



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 : 6253](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID/6253)

To cite this version :

Michel, Julien. *Étude de l'anesthésie cornéenne induite par l'instillation d'un collyre de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4% chez le chien*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2012, 98 p

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

ÉTUDE DE L'ANESTHÉSIE CORNÉENNE INDUITE PAR L'INSTILLATION D'UN COLLYRE DE CHLORHYDRATE D'OXYBUPROCAÏNE 0,4% CHEZ LE CHIEN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

MICHEL Julien

Né, le 13 Novembre 1985 à VERSAILLES (78)

Directeur de thèse : M. Alain REGNIER

JURY

PRESIDENT :
M. Jean-Louis ARNE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Alain REGNIER
M. Jean SAUTET

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

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

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
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. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1° CLASSE

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2° CLASSE

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*

Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*

M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*

Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*

Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*

M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*

Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*

Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*

M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*

Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*

M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*

M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*

M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*

M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*

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*

M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*

M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*

M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*

M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*

Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*

M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*

Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*

M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*

M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*

M. **DASTE Thomas**, *Urgences-soins intensifs*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*

M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*

Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*

Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*

M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*

Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A notre président de thèse,

Monsieur le Professeur Jean-Louis ARNE,

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier,

Ophthalmologie

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A notre jury de thèse,

Monsieur le Professeur Alain REGNIER,

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Physiopathologie oculaire

Qui nous a guidé et conseillé dans l'élaboration de ce travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Monsieur le Professeur Jean SAUTET,

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Anatomie

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Qu'il trouve ici nos sincères remerciements et toute notre reconnaissance.

Au Docteur Jean-Yves DOUET,

Pour son aide précieuse à la réalisation de ce travail, sa disponibilité exemplaire et son dévouement pour l'ophtalmologie vétérinaire.

Sincères remerciements.

Au personnel des laboratoires de Physiologie et de Parasitologie,

Pour leur accueil chaleureux et leur disponibilité.

Un grand merci.

A ma famille,

A **Marie-Anne**, qui m'accompagne, me soutient et me bonifie au quotidien ; merci pour ton amour, ton écoute et ta patience ; qu'il en soit ainsi encore longtemps. Je t'aime.

A **Maman** et **Papa**, pour ces valeurs que vous avez su nous transmettre sans aucune contrainte, pour ce cocon familial que vous avez su construire, merci de m'avoir donné la force de réaliser mes rêves. Vous êtes mon modèle et j'espère vous rendre fier encore longtemps. A **Sébastien**, mon frère sur qui je peux compter et avec qui la pensée dépasse les mots. Je vous aime.

A **Mamie**, **Pépé**, **Mémé** et **Papy**, pour votre vie exemplaire dévouée au bonheur de notre famille et à la transmission des valeurs qui m'ont guidé et me guideront dans ma vie personnelle et professionnelle. C'est grâce à vous et pour vous que je ferai ce métier.

A **Geneviève** et **Gérard**, pour l'amour que vous m'offrez et le soutien sans faille sur lequel je peux compter. Un grand merci.

A la **famille Barondeau**, pour votre générosité et la chaleur avec laquelle vous m'avez accueilli et m'accueillez toujours.

A toute la **famille bretonne**, tous aussi nombreux que vous êtes, pour avoir toujours vu en moi un futur vétérinaire ; le doryphore vous salue bien !

A mes amis,

Aux cinq bons compagnons « Miramariens », pour votre porte toujours ouverte et les meilleurs souvenirs qui me resteront de l'école vétérinaire. **Fx**, parce que j'ai failli te mettre dans la section précédente ; **Martich'**, pour ce 1^{er} clandé, tes chaudes larmes et mes meilleures soirées ; **Mumu**, pour ton « aveyronisme » et ta simplicité ; **Gueydon**, pour ta suprématie physique aux Aiglons et ton amour pour le Nord ; **Zézette**, pour tes exploits malgré toi et ta grande finesse. Sans oublier un grand merci pour vos « bijoux » de famille !

A la promo « Gauchot » : Julie sur qui je peux compter à tout moment, Pinpin le chasseur de puces cendrées pour qui rien n'est impossible, Laz champion olympique de strabisme, Edouard « la menace » que tous les blaireaux craignent (et pas que), Emilie la bordelaise allergique au vin rouge, Aurélie « la pince » fan des Aiglons, Fraselle « ce bon vieux bonhomme » (qui m'a supporté), Evence « la blatte d'Outre-Atlantique » aux blagues les plus lourdes, Germain la charnière, Gaston « Mr pile poil » dans tous les sens du terme, Aline et sa foi dans la vie, Elise la future bretonne, Sarita l'ex-Erasmus, et tous les autres : Laura, Grande et Petite Manon(s), Morgane, Laurie, Benoît, Piiiierre, Thibaut, Hélène, Claire, Trapou, Javard, Lulu, R'tournard, l'Anarchiste, Magali...

A mes docteurs, pour nous avoir transmis les valeurs de cette école dans le respect des traditions : les Aiglons Milou, Walou, Brice, Ronsard, Cariou, La Bourde, Leroy, Raoul, La Rigue et bien sûr La Dub, Taquet, JM, Crado, GroBen, Léni, Aude, Foufoune, Babar...

Aux « ancêtres », Daste « la blaste », Iban, Charline et Doudou ; et le club du 3^{ème} âge à lui tout seul : Jean-Luc.

Aux futurs docteurs, la bande des intelligents : Nico le Belge pour ta frite permanente, Françou, Margaux, Bala, Greg, Raph, Chabal et papa Cyrille ; les poulots et les petits poulots : pour les quelques bons moments passés ensemble ! A Popo leur doyenne !

A Anne-Lise, Marie et Antoine, le fil rouge de mes années « Hochoises ».

A **Mr Régnier**, pour votre disponibilité, votre bienveillance à l'égard de votre équipe, votre culture au sens large et votre passion pour la discipline que vous m'avez enseigné.

A **Jean-Yves**, pour ton amitié et ta disponibilité, ta grande pédagogie et ta maîtrise inégalée de l'attouchement (cornéen)

A **mes prédécesseurs** : Brice pour m'avoir mis le pied à l'étrier et m'avoir toujours encouragé ; Valentina, Pierre, Julien et Sylvain pour leur accueil et leurs précieux conseils. A **mes « co-assistantes »**, Alexandra, Marie et Sophia pour me supporter.

A **cette belle école toulousaine, à Colette et Lulu.**

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ABREVIATIONS.....	14
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	15
INTRODUCTION.....	19
PARTIE A : Neuroanatomie et anesthésie de la cornée chez le chien.....	21
A.I Innervation sensitive de la cornée.....	21
A.I.1 Neuroanatomie de la cornée.....	21
A.I.1.1 Développement normal de la cornée.....	22
A.I.1.2 Anatomie de la cornée.....	23
A.I.1.3 Innervation de la cornée.....	26
A.I.2 Homéostasie et innervation cornéenne.....	30
A.II Evaluation clinique de la sensibilité cornéenne.....	32
A.II.1 Esthésiométrie cornéenne.....	32
A.II.1.1 Historique de l'esthésiométrie cornéenne.....	32

A.II.1.2 Principe de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet.....	33
A.II.2 Facteurs de variation de la sensibilité cornéenne	34
A.II.2.1 Facteurs anatomiques.....	34
A.II.2.2 Facteurs physiologiques.....	36
A.II.2.3 Facteurs environnementaux	37
A.II.2.4 Facteurs pathologiques	38
A.II.2.4.1 Affections oculaires	38
A.II.2.4.2 Affections systémiques	42
A.II.2.5 Facteurs pharmacologiques	42
A.III Anesthésie cornéenne locale en collyre.....	44
A.III.1 Mécanisme d'action	44
A.III.2 Durée d'action	46
A.III.3 Effets secondaires.....	46
PARTIE B : Etude expérimentale sur l'anesthésie de la cornée chez le chien : matériel et méthodes.....	49
B.I Critères d'inclusion	49
B.II Traitements	49

B.II.1 Protocole à une goutte de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 %	49
B.II.2 Protocole de comparaison des collyres de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 % et de tétracaine 1 %	51
B.III Mesure de la sensibilité cornéenne	53
B.IV Analyse statistique.....	54
PARTIE C : Etude expérimentale sur l'anesthésie de la cornée chez le chien : résultats et discussion.....	57
C.I Résultats	57
C.I.1 Résultats du protocole à une goutte de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 %	59
C.I.2 Résultats du protocole de comparaison des collyres de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 % et de tétracaine 1 %	65
C.II Discussion	70
CONCLUSION.....	77
BIBLIOGRAPHIE.....	81
ANNEXES.....	95

TABLE DES ABREVIATIONS

CTT : *Corneal touch treshold*, c'est-à-dire seuil de réponse à l'attouchement cornéen

ACT : Anesthésie cornéenne totale

ACT₅₀ : Anesthésie cornéenne totale 50

RSC_{SB} : Retour de la sensibilité cornéenne au seuil de base

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES :

Figure 1 : Tunique fibreuse de l'œil et conformation de la cornée en coupe transversale.....	21
Figure 2 : Coupe horizontale d'un œil de fœtus humain à 42 jours de gestation (équivalent au 25ème jour chez le chien).....	23
Figure 3 : Coupe histologique de la cornée du chien	25
Figure 4 : Innervation du stroma cornéen depuis le limbe scléro-cornéen	27
Figure 5 : Progression de l'innervation cornéenne depuis le limbe scléro-cornéen.....	28
Figure 6 : Trajet ascendant des nerfs à travers le stroma antérieur et l'épithélium superficiel de la cornée	29
Figure 7 : Innervation de l'épithélium superficiel de la cornée	29
Figure 8 : Esthésiomètre de Cochet-Bonnet.....	34
Figure 9 : Diminution de la densité des fibres nerveuses de l'épithélium cornéen avec l'âge	37
Figure 10 : Lésions et régénération du plexus nerveux stromal après désépithélialisation et traitement à la riboflavine et aux ultraviolets-A (UVAR).....	41
Figure 11 : Structure organique des principaux anesthésiques topiques de la cornée [75].....	45
Figure 12 : Flacon de cébésine® 0,4 % collyre	50
Figure 13 : Unidose de chlorhydrate d'oxybuprocaine Théa®.....	52
Figure 14 : Unidose de tétracaïne Faure® 1 %	52
Figure 15 : Méthode de mesure de la sensibilité cornéenne à l'aide de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet.....	54
Figure 16 : Influence de l'âge sur le seuil de base	58
Figure 17 : Influence du poids sur le seuil de base	58
Figure 18 : Influence du sexe sur le seuil de base.....	59

Figure 19 : Evolution temporelle de la longueur moyenne du filament correspondant à la sensibilité cornéenne avant et après l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %	60
Figure 20 : Evolution temporelle de la longueur moyenne du filament correspondant à la sensibilité cornéenne des 22 yeux non traités	61
Figure 21 : Influence de l'âge sur la durée d'ACT	61
Figure 22 : Influence de l'âge sur la durée de RSC_{SB}	62
Figure 23 : Influence du sexe sur la durée d'ACT	62
Figure 24 : Influence du sexe sur la durée de RSC_{SB}	63
Figure 25 : Influence du poids sur la durée d'ACT.....	63
Figure 26 : Influence du poids sur la durée de RSC_{SB}	64
Figure 27 : Influence du seuil de base sur la durée d'ACT.....	64
Figure 28 : Influence du seuil de base sur la durée de RSC_{SB}	65
Figure 29 : Evolution temporelle de la longueur moyenne du filament correspondant à la sensibilité cornéenne avant et après l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % (courbe bleue) ou de tétracaïne à 1 % (courbe rouge).....	67
Figure 30 : Influence de l'âge sur la différence entre la durée d'ACT à l'oxybuprocaine 0,4 % et à la tétracaïne 1 %	68
Figure 31 : Influence de l'âge sur la différence entre la durée de RSC_{SB} à l'oxybuprocaine 0,4 % et à la tétracaïne 1 %	68
Figure 32 : Mise en évidence de la réaction conjonctivale consécutive à l'instillation de tétracaïne 1 %	69

ANNEXES :

Annexe 1 : Table de conversion de la longueur du filament de l'esthésiomètre en pression exercée sur la surface de la cornée.....	95
Annexe 2 : Données épidémiologiques.....	95
Annexe 3 : Résultats des mesures du protocole à une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %	96
Annexe 4 : Résultats des mesures du protocole de comparaison de l'oxybuprocaine à 0,4 % avec la tétracaïne à 1 %	97
Annexe 5 : Scoring de l'intensité de l'hyperhémie conjonctivale et de l'œdème conjonctival au cours du protocole de comparaison de l'oxybuprocaine à 0,4 % avec la tétracaïne à 1 %.....	98

INTRODUCTION

La cornée présente une innervation sensitive très dense dérivant de la branche ophtalmique du nerf trijumeau. Les nerfs pénètrent par le limbe au niveau du stroma antérieur puis se projettent dans les couches supérieures jusqu'à former des terminaisons nerveuses dans l'épithélium cornéen. L'instillation de collyre anesthésique est couramment pratiquée par le vétérinaire pour faciliter la réalisation de gestes diagnostiques et thérapeutiques tels que l'examen clinique d'un œil douloureux ou l'exploration de la face bulbaire de la membrane nictitante, le retrait de points ou d'un corps étranger, la tonométrie, les raclages conjonctivaux ou cornéens, l'échographie oculaire ou la gonioscopie. Les anesthésiques topiques utilisés en routine appartiennent à la classe des aminoesters dont le mode d'action consiste à bloquer de façon réversible la transmission nerveuse en interférant avec la perméabilité membranaire du sodium. La durée d'action des agents anesthésiques topiques et les effets d'une administration répétée sont peu décrits dans la littérature, les données reposant davantage sur la base d'une expérience clinique. Les collyres de tétracaïne 1 %, de chlorhydrate de proparacaïne 0,5 % et de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 % sont les anesthésiques topiques les plus utilisés en ophtalmologie humaine et vétérinaire. Toutefois, dès l'instillation d'une seule goutte de tétracaïne, une douleur oculaire, une hyperhémie conjonctivale ou même un chémosis peuvent se manifester chez le chien de façon très transitoire. A notre connaissance et malgré son usage répandu particulièrement sur le continent européen, aucune étude n'a décrit la durée d'action de l'oxybuprocaine chez le chien sain. La durée d'anesthésie cornéenne peut être mesurée à l'aide d'un esthésiomètre de Cochet-Bonnet. Cet instrument évalue la sensibilité cornéenne en observant la fréquence de clignement des paupières en réponse à l'application d'un fil de longueur variable à la surface de la cornée. Ainsi, plus grande est la longueur du fil déclenchant une réponse, moins la cornée est qualifiée de sensible. L'objectif de ce travail consiste à estimer la durée d'anesthésie de la cornée par un collyre de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 % chez le chien sain. Par ailleurs, nous comparerons la durée d'anesthésie cornéenne par un collyre de tétracaïne 1 % *versus* de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 %. Les effets secondaires éventuels telle qu'une intolérance locale ou une toxicité cornéenne seront par la même occasion évalués.

PARTIE A : Neuroanatomie et anesthésie de la cornée chez le chien

La cornée est la portion transparente qui délimite antérieurement le bulbe oculaire. Cette exposition lui confère une sensibilité permettant la protection à la fois physique et fonctionnelle des structures plus profondes. La sensation tactile de la cornée et donc, par conséquent, l'efficacité et la durée d'une anesthésie locale peuvent être évaluées par recours à l'esthésiométrie. L'anesthésie cornéenne est couramment pratiquée par le vétérinaire pour faciliter la réalisation de gestes diagnostiques et thérapeutiques simples. Elle est réalisée localement par l'instillation d'agents topiques conditionnés sous forme de collyre.

A.I Innervation sensitive de la cornée

A.I.1 Neuroanatomie de la cornée

La cornée forme avec la sclère la tunique fibreuse de l'œil, située la plus en périphérie. La zone de transition cornéo-sclérale forme un sillon qui définit anatomiquement le limbe cornéen (*cf.* figure 1) [1].

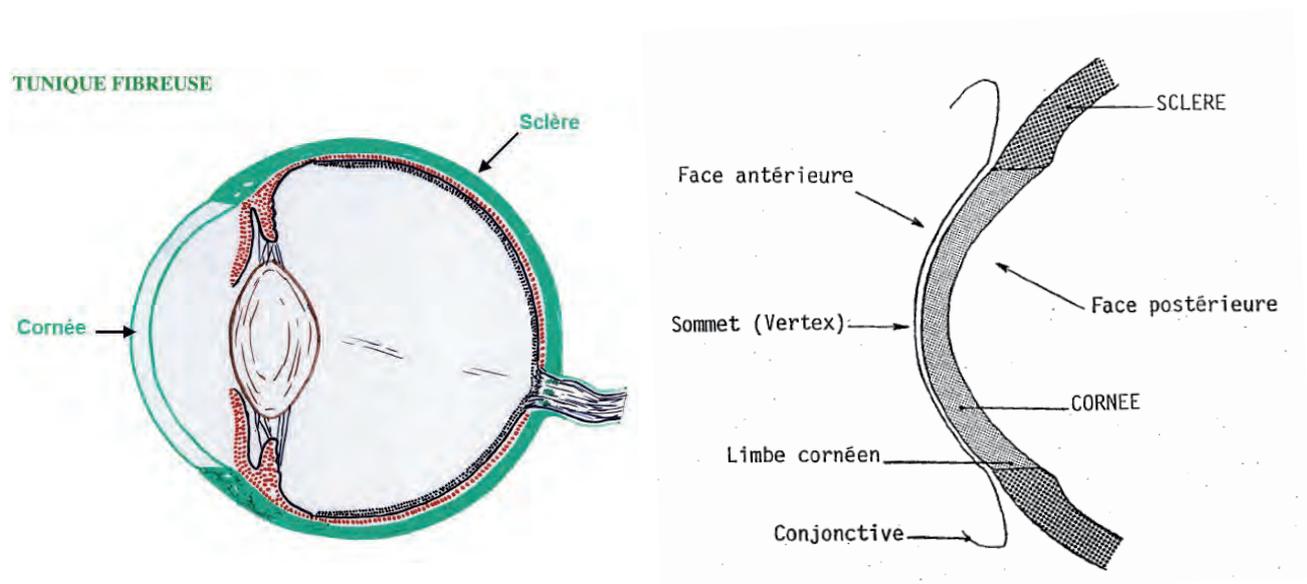


Figure 1 : Tunique fibreuse de l'œil et conformation de la cornée en coupe transversale

A.I.1.1 Développement normal de la cornée

La cornée possède une origine mixte ectodermique et mésenchymateuse mais dérive directement ou indirectement de l'ectoderme. En effet, d'une part, la couche épithéliale dérive directement de l'ectoderme de surface qui recouvre la vésicule optique durant toute sa différenciation. D'autre part, les couches stromale et endothéliale dérivent quant à elles indirectement de l'ectoderme puisqu'elles possèdent une origine mésenchymateuse ; mais contrairement au reste du corps où le mésenchyme se développe primitivement depuis le mésoderme, la région craniofaciale se démarque par une origine ectodermique de ses tissus de soutien que constitue le mésenchyme. Ainsi, au cours de la gastrulation, l'ectoderme prolifère crânialement pour former les plis neuraux qui progressivement se surélèvent et se rapprochent mutuellement. A la jonction entre ces plis neuraux et l'ectoderme de surface, une population cellulaire dite mésenchymateuse se différencie pour former la crête neurale vers le 17^{ème} jour de gestation [2]. C'est la migration de ces cellules mésenchymateuses, induite à la fois par l'ectoderme de surface et la vésicule cristalline préformée, qui donnera naissance au stroma et à l'endothélium cornéen ainsi qu'à la majeure partie des structures du segment oculaire antérieur [3] (*cf.* figure 2). Chez le chien, l'endothélium cornéen se ferme entre le 30^{ème} et le 35^{ème} jour de gestation ; il sécrète parallèlement la membrane de Descemet qui délimite postérieurement le stroma [2].

Le diamètre de la cornée est déterminé lors du contact entre l'ectoderme de surface et la vésicule optique, dès le 17^{ème} jour de gestation chez le chien [2].

De nombreux remaniements permettront à la cornée d'acquérir sa transparence et son épaisseur définitives d'ici à la fin de la gestation et jusque dans les six premiers mois de vie. Elles dépendent essentiellement de l'état d'hydratation du stroma, lui-même régulé par l'endothélium qui ne deviendra totalement fonctionnel qu'aux alentours de la 4^{ème} semaine suivant l'ouverture des paupières (chez le chien, approximativement 14 jours après la naissance) [4].

Les mécanismes et la chronologie conduisant à l'innervation de la cornée sont encore très largement méconnus. Une croissance des fibres nerveuses concomitamment ou secondairement (par libération d'un gradient de facteurs neurotrophiques) à la migration

centripète des cellules basales de l'épithélium depuis le limbe cornéen constitue les principales hypothèses [5, 6].



Figure 2 : Coupe horizontale d'un œil de fœtus humain à 42 jours de gestation (équivalent au 25^{ème} jour chez le chien)

Microscopie électronique à balayage [2].

Le mésenchyme (M) dérivant de la crête neurale s'insinue entre la cupule optique (OC) et l'ectoderme de surface (SE, à l'origine de l'épithélium cornéen). Au contact de la cupule cristallinienne (L), la formation du stroma et de l'endothélium cornéen (sécrétant par la suite la membrane de Descemet) sera induite.

A.I.1.2 Anatomie de la cornée

La cornée représente environ un cinquième de la surface du bulbe oculaire qu'elle délimite antérieurement. Elle présente une forme elliptique avec un diamètre horizontal (variant de 13 à 17 mm chez le chien) plus grand que le diamètre vertical (12 à 16 mm) ; cette différence étant peu marquée, sa forme apparaît circulaire [7]. Son rayon de courbure, en moyenne de

8,5 mm chez le chien, lui confère une importante convexité [8]. Dans l'espèce canine, l'épaisseur de la cornée varie en fonction de l'âge, du sexe, de la conformation craniofaciale et du cadran cornéen. Ainsi, la pachymétrie ultrasonique révèle une épaisseur moindre de la cornée à son vertex (0,45 à 0,55 mm) qu'à sa périphérie (0,50 à 0,65 mm). De même, la cornée s'épaissit avec l'âge et semble significativement plus épaisse chez les mâles et les races brachycéphales [9].

Par nature, la cornée est transparente et constitue le premier dioptré de l'œil : elle réfracte la lumière avec un indice de 40 à 42 dioptries. Cette transparence est le résultat de facteurs anatomiques d'une part : la cornée est avasculaire, non pigmentée, non kératinisée ; d'autre part, des facteurs physiologiques tels que la régulation de l'état d'hydratation du stroma jouent un rôle prépondérant. Avasculaire donc, ses besoins métaboliques sont fournis par les larmes, les capillaires du limbe cornéen et l'humeur aqueuse. Elle est protégée de l'environnement extérieur par les paupières et la membrane nictitante [7].

D'un point de vue structurel, la cornée est constituée de quatre couches superposées (*cf.* figure 3). L'épithélium superficiel est la couche la plus externe, stratifiée, squameuse mais non kératinisée. Chez les carnivores domestiques, il mesure entre 25 et 40 μm d'épaisseur et repose sur une assise basale. Cette assise, régénérative, est surplombée par 4 à 6 autres assises cellulaires qui desquament progressivement. Les cellules de l'assise la plus superficielle présentent de nombreuses microvillosités favorisant l'attache de la couche mucinique du film lacrymal précornéen. Sous l'épithélium, le stroma forme la majeure partie de l'épaisseur cornéenne (près de 90 %). Il est composé de glycoprotéines, de glycosaminoglycanes (GAGs) et de fibres de collagène. Ces fibres sont empilées en lamelles et maintenues par des kératocytes, capables de se différencier en fibroblastes pour cicatrifier une lésion stromale. Cette organisation spécifique et la déturgescence du stroma contribuent à la transparence de la cornée. La déturgescence stromale est une fonction assurée par la couche endothéliale sous-jacente, et dans une moindre mesure par l'épithélium cornéen, grâce à la présence de pompes Na^+ / K^+ adénosine triphosphatase. La transition entre les couches stromale et endothéliale est matérialisée par une lame limitante postérieure, dite membrane de Descemet, sécrétée continuellement par l'endothélium cornéen ; de fait, cette membrane s'épaissit au fil du temps. L'endothélium constitue la couche cornéenne la plus profonde ; disposées en une unique assise, les cellules endothéliales, fortement interdigitées, se raréfient avec l'âge, passant d'une densité proche de 3000 cellules / mm^2 à moins de 500. Cette raréfaction

s'accompagne d'une turgescence stromale, plus connue sous le nom de décompensation endothéliale, et contribue à l'épaississement de la cornée avec l'âge [7].

En cas de dommage, toutes les couches de la cornée ne possèdent pas les mêmes capacités régénératives. En effet, les cellules épithéliales, en particulier celles situées à proximité du limbe, sont capables de migrer et de se diviser rapidement pour rétablir la continuité de l'épithélium cornéen. Au contraire, chez le chien comme chez beaucoup d'autres espèces, les cellules endothéliales sont incapables de se diviser ; les cellules adjacentes compensent la perte de substance en s'amincissant pour augmenter leur superficie [7].

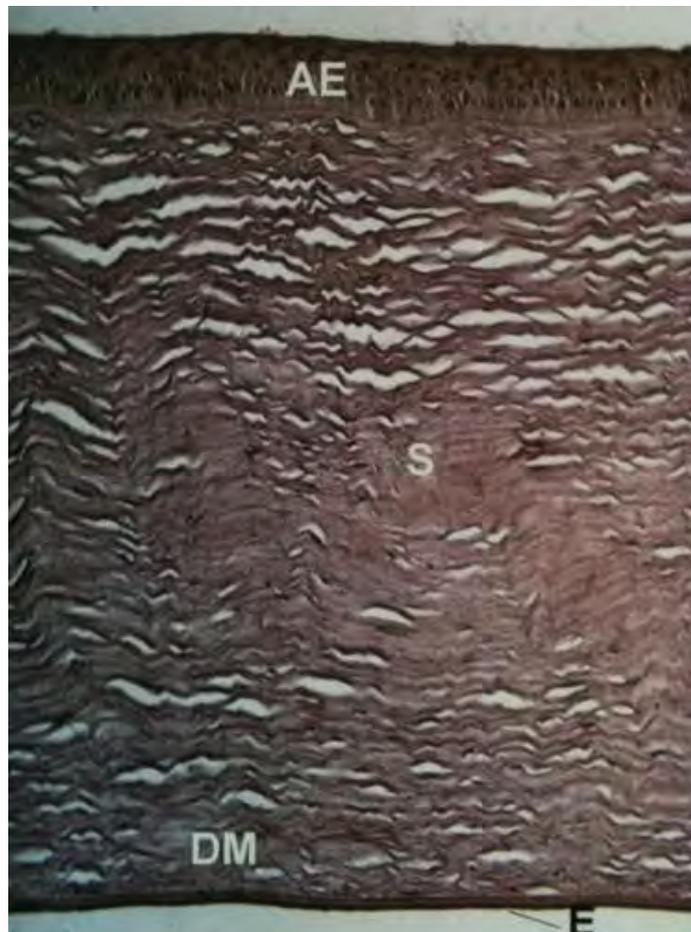


Figure 3 : Coupe histologique de la cornée du chien

Coloration à l'hémalun éosine, coupe transversale, $\times 100$ [7].

Les 4 couches structurales sont observables : l'épithélium antérieur (AE), le stroma (S), la membrane de Descemet (DM) et l'endothélium (E).

A.I.1.3 Innervation de la cornée

La cornée est l'un des tissus les plus innervés de l'organisme : les terminaisons nerveuses y sont 300 à 400 fois plus denses que dans la peau. L'innervation sensitive de la cornée est assurée par la branche ophtalmique du nerf trijumeau. La branche ophtalmique pénètre l'orbite par la fissure orbitaire supérieure où elle se divise pour donner le nerf nasociliaire, qui se ramifie pour former les deux nerfs ciliaires longs. Ces nerfs ciliaires longs abordent le bulbe oculaire sur sa face postérieure, respectivement à trois heures et neuf heures, puis progressent rostralement par un trajet intrascléral avant de rejoindre l'espace suprachoroïdal [7, 10]. Les nerfs ciliaires longs rayonnent ensuite jusqu'au limbe cornéen. Ils forment alors un plexus nerveux subbasal large de 0,8 à 1,0 mm, composé de plusieurs faisceaux d'axones disposés radialement et à intervalles réguliers à la périphérie de la cornée. Morphologiquement, ce plexus présente deux zones distinctes : à l'extérieur, une zone périscérale constituée d'axones de grande taille et périvasculaires, et plus à l'intérieur, une zone péricornéenne où les axones sont de plus petite taille mais forment un maillage beaucoup plus dense. Chez le chien, 14 à 18 faisceaux regroupant 30 à 40 axones pénètrent la moitié antérieure du stroma puis s'arborescent et s'anastomosent en direction centripète et ascendante pour former le plexus nerveux subépithélial (*cf.* figure 4). A nouveau, ce plexus se subdivise en deux niveaux morphologiquement différents : un niveau postérieur où les axones ne sont pas encore tous individualisés et un niveau antérieur plus complexe et plus dense. En pénétrant la membrane basale de l'épithélium cornéen, les axones, au nombre de deux à six, se regroupent en formations dénommées « cordons épithéliaux ». Chaque axone d'une formation mesure environ 2,5 μm de diamètre et suit un trajet tangentiel à la surface cornéenne sur 1,0 à 1,4 mm, parallèlement les uns aux autres, mais dans des directions différentes d'une formation à une autre. Tout au long de ce trajet partent de fines branches ascendantes qui s'insinuent entre les assises cellulaires antérieures où elles s'achèvent par un bulbe proéminent [6, 7, 11-14] (*cf.* figures 5 et 6). Ces branches ascendantes présentent de nombreuses varicosités leur conférant un aspect moniliforme ; les varicosités sont riches en mitochondries et vésicules renfermant des particules de glycogène et vraisemblablement des neuropeptides participant à la transmission du message nerveux [15] (*cf.* figure 7).

Au sein des ganglions trijumeaux, une distinction existe entre les neurones participant à l'innervation sensitive de la cornée. Ainsi, les neurones de type A-delta sont myélinisés et transmettent plus rapidement le message nerveux au système nerveux central que les neurones

de type C, majoritaires mais non myélinisés [13]. A terme, lorsqu'ils pénètrent dans le stroma, tous les axones perdent leur gaine de myéline, ce qui contribue au caractère transparent de la cornée [7].

A l'approche du limbe cornéen, les nerfs sensitifs sont rejoints par des fibres sympathiques et parasympathiques provenant respectivement du ganglion cervical supérieur et ciliaire [7].

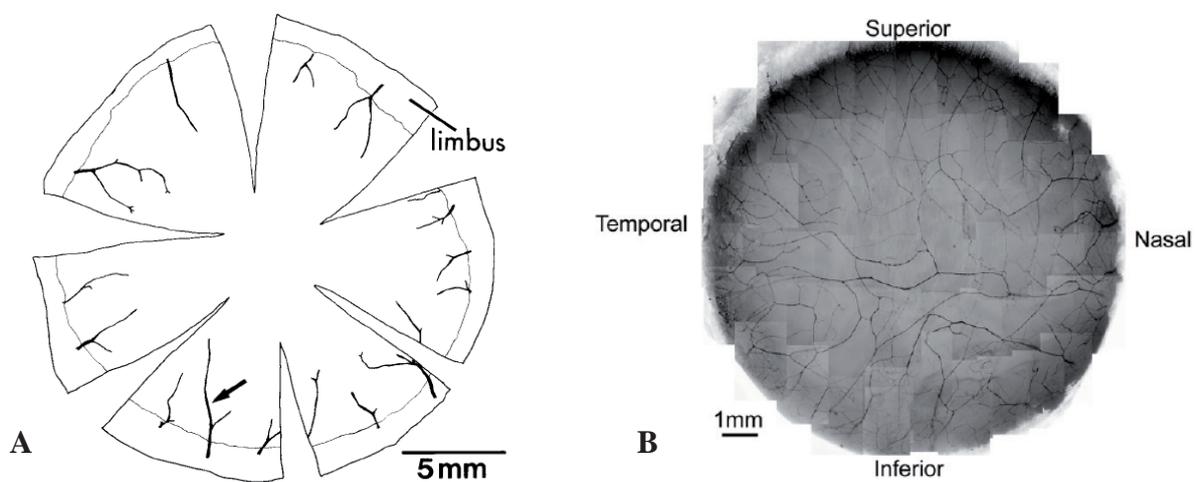


Figure 4 : Innervation du stroma cornéen depuis le limbe scléro-cornéen

Les faisceaux nerveux pénètrent la cornée à la moitié antérieure du stroma par le limbe scléro-cornéen d'où ils cheminent de façon centripète et ascendante pour former le plexus nerveux subépithélial.

A : Cornée reconstituée artificiellement par traitement informatique à partir de six coupes radiales réalisées dans la moitié antérieure du stroma [6].

B : Photographie reconstituée après microscopie confocale, $\times 40$ [14].

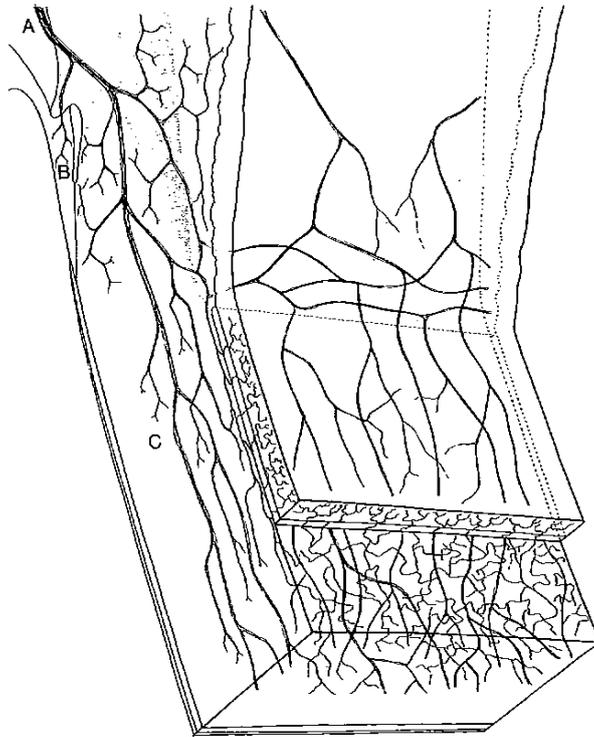


Figure 5 : Progression de l'innervation cornéenne depuis le limbe scléro-cornéen

Représentation schématique en vue transversale tridimensionnelle.

Le nerf ciliaire long (A) dessert la région du limbe scléro-cornéen puis se ramifie en direction du réseau trabéculaire (B) et des couches superficielles de la cornée. La cornée profonde (C) apparaît beaucoup plus dépourvue en nerfs que le stroma antérieur (D) et l'épithélium de surface [7].

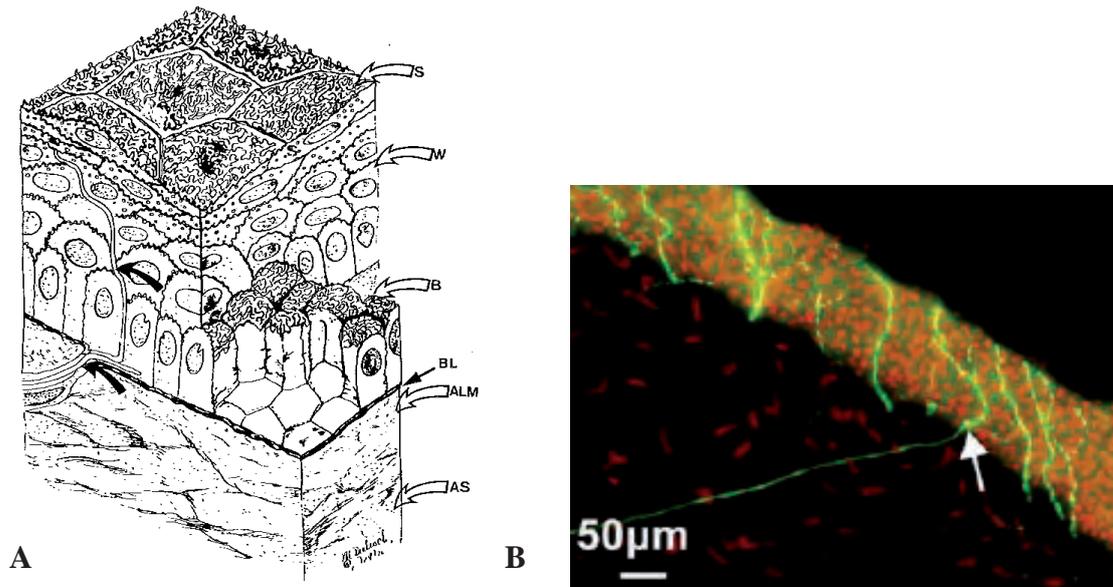


Figure 6 : Trajet ascendant des nerfs à travers le stroma antérieur et l'épithélium superficiel de la cornée

A : Représentation schématique : AS : stroma antérieur ; ALM : membrane limitante antérieure ; BL : membrane basale ; B : cellules basales ; W : cellules polygonales ; S : cellules squameuses avec microvillosités [7].

B : Microscopie confocale après marquage immunofluorescent, coupe transversale [14].

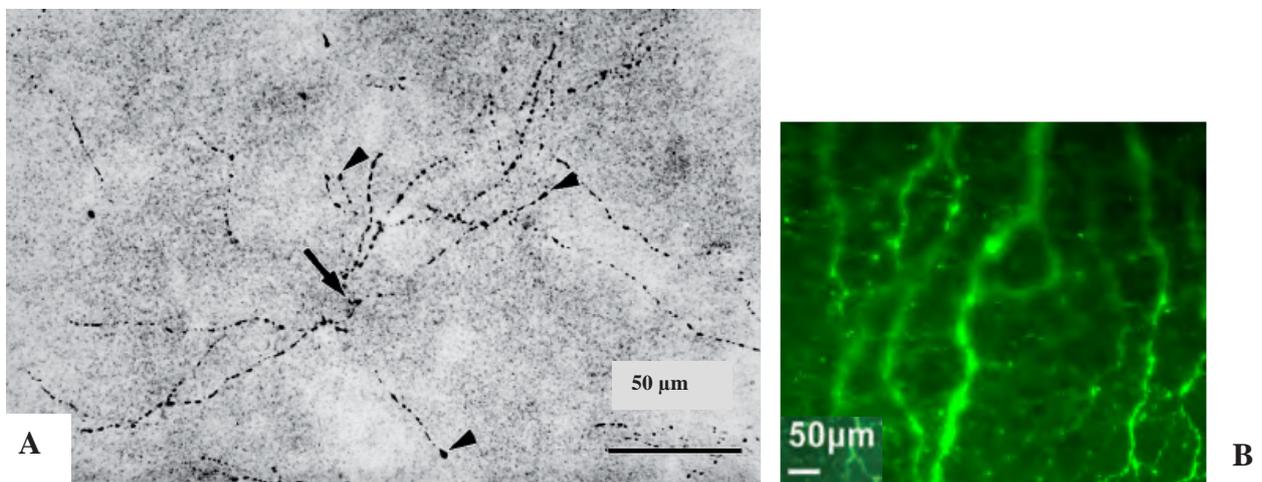


Figure 7 : Innervation de l'épithélium superficiel de la cornée

L'aspect moniliforme des terminaisons nerveuses épithéliales (flèches) est visible ainsi que les bulbes terminaux (têtes de flèche).

A : Histologie après immunomarquage, coupe tangentielle [6].

B : Microscopie confocale après marquage immunofluorescent, coupe tangentielle [14].

A.I.2 Homéostasie et innervation cornéenne

L'homéostasie cornéenne se définit par la capacité intrinsèque de l'ensemble des couches constituant la cornée à conserver leur équilibre de fonctionnement global en dépit de contraintes extérieures. L'innervation cornéenne joue un rôle central dans le maintien de cette homéostasie.

Tout stimulus cornéen est à l'origine d'une réponse à l'échelle cellulaire de l'inflammation locale. Ainsi, les prostaglandines, la bradykinine, l'histamine et l'acétylcholine sont les principaux médiateurs de l'inflammation responsables de la stimulation des fibres nerveuses sensibles de la cornée [13, 16]. Toutefois, l'étude des mécanismes neurogéniques qui en découlent met en évidence une hétérogénéité fonctionnelle de l'innervation sensitive de la cornée [13]. Ainsi, près de 20 % des fibres nerveuses cornéennes peuvent être qualifiées de mécano-nociceptrices répondant à un contact physique avec la cornée. 70 % sont quant à elles dites nociceptrices polymodales : elles répondent tout aussi bien à des stimuli thermique, mécanique ou chimique de la cornée qu'à des médiateurs endogènes de l'inflammation circulant dans les vaisseaux limbiques. Enfin, environ 10 % des fibres sont dites thermo-réceptrices puisqu'elles sont stimulées sous la température physiologique de la cornée superficielle (environ 33°C). Cette répartition fonctionnelle des fibres nerveuses sensibles est similaire dans tout le segment antérieur du bulbe oculaire. De fait, la nociception cornéenne est responsable par un arc réflexe de symptômes locaux tels qu'un myosis, une hyperhémie conjonctivale, une augmentation de la pression intraoculaire ou encore une augmentation de la teneur en protéines de l'humeur aqueuse.

D'une façon plus générale, les couches cornéennes les plus superficielles sont majoritairement innervées par des récepteurs nociceptrices alors que les couches plus profondes sont plus riches en récepteurs barométriques. Dans l'espèce canine, la moitié postérieure du stroma cornéen est quant à elle quasiment dénuée de toute fibre nerveuse. Ceci explique pourquoi une érosion cornéenne superficielle est souvent plus douloureuse qu'une ulcération plus profonde [7].

Par ailleurs, les fibres nerveuses exercent une stimulation neurotrophique qui participe aux mécanismes de réparation de la cornée. Ainsi, une atteinte de l'innervation cornéenne d'origine chirurgicale, médicale ou traumatique conduit à la dégénérescence de la cornée, dénommée « kératite neurotrophique » [10, 17]. Le pouvoir de division, de différenciation,

d'adhésion et de migration des cellules épithéliales est affecté et provoque un ralentissement voire une absence de cicatrisation cornéenne [18-20]. Toutefois, cette souffrance cellulaire s'accompagne d'une libération de médiateurs de l'inflammation activant l'apport trophique des fibres nerveuses situées en territoire sain pour permettre la régénération tissulaire des zones lésées [13, 21]. En outre, il existe un équilibre au sein de la cornée entre le rôle joué par les différentes fibres nerveuses. Ainsi, l'innervation sympathique module la cicatrisation cornéenne en ralentissant la migration des cellules épithéliales [22].

Le rôle de certains neuropeptides a été mis en évidence dans l'espèce canine [13, 16]. Leur libération résulte de la dépolarisation des terminaisons nerveuses stimulées par les médiateurs cellulaires de l'inflammation (prostaglandines, bradykinine). Ainsi, la substance P (SP) et le *calcitonin gene-related peptide* (CGRP) sont présents dans près de 99 % des fibres nerveuses cornéennes [6, 23]. La teneur en SP du tissu cornéen se révèle trois fois supérieure à la moyenne chez les chiens présentant un ulcère cornéen chronique superficiel et est corrélée à l'observation d'un plexus nerveux plus dense dans les marges de cet ulcère [5, 24]. Ceci est en relation avec l'observation d'une teneur en facteur de croissance des cellules nerveuses (*nerve growth factor*, NGF) augmentée à la fois dans l'épithélium et dans le film lacrymal précornéen lors de lésion de l'épithélium cornéen [25]. Ces neuropeptides agissent en synergie avec d'autres médiateurs cellulaires pour favoriser la division et la migration cellulaire de l'épithélium ainsi que la régénération du tissu nerveux depuis les territoires sains de la cornée [13, 20, 26]. De ce fait, ils jouent le rôle de médiateur de la réponse inflammatoire dans tout le segment antérieur du bulbe oculaire puis, en cas de dommage, d'activateur de la cicatrisation cornéenne. Bien que leur libération en dépende, ces neuropeptides ne semblent toutefois pas jouer de rôle direct dans la nociception cornéenne [23]. En effet, chez le lapin, celle-ci n'est pas affectée par un traitement antagoniste de la SP [27].

A.II Evaluation clinique de la sensibilité cornéenne

A.II.1 Esthésiométrie cornéenne

A.II.1.1 Historique de l'esthésiométrie cornéenne

L'esthésiométrie cornéenne est l'évaluation semi-quantitative de la sensibilité de la cornée. Les premières expériences ont été réalisées chez l'Homme à la fin du XIX^{ème} siècle par Von Frey (1894) à l'aide de cheveux humains (Reizhaare) calibrés en fonction de leur section et de leur résistance de façon à obtenir une échelle de pression [28-30]. En ophtalmologie vétérinaire, ce procédé a été introduit en 1923 par Régnier pour évaluer l'anesthésie produite sur les terminaisons nerveuses de la cornée par des anesthésiques locaux [29, 31]. En 1930, Strughold s'est intéressé à la sensibilité cornéenne des animaux de laboratoire à des fins physiopathologiques et pharmacologiques [32]. A partir des années 1950, de nouveaux instruments ont été élaborés permettant des mesures plus objectives, ce qui a participé à l'essor de l'esthésiométrie. L'esthésiomètre de Cochet-Bonnet, muni d'un filament en nylon et inspiré d'une invention faite par Boberg-Ans en 1955, s'est imposé comme l'instrument de mesure de référence [28, 30, 33-41]. L'esthésiomètre de Larson-Millodot diffère du précédent par la nature du filament, ici en platine [42]. En médecine humaine, l'esthésiométrie est un outil utile au diagnostic précoce et au suivi thérapeutique d'un certain nombre d'affections oculaires [17, 28, 43-52]. Au cours de ces dernières années, une recrudescence des symptômes de gêne oculaire a été observée chez l'Homme, souvent décrite comme une sensation de sécheresse oculaire et pouvant être corrélée à notre environnement de plus en plus pollué ou climatisé, au port répandu des lentilles de contact, ou au développement de nouvelles techniques de chirurgie réfractive de la cornée (kératectomie photoréfractive (PRK), laser in situ keratomileusis (LASIK)). De fait, la sensibilité cornéenne et les mécanismes nerveux qui la gouvernent ont connu un regain d'intérêt [13]. Ainsi, Belmonte et al. ont élaboré un esthésiomètre à gaz se libérant de tout contact avec la surface cornéenne [53-55]. Outre le fait qu'il soit moins traumatique pour l'épithélium cornéen, cet instrument permet de stimuler les trois types de récepteurs sensoriels présents dans la cornée (mécano-nocicepteurs, nocicepteurs polymodaux, thermo-récepteurs) [13]. En effet, le flux de gaz, sa température et sa concentration en dioxyde de carbone (CO₂) sont ajustables et permettent respectivement d'évaluer les effets de stimuli mécanique, thermique et chimique sur la sensibilité cornéenne.

Pour des raisons de commodité et malgré une plus grande sensibilité de la mesure, ce type d'instrument est difficilement transposable à la pratique vétérinaire [55].

A.II.1.2 Principe de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet

L'esthésiomètre de Cochet-Bonnet (Luneau ophtalmologie, Chartres cedex, France) est muni d'un filament en nylon de 0,12 mm de diamètre et dont la longueur peut varier entre 0 et 6 cm. Un filament de 0,08 mm de diamètre est également commercialisé et permettrait une plus grande sensibilité de la mesure [55]. La longueur du filament détermine la pression exercée à la surface cornéenne, variant de 0,4 à 15,9 g/mm². Plus le filament est long, plus cette pression est faible (cf. figure 8 et annexe 1). La sensibilité cornéenne est assimilée au seuil de réponse à l'attouchement cornéen (*Corneal Touch Treshold* : CTT). Le CTT est défini par la pression exercée par l'extrémité libre du filament de l'esthésiomètre sur la cornée déclenchant une réponse de clignement palpébral dans au moins trois des cinq stimulations effectuées. La valeur de cette pression est déduite de la longueur en centimètres du filament à partir des tables fournies par le fabricant de l'esthésiomètre. La réponse de clignement palpébral obtenue, dit réflexe d'attouchement cornéen, met en jeu la branche ophtalmique du nerf trijumeau (V) pour l'arc afférent et la branche auriculo-palpébrale du nerf intermédiaire-facial (VII) pour l'arc efférent. De fait, plus la pression exercée sur la cornée par le filament (c'est-à-dire le CTT) est faible, plus le filament est long, donc plus la cornée est sensible. Inversement, plus la pression exercée sur la cornée par le filament (c'est-à-dire le CTT) est élevée, plus le filament est court, donc moins la cornée est sensible.

De par la densité du tissu nerveux cornéen, une seule application du filament de l'esthésiomètre (dont la section est de 0,0113 mm²) pourrait stimuler plus d'une centaine de terminaisons nerveuses. De plus, les nombreuses ramifications et anastomoses des fibres nerveuses transmettent cette stimulation à la majeure partie de la surface cornéenne [6, 15]. Les mécano-nocicepteurs convertissent l'augmentation de pression à la surface cornéenne en un message nerveux dont la réponse centrale se manifeste par un clignement des paupières.



Figure 8 : Esthésiomètre de Cochet-Bonnet
Luneau ophthalmologie, Chartres cedex, France.

A.II.2 Facteurs de variation de la sensibilité cornéenne

La sensibilité cornéenne varie selon un grand nombre de paramètres spécifiques ou individuels. Ces paramètres relèvent soit de l'anatomie même de la cornée, et tout particulièrement du tissu nerveux cornéen, soit des répercussions engendrées sur la cornée, qu'elles soient physiologiques ou pathologiques.

A.II.2.1 Facteurs anatomiques

Bien que la structure de la cornée soit globalement commune à tous les mammifères, il existe néanmoins quelques différences anatomiques spécifiques d'espèce. Parmi celles-ci, une variation existe dans la densité du tissu nerveux cornéen. Ainsi, le nombre de faisceaux nerveux pénétrant le stroma diffère : 30 à 80 faisceaux chez l'Homme [11, 14], 16 à 20 chez le chat [12], 14 à 18 chez le chien [6], 12 à 16 chez le lapin [56]. La densité de ces fibres nerveuses se répercute sur la sensibilité cornéenne respective de ces espèces, sans qu'il y ait de relation de proportionnalité entre les données mesurées. En effet, la cornée humaine, en moyenne deux à trois fois plus innervée que chez les autres espèces, s'avère plus sensible avec une longueur moyenne du filament associée au CTT égale à 5,3 cm [29]. La cornée du chat, du chien et du lapin sont moins sensibles comme en témoignent les longueurs moyennes du filament associées au CTT respectivement égales à 1,58 cm, 1,5 cm et 2,7 cm [33, 42, 57]. Chez d'autres espèces comme le cheval, le cochon d'Inde et l'alpaga, où la longueur moyenne du filament associée au CTT est respectivement égale à 2,1 cm, 2 cm et 3,4 cm, la sensibilité et l'innervation cornéenne ne peuvent être corrélées faute de donnée histologique disponible à ce jour [38, 58, 59].

Dans le même ordre idée, la sensibilité cornéenne est accrue en région centrale comparativement aux régions situées à proximité du limbe. A nouveau, la ramification centripète des fibres nerveuses est à l'origine d'un tissu nerveux plus dense au centre qu'à la périphérie de la cornée [6, 11, 12, 14]. Cette différence a été mesurée aussi bien chez l'Homme, le chat, le chien, le cheval, le lapin, le cochon d'Inde et l'alpaga [14, 29, 30, 34, 35, 38, 42, 57-61]. Chez le cheval et l'alpaga, une régionalisation plus fine de la cornée a permis de mettre en évidence une sensibilité significativement plus faible en région dorsale [34, 38, 59, 61]. Cette différence n'est pas reproductible dans les autres espèces étudiées dont la taille comparativement réduite du globe oculaire est probablement un facteur limitant. Par ailleurs, la manipulation des paupières nécessaire à la réalisation de la mesure dans cette région du globe oculaire pourrait être à l'origine d'un clignement palpébral, difficilement distinguable du clignement associé au réflexe cornéen [38].

D'un point de vue morphologique, la sensibilité cornéenne est également influencée par la conformation craniofaciale. Ainsi, dans les espèces canine et féline, les races brachycéphales présentent une sensibilité cornéenne diminuée. Chez le chat, le CTT varie respectivement de 4,09 à 1,79 mg/mm² entre des individus brachycéphales et non brachycéphales [57]. A notre connaissance, il n'existe encore une fois aucune donnée histologique permettant de comparer l'innervation cornéenne des races brachycéphales et non brachycéphales, chez le chien comme chez le chat.

De façon plus anecdotique, l'influence de la couleur de l'iris sur la sensibilité cornéenne a été étudiée chez l'Homme. La couleur de l'iris est déterminée par la vascularisation, le type et la quantité de pigments présents à la surface antérieure de l'iris et dans le stroma irien [7, 62]. Une plus grande sensibilité cornéenne chez les individus aux yeux clairs comparativement à ceux aux yeux foncés a été mesurée [63, 64]. Toutefois, aucune différence n'a été mise en évidence dans le cas d'hétérochromie irienne [65]. Murphy a mesuré qu'une goutte de chlorhydrate d'oxybuprocaine à 0,4% produisait une plus faible diminution de la sensibilité cornéenne chez les individus à iris foncé que chez ceux à iris clair [54]. Comme cela a déjà été démontré pour d'autres molécules, une chélation de l'oxybuprocaine par la mélanine de l'iris pourrait justifier cette différence mais n'a encore jamais été démontré pharmacologiquement.

A.II.2.2 Facteurs physiologiques

Un certain nombre de facteurs physiologiques peut faire varier la sensibilité cornéenne de chaque individu.

L'âge est un facteur influant, largement étudié chez l'Homme grâce au développement des lentilles de contact. Ainsi, dans l'espèce humaine, la sensibilité cornéenne s'avère stable jusqu'à 40 ans puis diminue significativement avec le temps jusqu'à moitié à partir de 70 ans [30, 43, 63, 66]. Parallèlement, He a mis en évidence une diminution de la densité des fibres nerveuses au sein de l'épithélium cornéen avec l'âge, associée à des lésions des axones pénétrant la moitié antérieure du stroma en cornée périphérique (*cf.* figure 9) [14]. Les résultats rapportés dans d'autres espèces sont plus mitigés : aucune différence significative n'a été mesurée dans les espèces canine et équine [38, 57]. Cependant, Blocker et Van Der Woerdt ont montré que, chez le chat, la différence de sensibilité observée entre le centre et la périphérie de la cornée n'est plus significative à partir de l'âge de 9 ans [35]. De même, chez l'alpaga, la sensibilité cornéenne est significativement plus faible chez l'adulte que chez le jeune [61]. Plusieurs mécanismes physiopathologiques peuvent soutenir la thèse d'une diminution de la sensibilité cornéenne avec l'âge ; un épaissement de la cornée par augmentation de l'état d'hydratation stromal née d'une décompensation endothéliale en cours d'évolution, ou encore une atrophie des fibres nerveuses cornéennes, sont envisageables.

Si le sexe de l'individu ne semble pas avoir de conséquence directe [14, 34, 35, 38, 61, 63], le cycle menstruel de la femme semble interférer avec la sensibilité cornéenne. Millodot a ainsi mis en évidence une perte de sensibilité de la cornée au cours des menstruations [67]. Deux mécanismes relatifs aux menstruations et responsables d'une perte de sensibilité cornéenne sont potentiellement en cause. D'une part, l'augmentation de la pression intraoculaire est responsable d'une diminution de la sensibilité cornéenne [28] ; ainsi, Dalton a mesuré un pic de pression intraoculaire prémenstruel chez des femmes souffrant de glaucome [68], mais il n'est pas avéré que cette élévation soit suffisante pour influencer sur la sensibilité de la cornée. D'autre part, l'augmentation de l'état d'hydratation stromal lors d'un œdème cornéen affecte également la sensibilité de la cornée [69]. Or, les hémorragies menstruelles sont responsables d'une rétention d'eau compensatoire à l'origine d'un œdème tissulaire généralisé ; si aucune donnée histologique ne démontre que la cornée soit directement concernée, Bergin a mesuré une augmentation du pouvoir de réfraction cornéen au cours des menstruations, reliée à un

plus grand rayon de courbure dont l'œdème pourrait être la cause [70]. Par ailleurs, les besoins vasculaires fœtaux sont également à l'origine d'une rétention d'eau chez la femme enceinte ; de la même manière, une diminution significative de la sensibilité cornéenne a été mesurée dans le derniers tiers de gestation [71].

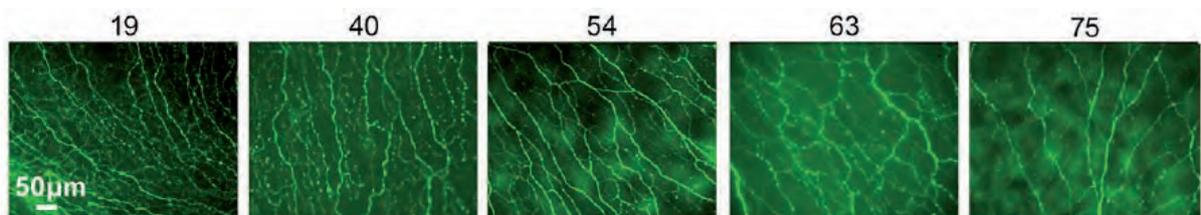


Figure 9 : Diminution de la densité des fibres nerveuses de l'épithélium cornéen avec l'âge

Microscopie confocale après marquage immunofluorescent, coupes tangentielles à hauteur du plexus nerveux subépithélial de cornées humaines [14].

A.II.2.3 Facteurs environnementaux

Des paramètres indépendants de l'individu sont à l'origine d'une variation de la sensibilité cornéenne. Les études menées ne portent que sur l'Homme chez qui le port des lentilles de contact donne à l'esthésiométrie un intérêt tout particulier.

La sensibilité cornéenne présente ainsi un cycle journalier : elle est diminuée le matin à l'ouverture des paupières et revient à son seuil de base quatre heures après. Une légère augmentation persiste au cours de la journée mais n'est plus significative [72, 73]. Un certain nombre de paramètres oculaires et environnementaux peuvent expliquer ces variations. En phase nocturne, l'hypoxie associée à la fermeture des paupières pourrait expliquer la perte de sensibilité cornéenne au réveil [73, 74]. Au cours de la journée, l'oxygénation d'une part et l'évaporation du film lacrymal précornéen à l'origine d'une sécheresse oculaire d'autre part justifient en partie le retour au seuil de base [43]. Parallèlement, un amincissement du stroma cornéen et une diminution de la pression intraoculaire sont observés, deux paramètres corrélés avec une augmentation de la sensibilité cornéenne [28, 72, 73]. Enfin, chez le lapin, une irradiation aux ultraviolets-B cause une augmentation du taux de renouvellement cellulaire de

l'épithélium cornéen, pouvant à terme fragiliser la cornée [75] ; cette atteinte dite « photokératite » peut mener à une sensibilité accrue de la cornée mais n'est toutefois démontrée que dans le cadre d'une surexposition lumineuse.

A.II.2.4 Facteurs pathologiques

La cornée constitue la barrière de protection physique du bulbe oculaire. La réponse protectrice requiert une forte interconnexion avec les structures adjacentes. Par conséquent, la cornée est exposée aux traumatismes directs ainsi qu'à des agents irritants et/ou infectieux, mais est également soumise aux répercussions systémiques de l'organisme. Ces atteintes de la cornée, toutes aussi nombreuses qu'elles soient, sont autant de facteurs potentiels de variation de la sensibilité cornéenne [60].

A.II.2.4.1 Affections oculaires

Parmi les grands mécanismes assurant le maintien de l'homéostasie cornéenne, la fonction lacrymale occupe une place particulière. En effet, le film lacrymal précornéen participe aux besoins trophiques de l'épithélium et joue le rôle de barrière physique. De fait, toute déficience qualitative et/ou quantitative du film lacrymal se répercute sur l'intégrité des couches superficielles de la cornée. Ainsi, la sensibilité cornéenne des individus atteints de kératoconjonctivite sèche (KCS) est diminuée dans l'espèce humaine [76]. Cette hypoesthésie affecte les trois types de récepteurs sensoriels présents dans la cornée (mécano-nocicepteurs, nocicepteurs polymodaux, thermo-récepteurs) [13, 43, 77]. A la microscopie confocale, des remaniements morphologiques de la cornée superficielle sont visibles parmi lesquels une diminution de la densité des fibres nerveuses du plexus subépithélial [49, 77]. Bourcier et al. ont de plus montré que la diminution de la sensibilité cornéenne en cas de KCS est corrélée avec l'intensité de la coloration cornéenne à la fluorescéine et au vert de Lissamine, mais ne l'est pas avec les valeurs du test de Schirmer [43]. Par conséquent, toute cause favorisant l'évaporation et/ou l'instabilité du film lacrymal précornéen (tels une lagophtalmie, une exophtalmie, une paralysie des paupières, un ectropion) peut à fortiori être considéré comme un facteur de variation de la sensibilité cornéenne.

Les remaniements consécutifs à une augmentation de la pression intraoculaire sont également associés à une hypoesthésie de la cornée [28]. En effet, l'œdème cornéen observé lors de glaucome perturbe les échanges nerveux au sein du stroma. En cas de chronicité, la distension du bulbe oculaire associée étire et amincie la sclère. De fait, une hydrophthalmie endommage particulièrement les fibres nerveuses intrasclérales et suprachoroïdales qui régissent la sensibilité cornéenne, pouvant s'en trouver définitivement affectée [78, 79]. De la même manière, ces fibres sont lésées lors de sclérite, ce qui se traduit également par une diminution de la sensibilité cornéenne.

Par ailleurs, la sensibilité cornéenne peut être altérée par une atteinte directe de l'innervation cornéenne d'origine infectieuse, traumatique ou iatrogène. Ainsi, la kératite herpétique se manifeste par des ulcères cornéens associés à une hypoesthésie voire une anesthésie de la cornée [23, 44, 80]. L'*Herpes virus* responsable siège de façon latente dans le ganglion trijumeau à partir duquel à la merci d'un stress il se réactive et se réplique en progressant vers les terminaisons nerveuses de l'épithélium cornéen. Chez l'Homme, le virus affecte préférentiellement les fibres mécano-nociceptrices et nociceptrices polymodales comme en témoigne l'hypoesthésie sélective de la cornée aux stimuli mécanique et thermique [80]. La kératite à *Acanthamoeba* est un autre exemple d'atteinte infectieuse du tissu nerveux cornéen ; les trophozoïtes de ce parasite possède un tropisme pour les cellules nerveuses de la cornée sur lesquelles ils exercent un double effet cytolitique et apoptotique à l'origine d'une baisse de la sensibilité cornéenne [45, 81, 82]. Au même titre que lors de kératectasie ou de kérateopathie bulleuse, ces kératites infectieuses, souvent ulcéreuses, s'accompagnent parfois de la formation de pseudo-kératocônes. Ces derniers font l'objet d'une approche thérapeutique récente se répercutant sur le tissu nerveux cornéen [83]. Ainsi, la désépithélialisation de la cornée suivie d'un traitement à la riboflavine et aux ultraviolets-A (UVA) provoquent une polymérisation des fibres de collagène (« *collagen crosslinking* ») à l'origine d'un renforcement structurel du stroma. Parallèlement, cette photopolymérisation détruit les tissus nerveux de l'épithélium et du stroma antérieur, ce qui affecte transitoirement la sensibilité cornéenne. Chez le lapin, une croissance centripète des fibres nerveuses depuis la périphérie de la zone traitée est observée dès le 7^{ème} jour et permet un retour de la sensibilité cornéenne à des valeurs normales après 30 jours [21] (cf. figure 10). Enfin, les chirurgies oculaires affectant la cornée ou nécessitant une kératectomie altèrent de façon transitoire ou permanente la sensibilité cornéenne. En effet, les lésions nerveuses iatrogènes se régénèrent partiellement depuis les territoires sains. Le retour à la sensibilité de base

requiert plusieurs semaines à plusieurs mois lors de chirurgies kératoréfractives (PRK, LASIK) alors qu'elle est définitivement réduite lors de chirurgie de la cataracte [46, 84]. Malgré les capacités de régénération du tissu nerveux cornéen, les greffes de cornée ne recouvrent quasiment aucune sensibilité [85]. Lors de cyclophotocoagulation, Weigt et al. ont montré que la destruction partielle des corps ciliaires au laser est aussi responsable de lésions nerveuses au sein de la cornée. Ainsi, un faisceau d'axones serait en moyenne détruit par cadran cornéen (soit près de 25 %), ce qui est parallèlement associé à une diminution de la sensibilité cornéenne de l'ordre de 30 % [86]. Bien que la cornée ne soit pas mise à contribution, la correction chirurgicale des décollements de rétine par indentation soumet la sclère à des contraintes d'une part mécaniques par la mise en place d'un explant scléral et d'autre part thermiques lors de la cryorétinopexie. Ces contraintes lèsent les nerfs ciliaires qui innervent la cornée, provoquant une hypoesthésie cornéenne transitoire [28, 48]. Ceci est également observé dans le cas de sclérite [28, 47].

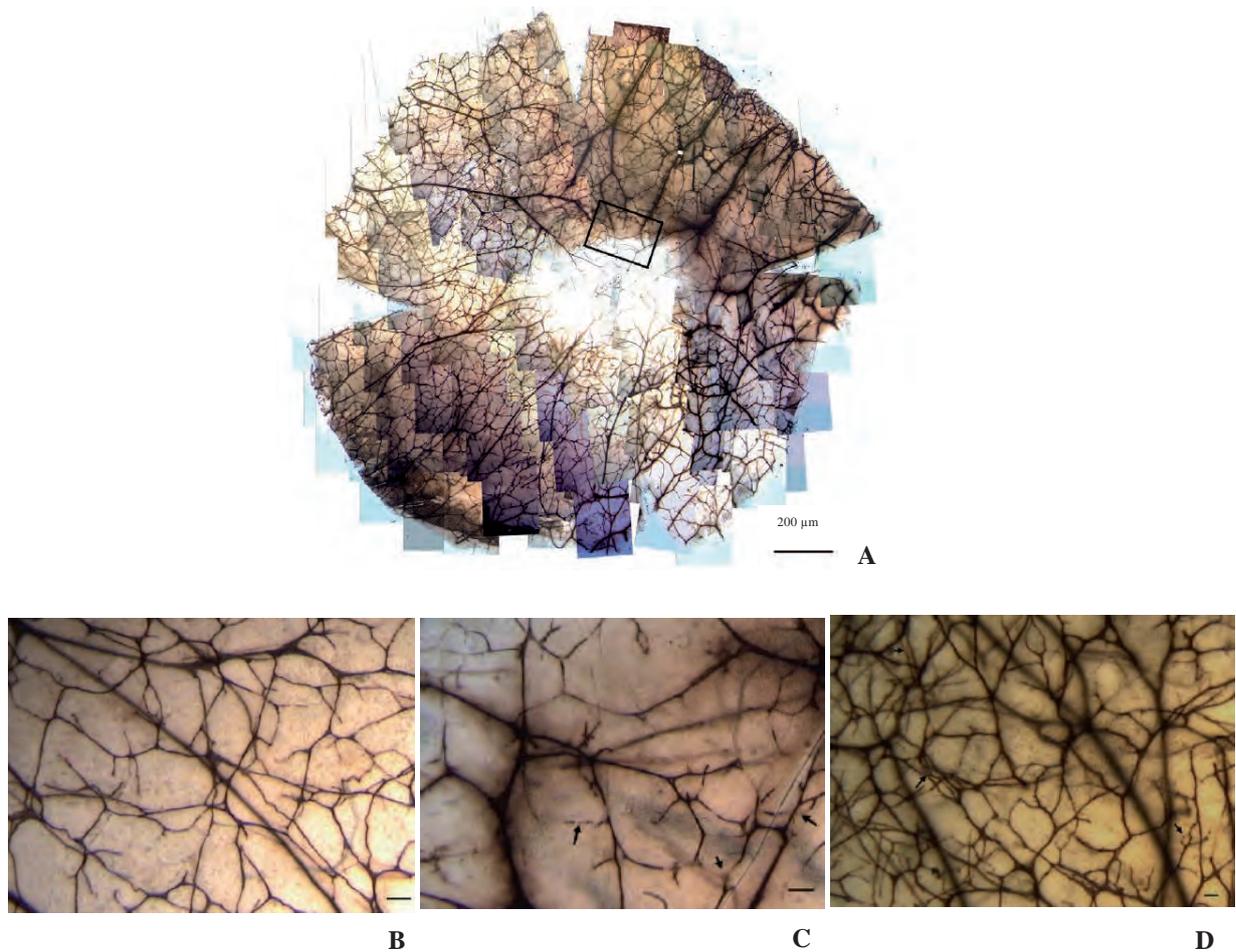


Figure 10 : Lésions et régénération du plexus nerveux subépithélial après désépithélialisation et traitement à la riboflavine et aux ultraviolets-A (UVAR)

Microscopie confocale après immunomarquage, coupes tangentiellles à hauteur du plexus nerveux subépithélial de cornées de lapins [20].

A : cornée reconstituée artificiellement par traitement informatique 7 jours après le traitement UVAR.

B : plexus nerveux subépithélial en cornée saine.

C : plexus nerveux subépithélial 3 jours après traitement, les fibres nerveuses apparaissent dégénérées (flèches).

D : plexus nerveux subépithélial 90 jours après traitement, le plexus est plus dense qu'initialement du fait de nombreuses anastomoses (flèches). La sensibilité cornéenne retrouve sa valeur de base 30 jours après traitement.

A.II.2.4.2 Affections systémiques

Le bulbe oculaire est soumis aux répercussions de maladies systémiques parmi lesquelles les neuropathies peuvent engendrer une diminution de la sensibilité cornéenne. Ainsi, le diabète peut se compliquer sur le plan oculaire d'une cataracte, d'une rétinopathie mais aussi d'une polyneuropathie affectant le segment antérieur. Chez l'Homme, Rosenberg et al. ont montré que la sensibilité cornéenne est significativement réduite chez des individus diabétiques atteints d'une neuropathie sévère. L'hypoesthésie est précédée par la diminution de la densité des fibres nerveuses au sein du stroma [17]. Chez les chiens diabétiques, l'incidence des kératites ulcéreuses dans les complications postopératoires de la cataracte a motivé le recours à l'esthésiométrie cornéenne. Une hypoesthésie de la cornée a ainsi été mesurée chez les chiens souffrant de diabète, sans qu'aucune corrélation n'ait été établie entre l'augmentation du CTT et la durée de la maladie [87].

Une diminution de la sensibilité cornéenne a également été décrite dans d'autres maladies générales. Dans le cas de la lèpre par exemple, l'hypoesthésie de la cornée est polyfactorielle. En effet, une lagophtalmie est souvent associée à l'infection par *Mycobacterium leprae*, favorisant une sécheresse oculaire. Par ailleurs, cette bactérie envahit le bulbe oculaire où elle est responsable d'une part d'une inflammation sévère, se manifestant notamment sous la forme d'une sclérite, et d'autre part de l'atrophie des fibres nerveuses cornéennes infiltrées [50]. Une baisse de la sensibilité cornéenne a également été mise en évidence lors de *myasthenia gravis*, bien qu'aucune étude histologique ne vienne à notre connaissance appuyer ces observations [51]. Par ailleurs, les maladies systémiques affectant la fonction lacrymale causent une sécheresse oculaire qui se répercute sur la sensibilité cornéenne. Une hypoesthésie cornéenne a ainsi été mesurée lors de fibromyalgie ou de syndrome de Sjögren [49, 52].

A.II.2.5 Facteurs pharmacologiques

Un certain nombre d'agents médicamenteux appliqués en topique peuvent interférer avec la physiologie cornéenne et modifier sa sensibilité. Ainsi, des collyres à base d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont souvent prescrits pour réduire l'inflammation et la douleur causées par un traumatisme de la cornée ou une chirurgie du segment antérieur. Les

AINS exercent leur propriété anti-inflammatoire en inhibant la cyclooxygénase (COX), enzyme catalysant la synthèse de prostaglandines par dégradation de l'acide arachidonique [88]. Or les prostaglandines participent à la médiation de l'inflammation cellulaire à l'origine de la stimulation des terminaisons nerveuses de la cornée [13, 16]. Chez l'Homme, l'instillation de diclofenac et dans une moindre mesure de flurbiprofène diminue la sensibilité cornéenne à tous les types de stimuli [89, 90]. Chez le chat, Chen et al. ont montré que l'application topique de certains AINS (indométhacine, diclofenac, flurbiprofène) réduit la réponse des fibres nociceptrices polymodales de la cornée à un stimulus chimique. Néanmoins, la réponse de ces fibres à un stimulus mécanique n'est parallèlement pas affectée. L'instillation d'un antagoniste des canaux calcium (diltiazem) conduit aux mêmes observations [91]. Par conséquent, l'hypoesthésie cornéenne due aux AINS pourrait provenir de deux mécanismes distincts : d'une part l'inhibition de la cascade enzymatique synthétisant les prostaglandines, et d'autre part l'interaction avec les canaux ioniques des terminaisons nerveuses de la cornée.

A l'inverse, tout médicament non formulé pour une application topique est susceptible de créer une inflammation locale exacerbant la sensibilité cornéenne.

L'utilisation des collyres anesthésiques étant délétère au long terme, la valence analgésique d'autres classes thérapeutiques a été évaluée en vue de la prise en charge de la douleur oculaire chronique. Parmi celles-ci, les opioïdes appliqués en topique telles la morphine ou la nalbuphine n'ont révélé aucun effet sur la sensibilité de la cornée saine respectivement chez le chien et le cheval [92, 93]. Toutefois, dans le cas d'ulcère cornéen, l'instillation de morphine permet une hypoesthésie cornéenne sans ralentir le processus de cicatrisation [92].

Par ailleurs, une hausse de la pression intraoculaire étant associée à une hypoesthésie cornéenne, les agents anti-glaucomeux ont fait l'objet d'études esthésiométriques pour évaluer leurs répercussions sur la sensibilité de la cornée. Chez l'Homme, l'administration topique de β -bloquants tels le timolol et le betaxolol n'affecte pas la sensibilité cornéenne de façon significative ; une surveillance accrue est toutefois préconisée chez les sujets les plus âgés [94]. Les analogues des prostaglandines (latanoprost, travoprost, bimatoprost) appliqués en collyre sont quant à eux associés à une hypoesthésie cornéenne transitoire [95].

A.III Anesthésie cornéenne locale en collyre

L'anesthésie topique de la cornée a été introduit en ophtalmologie humaine en 1884 par l'autrichien Carl Koller qui utilisa une solution topique à base de cocaïne préalablement au traitement chirurgical du glaucome. L'instillation de collyre anesthésique est aujourd'hui couramment pratiquée par le vétérinaire pour faciliter la réalisation de gestes diagnostiques et thérapeutiques tels que l'examen clinique d'un œil douloureux ou l'exploration de la face bulbaire de la membrane nictitante, le retrait de points ou d'un corps étranger, la tonométrie, les raclages conjonctivaux ou cornéens, l'échographie oculaire ou la gonioscopie. Il existe une grande variété d'anesthésiques locaux mais tous ne présentent pas la même durée d'action ni la même innocuité.

A.III.1 Mécanisme d'action

Les agents anesthésiques topiques sont structurellement proches : ils s'agit d'amines tertiaires liés par un groupement amide ou ester à un résidu aromatique [96] (*cf.* figure 11). Ce caractère à la fois liposoluble par le résidu aromatique et hydrosoluble par la fonction amine leur offre la capacité de diffuser à travers respectivement l'épithélium et le stroma cornéen [16]. Cette solubilité ainsi que la stabilité du principe actif sont modulées par les sels auxquels il est lié. Comparativement, les agents possédant un groupement amide sont plus stables et moins allergisants que ceux avec un groupement ester [97]. Plus rapidement métabolisé dans le secteur vasculaire, ces derniers sont toutefois plus adaptés à l'anesthésie topique de la cornée dans le cadre d'un examen ophtalmologique de routine. C'est le cas du chlorhydrate d'oxybuprocaine ou benoxinate [4-amino-3-butoxybenzoate-2-(diéthylamino)-éthylester].

Leur mode d'action est également similaire : ils interfèrent avec la perméabilité membranaire du sodium en bloquant de façon réversible les canaux sodiques [96]. La dépolarisation membranaire des terminaisons nerveuses n'est alors plus possible, ce qui bloque toute transmission du message nerveux.

La concentration en principe actif, le pH de la solution et les adjuvants présents dans le collyre déterminent l'efficacité et l'innocuité de la formulation. Ainsi, dans le cas de la tétracaïne par exemple, les anesthésies locales se révèlent moins douloureuses lorsque la

solution utilisée est tamponnée [98]. En effet, ces agents anesthésiques sont des bases faibles davantage liposolubles sous leur forme non ionisée. De fait, lorsque le pH de la solution tend vers le pKa du principe actif, la proportion de ce dernier sous forme non ionisée augmente, ce qui facilite sa diffusion à travers les membranes cellulaires et permet donc une anesthésie plus rapide à s’instaurer.

Par ailleurs, les collyres anesthésiques possèdent une faible activité antimicrobienne. Leur usage est de ce fait contre-indiqué avant tout prélèvement bactériologique. Cette activité est plus forte lorsque le principe actif est présent dans un excipient qui contient un conservateur comme cela a été démontré dans le cas de l’oxybuprocaine présentée en flacon multi-usage [99].

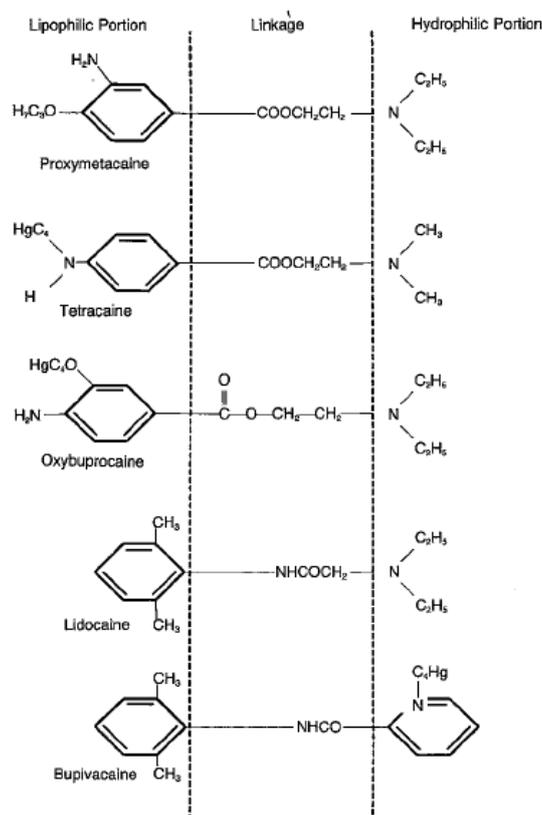


Figure 11 : Structure organique des principaux anesthésiques topiques de la cornée [75]

A.III.2 Durée d'action

Les collyres anesthésiques les plus couramment utilisés sont la tétracaïne 1 %, le chlorhydrate de proparacaïne 0,5 % et le chlorhydrate d'oxybuprocaïne 0,4 %. Leur durée d'action varie en fonction de l'espèce cible et du protocole anesthésique réalisé.

Chez l'Homme, la proparacaïne cause comparativement moins de gêne oculaire que la tétracaïne pour une durée d'anesthésie supérieure, proche de 10 minutes [100, 101]. Le chlorhydrate d'oxybuprocaïne permet une anesthésie d'instauration rapide, en moins d'une minute, et d'une durée variable, de 20 à 60 minutes selon les études [54]. Dans l'espèce canine, une goutte de solution de chlorhydrate de proparacaïne à 0,5 % permet une anesthésie significative de la cornée pendant 45 minutes. L'ajout d'une seconde goutte prolonge cette anesthésie à 55 minutes [36]. Chez le chat et le cheval, un protocole à une goutte procure une anesthésie cornéenne de 25 minutes [33, 37]. L'effet anesthésique maximal est défini par la durée pendant laquelle la plus petite longueur du filament de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet ne permet pas de déclencher un CTT. Cet effet maximal est assimilé à une anesthésie cornéenne totale (ACT). Avec une seule goutte de solution de chlorhydrate de proparacaïne à 0,5 %, une ACT est obtenue pendant 15 minutes chez le chien et 5 minutes chez le chat [33, 36]. Chez le cheval, un CTT reste toujours perceptible après l'instillation d'une goutte de solution de chlorhydrate de proparacaïne ou de tétracaïne à 0,5 %, mais disparaît après celle d'une goutte de tétracaïne à 1 % ou de deux gouttes de tétracaïne à 0,5 % [37, 40].

En ophtalmologie vétérinaire, la durée d'anesthésie cornéenne par d'autres agents topiques tels que la tétracaïne ou l'oxybuprocaïne n'a à notre connaissance pas été étudiée.

A.III.3 Effets secondaires

Bien qu'ils soient globalement bien tolérés et sans danger à court terme, les agents anesthésiques topiques peuvent se révéler toxiques pour la cornée s'ils sont administrés à tort ou sur le long terme. En effet, des pertes épithéliales et endothéliales, des ulcères neurotrophiques, des infiltrations et oedèmes du stroma, des descémétocèles voire même des perforations cornéennes sont décrits dans la littérature [90, 102-106]. Le rôle des adjuvants présents dans les collyres est également mis en cause [107-110].

Ainsi, les agents anesthésiques ralentissent la migration des cellules épithéliales et de fait le processus de cicatrisation cornéenne. En effet, ils bloquent de façon transitoire et non sélective la dépolarisation des fibres nerveuses de la cornée [96]. Ces fibres n'exercent donc plus leur rôle trophique sur les cellules épithéliales dont le métabolisme est par conséquent ralenti [10, 19, 20]. L'adhésion et la motilité cellulaire sont affectées de par la diminution de la quantité de protéines du cytosquelette (actine, myosine) [111, 112]. Des remaniements cellulaires de l'épithélium cornéen sont observés : les microvillosités de la couche superficielle et les jonctions serrées sont en quantité réduite. Une interaction avec le gradient calcique transmembranaire est également suspectée [113]. La perméabilité de l'épithélium cornéen à la fluorescéine est ainsi augmentée dès la première instillation d'une solution à base de proparacaïne [114].

De la même manière, la fonction lacrymale est indirectement et momentanément affectée. En effet, la levée de la sensibilité cornéenne par l'instillation d'un anesthésique topique rompt l'arc réflexe lacrymogène. Ainsi, la valeur du test de Schirmer est significativement diminuée suite à l'instillation de collyre anesthésique chez le chien [115]. Le temps de rupture du film lacrymal précornéen varie quant à lui selon l'agent anesthésique utilisé ; il est déstabilisé par l'application topique de proparacaïne mais reste inchangé par celle d'oxybuprocaine [96]. De surcroît, la perte de sensibilité cornéenne diminue la fréquence de clignement palpébral, ce qui contribue à l'instauration d'une sécheresse oculaire.

Enfin, l'effet des anesthésiques topiques sur l'épaisseur de la cornée est discuté et varie selon les techniques de mesures [97, 116, 117]. Une augmentation transitoire de l'épaisseur de la cornée est possible et attribuable à un œdème cornéen secondaire à la toxicité de ces topiques pour l'endothélium [105]. Weekers et al. ont ainsi montré que les anesthésiques topiques altèrent les pompes Na^+ / K^+ des cellules endothéliales chez le lapin, participant de fait à l'augmentation de l'hydratation stromale [118]. Ce biais porte principalement à conséquence en ophtalmologie humaine où la mesure précise de l'épaisseur cornéenne constitue une étape clé des chirurgies kératoréfractives. Par ailleurs, une utilisation répétée des collyres anesthésiques est susceptible d'endommager la couche de cellules endothéliales non régénérative, favorisant une décompensation endothéliale. Cet effet potentiel sur l'épaisseur cornéenne ne semble pas se répercuter sur la pression intraoculaire, comme récemment démontré avec une goutte de proparacaïne à 0,5 % chez le chien et chez le rat [39].

L'utilisation au long terme des agents anesthésiques ou en présence d'une lésion de l'épithélium cornéen est de fait contre indiquée. En effet, la cornée est fragilisée et libère des antigènes qui stimulent une réponse immunitaire de l'unité fonctionnelle lacrymale regroupant la cornée superficielle, la conjonctive, les glandes lacrymales et le système d'interconnexion nerveuse [103, 119]. Il en résulte un cercle vicieux responsable d'une inflammation oculaire chronique se manifestant par les symptômes précédemment cités et propice à des complications infectieuses [120, 121].

En outre, une toxicité des collyres anesthésiques pour les structures plus profondes du bulbe oculaire est probable et limite leur utilisation pendant le temps per-opératoire d'une chirurgie endoculaire. En effet, des iritis fibrineuses sont décrites suite à la diffusion accidentelle d'oxybuprocaine dans la chambre antérieure [122].

Par ailleurs, des réactions de type idiosyncrasique peuvent se manifester dès l'instillation d'une goutte de collyre anesthésique ; le principe actif comme les adjuvants peuvent être en cause. Chez le chien, une hypersensibilité oculaire est principalement rapportée pour la tétracaïne sous forme d'une hyperhémie conjonctivale, d'un chémosis et d'une procidence de la membrane nictitante [96]. En médecine humaine, des réactions allergiques cutanées sur les paupières et l'extrémité des doigts sont décrites suite à l'utilisation chronique de collyres à base d'oxybuprocaine ou de proparacaïne [106, 123].

PARTIE B : Etude expérimentale sur l'anesthésie de la cornée chez le chien : matériel et méthodes

B.I Critères d'inclusion

L'étude esthésiométrique portait sur 34 chiens en bonne santé, répartis en 25 femelles (74 %) et 9 mâles (26 %), appartenant aux laboratoires des unités de Physiologie et de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT). L'âge des animaux variait de 1,3 à 10,9 ans avec une moyenne à $4,4 \pm 2,5$ ans et une médiane à 3,4 ans (*cf.* annexe 2). Tous les chiens appartenaient à la race Beagle et possédaient donc une conformation dolichocéphalique. Avant chaque série de mesures, tous les animaux inclus dans l'étude ont été soumis à un examen clinique général, ainsi qu'un examen ophtalmologique comprenant une évaluation semi-quantitative de la sécrétion lacrymale à l'aide d'un test de Schirmer I (Virbac S.A., Carros cedex, France). Seuls les animaux présentant une sécrétion lacrymale supérieure à 10 mm/min et ne montrant aucun signe d'affection oculaire ont été retenus dans cette étude.

B.II Traitements

B.II.1 Protocole à une goutte de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 %

Le premier protocole portait sur 22 chiens de laboratoire de race Beagle en bonne santé, répartis en 16 femelles (73 %) et 6 mâles (27 %) âgés de 2,5 à 10,9 ans. L'âge moyen des animaux était de $4,4 \pm 2,3$ ans avec une médiane à 3,1 ans (*cf.* annexe 2).

Tous les traitements ont été réalisés à partir d'une solution commerciale de cébésine® 0,4 % collyre (Chauvin Bausch & Lomb, Montpellier cedex, France) contenant 0,4 % de chlorhydrate d'oxybuprocaine et des excipients inactifs (eau purifiée, chlorure de sodium) (*cf.* figure 12). Afin de garantir une efficacité optimale, la solution commerciale de cébésine® 0,4 % collyre provenait du même flacon conservé au réfrigérateur pendant toute la durée de l'étude [41].

Pour chaque chien, un œil sélectionné aléatoirement a été soumis à traitement (11 yeux droits, 11 yeux gauches). A T_0 , une seule goutte de cébésine® 0,4 % collyre était instillée dans un œil ; l'œil adelphe ne recevait quant à lui aucun traitement. La sensibilité cornéenne était ensuite mesurée sur les deux yeux après une minute ($T_0 + 1$) puis toutes les cinq minutes. Toutes les mesures ont été réalisées par le même opérateur, sans que celui ne sache quel œil était initialement traité.



Figure 12 : Flacon de cébésine® 0,4 % collyre

Chauvin Bausch & Lomb, Montpellier cedex, France.

B.II.2 Protocole de comparaison des collyres de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 % et de tétracaine 1 %

Le second protocole portait sur 12 chiens de laboratoire de race Beagle en bonne santé, répartis en 9 femelles (75 %) et 3 mâles (25 %) âgés de 1,3 à 9,8 ans. L'âge moyen des animaux était de $4,5 \pm 2,9$ ans avec une médiane à 4 ans (*cf.* annexe 2).

Tous les traitements ont été réalisés à partir de solution commerciale de chlorhydrate d'oxybuprocaine Théa® (collyre à 0,4 % en récipient unidose à base d'excipients : chlorure de sodium, hydroxyde de sodium, acide chlorhydrique (qsp pH = 5), eau purifiée ; Clermont-Ferrand cedex, France) et de tétracaine Faure® 1 % (collyre à 1 % en récipient unidose à base d'excipients : chlorure de sodium, hydroxyde de sodium (qsp pH = 6,3), eau purifiée ; Novartis Pharma SAS, Rueil-Malmaison cedex, France) (*cf.* figure 13 et 14).

A T₀, une seule goutte de chlorhydrate d'oxybuprocaine Théa® était instillée dans un œil sélectionné aléatoirement (5 yeux droits, 5 yeux gauches) ; l'œil adelphe recevait quant à lui immédiatement une seule goutte de tétracaine Faure® 1 %. Le CTT était ensuite mesuré sur les deux yeux après une minute (T₀ + 1) puis toutes les cinq minutes. Les signes de réaction conjonctivale tels que l'hyperhémie et l'œdème ont été évalués de manière subjective par l'opérateur sur une échelle de 0 à 3 (0 = absence ; 1 = léger ; 2 = modéré ; 3 = sévère). Toutes les mesures ont été réalisées par le même opérateur, sans que celui ne sache par quelle solution commerciale chaque œil était initialement traité.

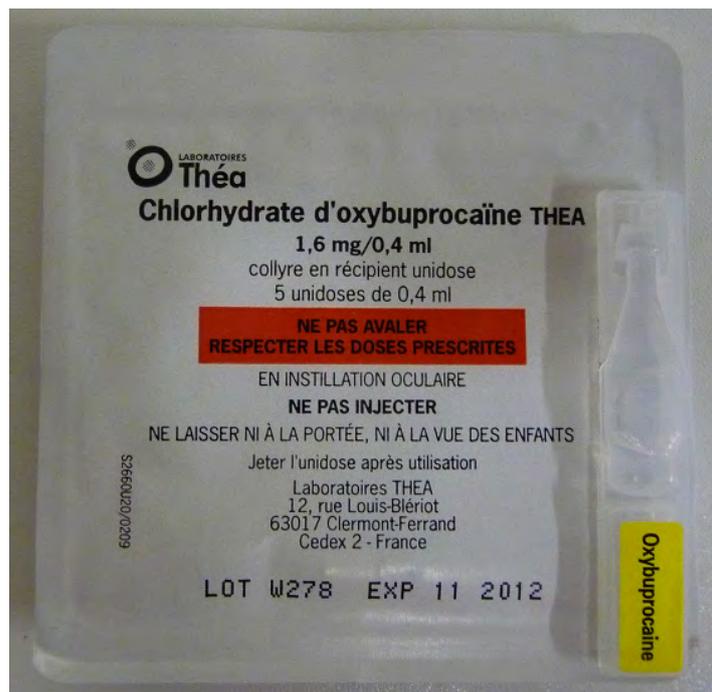


Figure 13 : Unidose de chlorhydrate d'oxybuprocaine Théa®

Théa, Clermont-Ferrand cedex, France.



Figure 14 : Unidose de tétracaine Faure® 1 %

Novartis Pharma SAS, Rueil-Malmaison cedex, France.

Pour chaque protocole, à la fin de chaque série de mesures, tous les chiens ont été soumis à une coloration au rose Bengale et à la fluorescéine sur les deux yeux pour contrôler l'absence d'ulcère cornéen secondaire au contact répété du filament de l'esthésiomètre.

B.III Mesure de la sensibilité cornéenne

Un esthésiomètre de Cochet-Bonnet (Luneau ophtalmologie, Chartres cedex, France) était utilisé pour mesurer la sensibilité de la portion centrale de la cornée. L'instrument était muni d'un filament en nylon de 0,12 mm de diamètre et dont la longueur pouvait varier entre 0 et 6 cm. La longueur du filament déterminait la pression exercée à la surface cornéenne, variant de 0,4 à 15,9 g/mm². Plus le filament était long, plus cette pression était faible (cf. figure 8 et annexe 1).

Afin de minimiser l'influence des facteurs environnementaux, notamment sur la rigidité du filament, toutes les mesures ont été réalisées dans la même pièce. La température et l'hygrométrie étaient enregistrées. Les chiens étaient maintenus en position assise avec la tête droite par un assistant exerçant un minimum de contention. Le même opérateur était en charge de toutes les mesures.

La mesure de la sensibilité cornéenne consistait à approcher lentement le filament de l'esthésiomètre vers le globe oculaire pour l'appliquer perpendiculairement à la portion centrale de la cornée (cf. figure 15). Une paire de lunettes loupe était utilisée par l'opérateur de façon à mieux visualiser le contact entre le filament et la cornée, sans provoquer de courbure du filament synonyme d'une plus grande pression. La sensibilité cornéenne était assimilée au CTT, défini par la pression exercée par l'extrémité libre du filament de l'esthésiomètre sur la cornée déclenchant une réponse de clignement palpébral dans au moins trois des cinq stimulations effectuées. La valeur de cette pression était déduite de la longueur en centimètres du filament à partir des tables fournies par le fabricant de l'instrument de mesure.

Pour chaque chien, le CTT basal a été mesuré dix minutes et cinq minutes avant le début des traitements. Le filament était tout d'abord appliqué à sa longueur maximale (6 cm) puis diminuée de 0,5 cm en 0,5 cm jusqu'à l'obtention du CTT. Lorsqu'un résultat positif était

obtenu, la longueur du filament était augmentée de 0,5 cm et cinq nouvelles stimulations étaient réalisées. L'administration du traitement correspondait à l'instant T_0 . Par la suite, le CTT était mesuré sur les deux yeux après une minute ($T_0 + 1$) puis toutes les cinq minutes jusqu'à ce que la cornée ne soit plus désensibilisée, c'est-à-dire jusqu'au retour à la valeur basale du CTT. De ce fait, chaque œil était considéré comme son propre témoin.

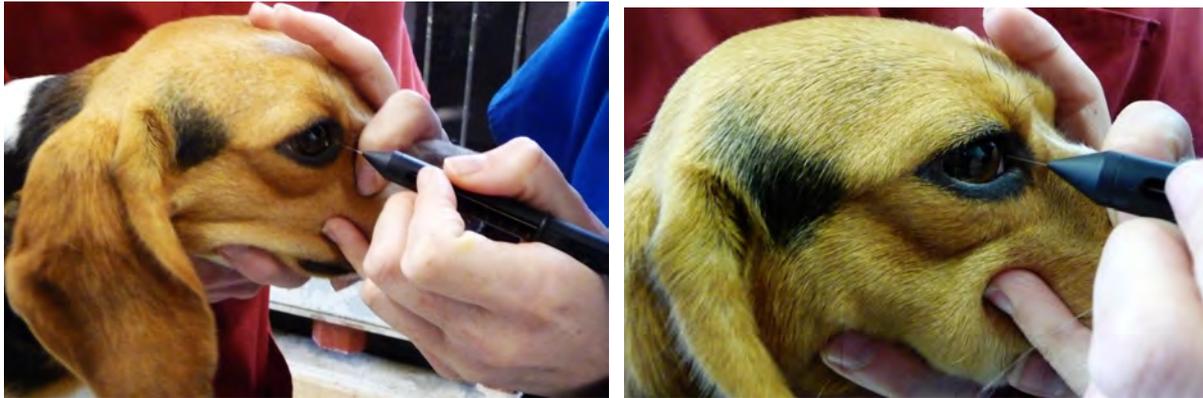


Figure 15 : Méthode de mesure de la sensibilité cornéenne à l'aide de l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet

B.IV Analyse statistique

L'analyse statistique de l'ensemble des données expérimentales a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft EXCEL. Lors de la réalisation d'un test de Student, seule une valeur de p inférieure à 0,05 permettait de conclure à une différence significative entre deux échantillons.

La sensibilité cornéenne était assimilée au CTT, défini par la pression exercée par l'extrémité libre du filament de l'esthésiomètre sur la cornée déclenchant une réponse de clignement palpébral dans au moins trois des cinq stimulations effectuées. La longueur du filament de l'esthésiomètre correspondant au CTT était la mesure retenue pour approximer la sensibilité cornéenne. Cette unité était conservée tout au long de l'analyse. En effet, l'extrapolation d'une longueur de filament en une pression exercée à la surface de la cornée n'est valable que pour une valeur donnée ; par exemple, elle serait source d'erreur lorsque appliquée à une valeur moyenne, puisqu'il n'existe pas de relation de proportionnalité entre les deux unités [58].

Tout d'abord, la longueur moyenne du filament de l'esthésiomètre correspondant au CTT ainsi que l'écart type ont été calculés pour chaque temps expérimental. De ces valeurs découlaient d'une part la durée d'anesthésie cornéenne totale (ACT) correspondant à la durée pendant laquelle aucun chien ne répondait à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm) ; d'autre part la durée de retour de la sensibilité cornéenne au seuil de base (RSC_{SB}) correspondant à la durée après laquelle tous les chiens répondaient à la même stimulation qu'initialement. La valeur moyenne de ces deux durées a également été calculée pour l'ensemble des chiens des deux protocoles. Enfin, la durée d'anesthésie cornéenne totale 50 (ACT₅₀) a été calculée et correspondaient à la durée pour laquelle la moitié au moins des chiens de l'étude ne répondait pas à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm). Dans le cadre de la comparaison entre l'oxybuprocaine et la tétracaïne, la valeur moyenne des différences entre les durées d'ACT et de RSC_{SB} a également fait l'objet d'une étude.

A la suite de cette étude comparative, les scores cliniques évaluant l'intensité de l'hyperhémie et de l'œdème conjonctival ont été moyennés pour l'oxybuprocaine d'une part et la tétracaïne d'autre part (échelle allant de 0 à 3 : 0 = absence ; 1 = léger ; 2 = modéré ; 3 = sévère).

Enfin, l'influence des facteurs âge, sexe, poids et longueur basale du filament sur la durée d'ACT d'une part, la durée de RSC_{SB} d'autre part et enfin la longueur basale du filament a été étudiée à l'aide de tests de Student. L'âge et la longueur basale du filament pris comme références dans cette étude correspondent aux valeurs médianes de ces deux paramètres.

PARTIE C : Etude expérimentale sur l'anesthésie de la cornée chez le chien : résultats et discussion

C.I Résultats

Pour chacun des deux protocoles, les résultats de toutes les mesures réalisées ont été récapitulés sous forme de tableaux respectivement dans les annexes 3 et 4.

Pour l'ensemble des 34 chiens (68 yeux) de notre étude, la longueur moyenne de base du filament de l'esthésiomètre était de 1,5 +/- 0,3 cm. La médiane est également de 1,5 cm.

Chez un même animal, la longueur basale entre les yeux droit et gauche ne présentait aucune différence significative ($p = 0,9$).

L'âge ($p = 0,2$) n'influe pas sur la longueur basale du filament (*cf.* figure 16). Dans notre étude, la longueur basale du filament variait de façon significative selon le poids et le sexe de l'animal ($p < 0,05$) : elle était de 1,5 cm en moyenne chez les chiens de poids standard contre 1,4 cm chez les chiens en surpoids ; elle était de 1,4 cm en moyenne chez les femelles contre 1,8 cm chez les mâles (*cf.* figures 17 et 18).

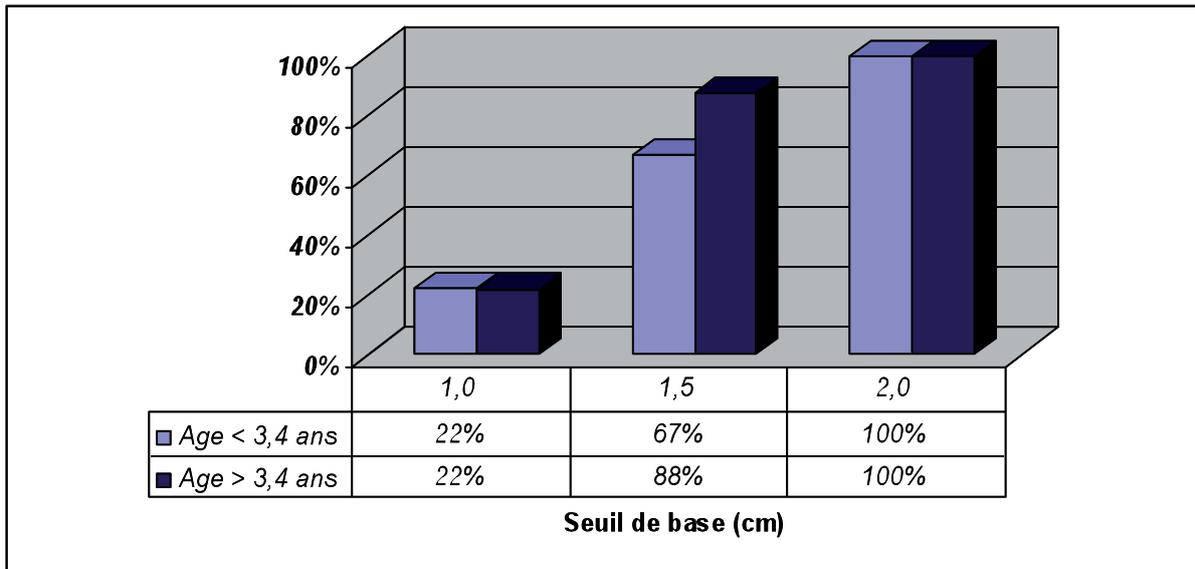


Figure 16 : Influence de l'âge sur le seuil de base

L'âge de référence correspond à l'âge médian des 34 chiens de notre étude (soit 3,4 ans). Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des deux groupes ($p = 0,2$).

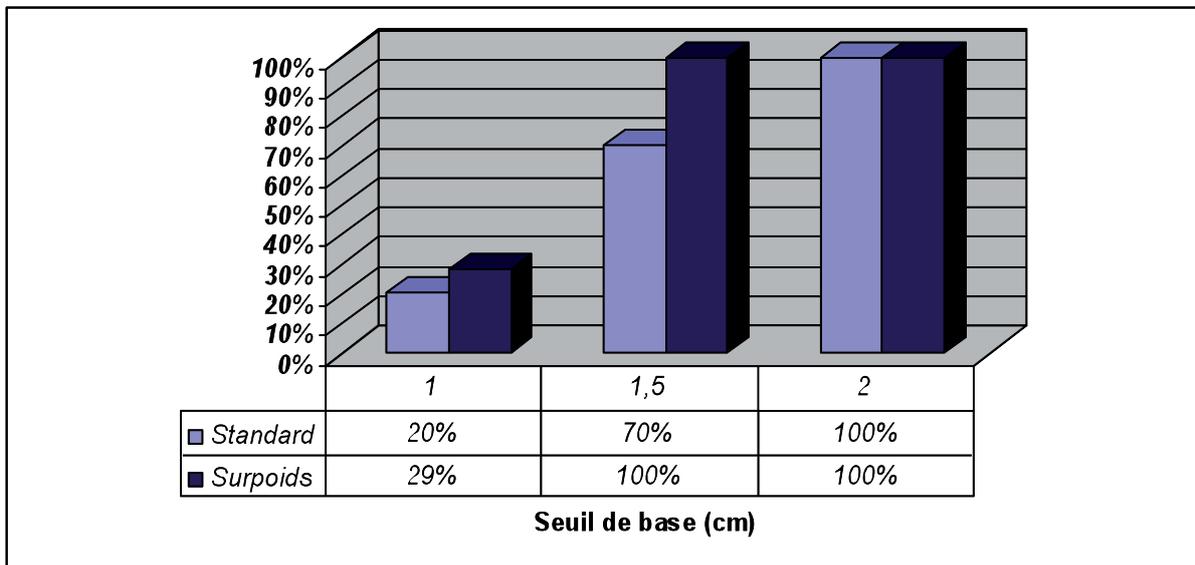


Figure 17 : Influence du poids sur le seuil de base

Il existe une différence significative entre les valeurs cumulées des chiens de poids standard (1,5 cm en moyenne) et celles des chiens en surpoids (1,4 cm) ($p < 0,05$).

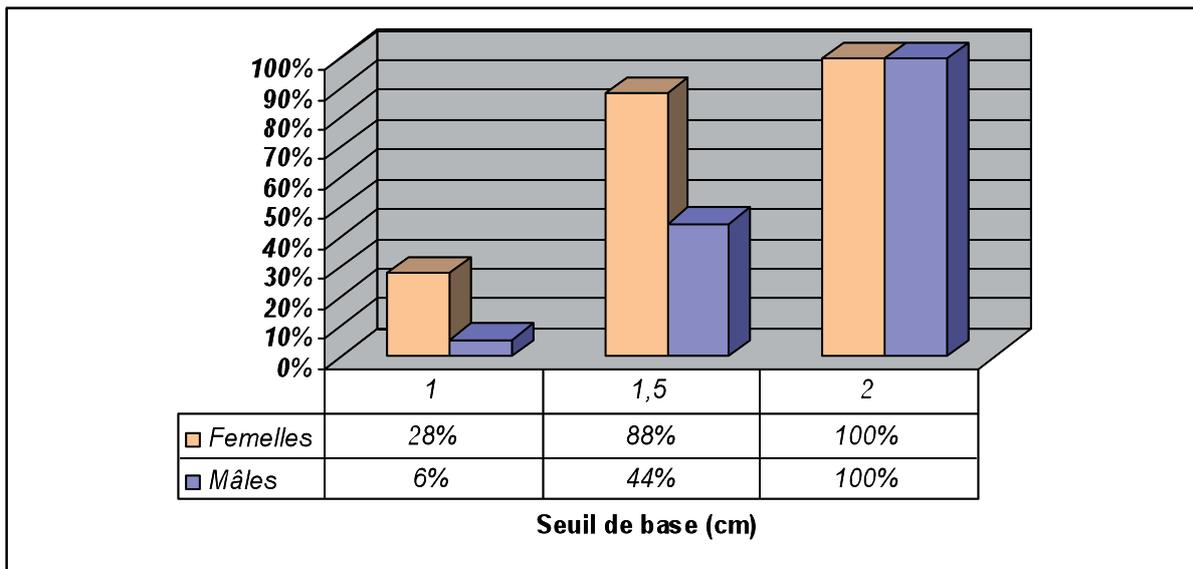


Figure 18 : Influence du sexe sur le seuil de base

Il existe une différence significative entre les valeurs cumulées des femelles (1,4 cm en moyenne) et celles des mâles (1,8 cm) ($p < 0,05$).

C.I.1 Résultats du protocole à une goutte de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 %

La longueur moyenne de base du filament de l'esthésiomètre des 22 chiens (44 yeux) de ce protocole était de 1,5 +/- 0,4 cm. La médiane était également de 1,5 cm.

La durée d'ACT était de 15 minutes. En effet, à 1, 5, 10 et 15 minutes après l'application du traitement, aucun chien ne répondait à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm) (cf. figure 19). La durée moyenne d'ACT était de 32 minutes alors que la durée maximale d'ACT était de 50 minutes et ne concernait qu'un seul chien.

La durée d'ACT₅₀ était quant à elle de 35 minutes. Ainsi, à 35 minutes après l'application du traitement, au moins la moitié des chiens ne répondait pas à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm).

La durée de RSC_{SB} était de 70 minutes. Ainsi, à 70 minutes après l'application du traitement, tous les chiens répondaient à la même stimulation qu'initialement (cf. figure 19). La durée moyenne de RSC_{SB} était quant à elle de 53 minutes.

La longueur du filament différait de façon significative de la longueur basale ($p < 0,05$) pendant 55 minutes après l'application du traitement. A l'inverse, celle-ci ne variait pas de façon significative sur l'œil non traité pour aucun des temps expérimentaux (cf. figure 20).

L'âge, le sexe, le poids et la longueur initiale du filament n'influaient ni sur la durée d'ACT ni sur la durée de RSC_{SB} (cf. figures 21 à 28).

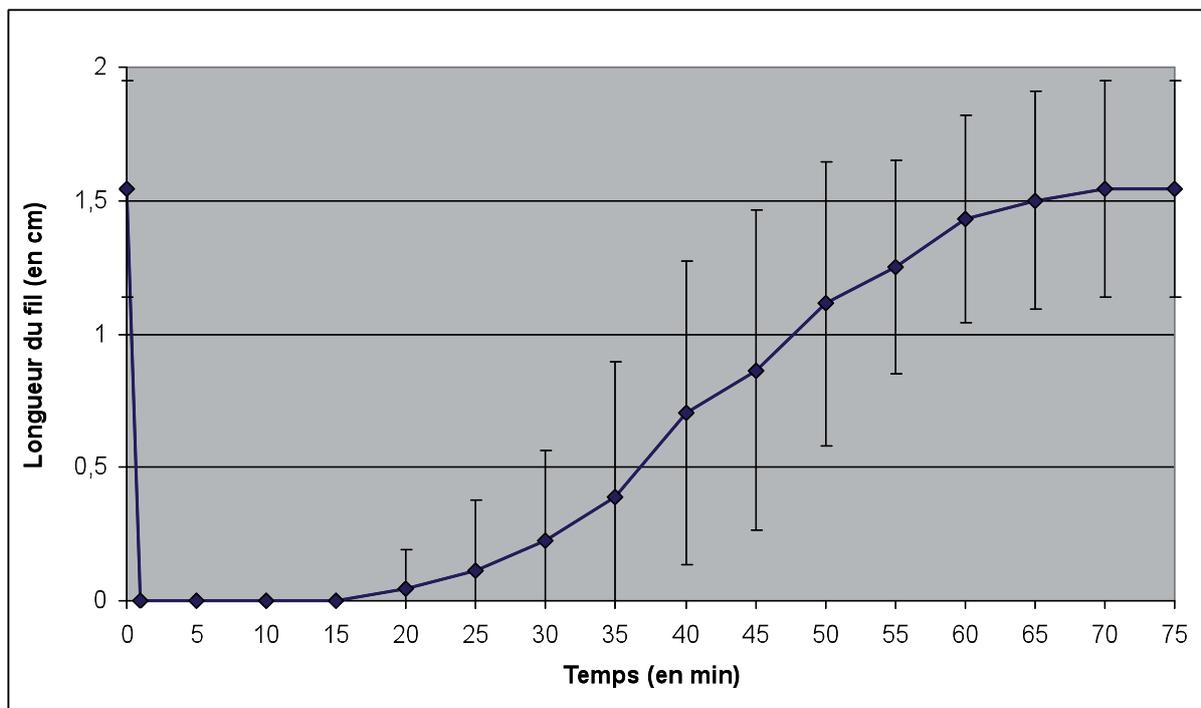


Figure 19 : Evolution temporelle de la longueur moyenne du filament correspondant à la sensibilité cornéenne avant et après l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %

Les écart-types à chaque temps expérimental sont matérialisés par les bâtons (95 % de l'intervalle de confiance). La valeur de base est la longueur associée à l'abscisse 0. La goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % était administrée à l'instant T_0 . A chaque abscisse suivante est associée la valeur moyenne de la longueur du filament mesurée pour les 22 yeux traités dans notre étude.

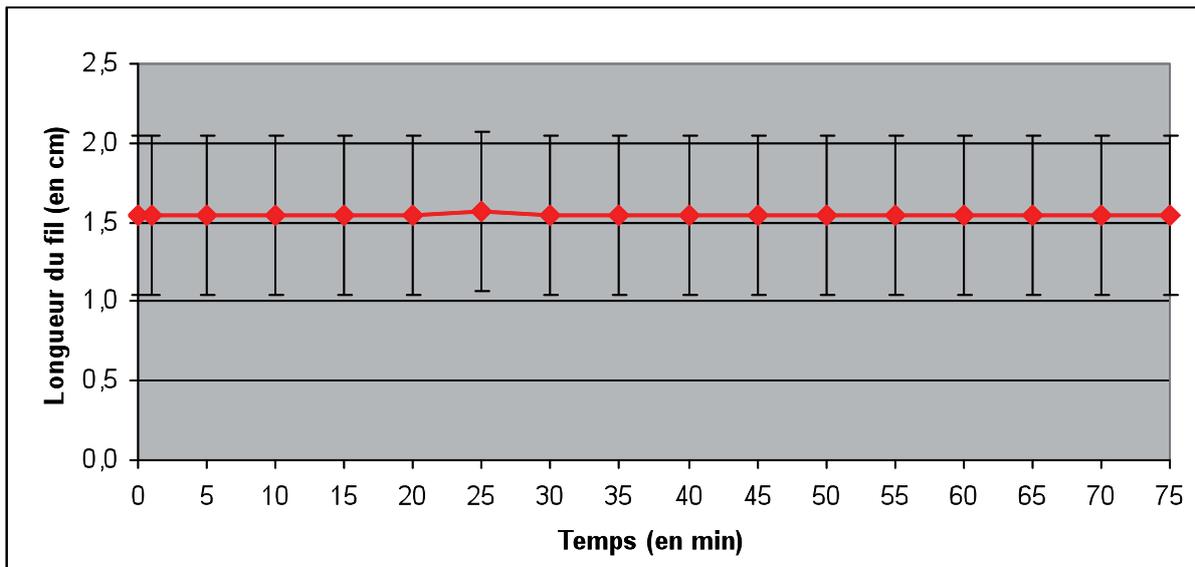


Figure 20 : Evolution temporelle de la longueur moyenne du filament correspondant à la sensibilité cornéenne des 22 yeux non traités

Les écart-types à chaque temps expérimental sont matérialisés par les bâtons (95 % de l'intervalle de confiance).

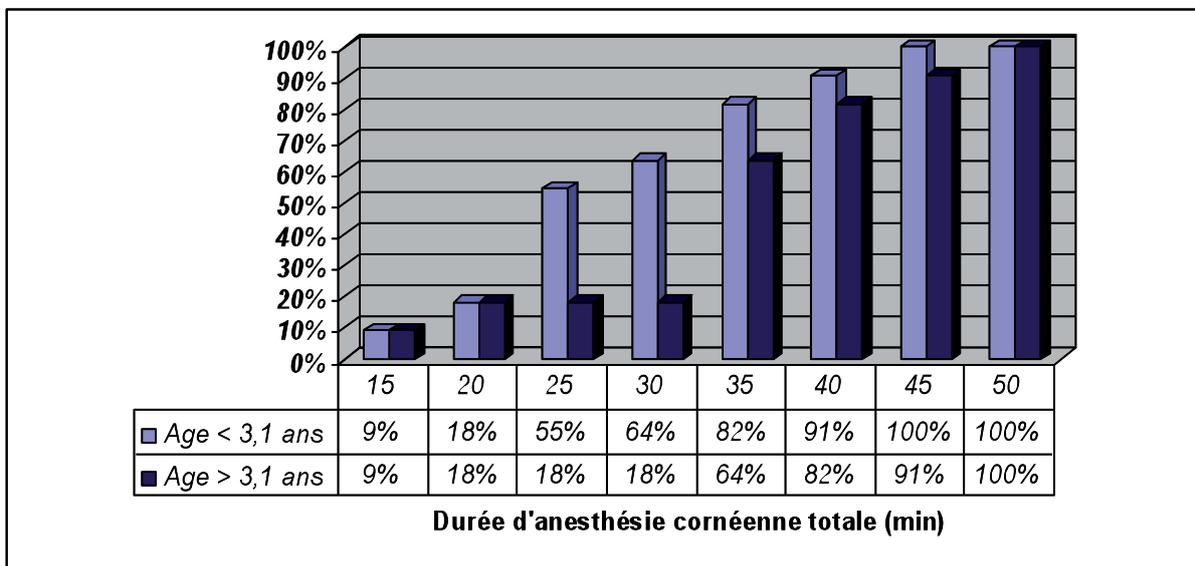


Figure 21 : Influence de l'âge sur la durée d'ACT

L'âge de référence correspond à l'âge médian des 22 chiens de notre étude (soit 3,1 ans). Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des deux groupes ($p = 0,16$).

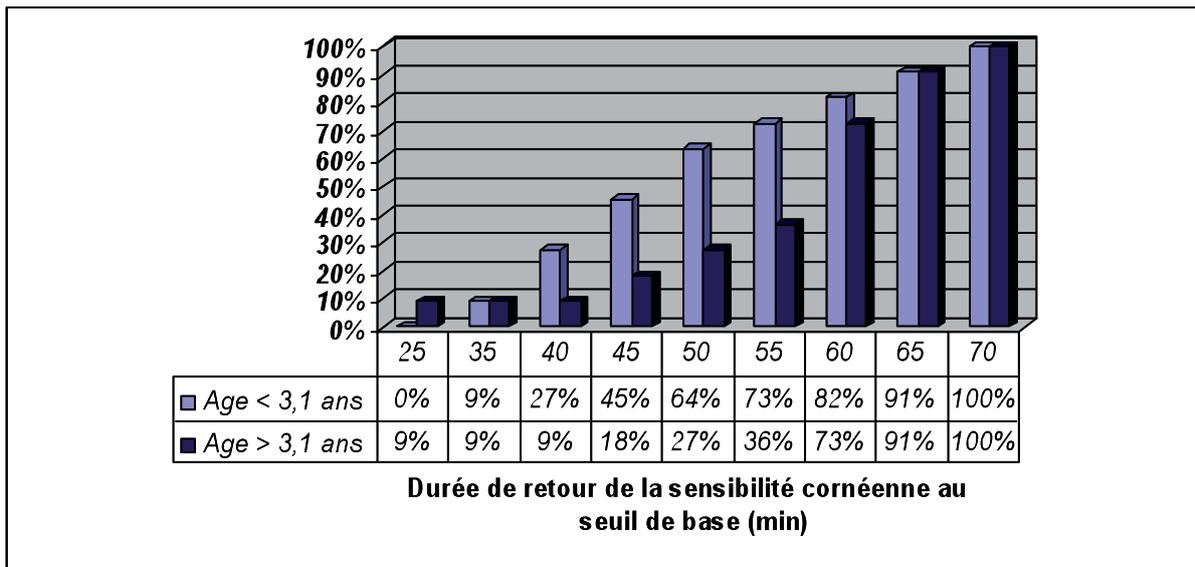


Figure 22 : Influence de l'âge sur la durée de RSC_{SB}

L'âge de référence correspond à l'âge médian des 22 chiens de notre étude (soit 3,1 ans). Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des deux groupes ($p = 0,29$).

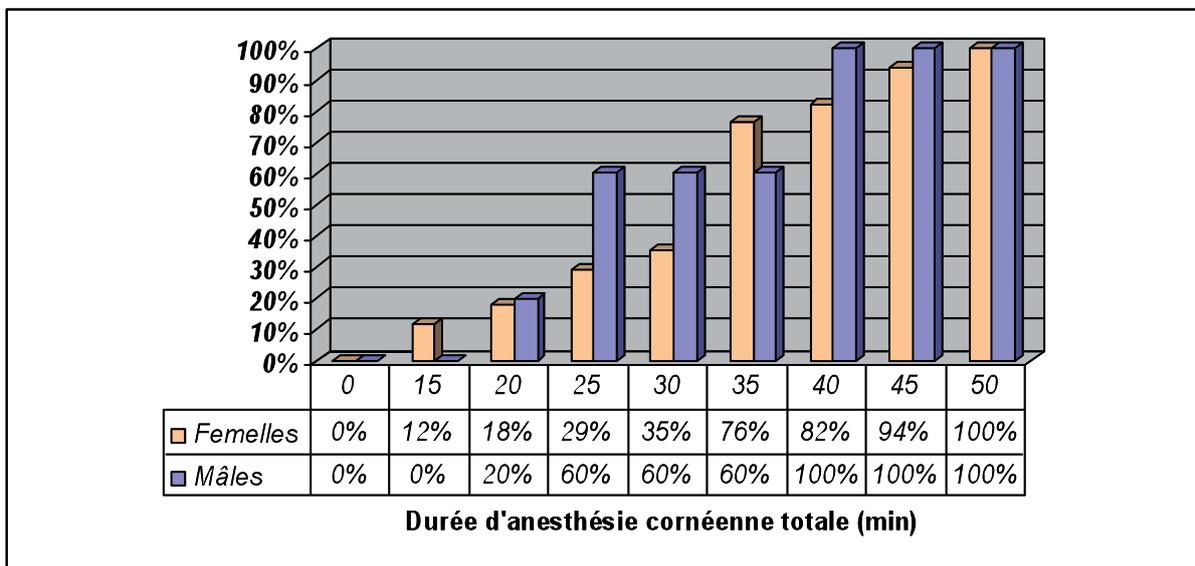


Figure 23 : Influence du sexe sur la durée d'ACT

Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des mâles et celles des femelles ($p = 0,60$).

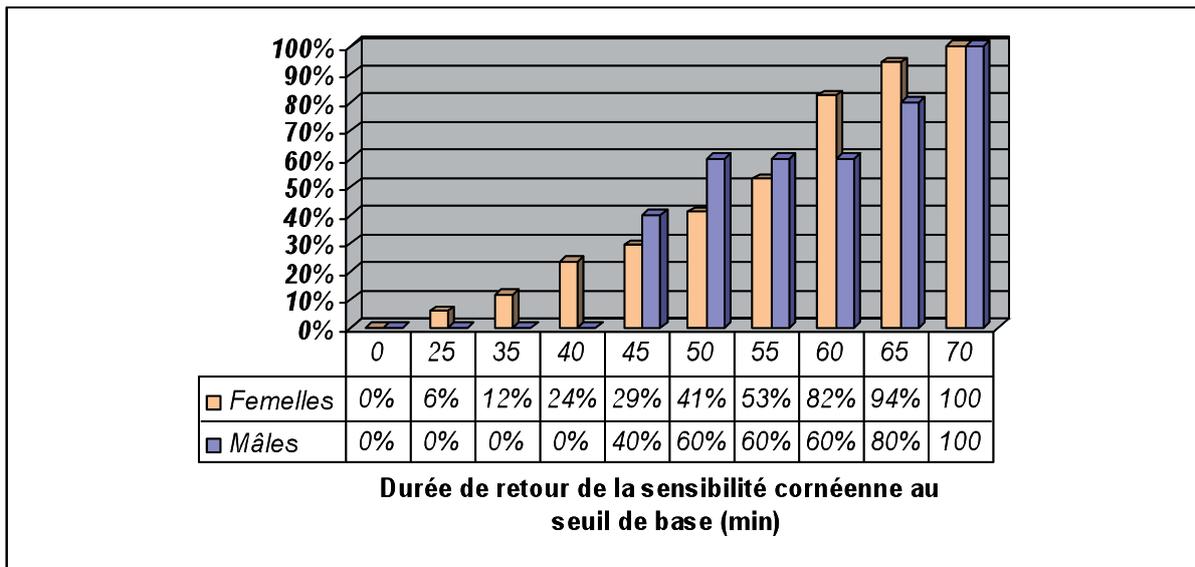


Figure 24 : Influence du sexe sur la durée de RSC_{SB}

Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des mâles et celles des femelles ($p = 0,71$).

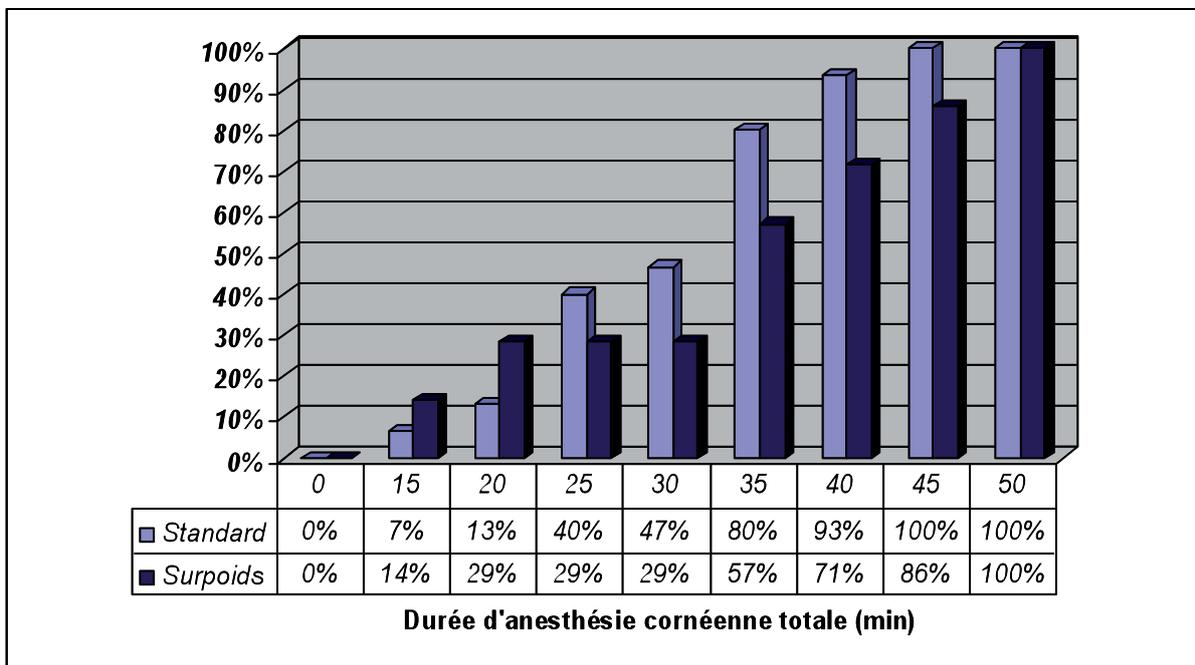


Figure 25 : Influence du poids sur la durée d'ACT

Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des chiens de poids standard et celles des chiens en surpoids ($p = 0,55$).

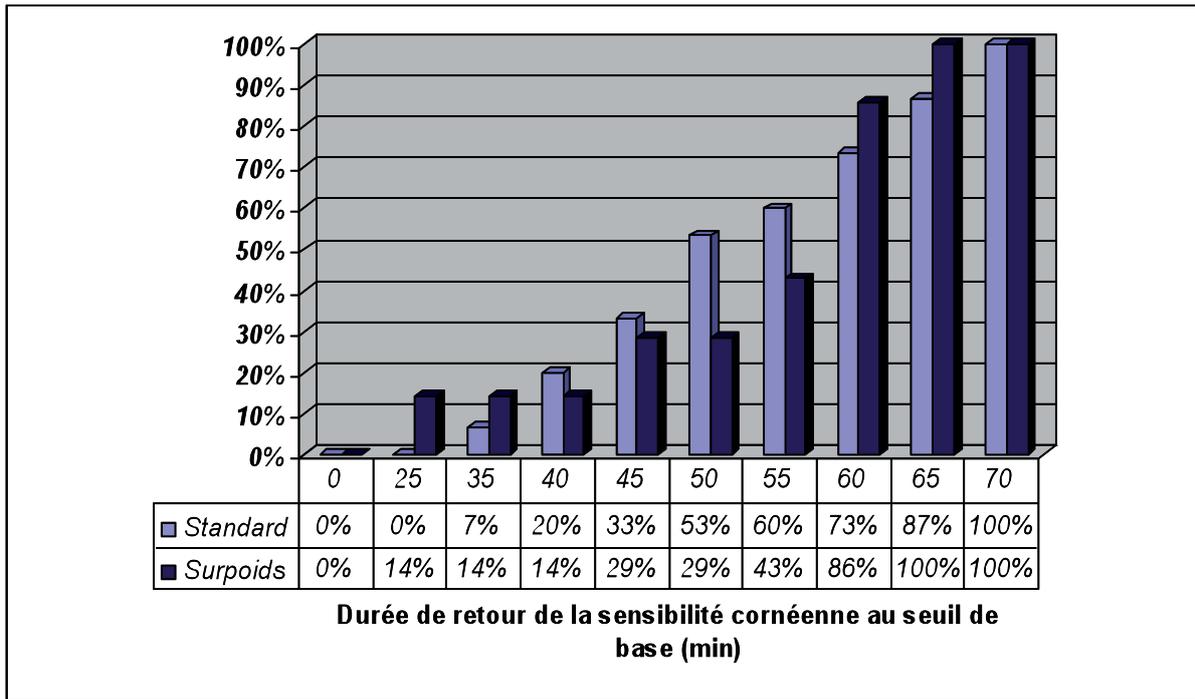


Figure 26 : Influence du poids sur la durée de RSC_{SB}

Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des chiens de poids standard et celles des chiens en surpoids ($p = 0,94$).

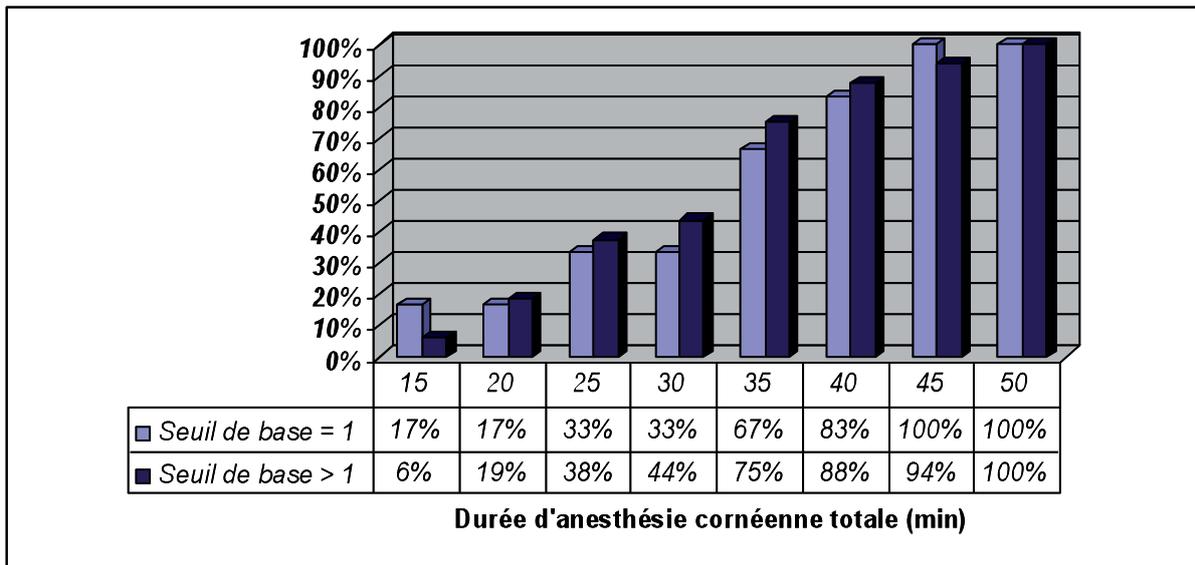


Figure 27 : Influence du seuil de base sur la durée d'ACT

Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des deux groupes ($p = 0,90$).

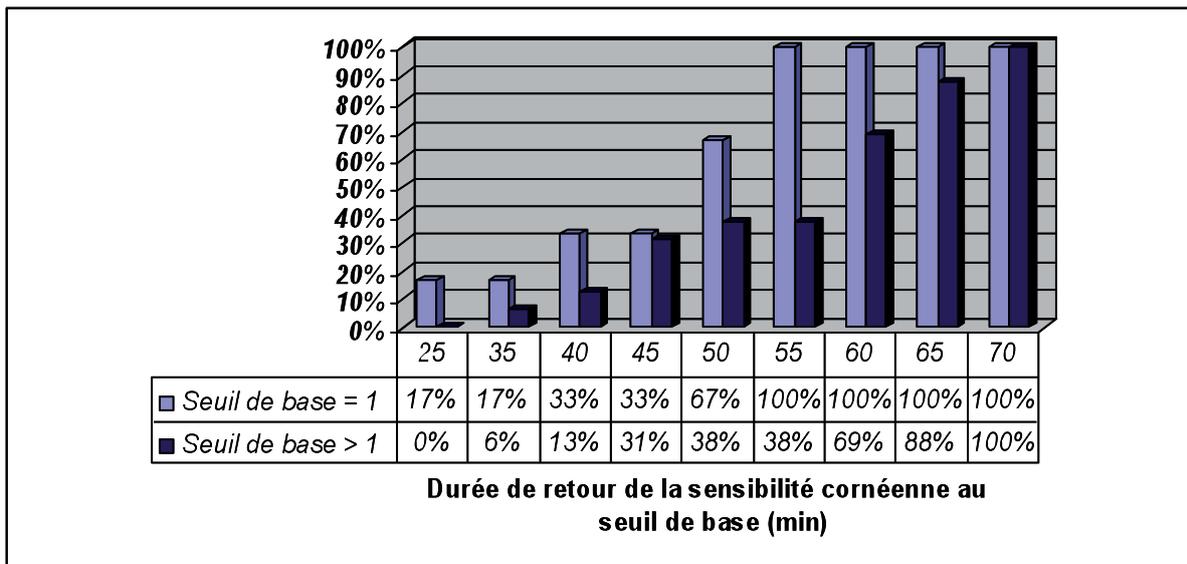


Figure 28 : Influence du seuil de base sur la durée de RSC_{SB}

Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des deux groupes ($p = 0,10$).

C.I.2 Résultats du protocole de comparaison des collyres de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 % et de tétracaine 1 %

La longueur basale moyenne du filament de l'esthésiomètre des 12 chiens (24 yeux) de ce protocole était de 1,4 +/- 0,2 cm. La médiane était de 1,5 cm.

Concernant l'oxybuprocaine 0,4 % :

- La durée d'ACT était de 15 minutes. En effet, jusqu'à 15 minutes après l'application du traitement, aucun chien ne répondait à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm) (cf. figure 29).
- La durée moyenne d'ACT était de 34,5 minutes.
- La durée maximale d'ACT était de 45 minutes et concernait encore 4 chiens.
- La durée d'ACT₅₀ était de 40 minutes. Ainsi, à 40 minutes après l'application d'oxybuprocaine 0,4 %, au moins la moitié des chiens ne répondait pas à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm).

- La durée de RSC_{SB} était de 65 minutes. Ainsi, à 65 minutes après l'application du traitement, tous les chiens répondaient à la même stimulation qu'initialement (cf. figure 29).
- La durée moyenne de RSC_{SB} était de 55 minutes.
- La longueur du filament différait de façon significative de la longueur basale ($p < 0,05$) pendant 55 minutes après l'application du traitement.

Concernant la tétracaïne 1 % :

- La durée d'ACT était de 20 minutes. En effet, jusqu'à 20 minutes après l'application du traitement, aucun chien ne répondait à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm) (cf. figure 29).
- La durée moyenne d'ACT était de 32 minutes.
- La durée maximale d'ACT était de 50 minutes et ne concernait qu'un seul chien.
- La durée d'ACT₅₀ était de 35 minutes. Ainsi, à 35 minutes après l'application de tétracaïne 1 %, au moins la moitié des chiens ne répondait pas à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm).
- La durée de RSC_{SB} était de 70 minutes. Ainsi, à 70 minutes après l'application du traitement, tous les chiens répondaient à la même stimulation qu'initialement (cf. figure 29).
- La durée moyenne de RSC_{SB} était de 54,5 minutes.
- La longueur du filament différait de façon significative de la longueur basale ($p < 0,05$) pendant 50 minutes après l'application du traitement.

Concernant la comparaison entre l'oxybuprocaïne 0,4 % et la tétracaïne 1 % :

- La différence moyenne de durée d'ACT était de 2,9 minutes en faveur de l'oxybuprocaïne.
- La différence moyenne de durée de RSC_{SB} était de 24 secondes également en faveur de l'oxybuprocaïne.
- La longueur moyenne du filament ne différait de façon significative entre l'oxybuprocaïne et la tétracaïne à aucun des temps expérimentaux de mesure ($p > 0,05$).
- L'âge influait sur la différence de durée d'ACT ($p < 0,05$) : la différence moyenne de durée d'ACT était de 1,7 minutes en faveur de l'oxybuprocaïne pour les chiens de

moins de 4 ans, contre 4,2 minutes pour ceux de plus de 4 ans (cf. figure 30). A l'inverse, l'âge n'influe pas sur la différence de durée de RSC_{SB} ($p = 0,9$) (cf. figure 31).

- Le score moyen de l'hyperhémie conjonctivale était de 0,1 pour l'oxybuprocaine 0,4 % contre 1,5 pour la tétracaïne 1 % (échelle allant de 0 à 3 : 0 = absence ; 1 = léger ; 2 = modéré ; 3 = sévère) (cf. figure 32). Le score moyen de l'œdème conjonctival était de 0,1 pour l'oxybuprocaine 0,4 % contre 1,4 pour la tétracaïne 1 % (même échelle). L'hyperhémie conjonctivale précédait systématiquement l'œdème. Lorsque le score clinique était supérieur ou égal à 2, les symptômes s'atténaient à partir de 20 minutes et étaient totalement disparus après 30 minutes (cf. annexe 5).

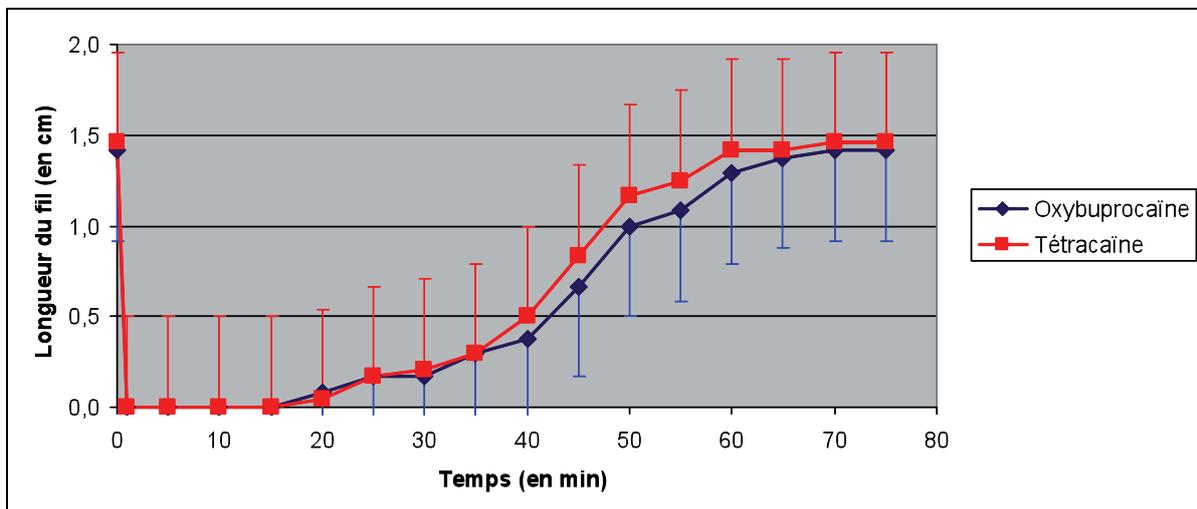


Figure 29 : Evolution temporelle de la longueur moyenne du filament correspondant à la sensibilité cornéenne avant et après l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % (courbe bleue) ou de tétracaïne à 1 % (courbe rouge)

Les écart-types à chaque temps expérimental sont matérialisés par les bâtons (95 % de l'intervalle de confiance). La valeur de base est la longueur associée à l'abscisse 0. La goutte d'anesthésique était administrée dans chaque oeil à l'instant T_0 . A chaque abscisse suivante est associée la valeur moyenne de la longueur du filament mesurée pour les 12 yeux de chaque série.

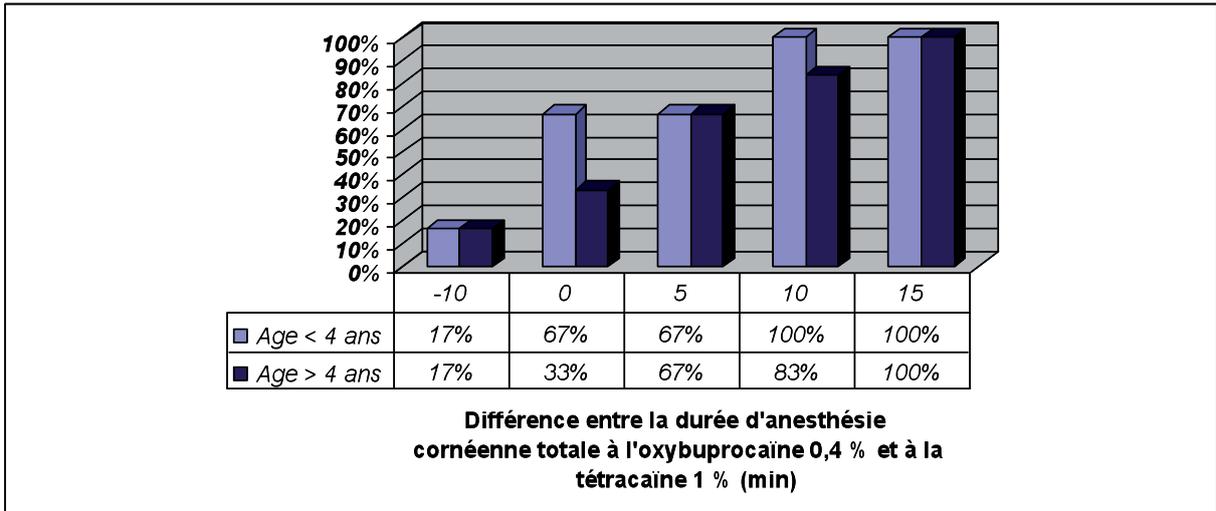


Figure 30 : Influence de l'âge sur la différence entre la durée d'ACT à l'oxybuprocaine 0,4 % et à la tétracaïne 1 %

L'âge de référence correspond à l'âge médian des 12 chiens de notre étude (soit 4 ans). Il existe une différence significative entre les valeurs cumulées des chiens de moins de 4 ans (1,7 min en moyenne) et celles des chiens de plus de 4 ans (4,2 min) ($p < 0,05$).

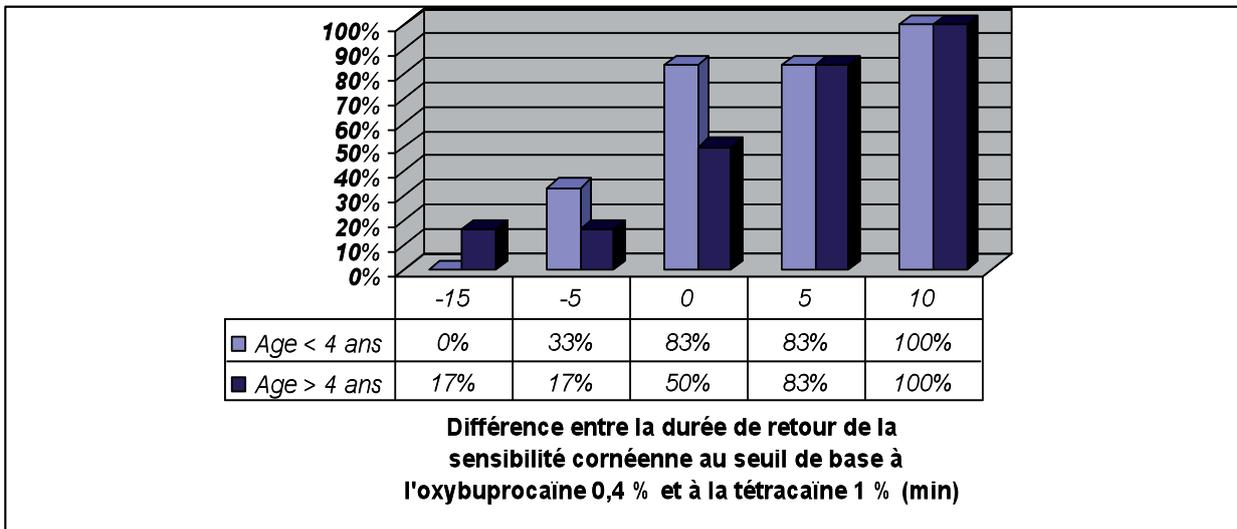


Figure 31 : Influence de l'âge sur la différence entre la durée de RSC_{SB} à l'oxybuprocaine 0,4 % et à la tétracaïne 1 %

Il n'existe pas de différence significative entre les valeurs cumulées des deux groupes ($p = 0,85$).



Figure 32 : Mise en évidence de la réaction conjonctivale consécutive à l'instillation de tétracaïne 1 %

Ce chien a reçu de la tétracaïne 1 % dans l'œil droit et du chlorhydrate d'oxybuprocaine 0,4 % dans l'œil gauche. L'hyperhémie et l'œdème conjonctival ont respectivement été notés : 2 et 2 pour l'œil droit, 0 et 0 pour l'œil gauche (échelle allant de 0 à 3 : 0 = absence ; 1 = léger ; 2 = modéré ; 3 = sévère).

C.II Discussion

L'instillation de collyre anesthésique est couramment pratiquée par le vétérinaire pour faciliter la réalisation de gestes diagnostiques et thérapeutiques tels que l'examen clinique d'un œil douloureux ou l'exploration de la face bulbaire de la membrane nictitante, le retrait de points ou d'un corps étranger, la tonométrie, les raclages conjonctivaux ou cornéens, l'échographie oculaire ou la gonioscopie. La durée d'action des agents anesthésiques topiques et les effets d'une administration répétée sont peu décrits dans la littérature, les données reposant davantage sur la base d'une expérience clinique. Parmi ceux-ci, l'oxybuprocaine est largement utilisée en ophtalmologie humaine, particulièrement sur le continent européen [90, 110, 124-127]. Son usage est également répandu en ophtalmologie vétérinaire mais aucune étude n'a décrit sa durée d'action dans les espèces animales cibles (chien, chat, cheval). Cette étude visait à déterminer l'effet pharmacologique de cet anesthésique local chez le chien sain.

Notre étude portait sur des chiens dolichocéphaliques en bonne santé et ne présentant aucune anomalie à l'examen ophtalmologique. Tous les animaux présentaient un test de Schirmer I dans les valeurs usuelles (> 10 mm/min) sur les deux yeux. Pour chaque œil, la sensibilité cornéenne a été évaluée en cornée centrale à l'aide d'un esthésiomètre de Cochet-Bonnet manipulé par le même opérateur en aveugle dans des conditions identiques de température et d'humidité, et selon les règles de mesure utilisées dans plusieurs études préalables [33]. La longueur du filament de l'esthésiomètre correspondant au CTT a été retenue comme l'évaluation de la sensibilité cornéenne qui a été utilisée pour les données chiffrées de notre étude. Certaines études utilisent comme évaluation de la sensibilité cornéenne la pression exercée à la surface de la cornée, qui est extrapolée de la longueur du filament. Cette démarche n'a pas été adoptée ici car il a été montré que l'extrapolation est une source d'erreur lorsqu'elle est appliquée à une valeur moyenne, puisqu'il n'existe pas de relation de proportionnalité entre les deux unités [58].

Pour chaque protocole, à la fin de chaque série de mesures, tous les chiens ont été soumis à une coloration au rose Bengale et à la fluorescéine sur les deux yeux pour contrôler l'absence d'ulcère cornéen secondaire au contact répété du filament de l'esthésiomètre. Sur la totalité des 32 chiens de l'étude, un seul présentait une prise diffuse au rose Bengale en cornée centrale signifiant une souffrance épithéliale. L'utilisation des lunettes loupe a donc permis de

réaliser les mesures de la sensibilité cornéenne de la façon la moins traumatique possible pour garantir des résultats objectifs.

Dans les deux protocoles, chaque œil était donc son propre témoin : l'expérience s'achevait lorsque l'œil traité retrouvait sa sensibilité de base, préalablement déterminée. Dans le protocole à base d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %, la sensibilité cornéenne de l'œil non traité était évaluée simultanément de façon à exclure l'instauration éventuelle d'une allodynie cornéenne liée à la répétition des impacts de l'extrémité du filament de l'esthésiomètre sur la cornée [13, 54]. Cette hypothèse est réfutée par nos résultats. Par ailleurs, nous n'avons pas mesuré de différence entre œil droit et œil gauche [33-38, 40, 41]. Nous nous sommes également interrogés quant à l'intérêt d'instiller une goutte de sérum physiologique ou de simuler un traitement dans l'œil non traité comme décrit dans certaines études [36, 40] ; sur la base d'une possible dilution de la concentration des médiateurs de l'inflammation dans le lac lacrymal et en l'absence d'explication rationnelle de l'intérêt d'une stimulation, aucun traitement ni aucune simulation n'ont été réalisés sur l'œil non traité préalablement aux mesures de sensibilité cornéenne [25].

La longueur basale moyenne du filament de l'esthésiomètre pour l'ensemble des chiens de notre étude était de 1,5 +/- 0,4 cm. Ce résultat est en adéquation avec les études préalablement réalisées sur ce sujet [36, 41, 57]. Pour rappel, cette longueur basale est estimée par ordre croissant de sensibilité à 5,3 cm chez l'Homme [29], 3,4 cm chez l'alpaga, 2,7 cm chez le lapin [42], 2,1 cm chez le cheval [38], 2 cm chez le cochon d'Inde [58] et 1,58 cm chez le chat [33]. Cette différence interspécifique est en partie due à la densité du tissu nerveux cornéen.

L'instauration de l'anesthésie cornéenne est rapide ; en effet, dès 1 minute après l'instillation de la goutte d'anesthésique, qu'il s'agisse de l'oxybuprocaine à 0,4 % ou de la tétracaine à 1 %, la totalité des 32 chiens de l'étude ne présentait plus aucune sensibilité à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm).

Au vu de notre étude, l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % dans les yeux de chiens sains est responsable d'une ACT d'environ 15 minutes. Cette durée de l'effet anesthésique maximal présente un intérêt clinique : c'est la durée pendant laquelle aucun des chiens de notre étude ne réagit à la stimulation maximale (filament de 0,5 cm). Par

conséquent, c'est la durée pendant laquelle le clinicien peut intervenir au contact de la cornée sans provoquer de stimulus douloureux chez l'animal. Comparativement, une goutte de proparacaine à 0,5 % permet une ACT de 15 minutes également chez le chien et 5 minutes chez le chat [33, 36] ; chez le cheval, un CTT reste toujours perceptible [37].

Selon nos résultats du protocole à une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %, la sensibilité cornéenne est diminuée approximativement pendant 70 minutes et varie de façon significative pendant les 55 premières minutes. Cette variation significative semble plus longue que celle observée chez le chien dans d'autres études réalisées avec une goutte de proparacaine à 0,5 % (de l'ordre de 45 minutes) [36].

Notre étude comparative ne montre pas de différence significative entre l'oxybuprocaine 0,4 % et la tétracaine 1 %. Ainsi, la différence moyenne entre les durées d'ACT d'une part et de RSC_{SB} d'autre part était respectivement de l'ordre de 2,9 minutes et 24 secondes en faveur de l'oxybuprocaine. Cette différence n'a aucune signification biologique, et en l'occurrence il est possible d'estimer que les durées d'ACT et de RSC_{SB} sont similaires pour les deux produits.

Les mesures effectuées chez nos chiens après l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % montraient une durée moyenne d'ACT de l'ordre de 32 minutes. Même si cette valeur ne présente que peu d'intérêt pratique, il est regrettable de ne pouvoir la comparer à des données similaires pour d'autres agents anesthésiques cornéens chez le chien ou dans d'autres espèces. En effet, les études précédemment menées sur le sujet ne précisent pas cette valeur probablement parce qu'elle ne garantit aucunement au clinicien l'absence de sensibilité cornéenne pendant cette durée [33, 36, 37, 40, 41]. Toutefois, cette moyenne permet d'évaluer la durée d'effet pharmacologique de l'oxybuprocaine indépendamment de l'effectif étudié. Ainsi, la durée d'ACT pourrait être réduite ne serait-ce que par l'ajout d'un seul chien. De la même manière, la durée moyenne de RSC_{SB} au sein de notre étude était quant à elle égale à 53 minutes.

Notre analyse ne montrait pas d'influence de l'âge sur la sensibilité cornéenne de base chez le chien [57]. A ce sujet, nous observons une différence significative selon le sexe de l'animal : la longueur basale du filament de l'esthésiomètre est en moyenne de 1,4 cm chez les femelles contre 1,8 cm chez les mâles. Cette donnée n'a encore jamais été observée dans la littérature [34, 35, 38] ; la faible proportion de mâles participant à notre étude (22 %) doit nous amener à

relativiser ce résultat. Au même titre, l'influence du poids sur la longueur basale du filament (1,5 cm en moyenne chez les chiens de poids standard contre 1,4 cm chez les chiens en surpoids) doit être relativisé du fait de la faible proportion de chiens en surpoids participant à notre étude (32 %) et de la faible différence mesurée au vue de la sensibilité de l'instrument de mesure. Par ailleurs, l'âge, le sexe, le poids et la longueur initiale du filament n'influaient ni sur la durée d'ACT ni sur la durée de RSC_{SB} lors de l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %. De la même manière, l'âge n'influaient pas sur la différence moyenne de durée de RSC_{SB} lors de la comparaison entre l'oxybuprocaine à 0,4 % et la tétracaïne à 1 %. L'influence de l'âge sur la différence moyenne de durée d'ACT (1,7 minutes en faveur de l'oxybuprocaine pour les chiens de moins de 4 ans, contre 4,2 minutes pour ceux de plus de 4 ans) n'a encore jamais été décrite dans la littérature. Le mécanisme d'action de l'oxybuprocaine et de la tétracaïne étant similaire, il est probable que cette différence soit la conséquence d'un effectif expérimental réduit.

Au cours de ce protocole de comparaison, un score clinique a été attribué de façon subjective sur chaque œil d'une part à l'intensité de l'hyperhémie conjonctivale et d'autre part à celle de l'œdème conjonctival (échelle allant de 0 à 3 : 0 = absence ; 1 = léger ; 2 = modéré ; 3 = sévère). Ce *scoring* a été réalisé par le même opérateur, sans que celui ne sache par quelle solution commerciale chaque œil était initialement traité. Comme l'ont montré de précédentes études [88, 96], la réaction conjonctivale observée avec la tétracaïne n'était pas systématique mais toujours plus marquée que celle à l'oxybuprocaine, plus rare et souvent modérée. Les propriétés pharmacodynamiques et pharmacochimiques des deux solutions anesthésiques ne permettent que partiellement de justifier cette différence réactionnelle. D'une part, la concentration en principe actif est plus faible dans la solution de chlorhydrate d'oxybuprocaine à 0,4 % que dans celle de tétracaïne à 1 %. D'autre part, les adjuvants (chlorure de sodium, hydroxyde de sodium) sont présents en commun dans les deux collyres excepté l'acide chlorhydrique conjugué à l'oxybuprocaine pour tamponner la solution. En effet, l'oxybuprocaine étant une base plus forte que la tétracaïne, un tampon supplémentaire est nécessaire pour sa formulation topique appliquée à la cornée. Pour rappel, le pH final de la solution se rapproche du pKa du principe actif pour favoriser la forme non ionisée de ce dernier davantage liposoluble donc mieux à même de diffuser à travers les membranes cellulaires pour induire une anesthésie rapide. La présence de ce tampon permettrait un plus grand équilibre de la solution finale éventuellement responsable d'un effet pharmacologique plus rapide et donc moins irritant. Toutefois, le pH du film lacrymal précornéen étant

légèrement basique, l'instillation d'une solution acide pourrait être à l'origine d'une hypersensibilité locale se manifestant par une hyperhémie et un œdème conjonctival [128].

Nos résultats attestent qu'il n'existe pas de différence entre le collyre de chlorhydrate d'oxybuprocaine à 0,4 % en unidose Théa® ou en flacon multi-usage de cébésine®. En effet, lors de l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %, nos résultats étaient proches d'un protocole à un autre concernant d'une part la durée d'ACT (15 minutes dans les deux protocoles) et d'autre part celle de RSC_{SB} (70 minutes dans le premier protocole, 65 minutes dans le second protocole). Il en était de même pour la durée moyenne d'ACT (respectivement 32 et 34,5 minutes), la durée moyenne de RSC_{SB} (respectivement 53 et 55 minutes), la durée maximale d'ACT (respectivement 50 et 45 minutes) et la durée d'ACT₅₀ (respectivement 35 et 40 minutes). Par conséquent, les résultats de notre étude évaluative (premier protocole à une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %) étant renforcés par ceux de notre étude comparative (second protocole à une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % vs. une goutte de tétracaïne 1 %), ils nous permettent de conclure de façon objective quant à la durée d'anesthésie cornéenne par une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % chez le chien.

Le volume du traitement administré correspondait à une goutte délivrée par le flacon ou le récipient unidose de la solution commerciale, soit environ 50 µL. Le volume précis de la goutte n'a pas été quantifié avant chaque administration ; une éventuelle variation n'est *a fortiori* pas suffisante pour interférer de façon significative avec nos résultats au vue de leur répétabilité.

L'esthésiomètre de Cochet-Bonnet fait référence dans les instruments de mesure de la sensibilité cornéenne en ophtalmologie vétérinaire [28-30, 33-41]. Toutefois, les limites pratiques de cet instrument sont nombreuses. Tout d'abord, les seuils de mesure varient de 0,5 cm en 0,5 cm, ce qui ne permet pas une mesure fine de la variation individuelle. En outre, le résultat de la mesure dépend de l'angle d'incidence et de la courbure du filament à la surface de la cornée. L'utilisation des lunettes loupe, la réalisation de l'ensemble des mesures par un seul et même opérateur dans des conditions de température et d'humidité constantes nous a permis de minimiser ces biais. Enfin, l'esthésiomètre de Cochet-Bonnet stimule uniquement les mécano-nocicepteurs de la cornée. Le recours à un esthésiomètre à gaz du type de celui élaboré par Belmonte et al. aurait permis d'apprécier l'action de nos collyres anesthésiques sur les trois types de récepteurs sensoriels présents dans la cornée (mécano-nocicepteurs,

nocicepteurs polymodaux, thermo-récepteurs) [13, 53-55]. Pour des raisons de commodité, ce type d'instrument est difficilement transposable à la pratique vétérinaire. Malgré tout, la répétabilité des résultats obtenus sur les différents animaux tend à confirmer l'objectivité de nos mesures.

Notre étude évaluait la durée d'anesthésie cornéenne par une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % chez le chien. La durée d'anesthésie totale de la cornée, le retour rapide à la sensibilité basale ainsi que l'absence de réaction conjonctivale (hyperhémie, œdème) associée confirment l'intérêt de cette molécule en ophtalmologie vétérinaire. Ces données concernent des chiens dolichocéphaliques sans anomalie à l'examen ophtalmologique ; au vue des précédentes études portant sur l'esthésiométrie cornéenne, des mesures complémentaires seraient nécessaires pour les évaluer chez des chiens brachycéphaliques ou présentant une affection oculaire et / ou systémique. Notre expérience clinique à l'ENVT montre que l'anesthésie cornéenne est d'autant plus marquée que l'administration des gouttes est répétée. L'effet d'une ou plusieurs gouttes supplémentaires instillées à intervalle régulier (par exemple toutes les 30 secondes pendant 3 minutes comme nous le pratiquons) pourrait être évalué dans une future étude [129]. Par ailleurs, aucune donnée dans la littérature ne décrit la durée d'action de l'oxybuprocaine chez d'autres espèces animales. Nous avons observé de bons résultats chez le chat alors que l'efficacité chez le lapin reste à démontrer selon notre pratique. La comparaison avec d'autres anesthésiques cornéens tels que la tétracaine couramment utilisés chez ces espèces animales pourrait faire l'objet d'études complémentaires.

CONCLUSION

L'anesthésie cornéenne est une pratique courante en ophtalmologie vétérinaire : elle facilite la réalisation de gestes diagnostiques et / ou thérapeutiques en levant la sensibilité de la cornée.

Malgré son usage répandu, l'oxybuprocaine à 0,4 % n'avait encore jamais fait l'objet d'une évaluation temporelle de son efficacité en tant qu'anesthésique topique de la cornée.

Au vu des résultats obtenus parmi les chiens de notre étude, l'instillation d'une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % instaure une ACT pendant 15 minutes avec un RSC_{SB} après 70 minutes. En moyenne, ces deux durées sont respectivement de 32 minutes et 53 minutes. L'âge, le sexe, le poids et la sensibilité de base n'influent pas de façon significative sur ces valeurs.

Comparativement à la tétracaïne, nous n'avons pas constaté de différence significative ni dans la durée d'ACT ni dans celle de RSC_{SB}. Néanmoins, la réaction conjonctivale (hyperhémie, œdème) observée avec la tétracaïne n'est pas systématique mais toujours plus marquée que celle à l'oxybuprocaine, plus rare et souvent modérée.

En pratique, notre expérience clinique à l'ENVT nous incite à instiller à intervalle régulier plusieurs gouttes d'oxybuprocaine à 0,4 % pour obtenir une anesthésie cornéenne satisfaisante chez le chien comme chez le chat. L'évaluation de l'effet d'une ou plusieurs gouttes supplémentaires pourrait être le sujet d'une étude complémentaire. De même, la collecte de ces données chez d'autres espèces animales et tout particulièrement chez le chat reste à réaliser.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussigné, **REGNIER Alain**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Julien MICHEL** intitulée « *Etude de l'anesthésie cornéenne induite par l'instillation d'un collyre de chlorhydrate d'oxybuprocaine 0.4% chez le chien* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

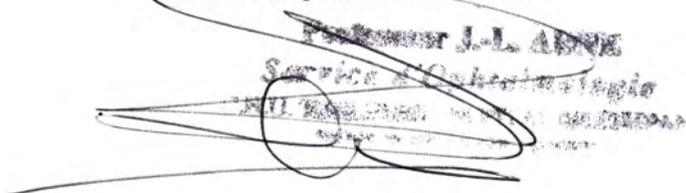


Fait à Toulouse, le 12 mars 2012
Professeur Alain REGNIER
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON

Vu :
Le Président du jury :
Professeur Jean-Louis ARNE



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier 22 MARS 2012
Professeur Gilles FOURTANIER



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.



BIBLIOGRAPHIE

1. Sautet, J., *Structure générale de l'oeil*, in *Document pédagogique pour le C.E.S. d'Ophthalmologie Vétérinaire*. 2011 : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France.
2. Cook, C.S., *Ocular embryology and congenital malformations*, in *Veterinary Ophthalmology 4th edition*. K.N. Gelatt, Editor, 2007, Blackwell publishing, 3-36.
3. Beebe, D.C. and J.M. Coats, *The lens organizes the anterior segment: specification of neural crest cell differentiation in the avian eye*. *Dev Biol*, 2000, **220** : 424-31.
4. Montiani-Ferreira, F., et al., *Early postnatal development of central corneal thickness in dogs*. *Vet Ophthalmol*, 2003, **6** : 19-22.
5. de Leeuw, A.M. and K.Y. Chan, *Corneal nerve regeneration. Correlation between morphology and restoration of sensitivity*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1989, **30** : 1980-90.
6. Marfurt, C.F., C.J. Murphy, and J.L. Florczak, *Morphology and neurochemistry of canine corneal innervation*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, **42** : 2242-51.
7. Samuelson, D.A., *Ophthalmic anatomy*, in *Veterinary Ophthalmology 4th edition*, K.N. Gelatt, Editor. 2007, Blackwell publishing, 37-148.
8. Martin, C.L., *Cornea and sclera*, in *Ophthalmic disease in veterinary medicine*. 2005, Manson publishing, 241-297.
9. Gilger, B.C., et al., *Canine corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry*. *Am J Vet Res*, 1991, **52** : 1570-2.

10. Alper, M.G., *The anesthetic eye : an investigation of changes in the anterior ocular segment of the monkey caused by interrupting the trigeminal nerve at various levels along its course*. Transactions American Ophthalmological Society, 1975, **73** : 313-365.
11. Zander, E. and G. Weddell, *Observations on the innervation of the cornea*. J Anat, 1951, **85** : 68-99.
12. Chan-Ling, T., *Sensitivity and neural organization of the cat cornea*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1989, **30** : 1075-82.
13. Belmonte, C., M.C. Acosta, and J. Gallar, *Neural basis of sensation in intact and injured corneas*. Exp Eye Res, 2004, **78** : 513-25.
14. He, J., N.G. Bazan, and H.E. Bazan, *Mapping the entire human corneal nerve architecture*. Exp Eye Res, 2010, **91** : 513-23.
15. Muller, L.J., et al., *Architecture of human corneal nerves*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1997, **38** : 985-94.
16. Gum, G.G., K.N. Gelatt, and D.W. Esson, *Physiology of the eye*, in *Veterinary Ophthalmology 4th edition*, K.N. Gelatt, Editor. 2007, Blackwell publishing, 149-182.
17. Rosenberg, M.E., et al., *Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000, **41** : 2915-21.
18. Paton, L., *The Trigeminal and Its Ocular Lesions*. Br J Ophthalmol, 1926, **10** : 305-42.
19. Araki, K., et al., *Epithelial wound healing in the denervated cornea*. Curr Eye Res, 1994, **13** : 203-11.
20. Garcia-Hirschfeld, J., L.G. Lopez-Briones, and C. Belmonte, *Neurotrophic influences on corneal epithelial cells*. Exp Eye Res, 1994, **59** : 597-605.

21. Xia, Y., et al., *Corneal nerve morphology and sensitivity changes after ultraviolet A/riboflavin treatment*. Exp Eye Res, 2011.
22. Perez, E., et al., *Effects of chronic sympathetic stimulation on corneal wound healing*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1987, **28** : 221-4.
23. Tullo, A.B., et al., *Corneal sensitivity and substance P in experimental herpes simplex keratitis in mice*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1983, **24** : 596-8.
24. Murphy, C.J., et al., *Spontaneous chronic corneal epithelial defects (SCCED) in dogs: clinical features, innervation, and effect of topical SP, with or without IGF-1*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, **42** : 2252-61.
25. Woo, H.M., et al., *Nerve growth factor and corneal wound healing in dogs*. Exp Eye Res, 2005, **80** : 633-42.
26. Nakamura, M., et al., *Synergistic effect of substance P with epidermal growth factor on epithelial migration in rabbit cornea*. Exp Eye Res, 1997, **65** : 321-9.
27. Bynke, G., R. Hakanson, and F. Sundler, *Is substance P necessary for corneal nociception?* Eur J Pharmacol, 1984, **101** : 253-8.
28. Boberg-Ans, J., *Experience in clinical examination of corneal sensitivity; corneal sensitivity and the naso-lacrimal reflex after retrobulbar anaesthesia*. Br J Ophthalmol, 1955, **39** : 705-26.
29. Millodot, M., *Objective measurement of corneal sensitivity*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1973, **51** : 325-34.
30. Boberg-Ans, J., *On the corneal sensitivity*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1956, **34** : 149-62.

31. Régnier, J., *Essai de la mesure de l'anesthésie produite sur les terminaisons nerveuses de la cornée par des anesthésiques locaux. Comparaison des pouvoirs anesthésiques de la cocaïne, de la novocaïne et de la stovaïne.* Comptes rendus de l'Académie des Sciences (Paris), 1923, **177** : 558-560.
32. Strughold, H., *The mechanical treshold of the cornea-reflex of the usual laboratory animals.* American journal of physiology, 1930 : 235-240.
33. Binder, D.R. and I.P. Herring, *Duration of corneal anesthesia following topical administration of 0.5% proparacaine hydrochloride solution in clinically normal cats.* Am J Vet Res, 2006, **67** : 1780-2.
34. Brooks, D.E., C.K. Clark, and G.D. Lester, *Cochet-Bonnet aesthesiometer-determined corneal sensitivity in neonatal foals and adult horses.* Vet Ophthalmol, 2000, **3** : 133-137.
35. Blocker, T. and A. Van Der Woerdt, *A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and Domestic Short-haired cats.* Vet Ophthalmol, 2001, **4** : 127-30.
36. Herring, I.P., et al., *Duration of effect and effect of multiple doses of topical ophthalmic 0.5% proparacaine hydrochloride in clinically normal dogs.* Am J Vet Res, 2005, **66** : 77-80.
37. Kalf, K.L., M.E. Utter, and K.L. Wotman, *Evaluation of duration of corneal anesthesia induced with ophthalmic 0.5% proparacaine hydrochloride by use of a Cochet-Bonnet aesthesiometer in clinically normal horses.* Am J Vet Res, 2008, **69** : 1655-8.
38. Kaps, S., M. Richter, and B.M. Spiess, *Corneal esthesiometry in the healthy horse.* Vet Ophthalmol, 2003, **6** : 151-5.
39. Kim, J., et al., *Effect of topical anesthesia on evaluation of corneal sensitivity and intraocular pressure in rats and dogs.* Vet Ophthalmol, 2012.

40. Monclin, S.J., F. Farnir, and M. Grauwels, *Duration of corneal anaesthesia following multiple doses and two concentrations of tetracaine hydrochloride eyedrops on the normal equine cornea*. Equine Vet J, 2011, **43** : 69-73.
41. Stiles, J., et al., *The efficacy of 0.5% proparacaine stored at room temperature*. Vet Ophthalmol, 2001, **4** : 205-7.
42. Millodot, M., C.H. Lim, and C.L. Ruskell, *A comparison of the corneal sensitivity and nerve density in albino and pigmented rabbits*. Ophthalmic Research, 1978, **10** : 307-11.
43. Bourcier, T., et al., *Decreased corneal sensitivity in patients with dry eye*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, **46** : 2341-5.
44. Zaal, M.J., H.J. Volker-Dieben, and J. D'Amaro, *Risk and prognostic factors of postherpetic neuralgia and focal sensory denervation: a prospective evaluation in acute herpes zoster ophthalmicus*. Clin J Pain, 2000, **16** : 345-51.
45. Perry, H.D., et al., *Decreased corneal sensation as an initial feature of Acanthamoeba keratitis*. Ophthalmology, 1995, **102** : 1565-8.
46. Matsui, H., et al., *Corneal sensation after correction of myopia by photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis*. J Cataract Refract Surg, 2001, **27** : 370-3.
47. Lyne, A.J., *Corneal sensation in scleritis and episcleritis*. Br J Ophthalmol, 1977, **61** : 650-4.
48. Gibson, R.A., *Reduction of corneal sensitivity after retinal detachment surgery*. Br J Ophthalmol, 1981, **65** : 614-7.
49. Tuominen, I.S., et al., *Corneal innervation and morphology in primary Sjogren's syndrome*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, **44** : 2545-9.

50. Hieselaar, L.C., M. Hogeweg, and C.L. de Vries, *Corneal sensitivity in patients with leprosy and in controls*. Br J Ophthalmol, 1995, **79** : 993-5.
51. Nazarian, J. and D. O'Leary, *Corneal sensitivity in myasthenia gravis*. Br J Ophthalmol, 1985, **69** : 519-21.
52. Gallar, J., et al., *Decreased corneal sensitivity and tear production in fibromyalgia*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, **50** : 4129-34.
53. Belmonte, C., et al., *Measurement of corneal sensitivity to mechanical and chemical stimulation with a CO2 esthesiometer*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999, **40** : 513-9.
54. Murphy, P.J., K.J. Blades, and S. Patel, *Effect of 0.4% benoxinate hydrochloride on corneal sensitivity, measured using the non-contact corneal aesthesiometer (NCCA)*. Optom Vis Sci, 1997, **74** : 1025-9.
55. Golebiowski, B., E. Papas, and F. Stapleton, *Assessing the sensory function of the ocular surface: implications of use of a non-contact air jet aesthesiometer versus the Cochet-Bonnet aesthesiometer*. Exp Eye Res, 2011, **92** : 408-13.
56. Rozsa, A.J. and R.W. Beuerman, *Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit*. Pain, 1982, **14** : 105-20.
57. Barrett, P.M., et al., *Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs*. Veterinary and comparative ophthalmology, 1991, **1** : 245-54.
58. Trost, K., M. Skalicky, and B. Nell, *Schirmer tear test, phenol red thread tear test, eye blink frequency and corneal sensitivity in the guinea pig*. Vet Ophthalmol, 2007, **10** : 143-6.
59. Welihozkiy, A., et al., *Measurements of corneal sensitivity in 20 ophthalmologically normal alpacas*. Veterinary Ophthalmology, 2011, **14** : 1-4.

60. Millodot, M. and J. O'Leary, *Corneal fragility and its relationship to sensitivity*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1981, **59** : 820-826.
61. Rankin, A.J., K.G. Hosking, and J.K. Roush, *Corneal sensitivity in healthy, immature, and adult alpacas*. Vet Ophthalmol, 2012, **15** : 31-5.
62. Newkirk, K.M., et al., *Distribution and amount of pigment within the ciliary body and iris of dogs with blue and brown irides*. Vet Ophthalmol, 2010, **13** : 76-80.
63. Acosta, M.C., et al., *Influence of age, gender and iris color on mechanical and chemical sensitivity of the cornea and conjunctiva*. Exp Eye Res, 2006, **83** : 932-8.
64. Millodot, M., *Do blue-eyed people have more sensitive corneas than brown-eyed people?* Nature, 1975, **255** : 151.
65. Millodot, M., *Corneal sensitivity in people with the same and with different iris color*. Invest Ophthalmol, 1976, **15** : 861-2.
66. Millodot, M., *The influence of age on the sensitivity of the cornea*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1977, **16** : 240-2.
67. Millodot, M. and A. Lamont, *Influence of menstruation on corneal sensitivity*. Br J Ophthalmol, 1974, **58** : 752-6.
68. Dalton, K., *Influence of menstruation on glaucoma*. Br J Ophthalmol, 1967, **51** : 692-5.
69. Millodot, M., *Effect of hard contact lenses on corneal sensitivity and thickness*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1975, **53** : 576-84.
70. Bergin, D.A., *Relation of refractive findings to menses*. Am J Optom Arch Am Acad Optom, 1952, **29** : 129-34.

71. Millodot, M., *The influence of pregnancy on the sensitivity of the cornea*. Br J Ophthalmol, 1977, **61** : 646-9.
72. Millodot, M., *Diurnal variation of corneal sensitivity*. Br J Ophthalmol, 1972, **56** : 844-7.
73. du Toit, R., et al., *Diurnal variation of corneal sensitivity and thickness*. Cornea, 2003, **22** : 205-9.
74. Millodot, M. and D.J. O'Leary, *Effect of oxygen deprivation on corneal sensitivity*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1980, **58** : 434-9.
75. Ren, H. and G. Wilson, *The effect of ultraviolet-B irradiation on the cell shedding rate of the corneal epithelium*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1994, **72** : 447-52.
76. Xu, K.P., Y. Yagi, and K. Tsubota, *Decrease in corneal sensitivity and change in tear function in dry eye*. Cornea, 1996, **15** : 235-9.
77. Benitez-Del-Castillo, J.M., et al., *Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, **48** : 173-81.
78. Blocker, T., et al., *Corneal sensitivity and aqueous tear production in dogs undergoing evisceration with intraocular prosthesis placement*. Vet Ophthalmol, 2007, **10** : 147-54.
79. Patel, B.C. and A.B. Tullo, *Corneal sensation in acute angle closure glaucoma*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1988, **66** : 44-6.
80. Gallar, J., et al., *Selective changes in human corneal sensation associated with herpes simplex virus keratitis*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, **51** : 4516-22.

81. Niederkorn, J.Y., et al., *The pathogenesis of Acanthamoeba keratitis*. Microbes Infect, 1999, **1** : 437-43.
82. Pettit, D.A., et al., *In vitro destruction of nerve cell cultures by Acanthamoeba spp.: a transmission and scanning electron microscopy study*. J Parasitol, 1996, **82** : 769-77.
83. Wollensak, G., E. Spoerl, and T. Seiler, *Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus*. Am J Ophthalmol, 2003, **135** : 620-7.
84. Holden, B.A., et al., *Effects of cataract surgery on corneal function*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1982, **22** : 343-50.
85. Zorab, E.C., *Corneal sensitivity after grafting*. Proc R Soc Med, 1971, **64** : 117-8.
86. Weigt, A.K., et al., *Effects of cyclophotocoagulation with a neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser on corneal sensitivity, intraocular pressure, aqueous tear production, and corneal nerve morphology in eyes of dogs*. Am J Vet Res, 2002, **63** : 906-15.
87. Good, K.L., et al., *Corneal sensitivity in dogs with diabetes mellitus*. Am J Vet Res, 2003, **64** : 7-11.
88. Regnier, A., *Clinical pharmacology and therapeutics*, in *Veterinary Ophthalmology 4th edition*, K.N. Gelatt, Editor. 2007, Blackwell publishing, 288-331.
89. Acosta, M.C., et al., *Changes in mechanical, chemical, and thermal sensitivity of the cornea after topical application of nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, **46** : 282-6.
90. Aragona, P., et al., *The effects of the topical administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs on corneal epithelium and corneal sensitivity in normal subjects*. Eye (Lond), 2000, **14** : 206-10.

91. Chen, X., J. Gallar, and C. Belmonte, *Reduction by antiinflammatory drugs of the response of corneal sensory nerve fibers to chemical irritation*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1997, **38** : 1944-53.
92. Peyman, G.A., M.H. Rahimy, and M.L. Fernandes, *Effects of morphine on corneal sensitivity and epithelial wound healing: implications for topical ophthalmic analgesia*. Br J Ophthalmol, 1994, **78** : 138-41.
93. Wotman, K.L. and M.E. Utter, *Effect of treatment with a topical ophthalmic preparation of 1% nalbuphine solution on corneal sensitivity in clinically normal horses*. Am J Vet Res, 2010, **71** : 223-8.
94. Weissman, S.S. and P.A. Asbell, *Effects of topical timolol (0.5%) and betaxolol (0.5%) on corneal sensitivity*. Br J Ophthalmol, 1990, **74** : 409-12.
95. Kozobolis, V.P., et al., *Corneal sensitivity changes following the instillation of latanoprost, bimatoprost, and travoprost eyedrops*. Am J Opht, 2005, **139**: 742-3.
96. Herring, I.P., *Clinical pharmacology and therapeutics*, in *Veterinary Ophthalmology 4th edition*, K.N. Gelatt, Editor. 2007, Blackwell publishing, 332-354.
97. Asensio, I., et al., *Corneal thickness values before and after oxybuprocaine 0.4% eye drops*. Cornea, 2003, **22** : 527-32.
98. Bartfield, J.M., D.T. Ford, and P.J. Homer, *Buffered versus plain lidocaine for digital nerve blocks*. Ann Emerg Med, 1993, **22** : 216-9.
99. Badenoch, P.R. and D.J. Coster, *Antimicrobial activity of topical anaesthetic preparations*. Br J Ophthalmol, 1982, **66** : 364-7.
100. Bartfield, J.M., T.J. Holmes, and N. Raccio-Robak, *A comparison of proparacaine and tetracaine eye anesthetics*. Acad Emerg Med, 1994, **1** : 364-7.

101. Shafi, T. and P. Koay, *Randomised prospective masked study comparing patient comfort following the instillation of topical proxymetacaine and amethocaine*. Br J Ophthalmol, 1998, **82** : 1285-7.
102. Yagci, A., et al., *Topical anesthetic abuse keratopathy: a commonly overlooked health care problem*. Cornea, 2011, **30** : 571-5.
103. Chen, H.T., K.H. Chen, and W.M. Hsu, *Toxic keratopathy associated with abuse of low-dose anesthetic: a case report*. Cornea, 2004, **23** : 527-9.
104. Pharmakakis, N.M., et al., *Corneal complications following abuse of topical anesthetics*. Eur J Ophthalmol, 2002, **12** : 373-8.
105. Penna, E.P. and K.F. Tabbara, *Oxybuprocaine keratopathy: a preventable disease*. Br J Ophthalmol, 1986, **70** : 202-4.
106. Henkes, H.E. and T.N. Waubke, *Keratitis from abuse of corneal anaesthetics*. Br J Ophthalmol, 1978, **62** : 62-5.
107. Ramselaar, J.A., et al., *Corneal epithelial permeability after instillation of ophthalmic solutions containing local anaesthetics and preservatives*. Curr Eye Res, 1988, **7** : 947-50.
108. Norn, M.S. and A. Opauszki, *Effects of ophthalmic vehicles on the stability of the precorneal film*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1977, **55** : 23-34.
109. Pfister, R.R. and N. Burstein, *The effects of ophthalmic drugs, vehicles, and preservatives on corneal epithelium: a scanning electron microscope study*. Invest Ophthalmol, 1976, **15** : 246-59.
110. McGee, H.T. and F.W. Fraunfelder, *Toxicities of topical ophthalmic anesthetics*. Expert Opin Drug Saf, 2007, **6** : 637-40.

111. Higbee, R.G. and L.D. Hazlett, *Topical ocular anesthetics affect epithelial cytoskeletal proteins of wounded cornea*. J Ocul Pharmacol, 1989, **5** : 241-53.
112. Dass, B.A., H.K. Soong, and B. Lee, *Effects of proparacaine on actin cytoskeleton of corneal epithelium*. J Ocul Pharmacol, 1988, **4** : 187-94.
113. Grant, R.L. and D. Acosta, *Comparative toxicity of tetracaine, proparacaine and cocaine evaluated with primary cultures of rabbit corneal epithelial cells*. Exp Eye Res, 1994, **58** : 469-78.
114. Josephson, J.E. and B.E. Caffery, *Corneal staining after instillation of topical anesthetic (SSII)*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1988, **29** : 1096-9.
115. Hamor, R.E., et al., *Evaluation of results for Schirmer tear tests conducted with and without application of a topical anesthetic in clinically normal dogs of 5 breeds*. Am J Vet Res, 2000, **61** : 1422-5.
116. Nam, S.M., et al., *Comparison of corneal thickness after the instillation of topical anesthetics: proparacaine versus oxybuprocaine*. Cornea, 2006, **25** : 51-4.
117. Diaz-Rey, J.A., et al., *[Effect of double anaesthetic Colicursi (tetracaine 0.1% and oxybuprocaine 0.4%) on central and paracentral corneal thickness]*. Arch Soc Esp Oftalmol, 2009, **84** : 23-30.
118. Weekers, J.F., *[Experimental studies of the genesis of corneal lesions caused by anesthetics]*. Arch Ophtalmol Rev Gen Ophtalmol, 1974, **34** : 121-32.
119. Boullier, S., *Les particularités immunologiques de l'oeil*, in *Document pédagogique pour le C.E.S. d'Ophtalmologie Vétérinaire*. 2011: Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France.

120. Chern, K.C., et al., *Corneal anesthetic abuse and Candida keratitis*. Ophthalmology, 1996, **103** : 37-40.
121. Kintner, J.C., et al., *Infectious crystalline keratopathy associated with topical anesthetic abuse*. Cornea, 1990, **9** : 77-80.
122. Haddad, R., *Fibrinous iritis due to oxybuprocaine*. Br J Ophthalmol, 1989, **73** : 76-7.
123. Liesegang, T.J. and C. Perniciaro, *Fingertip dermatitis in an ophthalmologist caused by proparacaine*. Am J Ophthalmol, 1999, **127** : 240-1.
124. Lawrenson, J.G., et al., *Comparison of the tolerability and efficacy of unit-dose, preservative-free topical ocular anaesthetics*. Ophthalmic Physiol Opt, 1998, **18** : 393-400.
125. Carney, L.G., D.J. O'Leary, and M. Millodot, *Effect of topical anaesthesia on corneal epithelial fragility*. Int Ophthalmol, 1984, **7** : 71-3.
126. Rosa, N., et al., *Effect of oxybuprocaine eye drops on corneal volume and thickness measurements*. Optom Vis Sci, 2011, **88** : 640-4.
127. Perone, J.M., et al., *Safety and efficacy of two ocular anesthetic methods for phacoemulsification: topical anesthesia and viscoanesthesia (VisThesia)*. Eur J Ophthalmol, 2007, **17** : 171-7.
128. Fischer, F.H. and M. Wiederholt, *Human precorneal tear film pH measured by microelectrodes*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1982, **218** : 168-70.
129. Slatter, D., in *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, S.C. ed., Editor. 2001 : Philadelphia, 640.

ANNEXES

Longueur du filament (en mm)	60	55	50	45	40	35	30	25	20	15	10	5
Valeur moyenne des pressions (en mg/S)	5	5,5	6	8	9,5	11,5	15,5	20,5	31,5	58	116	180
Valeur moyenne des pressions (en g/mm ²)	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 mm² soit un diamètre de 0,12 mm.

Valeurs mesurées dans des conditions d'humidité et de température contrôlées (55 %, 21°C).

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

(Luneau ophtalmologie, Chartres cedex, France)

N° animal	Poids	Sexe	Age (ans)
1	Normal	Mâle	2,7
2	Normal	Mâle	2,6
3	Normal	Mâle	2,5
4	Normal	Mâle	2,7
5	Obèse	Femelle	6,1
6	Obèse	Femelle	6,1
7	Obèse	Femelle	6,1
8	Obèse	Femelle	6,1
9	Normal	Femelle	2,6
10	Normal	Femelle	2,6
11	Normal	Femelle	2,6
12	Normal	Femelle	2,6
13	Normal	Femelle	2,8
14	Obèse	Femelle	6,2
15	Obèse	Femelle	6,1
16	Obèse	Femelle	6,1
17	Normal	Femelle	2,6
18	Normal	Femelle	2,6
19	Normal	Femelle	7,5
20	Normal	Femelle	3,4
21	Normal	Mâle	10,9
22	Normal	Femelle	3,5

N° Animal	Sexe	Age (ans)
1	Femelle	3,4
2	Mâle	9,4
3	Femelle	5,6
4	Femelle	9,8
5	Femelle	5,6
6	Femelle	5,7
7	Femelle	1,3
8	Femelle	2,9
9	Femelle	2,7
10	Femelle	1,3
11	Mâle	1,3
12	Mâle	4,5

Annexe 2 : Données épidémiologiques

Les 22 chiens du tableau de gauche ont participé au protocole à une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 % ; les 12 chiens du tableau de droite ont participé au protocole de comparaison de l'oxybuprocaine à 0,4 % avec la tétracaïne à 1 %.

		0	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
1	OD	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1,5	1,5	2	2
	OG	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2	OD	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	OG	2	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	2	2	2	2	2	2	2
3	OD	2	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	2	2	2	2	2	2	2
	OG	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
4	OD	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	OG	2	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1,5	1,5	2	2	2	2	2	2
5	OD	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1	1	1
	OG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5
7	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	
	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
8	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
9	OD	1	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1	1	1	1	1	1
	OG	1	1	1	1	1	1	1,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10	OD	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	OG	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1	1	1	1
11	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
13	OD	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	1
	OG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14	OD	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5
15	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
16	OD	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	OG	1	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
17	OD	2	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1,5	2	2	2	2	2
	OG	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
18	OD	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	OG	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1,5	1,5	1,5	2	2	2
19	OD	1	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
20	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1	1	1,5	1,5
	OG	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
21	OD	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	OG	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1,5	2	2	2
22	OD	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	OG	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	2	2	2	2

Yeux traités à l'oxybuprocaine 0,4 %

Annexe 3 : Résultats des mesures du protocole à une goutte d'oxybuprocaine à 0,4 %

		0	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
1	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
2	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
3	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5
4	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5
5	OD	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1
	OG	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	1	1	1
6	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5
7	OD	1,5	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
8	OD	1,5	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
9	OD	1,5	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
10	OD	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	1	1
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
11	OD	1,5	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
12	OD	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	OG	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

Yeux traités à l'oxybuprocaine 0,4 %
 Yeux traités à la tétracaïne 1 %

Annexe 4 : Résultats des mesures du protocole de comparaison de l'oxybuprocaine à 0,4 % avec la tétracaïne à 1 %

		Hyperhémie	Œdème
1	OD	0	0
	OG	0	0
2	OD	0	0
	OG	0	0
3	OD	1	1
	OG	2	2
4	OD	1	0
	OG	0	0
5	OD	0	0
	OG	3	3
6	OD	0	0
	OG	0	0
7	OD	0	0
	OG	3	3
8	OD	0	0
	OG	0	0
9	OD	0	0
	OG	3	3
10	OD	3	3
	OG	0	0
11	OD	0	0
	OG	1	1
12	OD	2	2
	OG	0	0
	Score moyen	0,1	0,1
	Score moyen	1,5	1,4

 Yeux traités à l'oxybuprocaine 0,4 %
 Yeux traités à la tétracaïne 1 %

Annexe 5 : Scoring de l'intensité de l'hyperhémie conjonctivale et de l'œdème conjonctival au cours du protocole de comparaison de l'oxybuprocaine à 0,4 % avec la tétracaïne à 1 %

Echelle allant de 0 à 3 : 0 = absence ; 1 = léger ; 2 = modéré ; 3 = sévère.