



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints>
ID : 14579

To cite this version :

Grapperon, Barbara. *Évaluation de l'analgésie cornéenne induite par l'instillation d'un collyre de bromfenac sodique à 0,09% chez le chien sain*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 70 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

EVALUATION DE L'ANALGESIE CORNEENNE INDUITE PAR L'INSTILLATION D'UN COLLYRE DE BROMFENAC SODIQUE à 0,09% CHEZ LE CHIEN SAIN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

GRAPPERON Barbara
Née, le 9 juillet 1989 à Toulouse (31)

Directeur de thèse : M. Alain REGNIER

JURY

PRESIDENT :
M. Pierre FOURNIE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Alain REGNIER
M. Jean-Yves DOUET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directrice : Mme Isabelle CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Héléne**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*
M. **HERRY Vincent**, *Pathologie des ruminants*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*

Remerciements :

A Monsieur le Professeur Pierre FOURNIE

Professeur à l'université Paul Sabatier de Toulouse,
Praticien hospitalier, *Ophthalmologie*
Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse,
Hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur Alain REGNIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Physiopathologie oculaire,
Qui nous a fait l'honneur de diriger cette thèse,
Qu'il soit remercié pour sa confiance, sa pédagogie et son enthousiasme,
Avec toute notre reconnaissance et notre plus profond respect.

A Monsieur le Docteur Jean-Yves DOUET,

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Ophthalmologie vétérinaire et comparée,
Qui nous a aidé et conseillé tout au long de ce travail et de l'année passée,
Mes plus sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Didier CONCORDET,

Pour son aide précieuse dans la réalisation de l'étude statistique,
Sincère remerciements.

A Monsieur le Docteur Simon PRIVAT,

Pour son aide et ses conseils au début de ce travail,
Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS	3
TABLE DES ANNEXES	4
TABLE DES ABREVIATIONS	5
INTRODUCTION.....	7
1 La sensibilité de la surface oculaire et son évaluation.....	9
1.1 Anatomie de la conjonctive et de la cornée	10
1.1.1 La conjonctive.....	10
1.1.2 La cornée.....	12
1.2 Innervation sensitive de la surface oculaire.....	15
1.2.1 Anatomie du nerf trijumeau	15
1.2.2 Topographie de l'innervation sensitive de la conjonctive et de la cornée	16
1.3 Le réflexe de clignement palpébral : anatomie de l'arc réflexe	20
1.4 L'esthésiométrie de Cochet-Bonnet	21
1.4.1 L'esthésiomètre et son utilisation	22
1.4.2 Les valeurs de la sensibilité cornéenne chez le chien	23
1.4.3 Limites de l'esthésiométrie de Cochet-Bonnet	23
1.4.4 Facteurs de variation de la sensibilité cornéenne chez le chien	24
1.4.4.1 Morphologie faciale.....	24
1.4.4.2 Régions cornéennes	24
1.4.4.3 Age de l'animal	24
1.4.4.4 Anesthésie locale	25
1.4.4.5 Glaucome.....	25
2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens en collyre.....	26
2.1 Mode d'action des AINS	26
2.1.1 Action sur la synthèse locale de prostaglandines.....	26
2.1.2 Action sur les terminaisons nerveuses des fibres cornéennes.....	28
2.2 Propriétés pharmacologiques des AINS en collyre	29
2.2.1 Indométacine.....	30
2.2.2 Kétorolac	31
2.2.3 Diclofenac	32
2.2.4 Bromfénac.....	33
2.2.5 Népafénac et amfénac	34

2.3	Utilisation clinique des AINS en collyre	35
2.3.1	Utilisation clinique du diclofénac en collyre	35
2.3.2	Utilisation clinique du bromfénac en collyre	36
2.4	Effets des AINS en collyre sur la sensibilité cornéenne.....	37
2.5	Effets secondaires des AINS en collyre	39
3	Etude expérimentale de l'effet analgésique cornéen du bromfénac en collyre chez le chien.	42
3.1	Critères d'inclusion.....	42
3.2	Traitement au bromfénac sodique 0,09% en collyre	42
3.3	Mesure de la sensibilité cornéenne	44
3.4	Analyse statistique des données	46
3.5	Résultats.....	48
4	Discussion.....	50
	CONCLUSION	55
	BIBLIOGRAPHIE	59
	ANNEXES	69

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Tuniques fibreuse, vasculaire et nerveuse du globe oculaire	9
Figure 2 : Disposition de la conjonctive.	10
Figure 3 : Coupe histologique de la conjonctive	11
Figure 4 : Coupe histologique d'une cornée de chien sain	13
Figure 5 : Observation des principaux faisceaux nerveux pénétrant la cornée au limbe	16
Figure 6A : Innervation de la partie postérieure du plexus stromal.....	17
Figure 6B : Innervation de la partie antérieure du plexus stromal.....	17
Figure 7: Progression de l'innervation cornéenne depuis le limbe.....	19
Figure 8 : Principe du reflexe cornéen	21
Figure 9 : Cascade de l'acide arachidonique	27
Figure 10 : Structure chimique de l'indométacine.....	30
Figure 11 : Structure chimique du kétorolac.	31
Figure 12 : Structure chimique du diclofénac.....	32
Figure 13 : Structure chimique du bromfénac.	33
Figure 14 : Structure chimique du sodium d'amfénac.....	35
Photo 1 : Flacon de Yellox®	43
Photo 2 : Flacon de larmes artificielles.....	44
Photo 3 : Esthésiomètre de Cochet-Bonnet.	44
Photo 4 : Utilisation de l'esthésiomètre.....	45
Graphique 1 : Valeurs moyennes de la différence entre la longueur du filament obtenu pour l'œil contrôle et pour l'œil traité, pour chaque temps expérimental.....	47
Graphique 2 : Evolution de la sensibilité cornéenne au cours du temps obtenue après instillation de 4 gouttes de sodium de bromfénac 0.09% ou de 4 gouttes de larmes artificielles.....	48

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Table de conversion de la longueur du filament de l'esthésiomètre en pression exercée sur la surface de la cornée.....	69
Annexe 2 : Données épidémiologiques	69
Annexe 3: Résultats des mesures obtenues après application de 4 gouttes de bromfénac 0.1% (œil traité) ou de larmes physiologiques (œil témoin).	70

TABLE DES ABREVIATIONS

- AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien
- PG : Prostaglandine
- COX : Cyclo-oxygénase

INTRODUCTION

La cornée est un des tissus les plus sensibles de l'organisme. Elle présente, en effet, la caractéristique d'être richement innervée par le nerf trijumeau ou nerf crânien V, bien connu pour son rôle dans l'innervation sensitive de l'ensemble de la tête. Cette sensibilité cornéenne a un rôle fondamental car elle permet de déclencher le reflexe cornéen permettant la fermeture des paupières et par conséquent la protection de la cornée lors d'une agression. Il permet aussi l'étalement régulier du film lacrymal à la surface de la cornée. Lors d'inflammation cornéenne spontanée (kératite) ou iatrogène (chirurgie oculaire) ou par extension d'une inflammation de voisinage (conjonctivite), cette sensibilité cornéenne est responsable d'un phénomène algique plus ou moins marqué.

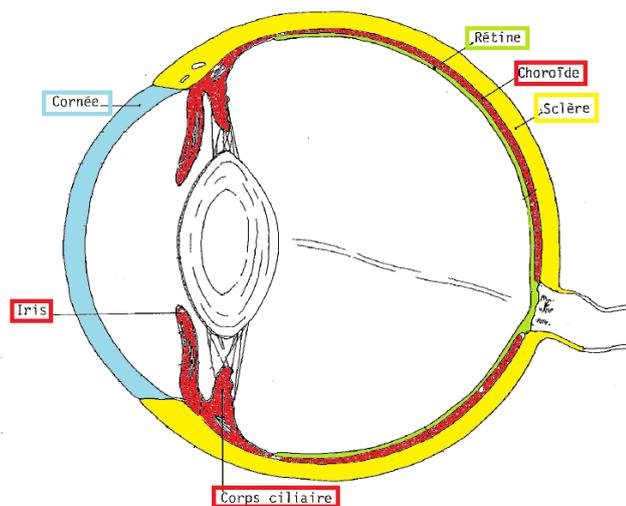
Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une classe de molécules permettant de diminuer le niveau d'inflammation via le blocage de la synthèse des médiateurs de l'inflammation que sont les prostaglandines (PG). Les AINS en collyre sont, en médecine humaine, fréquemment utilisés, principalement dans les traitements pré et postopératoire de chirurgies oculaires. Ils permettent, ainsi, de préparer l'œil à la chirurgie et de diminuer le risque de complications éventuelles liées à l'inflammation induite par le geste chirurgical. Il a aussi été constaté qu'ils permettaient une bonne analgésie postopératoire, consécutive à la baisse de la réaction inflammatoire, mais aussi à une action directe des AINS sur l'innervation sensitive.

Les AINS topiques sont encore peu utilisés en ophtalmologie vétérinaire en France. Leur effet sur la sensibilité cornéenne chez le chien est encore mal connu. En ophtalmologie vétérinaire, l'évaluation de la sensibilité de la cornée se fait avec l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet qui représente actuellement la méthode de référence. Avec cet esthésiomètre, la mesure de la sensibilité cornéenne se fait en appliquant l'extrémité d'un filament de nylon sur la cornée et en observant la présence ou non d'un clignement palpébral reflexe. En faisant varier la longueur du filament on peut moduler la pression exercée sur la cornée, en sachant qu'il y a une relation inverse entre la longueur du filament et la pression exercée par son extrémité sur la cornée. Plus la longueur nécessaire pour obtenir ce clignement est grande, plus le seuil de sensibilité est bas et donc plus la cornée est dite sensible. Notre étude a consisté à évaluer l'effet analgésique potentiel du bromfénac sodique 0.09% en collyre sur la sensibilité cornéenne de chiens sains, comme il n'existe aucune donnée semblable dans la littérature.

1 La sensibilité de la surface oculaire et son évaluation

Le globe oculaire est formé de trois couches concentriques (figure 1):

- La tunique fibreuse : la plus externe, comprenant la sclère et la cornée.
- La tunique vasculaire, composée de l'iris, des corps ciliaires et de la choroïde.
- La tunique nerveuse, ou rétine, la plus interne.



*Figure 1 : tuniques fibreuse, vasculaire et nerveuse du globe oculaire
(D'après Sautet, 2014)*

La cornée est le premier dioptré de l'œil. Elle est très exposée aux micro-organismes, aux corps étrangers et à la dessiccation. Il est donc fondamental qu'elle soit bien protégée, afin de conserver une fonction visuelle.

L'orbite et les paupières assurent un premier rôle de défense mécanique. L'appareil lacrymal joue aussi un rôle important dans la protection de la surface oculaire, de part ses larmes riches en immunoglobulines A et molécules antiseptiques. La conjonctive assure aussi un rôle dans la réponse immunitaire spécifique. De plus, la cornée, grâce à la richesse de son innervation, possède une très grande sensibilité. Cette dernière assure une protection de la cornée en elle-même, en étant à l'origine du réflexe lacrymogène qui permet une hydratation permanente de la surface cornéenne, mais aussi des structures plus internes.

1.1 Anatomie de la conjonctive et de la cornée

1.1.1 La conjonctive

La conjonctive est la fine muqueuse qui assure la transition entre la peau des paupières et la cornée. Elle relie la face postérieure des paupières au bulbe oculaire. Son aspect est lisse et brillant car elle est recouverte par le film lacrymal. C'est la muqueuse la plus exposée de l'organisme. Sa fonction primaire est d'empêcher la dessiccation de la cornée via la synthèse de la mucine, composante du film lacrymal, de faciliter les mouvements des paupières et du globe oculaire et de faire barrière aux micro-organismes et aux corps étrangers.

Selon sa topographie, on distingue différentes zones: la conjonctive palpébrale tapisse l'intérieur des paupières, puis elle se réfléchit pour donner les culs de sacs conjonctivaux (ou fornix) et s'étend ensuite sur le globe oculaire jusqu'au limbe devenant la conjonctive bulbaire. La conjonctive recouvre aussi la face palpébrale et la face bulbaire de la membrane nictitante (figure 2).

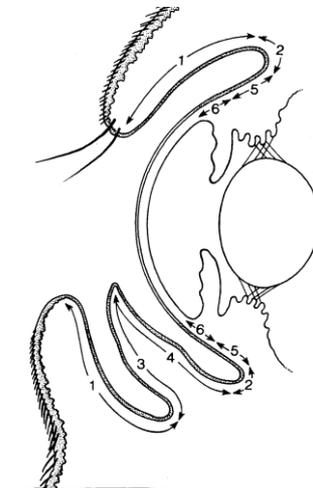


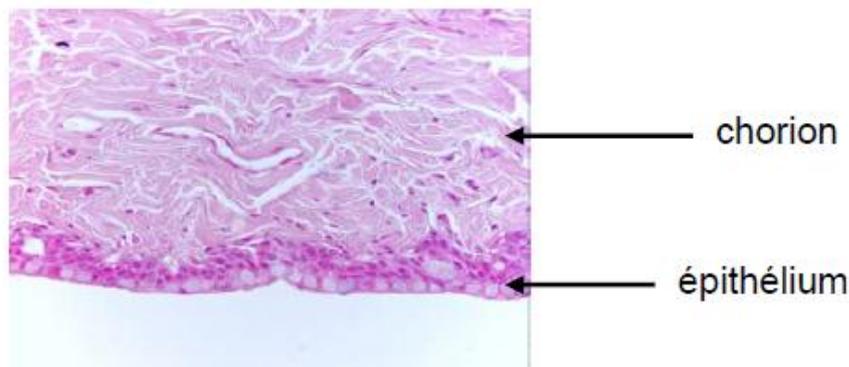
Figure 2 : Disposition de la conjonctive.

La conjonctive qui tapisse l'intérieur des paupières est appelée la conjonctive palpébrale (1). Elle forme des replis (2) formant les culs de sacs conjonctivaux. La conjonctive recouvre la face palpébrale (3) et bulbaire (4) de la membrane nictitante. La conjonctive bulbaire (5) s'attache au niveau du limbe (6). D'après Slatter (1990)

La conjonctive est très richement vascularisée grâce à l'apport artériel provenant des arcs palpébraux supérieurs et des artères ciliaires antérieures. La grande sensibilité de la

conjonctive dépend, à la périphérie de la cornée, des nerfs ciliaires, tandis qu'ailleurs, elle est assurée par les nerfs lacrymaux infra et supra-trochléaires.

Histologiquement, la conjonctive est, comme toute muqueuse, formée d'un épithélium reposant sur un chorion fait de tissu conjonctif (figure 3). Ce dernier est riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques. L'épithélium conjonctival contient les cellules mucipares, qui synthétisent la mucine, formant ainsi la couche profonde du film lacrymal.



*Figure 3 : Coupe histologique de la conjonctive
La conjonctive est composée d'un épithélium reposant sur un chorion contenant des vaisseaux sanguins et lymphatiques dans le tissu conjonctif. D'après I. Raymond-Letron*

L'épithélium conjonctival est en continuité avec l'épithélium cornéen (Martin, 2005). Selon sa localisation, l'épithélium conjonctival est, soit stratifié et cylindrique, soit stratifié et pavimenteux. Ainsi l'épithélium de la conjonctive palpébrale est pavimenteux au niveau du tiers postérieur des paupières mais il devient cylindrique lorsque l'on se rapproche du globe (Samuelson, 2007). La conjonctive bulbaire quant à elle, est constituée par un épithélium stratifié cubique qui devient pavimenteux au niveau de la jonction avec la cornée.

La distribution des cellules mucipares est hétérogène chez le chien. Les densités les plus importantes sont retrouvées au sein du fornix inférieur nasal et moyen et au niveau de la conjonctive palpébrale inférieure. Au contraire, la conjonctive bulbaire est quasiment dépourvue de cellules mucipares. Chez le chien, une différence liée au sexe est aussi observée : en effet, les femelles ont une densité en cellules mucipares plus élevée que les mâles (Samuelson, 2007 ; Martin 2005).

La substance propre de la conjonctive, ou chorion, est composée de deux couches. La couche superficielle contient, chez le chien, des follicules lymphoïdes (en plus grand nombre

au niveau de la face bulbaire de la membrane nictitante), tandis que la couche profonde, plus fibreuse, contient les nerfs et vaisseaux sanguins de la conjonctive (Samuelson, 2007).

Une pigmentation conjonctivale en région du limbe peut être observée chez certaines espèces, dont l'espèce canine. La présence de ces pigments conjonctivaux serait un facteur de protection contre le développement de cancers induits par les ultra-violets, comme les carcinomes (Martin, 2005).

1.1.2 La cornée

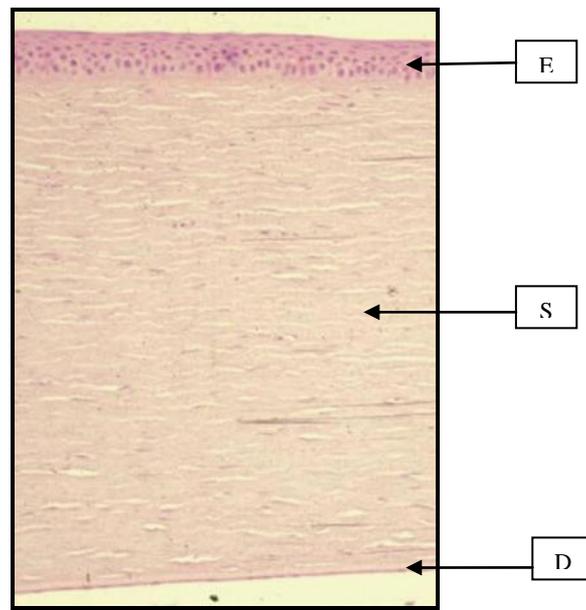
La cornée est la partie transparente de la tunique fibreuse du globe. La cornée représente en moyenne 25% de la surface du globe avec des variations allant de 20% chez le cheval à 30% chez le chat (Clerc, 1997). Chez le chien, elle représente environ 17% de la surface oculaire (Barrett, 1991).

La cornée est une barrière anatomique et physiologique, protectrice vis-à-vis des structures internes de l'œil. Elle est responsable de la transmission de la lumière (de part sa transparence) et de la réfraction de la lumière (de par son rayon de courbure et son indice de réfraction). Chez le chien, la cornée est responsable de 70% de la réfraction de la lumière qui pénètre dans l'œil (Martin, 2005).

La transparence de la cornée est due à l'absence, en son sein, de fibres nerveuses myélinisées et de vaisseaux sanguins. Pour conserver sa transparence, le tissu doit rester en état constant de déturgescence qui correspond à une hydratation de 78%. Cela est permis par un système de pompes présentes dans l'endothélium qui maintient un état de déshydratation relative du stroma

Le rayon de courbure moyen de la cornée chez le chien est de 8,5 mm. La forme de la cornée est légèrement elliptique chez les carnivores, avec un diamètre vertical plus petit d'un millimètre environ que le diamètre horizontal : en effet l'axe horizontal mesure entre 13 et 17 mm et l'axe vertical entre 12 et 16 mm, ce qui confère une forme qui apparaît ronde à la cornée. L'épaisseur moyenne de la cornée est de 0,62 mm chez le chien, et dans cette espèce, les femelles ont une cornée plus fine que les mâles (Martin, 2005).

La cornée est composée de 4 couches histologiques (figure 4). Ces quatre couches sont lamellaires : on trouve d'abord l'épithélium antérieur et sa membrane basale, puis le stroma, qui représente environ 90% de la cornée, la membrane de Descemet et enfin l'endothélium appelé parfois épithélium postérieur.



*Figure 4 : Coupe histologique d'une cornée de chien sain (I. Raymond-Letron)
E : épithélium antérieur, S : stroma, D : membrane de Descemet*

○ L'épithélium cornéen

L'épithélium cornéen est stratifié pavimenteux et non kératinisé. Il mesure entre 25 et 40 µm chez les carnivores domestiques (Samuelson, 2014). Il est formé de 5 à 7 couches de cellules, regroupées en trois couches principales. La couche superficielle est composée de deux ou trois couches de cellules qui s'aplatissent de plus en plus en allant vers la surface. Elles sont reliées entre elles par quelques desmosomes formant une solide zonule appelée la zonula occludens. La couche intermédiaire est composée, elle aussi, de 2 ou 3 couches de cellules, qui sont polygonales et dont le grand axe est parallèle à la surface cornéenne. Elles sont reliées entre elles par de nombreux desmosomes. La couche basale est composée d'une couche de cellules cylindriques reliées à leur base par des hémidesmosomes et entre elles par des desmosomes. La présence de nombreuses mitochondries dans ces cellules, d'un reticulum endoplasmique et de ribosomes témoigne de l'activité mitotique de cette couche (Clerc, 1997). Le taux de renouvellement, ou turnover, de l'épithélium cornéen est d'environ 7 jours

(Martin, 2005). On peut noter que la présence de desmosomes en quantité importante dans les couches superficielles confère à la cornée son rôle de barrière.

- Le stroma cornéen

Le stroma cornéen est composé de fibres de collagène organisées en lamelles dans lesquelles les fibrilles sont parallèles entre elles. Ces lamelles sont superposées les unes sur les autres avec un angle oblique. Elles peuvent glisser les unes sur les autres et elles sont noyées par une substance fondamentale contenant des protéoglycanes.

Ces fibrilles de collagène et ces protéoglycanes représentent 15-25% du stroma cornéen (Samuelson, 2014). Elles sont synthétisés par de rares kératocytes, (Borderie, 2005; Martin, 2005). Le stroma est donc constitué de 75 à 85 % d'eau, ce qui est relativement peu par rapport au reste du corps. Cet état de déturgescence est permis par des pompes Na/K ATP-dépendantes, se trouvant dans l'endothélium. Comme il a été dit plus tôt, cette fonction est indispensable au maintien de la transparence de la cornée.

Les kératocytes du stroma ont un turnover lent chez les adultes dont la cornée est saine. Cependant, en cas de traumatisme de la cornée, les kératocytes se différencient en fibroblastes actifs qui vont alors produire les précurseurs des fibres de collagènes ainsi que la matrice de base.

On trouve rarement les cellules du système immunitaire (telles que les lymphocytes et les macrophages) dans le stroma, car elles sont plus fréquemment présentes dans l'épithélium cornéen (Clerc, 1997).

- La membrane de Descemet et l'endothélium

La membrane de Descemet est produite par l'endothélium et constitue sa membrane basale. L'endothélium est constitué d'une seule couche de cellules ayant une activité mitotique, et présentant des systèmes d'attache identiques à ceux qui relient les cellules de l'épithélium basal. La membrane de Descemet mesure 8 à 10 μm d'épaisseur, mais elle est plus épaisse chez les sujets âgés puisqu'elle est produite pendant toute la vie. Sa fonction est celle d'une barrière physiologique contre les infections et d'une ultime barrière mécanique avant la rupture de la chambre antérieure. La densité cellulaire de l'endothélium est de l'ordre

de 2800 cellules/mm² chez le jeune mais elle diminue avec l'âge car les cellules endothéliales ne se multiplient pas au cours de la vie (Clerc, 1997).

1.2 Innervation sensitive de la surface oculaire

Chez l'Homme, la cornée est l'épithélium le plus richement innervé de l'organisme : la cornée contient environ 80 faisceaux nerveux composés eux-mêmes de 900 à 1500 axones (Borderie, 2005). Ainsi, les terminaisons nerveuses y sont 300 à 600 fois plus denses que dans la peau et la pulpe dentaire (Brooks, 2000). Comme il l'a été évoqué précédemment, cette grande sensibilité a un rôle de protection majeure du globe oculaire.

L'innervation sensitive du globe oculaire et de ses annexes dépend de la branche ophtalmique du nerf trijumeau. De ramifications en ramifications, nait ensuite un maillage nerveux stromal et épithélial cornéen très dense. Différents types de récepteurs nerveux sensitifs sont retrouvés dans l'épithélium cornéen.

1.2.1 Anatomie du nerf trijumeau

Le nerf crânien V, ou nerf trijumeau, est à l'origine de l'innervation sensitive du globe oculaire et de ses annexes. Ce nerf se ramifie au niveau du ganglion trijéminal et donne naissance au nerf ophtalmique qui assure à lui-même la quasi-totalité de la sensibilité de l'œil. Le nerf ophtalmique donne ensuite trois branches au niveau de la fente orbitaire : le nerf frontal, le nerf lacrymal et le nerf nasociliaire.

Le nerf frontal est le plus mince. Il monte entre la périorbite et le muscle releveur de la paupière supérieur et se termine en nerf supratrochléaire, destiné à l'angle médial de l'œil, et en nerf supraorbitaire responsable de l'innervation de la conjonctive, de la paupière supérieure et de la peau du front.

Le nerf lacrymal est aussi placé sous la périorbite, parallèlement au nerf frontal. Il se divise en rameaux qui vont vers la glande lacrymale et l'angle latéral de l'œil.

Le nerf naso-ciliaire représente la branche la plus volumineuse et la plus médiale du nerf ophtalmique. Ce nerf longe latéralement le nerf optique puis le croise dorsalement entre les faisceaux du muscle rétracteur du bulbe. Il rejoint l'artère ophtalmique externe et se divise en nerfs ethmoïdaux et en nerf infra-trochléaire après avoir émis les nerfs ciliaires courts et longs. Les nerfs ciliaires longs rejoignent la choroïde, l'iris, le corps ciliaire et la cornée (Clerc 1997). Ce sont donc les nerfs ciliaires longs qui sont responsables de l'innervation sensitive de la cornée.

1.2.2 Topographie de l'innervation sensitive de la conjonctive et de la cornée

○ Innervation du stroma cornéen

Chez le chien, les nerfs sensitifs pénètrent la cornée, à hauteur du stroma, à hauteur du limbe, en une série de 14 à 18 faisceaux nerveux proéminents et superficiels, dirigés radialement et partant à des intervalles réguliers (figure 5) (Barrett, 1991; Belmonte, 1997 ; Marfurt, 2001). Ces faisceaux sont de taille relativement identique et comprennent environ 30 à 40 axones. Ils seront responsables de l'innervation centrale de la cornée. Entre ces gros faisceaux nerveux, des fascicules, plus petits, pénètrent le stroma légèrement plus superficiellement. Ils s'étendent sur une région de 2 à 4 mm après le limbe et ils seront responsables de l'innervation périphérique de la cornée (Marfurt, 2001 ; Barret, 1991).

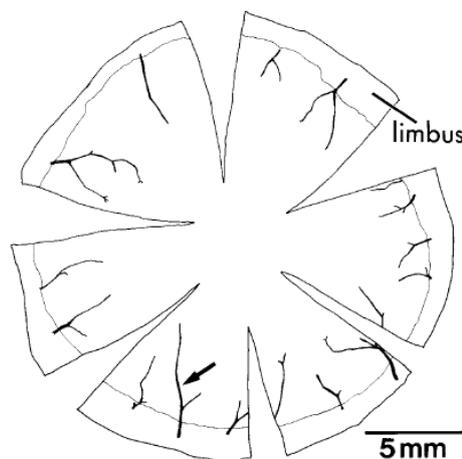


Figure 5 : Observation des principaux faisceaux nerveux (flèche) pénétrant la cornée à hauteur du limbe chez le chien. La cornée a, ici, été aplaniée en réalisant 6 coupes à plat (Marfurt, 2001).

Rapidement après avoir pénétré le stroma, les principaux faisceaux nerveux se divisent en ramifications dichotomiques complexes, formant une arborisation axonale très élaborée. Les parties distales de ces arborisations s'anastomosent entre elle et forment ainsi un plexus dense, appelé plexus stromal, qui s'étend dans approximativement toute la moitié antérieure du stroma cornéen, jusqu'à environ 0,5 mm de profondeur (Marfurt, 2001).

Selon la densité de l'innervation, on peut distinguer deux zones dans le plexus stromal. La partie postérieure (figure 6A) rassemble un nombre modeste de fibres nerveuses de diamètre petit à moyen. Ces fibres se dispersent en axones individuels dont la plupart sont longs, droits et filamenteux. Ils seront responsables de l'innervation du stroma postérieur. La partie antérieure du plexus stromal (figure 6B) est bien plus densément innervée et de morphologie complexe. Un maillage délicat d'axones fins préterminaux se trouve collé à la membrane basale de l'épithélium cornéen : c'est le plexus sous-épithélial. Il est responsable de l'innervation de l'épithélium cornéen ainsi que du stroma antérieur (Barrett, 1991 ; Belmonte, 1997; Marfurt, 2001).

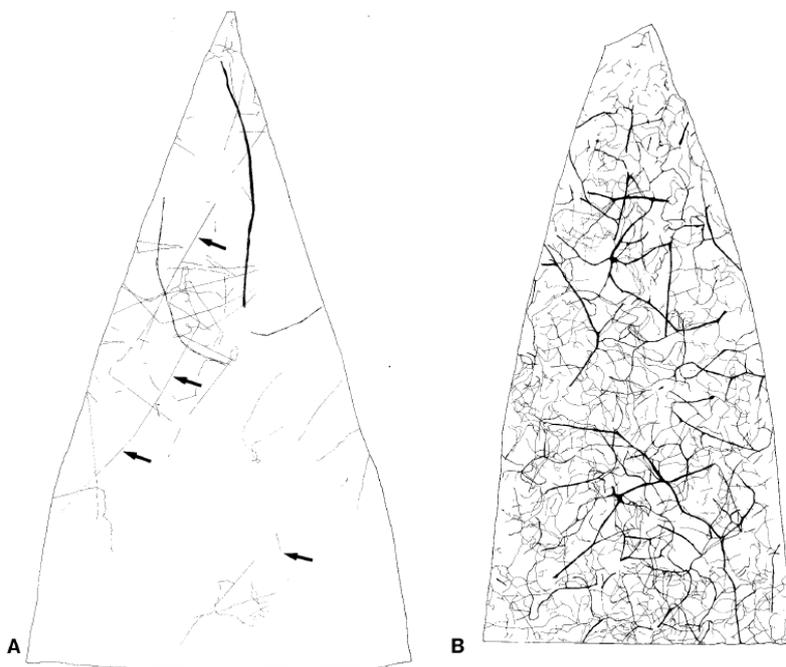


Figure 6A : Innervation de la partie postérieure du plexus stromal chez le chien. Quelques rares fibres nerveuses (flèches) sont visibles (Marfurt, 2001).

Figure 6B : Innervation de la partie antérieure du plexus stromal chez le chien. L'innervation est visiblement plus dense et importante. (Marfurt, 2001).

Il apparaît donc que, contrairement au stroma cornéen antérieur, le stroma postérieur du chien est pratiquement dépourvu d'innervation. Ceci explique le fait qu'un ulcère ou une plaie cornéenne superficielle est plus douloureuse qu'une blessure profonde.

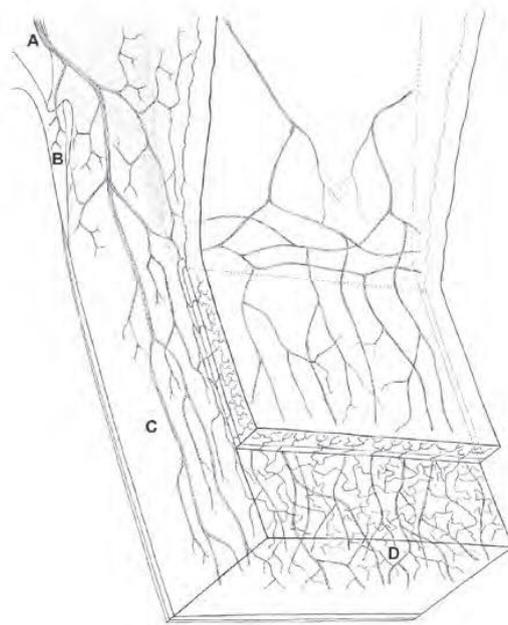
- Innervation de l'épithélium cornéen

Le centre de la cornée est innervé par les axones du plexus sous-épithélial, qui pénètrent entre les cellules de la membrane basale de l'épithélium. La plupart d'entre eux vont former des arborisations préterminales composées de 2 à 6 axones. Ces formations vont s'étendre et courir horizontalement et tangentiellement à la surface de la cornée sur des distances de 0,2 à 2,5 mm (Belmonte, 1997). Elles sont grossièrement parallèles les unes aux autres et séparées par une distance de 1 à 1,4 mm. Chaque axone composant ces formations a un diamètre compris entre 1,2 et 3,5 μm , bien que la plupart soit inférieur à 2,5 μm . Ces axones donnent naissance à une profusion de branches ascendantes terminales qui s'arrêtent à divers étages de l'épithélium cornéen, jusqu'à la dernière couche de cellules épithéliales, en se superposant entre elles, de sorte qu'une stimulation en un point excite plusieurs fibres nerveuses (Marfurt, 2001).

Chez l'Homme et chez le chat, les fibres nerveuses cornéennes peuvent être classées en fibres de type A δ , c'est-à-dire des fibres myélinisées transmettant ainsi rapidement les messages nerveux, de 3m/sec à 120m/sec, et en fibres de type C, c'est-à-dire des fibres non myélinisées conduisant les potentiels d'action beaucoup plus lentement, à moins de 2m/sec. (Belmonte, 1997 ; Chen, 1997). Lorsque les axones pénètrent dans le stroma cornéen, tous perdent leur gaine de myéline, ce qui contribue au caractère transparent de la cornée (Belmonte, 1997 ; Borderie, 2005). Chaque axone a un champ récepteur concernant 20 à 50% de la surface cornéenne. La densité en terminaisons nerveuses augmente de la périphérie vers le centre de la cornée (Borderie, 2005).

En résumé, l'innervation sensitive de la cornée est issue du nerf trijumeau. Les nerfs ciliaires, issus après différentes ramifications de ce dernier, forment un riche plexus nerveux superficiel, entourant le limbe : le plexus limbique. Ce plexus est responsable de l'innervation des régions périphériques de la cornée. De ce plexus partent aussi quelques larges faisceaux nerveux dirigés radialement, traversant le limbe et donnant un deuxième plexus, le plexus stromal, responsable de l'innervation du centre de la cornée. L'innervation épithéliale de la cornée est dense, très riche et dérive de ce plexus (figure 7). Chez l'Homme, la densité et le

nombre de terminaisons nerveuses sont plus importants au centre de la cornée qu'en périphérie. Cette observation a été retrouvée chez le chien (Barrett, 1991).



*Figure 7: Progression de l'innervation cornéenne depuis le limbe
Les nerfs ciliaires longs (A) innervent la région du limbe puis ils se ramifient en direction du réseau trabéculaire (B) et de la cornée. La cornée profonde (C) est beaucoup moins innervée que le stroma antérieur (D) et l'épithélium cornéen (Samuelson, 2007).*

- Les récepteurs nerveux cornéens

On dénombre trois types de récepteurs au niveau des neurones sensitifs cornéens : les nocicepteurs polymodaux, les récepteurs mécano-nociceptifs et les récepteurs au froid (Borderie, 2005 ; Belmonte, 1997 ; Belmonte, 1999) Leur neurotransmetteur est l'acétylcholine (Borderie, 2005).

- Les nocicepteurs polymodaux

Les nocicepteurs polymodaux sont les plus nombreux : ils représentent 70% des récepteurs cornéens. Ils réagissent à des stimuli mécaniques, chimiques (telles que les substances exogènes, les médiateurs de l'inflammation, ou encore, le CO₂) et thermiques (lorsque la température dépasse 39°C au niveau de la cornée). Chez l'Homme, la majorité des nocicepteurs polymodaux sont liés aux fibres de type C, bien que certains soient de type A. Lors de forte stimulation, leur action continue après l'arrêt du stimulus, ce qui prolonge les

sensations douloureuses de brûlure. Une température inférieure à 20°C inhibe ces récepteurs. Les nocicepteurs polymodaux sont actifs lors de sensation d'irritation survenant lors de la cicatrisation cornéenne (Borderie, 2005). Un jet de gaz contenant un mélange d'air et de CO₂, mimant ainsi un stimulus acide, appliqué sur la cornée entraîne une décharge d'impulsions nerveuses par ces récepteurs polymodaux, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en CO₂ du mélange (Belmonte, 1999).

Chez le chat, leur champ d'action est large et s'étend à 25 mm² (Belmonte, 1997).

- Les mécano-récepteurs

Les récepteurs mécano-réceptifs représentent environ 20% des récepteurs cornéens. Ils entraînent une sensation douloureuse après un stimulus mécanique tel que le toucher de la cornée (Borderie, 2005). Ils appartiennent à des fibres nerveuses de type A (Belmonte, 1997).

- Les récepteurs au froid

Les récepteurs au froid sont les moins nombreux : ils représentent 10% des récepteurs cornéens. Ils entraînent un réflexe de clignement lors du refroidissement lié à l'évaporation des larmes (Borderie, 2005). Ils dépendent des fibres de type C. Chez le chat, le champ d'action de ces fibres est d'environ 10 mm² et elles se situent préférentiellement en périphérie de la cornée (Belmonte, 1997).

1.3 Le réflexe de clignement palpébral : anatomie de l'arc réflexe

Un réflexe est une réaction motrice ou sécrétoire déclenchée par le système nerveux en dehors de la volonté et en réponse à une stimulation des terminaisons des fibres sensibles. Il n'y a donc pas d'intégration corticale lors d'un réflexe.

Le principe du réflexe cornéen est schématisé dans la figure 8. Un stimulus, ici, le toucher de la cornée, est capté par les récepteurs polymodaux et les récepteurs mécano-réceptifs de la cornée. Cela va entraîner la transmission d'une information sensitive via le nerf crânien V jusqu'à l'interneurone subcortical. Une réponse efférente motrice transmise via la branche auriculopalpébrale du nerf VII - ou nerf facial- est alors émise. Le message va

atteindre sa cible : le muscle orbiculaire de l'œil, l'effecteur, qui va alors entraîner une fermeture palpébrale et protéger ainsi la cornée du stimulus primaire.

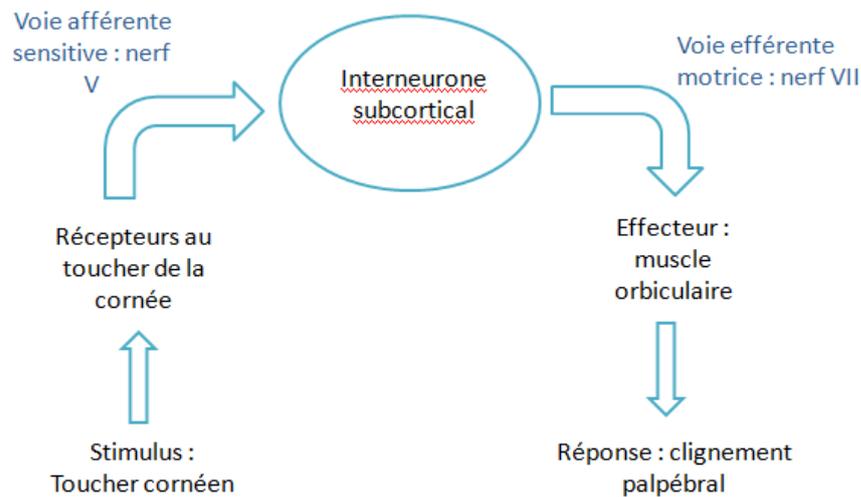


Figure 8 : Principe du réflexe cornéen

1.4 L'esthésiométrie de Cochet-Bonnet

L'esthésiométrie cornéenne est l'évaluation semi-quantitative de la sensibilité de la cornée via l'observation d'un clignement palpébral réflexe, en réponse à un stimulus nociceptif appliqué à la surface de la cornée.

L'esthésiomètre de Cochet-Bonnet, créé en 1960, permet de mesurer la sensibilité cornéenne face à un stimulus mécanique. Il existe un esthésiomètre à gaz (Belmonte, 1999), atraumatique, capable d'évaluer sélectivement la sensibilité mécanique, thermique et chimique grâce à un mélange d'air et de CO₂ dont la température peut être contrôlée

1.4.1 L'esthésiomètre et son utilisation

L'esthésiométrie cornéenne est très utilisée en médecine humaine. C'est en effet un bon moyen d'évaluer l'impact des maladies systémiques, du port de lentilles de contact, des chirurgies oculaires et des agents thérapeutiques sur la cornée et la fonction nerveuse. En médecine vétérinaire, seul l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet est utilisé, et constitue donc la méthode de référence pour mesurer la sensibilité cornéenne chez l'animal.

L'esthésiomètre de Cochet-Bonnet est composé d'un filament en nylon dont le diamètre peut être de 0,08 mm ou de 0,12 mm. La longueur de ce filament est réglable et varie entre 0 et 60 mm. Il permet d'appliquer, sur la cornée du sujet, une pression allant de 11 à 200 mg/0,0113 mm. Plus le filament de nylon est long, plus la pression exercée sur la cornée est faible et donc plus un seuil de sensibilité cornéenne bas peut être détecté. Au contraire, plus le filament est court, plus il est rigide et plus la pression exercée sur la cornée sera importante, permettant ainsi la mesure d'un seuil de sensibilité cornéenne élevé. En conséquence, plus le clignement palpébral réflexe est obtenu avec une longueur élevée du filament, plus la cornée sera dite sensible. Une pression exercée avec l'extrémité du fil de nylon est capable de stimuler environ 100 terminaisons nerveuses dans un groupe de 4 à 10 cellules épithéliales cornéennes (Brooks, 2000).

Le fil de nylon doit être appliqué droit et perpendiculairement à la courbure de la cornée. La mesure de la sensibilité cornéenne commence avec la longueur maximale du filament en nylon (60 mm), exerçant ainsi la pression la plus faible possible. Puis, la longueur est réduite de 5 mm en 5 mm, jusqu'à obtenir un clignement palpébral, lorsque le seuil de sensibilité de la cornée est atteint. La valeur seuil de sensibilité cornéenne correspond à la pression pour laquelle la majorité des attouchements cornéens entraînent un clignement palpébral, soit au moins 3 attouchements sur 5. Cette pression peut être exprimée en longueur du fil de nylon (mm) ou en pression exercée (g/mm^3).

1.4.2 Les valeurs de la sensibilité cornéenne chez le chien

Différentes études ont évalué la valeur de la sensibilité de la cornée saine du chien. Ces valeurs ont été déterminées avec l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet. Différents résultats ont montré que le chien a une sensibilité cornéenne moyenne proche de 1,55 cm : $1,55 \pm 0,54$ cm pour Barret (1991), et $1,54 \pm 0,4$ cm pour Douet (2013). Dans l'étude de Kim (2013) des valeurs plus basses ont été trouvées avec une moyenne de $0,925 \pm 0,674$ cm correspondant à des pressions de $85,15 \pm 61,31$ mg/ $0,0113$ mm³. De telles différences peuvent s'expliquer par le rôle de facteurs, tels que l'âge ou la race. Leur rôle sera développé plus loin.

1.4.3 Limites de l'esthésiométrie de Cochet-Bonnet

L'esthésiométrie de Cochet-Bonnet connaît un certain nombre de limites.

Tout d'abord, l'esthésiométrie de Cochet-Bonnet requiert une grande précision et peut poser un problème de reproductibilité des mesures. En effet, l'utilisateur vient toucher la cornée du sujet avec l'esthésiomètre, et il faut donc être rigoureux pour appliquer la même force, matérialisée par le degré de courbure du filament, sur la cornée à chaque mesure. Ceci est d'autant plus difficile lorsque les sujets sont des animaux, parfois agités, et peu coopératifs par rapport à des humains.

Une étude chez l'homme (Golebiowski, 2011) a montré la supériorité de l'esthésiomètre à gaz sur celui de Cochet-Bonnet. L'esthésiomètre de Cochet-Bonnet, muni du filament en nylon de 0,12 mm de diamètre, n'a pas permis de mesurer la sensibilité cornéenne de 56% des patients humains de cette étude comparativement à 11% pour le filament de 0,08mm. En effet, ces patients avaient une sensibilité cornéenne trop élevée pour être détectée par l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet. En revanche, la mesure était possible avec un esthésiomètre à gaz. La sous-estimation de la sensibilité cornéenne est la principale limite de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet, qui ne permet donc pas une détection sensible lors de légères variations de la sensibilité cornéenne.

Une autre limite de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet est le fait que le filament de nylon s'altère avec l'humidité de l'air, son âge et les utilisations répétées. Dans un tel cas, la table de conversion de la longueur du filament en force exercée sur la surface de l'œil ne

serait plus fiable et une nouvelle calibration devrait être nécessaire avant chaque utilisation de l'esthésiomètre (Golebiowski, 2011).

Enfin, il existe un risque de traumatisme superficiel de la cornée par l'extrémité du filament sur des yeux hypoesthésiques.

1.4.4 Facteurs de variation de la sensibilité cornéenne chez le chien

1.4.4.1 Morphologie faciale

Il a été montré que les races de morphologie dolichocéphale ont la sensibilité cornéenne la plus élevée alors que les races de type brachycéphale ont la sensibilité cornéenne la plus basse (Barrett, 1991 ; Kafarnik, 2008 ; Martin, 2005) En effet, chez les races dolichocéphales, la longueur de filament nécessaire pour induire un réflexe de clignement est de 2,03 cm (74 mg/ 0,0113 mm²) au centre de la cornée alors qu'elle est de 1,05 cm (141 mg/ 0,0113 mm²) chez les brachycéphales et de 1,58 cm (93 mg/ 0,0113 mm²) pour les mésocéphales (Barrett, 1991). Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'innervation du centre de la cornée est plus dense chez les races de type mésocéphale ou dolichocéphale que chez les races de type brachycéphale (Kafarnik, 2008).

1.4.4.2 Régions cornéennes

La sensibilité cornéenne est variable au sein de la cornée d'un même individu. En effet, chez le chien, la sensibilité cornéenne est maximale à son centre (Barrett, 1991 ; Martin, 2005). Puis dans un ordre décroissant viennent ensuite la région nasale, la région temporale, la région dorsale et la région ventrale (Barrett, 1991). Ces différences d'innervation sont retrouvées quelque soit la morphologie faciale des chiens.

1.4.4.3 Age de l'animal

Chez l'Homme, la sensibilité cornéenne varie en fonction de l'âge : elle reste stable jusqu'à l'âge de 40 ans pour diminuer significativement jusqu'à l'âge de 70 ans (Acosta, 2006 ; Bourcier, 2005 ; Millodot, 1977; Millodot, 1984). Ce phénomène a été expliqué par une étude montrant que la densité en fibres nerveuses de l'épithélium cornéen diminuait avec l'âge, en association avec des lésions des axones pénétrant en partie antérieure du stroma de la cornée périphérique (He, 2010).

Chez l'espèce canine et l'espèce équine, aucune variation significative liée à l'âge n'a été démontrée (Barret, 1991 ; Kaps, 2003)

1.4.4.4 Anesthésie locale

L'administration d'anesthésiques ophtalmiques en collyre est fréquente en médecine vétérinaire. Elle permet de faciliter le diagnostic et certaines procédures thérapeutiques telles que le retrait de corps étranger ou la désépithélialisation des ulcères à bords décollés. Chez le chien, l'administration de collyre d'oxybuprocaine 0,4% (Douet, 2013), de tétracaïne (Douet, 2013) ou de proparacaine (Kim, 2013) installe une disparition de la sensibilité cornéenne dans les 5 minutes suivant l'instillation et dont la durée varie selon les individus de 15 à 30 minutes.

1.4.4.5 Glaucome

Une étude (Blocker, 2007) chez 21 chiens atteints de glaucome unilatéral a montré que la sensibilité de la cornée de l'œil hydrophalme était diminuée par rapport à l'œil sain controlatéral. Cette constatation pourrait s'expliquer par le fait que les nerfs ciliaires cheminant dans la sclère subiraient des dommages irréversibles lors de l'étirement et l'amincissement scléral au cours du glaucome.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens en collyre

Les AINS sont un groupe de molécules utilisées pour leurs actions anti-inflammatoire, antipyrétique et analgésique. Les AINS administrables en collyre ont été développés dans le but d'augmenter leur biodisponibilité au niveau oculaire, tout en diminuant leurs effets systémiques secondaires. Les indications cliniques des AINS en collyre en ophtalmologie humaine se sont rapidement développées ces dernières décennies. Ils sont ainsi utilisés pour diminuer l'inflammation intraoculaire après une chirurgie de cataracte, pour traiter les symptômes inflammatoires lors de conjonctivites allergiques ou encore pour soulager la douleur ressentie après une chirurgie réfractive. En ophtalmologie vétérinaire, les AINS topiques sont principalement utilisés afin de réduire l'inflammation intraoculaire et prévenir le myosis lors de chirurgie de la cataracte.

1.5 Mode d'action des AINS

1.5.1 Action sur la synthèse locale de prostaglandines

L'inflammation est la manifestation d'une réponse vasculaire et cellulaire suite à une lésion au sein du tissu hôte. Cette lésion peut être de type mécanique, chimique, infectieux, ischémique ou auto-immun. Cette réaction inflammatoire facilite la réponse immunitaire et l'élimination des antigènes et des tissus lésés. Cependant, elle est responsable d'une sensation de douleur et elle peut compliquer le processus de guérison. Dès que la lésion est identifiée, la réaction inflammatoire se met en place. Ce mécanisme est amplifié par l'activation de cellules inflammatoires et la production de médiateurs chimiques de l'inflammation. Il y a alors production de prostaglandines (les PGE_2 , les $PGF_{2\alpha}$, les PGI_2 , et les PGD_2), de leukotriènes, de thromboxanes et d'éicosanoïdes via la cascade métabolique de l'acide arachidonique (figure 9).

Au site de l'inflammation, l'enzyme phospholipase A_2 transforme les phospholipides de la membrane cellulaire en acide arachidonique. Ce dernier va ensuite être transformé en

prostaglandines et en thromboxanes A₂ par l'enzyme cyclo-oxygénase ou en éicosanoïdes et en leukotriènes par la voie de la lipo-oxygénase (Ahuja, 2008 ; Regnier, 2007).

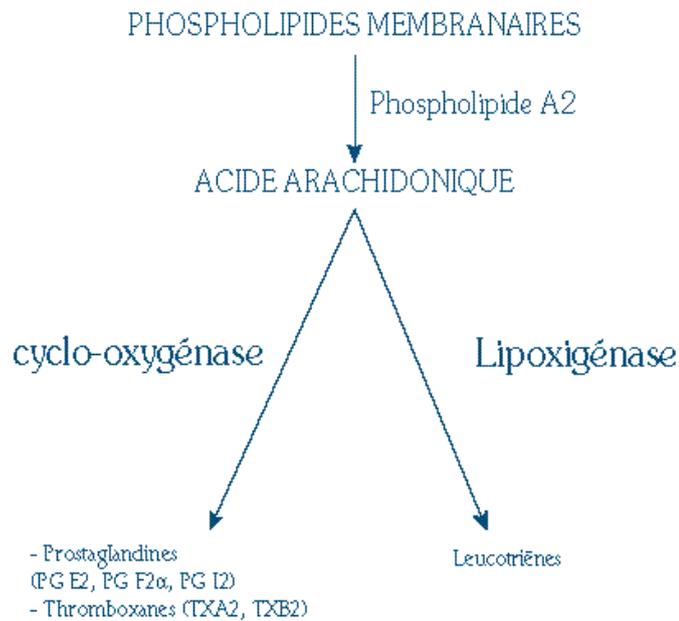


Figure 9 : Cascade de l'acide arachidonique

Les enzymes cyclo-oxygénases existent sous deux formes d'isoenzymes : la COX-1 et la COX-2. La cyclo-oxygénase COX-1 est présente dans presque tous les tissus. Elle permet la libération de PGs ayant un rôle important dans la protection de la muqueuse gastrique, la régulation du débit sanguin rénal ou encore la fonction plaquettaire. Au contraire, très peu ou pas de COX-2 est retrouvé dans des conditions de repos cellulaire, car elle est exprimée uniquement en réponse à un stimulus nocif. Cependant, les effets secondaires cardiovasculaires observés chez des patients humains traités avec des AINS COX-2 sélectifs laissent à penser que certains organes aient besoin de l'activité COX-2 d'un point de vue physiologique (Regnier, 2007).

Tous les tissus oculaires, à l'exception du cristallin, ont la capacité de convertir l'acide arachidonique en PG. Les PGE₂ sont les PGs les plus retrouvées lors d'inflammation oculaire (Regnier, 2007). Au sein de n'importe quels tissus, les PGs ainsi produites vont être responsables de l'apparition d'un érythème et d'un œdème, d'une sensation de douleur et d'une augmentation locale de la perméabilité vasculaire.

Au niveau oculaire, les PGs sont responsables de trois effets (Ahuja, 2008 ; Regnier, 2007 ; Weinberger, 2000) :

- une diminution de la pression intraoculaire par les $\text{PGF}_2\alpha$ suite à une augmentation du drainage de l'humeur aqueuse par la voie uvéosclérale ;
- un myosis par action sur le sphincter pupillaire, résistant à l'administration d'atropine ;
- une augmentation de la concentration en protéines de l'humeur aqueuse suite à l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-aqueuse.

Enfin, les PGs ont un effet direct, mais aussi indirect, au niveau des tissus de l'œil, en faisant synergie avec d'autres médiateurs de l'inflammation. Par exemple, les PGE_2 et la bradykynine ont un effet potentialisateur lors de l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-aqueuse. Les PGE_2 provoquent aussi un chémosis plus sévère en synergie avec l'histamine (Regnier, 2007).

Les AINS, en inhibant une partie de cette cascade de réactions, vont empêcher la formation de certains de ces médiateurs de l'inflammation et donc empêcher la conséquence de leur action. Les AINS bloquent la formation de PGs et de thromboxanes par inhibition directe de l'activité de la cyclo-oxygénase. Plus précisément, ils entrent en compétition avec les phospholipides au niveau du site actif de l'enzyme. Ainsi, les AINS ont un effet analgésique par diminution de la concentration en métabolites de l'acide arachidonique, ce qui permet un moindre recrutement des autres médiateurs de l'inflammation.

1.5.2 Action sur les terminaisons nerveuses des fibres cornéennes

La douleur consécutive à une irritation cornéenne est la conséquence de l'activation des neurones sensitifs innervant la cornée (Belmonte, 1997). L'excitation de leurs terminaisons nerveuses est due directement au stimulus nocif mais aussi aux médiateurs de l'inflammation qui sont libérés par les cellules cornéennes endommagées. Ces médiateurs contribuent à la douleur ressentie par une activation directe des terminaisons nerveuses nociceptives mais aussi par leur sensibilisation. La sensibilisation ainsi obtenue se caractérise par une diminution du seuil de sensibilité des terminaisons nociceptives au stimulus et par une

augmentation de leur activité nerveuse. Il y a donc une augmentation des décharges nerveuses par les neurones sensitifs pendant la sensibilisation, ce qui contribue à maintenir la douleur et l'hyperalgie survenant après un traumatisme oculaire (Chen, 1997).

Lorsque les prostaglandines PGE₂ et PGI₂ sont appliquées en topique au niveau de différents tissus tels que la peau et le muscle, on observe une sensibilisation des terminaisons nerveuses dans ces tissus. Cela suggère que les PGs, libérées localement dans les zones irritées, excitent et sensibilisent les nocicepteurs. (Chen, 1997).

Une étude (Chen, 1997) a montré que l'administration en topique oculaire de différents AINS tels que le diclofénac, le flurbiprofène et l'indométacine chez le chat entraînait une réduction de l'activité nerveuse basale des nocicepteurs polymodaux ainsi qu'une diminution de leur réponse face à un stimulus chimique. Cependant, aucun changement n'a été noté quant à la sensibilité mécanique. Les AINS sont donc responsables d'une diminution des décharges nerveuses par les nocicepteurs cornéens en direction du système nerveux central. Cette expérience peut servir de corollaire neurophysiologique quant à ce qui est rapporté chez l'humain : on observe une analgésie oculaire après instillation d'AINS en topique sur des cornées saines (Singer, 2015).

Ainsi, l'inhibition de la synthèse des PGs par les AINS apparaît contribuer, à un degré encore inconnu mais significatif, à la diminution de la réponse des nocicepteurs polymodaux cornéens face à un stimulus nocif (Chen, 1997 ; McCormack, 1991).

1.6 Propriétés pharmacologiques des AINS en collyre

Les AINS comprennent des classes très hétérogènes de médicaments. Cependant, leur utilisation en tant que topiques oculaires est limitée. En effet, afin d'être utilisés comme tels, les AINS doivent être hydrosolubles afin de se disperser dans le film lacrymal mais aussi présenter des caractères de liposolubilité pour traverser l'épithélium cornéen.

La plupart des AINS sont des acides faibles, ils vont donc s'ioniser au pH lacrymal. Leur perméabilité à travers la cornée, qui est anionique, se retrouve donc limitée. Réduire le pH de la formulation du collyre augmente la fraction non ionisée du principe actif, ce qui

permet une meilleure concentration cornéenne. Cependant, étant des acides, les AINS vont être irritants pour la cornée, d'autant plus si le pH de la formulation est diminuée. Un certain équilibre doit donc être trouvé.

Enfin, les AINS peuvent former des complexes insolubles avec les amoniums quaternaires utilisés comme conservateurs. De tout ceci résulte que seuls quelques AINS possèdent les propriétés nécessaires pour être formulés à un dosage suffisant pour exercer leur action (Ahuja, 2008).

Aujourd'hui, les AINS commercialisés en collyre sont le bromfénac 0,09 % (Xibrom®), Yellox®), le diclofénac 0,1% (Voltarène® collyre), le kétorolac 0,4% (Acular®), le népafénac 0,1% (Névanac®) et l'indométacine (Indocollyre®).

1.6.1 Indométacine

L'indométacine est un dérivé de l'acide indolacétique. Sa structure chimique est représentée dans la figure 10.

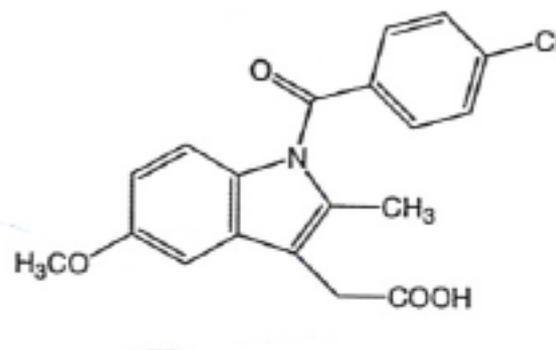


Figure 10 : Structure chimique de l'indométacine (Ahuja, 2008).

L'indométacine est pratiquement insoluble dans l'eau. Elle est donc utilisée en ophtalmologie sous forme de sel de sodium ou de trométhamine. L'indométacine est aussi instable en milieu alcalin, et elle précipite si le pH de la solution est inférieur à 6. Ces caractéristiques ont nécessité la recherche de stabilisants divers afin de permettre une meilleure biodisponibilité oculaire.

Une étude (Bucolo, 2011) a comparé la pharmacocinétique de l'indométacine en solution et en suspension chez des lapins. La concentration maximale en indométacine était atteinte dans l'humeur aqueuse et le vitré en 30 minutes pour la suspension et en 60 minutes pour la solution. Dans la rétine, il a fallu 30 minutes pour la suspension et 120 minutes pour la solution. Les concentrations atteintes étaient plus élevées avec la forme suspension qu'avec la forme solution (rétine : $73,7 \pm 6,4$ ng/g vs $25,5 \pm 1,73$ ng/g ; humeur aqueuse : $952 \pm 6,8$ ng/ml vs $163 \pm 4,1$ ng/ml ; vitré : $31 \pm 3,5$ ng/ml vs $6,37 \pm 3,6$ ng/ml).

Sanders (1983) a montré la supériorité d'une suspension huileuse ou d'une émulsion huileuse comparé à la solution aqueuse, concernant la pénétration de l'indométacine dans l'humeur aqueuse.

1.6.2 Kétorolac

Le kétorolac est un dérivé de l'acide propionique. C'est un acide faible (pKa de 3.49) dont la formule chimique est schématisée dans la figure 11. Le kétorolac est une molécule présente sous forme de mélange racémique. La forme lévogyre a une activité anti-inflammatoire deux fois supérieure à celle de la forme dextrogyre.

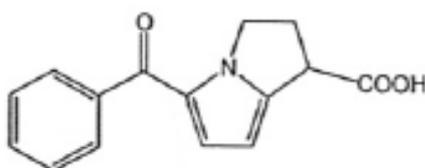


Figure 11 : Structure chimique du kétorolac (Ahuja, 2008).

L'association du kétorolac avec le sel de trométhamine dans la forme commerciale Acular® augmente la solubilité du principe actif. Une étude (Walters, 2007) a montré que la concentration maximale en kétorolac dans l'humeur aqueuse était atteinte après 60 minutes, et diminuait doucement les trois heures suivante. Cette même étude a montré que, bien que le kétorolac soit un inhibiteur des cyclo-oxygénases 1 et 2, il inhibait préférentiellement la COX-1. Une autre étude (Waterbury, 2011) a montré que, chez le lapin, les concentrations atteintes dans l'humeur aqueuse, l'iris et les corps ciliaire, deux heures et onze heures après administration topique, étaient au moins 7 fois supérieures pour le kétorolac 0.45% que pour

le bromfénac 0.09%. Une seconde étude (Bucci, 2008) rapporte les mêmes résultats chez des patients humains ayant reçu un traitement AINS 6 et 12 heures avant une chirurgie de la cataracte : la concentration mesurée dans l'humeur aqueuse, au moment de la chirurgie, du kétorolac 0,4% était au moins 20 fois supérieure à celle du bromfénac 0,09%. Cependant, comme l'a souligné Gayton (2009), ce n'est pas tant la concentration atteinte dans l'humeur aqueuse qui est pertinente mais plutôt l'importance de l'action inhibitrice de la COX-2 de l'AINS.

Enfin, Unlu (2010) a montré que 30 minutes après la dernière instillation de tromethamine de kétorolac, ce dernier n'était pas décelable dans le fluide sous-rétinien chez l'homme, contrairement au diclofénac.

1.6.3 Diclofénac

Le diclofénac sodique 0.1% appartient à la classe des dérivés de l'acide arylacétique. C'est un 2(2, 6-dichloroanilino) acide phénylacétique. Sa structure chimique est représentée dans la figure 12. Son pKa est de 4,2

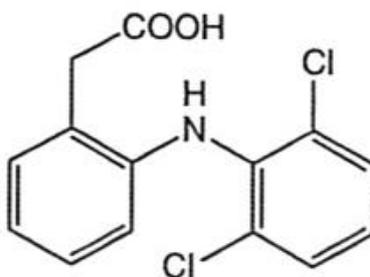


Figure 12 : Structure chimique du diclofénac (Ahuja, 2008).

Le diclofénac est peu hydrosoluble, il est donc utilisé fréquemment comme sels de sodium, de potassium ou de di-éthylamine. Lors d'usage ophtalmologique, le diclofénac est disponible en tant que solution aqueuse de 0,1% de son sel de sodium (Ahuja, 2008). On le retrouve dans la forme commerciale du Voltarène® collyre.

Au pH physiologique de la cornée, le diclofénac se trouve sous sa forme ionisée, ce qui limite sa pénétration cornéenne. Une perméabilité cornéenne significativement plus

importante du diclofénac a été observée pour des solutions ayant un pH plus bas (pH=6). Cependant, le fait de diminuer le pH entraîne la formation de précipités (Ahuja, 2008).

Après une application topique de diclofénac, des concentrations importantes de la molécule sont retrouvées dans la cornée saine et enflammée, cependant, la diffusion jusqu'à l'humeur aqueuse est pauvre lorsque la cornée est enflammée (Regnier, 2007).

Une étude (Unlu, 2010) a montré que chez des patients humains atteints de décollement de la rétine, la concentration de diclofénac dans le fluide sous-rétinien, 30 min après la dernière application topique, est de 42,31 ng/μL en moyenne, soit huit fois plus que dans l'humeur aqueuse (4,98 ng/μL). Les auteurs concluent que le diclofénac pourrait être plus efficace pour les cas survenant dans le segment postérieur que pour ceux concernant le segment antérieur.

1.6.4 Bromfénac

Le bromfénac est, comme le diclofénac, un dérivé de l'acide arylacétique. C'est un 2-amino-3-(4-bromobenzoyl) acide acétique benzoïque. Sa structure chimique (figure 13) est identique à celle de l'amfénac à la seule exception de la présence d'un atome de brome sur le carbone en C4.

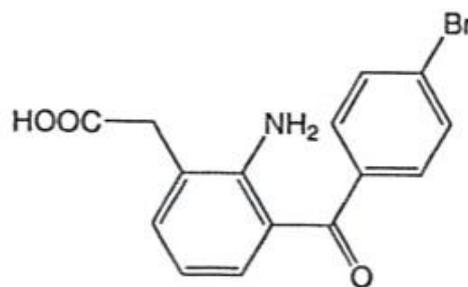


Figure 13 : Structure chimique du bromfénac (Ahuja, 2008).

Cet atome de brome rend la molécule de bromfénac plus lipophile, ce qui permet une bonne pénétration cornéenne, augmente sa durée d'action anti-inflammatoire et favorise l'inhibition de la COX-2 préférentiellement (Ahuja, 2008 ; Henderson, 2011). Cette inhibition sélective de la COX-2 est respectivement 3,7, 6,5, et 18 fois plus importante pour

le bromfénac que pour le diclofénac, l'amfénac (Ahuja, 2008) et le kétorolac (Waterbury, 2006b). Dans une autre étude (Ogawa, 1995), le bromfénac inhibait 3,8 fois plus la production de PGs que l'indométacine chez des lapins

Plusieurs études (Miyake, 2006 ; Si, 2011) ont montré que, chez l'homme et le lapin, après l'administration d'une goutte, le sodium de bromfénac 0,09%, (soit 0,9 mg) était absorbé en quinze minutes et atteignait sa concentration maximale dans l'humeur aqueuse (95,3 ng/g) au bout de 150 – 180 minutes, puis restait à sa concentration thérapeutique pendant au moins 12 heures. Chez le lapin (Si, 2011), les concentrations retrouvées dans les différents tissus oculaires après trois semaines d'application d'une goutte de bromfénac 0,09% trois fois par jour étaient de $1103,0 \pm 424$ ng/g dans la sclère, $78,1 \pm 13$ ng/g dans la choroïde, $32,4 \pm 5,4$ ng/g dans la rétine, $1,3 \pm 0,2$ ng/g dans le vitré et $55,9 \pm 9,2$ ng/g dans l'humeur aqueuse. Cette rémanence fait du bromfénac, le seul AINS en collyre pouvant être administré seulement deux fois par jour.

Si et son équipe (2011) ont comparé, chez le lapin, la concentration en bromfénac dans l'humeur aqueuse obtenue après instillation de bromfénac 0,09% en collyre ou contenu dans un gel oculaire à 0,045%, ayant des propriétés muco-adhésives permettant un temps de contact du principe actif prolongé (DuraSite®). Après une instillation unique ou après des instillations répétées pendant trois semaines, les concentrations obtenues dans l'humeur aqueuse étaient au moins 3 fois plus élevées pour la forme de gel muco-adhésif que pour le bromfénac en collyre. Cette forme galénique pourrait donc diminuer la fréquence d'administration du bromfénac.

1.6.5 Népafénac et amfénac

Le népafénac est une prodrogue lipophile, qui traverse facilement la cornée. Son groupement amine est ensuite clivé par des hydrolases cornéennes, ce qui libère la forme active du principe actif : l'amfénac. La structure de l'amfénac (figure 14) est très proche de celle du diclofénac et, comme on l'a vu, presque identique à celle du bromfénac. Walters (2007), dans une étude *in vitro*, a montré que l'amfénac était préférentiellement COX-2 sélectif.

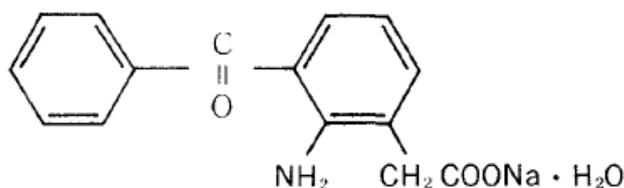


Figure 14 : Structure chimique du sodium d'amfenac (Sasaki, 1984)

Une étude (Walters, 2007) a montré que la concentration maximale en népafénac atteinte dans l'humeur aqueuse après l'application d'une goutte était 3 à 3,5 fois plus grande que celle de l'amfenac ou du kétorolac et 8 fois plus importante que celle du bromfénac. Cependant, une étude (Waterbury, 2006a), a montré que l'amfenac en collyre 0,1% avait une efficacité qui presque aussi importante que celle du bromfénac 0,1% ou du kétorolac 0,4%, ce qui suggère que la forme de prodrogue n'est pas indispensable pour obtenir une bonne pénétration oculaire et un effet anti-inflammatoire satisfaisant.

1.7 Utilisation clinique des AINS en collyre

1.7.1 Utilisation clinique du diclofénac en collyre

Le diclofénac 0,1% est appliqué en collyre pour diminuer la douleur cornéenne ressentie après une chirurgie ou un traumatisme, pour diminuer l'inflammation oculaire post-chirurgicale ou les inflammations chroniques de la cornée, mais aussi pour prévenir un myosis peropératoire lors de chirurgie de la cataracte ou pour soulager les symptômes lors de conjonctivite allergique (Ahuja, 2008).

Le diclofénac 0,1% est ainsi utilisé avant les chirurgies de photocoagulation de la rétine au laser (Weinberger, 2000 ; Zakrzewski , 2009) et en traitement postopératoire après une kératectomie photoréfractive au laser excimer (Sher, 1993 ; Stein, 1994) afin de diminuer la douleur éprouvée par les patients.

Le diclofénac 0,1% est aussi prescrit pendant 1 mois lors du suivi postopératoire des chirurgies du strabisme chez les humains. Il est préféré à la dexaméthasone 0,1% (Snir, 2000) et à la prednisolone 1% (Apt, 1998) car le diclofénac 0,1% est plus efficace au plan analgésique et présente moins d'effets secondaires que les corticostéroïdes, dont le plus fréquent est un retard de la cicatrisation de la plaie chirurgicale (Snir, 2000 ; Apt, 1998).

Enfin, le diclofénac 0,1% pourrait avoir un rôle dans la prévention de l'opacification de la capsule postérieure après la chirurgie de la cataracte. Inan (2006) a montré que le diclofénac 0,1%, administré pendant l'étape d'hydrodissection lors de la chirurgie de la cataracte, diminuait le développement de l'opacification de la capsule postérieure chez l'homme, mais ne la prévenait pas de façon significative. Mukai (2009) a cependant montré une diminution significative de l'opacification de la capsule postérieure chez le lapin, après 14 jours d'instillations postopératoires biquotidiennes de diclofénac en collyre.

1.7.2 Utilisation clinique du bromfénac en collyre

Le bromfénac est lui aussi, fréquemment utilisé lors de chirurgie de la cataracte chez l'homme afin de diminuer l'inflammation et la douleur postopératoires. Une première étude (Miyana, 2009) a montré qu'un traitement topique à base de collyre de bromfénac 0,1% avait les mêmes effets anti-inflammatoires qu'un traitement à base de collyre de bétaméthasone 0,1% après cette opération. Une autre étude (Henderson, 2011) a montré que l'utilisation de sodium de bromfénac 0,09% une fois par jour, un jour avant et 14 jours après la chirurgie de la cataracte avec implant, entraînait de meilleurs résultats que l'utilisation d'un placebo. En effet, les patients traités avec le bromfénac présentaient une meilleure acuité visuelle, moins de signes d'inflammation intraoculaire et moins de douleur postopératoire que les patients ayant reçu le placebo. Les mêmes résultats ont été obtenus par Donnerfeld (2007b), Silverstein (2011) et Walters (2014). Une dernière étude (Mukai, 2009) montre l'intérêt du bromfénac pour prévenir la contraction de la capsule antérieure du cristallin et l'opacification de la capsule postérieure du cristallin après une chirurgie de la cataracte chez des lapins.

Wang et al. (2011) ont montré que le bromfénac 0,09% en collyre était supérieur à la solution ophtalmique de kétorolac trométhamine 0,5% dans la gestion de la douleur postopératoire suivant une intervention de chirurgie réfractive par LASIK (*Laser-Assisted In-*

Situ Keratomileusis), dont le but est de corriger la myopie, mais également l'hypermétropie, l'astigmatisme ou la presbytie.

L'intérêt de l'utilisation du bromfénac afin de traiter la conjonctivite allergique a aussi été étudié. Hashimoto (2003) a comparé l'efficacité du bromfénac avec celle d'un antihistaminique, concernant la diminution du prurit, de l'œdème conjonctival et du niveau de prostaglandines dans l'exsudat lors de conjonctivite allergique chez le hamster. Il a ainsi montré que le bromfénac était plus efficace pour abaisser le taux de PGs, mais qu'il était inférieur à l'antihistaminique pour réduire le prurit et l'œdème conjonctival. Cependant, il restait supérieur en tous points comparé à un placebo. Dans une autre étude, Miyake-Kashima (2004) a comparé le bromfénac à un stabilisateur des mastocytes après une semaine de traitement chez des patients atteints de conjonctivite allergique. Il a trouvé que le bromfénac était aussi efficace que l'antiallergique dans le traitement de ce type de conjonctivite.

1.8 Effets des AINS en collyre sur la sensibilité cornéenne

Chez l'homme, plusieurs études ont montré que les AINS en collyre entraînaient une diminution de la sensibilité cornéenne. Zaidman (1995) a montré que, après une goutte de sodium de diclofénac, 100% des dix yeux traités montraient une diminution significative de leur sensibilité cornéenne quinze minutes après l'instillation, alors que neuf des dix yeux témoins ne montraient pas de changement. Une autre étude (Seitz, 1996) a montré que bien que le diclofénac et le kétorolac diminuaient tous les deux la sensibilité de la cornée dès 5 minutes après instillation, le diclofénac avait une action plus prolongée (70 minutes vs 40 minutes) que le kétorolac, mais aussi plus puissante puisque la longueur minimale du filament de l'esthésiomètre nécessaire pour déclencher une réponse après trente minutes était de $47,3 \pm 0,7$ mm pour le diclofénac et de $51,0 \pm 0,7$ mm pour le kétorolac. Aragona (2000) a lui aussi confirmé l'effet du diclofénac sur la sensibilité cornéenne, mais n'a pas montré de changement significatif concernant l'indométacine et le kétorolac. Une dernière étude (Yanai, 2013) s'est intéressée à l'effet du bromfénac chez l'homme après deux instillations quotidiennes pendant une durée de 28 jours. La sensibilité cornéenne a été mesurée, à l'aide d'un esthésiomètre de Cochet-Bonnet, 30 min après la première application puis après une semaine, deux semaines et quatre semaines de traitement. Les valeurs de sensibilité cornéenne

obtenues étaient plus basses dans le groupe traité que dans le groupe témoin, mais aucune différence significative n'a été trouvée.

A l'aide d'un esthésiomètre à gaz, Acosta (2005) a étudié, chez l'homme, l'effet du diclofénac sur la sensibilité cornéenne selon différents stimuli. Il a ainsi montré que le diclofénac atténuait significativement, dès 30 minutes, l'intensité des sensations générées par un stimulus mécanique, chimique ou thermique, et augmentait légèrement le seuil de détection de ces stimuli, bien que cette observation ne soit pas significative. Suite à ces résultats, l'auteur a émis l'hypothèse que le diclofénac pouvait réduire le nombre de fibres sensibles activées par un stimulus donné et/ou diminuer leur réponse, et qu'il affectait non seulement les récepteurs polymodaux, mais aussi les mécanorécepteurs et les récepteurs au froid.

Dans une étude récente, Singer et al. (2015) ont étudié l'effet comparé du diclofénac, du kétorolac, du bromfénac et du népafénac sur la sensibilité de la cornée chez l'homme. Ils ont montré qu'après 4 instillations faites à 5 minutes d'intervalle, ces 4 AINS entraînaient une diminution significative de la sensibilité cornéenne pendant 30 minutes, puis que l'on observait un retour progressif aux valeurs basales 45 et 60 minutes après la fin des instillations. Parmi les AINS testés, le diclofénac entraînait la diminution la plus importante de la sensibilité cornéenne (diminution maximale de la taille du filament de 28,6 mm), suivi par le kétorolac (21,1 mm), le bromfénac (6,9 mm) et le népafénac (16,4 mm).

Une étude chez le chat (Chen, 1997) s'est intéressée à la réponse des fibres sensibles de la cornée induite par un stimulus chimique et mécanique après instillation d'AINS. L'activité nerveuse des fibres A δ et C a été enregistrée sur les nerfs ciliaires isolés, et conjointement un esthésiomètre de Cochet-Bonnet et un esthésiomètre au CO₂, ont été utilisés pour produire des stimuli mécaniques et chimiques permettant d'identifier la réponse des récepteurs polymodaux suite à l'application de diclofénac 0,1%, d'indométacine 0,1%, de flurbiprofène 0,03%, et de diltiazem 0,045%, un inhibiteur des canaux calciques. Les résultats ont montré que, par ordre décroissant d'efficacité, l'indométacine, le diclofénac et le flurbiprofène entraînent une diminution de la fréquence des potentiels d'action des récepteurs cornéens après les stimuli chimiques mais pas après les stimuli mécaniques. Les auteurs concluent que l'effet anesthésique des AINS sur la cornée pourrait s'expliquer en partie par un effet direct des ces molécules sur la genèse des potentiels d'action des fibres sensibles et donc leur seuil d'excitabilité. Les auteurs ont aussi remarqué que, immédiatement après l'installation d'une goutte de ces différents médicaments, une brève décharge de potentiels

d'action était observable, ce qui pourrait expliquer la sensation de brûlure ressentie parfois chez l'homme au moment de l'application.

A notre connaissance, une seule étude (Montgomery et al, 2006) sur la sensibilité de la cornée et sa relation avec les AINS a été réalisée chez le chien. La sensibilité de la cornée a été mesurée avec un esthésiomètre de Cochet-Bonnet sur 24 chiens sains, avant et après application de trois gouttes de diclofénac 0,1% sur un œil et de son excipient sur l'autre œil. Une diminution significative de la sensibilité cornéenne après traitement a été observée pour chaque groupe. Cette diminution était plus importante pour le groupe ayant reçu le diclofénac mais cette différence n'était pas significative. Il n'apparaît donc pas clairement, à la vue de cette étude, si la baisse de la sensibilité cornéenne est imputable au diclofénac lui-même ou à son excipient.

1.9 Effets secondaires des AINS en collyre

L'effet secondaire le plus fréquemment observé avec l'utilisation des AINS en collyre est une sensation de brûlure passagère lors de l'application de la goutte, qui se caractérise par un blépharospasme, une hyperhémie conjonctivale et un épiphora. Ainsi, les études de pharmacovigilance au Japon, après la mise sur le marché du sodium de bromfénac, ont rapporté un taux d'irritation locale de 0,15% (Donnenfeld, 2006). Une autre étude (Henderson, 2011) a montré que la sécurité d'utilisation du bromfénac 0,09% après une chirurgie de la cataracte avec implant était la même que lors de l'utilisation du placebo ; les effets secondaires observés étant parfois moindres dans le groupe traité que dans le groupe placebo. Ces effets indésirables comprenaient une inflammation oculaire (11,8% vs 13,9%), une hyperhémie conjonctivale (8,5% vs 3,7%), une douleur oculaire (8,2% vs 14,5%) et la sensation de corps étranger (8,2% vs 8%). Avec une incidence bien moindre (inférieure à 1%), un œdème maculaire a été observé sans prédisposition pour le groupe traité avec le bromfénac (0,7% vs 1,4%).

L'utilisation du diclofénac en postopératoire est parfois associée au développement d'érosions cornéennes (Gaynes, 2002). Cette observation a aussi été retrouvée avec l'utilisation du kétorolac (Mian, 2006) après kératectomie photorefractive. De même,

l'utilisation postopératoire du bromfénac en collyre est associée à un taux de 0,41% d'érosions cornéennes (Donnenfeld, 2006). Dans une étude portant sur 6 ans, le taux d'effets secondaires graves rencontrés après utilisation de bromfénac était de 0,0002%. (Donnenfeld, 2006). Ils comprenaient 5 ulcères cornéens, 3 érosions cornéennes, 3 perforations cornéennes, 3 infiltrations cornéennes et 2 cas d'amincissement cornéen. Le mécanisme à l'origine de ces effets secondaires n'est pas totalement identifié, mais il a été montré qu'il y avait un lien avec l'hyperexpression d'une enzyme, la métalloprotéinase 8, au sein de l'épithélium cornéen, et qui serait responsable de kératomalacie (Reviglio, 2003).

Un retard de la cicatrisation cornéenne après une chirurgie ou un traumatisme a aussi été évoqué comme effet secondaire des AINS utilisés sous forme topique. Ayaki et al. (2010) ont étudié la cytotoxicité de différents antibiotiques et anti-inflammatoires, utilisés couramment en postopératoire après une chirurgie oculaire, sur des cellules d'épithélium cornéen de lapin et de bovin, ainsi que sur des cellules conjonctivales humaines. Cette étude a montré que la toxicité des anti-inflammatoires, dont le bromfénac et le diclofénac, est en partie dose dépendante. Elle est aussi liée à la présence des conservateurs dans les collyres, en particulier le chlorure de benzalkonium, présent notamment dans le Xibrom®, collyre à base de bromfénac 0,1%. Dans le cadre de cette étude, le diclofénac et le bromfénac ont aussi été utilisés sans conservateur. On peut conclure de ces résultats que le bromfénac sans conservateur est moins cytotoxique que le diclofénac sans conservateur. Cependant, les formulations commerciales de diclofénac et de bromfénac contenant des conservateurs sont équivalentes en termes de toxicité cellulaire.

On retrouve des résultats identiques dans l'étude de Qu et al. (2011) ayant pour but d'évaluer la toxicité sur des cellules épithéliales humaines de 4 collyres anti-inflammatoires, dont le bromfénac et le diclofénac. Les résultats montrent que le diclofénac est plus toxique que les trois autres collyres. C'est l'anti-inflammatoire qui diminue le plus la prolifération cellulaire et la migration cellulaire et qui entraîne le plus rapidement des effets cytotoxiques. A l'opposé, le bromfénac apparaît être le plus sûr d'utilisation, avec le moins d'effets cytotoxiques. Cette étude a montré, tout comme celle d'Ayaki et al. (2010), que la toxicité locale des AINS est dose dépendante. De même, il suggère un rôle cytotoxique des conservateurs présents dans les collyres car, en comparant les formes commercialisées de bromfénac et de diclofénac avec les principes actifs seuls, aucun effet cytotoxique n'a été retrouvé avec ces derniers. Une étude plus ancienne (Pfister, 1976) avait déjà montré l'effet

délétère du chlorure de benzalkonium sur des cornées de lapins et d'humains et l'avait attribué à un effet détergent sur la membrane plasmique des cellules épithéliales.

Dans un modèle *ex-vivo* sur des cornées fraîches de porcs, Xu et al (2011) ont comparé l'effet de différentes formulations de kétorolac, du bromfénac 0,09% et du népafénac 0,1% sur le retard de cicatrisation cornéenne. Les formulations commerciales du bromfénac (Xibrom®), du népafénac (Nevanac®), du kétorolac 0,4% (Acular®) et 0,5% (Acular® LD) ont été utilisées. Elles contenaient toutes, à différentes concentrations, du chlorure de benzalkonium comme conservateur. Une nouvelle formulation du kétorolac (Acuvail®), dépourvue de ce conservateur, a aussi été utilisée. La cicatrisation cornéenne était significativement moins ralentie pour la formule dépourvue de chlorure de benzalkonium que pour tous les autres collyres. L'étude a aussi montré que c'était le Nevanac®, contenant la plus forte concentration de chlorure de benzalkonium, qui retardait le plus la cicatrisation de la cornée.

Enfin, lors de l'utilisation des AINS en préopératoire (prévention du myosis et des effets inflammatoires liés au geste chirurgical par exemple), des saignements oculaires plus importants peuvent être observés pendant la chirurgie. De plus, les AINS peuvent entraîner une augmentation de la pression intraoculaire sur l'œil traité, ce qui doit être pris en considération chez les chiens ayant une prédisposition au glaucome primaire ou secondaire (Regnier, 2007).

2 Etude expérimentale de l'effet analgésique cornéen du bromfénac en collyre chez le chien.

2.1 Critères d'inclusion

L'étude esthésiométrique a été faite avec 20 beagles femelles cliniquement saines, appartenant au laboratoire de l'unité de Physiologie-Pharmacologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. L'âge des animaux variait de 1 à 6 ans avec une moyenne à $2,22 \pm 1,3$ ans et une médiane à 1,75 ans (cf. annexe 2). Tous les chiens étant de race Beagle, ils avaient donc une conformation de type dolichocéphale.

Avant chaque série de mesures, tous les animaux inclus dans l'étude ont été soumis à un examen clinique général, ainsi qu'à un examen ophtalmologique complet à l'aide d'une lampe à fente binoculaire (SL-15, Kowa Company, Tokyo, Japon), d'un test de Schirmer I (Virbac S.A., Carros cedex, France) afin d'obtenir une évaluation semi-quantitative de la sécrétion lacrymale, et d'une mesure de la pression intraoculaire (Tonovet®, Icare, Finlande). Un examen ophtalmoscopique indirect binoculaire a aussi été réalisé sur tous les chiens.

Les 20 chiens ainsi examinés ne montraient aucun signe d'affection générale et oculaire et ont donc été retenus pour cette étude.

2.2 Traitement au bromfénac sodique 0,09% en collyre

La forme commerciale du bromfénac sodique 0,09%, le Yellox® (cf photo 1), a été utilisée dans cette étude.



*Photo 1 : Flacon de Yellox®
CROMA, Berlin, Allemagne.*

Le choix de l'œil qui devait être traité avec le bromfénac s'est fait par tirage au sort (pile ou face) pour chaque chien. L'œil controlatéral a servi de témoin. Ainsi, onze yeux gauches et neuf yeux droits ont reçu le traitement au bromfénac.

Le protocole consistait en l'application de 4 gouttes, à 5 minutes d'intervalle, de Yellox® pour les yeux traités, et du même volume de larmes artificielles (Larmes artificielles Martinet®) dans l'œil controlatéral pour servir de contrôle. Les larmes artificielles choisies contenaient du chlorure de sodium à 1,4% ainsi qu'un conservateur, le chlorure de benzalkonium, aussi présent dans le Yellox®.



*Photo 2 : Flacon de larmes artificielles.
EXCELVISION, Annonay, France*

2.3 Mesure de la sensibilité cornéenne

Un esthésiomètre de Cochet-Bonnet (Luneau ophtalmologie, Chartres cedex, France) avec un filament de nylon d'un diamètre de section de 0,12 mm a été utilisé pour mesurer la sensibilité de la zone centrale de la cornée (photo 3). La longueur du filament pouvait varier entre 0 et 6 cm, correspondant à des valeurs de pression exercée à la surface de la cornée allant de 0,4 à 15,9 g/mm² (Annexe 1).



*Photo 3 : Esthésiomètre de Cochet-Bonnet.
Cylindre contenant le filament de nylon de 0,12 mm de diamètre. La molette permet de faire varier la longueur du filament dont la valeur est donnée en cm.*

Deux investigateurs ont participé à la phase animale de cette étude. Pour chaque mesure, le premier opérateur réalisait les traitements ainsi que la contention du chien tandis que le deuxième, muni de lunettes binoculaires (grossissement 2,5x, Heine Optotechnik GmbH & Co, Herrsching, Allemagne), mesurait la sensibilité des deux cornées avec l'esthésiomètre, sans savoir quel œil avait été traité. Le même opérateur a réalisé toutes les mesures.

Le filament de l'esthésiomètre était avancé au contact du centre de la cornée, de façon perpendiculaire, jusqu'à ce qu'une légère courbure du filament soit visible (photo 4). On définit le seuil de sensibilité cornéenne comme la longueur du filament en centimètres qui entraîne un réflexe de clignement lors d'au moins trois stimulations mécaniques sur cinq.



Photo 4 : Utilisation de l'esthésiomètre. Le fil de nylon est appliqué perpendiculairement à la cornée jusqu'à une légère courbure du filament (visible sur la photo) apparaisse.

Pour chaque chien, le seuil de base de la sensibilité cornéenne a été mesuré dix minutes et juste avant le début du protocole de traitement avec le bromfénac et les larmes artificielles. Les valeurs basales ont été établies comme suit : le filament a été utilisé à sa longueur maximale (6 cm) pour la première mesure, puis réduit par intervalles de 0,5 cm à chaque nouvelle mesure jusqu'à atteindre l'apparition des clignements réflexes déterminant le seuil de sensibilité cornéenne.

La sensibilité cornéenne a ensuite été mesurée 5, 10, 15, 30, 45, 60 et 90 minutes après la dernière instillation des 2 collyres. La longueur de départ du filament de l'esthésiomètre a été choisie en reprenant la valeur obtenue pour le seuil de sensibilité de base et en

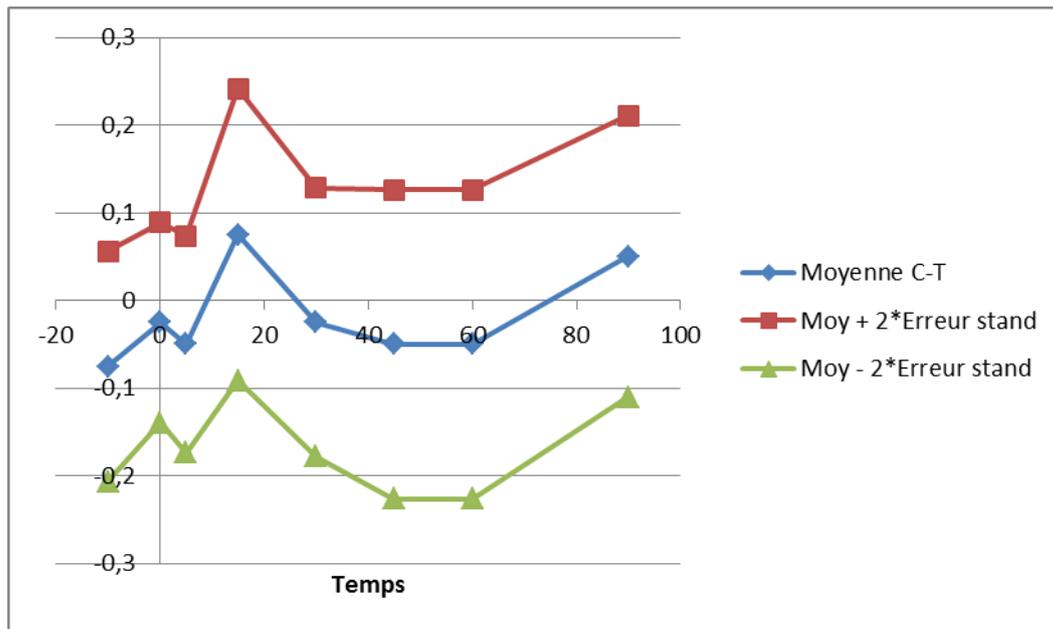
l'augmentant d'un centimètre. La méthode pour la mesure a été la même que pour la sensibilité de base.

2.4 Analyse statistique des données

L'analyse statistique de l'ensemble des données expérimentales a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft EXCEL.

La sensibilité cornéenne a été assimilée au seuil de sensibilité cornéenne, défini par la pression exercée par l'extrémité libre du filament de l'esthésiomètre sur la cornée déclenchant une réponse de clignement dans au moins trois des cinq stimulations effectuées. La longueur du filament de l'esthésiomètre correspondant à cette pression a été la mesure retenue comme la sensibilité cornéenne basale. Cette valeur a été conservée tout au long de l'analyse.

Un modèle linéaire en mesures répétées a été utilisé pour comparer l'évolution au cours du temps de la sensibilité cornéenne entre les deux groupes d'yeux (traités vs contrôles). Pour chaque chien et pour chaque temps expérimental, la différence entre la longueur du filament obtenue pour l'œil contrôle et pour l'œil traité a été calculée (Contrôle – Traité). Les valeurs obtenues ont été mises sous forme de tableau. La moyenne de ces valeurs ainsi que l'erreur standard, correspondant à l'écart-type divisé par la racine carrée de l'effectif, a été calculée pour chaque temps expérimental. La moyenne des valeurs Contrôle – Traité a été encadrée par +/- deux fois l'erreur standard, nous donnant les trois courbes présentes dans le graphique 1.



Graphique 1 : Valeurs moyennes de la différence entre la longueur du filament obtenu pour l'œil contrôle et pour l'œil traité, pour chaque temps expérimental (courbe bleue). Ces moyennes sont encadrées par +/- deux fois l'erreur standard (courbes rouge et verte), délimitant ainsi une zone prenant en compte les erreurs liées aux mesures expérimentales.

L'erreur standard est une estimation de l'écart type lié à l'erreur de la mesure (erreur expérimentale). L'erreur standard est considérée comme l'écart-type de la distribution (théorique) de toutes les erreurs qui seraient commises au cours des mesures. Cette distribution des erreurs est estimée normale (gaussienne).

Si la valeur obtenue en faisant la moyenne des différences entre la longueur du filament pour l'œil contrôle et l'œil traité est 0, cela signifie qu'il n'y a pas de différence entre la sensibilité cornéenne obtenue après traitement ou après placebo. Si cette valeur est positive, cela signifie que l'œil traité est moins sensible que l'œil contrôle car il aura fallu une longueur de filament plus courte pour induire une réponse. A l'inverse, si la valeur est négative, cela signifie que l'œil traité est plus sensible que l'œil témoin.

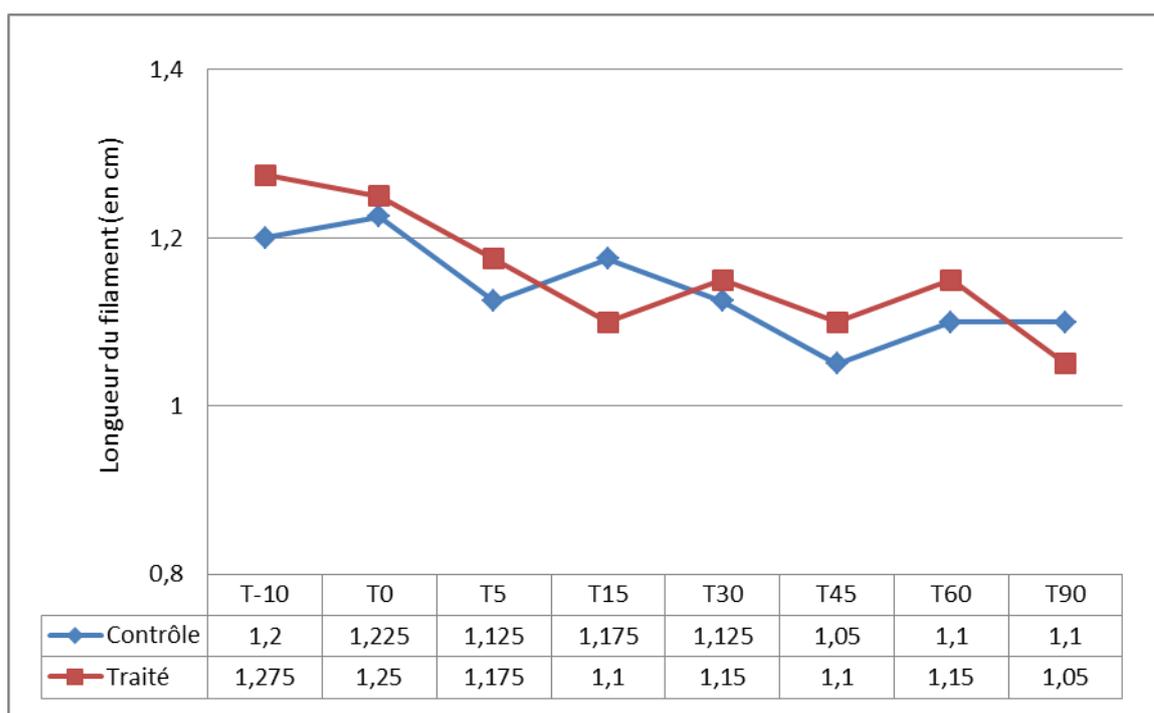
Dans notre étude, pour chaque temps expérimental, la valeur moyenne (courbe bleue) est centrée autour de la valeur 0, et cette valeur nulle est comprise entre les deux courbes (rouge et verte) délimitant les valeurs que l'on aurait pu obtenir en prenant en compte les erreurs de mesure. Cela signifie qu'il n'y a pas de différence significative entre les yeux traités et les yeux contrôles au cours du temps.

2.5 Résultats

Les résultats de toutes les mesures réalisées ont été récapitulés dans un tableau (cf annexe 3).

Pour l'ensemble des 20 chiens (40 yeux) de notre étude, et pour les temps T-10 et T0, la sensibilité cornéenne moyenne de base observée dans notre étude était de $1,23 \pm 0,34$ cm, avec une médiane à 1 cm.

L'évolution de la moyenne de la sensibilité cornéenne au cours de la période d'observation avant et après administration des collyres (bromfénac vs larmes artificielles) est représentée dans le graphique 2.



Graphique 2 : Evolution de la sensibilité cornéenne (longueurs moyenne du filament de l'esthésiomètre) au cours du temps obtenue après instillation de 4 gouttes de sodium de bromfénac 0,09% (courbe rouge) ou de 4 gouttes de larmes artificielles (courbe bleue).

Comme cela a été dit lors de l'analyse statistique, il n'y a pas de différence significative pour la sensibilité cornéenne au cours du temps entre les yeux ayant reçu le traitement au bromfénac et les yeux contrôles.

Lors des examens ophtalmologiques réalisés à la fin des manipulations, aucun signe d'intolérance locale (hyperhémie conjonctivale, épiphora ou blépharospasme) n'a été observé. Une faible prise de fluorescéine a été observée sur deux yeux traités et un œil témoin.

3 Discussion

Les AINS en collyre sont fréquemment utilisés en médecine humaine, en particulier dans le but de diminuer les signes d'inflammation oculaire inhérente après un traitement chirurgical tel que l'opération de la cataracte ou les kératectomies réfractives par exemple. Il s'est avéré par ailleurs, que suite à ces traitements, les patients semblaient éprouver un plus grand confort oculaire. De nombreuses études (Zaidman, 1995 ; Seitz, 1996 ; Aragona, 2000 ; Acosta, 2005 ; Singer, 2015) ont montré que cet effet pouvait s'expliquer par la capacité des AINS en topique à diminuer la sensibilité de la cornée chez l'homme.

En médecine vétérinaire, il semble que l'utilisation des AINS en collyre soit plus limitée, mais tend à se développer. Son indication principale est la préparation de l'œil à la chirurgie de la cataracte. A notre connaissance, une seule étude (Montgomery, 2006) a montré une diminution de la sensibilité cornéenne chez le chien après instillation de diclofénac, bien qu'il n'apparaisse pas clairement que cet effet ne soit pas aussi imputable à l'excipient de la formulation. Notre étude visait donc à déterminer la capacité du bromfénac 0,09% à diminuer la sensibilité de la cornée chez le chien adulte sain.

Notre étude a été faite avec 20 chiens dolichocéphales en bonne santé et ne présentant aucune anomalie à l'examen ophtalmologique. Pour chaque œil, la sensibilité de la cornée a été évaluée en son centre, à l'aide d'un esthésiomètre de Cochet-Bonnet, dans des conditions identiques de température et d'humidité. Dans le but de limiter les biais de mesure, un seul opérateur, aveugle quant aux traitements administrés, a réalisé toutes les mesures. Il était équipé de lunettes loupe afin de visualiser correctement l'application de l'extrémité du filament sur la cornée. La longueur du filament de l'esthésiomètre entraînant au moins 3 clignements réflexes sur 5 attouchements a été retenue comme évaluation du seuil de sensibilité cornéenne et a été utilisée pour les données chiffrées de notre étude. Il a été décidé de ne pas convertir la longueur du filament en pression exercée à la surface de la cornée car il a été montré que cette extrapolation était une source d'erreurs quand elle est appliquée à des moyennes puisqu'il n'existe pas de relation de proportionnalité entre les deux (Trost, 2007).

A la fin des mesures, chaque œil a eu un test de coloration à la fluorescéine et au rose Bengale afin de contrôler la présence éventuelle de lésions cornéennes imputables à l'utilisation de l'esthésiomètre ou à une possible toxicité du bromfénac. Sur l'ensemble des 20

chiens de l'étude, trois chiens ont présenté une prise diffuse de la fluorescéine, deux sur l'œil ayant reçu le bromfénac et un sur l'œil ayant reçu les larmes artificielles.

Dans notre étude, la sensibilité cornéenne basale moyenne a été mesurée à $1,23 \pm 0,34$ cm. Cette valeur est cohérente avec celles publiées préalablement dans les études de Barret et al. (1991) et de Douet et al. (2013) qui donnaient respectivement des valeurs de $1,55 \pm 0,54$ cm pour le premier et de $1,54 \pm 0,4$ cm pour le second. Des valeurs plus faibles avaient été mesurées dans l'étude de Kim et al. (2013) pour laquelle une moyenne de $0,925 \pm 0,674$ cm a été publiée. Pour chacune de ces études réalisées avec l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet, les chiens utilisés étaient aussi de race beagle. Les différences observées dans la mesure de la sensibilité cornéenne non liée à une différence de conformation céphalique, peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs tels que les variations individuelles, l'erreur expérimentale liée aux différents manipulateurs et la difficulté à réaliser ces mesures. Comme il a été souligné dans l'étude de Barrett et al. (1991) la mesure de la sensibilité cornéenne est difficile à réaliser chez le chien pour des raisons telles que les mouvements volontaires et involontaires du globe oculaire ou le manque de coopération du sujet nécessitant une contention plus ferme pouvant générer de l'anxiété. De même, la vision du filament ou du manche de l'esthésiomètre peut induire une réponse de clignement à la menace. En effet, Bonnet et Millodot (1966) ont montré que chez l'homme, les sujets clignaient des paupières plus souvent en ambiance lumineuse qu'à l'obscurité. La vision de l'instrument s'approchant de l'œil pourrait donc être un biais dans l'interprétation du clignement réponse. De plus, la fréquence des clignements réflexes des paupières étant d'environ 14 clignements/min chez le chien, il est possible que certains de ceux-ci soient interprétés, à tort, comme une réponse au toucher du filament sur la cornée. Cependant, il faut souligner que ces événements sont aléatoires par rapport aux stimulations répétées de la cornée par le fil de nylon, et que s'ils avaient interféré avec nos mesures, nous aurions vraisemblablement trouvé des valeurs de sensibilité cornéenne plus élevées que celles des autres études publiées.

D'après nos résultats, il semble que le bromfénac en collyre ne modifie pas significativement la sensibilité cornéenne dans les 90 minutes suivant son application chez le chien sain. Nos résultats ne viennent donc pas corroborer ceux de Montgomery et al (2006) qui ont constaté une diminution de la sensibilité cornéenne après administration de diclofénac en collyre. Comme dit précédemment, chez l'homme en revanche, plusieurs études menées chez des sujets sains et à l'aide d'un esthésiomètre de Cochet-Bonnet ont montré un effet significatif de différents AINS en collyre sur la sensibilité de la cornée. Cela a été observé

avec le diclofénac (Zaidman et al. 1995, Aragona et al. 2000, Acosta et al. 2005) et le kétorolac (Seitz et al 1996), responsables d'une baisse de la sensibilité cornéenne dans les 15 à 60 minutes suivant leur application. A notre connaissance, seules 2 études ont été consacrées à l'évaluation de l'effet analgésique cornéen du bromfénac en collyre chez l'homme (Yanaï, 2013 ; Singer, 2015). Singer (2015) a constaté une baisse significative de la sensibilité cornéenne immédiatement après instillation du collyre et persistant jusqu'à une heure. A l'inverse, Yanaï (2013) n'a pas trouvé de diminution significative de la sensibilité de la cornée immédiatement après instillation de bromfénac ni même au cours d'un traitement de 28 jours. Aucune de ces études, n'a été réalisée sur des sujets montrant des signes d'inflammation cornéenne ou venant de subir une chirurgie cornéenne ou endoculaire. L'effet des AINS sur la sensibilité de la cornée n'est donc pas connu dans ces cas-là. Il serait aussi intéressant de réaliser le même type de protocole chez le chien, en postopératoire immédiat d'une chirurgie de la cataracte par exemple, pour évaluer si les résultats observés seraient différents de ceux obtenus dans la présente étude.

Une première hypothèse pour expliquer l'absence de résultats significatifs dans notre étude est la dispersion des valeurs mesurées qui fait que l'erreur expérimentale reste supérieure aux variations potentielles induites par le traitement, et donc masque ces dernières. Pour l'homme, il est précisé dans certaines études (Seitz, 1996 ; Singer, 2015) qu'une réponse est considérée comme positive à l'attouchement cornéen si le sujet exprime verbalement qu'il a senti le filament au contact de sa cornée et non pas sur le clignement palpébral éventuellement induit. Bien que cela n'ait pas été démontré, il est tout à fait possible pour un sujet de ressentir le filament en nylon entrant en contact avec sa cornée sans que cela soit suffisant pour déclencher un réflexe de clignement palpébral. Il n'est évidemment pas possible d'obtenir ce degré de précision chez le chien.

Enfin il n'est pas encore évident de savoir s'il est bénéfique ou non d'avoir un effet anesthésique des AINS en collyre sur la cornée après une chirurgie oculaire. Une diminution de la sensibilité cornéenne permettrait de diminuer la douleur postopératoire, ce qui est important pour le confort du patient mais aussi pour éviter la survenue de complications liées à des traumatismes auto-infligés suite à la gêne ressentie. Cependant, la sécurité d'emploi des AINS en collyre, et dans notre cas, du bromfénac, n'est pas encore complètement établie. Quelques cas de fonte stromale ont été rapportés après utilisation de bromfénac en collyre chez l'homme (Asai, 2006 ; Isawi, 2007 ; Prasher, 2012). Il faut toutefois préciser que pour chacun des 5 cas, il y avait des facteurs de risques tels qu'un âge avancé (4 cas), une chirurgie

oculaire récente (3 cas), une affection cornéenne associée à une insuffisance lacrymale (2 cas), une kératopathie bulleuse (1 cas) et un ulcère cornéen surinfecté (1 cas). La fonte stromale a été diagnostiquée pour des durées de traitement allant de 5 à 40 jours. D'autres études chez l'homme ont montré, à l'inverse que le bromfénac en collyre est sûr d'utilisation sur le long terme. Ainsi, Uchio et al. (2007) n'ont pas rencontré d'effets secondaires graves sur des patients ayant une kératoconjonctivite vernale et ayant été traités pendant 21 mois en moyenne. De même, Yanaï et al. (2013) n'ont pas noté de complications après 28 jours de traitement biquotidien sur des sujets sains. Dans notre étude, une discrète prise centrale de la fluorescéine a été observée sur 2 yeux traités avec le bromfénac et sur un œil avec les larmes artificielles, et aucun signe d'hyperhémie conjonctivale ou d'irritation oculaire n'a été noté. Un effet délétère du bromfénac ne peut être exclu, même si cet effet nocif sur la cornée peut aussi être lié à l'utilisation de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet ou au chlorure de benzalkonium, présent dans les deux solutions utilisées. Notre observation, doit cependant inciter à utiliser les AINS en collyre en surveillant attentivement d'éventuels effets secondaires, en particulier en postopératoire ou en cas d'affection cornéenne préexistante.

Notre étude avait pour objectif d'évaluer l'effet du bromfénac 0,09% en collyre sur la sensibilité de la cornée du chien sain. Aucune diminution significative de la sensibilité n'a été démontrée, pour chaque temps expérimental, que ce soit avec le collyre de bromfénac 0,09% ou celui des larmes artificielles utilisé comme placebo. Aucun effet indésirable marqué n'a été identifié sur l'ensemble des chiens de l'étude. Ces données concernent des chiens de conformation dolichocéphales sans anomalie à l'examen clinique et ophtalmologique. Il serait intéressant, au vue des précédentes études sur l'esthésiométrie cornéenne, de réaliser des mesures complémentaires sur des chiens brachycéphales ou présentant une affection oculaire et/ou systémique, afin d'évaluer si le bromfénac en collyre a un impact sur la sensibilité cornéenne de ces chiens ou des effets délétères plus marqués.

CONCLUSION

En ophtalmologie vétérinaire, l'utilisation des AINS en collyre se limite principalement à la préparation à la chirurgie de la cataracte chez le chien, alors qu'ils sont fréquemment utilisés en médecine humaine, particulièrement en traitement postopératoire. De nombreuses études montrent que les AINS en collyre permettent aussi d'obtenir un certain degré d'analgésie cornéenne. Cet effet analgésique peut s'expliquer par une diminution locale de la production de prostaglandines grâce à l'effet COX inhibiteur des AINS, mais aussi par une action directe sur les fibres nerveuses sensibles de la cornée.

Différentes études chez l'homme montrent une diminution de la sensibilité cornéenne dans les minutes suivant l'application topique de certains AINS. Ceci a particulièrement été bien étudié pour le diclofénac, mais cet effet a aussi été observé pour le kétorolac, l'indométacine et le bromfénac.

Notre étude n'a pas montré de diminution significative de la sensibilité cornéenne chez le chien sain dans les 90 minutes suivant l'application de bromfénac 0,09 % en collyre. Ces résultats doivent être nuancés par l'impossibilité d'obtenir un degré de précision élevé lors des mesures esthésiométriques en médecine vétérinaire. Aucun effet secondaire n'a été observé au cours de l'étude ; le bromfénac 0,09 % en collyre apparaît donc sûr d'utilisation sur des cornées saines.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Alain REGNIER**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **GRAPPERON Barbara** intitulée « *Evaluation de l'analgésie cornéenne induite par l'instillation d'un collyre de bromfénac 0,09% chez le chien sain.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 7 juillet 2015
Professeur Alain REGNIER
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

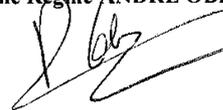
Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMUTELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Pierre FOURNIE


Pi Pierre FOURNIE
Service Ophtalmologie
CHU PURPAN - Hôpital Pierre Paul Biquet
TSA 80024
31059 TOULOUSE Cedex

Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur Bertrand MONTHUBERT
Par délégation, la Vice-Présidente du CEVU
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



Mlle GRAPPERON Barbara
a été admis(e) sur concours en : 2008
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012
a validé son année d'approfondissement le : 23/10/2014
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

- ACOSTA, M. C., BERENQUER-RUIZ, L., GARCIA-GALVEZ, A., PEREA-TORTOSA, D., GALLAR, J., BELMONTE, C. (2005) Changes in mechanical, chemical and thermal sensitivity of the cornea after topical application of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*; **46**: 282-6
- AHUJA M., DHAKE A. S., SHARMA S. K., MAJUNDAR D. K. (2008) Topical ocular delivery of NSAIDs. *The AAPS Journal*; **10**:229-241
- APT, L., VOO, I., ISENBERG, S. (1998) A randomized clinical trial of the nonsteroidal eyedrop diclofenac after strabismus surgery. *Ophthalmology*; **105**: 1448-1454.
- ARAGONA, P., FRAGALA, I., OTERI, F. C., BATTAGLIA, F., FERRERI, G. (2000) The effects of the topical administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs on corneal epithelium and corneal sensitivity in normal subjects. *Eye*; **14**:206-10
- ASAI, T., NAKAGAMI, T., MOCHIZUKI, M., HATA, N., TSUCHIYA, T., HOTTA, Y. (2006) Three cases of corneal melting after instillation of a new nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Cornea*; **25** : 224-227
- AYAKI M., IWASAWA, A., SODA, M., YAGUCHI, S., KOIDE, R. (2010) Cytotoxicity of five fluoroquinolone and two non steroidal anti-inflammatory benzalkonium chloride-free ophthalmic solutions in four corneoconjunctival cell lines. *Clinical Ophthalmology* **4**: 1019-1024.
- BARRETT, P. M., SCAGLIOTTI, R. H., MERIDETH, R. E., JACKSON, P. A., ALARCON, F., L. (1991) Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. *Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology*; **1**: 245-54
- BELMONTE, C., GARCIAHIRSCHFELD, J. & GALLAR, J. (1997) Neurobiology of ocular pain. *Progress in Retinal and Eye Research*; **16**: 117-56

- BELMONTE, C., ACOSTA, M. C., SCHMELZ, M., GALLAR, J. (1999) Measurement of corneal sensitivity to mechanical and chemical stimulation with a CO₂ esthesiometer. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*; **40**: 513-9
- BLOCKER T., HOFFMAN, A., SCHAEFFER, D. J., WALLIN, J. A. (2007) Corneal sensitivity and aqueous tear production in dogs undergoing evisceration with intraocular prosthesis placement. *Veterinary Ophthalmology* 10 :147-154
- BONNET, R., MILLODOT, M. (1966) Corneal aesthesiometry: its measurement in the dark. *American Journal of Optometry and Physiological Optics*; **43**: 238-43
- BORDERIE, V., TOUZEAU, O., BOURCIER, T., LAROCHE, L. (2005) Physiologie de la cornée. *EMC-Ophthalmologie* 2 103-117
- BOURCIER, T., ACOSTA, M. C., BORDERIE, V., BORRAS, F., GALLAR, J., BURY, T., LAROCHE, L., BELMONTE, C. (2005) Decreased corneal sensitivity in patients with dry eye. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*; **46**: 2341-5
- BROOKS, D. E., CLARKS, C. K. & LESTER, G. D. (2000) Cochet-Bonnet aesthesiometer-determined corneal sensitivity in neonatal foals and adult horses. *Veterinary Ophthalmology*; **3**: 133-137
- BUCCI F. A., WATERBURY, L. D. (2008) Comparison of ketorolac 0.4% and bromfenac 0.09% at through dosing: Aqueous drug absorption and prostaglandin E2 levels. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*; **34**: 1509-1512
- BUCOLO, C., MELILI, B., PIAZZA, C., ZURRIA, M., DRAGO, F. (2011) Ocular pharmacokinetics profile of different indomethacin topical formulations. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*; **6**:571-576.
- CHEN, X., GALLAR, J. & BELMONTE, C. (1997) Reduction by anti-inflammatory drugs of the response of corneal sensory nerve fibers to chemical irritation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*; **38**: 1944-53

- CLERC, B. (1997). *Anatomie de l'œil et de ses annexes* in *Ophthalmologie vétérinaire 2^{ème} édition*. Editions du Point Vétérinaire 9-42.
- DONNENFELD, E. D., DONNENFELD, A. (2006) Global experience with Xibrom (bromfenac ophthalmic solution) 0.09% : the first twice-daily ophthalmic nonsteroidal anti-inflammatory drug. *International Ophthalmology Clinics*; **4**: 21-40
- DONNENFELD, E. D., HOLLAND, E. J., STEWART, R. H., GOW, J. A., GRILLONE, L. R. (2007) Bromfenac Ophthalmic Solution 0.09% (Xibrom) for Postoperative Ocular Pain and Inflammation. *Ophthalmology*; **114**:1653-1662
- DOUET J. Y., MICHEL J., REGNIER A. (2013) Degree and duration of corneal anesthesia after topical application of 0.4% oxybuprocaine hydrochloride ophthalmic solution in ophthalmically normal dogs. *American Journal of Veterinary Research* **10** : 1321-1326.
- GAYNES, B. I., FISCELLA, R. (2002) Topical nonsteroidal anti-inflammatory drug for ophthalmic use: a safety review. *Drug Safety*; **4**: 233-250.
- GAYTON, J. (2009) Concentration and dosing of ketorolac versus bromfenac. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*; **35**: 1919.
- GOLEBIEWSKI, B., PAPAS, E. & STAPLETON, F. (2011) Assessing the sensory function of the ocular surface: Implications of use of a non-contact air jet aesthesiometer versus the Cochet-Bonnet aesthesiometer. *Experimental Eye Research*; **92**: 408-13
- HASHIMATO, T., IGARASHI, A., HOSHINA, F., YAMADA, M., TOYODA, Y., NOTSU, Y., KOHNO, S. (2003) Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on experimental allergic conjunctivitis in Guinea pigs. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*; **6**:569-577.
- HE, J., BAZAN, N. G. & BAZAN, H. E. (2010) Mapping the entire human corneal nerve architecture. *Experimental Eye Research*; **91**: 513-23

- HENDERSON B. A., GAYTON J. L., CHANDLER S. P., GOW J. A., KLIER S. M., McNAMARA T. R. (2011) Safety and efficacy of bromfenac ophthalmic solution (Bromday) dosed once daily for postoperative ocular inflammation and pain. *Ophthalmology* ;**118**:2120-7
- INAN U. U. BOZKURT, E., OZTURK, F., ERMIS, S., YAMAN, S. (2006) Effect of diclofenac on prevention of posterior capsule opacification in human eyes. *Canadian Journal of Ophthalmology*; **41**: 624-9.
- ISAWI, H., DHALIWAL, D. K. (2007) Corneal melting and perforation in Stevens Johnson syndrome following topical bromfenac use. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*; **33**: 1644-1646.
- KAFARNIK C., FRITSCHKE J., REESE S. (2008) Corneal innervations in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using in vivo confocal microscopy. *Veterinary Ophthalmology* **11** : 363-367
- KAPS, S., RICHTER, M. & SPIESS, B. M. (2003) Corneal esthesiometry in the healthy horse. *Veterinary Ophthalmology*; **6**: 151-55
- KIM, J., KIM, N-S., LEE, K-C., LEE, H-B., KIM, M-S., KIM, H-S. (2013) Effect of topical anesthesia on evaluation of corneal sensitivity and intraocular pressure in rats and dogs. *Veterinary Ophthalmology* **16**: 43-46
- MARFURT, C. F., MURPHY, C. J., FLORCZAK J. L. (2001) Morphology and neurochemistry of canine corneal innervations. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*; **42** : 2242-2251.
- MARTIN, C.L (2005), in *Ophthalmic disease in veterinary medicine.*, Manson publishing, London, 183-218
- McCORMACK, K., BRUNE, K. (1991) Dissociation between the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs*; **4**: 533-547

- MIAN, S. I., GUPTA, A., PINEDA, R. (2006) Corneal ulceration and perforation with ketorolac tromethamine (Acular) use after PRK. *Cornea*; **2**: 232-234.
- MILLODOT, M. (1977) Influence of age on sensitivity of cornea. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*; **16**: 240-2
- MILLODOT, M., OWENS, H. (1984) The influence of age on the fragility of the cornea. *Acta Ophthalmologica*; **62**: 819-24
- MIYAKE-KASHIMA, M., TAKANO, Y., TANAKA, M., SATAKE, Y., KAWAKITA, T., DOGRU, M., ASANA-KATO, N., FUKAGAWA, K., FUJISHIMA, H. (2004) Comparison of 0.1% Bromfenac Sodium and 0.1% Pemirolast Potassium for the Treatment of Allergic Conjunctivitis. *Japanese Journal of Ophthalmology*; **48** : 587-590
- MIYANAGA M., MIYAI, T., NEJIMA, R., MARUYAMA, Y., MIYATA, K., KATO., S. (2009) Effect of bromfenac ophthalmic solution on ocular inflammation following cataract surgery. *Acta Ophthalmologica* **87**: 300-305
- MIYAKE, K., OGAWA, T., TAJIKA, T., GOW, J. A., McNAMARA, T. R (2008) Ocular pharmacokinetics of a single dose of bromfenac sodium ophthalmic solution 0.1% in human aqueous humor. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*; **24**: 573-578
- MONTGOMERY, K., W., HERRING, I. P., SCHORLING, J. J. (2006) Diclofenac on corneal sensitivity in normal dogs. Proceedings Notes of American College of Veterinary Ophthalmologists, 37th Annual Conference, San Antonio, TX, p 32.
- MUKAI, K., MATSUSHIMA, H., GOTOH, N., AOSE, M., SATOSHI, W., WATARU, T., MATSUI, E., NAGATA, M., SENOO, T. (2009) Efficacy of ophthalmic nonsteroidal anti-inflammatory drugs in suppressing anterior capsule contraction and secondary posterior capsule opacification. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*; **35**: 1614-1618.

- OGAWA, T., SAKAUE, T., TERAJ, T., FUKIAGE, C (1995) Effects of bromfenac sodium non-steroidal anti-inflammatory drug on acute ocular inflammation. *Nippon Gakka Gakkai Zasshi*; 99:406-411
- PFISTER, R. R., BURSTEIN, N. (1976) The effects of ophthalmic drugs, vehicles and preservatives on corneal epithelium: a scanning electron microscope study. *Investigative Ophthalmology*; **15**: 246-259
- PRASHER, P. (2012) Acute corneal melt associated with topical bromfenac use. *Eye Contact Lens*; **38** : 260-262
- QU M., WANG Y., YANG L., ZHOU Q. (2011) Different cellular effects of four anti-inflammatory eye drops on human corneal epithelial cells: independent in active components. *Molecular Vision* 17: 3147-3155
- REGNIER, A. (2007) Clinical pharmacology and therapeutics. *In Veterinary Ophthalmology, 4th edition*. Ed E. K.N. Gelatt, Blackwell Publishing, Oxford; 2:288-331
- REGNIER A., Ophtalmologie du chien et du chat (1ere partie). Enseignement A3 2012-2013. Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse, France.
- REVIGLIO, V. E., LI, Q. J. (2003) Effects of topical nonsteroidal antinflammatory drugs on the expression of matrix metalloproteinases in the cornea. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*; 5: 989-997
- SAMUELSON, D. A. (2007) Ophthalmic Anatomy. *In Veterinary Ophthalmology 4th edn*. Ed B. P. K.N. Gelatt, Oxford; 2:37-148
- SAMUELSON, D. A. (2014) Ophthalmic structures. *In Essentials of Veterinary Ophthalmology, 3rd edn*. Ed K. N. Gelatt, Oxford 2: 21-24.
- SANDERS, D. R., GOLDSTICK, B., KRAFF, C., HUTCHINS, R., BERNSTEIN, M. S., EVANS, M. A. (1983) Aqueous penetration of oral and topical indomethacin in humans. *Archives of Ophthalmology* 101 : 1614.

- SASAKI, H., ODAKI, M., YOKOTA, M., KAWAOTO, H., WATANABE, H., ITOH, T., ISHIWATARI, N., WADA, T., SEKI, M., KOEDA, T. (1984) Toxicological studies on amfenac sodium (AHR-5850) – (I) Acute toxicities in mice and rats – *The Journal of Toxicological Sciences*; **9**: 87-99
- SAUTET, J., Structure générale de l'œil, in Document pédagogique pour le C.E.S. d' Ophthalmologie Vétérinaire. 2014 : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France
- SEITZ, B., SORKEN, K., LABREE, L. D., GARBUS, J. J., McDONNELL, P. J. (1996) Corneal Sensitivity and Burning Sensation: Comparing Topical Ketorolac and Diclofenac. *Archives of Ophthalmology*; **114**: 921-924
- SHER, N., FRANTZ, J. M., TALLEY, A., PARKER, P., LANE, S. S., OSTROV, C., CARPEL, E., DOUGHMAN, D., DEMARCHI, J., LINDSTROM, R. (1993) Topical diclofenac in the treatment of ocular pain after excimer photorefractive keratectomy. *Refractive and Corneal Surgery*; **9**: 425-436
- SI, E. C., BOWMAN L. M., HOSSEINI, K. (2011) Pharmacokinetic comparisons of bromfenac in DuraSite and Xibrom. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutic*; **27**: 61-66
- SILVERSTEIN, S. M., CABLE, M. G., SADRI, E., PEACE, J. H., FONG, R., CHANDLER, S. P., GOW, J. A., KLIER, S. M., McNAMARA, T. R. (2011) Once daily dosing of bromfenac ophthalmic solution 0.09% for postoperative ocular inflammation and pain. *Current Medical Research & Opinion*; **27** : 1693-1703
- SINGER, D. D., KENNEDY, J., WITTPENN, J. R. (2015) Topical NSAIDs Effect on Corneal Sensitivity. *Cornea*; **34**: 541-543
- SLATTER (1990), *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, W. B. Saunders CO, Philadelphia
- SNIR, M., AXEL6SIEGEL, R., FRILING, R., WEINBERGER, D. (2000) Efficacy of diclofenac versus dexamethasone for treatment after strabismus surgery. *Ophthalmology*; **107**: 1884-1888.

- STEIN, R. STEIN, H. A., CHESKES, A., SYMONS, S. (1994) Photorefractive keratectomy and postoperative pain. *American Journal of Ophthalmology*; **3**: 403-405.
- TROST, K., SKALICKY, M., NELL, B. (2007) Schirmer tear test, phenol red thread tear test, eye blink frequency and corneal sensitivity in the guinea pig. *Veterinary Ophthalmology*; **10** : 143-146
- UNLU N., KOCAOGLAN, H., SAYIN, F., HAZIROLAN, D., DEMIRCAN, S., BASCI, N., ACAR, M. A., DEMIR, N; M., DUMAN, S. (2010) Penetration of topically applied diclofenac and ketorolac into the aqueous humour and subretinal fluid: randomized clinical trial. *Canadian Journal of Ophthalmology*; **45**: 610-5.
- WALTERS, T. R., RAIZMAN, M., ERNEST, P., GAYTON, J., LEHMANN, R. (2007) In vivo pharmacokinetics and in vitro pharmacodynamics of nepafenac, amfenac, ketorolac and bromfenac. *Journal of Cataract & Refractive Surgery* **33**: 1539-1545
- WALTERS, T. R., GOLDBERG, D. F., PEACE, J. H., GOW, J. A. (2014) Bromfenac Ophthalmic Solution 0.07% Dosed One Daily for Cataract Surgery: results of two randomized controlled trials. *Ophthalmology*; **1**: 25-33
- WANG, X. J., WONG, S. H., GIVERGIS, R., CHYNN, E. W. (2011) Evaluation of analgesic efficacy of bromfenac sodium ophthalmic solution 0.09% versus ketorolac tromethamine ophthalmic solution 0.5% following LASEK or Epi-LASEK. *Clinical Ophthalmology* **5**: 1451-1457.
- WATERBURY, L. D. (2006a) Ocular anti-inflammatory activity of amfenac relative to other nonsteroidal anti-inflammatory agents. *The FASEB Journal* **20** :A1127
- WATERBURY, L. D., SILLIMAN, D., JOLAS, T. (2006b) Comparison of cyclooxygenase inhibitory activity and ocular anti-inflammatory effect of ketorolac tromethamine and bromfenac sodium. *Current Medical Research & Opinion*; **22**:1133-1140

- WATERBURY, L. D., GALINDO, D., VILLANUEVA, L., NGUYEN, C., PATEL, M., BORBRIDGE, L., ATTAR, M., SCHIFFMAN, R. M. (2011) Ocular penetration and anti-inflammatory activity of ketorolac 0.45% and bromfenac 0.09% against lipopolysaccharide-induced inflammation. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*; **27**: 173-178
- WEINBERGER, D., RON, Y., LICHTER, H., ROSENBLAT, I., AXER-SIEGEL, R., YASSUR, Y. (2000) Analgesic effect of topical sodium diclofenac 0.1% drops during retinal laser photocoagulation. *British Journal of Ophthalmology*; **84**: 135-137.
- XU, K., McDERMOTT, M., VILLANUEVA, L., SCHIFFMAN, R. M., HOLLANDER, D. A. (2011) Ex vivo corneal epithelial wound healing following exposure to ophthalmic nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical Ophthalmology*; **5**: 269-274
- YANAI, K., HUANG, J., KADONOSONO, K., UCHUIO, E. (2013) Corneal sensitivity after topical bromfenac sodium eye-drop instillation. *Clinical Ophthalmology*; **7**: 741-744
- ZAIDMAN G. W., VALHALLA K. A. (1995) Diclofenac and its effect on corneal sensation. *Archives of Ophthalmology* **113** : 262
- ZAKRZEWSKI P., O'DONNELL H., & LAM W.C (2009) Oral versus topical diclofenac for pain prevention during panretinal photocoagulation. *Ophthalmology*; **116**: 1168-1174.

ANNEXES

Longueur du filament (mm)	60	55	50	45	40	35	30	25	20	15	10	5
Valeur moyenne des pressions (mg/s)	5	5,5	6	8	9,5	11,5	15,5	20	31,5	58	116	180
Valeur moyenne des pressions (mg/s)	0,4	0,5	0,55	0,7	0,8	1	1,4	1,8	2,8	5,1	10,3	15,9

Section du fil de Nylon $S = 0.0113 \text{ mm}^2$ soit un diamètre de 0,12 mm.

Valeurs mesurées dans des conditions d'humidité et de température contrôlées.

Annexe 1 : Table de conversion de la longueur du filament de l'esthésiomètre en pression exercée sur la surface de la cornée

N° Chien	Sexe	Poids	Age (an)
1	F	Surpoids	6
2	F	Normal	1
3	F	Normal	1
4	F	Normal	1,75
5	F	Normal	1
6	F	Normal	3,8
7	F	Normal	3,9
8	F	Normal	3,9
9	F	Normal	1,6
10	F	Normal	1,6
11	F	Normal	1,4
12	F	Normal	1,4
13	F	Normal	1,75
14	F	Normal	1,4
15	F	Normal	2,25
16	F	Surpoids	2,25
17	F	Normal	1,75
18	F	Normal	1,25
19	F	Normal	2,75
20	F	Normal	2,75

Annexe 2 : Données épidémiologiques

Chien	Œil	T-10	T0	T5	T15	T30	T45	T60	T90
1	OD	1	1	1	1,5	1	1	1,5	1,5
	OG	1	1	1,5	1	1,5	1,5	0,5	0,5
2	OD	2	1,5	1,5	2	1,5	1,5	1,5	2
	OG	1,5	2	2	1,5	2	1,5	2	1
3	OD	1,5	2	1,5	1	1	1	1	1
	OG	2	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1
4	OG	1	2	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1
	OD	1,5	1,5	1	1	1	1	1	1
5	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	2	2	1,5	1,5
	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
6	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1
	OG	1,5	1,5	1,5	1	1	1,5	1,5	1
7	OD	1	1	1,5	1,5	1,5	1	1	1,5
	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1,5
8	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1,5
	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
9	OD	1,5	1,5	0,5	1	1	1,5	1	1
	OG	1,5	1,5	1	1	1	1	1,5	1
10	OG	1	1	1	1	1	1	1	1
	OD	1	1	1,5	1	1	1	1	1
11	OD	1	0,5	0,5	0	0,5	0	0,5	0,5
	OG	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1,5	0,5
12	OG	1	1	1	1	1	0,5	1	1
	OD	1	1	1	0,5	1	0,5	1	1
13	OD	1	1	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5
	OG	1	1	0,5	1	1	1	1	1
14	OG	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	OD	1,5	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5
15	OG	1	1	1	1	0,5	0,5	1	1
	OD	1	1	1	0,5	1	1	1	1
16	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1,5	1,5
	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
17	OD	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	OG	1	1	1	1	1	1	1	1
18	OD	1,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1
	OG	1,5	1,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5
19	OG	1	1	1	1,5	1	1	1	1
	OD	1	1	1	1,5	1	1	1	1
20	OD	1	1	1	1	1	0,5	1	1
	OG	1	1	1	1	1	1	1	1

Annexe 3: Résultats des mesures obtenues après application de 4 gouttes de bromfénac 0,1% (œil traité) ou de larmes physiologiques (œil témoin).