

## Utilisation d'une solution de lavage amphotère pour le traitement d'urgence des brûlures oculaires Première expérimentation animale

Norbert Franz Schrage\*, Sirpa Kompa, Wolfram Haller, Stéphanie Langefeld

Department of Ophthalmology, Eye-Clinic RWTH Aachen, Pauwelstraße 30, D-52057 Aachen, France

Accepté le 2 août 2002

---

### Résumé

**But :** Les brûlures oculaires graves sont rares mais sont liées à un mauvais pronostic. Comme il a été constaté qu'un traitement d'urgence est un facteur décisif pour le pronostic des brûlures oculaires, les nouvelles solutions de lavage de premiers secours doivent être étudiées avec soin. Dans une première approche, un nouveau dispositif, la Diphotérine®, a été comparé avec une solution saline pour évaluer ses effets sur un modèle de brûlures oculaires graves.

**Méthodes :** Dans une expérimentation en double aveugle, 16 lapins ont subi une brûlure oculaire grave d'une cornée, suivi d'un lavage immédiat avec une solution de chlorure de sodium à 0,9% ( $n = 8$ ) ou de Diphotérine® ( $n = 8$ ). Pendant 16 jours après la brûlure, une irrigation avec une solution saline à 0,9% a été pratiquée trois fois par jour avec 160 ml, sur les deux groupes, suivant la recommandation de thérapeutique par irrigation prolongée en vigueur dans notre clinique. Dans une configuration semblable, 16 yeux ont subi des brûlures alcalines avec des mesures de pH d'humeur aqueuse dans les 30 secondes suivant la brûlure et un lavage avec 500 ml de solution saline à 0,9% ou de Diphotérine® au bout de cinq minutes.

**Résultats :** Le résultat de la brûlure oculaire grave avec cornée opaque était similaire pour les deux groupes. Lors du lavage, aucun précipité de fibrine ne s'est produit dans le groupe lavé à la Diphotérine®, tandis qu'il était détectable dans tous les yeux lavés avec la solution saline. Au bout de 16 jours, il n'y avait aucune différence entre les deux groupes, signe de l'absence d'effet nocif de la Diphotérine® comme traitement d'urgence par comparaison avec la solution saline à 0,9%. Au bout de 30 s de brûlure avec NaOH 1N et un lavage avec 500 ml des solutions spécifiées, le pH de la chambre antérieure était de  $10 \pm 0$  dans le groupe « solution saline » et de  $9,35 \pm 0,3$  dans le groupe « Diphotérine® », preuve de l'efficacité de la capacité tampon de la Diphotérine®.

**Conclusion :** La Diphotérine® s'avère efficace dans le traitement d'urgence des brûlures. Le pH de la chambre antérieure peut être abaissé par 5 minutes de lavage. Aucun effet nocif de la Diphotérine® n'a pu être observé par comparaison avec le lavage avec une solution saline.

© 2002 Elsevier Science Ltd et ISBI. Tous droits réservés.

**Mots clés :** Diphotérine® ; Effets nocifs ; cornée ; brûlures ; urgence ; amphotère.

---

## 1. Introduction

De nombreuses solutions sont recommandées pour le traitement d'urgence des brûlures oculaires et utilisées sans que leur innocuité soit vérifiée. Cela conduit à certains systèmes de premiers secours établis mettant en œuvre un tampon phosphate combiné avec une solution saline, par exemple Eyesaline<sup>®</sup>, tampon phosphate (Isogutt<sup>®</sup>) et Tima-oculav<sup>®</sup>. D'autres solutions de lavage n'ont aucun effet tampon : le lavage à l'eau courante, l'Isogutt-akut<sup>®</sup> et la solution saline à 0,9%. S'il ne fait aucun doute que le lavage le plus précoce possible est le meilleur traitement qui soit pour n'importe quel type de brûlure, les traitements n'ont pas tous la même efficacité [1]. Et si l'on a le choix, par exemple, de remplacer des agents des douches oculaires utilisés avant, il convient de choisir la substance la plus efficace et la plus inoffensive.

Dans notre cas, il s'agissait d'étudier les effets de différents types de solutions de lavage dans le cas de brûlures oculaires graves dans une situation exponentielle. Deux facteurs sont décisifs : l'efficacité du lavage, estimée grossièrement par des moyennes de mesures de pH intra-oculaire après la brûlure, et la détection des effets secondaires identifiés après un traitement prolongé, selon les limites d'indication d'utilisation des produits. Il existe trois différents types de solutions sur le marché : type 1 : solution saline et eau courante, qui sont des substances non tampon ; type 2 : tampon phosphate, acétate ou borate avec des limites liées à l'agent pour le traitement des brûlures alcalines ou acides ; type 3 : amphotères avec des caractéristiques de chélation particulières, notamment des sites de chélation d'ions acides et alcalins divalents, comme l'éthylène-diamine-tétraacétate (EDTA) ou la Diphotérine<sup>®</sup>. Le concept essentiel de l'élimination du produit chimique agresseur est représenté dans les trois types d'applications. Le concept d'effet tampon pour le deuxième groupe est lié à un tampon acide ou alcalin faible combiné avec une réaction exothermique produisant de la « chaleur » et laissant des résidus de sel. Les amphotères du groupe 3, comme le d'éthylène-diamine tétraacétatique acide (EDTA) ou les dérivés fortement modifiés de cette substance, comme la Diphotérine<sup>®</sup>, agissent différemment sans réaction exothermique par la capture d'ions et la neutralisation au moyen d'une réaction amphophile. Cette différence les rend intéressants pour la thérapeutique des brûlures, notamment en raison d'une action polyvalente vers les bases et les acides, sans réaction exothermique. Leur capacité de chélation pour une large gamme de pH dépend de deux constantes de dissociation différentes dans l'eau, définies par le  $pK_a$  ou  $pK_b$  chimique et donc une dissociation en base ou en acide. La connexion entre les deux est la dissociation totale de l'eau à 14. Ainsi,  $pK_a + pK_b$  dans une solution aqueuse est toujours égal à 14. La constante de dissociation est le facteur décisif dans le développement thermodynamique des réactions chimiques. Par conséquent, des substances comme les amino-acides, principaux constituants des protéines, ont un pH inférieur à 7,4 et ne se dissocient jamais complètement en acides ou en bases. Les solutions de lavage amphotères créent des sites de chélation pour les acides et les bases, de sorte que la décision de traitement est indépendante du type d'agresseur chimique. La Diphotérine<sup>®</sup> a des sites de chélation d'acides avec un  $pK_a$  d'environ 5 et des sites de chélation de bases avec un  $pK_b$  d'environ 9.

Un nouveau produit, la Diphotérine<sup>®</sup>, a été introduit sur le marché allemand (Previn<sup>®</sup>) en 1995. Pour évaluer le potentiel d'effets préventifs et nocifs, nous avons étudié en double aveugle l'action de deux substances différentes (Diphotérine<sup>®</sup> et solution saline à 0,9%) sur une brûlure par base.

## 2. Matériel et méthodes

Preuve de l'évolution du pH après un lavage avec une solution saline ou à la Diphotérine® dans la chambre antérieure de l'œil et sur la surface cornéenne.

### 2.1 Expérimentation I

On a testé une solution saline à 0,9% et la Diphotérine® (préservée par du *para*-hydroxy-benzoate de diméthylesodé, 0,5 g/L) lors d'une étude en double aveugle. Sous anesthésie générale profonde, on a recouvert la cornée et 1 mm du limbe de l'œil droit de deux groupes de quatre lapins d'un cylindre de plexiglas rempli de 3 ml de NaOH 1N pendant 30 secondes. La base a été retirée après 30 secondes à l'aide d'une seringue et un traitement immédiat par irrigation a débuté avec 500 ml de Diphotérine® ou d'une solution saline pendant 5 minutes. Les échantillons pour les mesures de pH ont été prélevés immédiatement après les brûlures oculaires et à la fin de la période de lavage. Nous avons prélevé les échantillons par aspiration de 0,1 ml d'humeur aqueuse à l'aide d'une aiguille de jauge 20 dans la chambre antérieure, via la sclère postérieure et l'iris, pour éviter l'introduction de liquide de lavage dans l'œil. Les échantillons ont fait l'objet de mesures de pH (Radiometer) avec une microélectrode de pH. Des larmes ont été prélevées à la surface de la cornée directement après les brûlures et après le lavage et mesurées de la même manière. La validité de toutes les mesures a été vérifiée, étant donné les petites quantités de liquide, au moyen de bandelettes de papier filtre placées directement à la surface ou en mesurant la gouttelette restante à la pointe du pH-mètre après la mesure. L'aspiration du liquide de la chambre antérieure et les mesures de surface ont été répétées immédiatement après 5 minutes de lavage avec la solution saline ou la Diphotérine®.

### 2.2 Expérimentation II

On a brûlé de façon identique les yeux de seize autres lapins répartis en deux groupes de huit animaux sous anesthésie générale profonde. Le traitement immédiat a consisté en une irrigation avec 500 ml de Diphotérine® ou de solution saline à 0,9% pendant 5 minutes. Au cours des seize jours suivants, le traitement a consisté en une irrigation trois fois par jour avec 160 ml de solution saline à 0,9%.

L'érosion épithéliale, l'ulcération et l'opacification ont été enregistrées à l'aide de fluorescéine Na (Fluorescéine Thilo® préservée) et on a pris quotidiennement des photographies, avec analyse planimétrique sur une table traçante (Genius) reliée à un ordinateur en utilisant le logiciel Tek-Illustrator® pour les mesures d'aire. Au bout de seize jours, on a procédé à l'excision des cornées, qui ont été congelées entre deux blocs d'acier refroidis à -196°C, coupées en deux et stockées à -80°C pour des analyses ultérieures. La chambre antérieure a été préparée soigneusement et la pathologie des cristallins et des iris a été évaluée avec une notation clinique. La synéchie des iris (0 : absence de synéchie, 1 : synéchie simple, 2 : synéchie sectorielle et 3 : séclusion pupillaire). L'atrophie des iris a été notée selon la perte de pigmentation de l'iris (0 : absence d'atrophie, 1 : faible atrophie, 2 : atrophie sectorielle et 3 : atrophie totale). La notation des cataractes a été la suivante : 0 : absence de cataracte, 1 : faible opacification de la capsule antérieure, 2 : opacification de la capsule antérieure et du cortex, 3 : opacification grave du cortex cristallinien.

Des coupes de 10 µm d'épaisseur ont été réalisées avec les cornées congelées sur un cryomicrotome à -32°C et préparées pour une microscopie électronique à balayage comme décrit par Schrage et al. [2]. L'autre moitié des cornées a été pesée à l'état hydraté et déshydraté pour déterminer la teneur en eau.

Toutes les études animales ont été pratiquées selon les directives ARVO pour l'utilisation des animaux dans les expérimentations ophtalmologiques et les lois locales de la République Fédérale d'Allemagne.

Conflit d'intérêt : Les frais d'achat et d'hébergement des animaux ont été supportés par les fabricants. Les expérimentateurs et les auteurs de cet article n'ont reçu aucun paiement.

Tableau 1

Expérimentation I pH du liquide extra- et intra-oculaire après 30 secondes

	Surface de la cornée	Chambre antérieure	Test <i>t</i> de Student
Juste après les brûlures oculaires	13 ± 0	10 ± 0	
Après un lavage de 5 minutes à la solution salée	9 ± 0	10 ± 0	
Après un lavage de 5 minutes au Previn (Diphotérine®)	7,5 ± 0	9,34 ± 0,59	<i>P</i> < 0,05 vs. NaCl

Brûlures oculaires par NaOH 1N après 5 minutes de lavage avec solution saline, avec tampon phosphate ou avec Diphotérine®.



Fig. 1 : Opacification de la cornée après une brûlure alcaline et traitement avec 500 ml de solution saline.



Fig. 2 : Opacification de la cornée après une brûlure alcaline et traitement avec 500 ml de Diphotérine<sup>®</sup>.

### 3. Résultats

#### 3.1 Expérimentation I

Le pH superficiel, après brûlure, a atteint 14 dans les deux groupes. Les 5 minutes de lavage avec 500 ml de solution saline à 0,9% ont abaissé le pH à 12. La même quantité de Diphotérine<sup>®</sup> a abaissé le pH superficiel de la cornée à 7,5. Le pH de l'humeur aqueuse était de 10 trente secondes après les brûlures oculaires et a été ramené à 11 avec 500 ml de solution saline et à 9 avec cinq minutes de lavage avec 500 ml de Diphotérine<sup>®</sup> (Tableau 1). Tous les résultats obtenus avec microélectrode de pH étaient du même ordre de grandeur que ceux obtenus avec les bandelettes de papier indicateur de pH, de sorte que les erreurs de mesure dues aux faibles volumes sont inférieures à 0,5 pH.

#### 3.2 Expérimentation II

Lors du lavage, des caillots de fibrine sont apparus chez les animaux lavés à la solution saline, tandis qu'aucun caillot de ce genre n'a été observé chez les animaux lavés à la Diphotérine<sup>®</sup>. L'opacification de la cornée (Figures 1 et 2), l'évolution de la cicatrisation épithéliale, la décomposition du processus de cicatrisation épithéliale (Fig. 3) et les ulcérations cornéennes (Fig. 4) ont été semblables pour les deux groupes. Il n'y avait pas de différence importante en étendue ou en profondeur d'ulcération chez les deux groupes (Fig. 4). Globalement, les deux groupes présentaient une brûlure grave semblable et aucune cicatrisation. Le lavage à la Diphotérine<sup>®</sup> ne présentait aucun avantage significatif s'il ne faisait pas la preuve de son efficacité lors des mesures de pH. Ce résultat était attendu dans ce type de lésion. Le groupe traité à la Diphotérine<sup>®</sup> présentait une altération légèrement moins grave de l'iris et du cristallin. Par ailleurs, l'atrophie du stroma de l'iris et l'opacification du cristallin étaient légèrement moindres chez les animaux du groupe traité à la Diphotérine<sup>®</sup> (Fig. 5, Tableau 2).

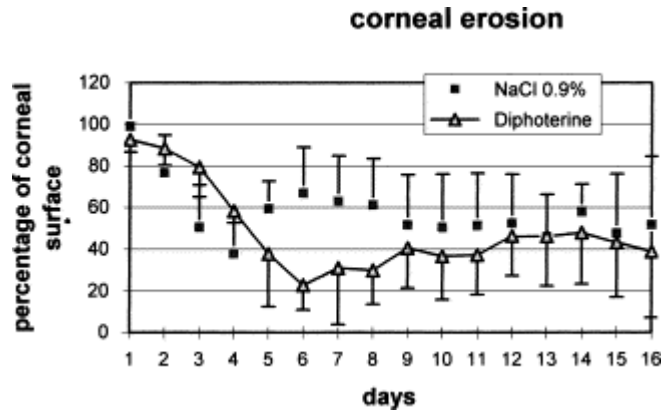


Fig. 3 : Évolution de la cicatrisation épithéliale mesurée par l'aire d'érosion en pourcentage de la surface totale de la cornée. Les données représentent des moyennes de surface d'érosion marquée à la fluorescéine en pourcentage de la surface totale de la cornée de huit animaux.

texte de la figure 3 :

Érosion de la cornée

Pourcentage de la surface de la cornée

Jours

#### 4. Discussion

Une solution saline à 0,9% est l'une des solutions recommandées pour le traitement d'urgence des brûlures oculaires (normes ANSI Z358.1-1990). Les nouvelles solutions de lavage, comme la Diphotérine<sup>®</sup>, doivent être comparées à cette norme internationale. Bien que la capacité tampon de la solution saline à 0,9% soit négligeable, c'est l'une des références en matière de lavage d'urgence des yeux brûlés. D'autres traitements, comme les traitements avec des solutions tampons (borate, ascorbate, citrate ou phosphate), ont été testés avec succès lors d'études antérieures [3-7]. Ces tampons ont des propriétés satisfaisantes dans la région alcaline (phosphate, ascorbate, citrate) ou dans la région acide (borate). La plupart de ces tampons ont été testés avec des brûlures oculaires par la soude chez l'animal ou dans des modèles *in vitro*, où la capacité tampon spécifique est maximale. Les accidents chimiques ne sont pas des stéréotypes comme ces expérimentations et notamment les traitements effectués selon ces recommandations échouent avec l'acide fluorhydrique ou les époxydes, et les nouvelles substances chimiques, cause de la multiplication d'accidents. Des études utiles ont été présentées par McCulley et al. [8], Reim et al. [9] et résumées récemment par Wagoner [10].

Tableau 2

Opacification du cristallin après élimination de la cornée dans le cas de la solution saline à 0,9% et de la Diphotérine<sup>®</sup>

Test exact de Fisher	Opacification du cristallin > 1	Opacification du cristallin ≤ 1	Total
Solution saline (0,9%)	6 (38)	2 (13)	8 (50)
Diphotérine <sup>®</sup>	4 (25)	4 (25)	8 (50)
Total	10 (63)	6 (38)	16 (100)

La valeur *P* bilatéral, 0,6084, est considérée comme non significative. Il n'y a pas une association significative entre les lignes et les colonnes. Les valeurs entre parenthèses sont des pourcentages.

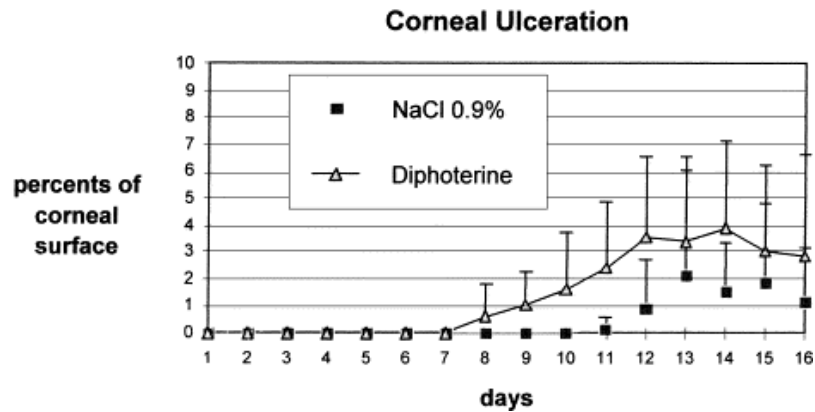


Fig. 4 : Ulcération de la cornée mesurée en étendue par rapport à la surface totale de la cornée. Les deux groupes ont présenté des ulcérations cornéennes semblables. Les données représentent des moyennes de zone ulcérée en pourcentage de la surface totale de la cornée chez huit animaux.  
 texte de la figure 4 :

Ulcération cornéenne  
 Pourcentage de la surface de la cornée  
 Diphotérine  
 jours

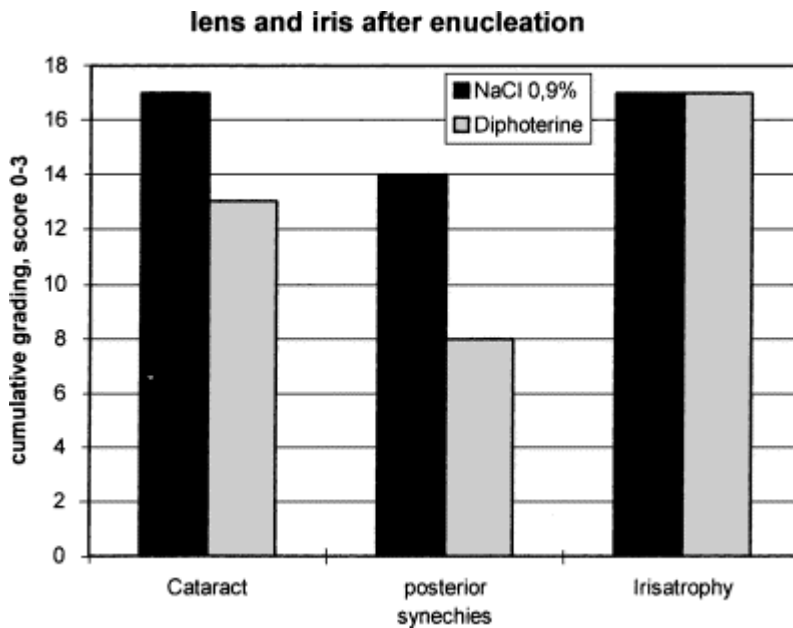


Fig. 5 : Distribution de la pathologie de l'iris et de l'opacification du cristallin pour les deux groupes traités. Les notes cumulatives de chaque groupe de huit animaux par colonne. Notes moyennes : solution salée à 0,9% = 2, solution de Diphotérine<sup>0</sup> = 1,5.  
 texte de la figure 5 :

Cristallin et iris après énucléation  
 Notation cumulative 0-3  
 Cataracte  
 Synéchies postérieures  
 Atrophie de l'iris  
 Diphotérine<sup>®</sup>

Par conséquent, les conditions fondamentales à remplir par les solutions de lavage sont l'effet tampon et neutralisant de tous les types d'acides et de bases dans la gamme de pH de 5 à 9, et leur rôle comme neutralisateur de radicaux libres et comme attractant non ionique de produits chimiques réactifs. Un type d'agent chimique remplissant ces conditions est constitué par les substances amphotères qui présentent deux groupes différents de  $pK$  dans les régions acide et alcaline. La Diphotérine<sup>®</sup> remplit cette condition avec  $pK_1 = 5,1$  et  $pK_2 = 9,3$ . Dans le cas d'une nouvelle substance comme celle-ci, il faut vérifier ses effets secondaires, notamment son innocuité, afin de remplacer les produits d'usage par un meilleur produit, compte tenu de la réglementation du traitement éthique en médecine. Des études systématiques doivent vérifier la toxicité de l'agent dans l'application indiquée. S'il n'y a pas de toxicité ou autre effet secondaire indésirable, la substance peut être prise en considération des essais cliniques.

Selon des résultats antérieurs [11,12], une application prolongée de tampon phosphate sur des brûlures oculaires doit être considérée comme délicate pour ce qui est des calcifications cornéennes. La calcification due aux facteurs locaux a déjà été argumentée auparavant [13]. Le tampon phosphate comme solution ionique ne fait pas partie de la composition physiologique de la cornée normale [14]. Les facteurs locaux, comme l'inflammation, le stroma dénudé et les activités protéolytiques avec mort des cellules [15], combinés avec une alimentation en phosphore non physiologique par thérapeutique externe, entraînent une décalcification locale de la cornée [1]. Par conséquent, étant donné les exigences de sécurité pour un agent de lavage de traitement d'urgence avec des effets sur les développements ultérieurs de la pathologie de la cornée, il est nécessaire d'évaluer quel type de solution de lavage est disponible pour le traitement efficace des yeux brûlés sans effets secondaires néfastes pour le pronostic futur. Nous pensons qu'un examen systématique de la Diphotérine<sup>®</sup> doit être entrepris pour évaluer l'efficacité de son action. Selon les résultats de nos expérimentations animales, nous pensons que la Diphotérine<sup>®</sup> est une solution de lavage utile dans le traitement de premiers secours des brûlures par base avec la possibilité non négligeable de traiter d'autres types de bases, d'acides [16] et de radicaux.

## Remerciements

Cette étude a bénéficié du soutien de l'Aachen Center of Technology Transfer in Ophthalmology e.V. et de la faculté de médecine. Les auteurs n'ont aucun intérêt financier vis-à-vis du sujet publié. Nous tenons à remercier le Professeur Paterson pour sa discussion enrichissante du sujet.

## Références

- [1] Schrage NF, et al. Eye burns: an emergency and continuing problem. *Burns* 2000;26(8):689-99.
- [2] Schrage NF, Benz K, Beaujean P, Burchard WG, Reim M. A simple empirical calibration of energy dispersive X-ray analysis (EDXA) on the cornea. *Scand Microsc* 1993;7(3):881-8.
- [3] Laux U, Roth HW, Krey H, Steinhardt B. Die Wasserstoffkonzentration des Kammerwassers nach Alkaliverätzungen der Hornhaut und deren therapeutische Beeinflussbarkeit. Eine Tierexperimentelle Studie. *Albrecht von Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1975;195(1): 33-40.
- [4] Pfister RR, Paterson CA. The efficacy of ascorbate treatment after severe experimental alkali burns depends upon the route of administration. *Invest Ophthalmol* 1980;19(12):1526-9.
- [5] Pfister RR, Haddox JL, Yuille-Barr D. The combined effects of citrate/ascorbate treatment in alkali-injured rabbit eyes. *Cornea* 1991;10(2):100-4.
- [6] Bennett TO, Peyman GA, Rutgard J. Intracameral phosphate buffer in alkali burns. *Can J Ophthalmol* 1978; 13(2):93-5
- [7] Reim M. The result of ischemia in chemical injuries. *Eye* 192;6:376-80.
- [8] McCulley JP, Pettit M, Lauber S. Treatment of experimental ocular hydrofluoric acid burns. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980;19 (Suppl):228.

- [9] Reim M, Kottek AA, Schrage NF. The cornea surface and sound healing. In: Progress in Retinal and Eye Research, vol 16(2); 1997. p. 183-225.
- [10] Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. Surv Ophthalmol 1997;41(4):275-313.
- [11] Huige WMM, Beekhuis WH, Rijnefeld WJ, Schrage N, Remeijer L. Deposits in the superficial corneal stroma after combined topical corticosteroid and beta-blocking medication. Eur J Ophthalmol 1991;1(4):198-9.
- [12] Schrage NF, Schlossmacher B, Aschenbrenner W, Langefeld S. Phosphate buffer in alkali eye burns as an inducer of experimental corneal calcification. Burns 2001;27:459-64
- [13] Dark AJ, Proctor JA. Typical band-shaped calcific keratopathy with keratocyte changes. Br J Ophthalmol 1972;66:309-16.
- [14] Schiffmann E, Martin GR, Miller EJ. Matrices that calcify. In: Schraer J, editor. Biological calcifications:cellular and molecular aspects. North Holland: North Holland Publishing Company, 1971. p. 124-128.
- [15] Schanne FAX, Kane AB, Yound EE, Faber JL. Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway . Science 1979;206:9.
- [16] Siewé CL, Nehles J, Blomet J, Gross M. A review of two hydrofluoric acid burns. In: Proceedings of the XVIII International Congress on European Association of Poison Centers and Clinical Toxicologists, March 1998. p. 191.