

LA GLYCOTECHNOLOGIE

2.A

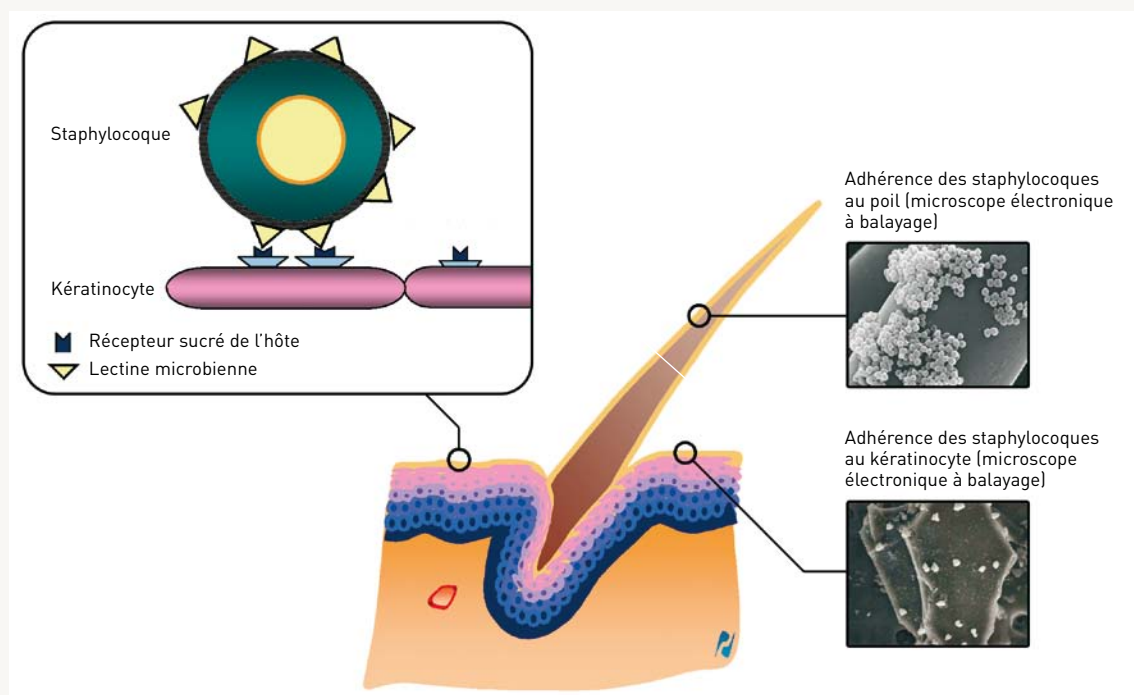
Le rôle des sucres de la peau dans les interactions hôte-microbes en surface (4, 9, 18, 23, 24, 34)

Le développement d'une infection au niveau cutané dépend de la capacité des micro-organismes à adhérer aux cellules de la peau de l'hôte, à coloniser leur milieu, à proliférer et à produire des facteurs de virulence. Ils utilisent pour cela des lectines, glycoprotéines qui reconnaissent et se lient aux sucres exposés à la surface des membranes cellulaires de l'hôte. Les kératinocytes en particulier, les principales cellules constitutives de l'épiderme, présentent effectivement des sucres de surface.

Les lectines microbiennes sont des facteurs de virulence importants situés à la surface des levures ou des bactéries, soit au niveau de la paroi cellulaire, soit sur des petits

développements de la membrane cellulaire (pili). Les lectines sont classées selon le type de sucre qu'elles reconnaissent spécifiquement, comme le D-galactose, le D-mannose, le D-fucose, l'acide sialique et la N-acetyl-galactosamine (23,24). L'interaction entre les micro-organismes et les cellules de l'animal hôte est multivalente.

L'abondance des glucides présents sous des formes variées à la surface des cellules animales est la raison pour laquelle les micro-organismes, pour une large part, ont «sélectionné» les récepteurs aux sucres comme facteurs de colonisation et d'infection. ■

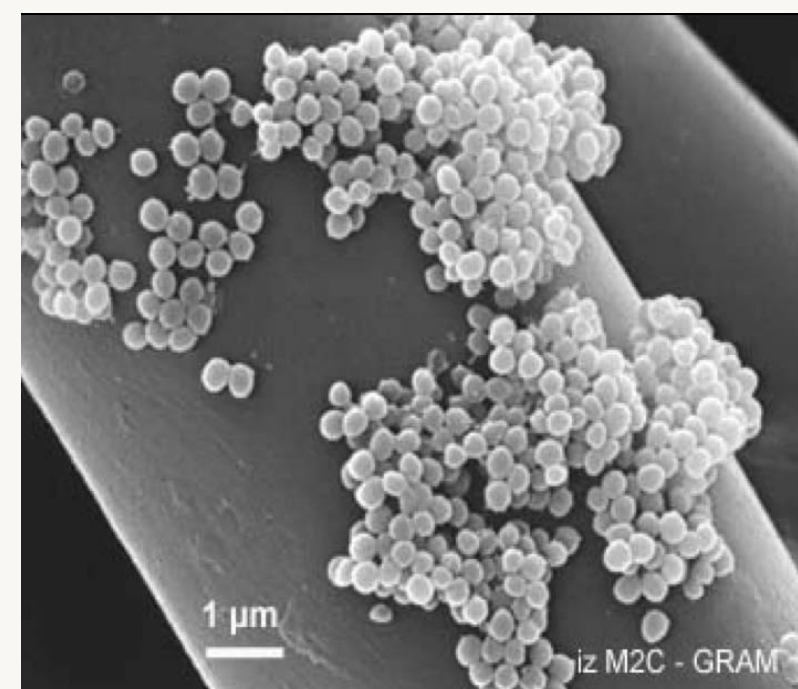


L'adhérence microbienne sur la peau et le pelage: interaction entre les lectines microbiennes et les sucres cutanés

Alors que la peau est constamment exposée à des agents pathogènes potentiels, comme des bactéries (*Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*) et des levures (*Malassezia pachydermatis*), l'infection ne se produit que lorsque les fonctions normales de protection de l'épiderme sont altérées. Au niveau de l'épiderme, l'adhérence des bactéries et levures pathogènes s'exprime sur des kératinocytes pleinement différenciés (cornéocytes) et par suite, toute altération du processus de différenciation des cellules épidermiques (plaie, inflammation, séborrhée, etc.) est de nature à promouvoir l'adhérence microbienne et à déclencher une infection. (9, 23)

Un mécanisme d'adhérence «inverse» est également décrit dans lequel les micro-organismes eux-mêmes présentent des sucres sur leurs surfaces cellulaires qui sont reconnus par des lectines de l'hôte (23).

Des glucides à la surface des micro-organismes favorisent l'adhérence intercellulaire entre les micro-organismes, pour former des biofilms. L'agrégation des microbes entre eux accroît leur virulence et leur résistance aux agents antimicrobiens. La formation de biofilms dépend de l'adhésion aux substrats, qui peuvent être des cellules animales hôtes ou du matériel inerte comme les cathéters. (4, 18, 23) ■



Biofilm de staphylocoques
[Microscopie électronique à balayage]

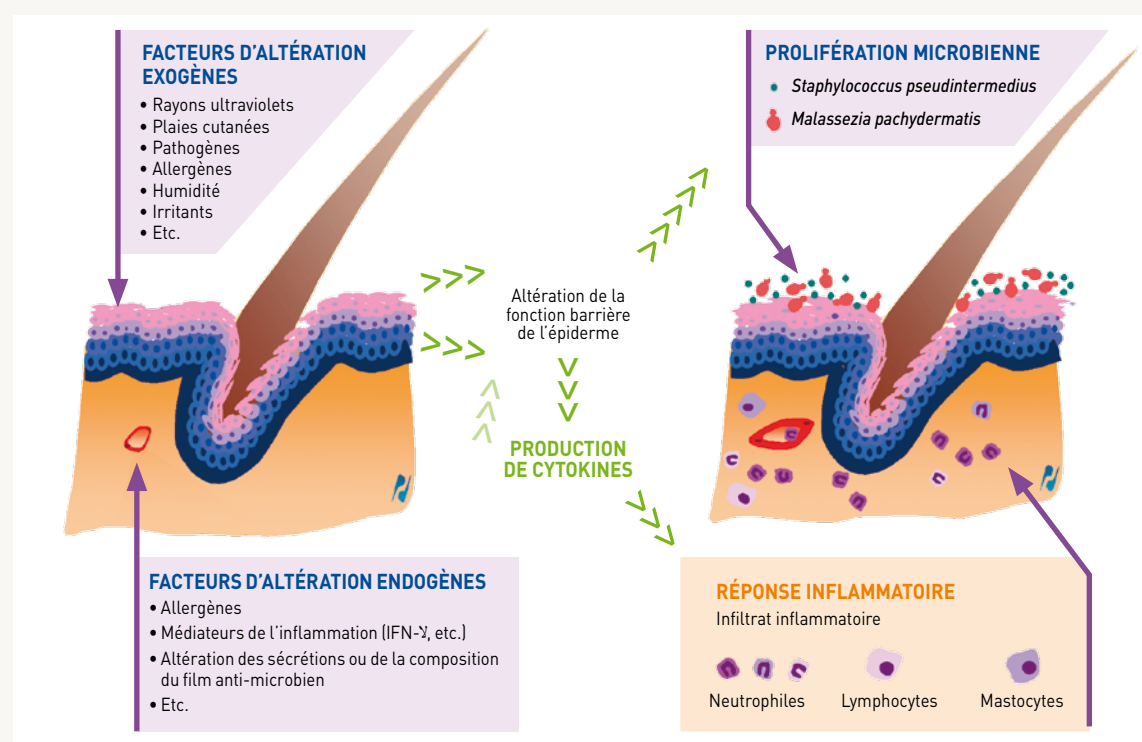
2.B

Le rôle des sucres de la peau dans l'immunité de surface (7, 14, 17, 23, 46)

En marge de leur rôle clé dans le maintien d'une barrière cutanée efficace, les kératinocytes, la population cellulaire la plus représentée au sein de l'épiderme, peuvent également devenir des cellules clés pour l'initiation et le maintien de l'inflammation cutanée.

Dans l'épiderme sain, les kératinocytes ne sont pas activés. Cependant, plusieurs facteurs exogènes (exposition cutanée aux rayons ultraviolets, infections, irritants, allergènes, etc.) et/ou des stimuli endogènes (cytokines produites par les cellules du système immunitaire, etc.) peuvent provoquer l'activation des kératinocytes.

Les kératinocytes activés libèrent un grand nombre de cytokines (facteurs solubles intermédiaires de communication entre les cellules), comme l'IL1, le TNF α , des Chemokines et des Facteurs de Croissance. Ces cytokines agissent comme des "signaux d'alerte" signifiant que des phénomènes anormaux se produisent au niveau cutané ou qu'une agression externe est en cours. Les cytokines produites alertent les fibroblastes, les cellules endothéliales, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et contribuent au recrutement des lymphocytes sur site. Les kératinocytes activés expriment également des récepteurs aux cytokines à leur surface, leur permettant de répondre à leurs propres sécrétions de cytokines. Ceci est à l'origine d'une réponse inflammatoire en cascade. ■



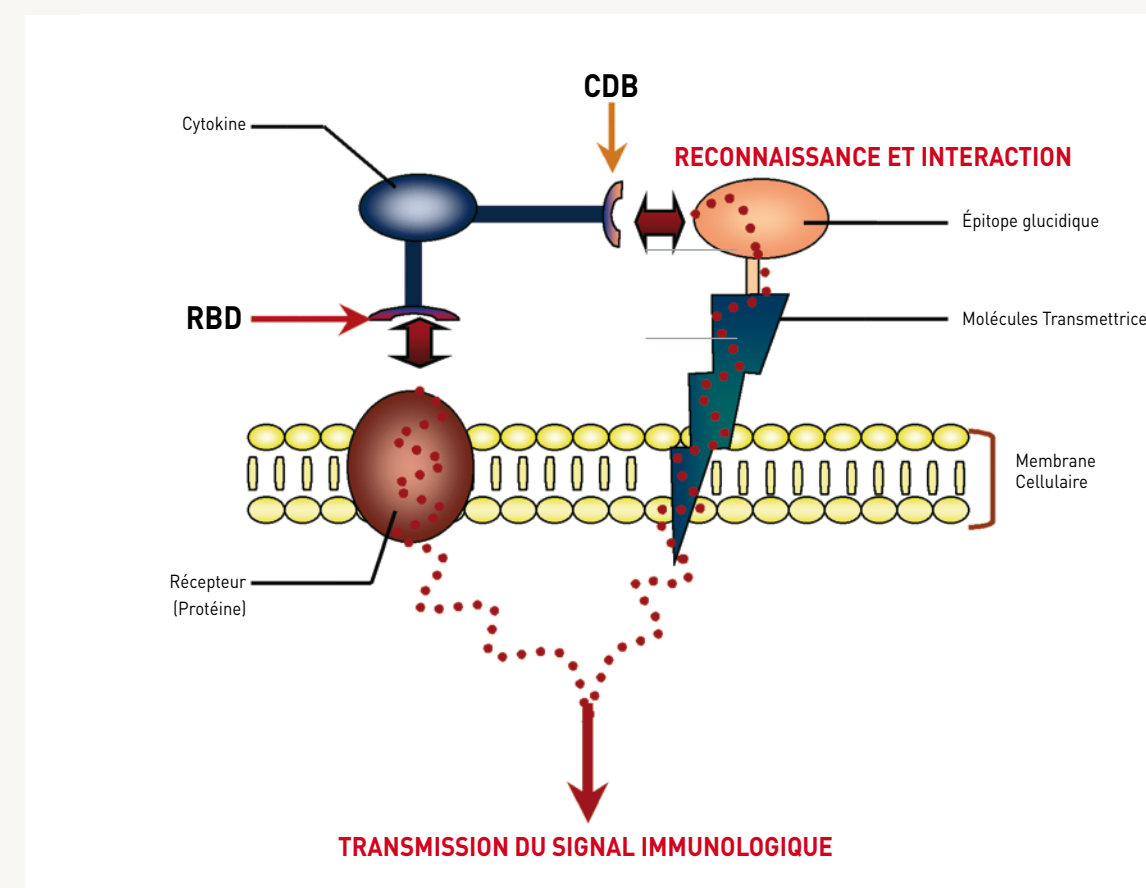
Altération de la barrière cutanée et activation des kératinocytes

La réponse biologique aux cytokines implique des récepteurs cellulaires spécifiques associés à des molécules transmettrices propageant le signal biologique à l'intérieur de la cellule jusqu'au noyau. On sait maintenant que les cytokines sont des molécules bi-fonctionnelles, c'est à dire qu'elles possèdent deux domaines de liaison à leur surface. Un de ces domaines est appelé domaine de liaison au récepteur (RBD en anglais), il se lie avec une protéine réceptrice sur la membrane de la cellule cible.

Le second domaine est un domaine de liaison aux glucides (CBD en anglais), il se lie

spécifiquement à certains épitopes de nature glucidique sur la membrane de la cellule cible. Ce CBD confère donc aux cytokines une activité de type lectine. Une fois que le CBD a reconnu et interagi avec les sucres cibles, le signal immunitaire est activé et la cascade inflammatoire est entretenue.

De subtiles modifications des glucides à la surface des cellules sont capables d'inhiber l'activité des cytokines. Plusieurs auteurs ont déjà décrit une activité de type lectine chez plusieurs cytokines notamment l'IL1 α , l'IL1 β , l'IL2, le TNF α et le TNF β (7). ■

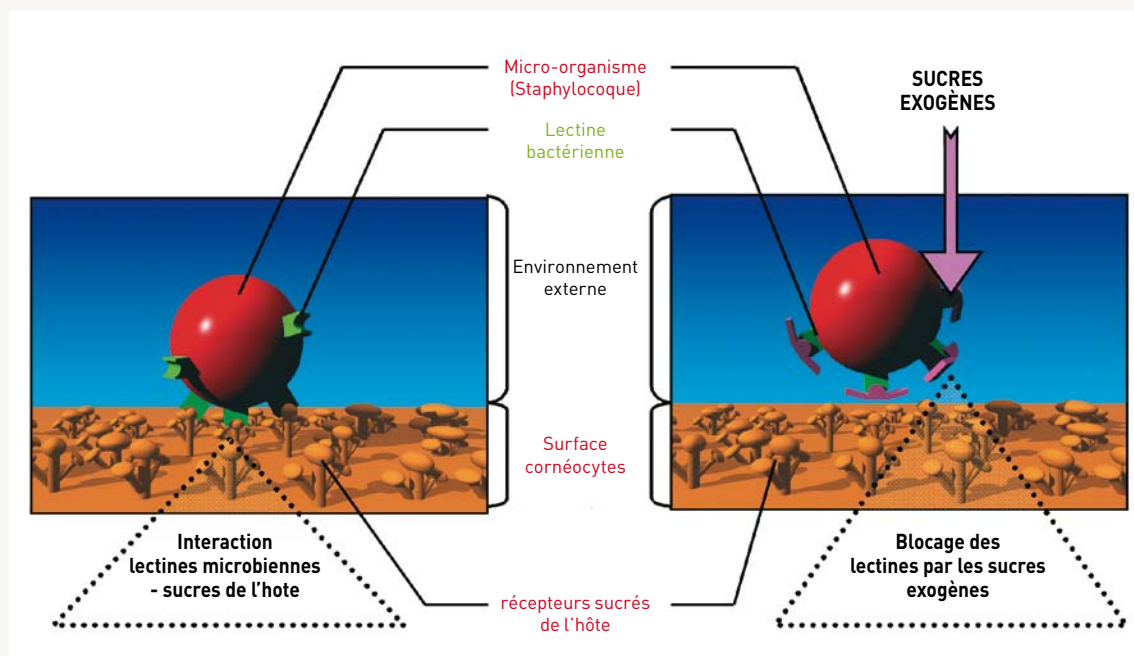


Propagation du signal immunologique: Role de l'interaction cytokine - Récepteurs sucrés

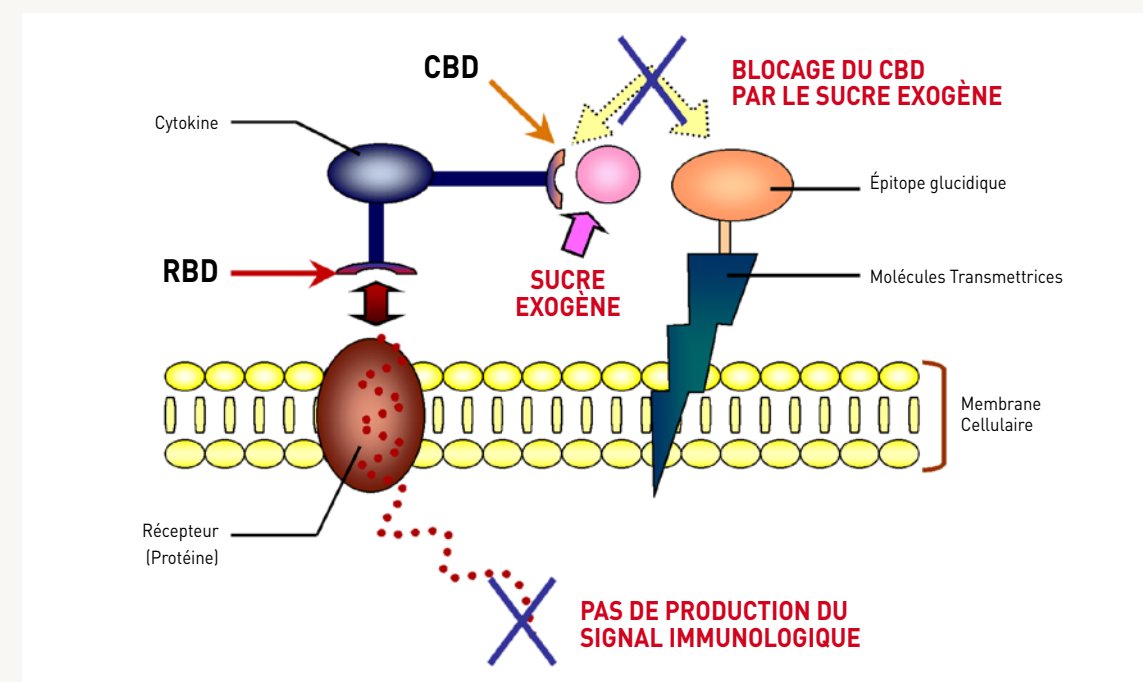
2.C Composition de la Glycotechnologie

Dans la mesure où les sucres exposés à la surface des cellules de la peau sont impliqués dans les mécanismes d'adhérence des micro-organismes et les réactions inflammatoires de l'hôte, il est possible d'utiliser des glucides exogènes similaires permettant de contribuer au contrôle des infections cutanées et de l'inflammation. L'exploration et l'exploitation de ce concept en dermatologie sont l'objet de la Glycotechnologie.

Les lectines microbiennes interagissent avec les sucres correspondants situés à la surface des cellules de l'épiderme. De façon identique, à la surface de la peau, les lectines microbiennes vont se lier à des sucres exogènes similaires administrés par voie topique et qui jouent le rôle de «leurres». ■



Blocage des lectines microbiennes par les sucres exogènes à la surface de la peau.



Le rôle immunomodulateur des sucres exogènes

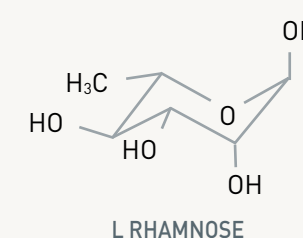
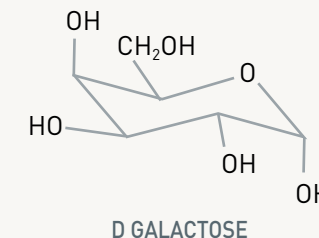
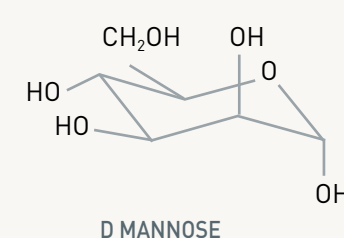
Lorsque les kératinocytes sont activés par des facteurs exogènes ou endogènes, ils libèrent des cytokines comme l'IL1 ou le TNF α . Ces cytokines sont des facteurs solubles qui initient la cascade inflammatoire. La réponse biologique aux cytokines implique deux récepteurs cellulaires spécifiques associés à des molécules transmettrices.

Les cytokines possèdent à la fois un domaine de liaison au récepteur (RBD) et un domaine de liaison

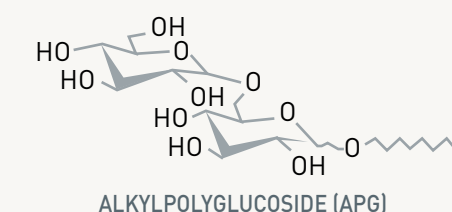
aux glucides (CBD), ce dernier jouant le rôle de lectine. Le CBD reconnaît des sucres spécifiques et cette interaction est essentielle à la production du signal immunologique. Les glucides exogènes peuvent interférer par action compétitive avec l'interaction CBD-sucres endogènes et réduire ainsi la stimulation par les cytokines.

Les sucres introduits dans les topiques VIRBAC et entrant dans la composition de la Glycotechnologie sont les suivants:

3 MONOSACCHARIDES



1 POLYSACCHARIDE



VIRBAC a obtenu un brevet sur les applications dermatologiques vétérinaires de ces composés.

2.D

Topiques Virbac intégrant la Glycotechnologie

Le nettoyant auriculaire EPI OTIC®, la lotion ALLERMYL® et les shampooings, SEBOLYTIC® et PYODERM® intègrent cette technologie, en plus des composants habituels qui ont fait le succès de cette gamme.

1 - Epi-otic®



OBJECTIFS	COMPOSANTS	PROPRIETES
1. Émulsification et élimination du cérumen, des débris, du pus, des exsudats, etc.	Diocetyl Sulfosuccinate de Sodium (DSS)	Émulsifie et disperse les cires et les débris
		Rend les corps gras facilement solubles
	Acide salicylique	Solubilise le ciment intercellulaire
		Activité exfoliante
		Agent astringent
		Légèrement bactériostatique
2. Aide au contrôle des proliférations microbiennes	Parachlorométaxylénol (PCMX)	Bactéricide
	EDTA Sodium	Perméabilise la membrane externe des bactéries Gram-négatif
	Glycotechnologie	Effet anti-adhésif microbien
Réduction des signaux émis par les cytokines		
Sucres naturels des membranes cellulaires de l'épiderme		
3. Contribution à la réduction de l'inflammation		

2 - Allermyl® shampooing



OBJECTIFS	COMPOSANTS	PROPRIETES
1. Renforcement de la barrière cutanée	Complexe de Lipides Cutanés (36) = Céramides + acides gras + cholestérol	Système multilamellaire qui reproduit la structure et la composition des lipides intercellulaires du <i>stratum corneum</i>
2. Aide au contrôle des proliférations microbiennes	Piroctone olamine (16)	Excellente activité sur <i>Staphylococcus intermedius</i> & <i>Malassezia pachydermatis</i>
		Grande affinité pour les kératines (peau et poils)
		Efficace à faibles concentrations
3. Contribution à la réduction de l'inflammation cutanée	Glycotechnologie (17,29,32,33)	Effet anti-adhésif microbien
		Réduction des signaux émis par les cytokines
		Sucres naturels des membranes cellulaires de l'épiderme

3 - Sebolytic®



OBJECTIFS	COMPOSANTS	PROPRIETES
1. Élimination de l'excès de squames	Acide salicylique	Solubilise le ciment intercellulaire
		Action exfoliante
		Effet bactériostatique modéré
2. Correction des troubles de la kératinisation	Acide linoléique	Incorporation au ciment intercellulaire
3. Normalisation du processus de la kératinisation	Acide gamma linolénique	Composant structurel majeur des phospholipides membranaires
4. Normalisation de la production de sébum	Gluconate de zinc	Inhibe l'enzyme 5α réductase qui stimule les productions sébacées
	Vitamine B6	Inhibition synergique de la 5α réductase
5. Aide au contrôle des proliférations microbiennes	Piroctone olamine	Large spectre antimicrobien (bactéries Gram + et Gram -, levures)
		Forte affinité pour les kératines
6. Contribution à la réduction de l'inflammation cutanée	Glycotechnologie	Effet anti-adhésif microbien
		Sucres naturels des membranes cellulaires de l'épiderme
		Réduction des signaux émis par les cytokines
7. Contrôle des mauvaises odeurs	Huile essentielle de l'arbre à thé (Melaleuca)	Odeur agréable naturelle
		Interaction avec les membranes cellulaires microbiennes
		Réduction de la production d'histamines et d'autres médiateurs de l'inflammation

4 - Pyoderm®



OBJECTIFS	COMPOSANTS	PROPRIETES
1. Aide au contrôle des proliférations microbiennes	Chlorhexidine gluconate (3%)	Large spectre antimicrobien (Gram + et Gram –, levures)
	Glycotechnologie	Effet anti-adhésif microbien
2. Contribution à la réduction de l'inflammation cutanée		Réduction des signaux émis par les cytokines
		Sucres naturels des membranes cellulaires de l'épiderme

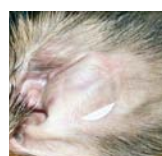
2.E Études portant sur l'action anti-adhésive de la Glycotechnologie

Des études *in vitro* (20, 40) confirment que des saccharides spécifiques, qui miment des résidus sucrés naturels de l'épiderme, peuvent inhiber de façon efficace l'adhérence de certains micro-organismes pathogènes. Les propriétés anti-adhésives de ces sucres leur confèrent un intérêt dans l'aide à la gestion des infections cutanées liées à ces germes.

INHIBITION DE L'ADHÉRENCE DE *PSEUDOMONAS* AUX CORNÉOCYTES CANINS (31,32,44,45)



Pseudomonas aeruginosa est sans conteste le pathogène le plus problématique en matière d'otite canine et l'émergence de résistances fréquentes et multiples aux antibiotiques représente une menace sérieuse. L'adhérence est un préalable indispensable à la colonisation microbienne et *Pseudomonas aeruginosa* est connu pour adhérer à un certain nombre de surfaces épithéliales au moyen de lectines qui se fixent sur des sucres cibles spécifiques (44,45).



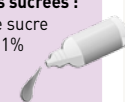
6 chiens sains testés :
Cornéocytes canins prélevés sur la conque auriculaire au moyen de disques adhésifs (D-Squame®)



Une des 3 souches de *Pseudomonas* :
P1 - P2 - P3



Une des 4 solutions sucrées :
2 concentrations de sucre testées: 0,05% et 0,1%
- D-galactose
- D-mannose
- L-rhamnose
- La combinaison des 3 sucres
Ou une solution non sucrée (contrôle)



INCUBATION

à 38°C pendant 45 min.
en chambre humide

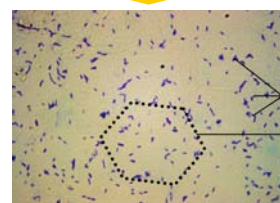
LAVAGE ET COLORATION (Crystal violet)

QUANTIFICATION

Analyse d'image assistée par ordinateur
> calcul de la surface des cornéocytes couverte par les bactéries colorées



Cornéocytes incubés avec *Pseudomonas* (x1 000, coloration au crystal violet)
Image : Dr Na McEwan



Bacilles *Pseudomonas*
Cornéocyte

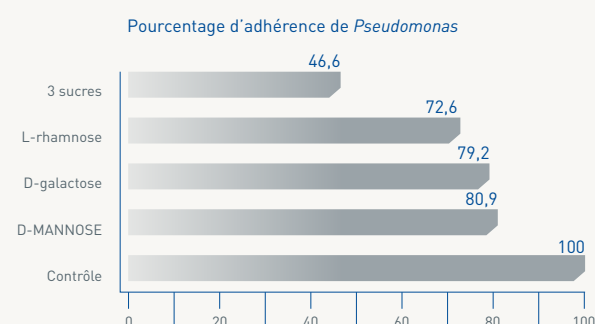
Protocole d'étude de l'inhibition de l'adhérence de *pseudomonas* aux cornéocytes canins par des monosaccharides (30,32,6)

OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Évaluation des propriétés anti-adhésives de 3 monosaccharides (le D-galactose, le D-mannose et le L-rhamnose) sur 3 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir de cas cliniques d'otite canine (6 chiens). Les monosaccharides ont d'abord été testés un par un, puis une combinaison de ces 3 sucres a ensuite été évaluée.

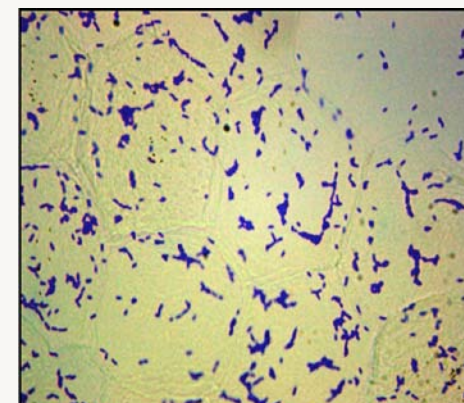
RÉSULTATS

Les pourcentages moyens d'adhérence de *Pseudomonas aeruginosa* aux cornéocytes canins après incubation avec les solutions sucrées sont représentés ci-dessous, relativement au niveau d'adhérence observé dans le groupe contrôle.



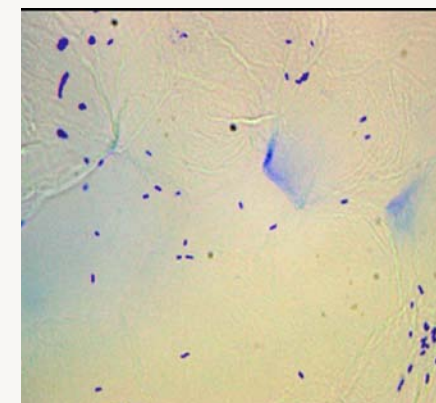
INHIBITION DE L'ADHÉRENCE DE *PSEUDOMONAS* PAR LES MONOSACCHARIDES SEULS OU EN COMBINAISON

Le D-galactose, le D-mannose et le L-rhamnose réduisent chacun l'adhérence de *Pseudomonas* aux cornéocytes canins. De plus, lorsque les 3 sucres sont utilisés en combinaison, l'adhérence est encore réduite de plus de 50%.



Cornéocytes incubés avec *Pseudomonas* souche 2 sans sucres (x 1000, coloration au crystal violet)
Image : Dr Na McEwan

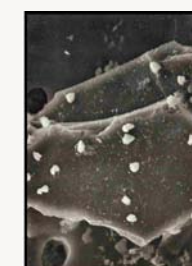
ADHÉRENCE
RÉDUITE
DE PLUS DE 50%



Cornéocytes incubés avec *Pseudomonas* souche 2 et la combinaison des 3 monosaccharides. (*1000, coloration au crystal violet) - Image : Dr Na McEwan

INHIBITION DE L'ADHÉRENCE DE *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS* AUX CORNÉOCYTES CANINS (29, 30)

Staphylococcus pseudintermedius est une bactérie de la flore cutanée normale du chien qui peut proliférer dans des conditions favorables pour provoquer une infection cutanée, c'est le cas en particulier des pyodermites secondaires à diverses dermatoses sous-jacentes. Les pyodermites sont parmi les affections cutanées les plus fréquentes chez le chien. L'adhérence est un préalable indispensable à la colonisation microbienne et *Staphylococcus pseudintermedius* est connu pour adhérer aux cornéocytes au moyen de lectines qui se fixent sur des sucres cibles spécifiques. (30)



OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Évaluation des propriétés anti-adhésives de polysaccharides, fructooligosaccharide (FOS) et alkylpolyglucoside (APG) à 1%, ont été évalués selon le protocole utilisé précédemment pour *Pseudomonas aeruginosa*.

RÉSULTATS

Les pourcentages moyens d'adhérence de *Staphylococcus pseudintermedius* aux cornéocytes canins, après incubation avec les solutions de polysaccharides, sont représentés ci-contre, relativement au niveau d'adhérence observé dans le groupe contrôle.

