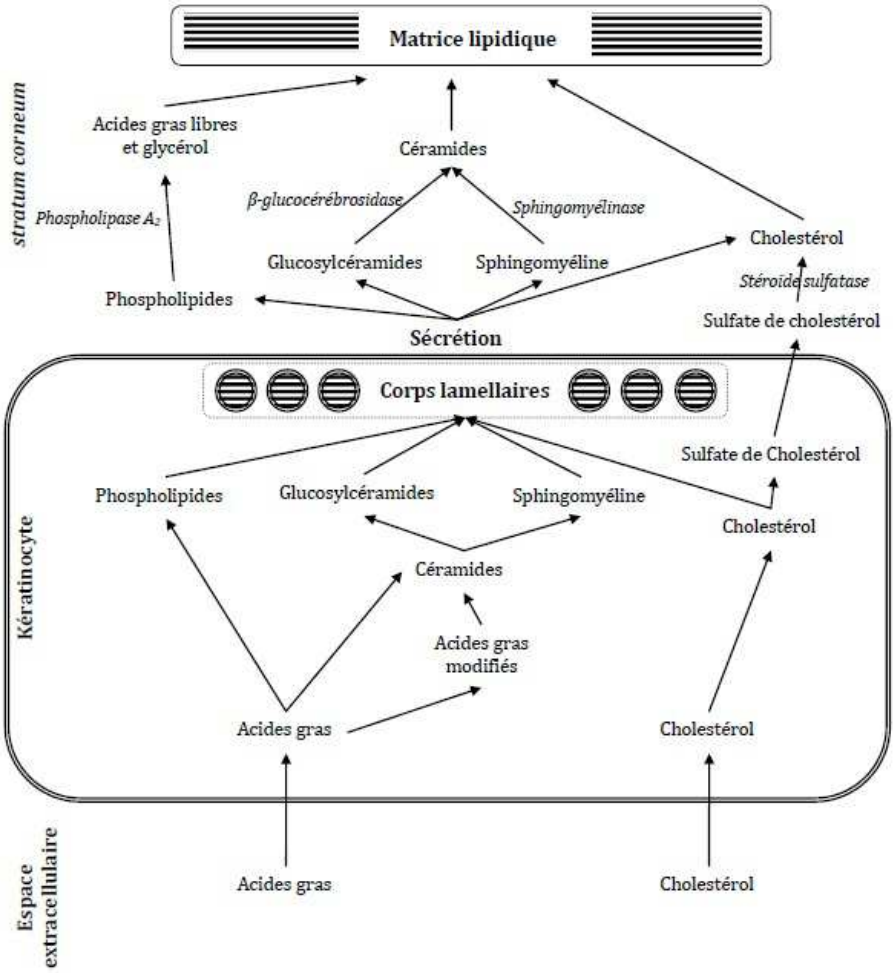


Figure 4: Formation des lamelles lipidiques extracellulaires [FEINGOLD, 2009]

(a) Les céramides

Ils représentent 30% à 40% des lipides du SC, qui en compte douze types différents [UCHIDA, 2006]. Parmi ceux-ci se trouvent les céramides A et B, liés à la partie protéique de l'enveloppe cornée par l'intermédiaire de liaisons covalentes qu'ils établissent avec l'involucrine notamment [BOUWSTRA, 2006].

(b) Les acides gras libres

10% à 15% des lipides du *stratum corneum* sont représentés par les acides gras. Ils sont synthétisés dans l'épiderme par action de l'acétyl-CoA-carboxylase, ou apportés par l'alimentation. Ils jouent un rôle important dans l'acidification de la couche cornée, essentielle pour la régulation de l'activité de nombreuses enzymes [FEINGOLD, 2007]. Chez l'homme, une carence sévère en acides gras essentiels est à l'origine d'une altération de la barrière cutanée et d'une prédisposition à certaines infections bactériennes [PROKSCH, 1992].

(c) Le cholestérol

Le cholestérol représente 25% des lipides du SC. La majeure partie est synthétisée *in situ* à partir d'acétate [PROKSCH, 2008]. Le taux de cholestérol disponible pour participer à la fonction de barrière cutanée est régulé par un transporteur membranaire, l'ABCA12 (ATP-Binding Cassette subgroup 1 member 12 transporter) [MAN, 2006]. La synthèse de cholestérol épidermique augmente lors des phénomènes de réparation de la barrière cutanée [PROKSCH, 1990].

b) Les couches nucléées

Bien que le rôle du *stratum corneum* dans la fonction de barrière cutanée soit le plus important, les couches nucléées de l'épiderme interviennent également. Il a, en effet, été

observé que la PIE augmente lorsque le SC est retiré expérimentalement, mais que le phénomène est largement exacerbé lors du retrait de la totalité des couches épidermiques [PROKSCH, 2008].

Le rôle principal des couches nucléées de l'épiderme est d'assurer la formation d'une couche cornée fonctionnelle [KLIGMAN, 1964]. D'autre part, de nombreuses structures d'adhésion y sont présentes (jonctions serrées, jonctions-gap, jonctions serrées, desmosomes). Celles-ci offrent à l'ensemble de l'épiderme une cohésion indispensable au rôle de barrière.

Ainsi, nous avons vu l'importance des couches nucléées de l'épiderme, à l'origine de la formation des cornéocytes. Ceux-ci et leur environnement direct jouent un rôle primordial dans le maintien de la barrière cutanée. Etudions maintenant le processus, complexe et équilibré, aboutissant à leur formation.

2. Processus de kératinisation et de desquamation

Les cellules épidermiques se différencient à partir de la couche basale pour alimenter le *stratum corneum* en cornéocytes. Il s'agit du phénomène de **kératinisation**, qui s'effectue en permanence. En parallèle à celui-ci, nous assistons à l'élimination constante des cellules du *stratum disjunctum*. Il s'agit du phénomène de **desquamation**. L'accomplissement équilibré de ces deux processus permet de maintenir une épaisseur épidermique fixe.

a) La kératinisation

Il s'agit du processus de différenciation des kératinocytes, qui débute lorsque ceux-ci quittent la couche basale. Ils sont alors soumis à de nombreux changements structurels. 4 phases majeures sont à distinguer dans la différenciation des kératinocytes [SCOTT, 2001a] :

- la **synthèse des kératines**, qui sont les principaux constituants du cytosquelette. Leur expression est variable en fonction de la localisation des kératinocytes dans l'épiderme. Ainsi, en position supra-basale, nous retrouverons des kératines K1 et

K10/K11, tandis qu'en position basale seront surtout exprimées les kératines K5 et K14.

- la synthèse des grains de kératohyaline

- la formation de l'enveloppe cornée

- l'exocytose des corps lamellaires et le comblement des espaces intercellulaires par une matrice lipidique

Le déroulement de ces 4 phases aboutit à la formation des cornéocytes, dernier stade de la kératinisation. Ceux-ci sont alors amenés à desquamer au niveau du *stratum disjunctum*.

b) La desquamation

La desquamation est dépendante de la **concentration intracellulaire en calcium**. Une diminution de cette dernière entre la couche granuleuse et la couche cornée est nécessaire pour permettre la survenue de ce phénomène. Il a été montré qu'une concentration calcique trop importante inhibe la desquamation [RAWLINGS, 2005].

L'exfoliation des cornéocytes à la surface du SC nécessite la dégradation des cornéodesmosomes. Celle-ci est réalisée par des enzymes spécifiques, dont l'activité est modulée par les propriétés physiques des lipides intercellulaires, la teneur en eau et le pH de la couche cornée. Ainsi, une teneur en eau peu élevée dans la couche cornée ralentit la dégradation des constituants des cornéodesmosomes, la cornéodesmosine notamment [FLUHR, 2008].

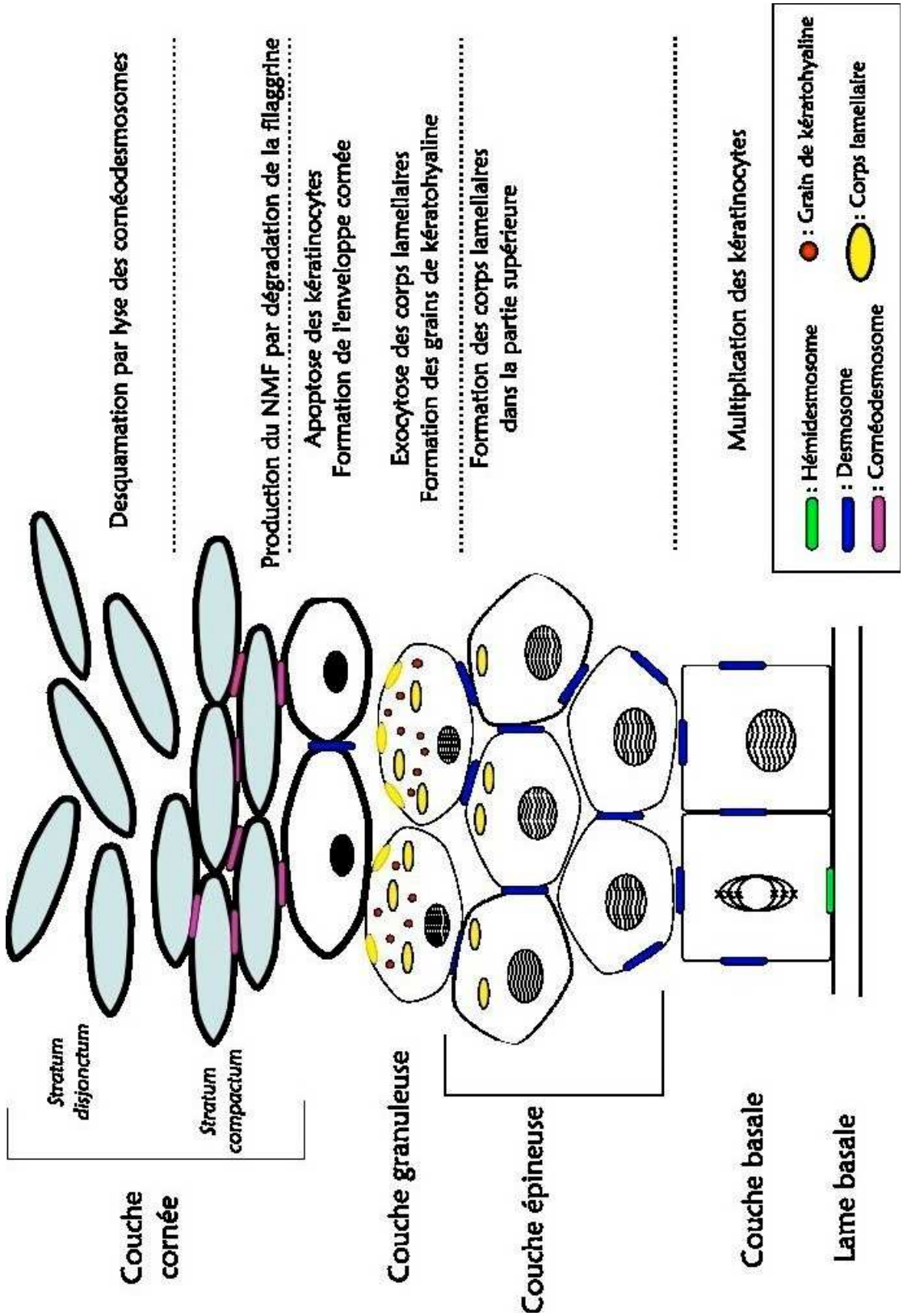


Figure 5: La différenciation des kératinocytes, schéma adapté de [SCOTT, 2001a]

3. Homéostasie et réparation de la barrière cutanée

L'homéostasie de la barrière cutanée nécessite un équilibre fin entre la multiplication et la différenciation des kératinocytes. Une altération de la barrière cutanée, qu'elle soit physique, chimique ou autre, entraine rapidement des modifications métaboliques au sein de l'épiderme visant à y remédier.

a) Les différentes étapes de la réparation de la barrière cutanée

Une atteinte de la barrière cutanée conduit à une modification du métabolisme lipidique et de la synthèse d'ADN au sein de l'épiderme. Une atteinte plus sévère, ou chronique, entraine, en plus de ces deux phénomènes, un relargage de cytokines et un processus inflammatoire marqué [RAWLINGS, 2008]. Les étapes présentées ci-après ont été étudiées dans les espèces murine et humaine.

La première étape du processus visant à rétablir la barrière cutanée est la libération rapide, en quelques minutes, du contenu des corps lamellaires de la couche granuleuse [MENON, 1992]. L'activité des enzymes alors libérées aboutit à la formation des principaux lipides du SC, à savoir les céramides, les acides gras libres et le cholestérol. Cette sécrétion lipidique permet de recouvrer une barrière imperméable en une heure [DENDA, 2009]. Trente minutes après la survenue de la rupture de la barrière cutanée, de nouveaux corps lamellaires se forment dans le cytoplasme des cellules de la couche granuleuse, qui retrouve un aspect normal en 6 heures [MENON, 1992].

Dans un second temps, nous observons une augmentation de la synthèse d'ADN au niveau de l'épiderme, nécessaire à la prolifération des kératinocytes. La production d'ADN est multipliée par deux dans les 16 à 20 heures suivant la rupture de la barrière cutanée. Cette augmentation intervient tardivement, quand la réparation de la barrière, permise par la sécrétion lipidique précitée, est déjà effective à 80% [PROKSCH, 1991].

En parallèle, notons que le taux de cytokines (interleukines 1 et 6 et TNFα) augmente après une rupture de la barrière cutanée. Ces cytokines stimulent notamment la synthèse lipidique et la prolifération des kératinocytes [PROKSCH, 2008].

b) Les signaux régulateurs de la restauration et du maintien de la barrière cutanée

(1) Les cytokines

Comme nous l'avons vu, elles stimulent la synthèse des lipides et la prolifération des kératinocytes.

(2) L'AMPc (3', 5' adénosine-monophosphate cyclique)

Une augmentation de la concentration intracellulaire en AMPc au sein des kératinocytes ralentit la restauration de la barrière cutanée, tandis que la présence d'antagonistes de l'AMPc l'accélère [PROKSCH, 2008].

(3) Le calcium

L'existence d'un **gradient calcique** au sein de l'épiderme a été démontrée. Les concentrations calciques extracellulaires les plus élevées sont ainsi trouvées au niveau de la couche granuleuse, tandis que le taux de calcium est particulièrement faible au niveau du *stratum corneum* [LEE, 1992]. En ce qui concerne le calcium intracellulaire, celui-ci est essentiellement concentré au niveau de la couche basale et de la couche granuleuse. Les cellules des autres couches épidermiques n'en contiennent que peu [MENON, 1985].

Le calcium est particulièrement important dans les phénomènes d'homéostasie et de restauration de la barrière cutanée. En effet, il intervient dans la régulation de la prolifération et de la différenciation des kératinocytes. L'influx de calcium dans les kératinocytes des parties supérieures de la couche granuleuse constitue un signal favorisant la différenciation de ces kératinocytes en cornéocytes [MENON, 1985]. De plus, le calcium participe à la régulation de la synthèse des protéines épidermiques, la transglutaminase 1 notamment, et donc à l'assemblage de l'enveloppe cornée [HITOMI, 2005]. Le calcium extracellulaire est également impliqué dans l'adhésion des cellules épidermiques entre elles [PROKSCH, 2008].

Enfin, la concentration calcique au niveau du *stratum corneum* intervient dans la régulation de l'exocytose des corps lamellaires [MENON, 1985 ; MENON, 1991 ; LEE, 1992].

(4) Le pH

Le pH au sein du *stratum corneum* est un paramètre particulièrement important dans la fonction de barrière cutanée. Son influence a particulièrement été démontrée chez l'homme. Comme nous l'avons vu, il intervient dans la **régulation de l'activité de nombreuses enzymes**. La dégradation enzymatique des cornéodesmosomes, lors du processus de desquamation, se fait ainsi sous contrôle du pH. De plus, l'activité des enzymes contenues dans les corps lamellaires des kératinocytes, aboutissant à la formation des principaux lipides du *stratum corneum*, est optimale à un pH acide, aux alentours de 5 [HACHEM, 2003]. Le pH au sein du SC n'est pas homogène. Il est plus acide à la surface du *stratum corneum* qu'il ne l'est à sa base [OHMANN, 1994].

Au-delà de son implication dans l'élaboration d'une **barrière physique imperméable**, le pH intervient également dans la fonction de **barrière biologique, antimicrobienne** de la peau [FLURH, 2002]. Il a, en effet, été montré qu'un pH acide inhibe la colonisation du *stratum corneum* par des pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus pyogenes*, tout en favorisant le maintien de la flore cutanée normale [KORTING, 1992]. Par ailleurs, un environnement alcalin favorise la croissance des pathogènes, tout en déstabilisant la barrière cutanée, et occasionne donc la survenue d'infections bactériennes ou fongiques [BROOK, 1992].

La formation de ce "manteau acide" fait intervenir des mécanismes moléculaires complexes, au sein desquels l'activité de la $sPLA_2$ (secretory Phospholipase A_2) joue un rôle particulièrement important [CHAN, 2011].

Notons que dans l'espèce canine, le pH cutané est plus élevé que chez l'homme. Il est compris entre 5,5 et 7,2 [MEYER, 1991]. Par ailleurs, il varie en fonction du site anatomique. Dans une étude menée chez différentes races de chien, le pH au niveau des flancs a été mesuré à une moyenne de 7,48 [RUEDISUELI, 1998]. Cette alcalinité du pH, comparée à celui retrouvé chez l'homme, pourrait être à l'origine d'une prédisposition aux infections cutanées plus marquée chez le chien que chez d'autres espèces [MATOUSEK, 2003].

4. Une aide à la restauration de la barrière cutanée : les réhydratants cutanés

L'eau présente au sein du *stratum corneum* provient du derme, des couches nucléées de l'épiderme et du milieu nucléaire. Elle est associée aux éléments hydrophiles des lipides extracellulaires, mais surtout à la kératine présente dans les cornéocytes [LODEN, 2005].

Lors d'une altération de la barrière cutanée, la capacité du SC à retenir l'eau est diminuée. Cette déshydratation de la couche cornée a des conséquences multiples. Elle est à l'origine d'une modification du pH cutané qui entraîne une **diminution du fonctionnement des enzymes de la couche cornée**, en particulier des transglutaminases. Ceci aboutit à une **enveloppe cornée immature** [CAUSSIN, 2009] et à une **altération de la desquamation** des cornéocytes, la cornéodesmolyse étant moins active. Par ailleurs, la protéolyse de la filaggrine en NMF est également moindre [LODEN, 2003], ce qui limite la capacité du SC à retenir les molécules d'eau.

Permettre un taux d'hydratation suffisant au niveau du SC est donc primordial pour favoriser la restauration et le maintien d'une barrière cutanée efficace.

a) Les différents types de produits hydratants

Afin de lutter contre la déshydratation cutanée, il est nécessaire d'apporter une certaine quantité d'eau et de la fixer au sein du *stratum corneum*. En parallèle, il est important de limiter les mouvements d'eau vers le milieu extérieur.

L'utilisation de réhydratants permet d'augmenter la teneur en eau de l'épiderme, de restaurer la barrière cutanée, de réduire la PIE et de maintenir l'intégrité et l'apparence cutanées [MADISON, 2003]. Pour ce faire sont utilisés des agents émollients, occlusifs ou hydratants. Notons que certains réhydratants, contenant du collagène, de la kératine ou de l'élastine, prétendent « rajeunir la peau », mais leur apport en terme d'hydratation cutanée est limité [KRAFT, 2005].

Les **agents émollients** sont principalement des lipides. Les acides gras saturés à longue chaine, tels que les acides linoléique ou stéarique, favorisent l'imperméabilité et la réparation de la barrière cutanée [MAO-QIANG, 1995].

Les **agents occlusifs** permettent de réduire la perte insensible en eau en créant sur la peau une barrière hydrophobe. Ils contribuent également à la restauration de la matrice extracellulaire.

Les **hydratants** sont capables d'augmenter la teneur en eau du *stratum corneum* en stimulant les mouvements d'eau du derme vers l'épiderme et en absorbant l'eau du milieu extérieur. Les principaux hydratants sont le **glycérol** (qui, en plus de son rôle d'hydratant du SC, stimule la maturation des cornéocytes par l'activation d'une transglutaminase [HARDING, 2003]), l'**urée**, le **propylène glycol** (qui a également une action occlusive), le **panthénol**, le **sorbitol** et l'**acide lactique**. Ce dernier stimule par ailleurs la synthèse des céramides du SC [KRAFT, 2005]. Notons que certains hydratants ont l'inconvénient d'augmenter la PIE. En effet, l'eau qu'ils permettent d'absorber du derme peut ensuite être perdue au niveau de la surface épidermique. Pour cette raison, ils sont souvent associés à des agents occlusifs lors de la formulation du produit fini.

Maintenant que nous avons vu les différents constituants potentiels des réhydratants cutanés, intéressons nous à la composition du produit testé dans cette étude, à savoir l'HUMIDERM®.

b) Composition de l'HUMIDERM®

L'HUMIDERM® est composé de propylène glycol, de glycérol, d'urée et d'acide lactique, dans des proportions auxquelles nous n'avons pas eu accès.

Le **propylène glycol** est un hydratant important, mais a également une action occlusive. Il permet ainsi un appel d'eau vers l'épiderme, tout en limitant la PIE. Il favorise, de plus, la pénétration du produit qui le contient dans le *stratum corneum* [LODEN, 2005]. Notons qu'à fortes concentrations, le propylène glycol a également une action antifongique et antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* et *Candida albicans* notamment [KINNUNEN, 1991].

Le **glycérol** est un excellent hydratant, connu pour sa capacité à retenir les molécules d'eau. Il a, ainsi, été montré qu'après une application cutanée de glycérol, la teneur en eau du *stratum corneum* était particulièrement augmentée [CAUSSIN, 2009]. Nous l'avons vu, il peut, de plus, intervenir dans le processus de maturation des cornéocytes. Enfin, il possède une action anti-irritante et stimule la cicatrisation des plaies [FLUHR, 2008].

L'**urée**, au-delà de son rôle d'hydratant, joue un rôle majeur dans le maintien de la barrière cutanée. En effet, il a été montré que des applications d'urée améliorent la fonction de barrière cutanée et stimulent la synthèse de peptides antimicrobiens. De plus, l'inhibition des protéines de transport de l'urée au sein des kératinocytes limite la synthèse de ces peptides mais, également, d'enzymes impliquées dans la formation des lipides épidermiques et de protéines structurales de l'enveloppe cornée des cornéocytes [GRETHER-BECK, 2012].

Enfin, l'**acide lactique** est également un agent hydratant. Il permet, de plus, d'améliorer la barrière cutanée en stimulant le processus de desquamation et la synthèse de céramides. Par ailleurs, il stimule la formation des corps lamellaires ainsi que leur exocytose [KIM, 2001].

Composé principalement d'hydratants, l'HUMIDERM® permet, de part les propriétés de ses constituants, d'augmenter l'hydratation du *stratum corneum* et donc d'aider au rétablissement de la barrière cutanée. Ses composants interviennent dans de nombreux mécanismes impliqués dans la formation et le maintien de cette barrière, mais également dans la protection de l'organisme vis-à-vis des agents infectieux.

C. Etudes concernant la mesure de la perte insensible en eau

Afin d'évaluer le statut de la barrière cutanée, plusieurs méthodes sont disponibles, telles que l'évaluation de l'hydratation cutanée, la cornéométrie ou la mesure de la perte insensible en eau [DARLENSKI, 2009]. Cette dernière méthode est celle que nous avons utilisée dans notre étude.

1. Définition et importance de la perte insensible en eau

La diffusion, vers le milieu extérieur, de l'eau à travers la peau, bien que limitée par la barrière cutanée, se fait selon deux modalités. La première est un phénomène actif, **la transpiration**. Celle-ci peut atteindre des valeurs maximales de 4 $L.h^{-1}$. La seconde, invisible à l'œil nu, est un phénomène passif, **la perte insensible en eau**. La quantité d'eau ainsi évacuée vers le milieu extérieur est de l'ordre de 300 $mL.j^{-1}$ [GABARD, 2000]. Cette

diffusion d'eau à travers la couche cornée est liée au gradient de vapeur d'eau de chaque coté de l'épiderme. En effet, les couches profondes de l'épiderme, au contact du derme, sont plus hydratées que le *stratum corneum* en contact avec l'air ambiant, plus sec [COHEN, 2009].

La PIE représente donc un flux d'eau diffusant passivement à travers la peau vers le milieu extérieur. De ce fait, elle s'exprime en masse d'eau par surface et par unité de temps, et donc en $\mathbf{g.h^{-1}.m^{-2}}$ [IMHOF, 2009]. Cette mesure présente l'intérêt non négligeable de ne pas être invasive.

2. Validation de l'utilisation de la perte insensible en eau comme reflet de l'efficacité de la barrière cutanée

La possibilité d'utiliser la PIE afin d'évaluer l'intégrité de la barrière cutanée a été étudiée dans l'espèce humaine, murine, mais également canine. Une corrélation fiable a ainsi été démontrée chez l'homme et la souris entre le degré d'altération de la barrière cutanée et l'augmentation de la PIE mesurée [FLUHR, 2006].

Par ailleurs, chez l'homme, il est admis que des valeurs basses en perte insensible en eau sont associées à une barrière cutanée intacte, tandis qu'une augmentation de la PIE est observée lors de rupture de la barrière cutanée [DARLENSKI, 2009].

Chez le chien, l'utilisation de la PIE comme reflet de la fonction de barrière cutanée a également été validée. En effet, une augmentation des valeurs de la perte insensible en eau a été observée, corrélée à la fréquence de réalisation de tape-stripping, et donc à l'importance de l'altération de la barrière cutanée [SHIMADA, 2008].

3. Différents appareils de mesure à disposition

Différents types d'appareils existent pour mesurer la PIE, à savoir les appareils à chambre ouverte, les appareils à condensateurs et les appareils à chambre fermée non ventilée.

a) Les appareils à chambre ouverte

Les appareils à chambre ouverte sont formés d'un cylindre ouvert à ses deux extrémités. L'une d'elles est placée contre la surface cutanée, tandis que l'autre est au contact de l'air ambiant. Cette chambre cylindrique contient deux capteurs sensibles à l'humidité et à la température, qui mesurent le flux d'eau diffusant passivement de la surface de la peau à l'air ambiant à travers le cylindre.

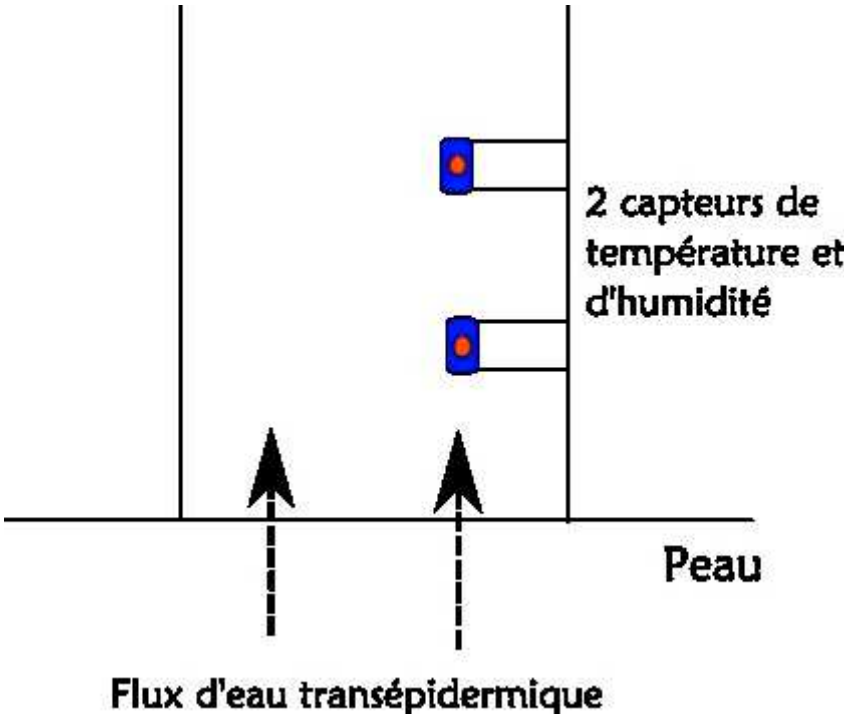


Figure 6: Appareil à chambre ouverte [IMHOF, 2009]

Avec ce type d'appareil, les mesures sont fortement influencées par les perturbations de l'air extérieur, mais également par les mouvements du sujet, même respiratoires. L'utilisation des appareils à chambre ouverte doit donc se faire dans des endroits où les conditions d'ambiance peuvent être contrôlées, et sur des sujets calmes et immobiles. Par ailleurs, il est nécessaire de maintenir une parfaite verticalité de la sonde durant le temps de mesure pour ne pas perturber la diffusion des molécules d'eau à travers le cylindre [IMHOF, 2009 ; COHEN, 2009]. Le temps de mesure est à l'aide de ces appareils est relativement long, de l'ordre d'une minute. Notons qu'ils présentent l'avantage de pouvoir réaliser des mesures

en continu, et qu'ils seraient plus sensibles que les appareils à chambre fermée lorsqu'il s'agit de mesurer des variations de PIE faibles [STEINER, 2011].

b) Les appareils à condensateur

Les appareils à condensateur sont formés d'un cylindre fermé à une extrémité par un condensateur maintenu à -7,65°C. Ce dernier permet de capter les molécules d'eau à l'intérieur de la chambre et de réaliser des mesures continues sans avoir à renouveler l'air au sein du cylindre. Les mesures ne sont pas influencées par les perturbations de l'air ambiant, mais leur réalisation est longue [GABARD, 2008].

c) Les appareils à chambre fermée non ventilée

Le VapoMeter® a été utilisé dans cette étude. Les appareils à chambre fermée non ventilée sont, comme les appareils à condensateur, fermés à une extrémité (l'extrémité ouverte étant appliquée contre la peau). La chambre est équipée d'un capteur thermique et d'un capteur d'humidité.

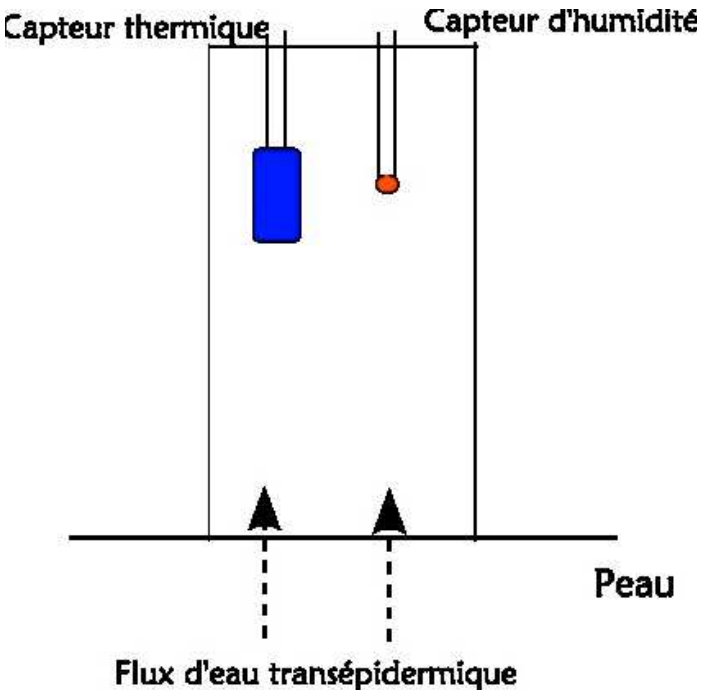


Figure 7: Appareil à chambre fermée IMHOF, 2009]

Avec ce type d'appareil, la PIE est corrélée à l'accumulation de la vapeur d'eau au sein de la chambre cylindrique. Cette humidité est ensuite évacuée durant la réinitialisation de l'appareil qui suit chaque mesure [IMHOF, 2009]. L'avantage de ce montage est que l'influence des mouvements de l'air ambiant, ainsi que l'influence des mouvements du sujet, sont limitées, même si une application de l'appareil perpendiculairement à la peau permet des mesures plus précises [COHEN, 2009]. Ils offrent, de plus, de part leur maniabilité, la possibilité d'avoir accès à des mesures de PIE sur l'ensemble du corps du sujet [NUUTINEN, 2003]. Le temps de mesure, avoisinant la dizaine de secondes, est, par ailleurs, bien plus court que lors de l'utilisation d'appareils à chambre ouverte. Enfin, ils permettraient de mesurer des valeurs de PIE plus élevées que les appareils à chambre ouverte [STEINER, 2011]. Les appareils à chambre fermée non ventilée ne permettent cependant pas la réalisation de mesures dynamiques [DARLENSKI, 2009].

4. Facteurs de variation chez le chien

Au-delà du type d'appareil utilisé, la mesure de la PIE est influencée par différents facteurs, liés au sujet ou aux conditions opératoires.

a) Facteurs intrinsèques de variation de la PIE

Nous l'avons vu, l'utilisation du VapoMeter®, très maniable, permet de réaliser des mesures sur n'importe quel site anatomique. Cependant, le lieu de mesure est à définir lors du protocole opératoire, une variation significative de la PIE ayant été mise en évidence en fonction du **site anatomique** dans l'espèce canine [YOSHIHARA, 2007 ; OH, 2009a].

Par ailleurs, l'influence du **sexe** des individus parait limitée [YOSHIHARA, 2007], de même que l'influence de l'**âge**, même s'il semble que la PIE tend à augmenter avec l'âge de l'animal [WATSON, 2002].

Une influence de l'**alimentation** des sujets sur la PIE est fortement présumée [WATSON, 2006].

La **transpiration** des sujets, interférant avec la PIE, est également à prendre en compte lors de la réalisation des mesures [GABARD, 2000].

La PIE est également influencée par la **tonte** des sites de mesure ou, plus précisément, la façon dont ils sont tondus. En effet, il a été démontré que des mesures de PIE réalisées 3 minutes après la tonte variaient significativement en fonction de l'angle d'application de la lame sur la surface cutanée [OH, 2009b].

Enfin, l'intégrité cutanée au niveau du site de mesure est évidemment importante, les **irritations** ayant une influence significative sur la PIE [GABARD, 2000].

b) Facteurs extrinsèques de variation de la PIE

La mesure de PIE est soumise à l'influence de facteurs environnementaux. Ceux-ci ont plus ou moins de poids en fonction du type d'appareil utilisé. Ainsi, **les mouvements d'air du milieu extérieur**, qui perturbent la mesure de la PIE lors de l'utilisation d'un appareil à chambre ouverte, n'ont que peu d'influence lors de l'utilisation d'un appareil à chambre fermée [IMHOF, 2009].

La **température de la pièce** où sont réalisées les mesures a également un impact sur la PIE. Celle-ci varie de façon significative selon que la mesure est effectuée à 18°C ou à 28°C. Cependant, les variations de PIE aux températures intermédiaires ne sont pas significatives [YOSHIHARA, 2007]. Notons que la **température de la sonde** est également facteur de variation. En effet, en tenant l'appareil à deux mains, il est possible de faire augmenter la

température au sein du cylindre de 6°C, ce qui a un impact sur la PIE mesurée [DE PAEPE, 2005].

Nous l'avons vu plus haut, l'**application de la sonde perpendiculairement à la peau** est également nécessaire, surtout avec les appareils à chambre ouverte.

Enfin, la **pression exercée sur la sonde** lors de la prise de la mesure peut modifier la PIE. En effet, une trop forte pression peut perturber la circulation sanguine au niveau du site de mesure [DE PAEPE, 2005], ou faire varier la distance qui sépare les capteurs d'humidité et de température du site de la surface cutanée [IMHOF, 2009].

D. Utilisation de shampooings en médecine vétérinaire

Jusque dans les années 1960, l'utilisation de shampooings en médecine vétérinaire n'était pas recommandée. Il était même déconseillé de laver les chiens. Aujourd'hui, le bénéfice apporté par l'utilisation de shampooings, lors de troubles kératoséborrhéiques ou d'atteintes cutanées d'origine infectieuse notamment, ne fait plus aucun doute. Leur efficacité a été augmentée du fait de l'apparition de nouvelles formulations (liposomes, microvésicules), permettant une pénétration et une diffusion optimales des principes actifs au sein de l'épiderme.

Nous étudierons leurs principales indications, en nous intéressant plus en détail à leurs recours lors d'affections d'origine infectieuse en général, et bactérienne en particulier.

1. Utilisation de shampooings lors d'affections d'origine infectieuse

Les affections cutanées d'origine infectieuse sont fréquentes dans l'espèce canine. Les agents pathogènes sont essentiellement bactériens, fongiques ou parasitaires. Un traitement topique, associé ou non à un traitement par voie générale, est recommandé.

Divers paramètres conditionnent l'efficacité des traitements topiques. La concentration et la solubilité des principes actifs qu'il contient, ainsi que leur capacité à diffuser au sein du SC. L'environnement cutané du chien, le pH notamment, influe également sur l'action des shampooings.

Notons que, aussi utiles soient-ils, les traitements topiques nécessitent une éducation des propriétaires. En effet, afin qu'ils soient efficaces, il est nécessaire de respecter les temps d'application et de rinçage et de commencer par les régions les plus touchées. Par ailleurs, baigner régulièrement son animal peut être jugé contraignant.

a) Shampooings antibactériens

Les pyodermites, superficielles ou profondes, sont les affections cutanées les plus fréquentes dans l'espèce canine [FOSTER, 2003]. Il s'agit d'affections d'origine bactérienne, dues à *Staphylococcus pseudintermedius* notamment.

L'utilisation d'un shampooing lors de pyodermite permet de réduire la population bactérienne. Bien que dans certains cas, de pyodermites superficielles notamment, le seul traitement topique, appliqué tous les jours, puisse suffire, son association avec un traitement antibiotique systémique est souvent nécessaire. Lors de pyodermites, superficielles ou profondes, il est conseillé de tondre les sites atteints avant l'application du shampooing, afin de permettre un meilleur contact des principes actifs avec la peau [SCOTT, 2001b]. En début de traitement, une application fréquente est recommandée. Elle sera ensuite espacée, deux à trois fois par semaines par exemple.

Les agents les plus fréquemment utilisés dans la formulation des shampooings antibactériens sont la chlorhexidine, le péroxyde de benzoyle, la polyvidone iodée et le lactate d'éthyle.

L'action des premiers cités, contenus dans les shampooings utilisés au cours de notre étude, sera étudiée ci-après.

La **polyvidone iodée** est un agent antibactérien qui agit en quelques secondes à 0,05% [HALLIWELL, 1991]. Elle est cependant asséchante et irritante [GUAGUERE, 1996].

L'action antibactérienne du **lactate d'éthyle** tient en partie au fait qu'il est hydrolysé en éthanol et en acide lactique au niveau cutané, ce qui diminue le pH du *stratum corneum* [HALLIWELL, 1991]. Son utilisation lors de pyodermite superficielle permet de limiter les lésions et de réduire la durée du traitement antibiotique par voie systémique [De JAHAM, 2002]. Le lactate d'éthyle est par ailleurs peu irritant [GUAGUERE, 1996].

(1) Composition du DOUXO-CHLORHEXIDINE®

Le premier shampooing testé dans cette étude est le DOUXO-CHLORHEXIDINE®. Il s'agit d'un traitement utilisé lors de pyodermites superficielles ou profondes. Il présente également une action antifongique et peut être prescrit lors de dermatite à *Malassezia*.

Le DOUXO-CHLORHEXIDINE® contient du digluconate de chlorhexidine (3%), du climbazole (0,5%), du Lipacide® (2,5%) et de la phytosphingosine-salicyloyl.

La **chlorhexidine** est un antiseptique efficace contre de nombreux champignons et bactéries. Son efficacité envers *Malassezia sp* est observée à des concentrations comprises entre 2% et 4%. L'action antibactérienne de la chlorhexidine est liée à sa capacité à désorganiser la membrane cytoplasmique des bactéries [CARLOTTI, 2003]. Elle est peu irritante. Par ailleurs, le sel de digluconate a également des effets antibactériens et antifongiques.

Le **climbazole** est un antifongique particulièrement efficace contre *Malassezia pachydermatis* [SCMIDT, 1997].

Le **Lipacide®** est un lipo-amino-acide composé de glycine et d'acide caprylique. Il a une action antibactérienne, antifongique et hydratante.

Enfin, la **phytosphingosine-salicyloyl** possède des propriétés anti-inflammatoires et favorise la restauration de la barrière cutanée. Elle intervient, ainsi, dans la différenciation des kératinocytes et la synthèse des céramides. Son utilité dans la restauration cutanée a été démontrée [FARWICK, 2007].

(2) Composition du PAXCUTOL®

Le second shampooing testé dans cette étude, le PAXCUTOL®, est également utilisé lors de pyodermites superficielles ou profondes. Il contient, comme principe actif principal, le **péroxyde de benzoyle (2,5%)**. Ce dernier a un effet acidifiant sur le pH cutané, ce qui contribue à lui conférer une action antibactérienne [HALLIWELL, 1991]. Il agit en désorganisant la membrane cytoplasmique des bactéries. Une étude en 1984 a démontré son efficacité même comme seul traitement de folliculite bactérienne [LLOYD, 1984]. Par ailleurs, le péroxyde de benzoyle présente une action antiséborrhéique par hydrolyse du sébum et diminution de l'activité des glandes sébacées. Des effets secondaires, tels que de l'irritation ou de l'érythème, sont observés à des concentrations supérieures à 5%

[GUAGUERE, 1996]. Comme nous l'avons vu, son utilisation est particulièrement intéressante lors d'atteinte folliculaire.

Le PAXCUTOL® contient également de l'**acide citrique**, qui contribue à diminuer le pH cutané, et du **propylène glycol**, qui, nous l'avons vu, est à la fois un hydratant et un occlusif. Il possède également, à forte concentration, une action antibactérienne et antifongique.

Les deux shampooings testés sont indiqués lors de pyodermites superficielles et profondes. Des études récentes ont montré que la chlorhexidine 3% et le péroxyde de benzoyle 2,5% présentent une efficacité comparable lorsqu'ils sont utilisés comme seuls traitements de pyodermite superficielle [LOEFFLER, 2011]. Il en est de même lors de syndrome de prolifération bactérienne de surface [VIAUD, 2012].

Notons que le DOUXO-CHLORHEXIDINE a une activité antifongique, contre *Malassezia pachydermatis*, plus importante que le PAXCUTOL®.

b) Shampooings antiparasitaires

Les shampooings peuvent être indiqués lors d'affections parasitaires (gales sarcoptique ou otodectique, cheyletiellose, infestation par les puces, les poux ou les tiques), mais restent moins efficaces que d'autres traitements tels que les sprays, les spots-on ou les traitements systémiques. En effet, ils n'agissent pas assez longtemps pour déparasiter l'animal [CURTIS, 1998].

L'utilisation de shampooings lors de parasitoses sert plus à gérer les altérations cutanées liées à l'infestation qu'à neutraliser le parasite. Ainsi, le recours à des agents kératomodulateurs, tels que le péroxyde de benzoyle, peut être intéressant lors de démodécie, voire de gale ou de cheyletiellose [HALLIWELL, 1991].

c) Shampooings antifongiques

Les principales indications à l'utilisation de shampooings antifongiques sont les dermatophytoses et les dermatites à *Malassezia*.

Lors de dermatophytose, l'application de shampooing permet de lutter contre le caractère fortement contagieux de la maladie mais ne suffit pas, seul, à guérir l'animal [De Boer, 1995].

L'utilisation de shampooings peut également être intéressante, lors de dermatite à *Malassezia*, lorsque les lésions sont étendues. Ici encore, leur utilisation en parallèle d'un traitement systémique peut être nécessaire.

Les molécules les plus utilisées sont le miconazole, le kétoconazole ou leur association avec de la chlorhexidine [BOND, 1995]. Notons que lors de dermatophytose, le choix de la molécule est important, l'utilisation d'un shampooing non approprié pouvant entrainer la dissémination des spores [MORIELLO, 1995].

2. Utilisation de shampooings lors de troubles kératoséborrhéiques

Lors de troubles kératoséborrhéiques, différentes molécules sont à notre disposition : des **agents kératomodulateurs**, qui permettent de restaurer l'équilibre entre la prolifération et la desquamation des kératinocytes, et des **agents antiséborrhéiques**, qui diminuent la production de sébum par les glandes sébacées.

Les agents kératomodulateurs peuvent agir en restaurant une kératinisation normale, ce sont des **agents kératoplastiques**, ou en stimulant la desquamation, éliminant ainsi les cornéocytes en excès. Ce sont, alors, des **agents kératolytiques**.

Les principaux **agents kératomodulateurs** sont:

- l'**acide salicylique**. Il s'agit d'un kératolytique. Il permet d'augmenter l'hydratation cutanée et de stimuler la desquamation. Par ailleurs, il acidifie le pH cutané.
- le **souffre**. Il est à la fois kératoplastique et kératolytique. Il présente également une action antiséborrhéique. Cependant, il est amené à être de moins en moins utilisé, remplacé par d'autres agents, plus efficaces et avec moins d'effets secondaires.
- le **sulfure de sélénium**. Il est également kératoplastique, kératolytique, et antiséborrhéique. Il peut entrainer une irritation cutanée.
- le **lactate d'ammonium**. Il présente une activité kératoplastique et kératolytique. Il intervient dans la différenciation terminale des kératinocytes. Par ailleurs, le

lactate d'ammonium présente une action réhydratante utile lors de troubles séborrhéique [JENNINGS, 1998 ; UY, 1999]. Enfin, il est très bien toléré, même lors d'utilisation prolongée [VILAPLANA, 1992].

Parmi les principaux **agents antiséborrhéiques**, nous retrouvons :

- le **souffre**.
- le **sulfure d'ammonium**.
- le **péroxyde de benzoyle**. Comme nous l'avons, il présente, en plus de son activité antibactérienne, une action antiséborrhéique par hydrolyse du sébum produit et inhibition de l'activité des glandes sébacées.

Enfin, l'utilisation d'acides gras essentiels peut être indiquée.

3. Utilisation de shampooings lors de dermatite atopique

Lors de dermatite atopique, le retrait des substances irritantes et des allergènes de la surface cutanée est indiqué. De plus, une action réhydratante est recommandée, la peau des animaux allergiques étant souvent sèche. L'utilisation de shampooings antiprurigineux (hydrocortisone 1%, fluocinolone 0,01%, diphenhydranmine 2%, pramoxine 1%) est également intéressante lors de terrain allergique, à condition qu'ils soient associés à un autre traitement [HALLIWELL, 1991]. Notons qu'il n'existe pas de formulation à base de ces différentes molécules en France. Une étude récente présente l'utilisation d'un shampooing à base d'UPSW (Ultra Pure Soft Water), qui est une eau dans laquelle les ions calcium et magnésium ont été remplacés par des ions sodium, comme plus intéressante qu'une eau plus dure lors de dermatite prurigineuse [OHMORI, 2010].

II. Etude expérimentale

A. Principe et hypothèse

L'étude, objet de cette thèse, a pour but d'évaluer l'effet de 2 shampooings anti-infectieux, à savoir PAXCUTOL® produit par VIRBAC et DOUXO® CHLORHEXIDINE (nouvellement DOUXO® PYO) produit par SOGEVAL, sur l'efficacité de la barrière cutanée chez le chien. L'hypothèse testée est que leur application régulière entrainerait une altération de la barrière cutanée.

Par ailleurs, cette étude vise à montrer l'intérêt de l'utilisation d'un réhydratant cutané, HUMIDERM ® produit par VIRBAC, après l'application de shampooings, afin de restaurer la barrière cutanée.

L'effet de ces différents produits sur la barrière cutanée est suivi par la mesure de la perte insensible en eau ainsi que par celle du pH. Des biopsies cutanées ont également été réalisées pour un examen histologique.

B. Matériel et méthode

1. Sujets

Notre étude a été menée sur 6 chiennes adultes de race Beagle de même âge, sans antécédent pathologique. Un examen clinique complet réalisé au moment de l'étude nous permet d'affirmer le bon état de santé des sujets. Les chiennes n'ont reçu aucun traitement, topique ou systémique, au cours des 3 mois précédant le début de l'étude, si ce n'est un traitement antiparasitaire.

Les sujets sont logés en 2 lots de 3 animaux dans des box (sujet A, B et C dans un box, sujet D, E et F dans l'autre) au sein d'une même pièce, dont les facteurs d'ambiance sont

contrôlés. La température est ainsi comprise entre 20°C et 25°C et l'humidité relative entre 30% et 50%.

Les chiennes sont introduites dans leur box une semaine avant le début de l'étude afin de s'acclimater à leur nouvel environnement. Elles sont nourries avec des croquettes physiologiques et ont de l'eau à volonté. La durée de l'étude est fixée à 5 jours.

L'ensemble des modalités de cette expérience a été soumis au comité d'éthique de VetAgro Sup Campus Vétérinaire de Lyon, qui l'a approuvé.

2. Méthode

a) Sites d'étude

Chaque chienne est tondue au niveau du thorax et du flanc, à droite et à gauche, 24 heures avant le début de l'étude. Quatre zones par sujet sont, ainsi, délimitées, au sein desquelles est tracé un site de 10 cm x 10 cm à l'aide d'un feutre dermatologique. Les sites sont numérotés de 1 à 4 pour chaque sujet.

SITE	ZONE ANATOMIQUE
1	Thorax gauche
2	Flanc gauche
3	Thorax droit
4	Flanc droit

Tableau 1: Détermination des différents sites d'étude

Photographie 1: Localisation anatomique des différents sites (vue latérale gauche)

Photographie 2: Localisation anatomique des différents sites (vue latérale droite)

b) Traitements reçus par les différents sites

Au cours de l'étude, chaque site reçoit un traitement qui lui est propre, **2 fois par jour**, le but étant d'évaluer l'action des 2 shampooings testés par rapport à un témoin (site 4), mais également l'effet du réhydratant sur la barrière cutanée.

Le shampooing testé sur les sujets **A, B et C** est le DOUXO® **CHLORHEXIDINE**, tandis que les sujets **D, E et F** sont traités au **PAXCUTOL®.**

SITE	TRAITEMENT REALISE
1	Shampooing seul
2	Shampooing + HUMIDERM®
3	HUMIDERM® seul
4	Aucun

Tableau 2: Traitements réalisés en fonction du site d'étude

Les différents produits sont utilisés selon les recommandations des fournisseurs. Les shampooings sont donc appliqués sur peau humide, puis un massage du site est effectué pendant 5 minutes avant de rincer abondamment. Sur les sites traités avec l'HUMIDERM®, 4 à 5 pulvérisations sont réalisées, à environ 15cm de la peau, en prenant soin d'isoler les sites voisins.

Au cours de l'étude, un cinquième site est défini sur la cuisse gauche de chacun des 6 sujets afin de tester l'influence d'un autre réhydratant, l'ERMIDRA® (produit par le laboratoire ICF et distribué en France par MPLabo), sur le pH cutané. Ceci sera développé en discussion.

c) Réalisation des mesures

La perte insensible en eau est mesurée pour chaque **site 2 fois par jour, avant l'application des différents traitements**, à l'aide d'un appareil à chambre fermée, le VapoMeter® (Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Finlande). Cet appareil contient un capteur de température intégré à la sonde. Le résultat de la mesure s'affiche sur un écran

digital en $g.h^{-1}.m^{-2}$. L'appareil est activé à l'aide d'un bouton, puis placé perpendiculairement à la peau, en appliquant une pression suffisante pour limiter les flux d'air entre l'extérieur et la chambre. Sur un même site, les mesures sont, à chaque fois, réalisées 3 fois, puis la moyenne des valeurs obtenues est effectuée.

Avant chaque mesure, l'ambiance de la pièce est mesurée, la température étant de 23°C +/- 1°C, et l'humidité relative de 40% +/- 6%.

Le pH de chaque site est également mesuré **après chaque mesure de PIE**, à l'aide d'un pH-mètre Hanna.

d) Réalisation des biopsies

Des biopsies cutanées sont réalisées, à l'aide d'un trépan à biopsie de 6 mm de diamètre, **après les 5 jours d'expérimentation**. Nous nous sommes contentés des sites ayant reçu un traitement. Chaque site est prélevé sous anesthésie locale (injection sous-cutanée de xylocaïne). Les échantillons obtenus sont fixés dans du formol à 10% et inclus en paraffine. Des sections de 5 µm sont ensuite réalisées et colorées à l'hémalun-éosine.

	J-1	T0	+12h	+24h	+36h	+48h
Site 1	Tonte	M+S	M+S	M+S	M+S	**M+S**
Site 2	Tonte	M+S+H	M+S+H	M+S+H	M+S+H	**M+S+H**
Site 3	Tonte	M+H	M+H	M+H	M+H	**M+H**
Site 4	**Tonte**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**

	+60h	+72h	+84h	+96h	+108h
Site 1	M+S	M+S	M+S	M+S	**M+S+B**
Site 2	M+S+H	M+S+H	M+S+H	M+S+H	**M+S+H+B**
Site 3	M+H	M+H	M+H	M+H	**M+H+B**
Site 4	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**

Tableau 3: déroulement global des expérimentations. M = Mesures (PIE et pH) ; S = Shampooings (PAXCUTOL® ou Douxo® CHLORHEXIDINE) ; H = Humiderm® ; B = Biopsie

e) Analyse statistique

Les différentes mesures obtenues (PIE et pH), ont été traitées sous R. Les différents sites sont comparés 2 à 2, en utilisant des matrices ergonomiques comprenant le temps auquel la mesure a été réalisée, la valeur de la mesure et le site d'étude (annexe 1).

Nous vérifions les conditions d'utilisation grâce à la visualisation d'un Q-Q-plot. Dans notre étude, il s'agit d'un modèle croisé mixte avec répétitions. Un test statistique ANOVA 2 est par conséquent utilisé. Le degré de signification, noté p, est fixé à 0,05. Nous parlons de différence **hautement significative** pour **$p < 0,001$**, de différence **très significative** pour **$0,001 < p < 0,01$** et de différence **significative** pour **$0,01 < p < 0,05$**.

C. Résultats

Les mesures de PIE et de pH de tous les sites, tout au long de l'étude, pour chaque sujet sont disponibles en annexe 1.

1. Etude de l'influence de l'application biquotidienne de shampooing : comparaison des sites 1 et 4.

a) Mesures de la PIE

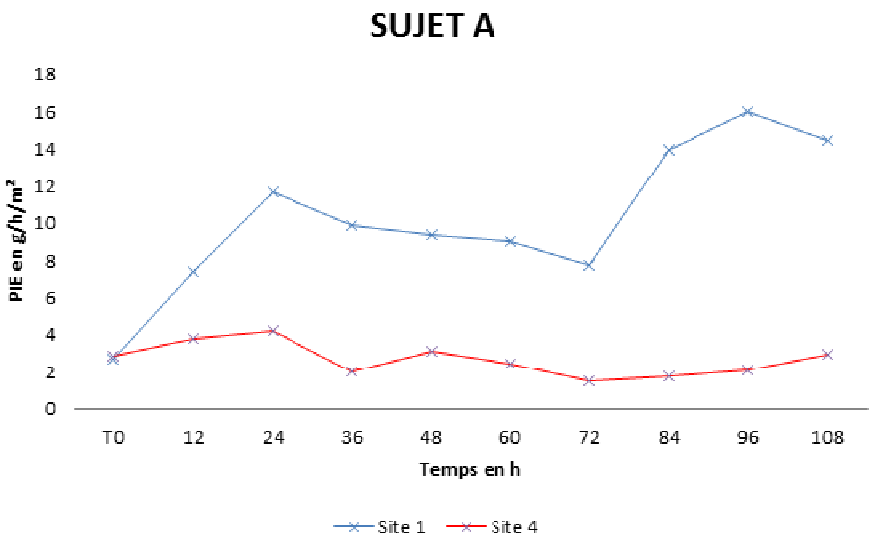
Il s'agit ici de comparer les valeurs de PIE obtenues entre les **sites 1** (traités à l'aide de PAXCUTOL® ou de DOUXO® CHLORHEXIDINE) et les **sites 4**, dans le but de mettre en évidence l'influence de l'application des shampooings sur la barrière cutanée.

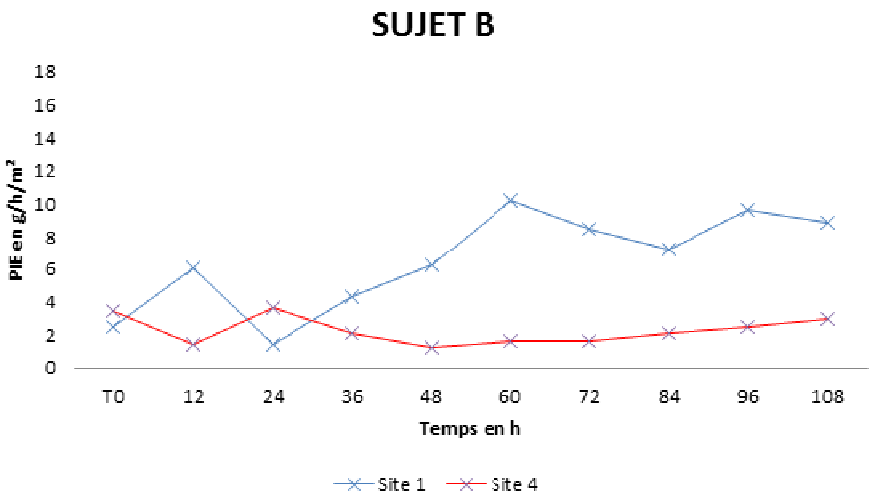
(1) Etude graphique

Pour chaque chien, un graphique représentant l'évolution comparée de la PIE entre les sites 1 et 4 au cours du temps est réalisé. On remarque que :

- les différentes valeurs de la PIE des **sites 1 sont constamment supérieures à celles des sites 4** (si ce n'est à T+24h chez le sujet B), aussi bien chez les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE (figure 8) que chez ceux traités à l'aide de PAXCUTOL® (figure 9).

- les **valeurs initiales de la PIE (T0) sont comparables** entre les 2 sites chez les 6 sujets (figures 8 et 9)


SUJET A
PIE en g/h/m²
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
T0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
Temps en h
Site 1
Site 4


SUJET B
PIE en g/h/m²
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
T0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
Temps en h
Site 1
Site 4

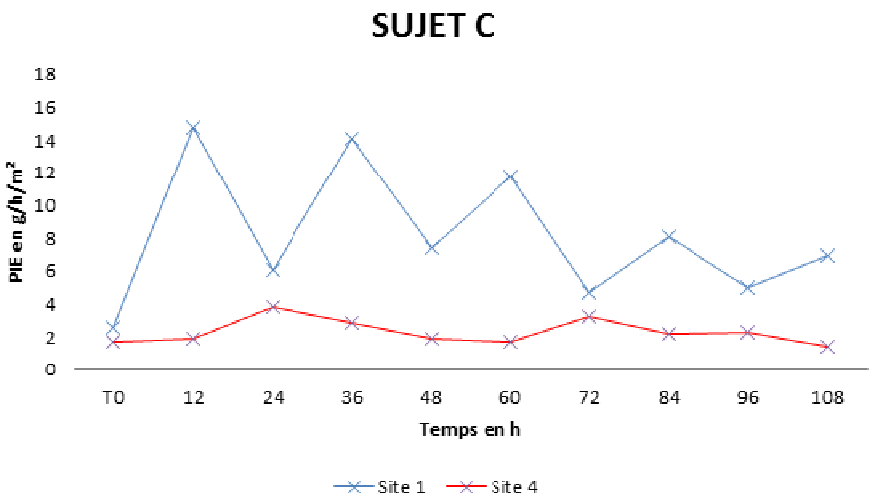
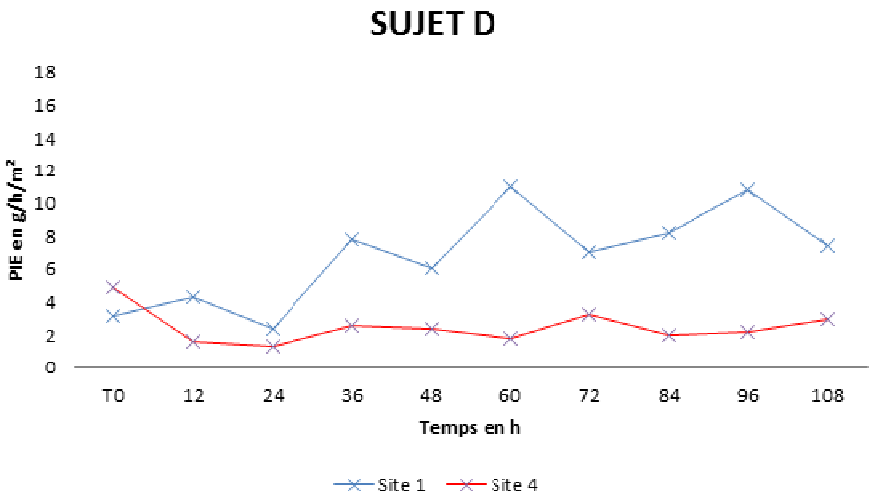
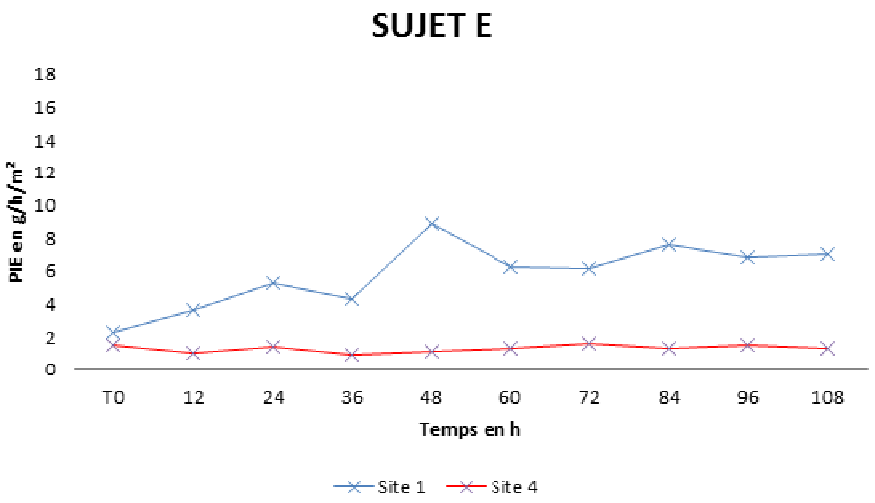


Figure 8: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE





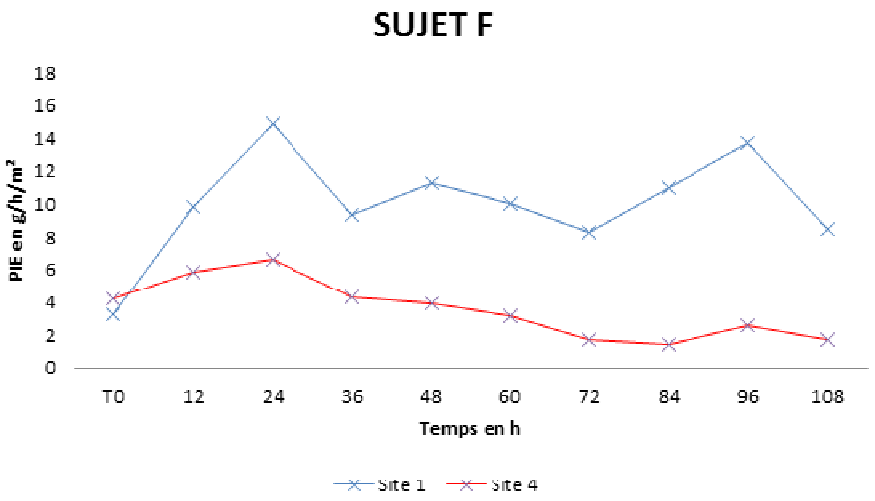


Figure 9: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL®

La moyenne des valeurs de la PIE des sites 1 et 4 est calculée aux différents temps, pour chaque groupe de sujets ayant reçu un même traitement (figure 8 et 9). Les observations précédentes sont confirmées :

- des valeurs de PIE **plus élevées sur le site 1 que sur le site 4** (pour les 2 groupes de sujets)

- des **valeurs de PIE comparables à T0**

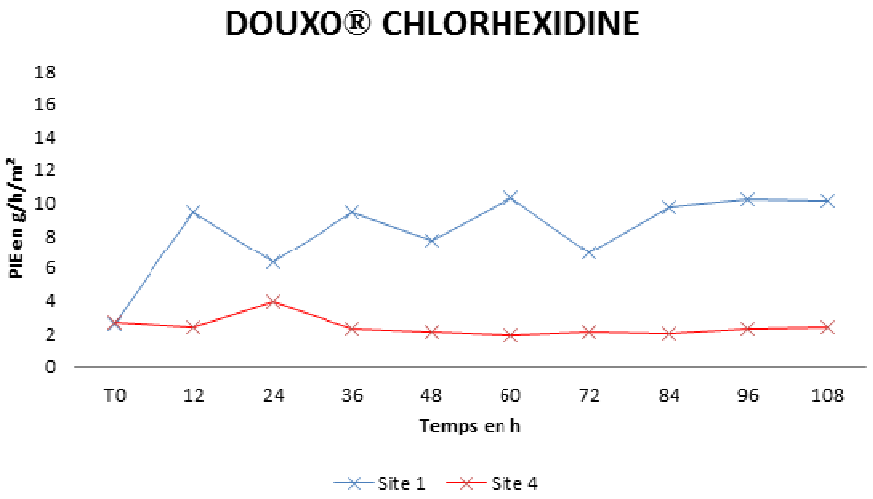


Figure 10: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE

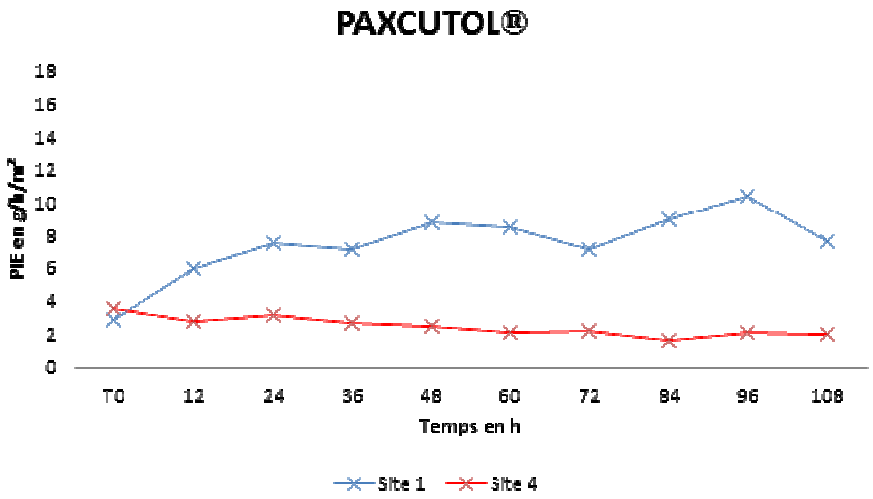


Figure 11: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL®

(2) Etude statistique

La répartition des données est normale, qu'il s'agisse des mesures des sites traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE (figure 12) ou de celles des sites traités à l'aide de PAXCUTOL® (figure 13).

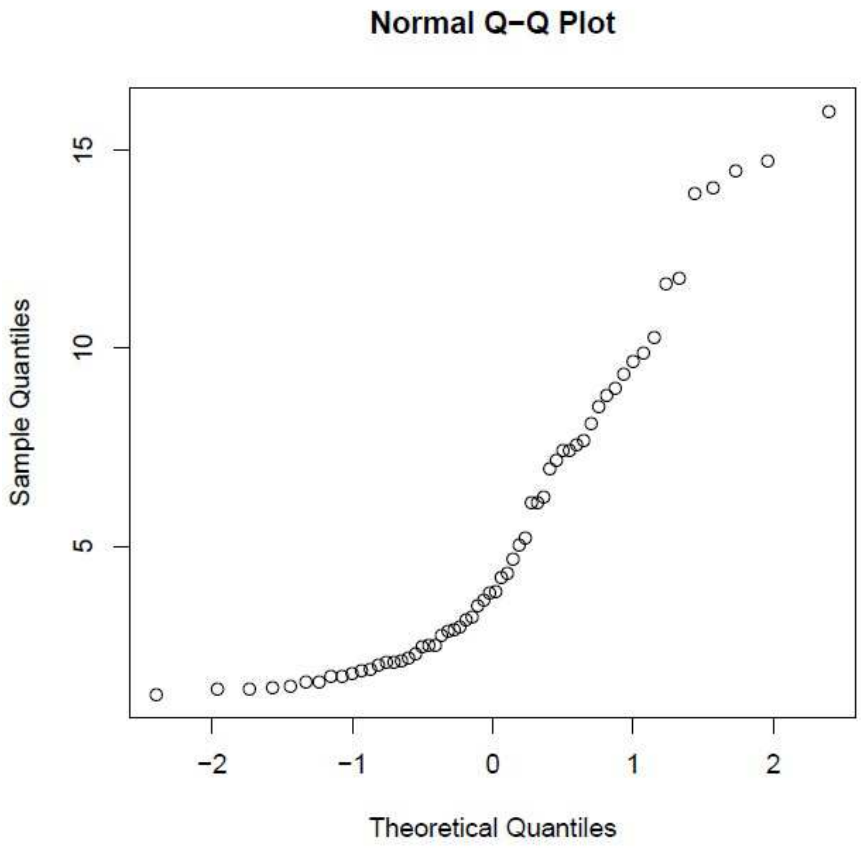


Figure 12: DOUXO® CHLORHEXIDINE : normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 4

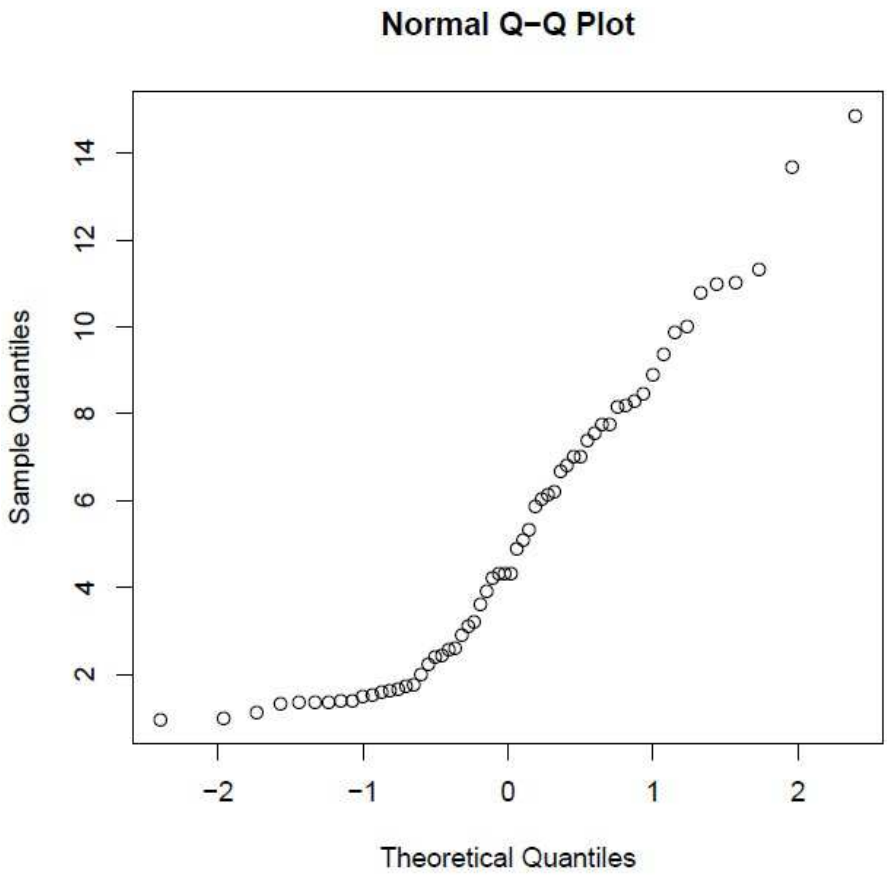


Figure 13: PAXCUTOL® **:** normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 4

Il existe une différence **hautement significative** entre les sites traités, aussi bien à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE que de PAXCUTOL®, et les sites témoins (respectivement, $p=1,59.10^{-9}$ et $p=1,8.10^{-13}$).

La médiane de la PIE des sites traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE est de **7,9 $g.h^{-1}.m^{-2}$ contre 2,165 $g.h^{-1}.m^{-2}$** pour celle des sites témoins (figure 14).

La médiane de la PIE des sites traités à l'aide de PAXCUTOL® est de **7,77 $g.h^{-1}.m^{-2}$ contre 1,75 $g.h^{-1}.m^{-2}$** pour celles des sites témoins (figure 15).

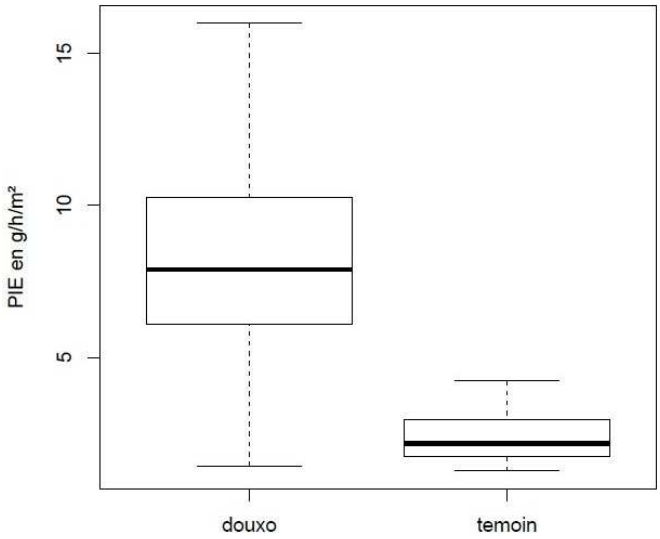


Figure 14: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les PIE des sites 1 et 4

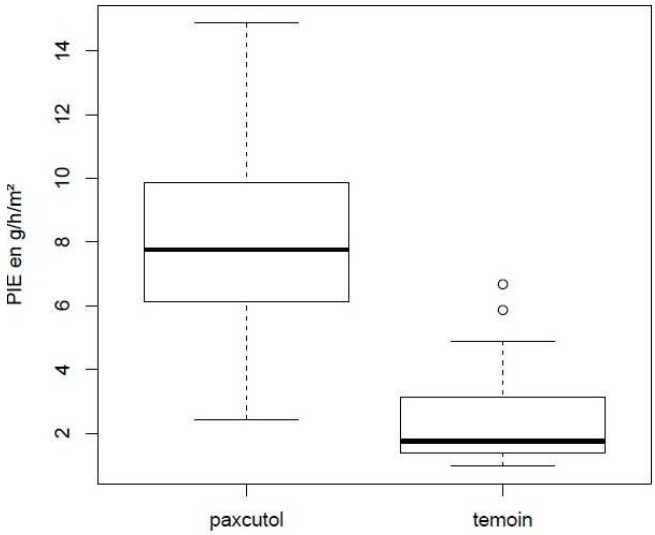


Figure 15: PAXCUTOL® : box-plot pour les PIE des sites 1 et 4

Au vu des résultats obtenus, il est possible de conclure que l'application biquotidienne de shampooing anti-infectieux, qu'il s'agisse du DOUXO® CHLORHEXIDINE ou du PAXCUTOL®, **augmente significativement la PIE**.

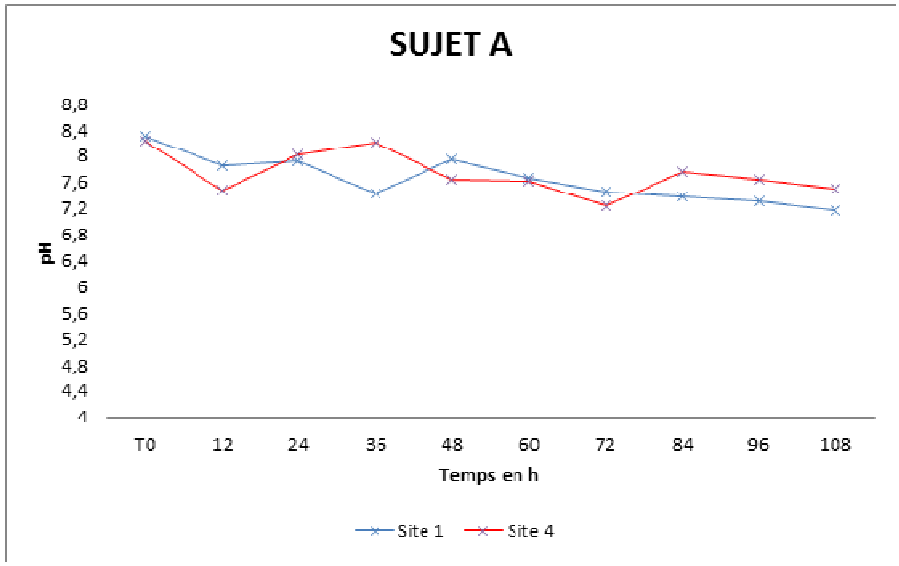
b) Mesures du pH

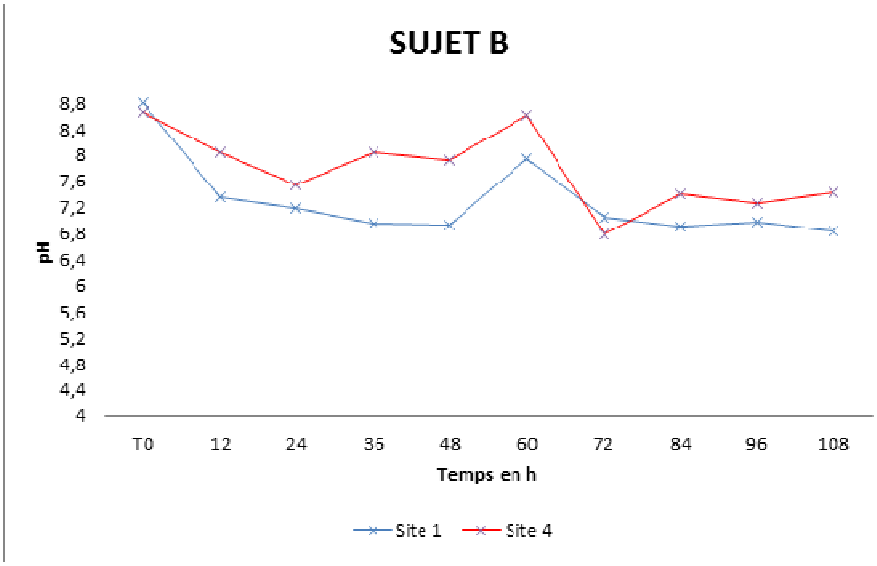
Nous nous intéressons maintenant à l'influence de l'application d'un shampooing sur le pH cutané. De la même manière que pour les mesures de PIE, les deux groupes (PAXCUTOL® et DOUXO® CHLORHEXIDINE) sont étudiés séparément.

(1) Etude graphique

Les graphiques suivants présentent l'évolution comparée du pH des sites 1 et 4 au cours du temps, pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE (figure 16) et de PAXCUTOL® (figure 17).

L'application de shampooing ne parait pas avoir d'impact franc sur le pH, notamment chez les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE. Les sites ayant reçu une application biquotidienne de PAXCUTOL ® semblent quant à eux présenter un pH cutané légèrement inférieur à celui des sites témoins.





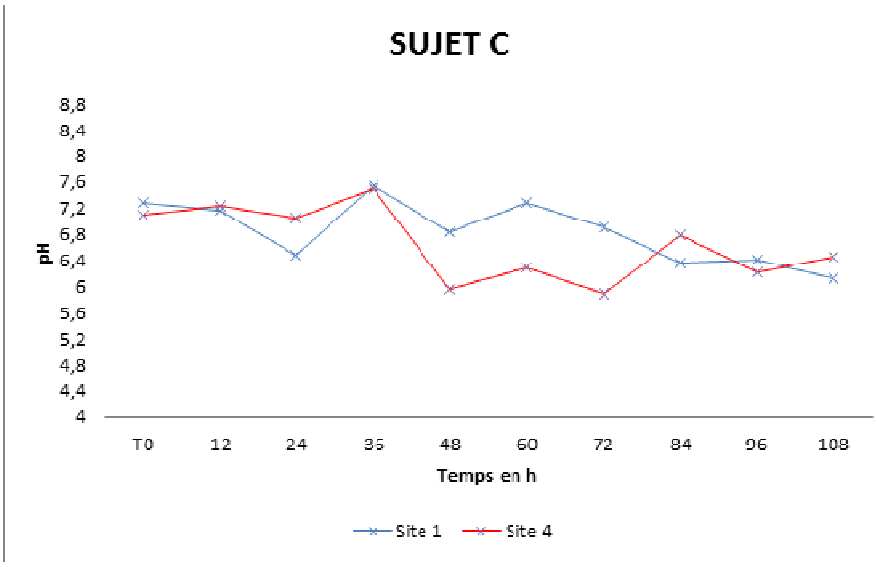
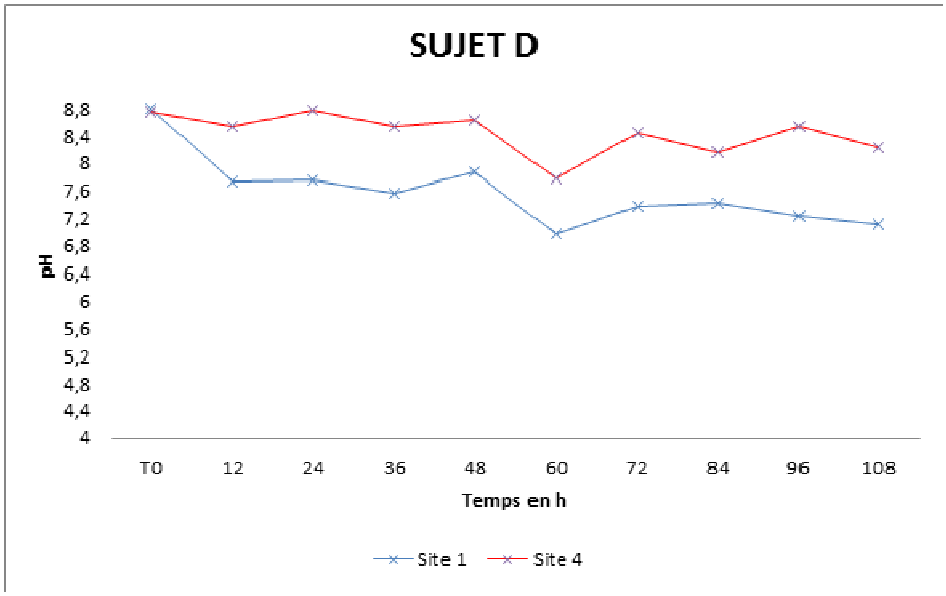
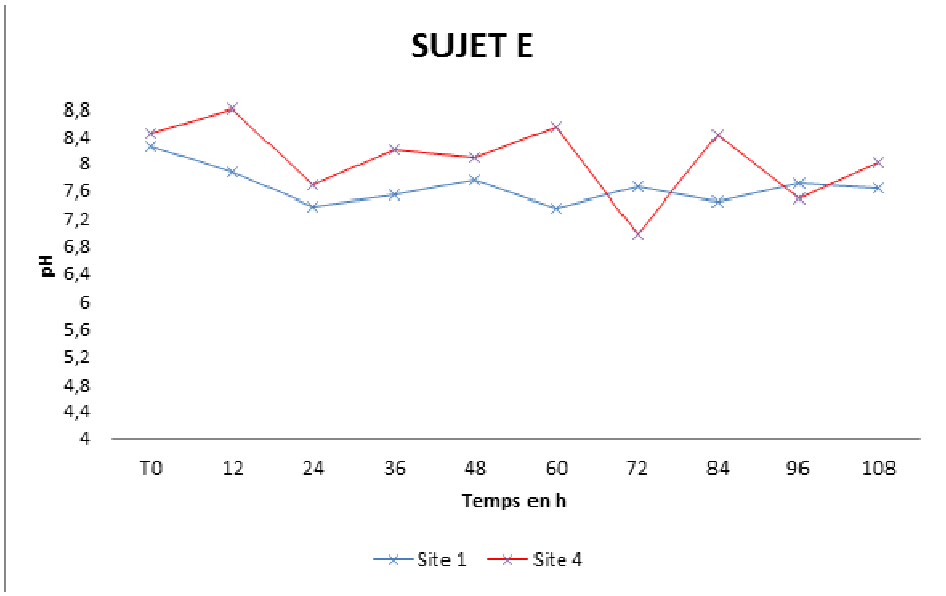


Figure 16: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE


SUJET D
8,8
8,4
8
7,6
7,2
6,8
6,4
6
5,6
5,2
4,8
4,4
4
pH
T0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
Temps en h
Site 1
Site 4


SUJET E
8,8
8,4
8
7,6
7,2
6,8
6,4
6
5,6
5,2
4,8
4,4
4
pH
T0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
Temps en h
Site 1
Site 4

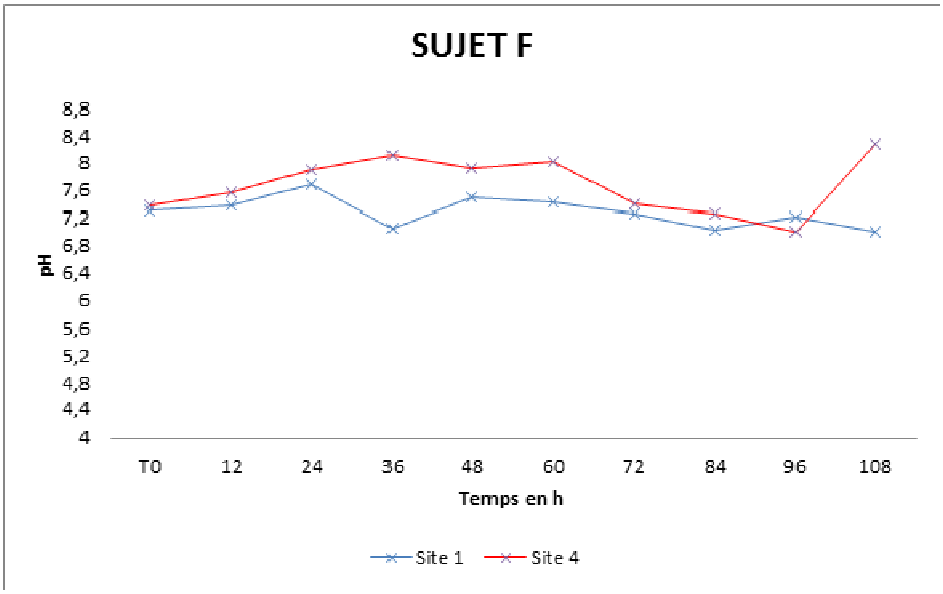


Figure 17: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL®

Le calcul des moyennes des valeurs de pH des sites 1et 4 pour chacun des 2 lots de chiens confirme les observations précédentes. L'application de DOUXO® CHLORHEXIDINE a peu d'influence sur le pH cutané (figure 18), tandis que des traitements répétés à l'aide de PAXCUTOL® le diminuent (figure 19).

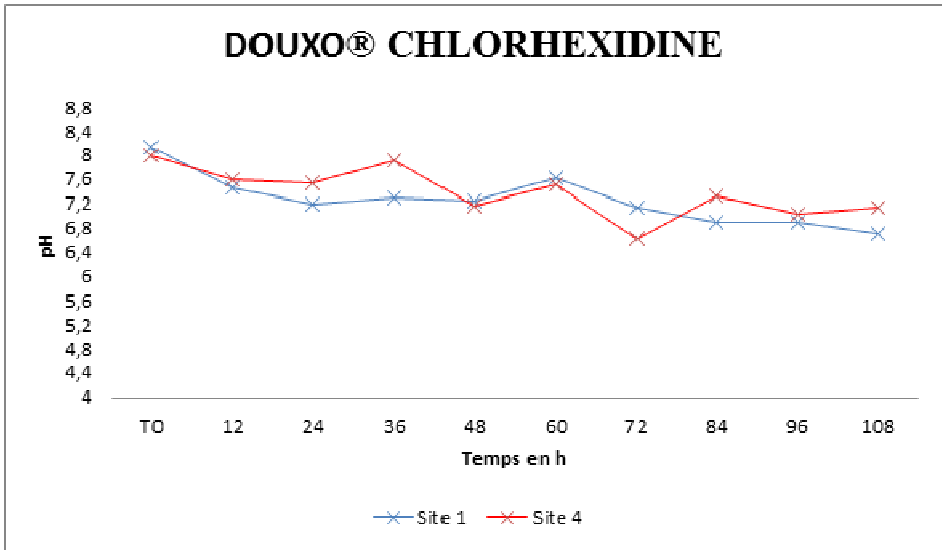


Figure 18: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE

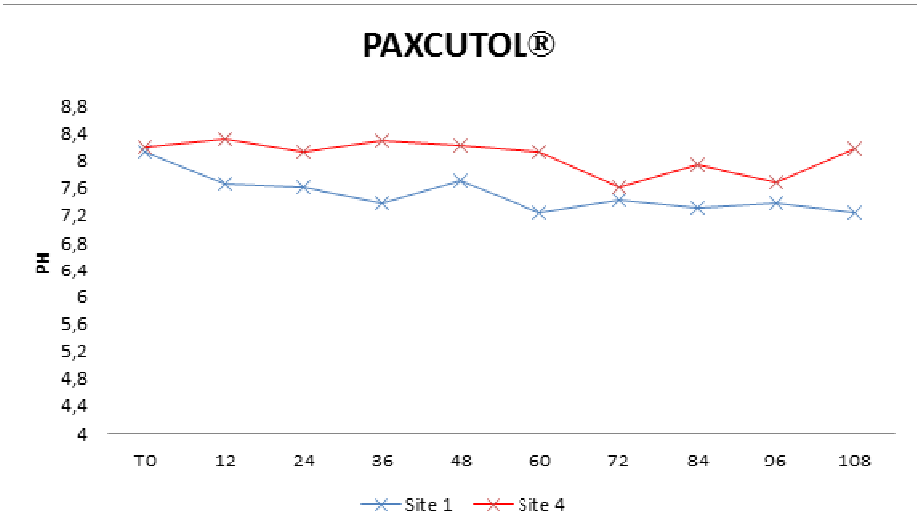


Figure 19: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 4 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL®

(2) Etude statistique

La répartition des données est normale, qu'il s'agisse des mesures des sites traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE (figure 20) ou de celles des sites traités à l'aide de PAXCUTOL® (figure 21).

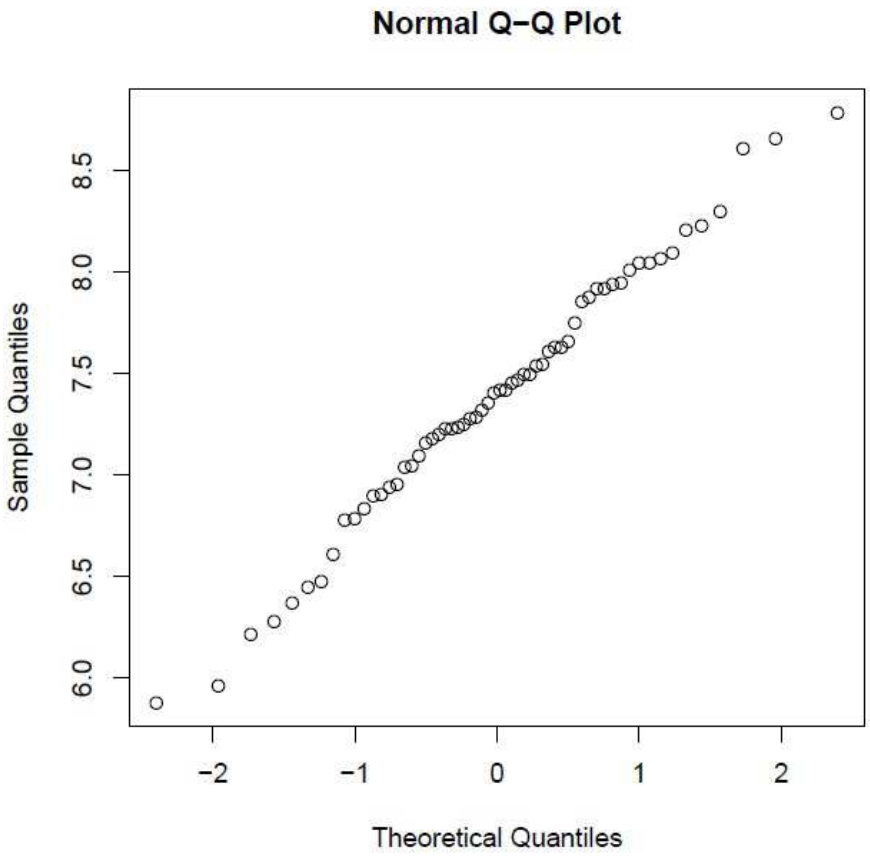


Figure 20: DOUXO® CHLORHEXIDINE : normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et des sites 4

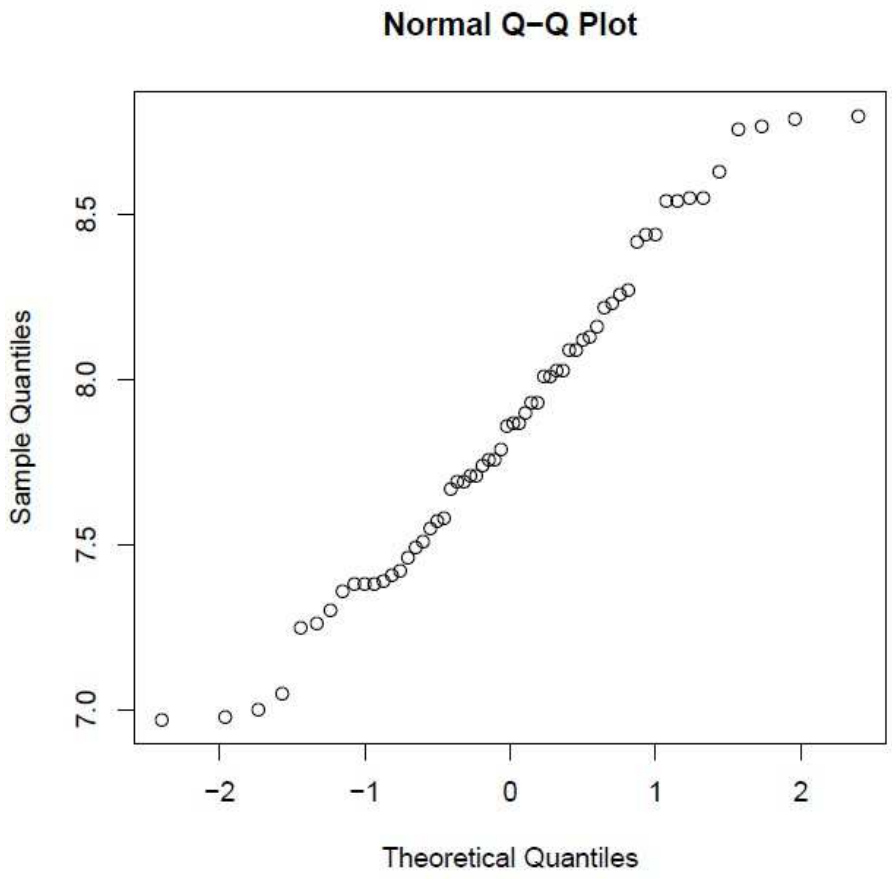


Figure 21: PAXCUTOL® : normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et 4

Il existe une différence **hautement significative** entre les sites traités à l'aide de **PAXCUTOL®** et les sites témoins (p=0.0009888). Cependant, l'influence de l'application de **DOUXO® CHLORHEXIDINE** sur le pH cutané n'est **pas significative** (p=0,8622)

La médiane du pH des sites traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE est de **7,305 contre 7,485** pour celle des sites témoins (figure 22).

La médiane du pH des sites traités à l'aide de PAXCUTOL® est de **7,7 contre 8,14** pour celles des sites témoins (figure 23).

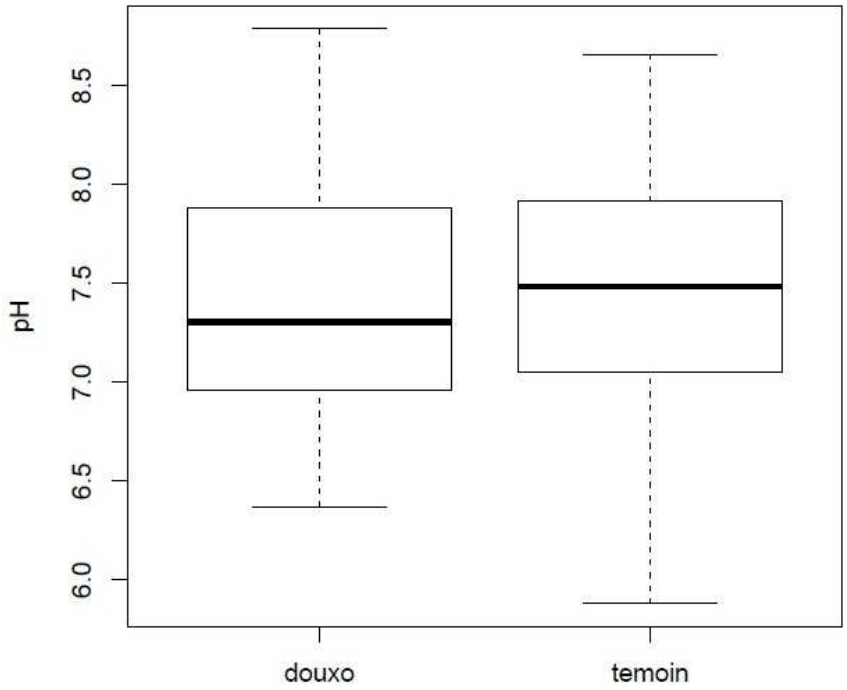


Figure 22: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les pH des sites 1 et 4

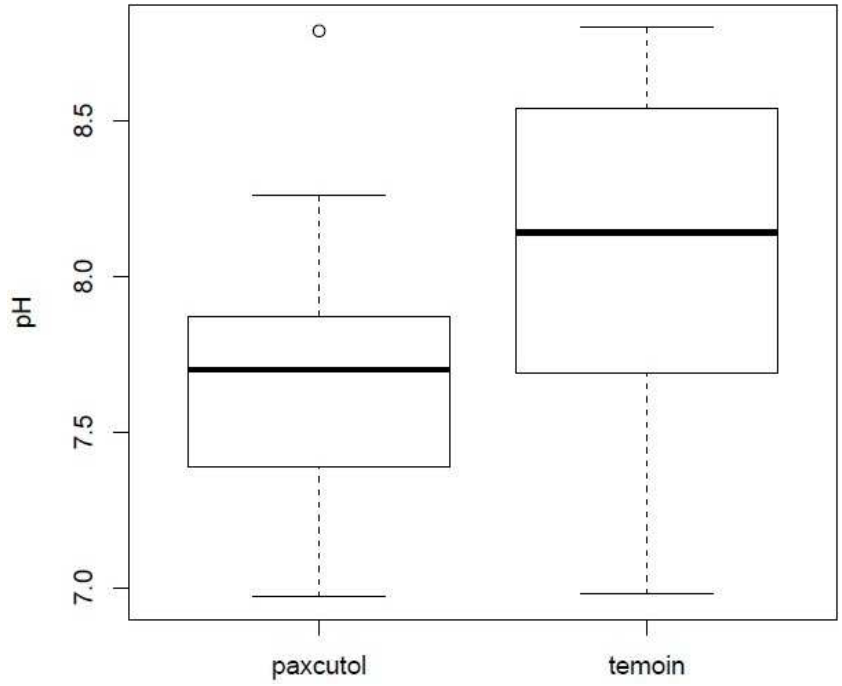


Figure 23: PAXCUTOL® : box-plot pour les pH des sites 1 et 4

Les résultats obtenus nous permettent donc de conclure à une action acidifiante du PAXCUTOL® sur le pH cutané, tandis que le DOUXO® CHLORHEXIDINE a moins d'influence.

Ainsi, la comparaison des sites 1 et 4 pour chacun des shampooings, en termes de PIE et de pH cutané, a mis en évidence :

- une **influence de l'application de chacun de nos 2 shampooings** sur **l'efficacité de la barrière cutanée**, reflétée par une augmentation significative de la PIE.

- une **action acidifiante du PAXCUTOL®**, tandis que le **DOUXO® CHLORHEXIDINE n'influe pas significativement** sur le pH cutané.

2. Etude de l'effet de la pulvérisation de réhydratant après l'application de shampooing : comparaison des sites 1 et 2

a) Mesures de la PIE

Il s'agit ici de comparer les valeurs de PIE obtenues entre les **sites 1** (traités à l'aide de PAXCUTOL® ou de DOUXO® CHLORHEXIDINE) et les **sites 2**, traités à l'aide d'HUMIDERM® après application des différents shampooings. Le but étant de mettre en évidence l'intérêt d'utiliser un réhydratant après traitement dans le but de restaurer la barrière cutanée.

(1) Etude graphique

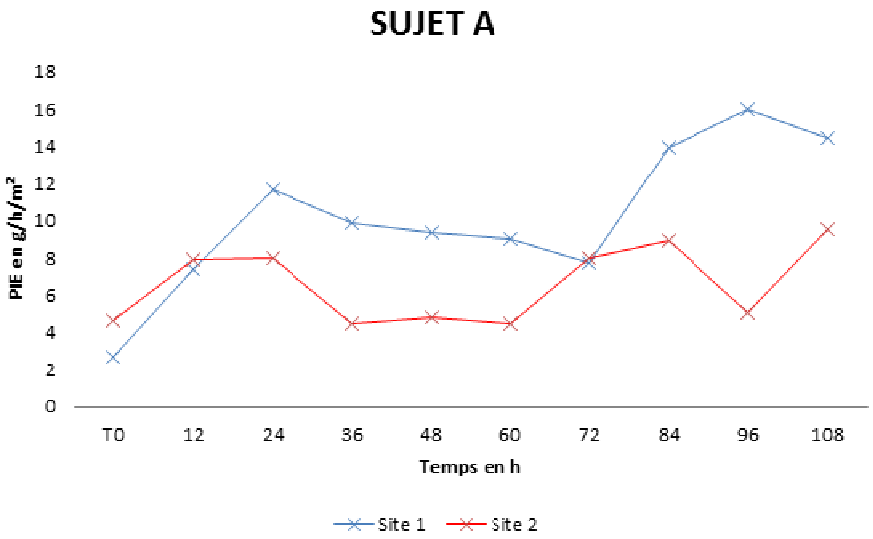
Pour chaque chien, un graphique représentant l'évolution comparée de la PIE des sites 1 et 2 au cours du temps est réalisé. On remarque que :

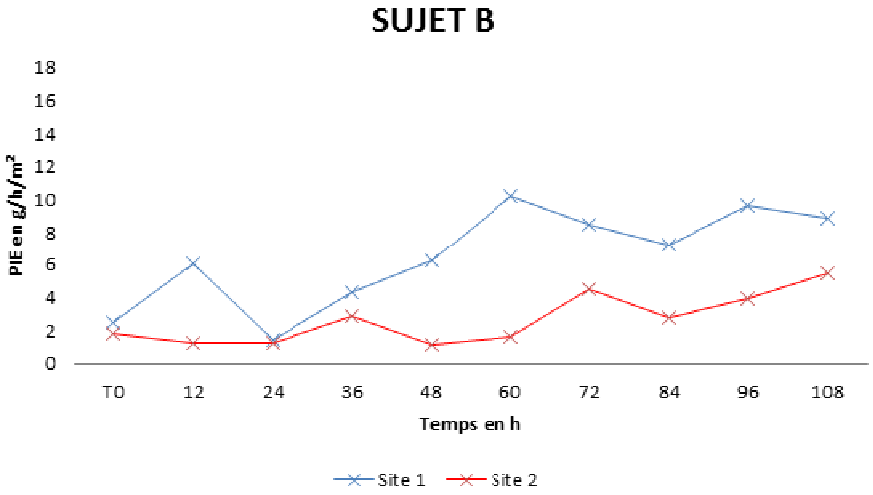
- les différentes valeurs de la PIE des **sites 1 sont constamment supérieures à celles des sites 2** (si ce n'est pour le sujet D), aussi bien chez les sujets traités à l'aide de

DOUXO® CHLORHEXIDINE (figure 24) que chez ceux traités à l'aide de PAXCUTOL® (figure 25).

- les **valeurs initiales de la PIE (T0) sont comparables** entre les 2 sites chez les 6 sujets (figures 24 et 25).

- la différence entre les 2 courbes est moins franche chez le sujet D. Cependant, en fin d'étude (à partir de T+72h), les sites 1, non traités à l'aide d'HUMIDERM®, présentent une PIE supérieure aux sites 2.





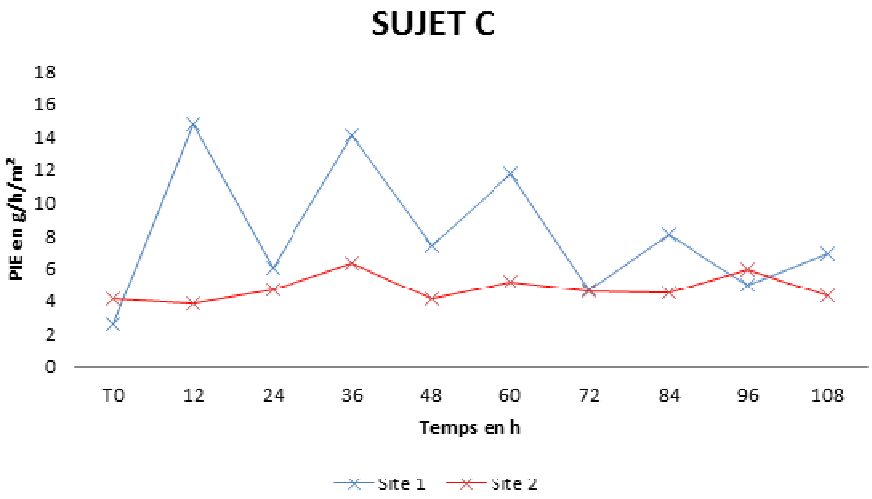
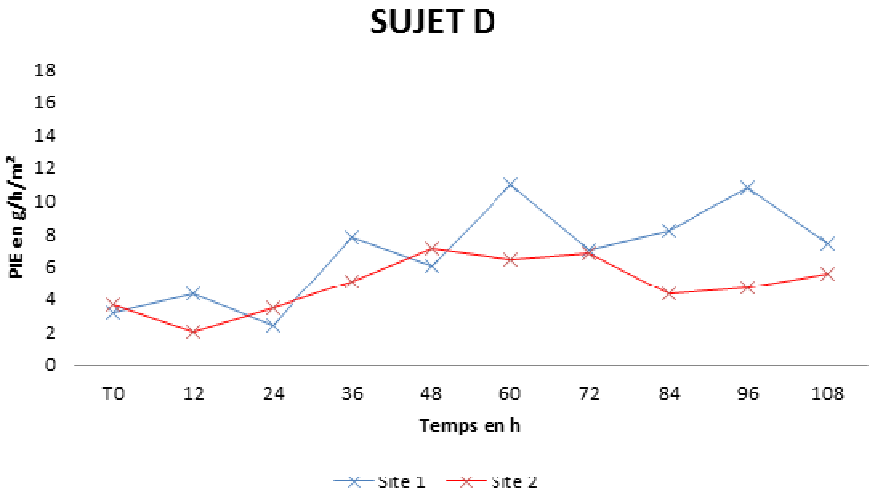
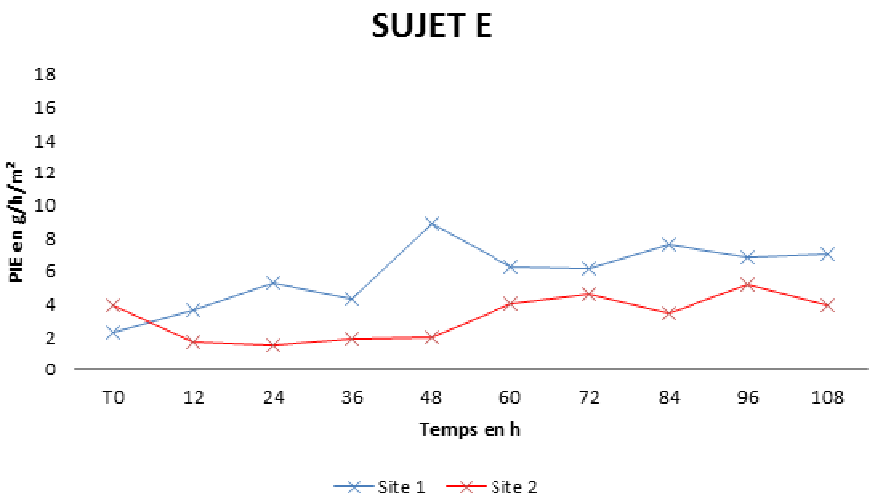


Figure 24: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE





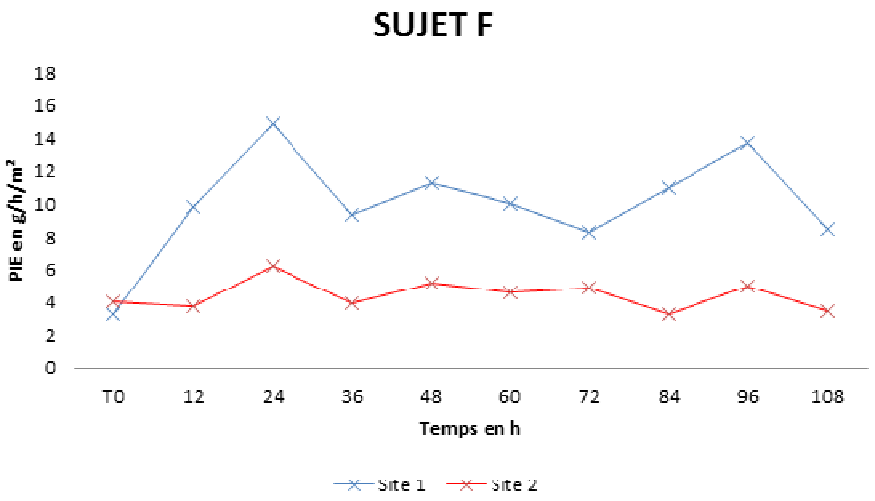


Figure 25: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL®

La moyenne des valeurs de la PIE des sites 1 et 2 est calculée, aux différents temps, pour chaque groupe de sujets ayant reçu un même traitement (figures 26 et 27). Les sites traités uniquement à l'aide d'un shampooing (sites 1), qu'il s'agisse du DOUXO® CHLORHEXIDINE ou du PAXCUTOL®, présentent des valeurs **moyennes de PIE supérieures** à celles des sites ayant reçu une pulvérisation d'HUMIDERM® en complément (sites 2).

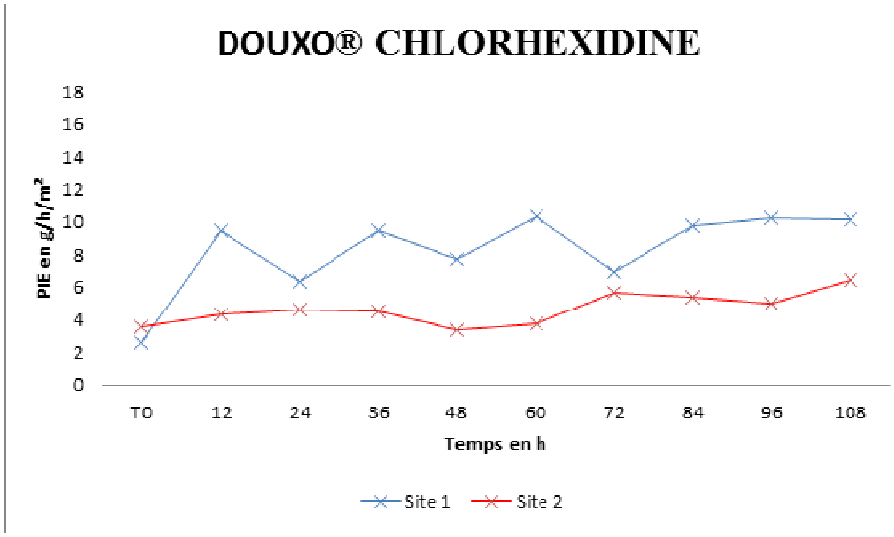


Figure 26: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE

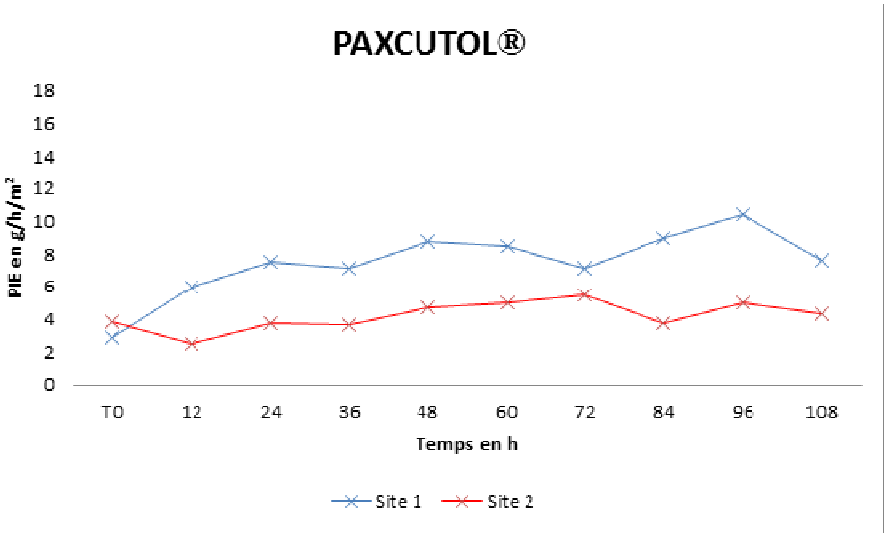


Figure 27: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 1 et 2 pour les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL®

(2) Etude statistique

Aussi bien pour les sites traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE que pour ceux traités à l'aide de PAXCUTOL®, la répartition des données obtenues est normale (figures 28 et 29).

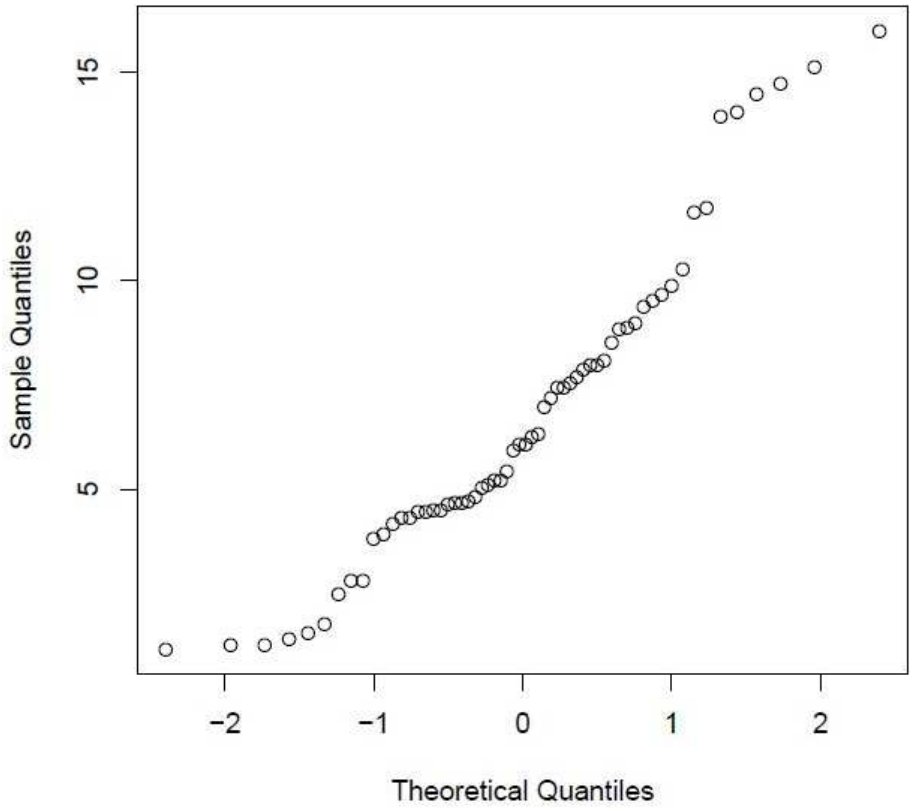


Figure 28: DOUXO® CHLORHEXIDINE : normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 2

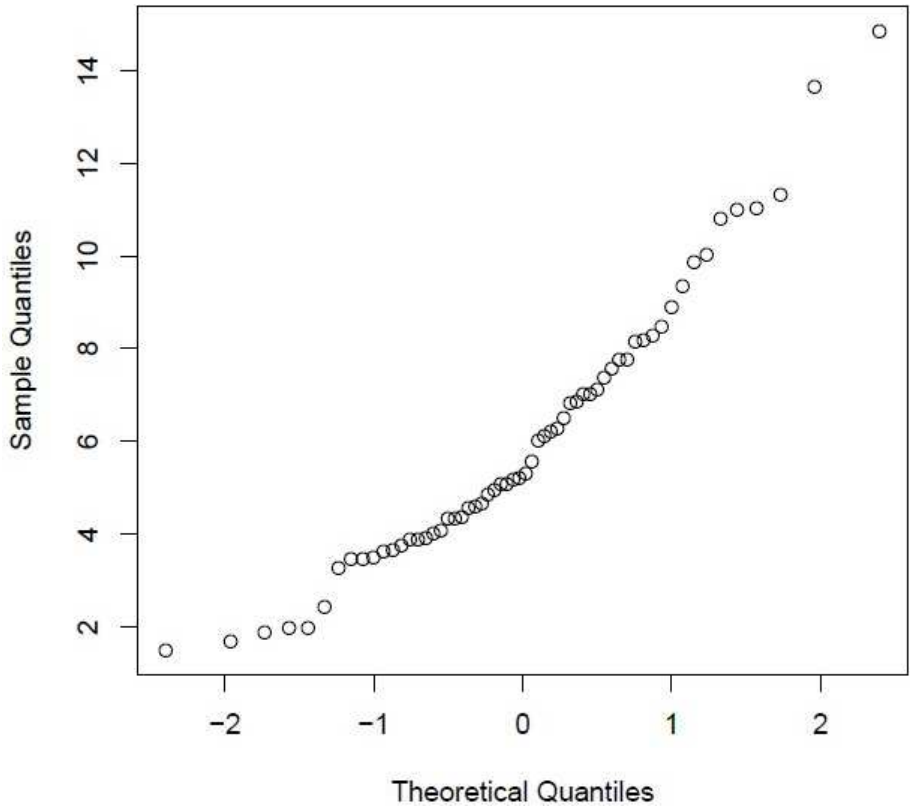


Figure 29: PAXCUTOL® : normal QQ-plot pour les PIE des sites 1 et 2

Il existe une différence **hautement significative** entre les sites traités uniquement à l'aide du shampooing, qu'il s'agisse du DOUXO® CHORHEXIDINE ($p=1,729.10^{-5}$) ou du PAXCUTOL® ($p=6,824.10^{-9}$), et ceux ayant reçu, en complément, l'application du réhydratant.

La médiane de la PIE des sites traités uniquement à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE est de **7,9 $g.h^{-1}.m^{-2}$ contre 4,565$g.h^{-1}.m^{-2}$** pour celle des sites shampooinés et réhydratés à l'HUMIDERM® (figure 30).

La médiane de la PIE des sites traités uniquement à l'aide de PAXCUTOL® est de **7,77 $g.h^{-1}.m^{-2}$ contre 4,05 $g.h^{-1}.m^{-2}$** pour celles des sites shampooinés et réhydratés (figure 31).

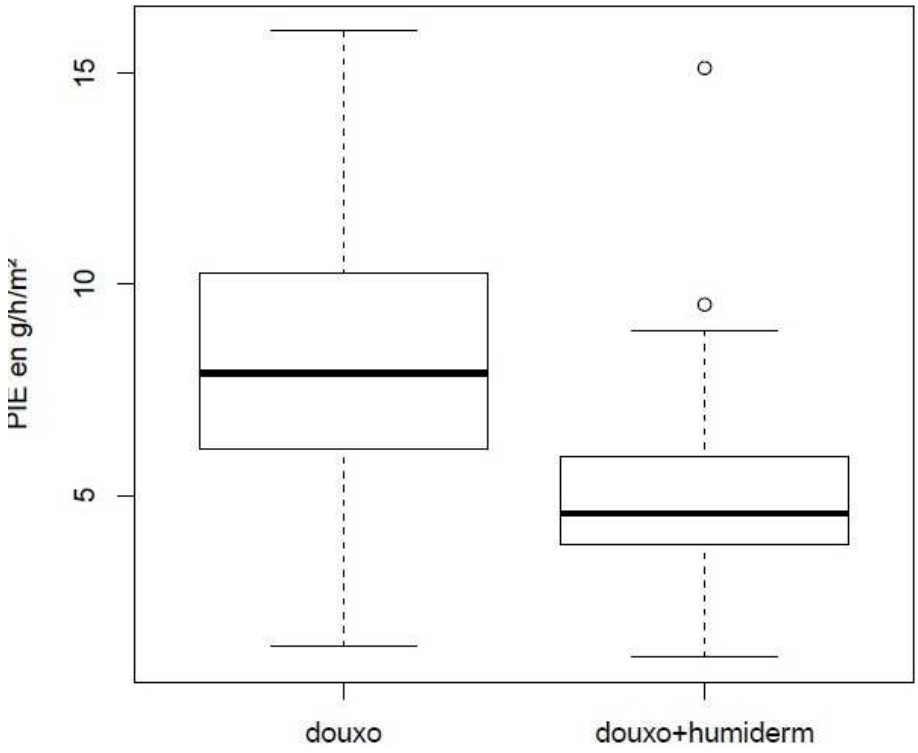


Figure 30: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les PIE des sites 1 et 2

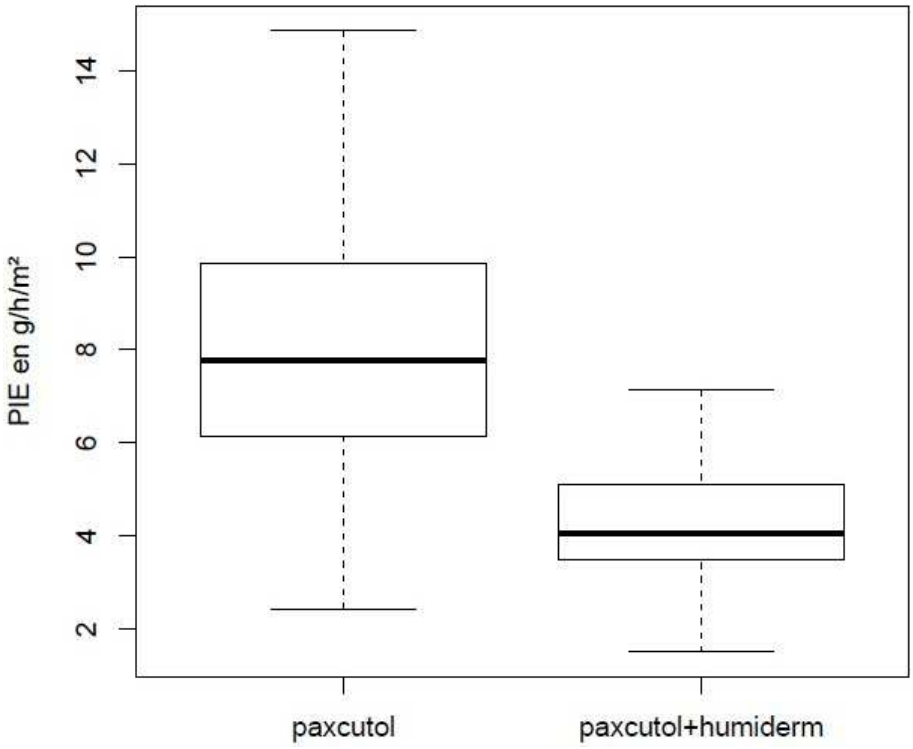


Figure 31: PAXCUTOL® : box-plot pour les PIE des sites 1 et 2

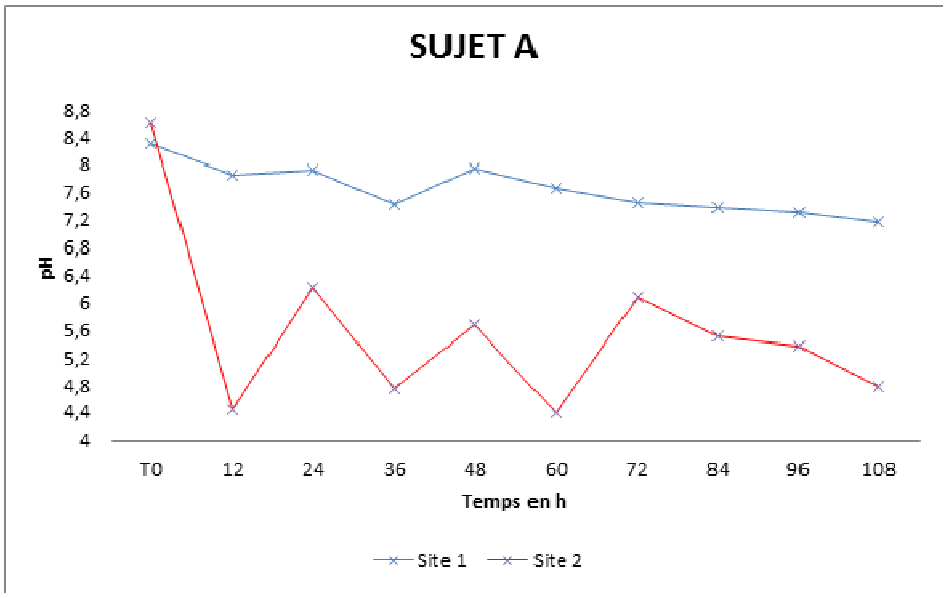
Les résultats obtenus nous permettent de conclure que l'application biquotidienne d'HUMIDERM® permet d'**améliorer significativement l'efficacité de la barrière cutanée** altérée par des shampooings antimicrobiens répétés.

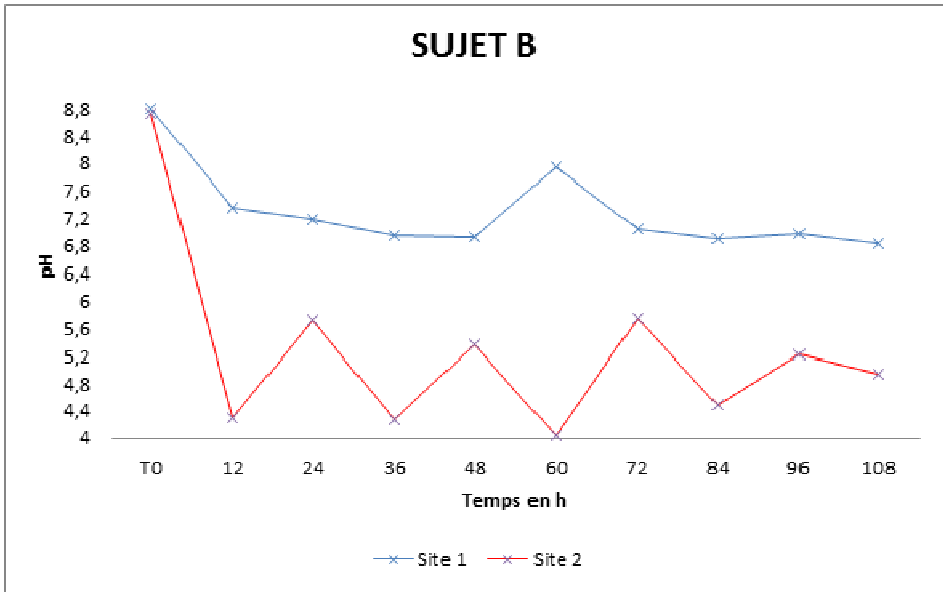
b) Mesures du pH

Nous cherchons maintenant à mettre en évidence l'effet de la pulvérisation d'HUMIDERM® après application biquotidienne de shampooing sur le pH cutané.

(1) Etude graphique

Les graphiques suivants présentent l'évolution comparée du pH des sites 1 et 2 au cours du temps, pour les sujets traités au DOUXO® CHLORHEXIDINE (figure 32) et au PAXCUTOL® (figure 33).





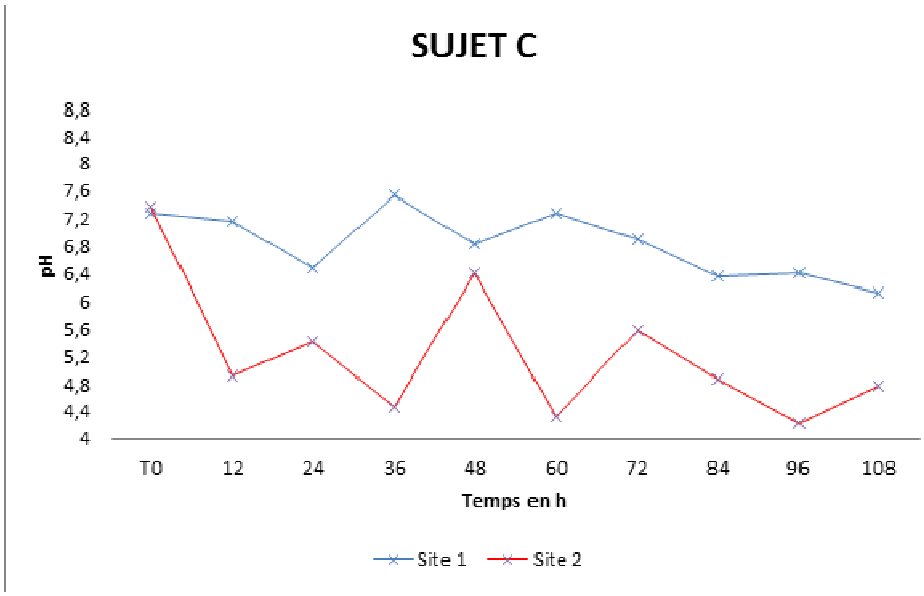
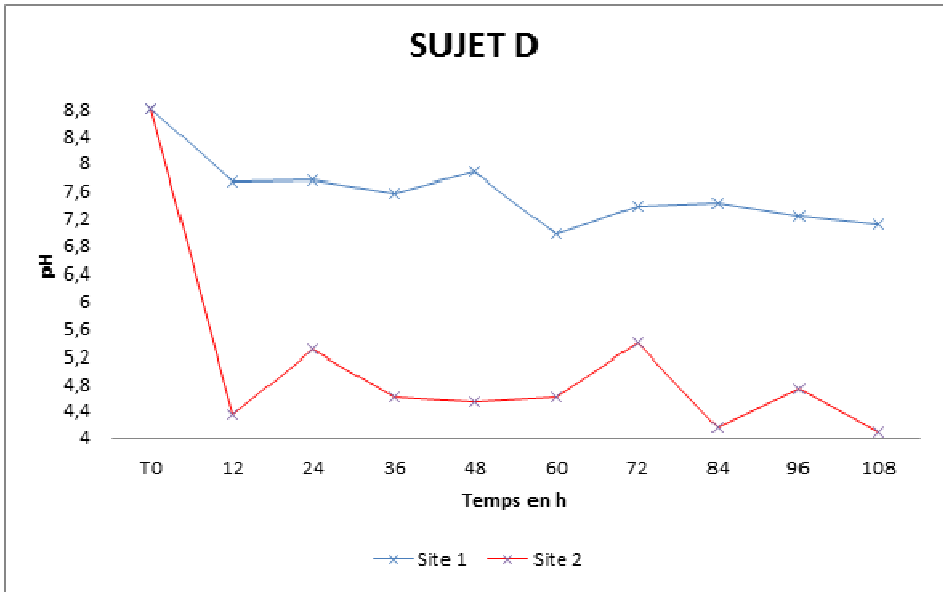
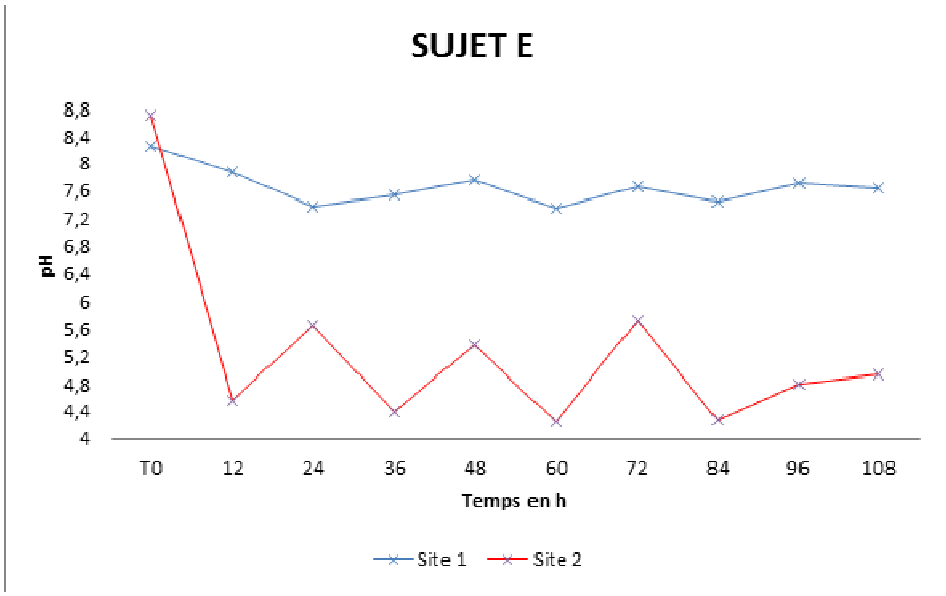


Figure 32: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités au DOUXO® CHLORHEXIDINE


SUJET D
8,8
8,4
8
7,6
7,2
6,8
6,4
6
5,6
5,2
4,8
4,4
4
pH
T0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
Temps en h
Site 1
Site 2


SUJET E
8,8
8,4
8
7,6
7,2
6,8
6,4
6
5,6
5,2
4,8
4,4
4
pH
T0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
Temps en h
Site 1
Site 2

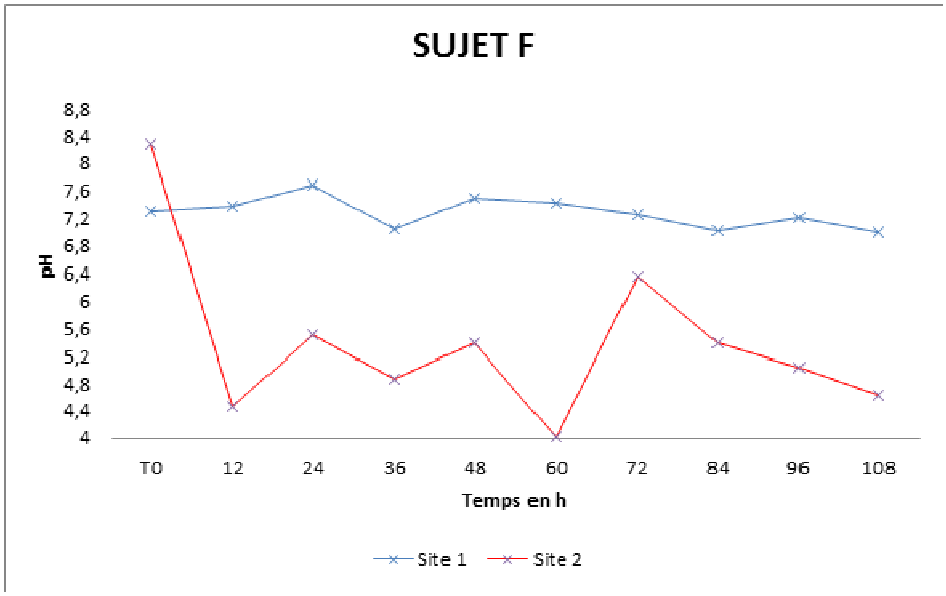


Figure 33: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 1 et 2 pour les sujets traités au PAXCUTOL®

Nous remarquons chez l'ensemble des sujets une évolution du pH cutané comparable. Les sites 2, traités à l'aide du shampooing (qu'il s'agisse indifféremment du DOUXO® CHLORHEXIDINE ou du PAXCUTOL®) et réhydratés à l'aide d'HUMIDERM® présentent un pH inférieur à celui des sites 1, shampooinés mais non réhydratés. **L'application du réhydratant semble avoir un effet acidifiant sur le pH cutané.**

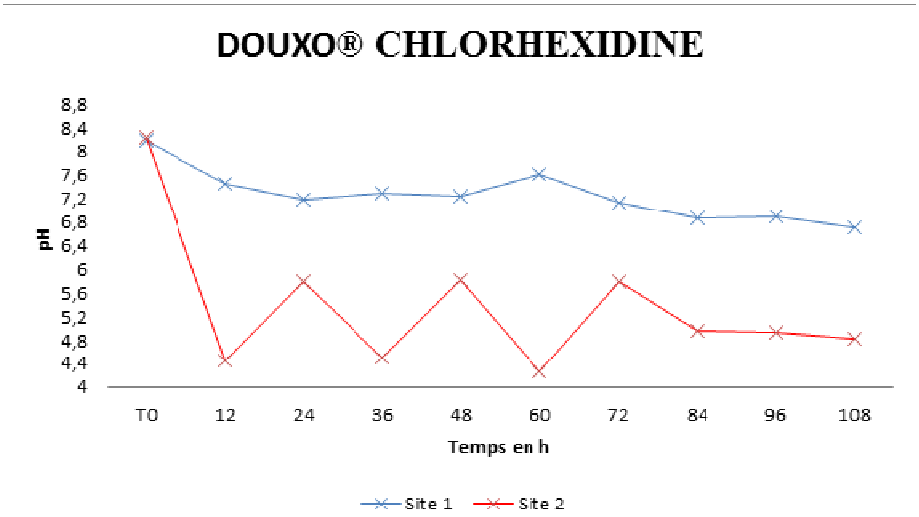


Figure 34: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 2 pour les sujets traités au DOUXO® CHLORHEXIDINE

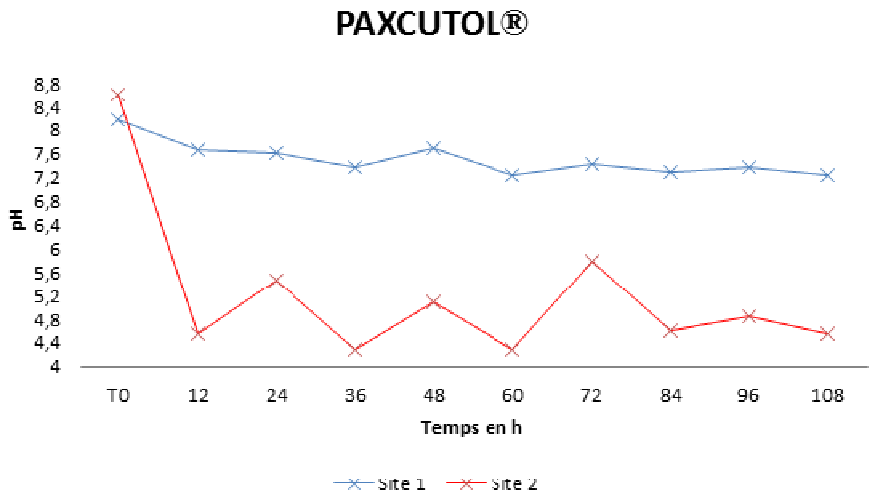


Figure 35: Moyennes des valeurs du pH des sites 1 et 2 pour les sujets traités au PAXCUTOL®

Le calcul des moyennes des sites 1 et 2 confirme l'observation faite précédemment, à savoir un pH cutané plus faible pour les sites ayant reçu une pulvérisation biquotidienne d'HUMIDERM® (figures 34 et 35). Il n'y a pas de différence notable entre les sujets traités à l'aide de PAXCUTOL® et ceux traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE.

(2) Etude Statistique

De même que pour l'étude de la PIE, la répartition des données des sites 1 et 2 est normale pour les 2 groupes de sujets (figures 36 et 37).

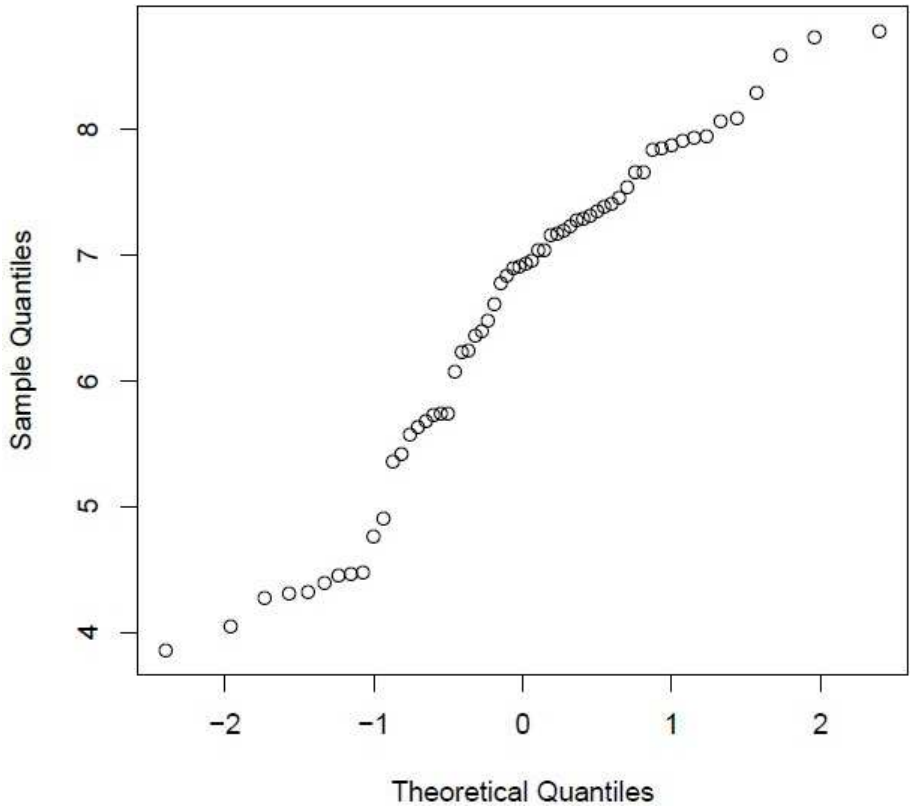


Figure 36: DOUXO® CHLORHEXIDINE : normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et 2

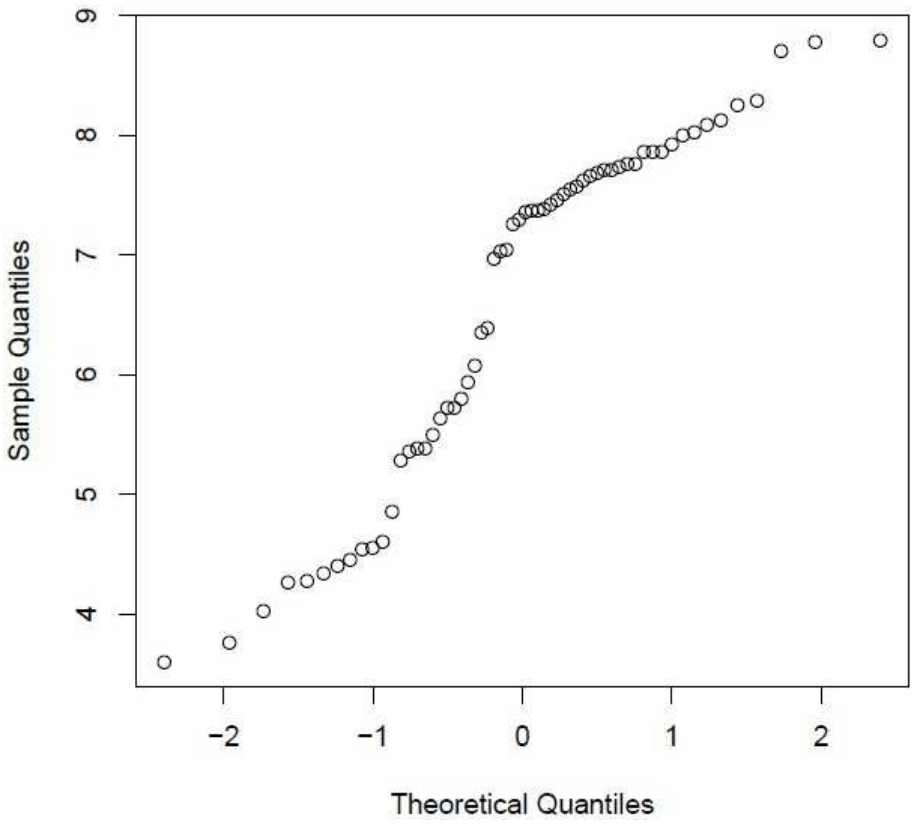


Figure 37: PAXCUTOL® : normal QQ-plot pour les pH des sites 1 et 2

Il existe une différence **hautement significative** entre les sites traités uniquement à l'aide du shampooing et les sites shampooinés puis réhydratés ($p=1,33.10^{-8}$ pour le DOUXO® CHLORHEXIDINE et $p=3,314.10^{-10}$ pour le PAXCUTOL®).

La médiane du pH des sites uniquement à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE est de **7,305 contre 5,66** pour celle des sites shampooinés puis réhydratés (figure 38).

La médiane du pH des sites traités uniquement à l'aide de PAXCUTOL® est de **7,7 contre 5,38** pour celles des sites shampooinés puis réhydratés (figure 39).

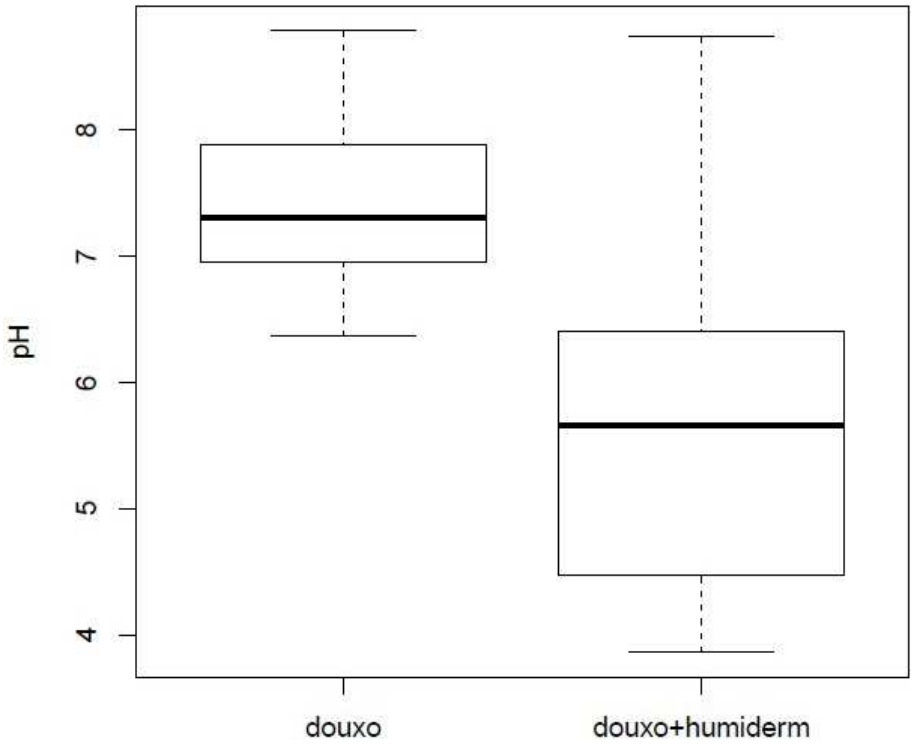


Figure 38: DOUXO® CHLORHEXIDINE : box-plot pour les pH des sites 1 et 2

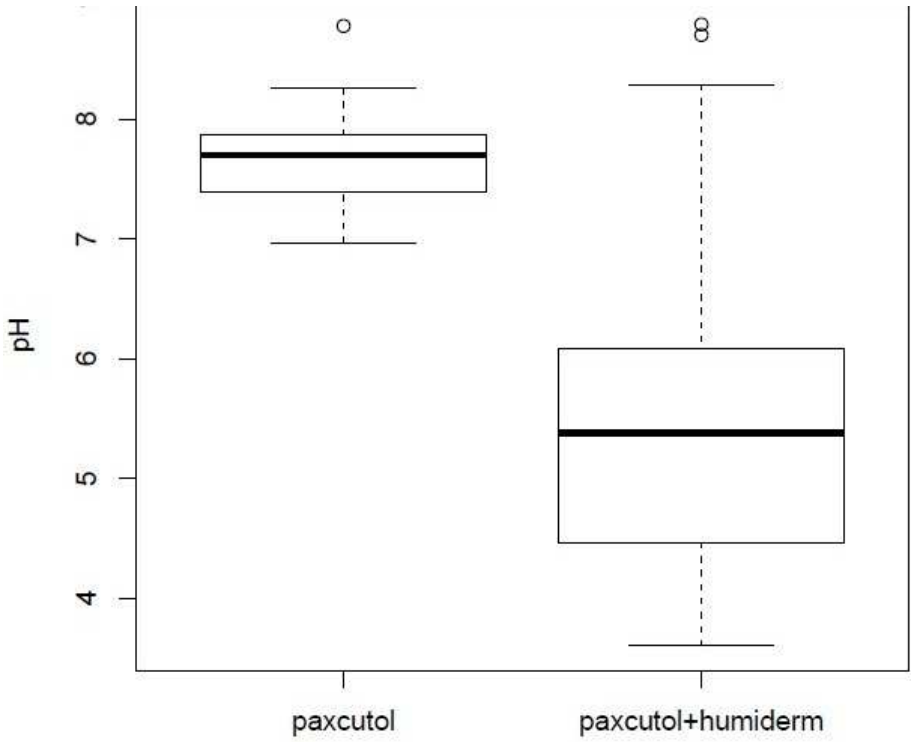


Figure 39: PAXCUTOL® : box-plot pour les pH des sites 1 et 2

Au vu des résultats obtenus, la **réhydratation par l'HUMIDERM®** des sites traités à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ou de PAXCUTOL® est à l'origine d'une **baisse significative du pH cutané**.

Ainsi, la comparaison des sites 1 et 2 pour chacun des shampooings, en termes de PIE et de pH cutané, a mis en évidence :

- une **influence de la pulvérisation d'HUMIDERM®, après application des shampooings, sur la barrière cutanée.** Influence mise en évidence par une diminution significative de la PIE, préalablement augmentée par les traitements à l'aide de DOUXO® CHLORHEXIDINE ou de PAXCUTOL®.

- une **action acidifiante de l'HUMIDERM®**, qui reste à confirmer en vérifiant que cet effet se retrouve lors de l'application du réhydratant seul.

3. Etude de l'impact de l'application biquotidienne d'HUMIDERM® sur la barrière cutanée

a) Mesures de la PIE

Au cours de l'étude, nous avons remarqué une influence de l'application d'HUMIDERM® seul **(sites 3)** sur la PIE. En effet, les sites hydratés, sans application préalable de shampooing, ont présenté des valeurs de PIE supérieures aux sites témoins **(sites 4).** L'étude graphique qui suit a pour but de vérifier cette observation.

(1) Etude graphique

On remarque des valeurs de **PIE supérieures** chez chacun des 6 sujets pour les sites ayant reçu l'application d'HUMIDERM® par rapport aux sites témoins (figure 40).

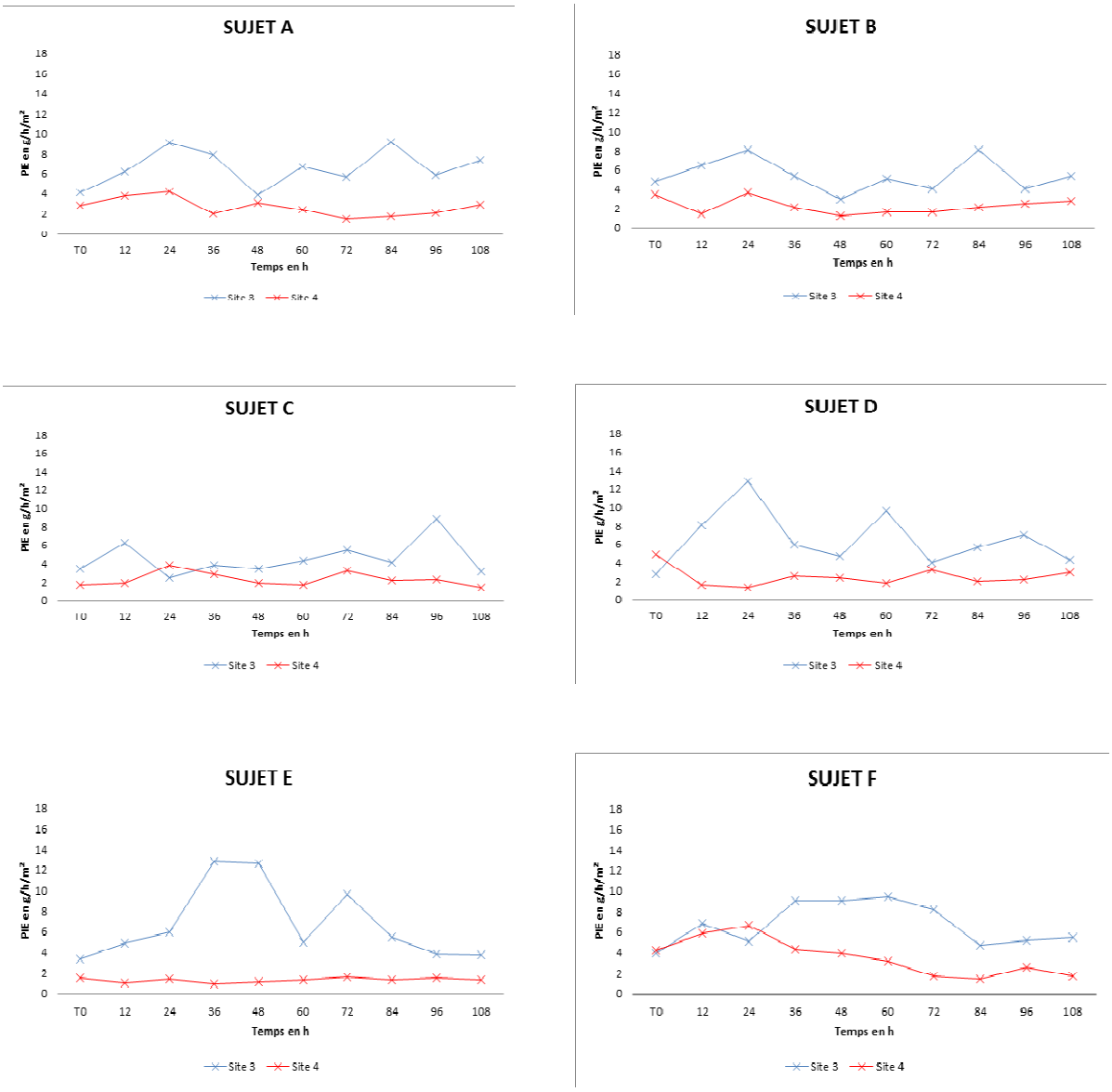


Figure 40: Comparaison des valeurs de la PIE au cours du temps entre les sites 3 et 4 pour l'ensemble des sujets

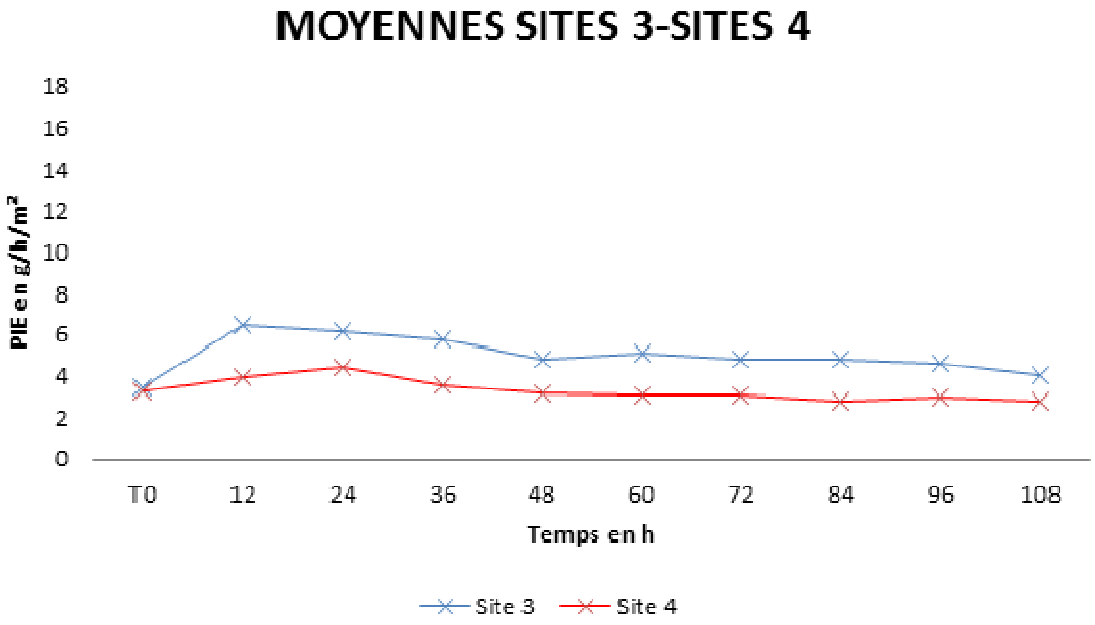


Figure 41: Moyennes des valeurs de la PIE des sites 3 et 4 pour l'ensemble des 6 sujets

Le calcul des moyennes des valeurs de PIE des sites 3 et 4 pour l'ensemble des 6 sujets (figure 41) confirme l'influence de l'application biquotidienne du réhydratant. **Les sites hydratés présentent en effet des valeurs moyennes de PIE supérieures à celles des sites témoins.**

(2) Etude statistique

La répartition des valeurs de PIE des sites 3 et 4 pour l'ensemble des sujets est normale (figure 42).

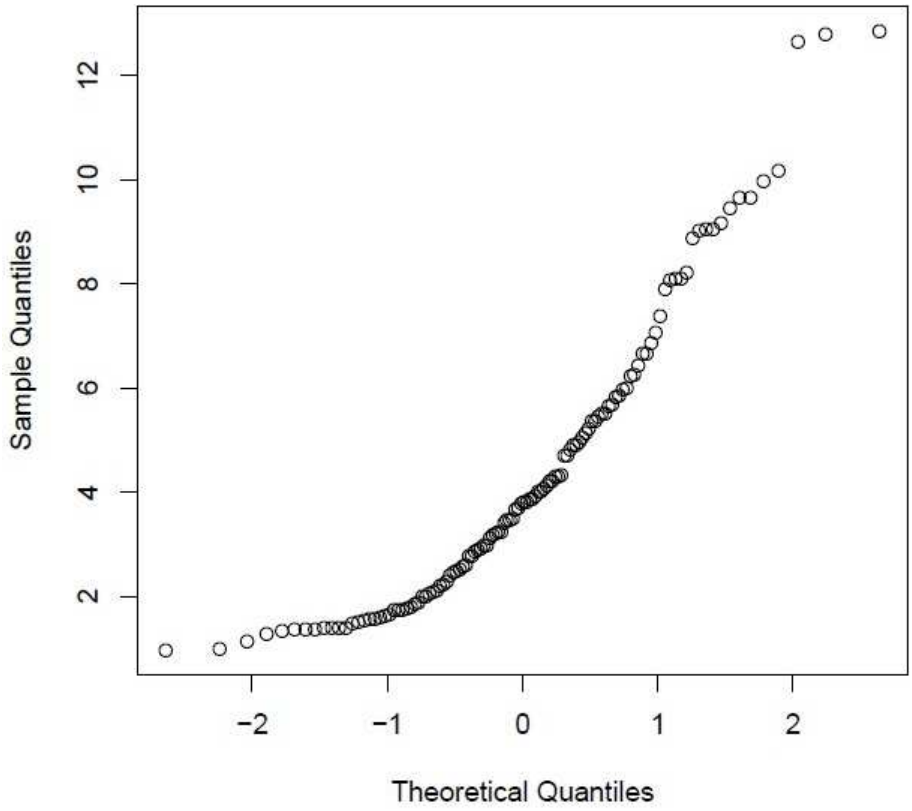


Figure 42: Normal QQ-plot pour les PIE des sites 3 et 4

Il existe une différence **hautement significative** entre les sites ayant reçu l'HUMIDERM® et les sites témoins ($p=3,959.10^{-15}$).

La médiane de la PIE des sites hydratés est de **5,6 $g.h^{-1}.m^{-2}$ contre 2,085 $g.h^{-1}.m^{-2}$** pour celle des sites témoins (figure 43).

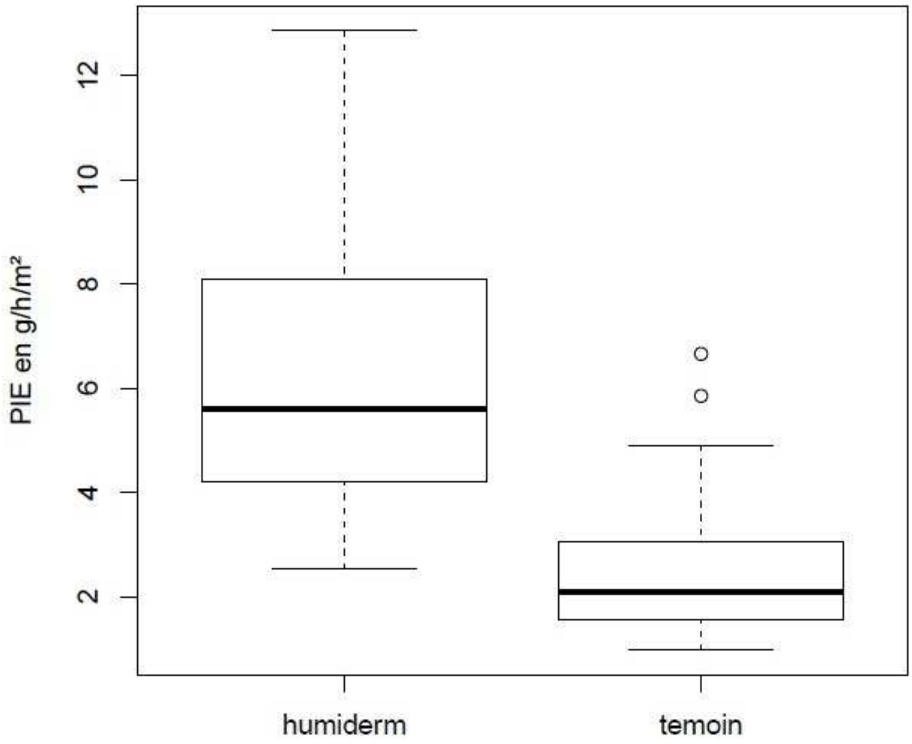


Figure 43: Box-plot pour les PIE des sites 3 et 4

Les résultats obtenus confirment nos observations graphiques, à savoir une augmentation significative de la PIE liée à l'application biquotidienne d'HUMIDERM®.

b) Mesures du pH

Il s'agit dans cette partie de confirmer l'effet acidifiant de l'HUMIDERM® sur le pH cutané.

(1) Etude graphique

Les graphiques suivants (figure 44) comparent le pH cutané des sites 3, ayant reçu uniquement le réhydratant, aux sites témoins chez les 6 sujets, afin de vérifier que l'acidification observée est bien due à l'application d'HUMIDERM®.

Les sites 3 des 6 sujets présentent un pH cutané inférieur aux sites témoins, ce pour l'ensemble des mesures réalisées au cours de l'étude (figure 44)

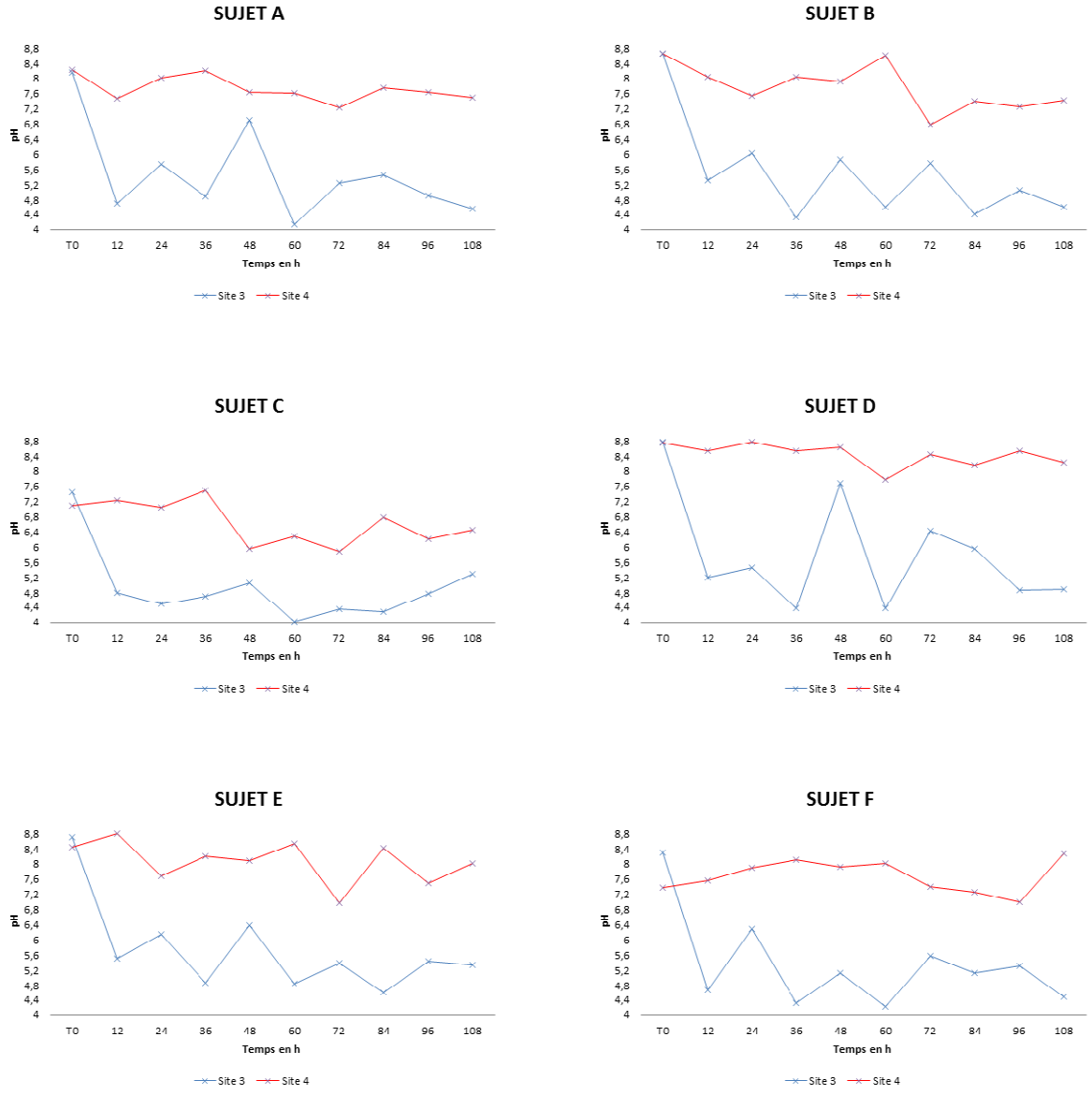


Figure 44: Comparaison des valeurs du pH au cours du temps entre les sites 3 et 4 pour l'ensemble des sujets

Par ailleurs, le calcul des moyennes de pH des sites 3 et 4 confirme l'effet acidifiant de l'HUMIDERM® (figure 45).

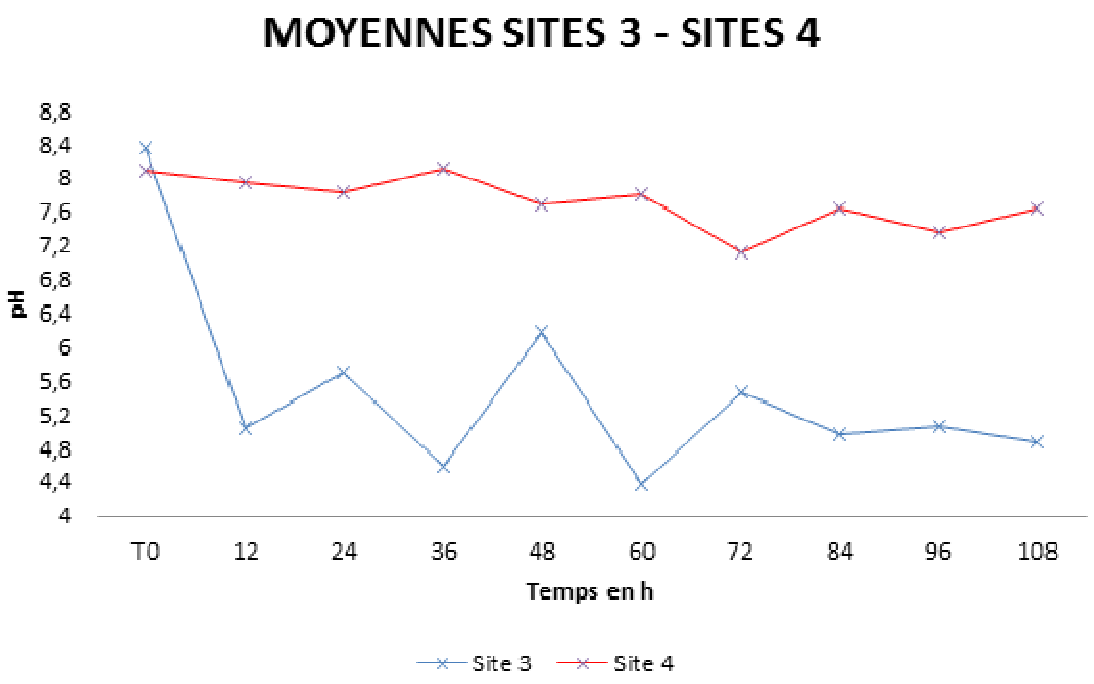


Figure 45: Moyennes des valeurs du pH des sites 3 et 4 pour chacun des 6 sujets

(2) Etude statistique

La répartition des valeurs de pH des sites 3 et 4 pour l'ensemble des sujets est normale (figure 46).

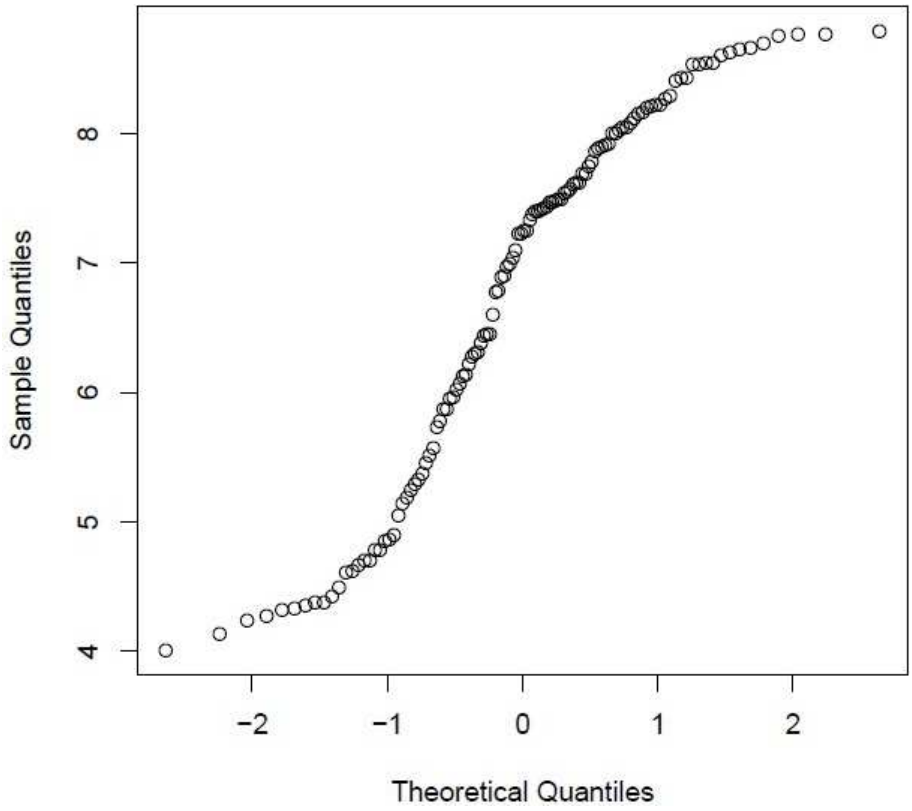


Figure 46: Normal QQ-plot pour les pH des sites 3 et 4

Il existe une différence **hautement significative** entre les sites ayant reçu l'HUMIDERM® et les sites témoins ($p=5,906.10^{-16}$).

La médiane du pH des sites hydratés est de **5,545 contre 7,77** pour celle des sites témoins (figure 47).

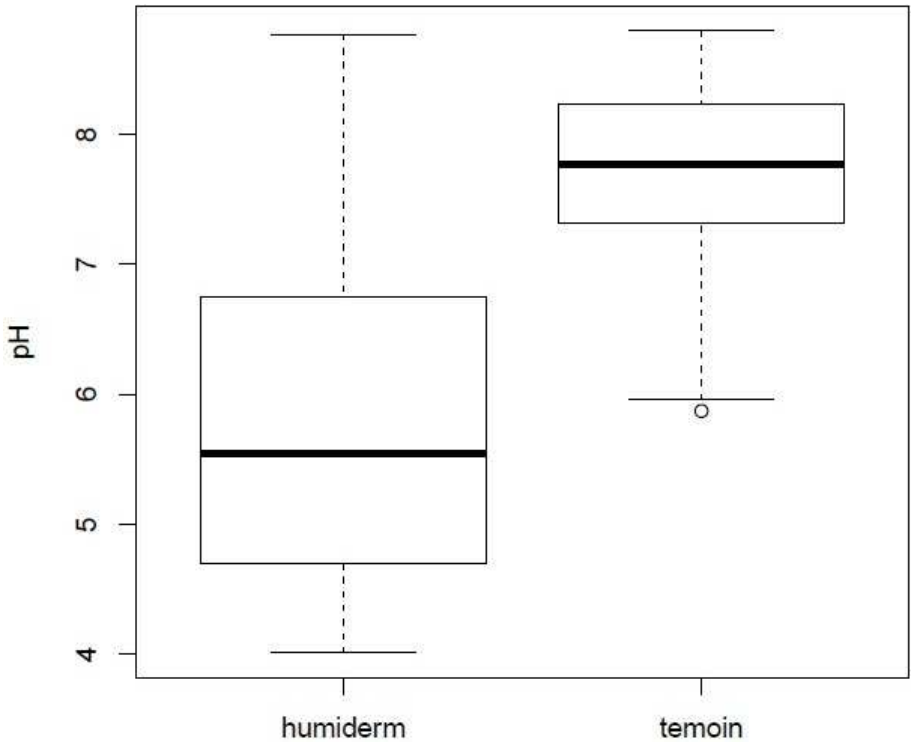


Figure 47: Box-plot pour les pH des sites 3 et 4

L'analyse des résultats obtenus nous confirme l'action acidifiante de l'HUMIDERM®.

Ainsi, la comparaison des sites 3 et 4, en termes de PIE et de pH cutané, a mis en évidence :

- une **influence de la pulvérisation biquotidienne d'HUMIDERM® seul sur la barrière cutanée**, qui se traduit par une augmentation significative de la PIE. Cet effet sera analysé en discussion.

- une confirmation de l'**action acidifiante de l'HUMIDERM®**.

4. Examen histopathologique

Comme prévu dans le protocole expérimental (tableau 3), une biopsie cutanée de chacun des sites 1, 2 et 3 de chaque sujet a été réalisée en fin d'étude. Il est important de

préciser qu'aucune différence d'aspect macroscopique entre les différents sites n'est relevée à la fin de l'étude.

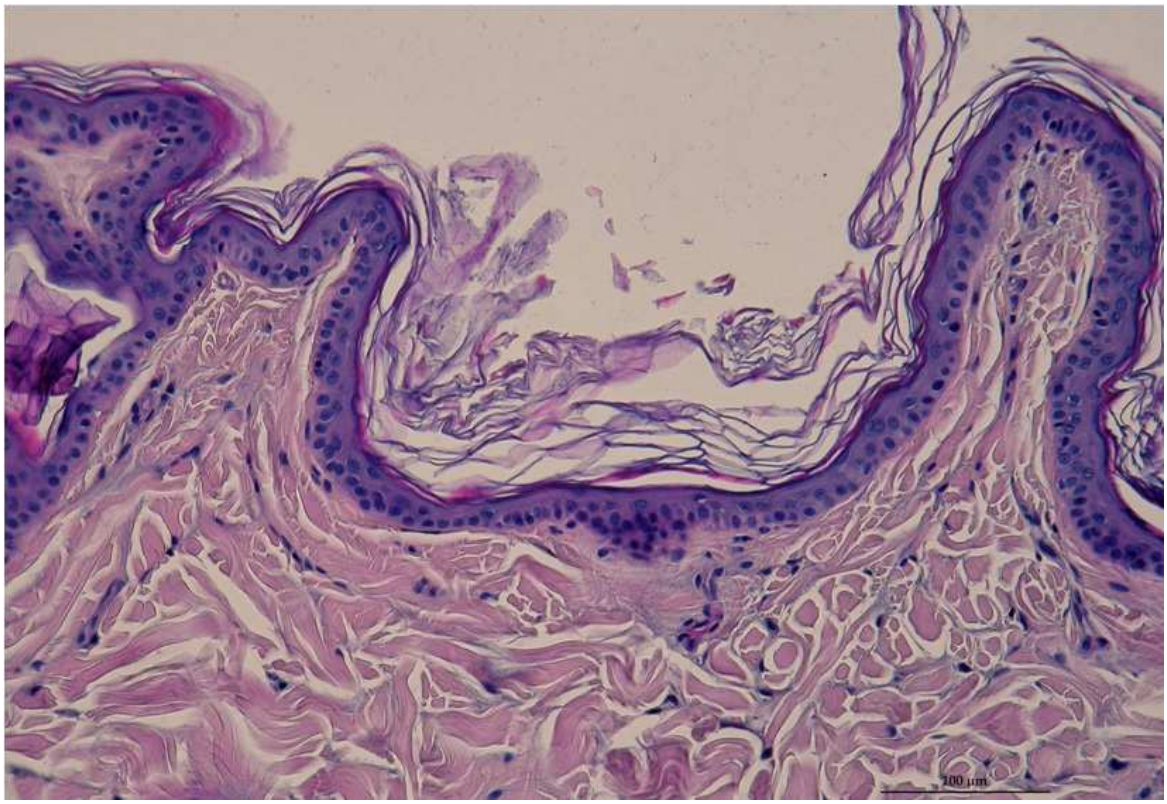
Chaque échantillon prélevé a été techniqué classiquement, coupé, puis les coupes obtenues ont été colorées à l'hémalun-éosine, mais également marquées à l'aide des anticorps anti-Ki-67 (marqueur de division cellulaire) et des anticorps Bla-36 (marqueur des cellules dendritiques épidermiques et dermiques).

L'aspect des biopsies, pour chaque sujet, est similaire, à quelques légères différences d'intensité près, quelque soit le site prélevé.

a) Coloration à l'hémalun-éosine

(1) Biopsie en peau saine

Seules 2 à 3 couches cellulaires composent l'épiderme (photographie 3). La couche cornée est présente, bien nette et aérée. Le *stratum compactum* et le *stratum disjunctum* sont identifiables.



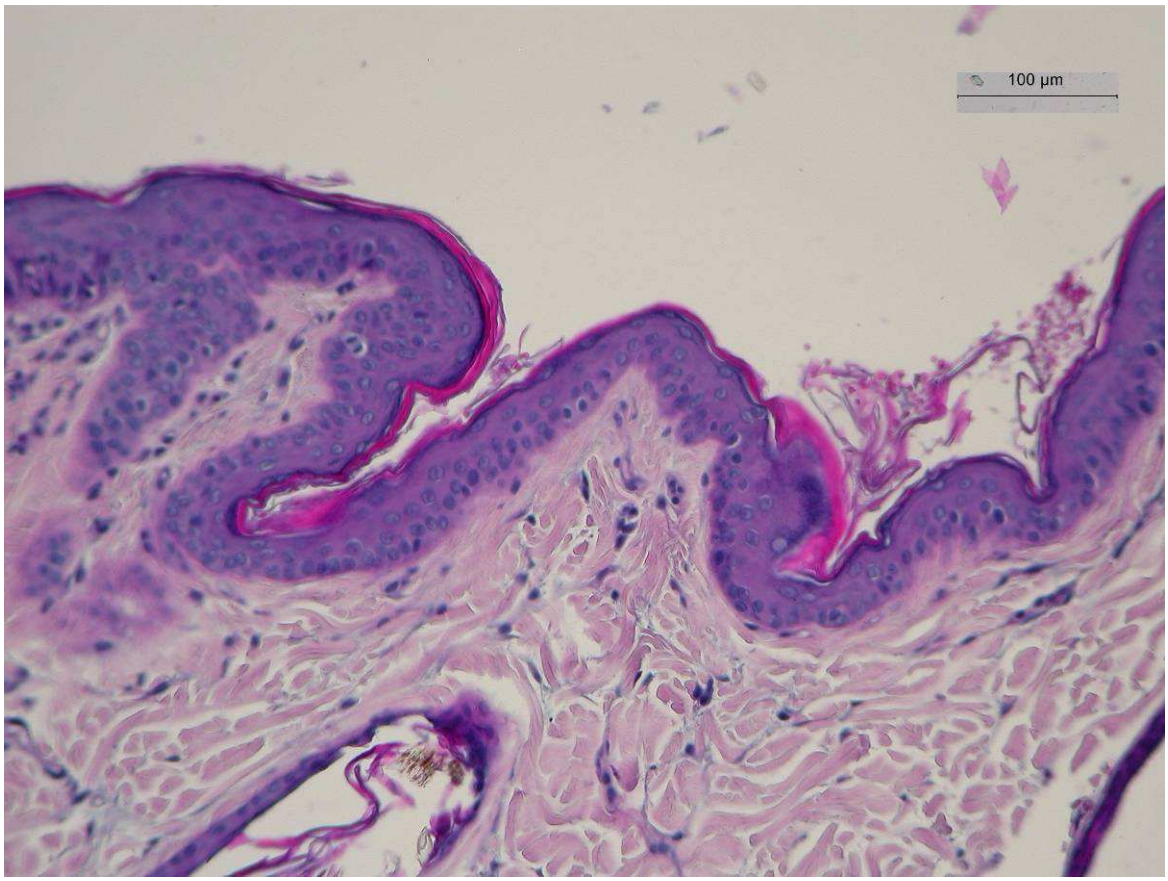
Photographie 3: Peau saine, coloration à l'hémalun-éosine (x200)

Notons que la lame présentée ci-dessus ne provient pas de l'un de nos sujets. En effet, il aurait pu être intéressant de comparer le site témoin de nos animaux avec les sites traités, mais nous avons préféré nous abstenir d'infliger une quatrième biopsie à nos sujets. Cette image provient d'une biopsie de peau saine d'un chien de race Beagle de même sexe, de même âge et issu du même groupe que nos sujets.

(2) Biopsies en sites traités

L'observation de l'ensemble des lames obtenues à partir de nos 6 sujets révèle une absence de différence notable entre les sites 1, 2 et 3. En effet, quelque soit le shampooing utilisé (DOUXO-CHLORHEXIDINE® ou PAXCUTOL®), et indépendamment de la pulvérisation ou non d'HUMIDERM®, on observe une légère altération de l'épiderme. La **couche cornée présente un aspect plus compacte** par endroit et une **légère acanthose** est observée sur l'ensemble des lames ; de plus, des **foyers de bourgeonnement épidermique**, associés à des **crêtes épidermiques**, sont observés (photographies 4 et 5).

Une légère inflammation (mastocytes, lymphocytes), le plus souvent périvasculaire, peut être observée, mais de manière inconstante (observation confirmée par le marquage à l'aide de l'anticorps Bla-36).

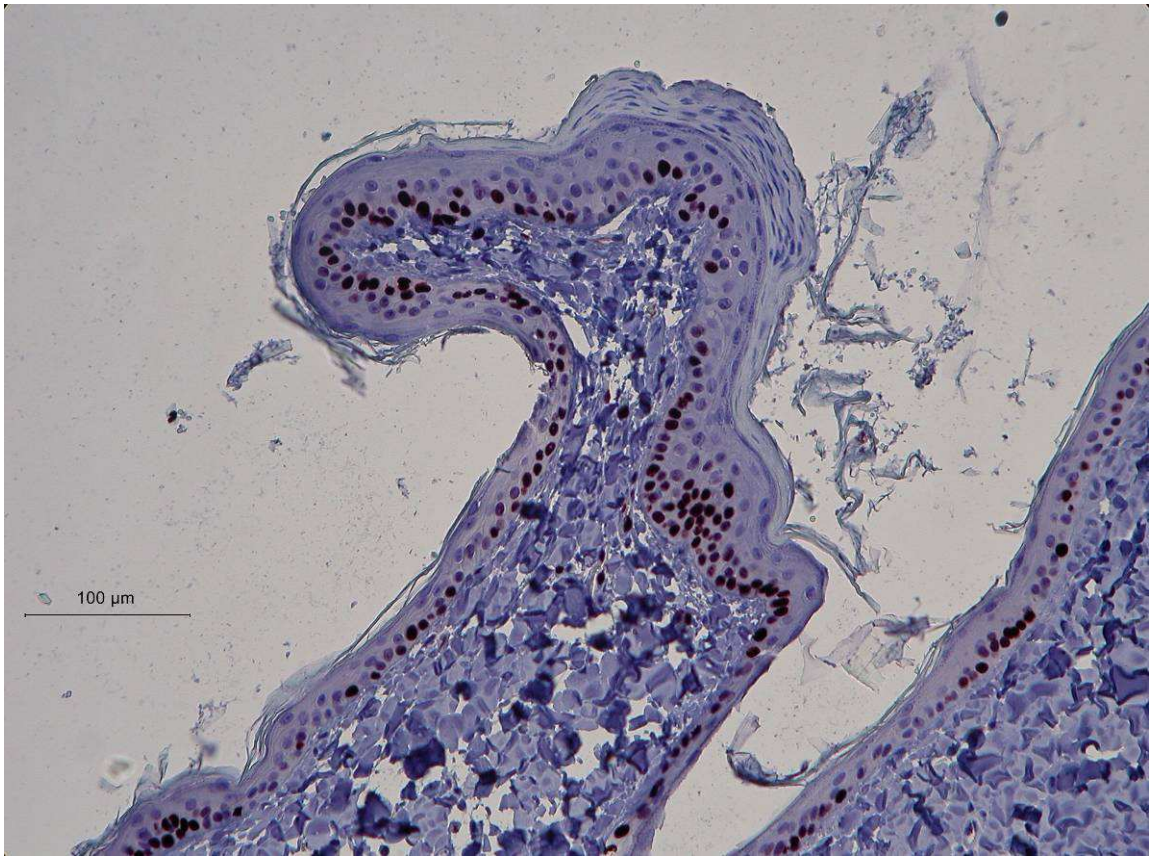


Photographie 4: Site traité à l'aide de Paxcutol®, coloration à l'hémalun-éosine (x20)

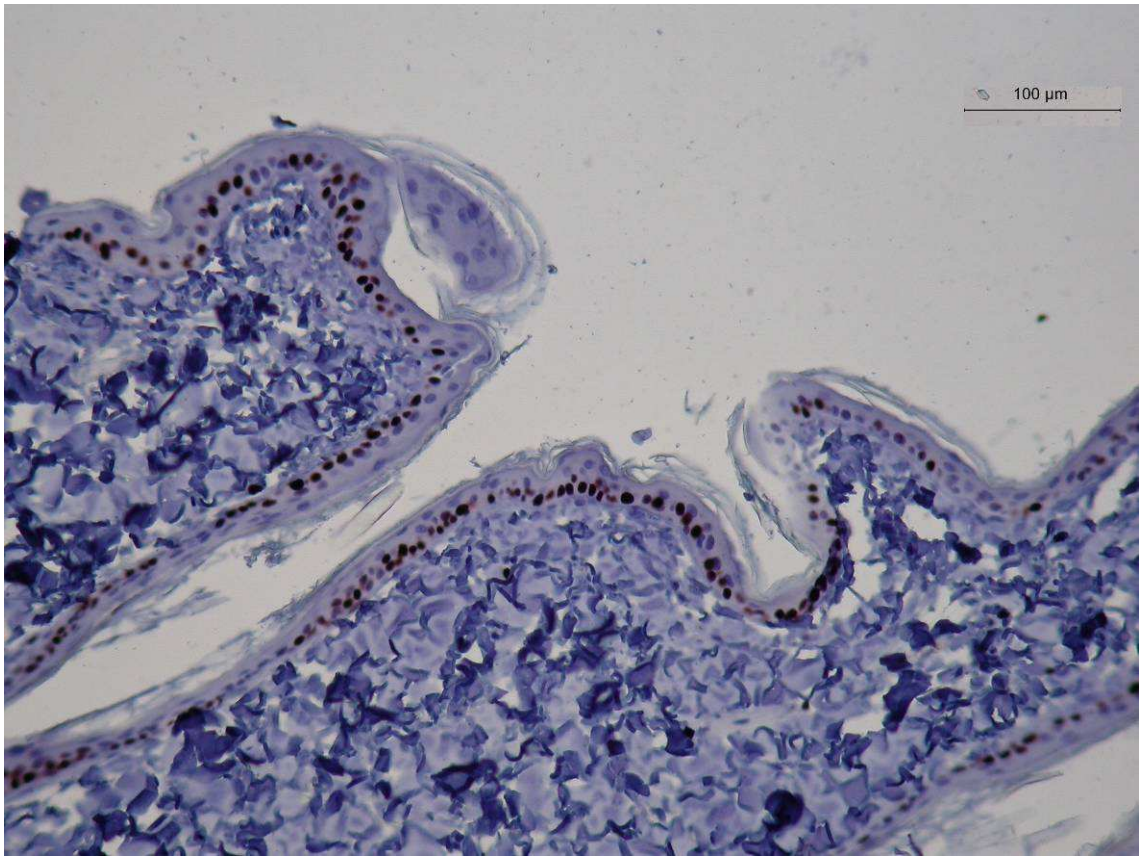
Photographie 5: Site traité à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE® et réhydraté, coloration à l'hémalun-éosine (x20)

b) Marquage à l'aide de l'anticorps anti-Ki-67

L'utilisation de l'immunomarquage au Ki-67 nous a permis d'approfondir les observations faites sur les lames colorées à l'hémalun-éosine. Un taux élevé de noyaux en division est ainsi mis en évidence au sein des kératinocytes (35% à 50% des cellules épidermiques contre moins de 20% en peau saine), sur l'ensemble des sites traités (photographies 6 et 7). Ceci traduit le **caractère prolifératif de l'épiderme**.



Photographie 6: Site traité à l'aide de PAXCUTOL®, marquage du Ki-67 (x20)



Photographie 7: Site traité à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE®, puis réhydraté, marquage du Ki-67 (x20)

La lecture des différentes lames, après marquage du Ki-67 ou colorées à l'hémalun-éosine, nous a permis de mettre en évidence des réactions épidermiques comparables sur les biopsies des différents sites traités (tableau 4). Sont notamment relevés un **taux de division des kératinocytes augmenté** sur l'ensemble des sites, ainsi qu'une **légère acanthose**, plus marquée sur les biopsies réalisées au niveau des sites non réhydratés.

	Acanthose	Bourgeonnement épidermique	Infiltrat inflammatoire	Kératinocytes en division
Sites témoins	**Absente** (2 à 3 couches cellulaires)	**Absent**	**Absent**	**< 20%**
Sites traités à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE®	**1** (4 à 6 couches cellulaires)	**0/1** (inconstant)	**0/1** (léger infiltrat péri-vasculaire et diffus)	**40%**
Sites traités à l'aide de PAXCUTOL®	**1** (4 à 6 couches cellulaires)	**0/1** (inconstant)	**0/1** (léger infiltrat péri-vasculaire et diffus)	**40 - 45%**
Sites traités à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE® puis réhydratés	**0/1** (légère et inconstante)	**0/1** (inconstant)	**0/1** (léger infiltrat péri-vasculaire et diffus)	**35 - 40%**
Sites traités à l'aide de PAXCUTOL® puis réhydratés	**0/1** (légère et inconstante)	**0/1** (inconstant)	**0/1** (léger infiltrat péri-vasculaire et diffus)	**30 - 35%**

Tableau 4: Résultats de l'étude histopathologique

D. Discussion

1. Sur l'étude dans sa globalité

Les affections cutanées d'origine infectieuse sont fréquentes dans l'espèce canine. Elles représentent un nombre considérable de consultations effectuées quotidiennement par les vétérinaires praticiens. Par ailleurs, le recours à des traitements topiques, et à des shampooings notamment, est devenu courant en dermatologie vétérinaire.

L'intérêt de cette étude réside dans le fait qu'elle permet de tester l'influence, sur la barrière cutanée, de traitements que le vétérinaire praticien est amené à prescrire au quotidien. La nécessité d'utiliser un réhydratant après traitement à l'aide de shampooings était certes présumée, mais les conséquences de l'application de shampooings anti-infectieux sur la barrière cutanée n'avaient pas été étudiées dans l'espèce canine.

2. Sur le protocole expérimental et les résultats obtenus

a) Choix des shampooings testés

Nous avons, dans cette étude, choisi de tester l'effet de l'application de DOUXO-CHLORHEXIDINE® et de PAXCUTOL® sur l'efficacité de la barrière cutanée. Comme nous l'avons vu dans l'étude bibliographique, il s'agit de deux shampooings anti-infectieux partageant une indication commune, le traitement des pyodermites superficielles et profondes. Leurs principes actifs respectifs sont la chlorhexidine et le péroxyde de benzoyle, dont le mode d'action a été détaillé dans la première partie. Nous avons choisi des produits utilisés de manière courante par les vétérinaires praticiens.

Il pourrait être intéressant de tester d'autres shampooings anti-infectieux, de compositions différentes (polyvidone iodée ou lactate d'éthyle, par exemple) ou d'indications différentes (antiparasitaires ou antifongiques, par exemple).

b) Détermination des sites d'étude

Le choix des flancs droits et gauches pour établir nos sites d'étude s'est imposé à pour plusieurs raison.

D'abord, la région ventrale a été exclue par manque de place et de confort de manipulation. Réaliser les différentes mesures et les différents traitements prend, en effet, du temps et il n'était pas envisageable de maintenir nos sujets sur le dos, aussi patients étaient-ils. De plus, il s'agit d'une zone particulièrement soumise aux léchages et aux irritations.

Etablir 4 zones d'étude en zone dorsale n'était, de la même manière, pas réalisable par manque de place.

Le choix des flancs a ainsi permis de réaliser notre étude en utilisant une unique région anatomique pour établir nos 4 sites, limitant ainsi les erreurs statistiques. La manipulation des sujets et la réalisation des mesures étaient par ailleurs facilitées, malgré la présence des côtes qui engendrent une gêne légère dans le positionnement de la sonde (du VapoMeter® essentiellement).

c) Choix de la perte insensible en eau comme paramètre d'évaluation de l'efficacité de la barrière cutanée

Comme il a été précisé dans l'étude bibliographique, la perte insensible en eau est considérée comme la méthode non invasive la plus fiable pour évaluer la perméabilité de la barrière cutanée [DARLENSKI, 2009]. Le recours à ce paramètre pour mettre en évidence l'effet de nos deux shampooings anti-infectieux sur la barrière cutanée s'est donc logiquement imposé.

Cependant, la mesure de la perte insensible en eau à l'aide du VapoMeter® est soumise à de nombreux facteurs de variation, que nous avons tentés de contrôler au maximum.

(1) Facteurs liés aux sujets

Les six sujets sélectionnés pour participer à notre étude étaient du même âge, de la même race et du même sexe. En effet, les différentes études menées chez l'homme sont en désaccord quant à l'influence du sexe et de l'âge du patient sur la perte insensible en eau

[MARRAKCHI, 2007 ; FIROOZ, 2012]. Par ailleurs, aucune étude n'a démontré de façon certaine l'influence de ces deux paramètres dans l'espèce canine, même si elle semble limitée [WATSON, 2002 ; YOSHIHARA, 2007]. Nous avons, donc décidé, de nous affranchir de leur influence potentielle sur la PIE chez nos différents sujets.

De même, nos sujets bénéficiaient d'un même régime alimentaire, ce qui nous a permis d'éviter les variations potentielles de PIE liées à leur alimentation [WATSON, 2006].

Au-delà des notions d'espace et de praticité de manipulation, le choix des sites d'étude a été conditionné par la nécessité de limiter les variations de perte insensible en eau liées à la région anatomique. En effet, une influence significative du site concerné par les mesures de la PIE a été démontrée dans l'espèce canine [YOSHIHARA, 2007 ; OH, 2009a]. L'utilisation des flancs et, donc, la possibilité d'avoir quatre sites d'étude proches d'un point de vue structurel, nous a permis de limiter ces variations.

La tonte des différents sites peut également influencer les mesures de perte insensible en eau. En effet, il semble que l'angle d'application de la lame sur la peau des sujets puisse faire varier les valeurs de PIE [OH, 2009b]. Toutefois, notons qu'une unique tonte, 24 heures avant le début de l'étude, a été suffisante pour réaliser la totalité de nos mesures dans de bonnes conditions, et qu'**elle n'a été à l'origine d'aucune augmentation de la PIE**.

Enfin, la séparation des sujets en 2 lots a permis d'éviter tout contact entre les animaux traités à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE® et ceux traités à l'aide de PAXCUTOL®. Il aurait pu être utile de pouvoir placer nos sujets en box individuels afin d'éviter les risques de léchage ou d'irritations des sites, qui peuvent influencer les mesures de perte insensible en eau [GABARD, 2000]. Cependant, nous passions près de six heures par jours avec les sujets, et nous ne les avons jamais vus en train de se lécher, ou de lécher un congénère, et **aucune excoriation n'a été constatée**.

(2) Facteurs liés au mode opératoire

Notre étude a été menée dans une pièce dont les facteurs d'ambiance étaient contrôlés. La température était ainsi comprise entre 20°C et 25°C et l'humidité relative entre 30% et 50%. De plus, l'appareil utilisé pour la mesure de la perte insensible en eau était un VapoMeter®, appareil à chambre fermée. Ceci présente l'avantage de réduire au maximum l'influence des facteurs d'ambiance et des mouvements d'air extérieurs [NUUTINEN, 2003], qui pourraient altérer la mesure de la PIE [GABARD, 2000].

Nos sujets, bien qu'habitués à être manipulés et donc relativement calmes, étaient vigiles durant la totalité de l'étude. Or, il a été démontré que les variations entre les valeurs de perte insensible en eau mesurées étaient moindres chez des chiens entraînés à se tenir immobiles que chez des animaux non éduqués [WATSON, 2002]. Cependant, dans leur étude, Watson et al. utilisaient un appareil à chambre ouverte, plus sensible que notre appareil à chambre fermée aux mouvements d'air [NUUTINEN, 2003]. De plus, les mouvements des sujets restaient rares. **Il est donc peu probable qu'ils aient pu influencer nos valeurs de PIE**, d'autant que nous prenions la précaution de refaire les mesures lorsque nous jugions que nos sujets avaient bougé. D'autre part, l'application du VapoMeter® perpendiculairement à la peau du sujet permet des mesures de PIE plus précises [COHEN, 2009]. Néanmoins, la contention des animaux étaient aisées, et l'accès aux sites d'étude très direct, ce qui nous a permis de contrôler efficacement l'orientation de la sonde et de limiter les variations de mesures liées aux mouvements des sujets. Notons, de plus, que recourir à une anesthésie pour effectuer nos mesures n'était pas envisageable du fait, d'une part, de la durée de l'étude, et, d'autre part, des variations significatives des valeurs de PIE observées lors de l'anesthésie de chiens de race Beagle à la xylazine et à la kétamine [OH, 2009a].

L'utilisation du VapoMeter® présente un certain nombre d'avantages, comme nous l'avons vu. Cependant, la sonde qu'il contient s'étalonne automatiquement en 2 minutes, indépendamment du fait que le microclimat dans la chambre de mesure corresponde ou non au milieu extérieur [COHEN, 2009]. Il n'est donc pas impossible qu'après une mesure le microclimat dans la chambre de mesure soit plus chargé en humidité que le milieu extérieur, faussant ainsi la prochaine valeur de PIE mesurée. **Cependant, si une mesure aberrante était obtenue, la mesure était répétée**.

d) Interprétation des résultats obtenus

(1) Influence des shampooings testés sur nos paramètres cutanés

Les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence une altération de la barrière cutanée due à l'application biquotidienne de DOUXO-CHLORHEXIDINE® ou de PAXCUTOL®. Les deux shampooings testés sont en effet à l'origine d'une augmentation

significative de la perte insensible en eau dans des proportions qui semblent comparables (figures 14 et 15). Cependant, aucune étude statistique n'a été effectuée pour mettre en évidence une différence d'influence, sur la PIE, d'un shampooing par rapport l'autre. Ces résultats concordent avec ce qui a pu être observé chez l'homme. L'effet de l'application de péroxyde de benzoyle sur la peau, mis en évidence notamment par une augmentation de la perte insensible en eau, a ainsi été étudié [WEBER, 2003 ; WALLER, 2006], tandis que ce même phénomène a été observé suite à l'application de chlorhexidine dans le cadre d'une étude en néonatalogie [VISSCHER, 2009]. De plus, l'augmentation de la PIE suite à l'application de PAXCUTOL® va dans le sens d'une étude menée en 1994 chez le chien et ayant mis en évidence cet effet du péroxyde de benzoyle [CAMPBELL, 1994].

Par ailleurs, notre étude a mis en évidence une légère acidification du pH cutané suite à l'utilisation de PAXCUTOL®, tandis que l'application de DOUXO-CHLORHEXIDINE® n'a pas d'influence significative sur ce paramètre. Une partie de l'activité antibactérienne du péroxyde de benzoyle s'explique en effet par sa capacité à diminuer le pH cutané [HALLIWELL, 1991]. Notons cependant que bien que diminué, le pH obtenu après application du PAXCUTOL® reste comparable à celui obtenu après utilisation du DOUXO-CHLORHEXIDINE® (figures 22 et 23).

Enfin, la notice d'utilisation du DOUXO-CHLORHEXIDINE® prévoit trois applications par semaine, chacune réitérable immédiatement. Notre protocole comprend une application plus fréquente de ce shampooing. Cependant, l'utilisation quotidienne de shampooing anti-infectieux, en complément ou non d'une antibiothérapie systémique, peut être conseillée lors de pyodermites superficielles et, surtout, profondes [CARLOTTI, 2003]. Cette utilisation est, par ailleurs, conseillée lors de traitement à l'aide de PAXCUTOL®.

(2) Influence de l'application d'HUMIDERM® sur nos paramètres cutanés

Nous avons mis en évidence l'importance de l'application d'HUMIDERM® après utilisation de DOUXO-CHLORHEXIDINE® ou de PAXCUTOL®. De plus, notre étude a montré que la pulvérisation de ce réhydratant sur peau saine était à l'origine d'une augmentation significative de la perte insensible en eau chez nos sujets. Chez l'homme, l'effet de l'application fréquente de réhydratant en peau saine sur la PIE à été étudié sur le long terme. Il dépend de la composition du réhydratant utilisé [BURACZEWSKA, 2007]. Ainsi, il

a été observé que les réhydratants à base d'urée tendent à diminuer la PIE [LODEN, 1996], tandis que ceux à base de glycérol ont moins d'impact [LODEN, 2001a ; LODEN, 2001b]. L'HUMIDERM®, utilisé dans notre étude, contient du propylène glycol, de l'urée, de l'acide lactique et du glycérol, mais nous n'avons malheureusement pas eu accès à leur proportion respective. Cependant, nous avons vu, dans la partie bibliographique, que certains hydratants peuvent augmenter la PIE. Or, l'HUMIDERM® ne contient que des agents hydratants, si ce n'est le propylène glycol, qui a également une action occlusive. Ceci peut peut-être en partie expliquer l'augmentation de la PIE observée.

Enfin, nous avons observé une acidification du pH cutané après application d'HUMIDERM®. Nous avons alors décidé, en cours d'étude, de vérifier si cette action acidifiante se retrouvait après pulvérisation d'un autre réhydratant, l'ERMIDRA®. Les mesures de pH réalisées après application de ce second réhydratant sont comprises entre 6,97 et 7,5, avec une moyenne à 7,17. Nous ne retrouvons pas l'effet acidifiant sur le pH cutané observé après application d'HUMIDERM®. En terme de composition, les deux réhydratants ont en commun le propylène glycol et le glycérol, tandis que l'ERMIDRA® ne contient ni urée ni acide lactique. Chez l'homme, l'application sur peau saine de produits acides peut être à l'origine d'une diminution du pH cutané [KORTING, 1991]. Le pH de l'HUMIDERM® pourrait donc être à l'origine de l'acidification cutanée observée, mais nous n'y avons pas eu accès. Notons que le pH des réhydratants est généralement compris entre 4 et 7 [BURACZEWSKA, 2008]. Quoiqu'il en soit, cette observation confère à l'HUMIDERM® un pouvoir anti-infectieux intéressant. En effet, il a été démontré qu'un pH acide permet une résistance accrue aux bactéries [CHIKAKANE, 1995 ; SCHMID, 1995]. De plus, cette acidité du pH joue un rôle non négligeable dans la fonction de barrière cutanée [FLUHR, 2002].

(3) Etude histopathologique

Comme nous l'avons vu, notre témoin de coupe de peau saine à été obtenu à partir d'un chien de race Beagle du même âge, du même sexe, appartenant au même groupe que nos sujets, et prélevé sur le même site (flanc droit). Nous avions envisagé de prélever chaque site de chaque sujet avant le début de l'étude, mais y avons renoncé. En effet, les biopsies auraient compliqué l'application des différents traitements et la réalisation des mesures.

Les lames correspondant aux différents sites traités présentent un aspect comparable en termes de bourgeonnement épidermique, d'acanthose et d'inflammation. Ces

remaniements sont de faibles intensités, sans différence notable entre les sites traités uniquement à l'aide de shampooing et les sites shampooinés et réhydratés. Seul le taux de division cellulaire est augmenté de manière conséquente (entre 30% et 50% contre moins de 20% en peau non traitée). Nous ne mettons pas en évidence une influence plus marquée de l'un ou de l'autre des deux shampooings sur l'épiderme. Cependant, ce phénomène est observé sur l'ensemble des lames. La pulvérisation biquotidienne d'HUMIDERM®, seul, sur la peau saine a également un impact sur l'épiderme, entraînant des altérations comparables à celles observées suite à l'application de DOUXO-CHLORHEXIDINE® et de PAXCUTOL®.

CONCLUSION

Les affections cutanées sont fréquentes dans l'espèce canine. Les produits topiques sont à la base de tout traitement en dermatologie vétérinaire. . Parmi ceux-ci, figurent les shampooings anti-infectieux que sont le DOUXO-CHLORHEXIDINE® et le PAXCUTOL®, utilisés lors de pyodermites superficielles ou profondes notamment. Si leur action antibactérienne ne fait aucun doute, leur impact sur l'efficacité de la barrière cutanée dans l'espèce canine n'avait jamais été évalué. Après une semaine de traitement biquotidien à l'aide de chacun des deux shampooings sélectionnés pour cette étude, une altération de la barrière cutanée a été mise en évidence et quantifiée par la mesure de la perte insensible en eau. Par ailleurs, l'application d'un réhydratant cutané, l'HUMIDERM®, après réalisation des shampooings à l'aide de DOUXO-CHLORHEXIDINE® ou de PAXCUTOL®, permet d'empêcher l'augmentation de la perte insensible en eau. Il apparaît, de plus, que le réhydratant testé, l'HUMIDERM®, a une action acidifiante du pH cutané, intéressante pour la protection vis-à-vis des agents infectieux et pour la restauration de la barrière cutanée. L'étude histopathologique ne révèle qu'une altération légère de l'épiderme, objectivée essentiellement par une acanthose et un taux de division des kératinocytes basaux augmenté, d'intensité comparable sur les sites traités à l'aide de l'un ou de l'autre des shampooings ainsi qu'après application de l'HUMIDERM® seul.

Les shampooings testés dans cette étude, qu'il s'agisse du DOUXO-CHLORHEXIDINE® ou du PAXCUTOL®, affectent de manière significative la barrière cutanée. L'usage de l'HUMIDERM® pour lutter contre cet effet indésirable est efficace et conseillée, d'autant plus dans le cadre d'un traitement anti-infectieux.
Il pourrait être intéressant d'évaluer, selon le même protocole, l'impact d'autres shampooings ou topiques et d'étendre l'étude à d'autres espèces animales.

Thèse de M Xavier BARTOLI

Le Professeur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire

D. Din.

Le Président de la thèse

Dr NICOLAS

Le Directeur général
VetAgro Sup

Par délégation
Pr F. Grain - DEVE
VetAgro Sup
Campus Vétérinaire

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le 21 NOV. 2012

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F.N GILLY

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON I

Annexes

Annexe 1 : Tableaux des valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez chacun des six sujets

	PIE (en $g.h^{-1}.m^{-2}$)									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	2,67	7,43	11,63	9,9	9,37	9	7,7	13,93	16	14,5
Site 2	4,7	7,87	7,97	4,47	4,83	4,5	7,97	8,9	5,13	9,53
Site 3	4,17	6,23	9,07	7,9	3,87	6,67	5,7	9,17	5,83	7,4
Site 4	2,9	3,83	4,23	2	3,17	2,47	1,47	1,8	2,07	2,97
	pH									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	8,3	7,86	7,92	7,42	7,94	7,66	7,46	7,38	7,31	7,17
Site 2	8,6	4,45	6,23	4,76	5,68	4,39	6,08	5,52	5,36	4,77
Site 3	8,17	4,7	5,74	4,9	6,9	4,14	5,25	5,45	4,91	4,56
Site 4	8,23	7,47	8,01	8,21	7,63	7,61	7,23	7,75	7,63	7,5

Valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez le sujet A

	PIE (en $g.h^{-1}.m^{-2}$)									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	2,5	6,1	1,43	4,33	6,27	10,27	8,53	7,2	9,67	8,83
Site 2	1,77	1,27	1,27	2,83	1,17	1,57	4,47	2,8	3,93	5,45
Site 3	4,83	6,43	8,1	5,37	2,97	5,07	4,03	8,07	4,03	5,37
Site 4	3,5	1,4	3,67	2,13	1,27	1,57	1,57	2,1	2,5	2,77
	pH									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	8,79	7,36	7,2	6,96	6,94	7,95	7,04	6,9	6,98	6,84
Site 2	8,74	4,31	5,73	4,27	5,36	4,05	5,74	4,48	5,23	4,94
Site 3	8,67	5,33	6,03	4,33	5,87	4,62	5,78	4,42	5,07	4,6
Site 4	8,66	8,05	7,55	8,05	7,92	8,61	6,78	7,41	7,25	7,42

Valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez le sujet B

	PIE (en $g.h^{-1}.m^{-2}$)									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	2,57	14,73	6,1	14,07	7,43	11,77	4,7	8,1	5,03	6,97
Site 2	4,13	3,83	4,73	6,33	4,17	5,23	4,63	4,5	5,93	4,33
Site 3	3,47	6,27	2,53	3,83	3,47	4,3	5,53	4,13	8,9	3,2
Site 4	1,73	1,87	3,87	2,87	1,9	1,73	3,23	2,2	2,3	1,4
	pH									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	7,29	7,16	6,48	7,54	6,84	7,28	6,91	6,37	6,41	6,13
Site 2	7,39	4,91	5,42	4,47	6,4	4,32	5,58	4,86	4,24	4,78
Site 3	7,44	4,79	4,5	4,7	5,05	4,01	4,36	4,27	4,78	5,3
Site 4	7,1	7,23	7,05	7,5	5,96	6,28	5,88	6,79	6,22	6,45

Valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez le sujet C

	PIE (en $g.h^{-1}.m^{-2}$)									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	3,13	4,33	2,43	7,77	6,03	11	7,03	8,17	10,8	7,4
Site 2	3,67	1,98	3,5	5,1	7,13	6,5	6,87	4,37	4,67	5,57
Site 3	2,77	8,1	12,87	6	4,7	9,67	4,07	5,67	7,07	4,3
Site 4	4,9	1,6	1,37	2,6	2,4	1,77	3,23	2	2,23	2,93
	pH									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	8,79	7,74	7,76	7,57	7,87	6,97	7,38	7,42	7,23	7,12
Site 2	8,8	4,34	5,29	4,6	4,54	4,61	5,38	4,16	4,72	4,08
Site 3	8,77	5,19	5,46	4,38	7,69	4,38	6,44	5,97	4,87	4,89
Site 4	8,76	8,54	8,77	8,55	8,63	7,79	8,44	8,16	8,54	8,23

Valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez le sujet D

	PIE (en $g.h^{-1}.m^{-2}$)									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	2,32	3,63	5,33	4,33	8,9	6,23	6,13	7,57	6,83	7,03
Site 2	3,9	1,7	1,5	1,87	1,97	4,07	4,6	3,47	5,23	3,9
Site 3	3,4	4,9	5,97	12,8	12,67	4,97	9,67	5,53	3,8	3,7
Site 4	1,5	1	1,4	0,97	1,13	1,33	1,63	1,37	1,53	1,37
	pH									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	8,26	7,87	7,39	7,55	7,76	7,36	7,67	7,46	7,71	7,64
Site 2	8,71	4,56	5,64	4,4	5,36	4,26	5,73	4,28	4,8	4,94
Site 3	8,71	5,52	6,14	4,87	6,39	4,85	5,38	4,61	5,43	5,34
Site 4	8,44	8,8	7,69	8,22	8,09	8,55	6,98	8,42	7,49	8,03

Valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez le sujet E

	PIE (en $g.h^{-1}.m^{-2}$)									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	3,27	9,87	14,87	9,37	11,33	10,03	8,3	11,03	13,67	8,47
Site 2	4,03	3,77	6,27	3,93	5,17	4,57	4,87	3,27	4,97	3,47
Site 3	3,97	6,87	5,13	9,07	9,03	9,47	8,23	4,7	5,23	5,47
Site 4	4,23	5,87	6,67	4,33	3,93	3,13	1,73	1,4	2,57	1,67
	pH									
	T0	**12h**	**24h**	**36h**	**48h**	**60h**	**72h**	**84h**	**96h**	**108h**
Site 1	7,3	7,38	7,69	7,05	7,51	7,42	7,26	7,03	7,21	6,99
Site 2	8,29	4,46	5,5	4,86	5,38	4,02	6,36	5,39	5,03	4,63
Site 3	8,3	4,67	6,3	4,32	5,14	4,24	5,57	5,13	5,31	4,48
Site 4	7,38	7,58	7,9	8,12	7,93	8,01	7,41	7,25	7	8,27

Valeurs de la perte insensible en eau et du pH chez le sujet F

Annexe 2 : Compléments concernant la structure de la peau

➢ Structure et fonctions du derme

Le derme, tissu conjonctif fibro-élastique issu du mésoderme, est situé sous l'épiderme, dont il est solidaire. Cette cohésion est permise par la jonction dermo-épidermique [SCOTT, 2001a]. Le derme participe activement à la croissance des cellules de l'épiderme, mais également à leur prolifération, leur différenciation, leur migration et leur adhésion. Le derme est composé d'éléments cellulaires, de fibres et d'une matrice non fibreuse, auxquels doivent être ajoutés des nerfs, des vaisseaux sanguins, et des structures annexielles. Son épaisseur est de 0,8 à 2,5 mm.

Parmi les éléments cellulaires, les **fibroblastes** synthétisent la plupart des constituants de la matrice extracellulaire et, en même temps, participent à sa dégradation en produisant des protéases [SCOTT, 2001a]. Des cellules dendritiques, présentatrices d'antigènes, sont présentes, à proximité des vaisseaux sanguins présents au sein du derme, ainsi des **histiocytes**. Enfin, les mastocytes, acteurs de l'inflammation et de phénomènes d'hypersensibilité sont présents autour des vaisseaux superficiels du derme. Ils contiennent de nombreux médiateurs de l'inflammation (histamine et sérotonine entre autres). Ces trois types cellulaires sont originaires de la moelle osseuse [LLOYD, 2003].

Les fibres du derme, élaborées par les fibroblastes, sont les **fibres de collagène** et les **fibres élastiques**. Les premières représentent 80% de la matrice extracellulaire et la quasi-totalité des fibres retrouvées au sein du derme [SCOTT, 2001a]. Elles sont particulièrement résistantes. Les fibres élastiques, moins représentées, sont responsables de l'élasticité et de la souplesse de la peau. Elles sont particulièrement présentes autour des follicules pileux.

La matrice extracellulaire est un gel synthétisé par les fibroblastes et constitué de glycosaminoglycanes et de protéoglycanes. Elle comble les espaces qui existent entre les constituants du derme, tout en laissant passer les électrolytes, cellules et nutriments du derme vers l'épiderme. Les fonctions de cette matrice sont multiples. Elle permet, d'une part, de dissiper les forces de compression auxquelles est soumise la peau. D'autre part, elle contribue à l'hydratation de la peau. La charge négative des protéoglycanes qui la composent leur permet en effet de retenir une quantité d'eau importante [SCOTT, 2001a]. Les protéoglycanes sont également impliqués dans la synthèse, l'orientation et la différenciation des fibres de collagène.

- **Les structures annexielles**

Elles sont de 3 types. Il s'agit des **follicules pileux**, des **glandes sébacées** et des **glandes sudoripares**.

Les follicules pileux sont des structures d'origine mixte, épidermique et dermique, formant les poils. Chaque follicule est associé à une glande sébacée, une glande sudoripare apocrine et un muscle érecteur. Les follicules pileux comprennent 3 parties, à savoir l'infundibulum, qui s'étend de l'ostiole folliculaire à l'abouchement du canal de la glande sébacée, l'isthme, qui s'étend de l'abouchement du canal de la glande sébacée à l'insertion du muscle érecteur, et le bulbe pileux, présent uniquement en phase de croissance du poil, et qui fait suite à l'isthme pour se terminer à la papille dermique.

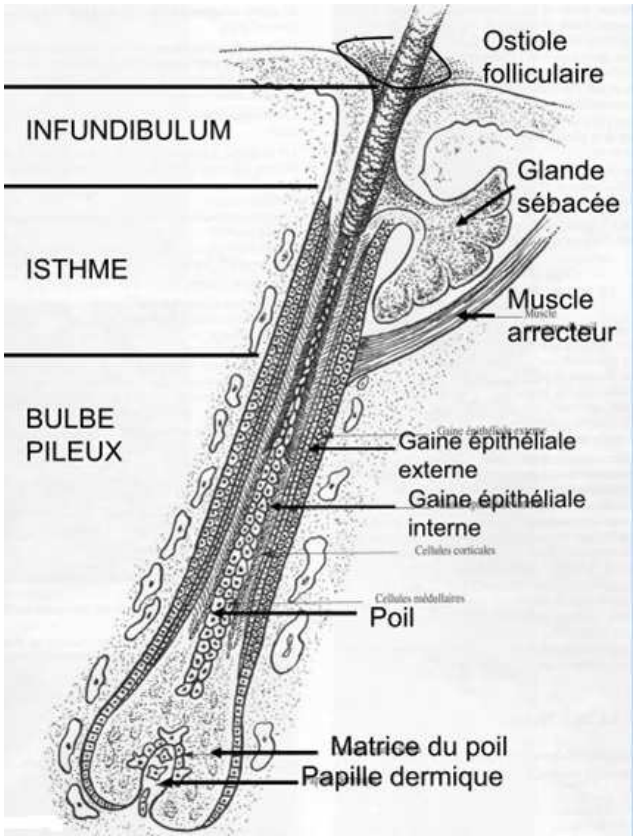


Figure 48: structure schématique d'un follicule pileux

Chez nos carnivores domestiques, les follicules pileux sont composés. Par un même ostiole folliculaire sortent un poil primaire, de gros diamètre, et plusieurs poils secondaires, plus fins. La croissance des poils est régie par des facteurs exogènes (photopériode, nutrition, état général, température) et endogènes (cytokines, hormones, molécules d'adhésion). Nous

distinguons 3 phases composant le cycle pilaire : la phase anagène, qui est la phase principale de croissance du poil, la phase télogène, durant laquelle le poil est au repos, et la phase catagène, qui sert de transition entre les deux phases précitées [LLOYD, 2003].

Comme nous l'avons vu, **les glandes sébacées** sont associées aux follicules pileux. Elles sont présentes en quantité variable en fonction de la localisation anatomique. Les coussinets et la truffe en sont, par exemple, dépourvus, alors que les jonctions cutanéo-muqueuses, le train arrière, les espaces inter-digités, le menton, le cou et la queue en possèdent de nombreuses [LLOYD, 2003]. Les glandes sébacées sont des glandes exocrines holocrines qui sécrètent le sébum. Celui-ci est déversé dans la lumière du follicule pileux via le canal sébacé. Il présente, en association avec la sueur, une action antimicrobienne. Par ailleurs, il limite la perte insensible en eau [SCOTT, 2001a]. Enfin, notons qu'il existe des glandes sébacées spécialisées, des certaines impliquées dans la sécrétion de phéromones.

Les glandes sudoripares sont de deux types. Les glandes **sudoripares apocrines** (ou épitrichiales) qui sont, comme nous l'avons vu, associées aux follicules pileux, et les **glandes sudoripares eccrines** (ou atrichiales, présentes uniquement au niveau des coussinets). Les premières s'abouchent dans le follicule pileux, au niveau de l'infundibulum, tandis que les secondes s'abouchent directement à la surface de la peau. Le rôle de la sueur qu'elles sécrètent est d'abord un rôle de protection de la peau vis-à-vis des frottements, mais également vis-à-vis des agents infectieux. Elle contient en effet des immunoglobulines et des cytokines [SCOTT, 2001a]. Notons que chez nos carnivores domestiques, la sueur n'intervient que de façon limitée dans les phénomènes de thermorégulation.

- **Structure et fonction de l'hypoderme**

L'hypoderme est principalement composé de lobules adipeux, entourés d'un réseau lâche de fibres conjonctives et élastiques. Il sert de support au derme. Il joue un rôle principal dans la protection mécanique des tissus sous-jacents et est impliqué dans les phénomènes d'isolation thermique de l'organisme.

BIBLIOGRAPHIE

1. AL-AMOUDI A., DUBOCHET J., NORLEN L. Nanostructure of the epidermal extracellular space as observed by cryo-electron microscopy of vitreous sections of human skin. J Invest Dermatol 2005;124:764-777.
2. BOND R. et al. Comparison of two shampoos for treatment of *Malassezia pachydermatis*-associated seborrheic dermatitis in basset hounds. J. Small Anim Pract. 1995;36:99-104.
3. BROOK I. Microbiology of secondarily infected diaper dermatitis. Int J Dermatol 1992;31(10):700-702.
4. BURACZEWSKA I., BERNE B., LINDBERG M., TÖRMÄ H., LODEN M. Changes in skin barrier function following long-time treatment with moisturizers, a randomized controlled trial. Br J Dermatol 2007;156(3):492-498.
5. BURACZEWSKA I. Skin barrier responses to moisturizers. University dissertation from Upssala:Acta Universitatis Upsaliensis 2008.
6. CAMPBELL K.J. et al. (1994) Effects of four antiseborrheic shampoos on transepidermal water losses, hydratation of the *stratum corneum*, skin surface lipid concentration, skin surface pH and corneocyte count in dogs. In:Proceedings of the tenth annual meeting of the American Academy of Veterinary Dermatology and American College of Veterinary Dermatology,Charleston,85.
7. CANDI E., SCHMIDT R., MELINO G. The cornified envelope:a model of cell death in the skin. Nat Rev Mol Cell Biol 2005;6:328-340.
8. CARLOTTI D.N. The art of shampoos in veterinary dermatology: treatment and prevention strategies. Symposium on skin biology and innovations in dermatology, Juan les Pins, 22 mars 2003.
9. CAUSSIN J. et al. Hydrophilic and lipophilic moisturizers have similar penetration profiles but different effects on SC water distribution in vivo. Exp Dermatol 2009;18:954-961.
10. CHAN A., MAURO T. Acidification in the epidermis and the role of secretory phospholipases. Dermatoendocrinol 2011;3(2):84-90.
11. CHIKAKANE K., TAKAHASHI H. Measurement of skin pH and its significance in cutaneous diseases. Clin Dermatol 1995;13(4):299-306.

12. COHEN J.C. et al. Comparison of closed chamber and open chamber evaporimetry. Skin Res Technol 2009;15:51-54.
13. CURTIS C.F. (1998) Use and abuse of topical dermatological therapy in dogs and cats. Part 1- shampoo therapy.In Practice,244-251.
14. DARLENSKI R. et al. Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. Eur J Pharm Biopharm 2009;72:295-303.
15. DE BOER D.J., MORIELLO K.A. Inability of two topical treatments to influence the course of experimentally induced dermatophytosis in cats. J Am Vet Med Assoc. 1995;207:52-57.
16. DE JAHAM C. (2002) Usefulness of an ethyl lactate shampoo in conjunction with systemic antibiotics in the treatment of canine generalized superficial pyoderma:a controlled clinical study. In:Proceedings of the 18th annual congress of the European Society of Veterinary Dermatology and European College of Veterinary Dermatology,Nice,199.
17. DENDA M. Methodology to improve epidermal homeostasis:how to accelerate the barrier recovery? Int J Cosmet Sci 2009;31:79-86
18. DE PAEPE K. et al. Validation of the VapoMeter®,a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. open chamber Tewameter®. Skin Res Technol 2005;11:61-69.
19. DOWNING D.T., STEWART M.E., WERTZ P.W., COLTON S.W., ABRAHAM W., STRAUSS J.S. Skin lipids:an update. J Invest Dermatol 1987 ;88 :2s-6s.
20. EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE S. et al. Expression of epidermal keratins and the cornified envelope protein involucrin is influenced by permeability barrier disruption. J Invest Dermatol 1998;111:517-523.
21. FARWICK M. et al. Salicyloyl-phytosphingosine: a novel agent for the repair of photoaged skin. Int J Cosmet Sci 2007;29(4):319-329.
22. FEINGOLD K.R. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. J Lipid Res 2007;48:2531-2546.
23. FEINGOLD K.R. The outer frontier:the importance of lipid metabolism in the skin. J Lipid Res 2009;50:S417-S422.
24. FLUHR J.W., ELIAS P.M. *Stratum corneum* pH: formation and function of the “acid mantle”. Exog Dermatol 2002;1:163-175.

25. FLUHR J.W. et al. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent in vivo and ex vivo models. Exp Dermatol 2006;15:483-492.
26. FLUHR J.W. et al. Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions. Br J Dermatol 2008;159:23-24.
27. FIROOZ A. et al. Variation of biophysical parameters of the skin with age,gender,and body region. Scientific World Journal 2012;2012:386936.
28. FOSTER A.P., FOIL C.S. (2003) BSAVA Manual of Small Animal Dermatology 2nd Edition. British Small Animal Veterinary Association,Gloucester,300 p.
29. GABARD B. (2000) Mesure de la perte insensible en eau. In: Encyclopédie-Médico-Chirurgicale 50-140-E-10.
30. GABARD B. (2008) Dynamique de l'hydratation cutanée. In: Encyclopédie-Médico-Chirurgicale 50-140-D-10.
31. GRETHER-BECK S. et al. Urea uptake enhances barrier function and antimicrobial defense in humans by regulating epidermal gene expression. J Invest Dermatol 2012;132(6):1561-1572.
32. GUAGUERE E. Topical treatment of canine and feline pyoderma. Vet Dermatol 1996;7:145-151.
33. HACHEM J-P. et al. pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis, and *stratum corneum* integrity/cohesion. J Invest Dermatol 2003;121(2):345-353.
34. HALLIWELL R.E.W. (1991) Rational use of shampoos. In:Journal of Small Animal Practice;32(8):401-407.
35. HARDING C.R. et al. The cornified cell envelope: an important marker of *stratum corneum* maturation in healthy and dry skin. Int J Cosmet Sci 2003;25(4):157-167.
36. HITOMI K. Transglutaminases in skin epidermis. Eur J Dermatol 2005;15:313-319.
37. IMHOF R.E. et al. Closed chamber transepidermal water loss measurement:microclimate,calibration and performance. Int J Cosmet Sci 2009;31:97-118.
38. JENNINGS M.B. et al. Comparison of salicylic acid acid and urea versus ammonium lactate for the treatment of foot xerosis. A randomized, double-blind,clinical study. J Am Podiatr Med Assoc. 1998;88:332-336.
39. KALININ A.E. et al. Epithelial barrier function:assembly and structural features of the cornified cell envelope. BioEssays 2002;24:789-800.

40. KASUMASA M., YOSHIKI M. Tight junctions in the skin. J Dermatol Sci 2003;31:81-89.
41. KIM T.H., CHOI E.H., KANG Y.C., LEE S.H., AHN S.K. The effects of topical alpha-hydroxyacids on the normal skin barrier of hairless mice. Br J Dermatol 2001;144(2):267-273.
42. KINNUNEN T., KOSKELA M. Antibacterial and antifungal properties of propylene glycol,hexylene glycol,and 1,3-butylene glycol in vitro. Acta Derm Venereol 1991;71(2):148-150.
43. KLIGMAN A.M. (1964) The biology of the *stratum corneum*. In:The Epidermis, W. Montagna and W.C. Lobitz.
44. KOCH P.J., FRANKE W.W. Desmosomal cadherins:another growing multigene family of adhesion molecules. Curr Opin Cell Biol 1994;6:682-687.
45. KORTING H.C. et al. Influence of skin cleansing preparation acidity on skin surface properties. Int J Cosmet Sci 1991;13(2):91-102.
46. KORTING H.C. et al. Influence of the pH value on the growth of *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* in continuous culture. Zentralbl Hyg Umweltmed 1992;193(1):78-90.
47. KRAFT J.N., LYNDE C.W. Moisturizers:what they are and a practical approach to product selection. Skin Therapy Lett. 2005;10(5):1-8.
48. LEE S.H. et al. Calcium and potassium are important regulators of barrier homeostasis in murine epidermis. J Clin Invest 1992;89:530-538.
49. LLOYD D.H., REYS-BRION A. Le péroxyde de benzoyle : efficacité clinique et bactériologique dans le traitement des pyodermites chroniques. In: Prat Med Chir Anim Comp. 1984; 19: 445-449.
50. LLOYD D.H., PATEL A.P. (2003) Structure and function of the skin. In:FOSTER A., FOIL C., BSAVA Manual of Small Animal Dermatology. Second Edition. BSAVA,Barcelona,1-10.
51. LODEN M. Urea-containing moisturizers influence barrier properties of normal skin. Arch Dermatol Res 1996;288:103-107.
52. LODEN M. et al. Instrumental and dermatologist evaluation of the effect of glycerine and urea on dry skin in atopic dermatitis. Skin Res Technol 2001;7:209-213.
53. LODEN M., WESSMAN C. The influence of a cream containing 20% glycerine and its vehicle on skin barrier properties. Int J Cos Sci 2001;23:115-119.

54. LODEN M. The skin barrier and use of moisturizers in atopic dermatitis. Clin Dermatol 2003;21:145-157.
55. LODEN M. The clinical benefit of moisturizers. J Eur Acad Dermatol Venereol 2005;19:672-688.
56. LOEFFER A., COBB M.A., BOND R. Comparison of a chlorhexidine and a benzoyl peroxide shampoo as sole treatment in canine superficial pyoderma. Vet Rec 2011;169(10):249.
57. MACHADO M. et al. Assessment of the variation of skin barrier function with anatomic site, age,gender and ethnicity. Int J Cosmet Sci 2010;32:397-409.
58. MADISON K.C. Barrier function of the skin: “la raison d’être” of the epidermis. J Invest Dermatol 2003;121:231-241.
59. MAN M.Q., CHOI E.H., SCHMUTH M. et al. Basis for improved permeability barrier homeostasis induced by PPAR and LXR activators:liposensors stimulate lipid synthesis,lamellar body secretion,and post-secretory lipid processing. J Invest Dermatol 2006;126:386-392.
60. MAO-QIANG M. et al. Exogenous nonphysiologic vs. physiologic lipids. Divergent mechanisms for correction of permeability barrier dysfunction. Arch Dermatol 1995;131(7):809-816.
61. MARKS R. The *stratum corneum* barrier: the final frontier. J Nutr 2004;134:2017-2021.
62. MARRAKCHI S., MAIBACH H.I. Biophysical parameters of skin:map of human face,regional,and age-related differences. Contact Dermatitis. 2007;57(1):28-34.
63. MATOUSEK J.L. et al. Evaluation of the effect of pH on in vitro growth of *Malassezia pachydermatitis*. Can J Vet Res 2003;67(1):56-59.
64. MATSUKI M. et al. Defective *stratum corneum* and early neonatal death in mice lacking the gene for transglutaminase 1 (keratinocyte transglutaminase). Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:1044-1049.
65. MENON G.K. et al. Ionic calcium reservoirs in mammalian epidermis:ultrastructural localization by ion-capture cytochemistry. J Invest Dermatol 1985;84:508-512.
66. MENON G.K., ELIAS P.M. Ultrastructural localization of calcium in psoriatic and normal human epidermis. Arch Dermatol 1991;127:57-63.
67. MENON G.K. et al. Lamellar body secretory response to barrier disruption. J Invest Dermatol 1992;98:279-289.

68. MEYER W., NEURAND K. Comparison of skin pH in domesticated and laboratory mammals. Arch Dermatol Res 1991;283(1):16-18.
69. MORIELLO K.A., DE BOER D.J. Feline dermatophytosis. Recent advances and recommendations for therapy. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1995;25:901-921.
70. NEMES Z., STEINERT P.M. Bricks and mortar of the epidermal barrier. Exp Mol Med 1999;31:5-19.
71. NUUTINEN J. et al. A closed unventilated chamber for the measurement of transepidermal water loss. Skin Res Technol 2003;9:85-89.
72. OH W.S., OH T.H. Mapping of the dog skin based on biophysical measurements. Vet Dermatol 2009;21:367-372.
73. OH W.S., OH T.H. Measurement of transepidermal water loss from clipped and unclipped anatomical sites on the dog. Aust Vet J 2009;87:409-412.
74. OHMAN H., VAHLQUIST A. In vivo studies concerning a pH gradient in human *stratum corneum* and upper epidermis. Acta Derm Venereol 1994;74(5):375-379.
75. OHMORI K. et al. Pilot evaluation of the efficacy of shampoo treatment with ultrapure soft water for canine pruritus. Vet Dermatol 2010;21:477-483.
76. PALMER C.N. et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. Nat Genet 2006;38:441-446.
77. POPA I. et al. Analysis of free and protein-bound ceramids by tape stripping of *stratum cornuem* from dogs. Arch Dermatol Res 2010;302:639-644.
78. PROKSCH E., ELIAS P.M., FEINGOLD K.R. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase activity in murine epidermis. Modulation of enzyme content and activation state by barrier requirements. J Clin Invest 1990;85:874-882.
79. PROKSCH E. et al. Barrier function regulates epidermal DNA synthesis. J Clin Invest 1991;87:1668-1673.
80. PROKSCH E., FEINGOLD K.R., ELIAS P.M. Epidermal HMG CoA reductase activity in essential fatty acid deficiency:barrier requirements rather than eicosanoid generation regulate cholesterol synthesis. J Invest Dermatol 1992;99:216-220.
81. PROKSCH E. et al. The skin an indispensable barrier. Exp Dermatol 2008;17:1063-1072.

82. RAWLINGS A.V., MATTS P.J. *Stratum corneum* moisturization at the molecular level: an update in relation to dry skin cycle. J Invest Dermatol 2005;124:1099-1110.
83. RAWLINGS A.V. et al. Skin biology,xerosis, barrier repair and measurement. Drug Discov Today:Disease Mechanisms,Vol. 5,Num. 2,2008.
84. RUEDISUELI F.L., EASTWOOD N.J., GUNN N.K., WATSON T.D.G. Measurement of skin pH in normal dogs of different breeds. In:Kwochka K.W., Willemse T., von Tscharner C., eds. Advances in Veterinary Dermatology. Vol. 3. Oxford : Butterworth-Heineman, 1998:521-522.
85. SANDILANDS A. et al. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. J Cell Sci 2009;122:1285-1294.
86. SCHMID M.H., KORTING H.C. The concept of the acid mantle of the skin: its relevance for the choice of skin cleansers. Dermatology 1995;191(4):276-280.
87. SCHMIDT A. In vitro activity of climbazole,clotrimazole and silver-sulphadiazine against isolates of *Malassezia pachydermatis*. Zentralbl Veterinarmed B. 1997;44(4);193-197.
88. SCOTT D.W., MILLER W.H., GRIFFIN C.E. (2001) Structure and function of the skin. In:Muller and Kirk's small animal dermatology. 6th edition. W.B. SAUNDER COMPANY,Philadelphia,1-70.
89. SCOTT D.W., MILLER W.H., GRIFFIN C.E. (2001) Dermatologic therapy. In:Muller and Kirk's small animal dermatology. 6th edition. W.B. SAUNDER COMPANY,Philadelphia,207-273.
90. SHIMADA K. et al. Transepidermal water loss (TEWL) reflects skin barrier function of dog. J Vet Med Sci 2008;70(8):841-843.
91. UCHIDA Y., HAMANAKA S. *Stratum corneum* ceramids:function,origins and therapeutic implications. In: Elias P.M., Feingold K.R., eds. Skin Barrier. New York: Taylor and Francis,2006:43-64.
92. UY J.J. et al. Ammonium lactate 12% lotion versus a liposome-based moisturizing lotion for plantar xerosis. A double-blind comparison study. J Am Podiatr Med Assoc. 1999;89:502-505.
93. VIAUD S., MAYNARD L., SANQUER A. Comparison of two shampoos as sole treatment for canine bacterial overgrowth syndrome. Vet Rec 2012;170(26):675.
94. VILAPLANA J. et al. Clinical and non-invasive evaluation of 12% ammonium lactate emulsion for the treatment of dry skin in atopic and non-atopic subjects. Acta Derm Venereol. 1992;72:28-33.

95. VISSCHER M. et al. Effects of chlorhexidine gluconate on the skin integrity at PICC line sites. J Perinatol 2009;29(12):802-807.
96. WALLER J.M. et al. Keratolytic properties of benzoyl peroxide and retinoic acide resemble salicylic acid in man. Skin Pharmacol Physiol 2006;19(5):283-289.
97. WATSON A. et al. Reliable use of the ServoMed Evaporimeter EP-2 to assess transepidermal water loss in the canine. J Nutr 2002;132:1661S-1664S.
98. WEBER S.U. et al. Topical alpha-tocotrienol supplementation inhibits lipid peroxidation but fails to mitigate increased transepidermal water loss after benzoyl peroxide treatment of human skin. Free Radic Biol Med 2003;34(2):170-176.
99. YOSHIHARA T. et al. A new method of measuring the transepidermal water loss (TEWL) of dog skin. J Vet Med Sci 2007;69(3):289-292.

BARTOLI Xavier

TITRE : Etude de l'effet de shampooings traitants, anti-infectieux, sur l'efficacité de la barrière cutanée chez le chien, et de l'intérêt de l'application d'un réhydratant

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 10 Décembre 2012

RESUME :

La peau, organe le plus étendu de l'organisme, assure différentes fonctions, dont, notamment, celle de barrière vis-à-vis du milieu extérieur, sec. Celle-ci est permise par la structure particulière de la couche la plus externe de l'épiderme, la couche cornée. Dans l'espèce canine, la survenue de dermatoses est fréquente. Faciles d'usage et aux indications nombreuses, les shampooings représentent une solution thérapeutique souvent utilisée et efficace. Bien qu'ils soient souvent prescrits en association avec un réhydratant cutané, leur effet sur la barrière cutanée n'a jamais été étudié dans l'espèce canine.

L'objectif de notre étude est d'évaluer, grâce aux mesures de perte insensible en eau et de pH, et à l'examen histopathologique de biopsies cutanées, l'influence de deux shampooings anti-infectieux, le DOUXO-CHLORHEXIDINE® et le PAXCUTOL®. Selon le même procédé, l'intérêt d'appliquer un réhydratant, l'HUMIDERM®, après traitement à l'aide de chacun de ces deux shampooings, a également été étudié.

La première partie de ce travail présente les connaissances actuelles sur la barrière cutanée et la mesure de la perte insensible en eau, avant de s'intéresser aux différents shampooings utilisés en médecine vétérinaire. La seconde partie est consacrée aux résultats de l'étude expérimentale et à leur discussion.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence une altération de la barrière cutanée, occasionnée par l'application biquotidienne de shampooings, qu'il s'agisse du DOUXO-CHLORHEXIDINE® ou du PAXCUTOL®. L'intérêt de la pulvérisation d'HUMIDERM® afin de maintenir l'intégrité de la barrière cutanée, suite à un traitement à l'aide de shampooing, a également été démontré.

MOTS CLES :

-Chien
-Peau
-Hydratation
-Shampooings
-Perméabilité

JURY :

Président du Jury : **Monsieur le Professeur Jean-François NICOLAS**
1er Assesseur : **Monsieur le Professeur Didier PIN**
2e Assesseur : **Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORE**

DATE DE SOUTENANCE :

10 Décembre 2012

ADRESSE DE L'AUTEUR :

113 Chemin des Jardins
84450 SAINT-SATURNIN LES AVIGNON