

Existe-t-il un délai pour le lavage oculaire externe dans le traitement d'une brûlure oculaire par l'ammoniaque ?

Comparaison de deux solutions de lavage : sérum physiologique et Diphotérine®

M. Gérard (1), P. Josset (2), V. Louis (3), J.-M. Menerath (3), J. Blomet (4), H. Merle (1)

(1) Service d'Ophthalmologie, Centre Hospitalier Universitaire de Fort de France, Hôpital Pierre Zobda Quitman, BP 632, 97261 Fort de France Cedex.

(2) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Rotschild, 33 Bd de Picpus, 75012 Paris.

(3) Service d'Ophthalmologie, Centre Hospitalier Universitaire de Clermont Ferrand, Hôpital Gabriel Montpied, Rue Montalembert, BP 69, 63003 Clermont Ferrand Cedex.

(4) Laboratoire de recherche de PREVOR, Moulin de Verville, 95760 Valmondois.

Correspondance : M. Gérard, à l'adresse ci-dessus.

Reçu le 25 janvier 1999. Accepté le 24 février 2000.

Advantage of Diphotérine®, an ocular bathing solution, in the treatment of ocular ammonia burns

M. Gérard, P. Josset, V. Louis, J.-M. Menerath, J. Blomet, H. Merle

J. Fr. Ophthalmol., 2000 ; 23, 5 : 449-458

Purpose: An experimental animal study was conducted to analyze the delay for ocular bathing in the treatment of severe ocular ammonia burns. Two solutions of ocular wash, saline solution and Diphotérine® were compared.

Material and methods: The study included 23 eyes of New Zealand albino rabbits that received for 1 minute 100µl of 15.3% ammonium solution. Each eye was then washed with 250 of saline solution or 250ml Diphotérine® after a delay of 1, 3, 5, 10 or 30 minutes. Effects were assessed on the basis of changes in anterior chamber pH, ammonia concentration in the anterior chamber, and cytopathology examination of the burned corneas.

Results: Ocular wash with Diphotérine® in the first minutes following ocular burn induced an inflexion of the pH curve unlike ocular wash with saline solution. At 30 minutes, there was no inflexion of the pH curve and the ammonia concentration in the anterior chamber was low. Contrary to ocular wash using Diphotérine®, stromal edema was seen at cytopathological analysis after washing with saline solution.

Conclusions: This study provides evidence of the interest of ocular bathing in the first minutes following ocular burn by ammonia. The efficacy of external ocular washing with Diphotérine® was proven by biochemical and cytopathological demonstrations. The importance of sequelae were related to the degree of initial stromal edema.

Key-words: Ocular burn, alkali, ammonia, Diphotérine®, ocular bathing.

Existe-t-il un délai pour le lavage oculaire externe dans le traitement d'une brûlure oculaire par l'ammoniaque ?

Introduction : Les auteurs présentent les résultats d'une étude expérimentale ayant pour but de trouver des arguments en faveur de l'existence d'un délai pour le lavage oculaire externe dans le traitement d'une brûlure oculaire grave par l'ammoniaque. Cette étude compare également, dans ce cadre, 2 solutions de lavage oculaire externe : le sérum physiologique et la Diphotérine®.

Matériel et méthodes : Cette étude a été réalisée sur 23 yeux de lapins albinos New Zealand qui ont été brûlé par 100 µl d'une solution d'ammoniaque à 15,3 % pendant 1 minute, puis lavé à l'aveugle par 250 ml de sérum physiologique ou de Diphotérine® après un délai de 1, 3, 5, 10 et 30 minutes. Les effets de ces lavages sont jugés sur l'évolution du pH intracaté-

INTRODUCTION

Les résultats de notre étude prospective clinique sur les brûlures oculaires par bases en Martinique [1] montrent que pour toutes les brûlures oculaires graves par l'ammoniaque ainsi recensées (Alcali = ammoniaque 15,3 %, pH = 2,8), il existe un délai du premier lavage oculaire supérieur à trente minutes. Il semble donc qu'un lavage oculaire réalisé avant un délai de plusieurs minutes permette d'éviter qu'une brûlure oculaire par l'ammoniaque ne devienne grave. Notre expérimentation a pour but de trouver des arguments expérimentaux en faveur de l'existence d'un délai, et ainsi de le mesurer. Cette étude compare également deux solutions de lavage oculaire externe à notre disposition : sérum physiologique et Diphotérine®.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette expérimentation a été réalisée sur 18 yeux de lapins New Zealand albinos de 2 à 2,2 kg. La méthodologie

culaire, la valeur de la concentration d'ammoniaque intracamerulaire, et l'analyse anatomo-pathologique des cornées prélevées à la fin de chaque expérimentation.

Résultats : Un lavage à la Diphotérine® durant les premières minutes suivant une brûlure entraîne une inflexion de la courbe pH, contrairement au sérum physiologique. Par contre, les expérimentations à 30 minutes ne retrouvent pas ces inflexions de la courbe pH, et le taux d'ammoniaque intracamerulaire est faible. Sur le plan anatomo-pathologique, un œdème stromal est retrouvé en cas de lavage au sérum physiologique, mais pas en cas de lavage à la Diphotérine®.

Discussion-Conclusion : Cette étude montre l'intérêt d'un lavage oculaire dans les premières minutes suivant une brûlure par ammoniaque. L'efficacité d'un lavage oculaire externe à la Diphotérine® est prouvée sur des arguments biochimiques et anatomo-pathologiques. L'importance de la taie cicatricielle a été corrélée à l'importance de l'œdème stromal initial.

Mots-clés : Brûlure oculaire, bases, ammoniaque, diphotérine®, lavage oculaire.

anesthésique et proprement expérimentale a été décrite en détail dans notre article précédent (M. Gérard et al. Étude expérimentale sur la pénétration intra-oculaire de l'ammoniaque. J. Fr. Ophtalmol. 1999 (22 : 1047-1053) [2]). En résumé, sous anesthésie générale on place une sonde de pH mètre dans la chambre antérieure de l'œil du lapin. Le pH d'humeur aqueuse est alors enregistré avant toute manipulation, et on s'assure par plusieurs mesures de sa stabilité. Puis, nous déposons sur la cornée 0,01 ml d'une solution d'ammoniaque à 15,3 %, à l'intérieur d'un marqueur optique de Hoffer de 7 mm de diamètre, pendant 1 minute. Le choix de cette méthode rend valide la comparaison avec notre étude clinique. En effet, nous avons un rapport volume/surface se rapprochant de ceux rencontrés en clinique [3] : 0,02 ml/cm² pour une surface en immersion totale, et 0,01 ml/38,5 mm² pour notre expérimentation. Selon l'expérimentation, des lavages sont réalisés en insu soit par 250 ml de sérum physiologique, soit par 250 ml de Diphotérine®, après des délais de 1 minute, 3 minutes, 5 minutes, 10 et 30 minutes suivant le début de la pose de l'ammoniaque sur la cornée. La mesure du pH est répétée durant toute l'expérimentation à un intervalle de 10 secondes pour les expérimentations de 30 minutes et de 5 secondes

pour les autres. Une ponction de chambre antérieure est réalisée à différents temps. L'expérimentation est déclarée valable si l'on peut retirer au moins 0,1 ml d'humeur aqueuse. Il est alors réalisée une mesure de la concentration d'ammoniaque intracamerulaire. La mesure de la concentration d'ammoniaque est réalisée par le système Synchron CX® du laboratoire Beckman fabriqué à Fullerton (Californie, États Unis). Il s'agit d'une mesure quantitative selon une technique en point final. C'est une méthode de dosage enzymatique qui mesure la totalité de l'ammoniaque présent c'est à dire la concentration d'ammonium [NH₄⁺] et la concentration d'ammoniaque lui-même [NH₄OH]. Cette méthode de dosage a des limites de plage analytique de 5 à 1 000 µmol/l. La quasi totalité des dosages réalisés sont au dessus de cette concentration. Ces mesures sont obtenues en diluant l'échantillon d'humeur aqueuse. Un échantillonnage nous a permis de mettre en évidence, lors de l'utilisation de la dilution, une sous-estimation moyenne de la concentration d'ammoniaque totale mesuré par cette méthode de 7,7046 mmol/l. Nous réalisons ensuite un prélèvement de cornée aux ciseaux de Vannas en poursuivant selon un trajet circulaire parallèle au limbe la section débutée au niveau de la zone cornéenne cathétérisée. Le

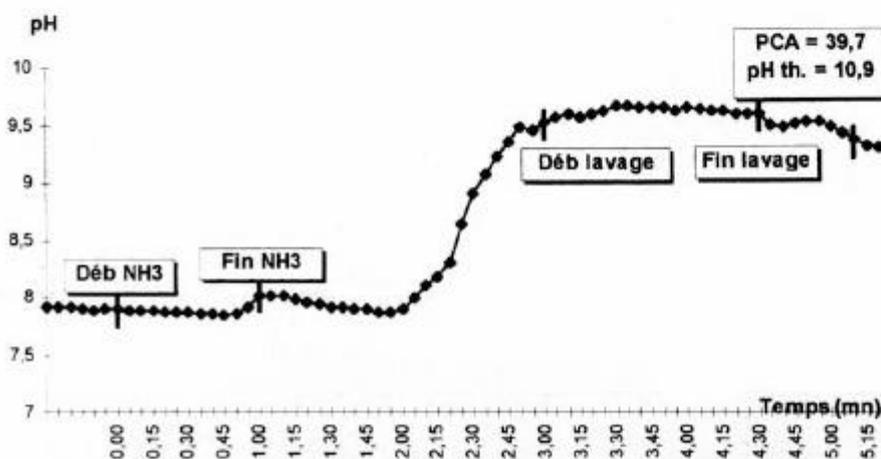


Figure 1 : Courbe d'évolution du pH. t = 3 min, lavage au sérum physiologique, PCA immédiate.

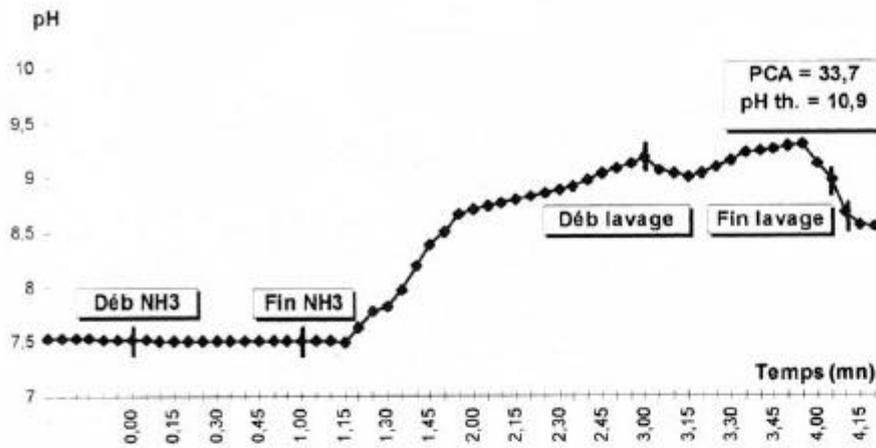


Figure 2 : Courbe d'évolution du pH. t = 3 min, lavage à la diphotérine, PCA immédiate.

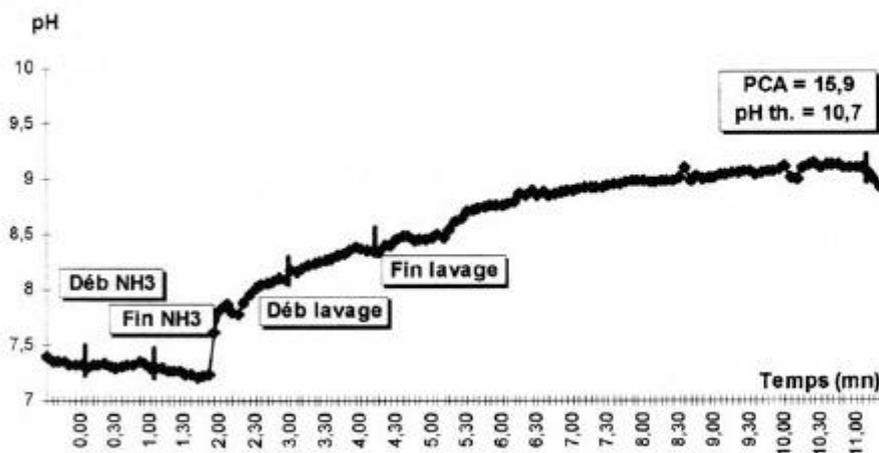


Figure 3 : Courbe d'évolution du pH. t = 3 min, lavage au sérum physiologique, PCA 7 min.

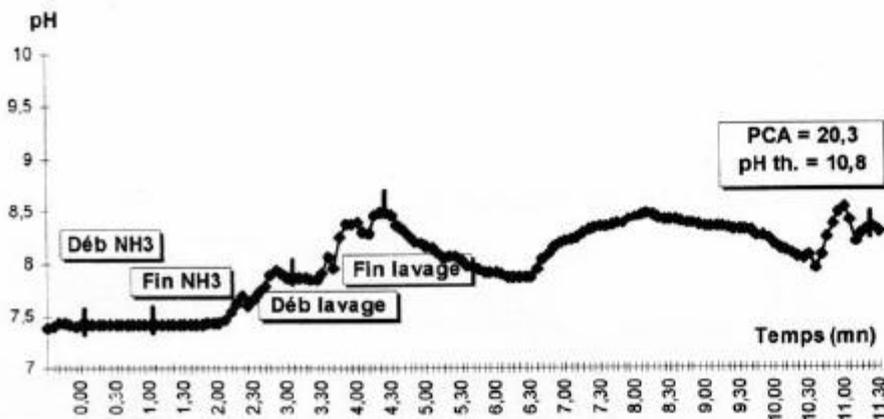


Figure 4 : Courbe d'évolution du pH. t = 3 min, lavage à la diphotérine, PCA 7 min.

Tableau I

Récapitulatif des expérimentations.

Œil brûlé au NH ₃ pendant 1 minute, sans lavage.	Œil brûlé au NH ₃ pendant 1 minute, Puis lavage au sérum physiologique à t, puis PCA immédiate.	Œil brûlé au NH ₃ pendant 1 minute, puis lavage au sérum physiologique à t, puis PCA 7 minutes après la fin du lavage.	Œil brûlé au NH ₃ pendant 1 minute, puis lavage à la Diphotérine® à t, puis PCA 7 minutes après la fin du lavage.	Œil brûlé au NH ₃ pendant 1 minute, Puis lavage à la Diphotérine® à t, puis PCA immédiate.
PCA pour dosage d'ammoniaque à 1 minute.	t = 1 minute.	t = 1 minute.	t = 1 minute.	t = 1 minute.
PCA pour dosage d'ammoniaque à 3 minutes.	t = 3 minutes.	t = 3 minutes.	t = 3 minutes.	t = 3 minutes.
PCA pour dosage d'ammoniaque à 5 minutes.	t = 5 minutes.	t = 5 minutes.	t = 5 minutes.	t = 5 minutes.
PCA pour dosage d'ammoniaque à 10 minutes.	t = 10 minutes.	t = 10 minutes.	t = 10 minutes.	t = 10 minutes.
PCA pour dosage d'ammoniaque à 30 minutes.		t = 30 minutes.	t = 30 minutes.	

PCA = Ponction de chambre antérieure pour mesure de la concentration d'ammoniaque dans l'humeur aqueuse.

prélèvement est tout de suite déposé dans du liquide de Bouin. L'analyse anatomo-pathologique est également réalisée en aveugle c'est-à-dire avant connaissance des solutions de lavage employées. Les prélèvements sont inclus dans la parafine et des coupes de 3,5 µm d'épaisseur sont réalisées. L'observation se fait au microscope optique après coloration à l'hémalum-phloxine-safran. Parallèlement, pour toutes les durées d'expérimentations (1, 3, 5, 10, 30 minutes), il existe un œil de lapin témoin qui reçoit une brûlure identique, mais qui ne bénéficie pas de lavage oculaire externe. La courbe pH ainsi obtenu permet de valider la courbe pH obtenu pour l'œil lavé, puisque sa forme doit être identique jusqu'au lavage oculaire. Ce groupe témoins bénéficie également, en aveugle, d'une mesure de la concentration intracaméculaire d'ammoniaque et d'une analyse anatomo-pathologique de la cornée brûlée. Les différentes expérimentations sont rassemblées dans le *tableau I*. Les résultats de chaque expérimentation sont figurés sous la forme d'une courbe de pH en fonction du temps. La première partie de la courbe enregistre le pH avant toute manipulation. Le chronométrage de l'expérimentation débute avec l'application sur l'œil de l'ammoniaque. Sur ces courbes figurent le début (Déb NH₃) et la fin (Fin NH₃) de l'application de l'ammoniaque, le début (Déb lavage) et la fin (Fin lavage) du lavage s'il y en a eu, le moment exact de la réalisation

de la ponction de chambre antérieure (PCA sur les courbes), ainsi que la valeur de la concentration d'ammoniaque ([NH₄OH]) dans l'humeur aqueuse, exprimée en millimoles, mesuré à partir de ce prélèvement (*fig. 1 à 4*). À partir de cette concentration, il est possible de calculer un pH théorique (pH sur les courbes) par la formule : $\text{pH} = 7 + 1/2 \text{ pKa} + 1/2 \log [\text{NH}_4\text{OH}]$, avec pKa = 9.2 pour l'ammoniaque. Puis, afin d'effectuer des études comparatives entre courbe sans et avec lavage à la Diphotérine® ou au sérum physiologique, chaque courbe correspondant à un temps d'expérimentation donnée, est figurée avec ses homologues à l'intérieur d'un même graphique. Dans ces graphiques le pH de départ est ramené à un pH théorique (0 de la courbe), et seules sont reportées les variations de pH par rapport à ce 0 pH (*fig. 5 et 6*).

RÉSULTATS

Pour un délai de prélèvement d'humeur aqueuse identique, les valeurs de concentrations d'ammoniaque retrouvées dans les expérimentations avec lavage sont toutes inférieures à celles des expérimentations témoins sans lavage. Sur les courbes enregistrant seulement la

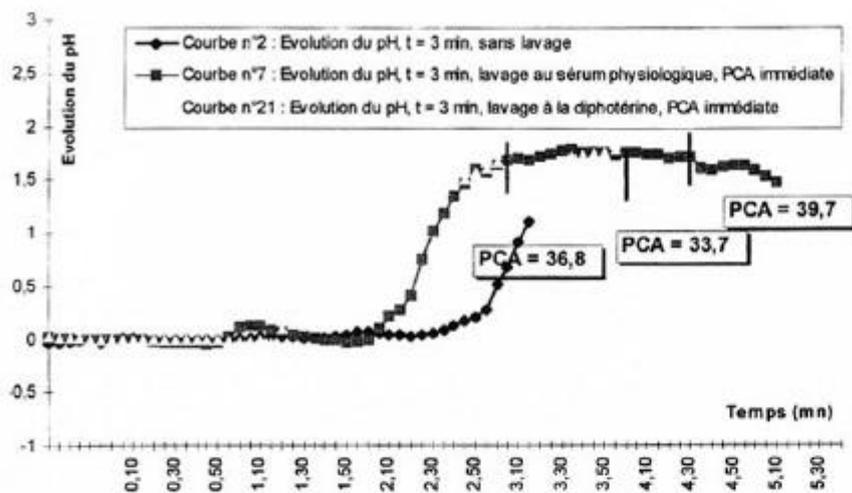


Figure 5 : Graphique comparatif des courbes d'évolution du pH. Expérimentation lavage à 3 min, PCA immédiate. Courbes avec lavage à la Diphotérine® et au sérum physiologique superposables.

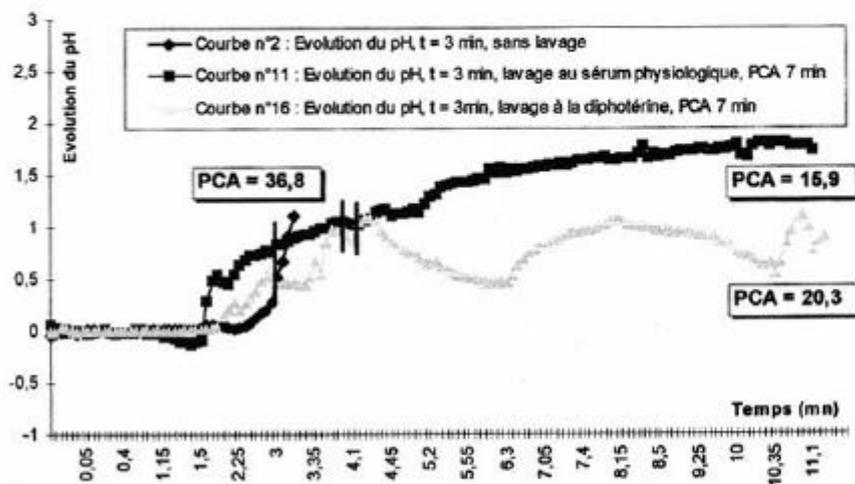


Figure 6 : Graphique comparatif des courbes d'évolution du pH. Expérimentation lavage à 3 min, PCA après 7 min. Inflexion de la courbe pH après lavage à la Diphotérine®. Absence d'inflexion de la courbe pH après lavage au sérum physiologique.

modification du pH pendant le lavage, il n'y a pas de différence entre le lavage au sérum physiologique et le lavage à la Diphotérine®. Par contre, les courbes pH analysant l'évolution du pH 7 minutes après le lavage à la Diphotérine® présentent une inflexion de la courbe. Le pH enregistré sur ces courbes reste d'ailleurs inférieur à celui des courbes homologues avec lavage au sérum physiologique (fig. 6). Sur le plan anatomo-pathologique, une nécrose épithéliale est

notée pour toutes les expérimentations, et le plus souvent sous la forme d'une coagulation. Les membranes de Bowman et de Descemet sont par contre toutes retrouvées intactes. Hormis un discret œdème retrouvé lors d'une expérimentation comportant un lavage à la Diphotérine® 10 minutes après la brûlure, celui-ci n'est noté que pour certaines des expérimentations sans lavage, ou avec lavage au sérum physiologique (fig. 8 et 9).

DISCUSSION

L'analyse de notre étude doit se faire en ayant bien conscience de ses limites. Ainsi, l'ammoniaque est un produit volatil et une reproductibilité exacte du nombre de moles déposé sur la cornée est de ce fait impossible. Les mesures de pH intracaméculaires avant application d'ammoniaque sont différentes les unes des autres. Cette différence peut être expliquée par un mauvais étalonnage de la sonde pH. L'étalonnage a été réalisé avant chaque expérimentation et cette probabilité reste faible. De toutes manières, au maximum les variations de pH par ce mauvais étalonnage peuvent être de 0,5, en plus ou en moins. Quoiqu'il en soit, la mesure des variations relatives du pH reste valide. De même que l'étude comparative des différentes courbes pH a la même durée d'expérimentation puisque nous recalons toutes les courbes à un même pH de départ (le 0 de notre courbe) et que seules sont comparées les variations du pH à partir de ce 0 pH (fig. 5 et 6). La position de la sonde à l'intérieur de la chambre antérieure entraîne des variations dans la mesure du pH, mais seules des variations importantes sont constatées lorsque la sonde est placée en arrière de l'iris. Durant toute l'expérimentation, un opérateur vérifie en permanence la position de la sonde, mais il faut noter que ce contrôle est difficile pendant le lavage. En fait, le biais le plus important concerne la méthode de mesure de la concentration d'ammoniaque dans l'humeur aqueuse (cf. chapitre Méthodes). Le système Synchron CX® permet une mesure de la totalité de l'ammoniaque présent dans l'humeur aqueuse, c'est à dire la concentration d'ammonium $[NH_4^+]$ et d'ammoniaque lui-même $[NH_4OH]$. Vu les taux importants d'ammoniaque ainsi dosés, les mesures ont été réalisées après dilution. Or un échantillonnage nous a permis de mettre en évidence, lors de l'utilisation de la dilution, une sous-estimation moyenne de la concentration d'ammoniaque de 7,7046 mmol/l (cf. chapitre Méthodes). Un dernier biais possible dans la mesure de la concentration d'ammoniaque est la mesure de l'ammoniaque normalement présent dans l'humeur aqueuse du fait du métabolisme d'acides aminés. Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature de mesures de concentration d'ammoniaque. Si nous faisons un parallèle avec le sang veineux où l'ammoniaque est retrouvé à un taux de 18 $\mu\text{mol/l}$, il n'y aurait dans 0,1 ml d'humeur aqueuse que 0,0018 μmol soit une quantité négligeable. Enfin, la méthode de prélèvement des cornées peut induire un biais dans l'analyse anatomopathologique des cornées brûlées. En effet un traumatisme chirurgical peut facilement décoller l'endothélium de cornée brûlée, et ainsi l'absence de cellules endothéliales peut être rapportée par erreur à la brûlure. Néanmoins, des résultats nets semblent pouvoir être dégagés de notre étude. Ainsi, les expérimenta-

tions à 30 minutes (fig. 7) se traduisent par des courbes tout à fait comparables à celles de Paterson [4]. Nos mesures de concentration d'ammoniaque à 30 minutes sont faibles, ce qui apporte un argument supplémentaire sur l'intérêt sans doute limité du lavage oculaire externe après 30 minutes. Cet argument expérimental concorde tout à fait avec les données de notre étude clinique humaine [1] qui rapportait un délai de plus de 30 minutes du premier lavage oculaire externe pour toutes les brûlures graves par l'ammoniaque. Par contre un lavage oculaire dans les 10 premières minutes suivant une brûlure par l'ammoniaque paraît bénéfique, puisque toutes les concentrations d'ammoniaque sont nettement inférieures (rapport de 2) avec celles obtenues dans les expérimentations témoins sans lavage. Nous reviendrons sur cette analyse qui doit être tempérée par le biais de mesure d'ammoniaque et l'analyse du pH. L'évolution du pH lors du lavage au sérum physiologique ne semble pas montrer de variation par rapport à celui enregistré lors de l'absence de lavage. Paterson [4] l'avait déjà noté et sur cette donnée remettait en cause l'intérêt d'un lavage 2 à 3 minutes après la brûlure. La question est donc la suivante : laquelle de ces données chimiques est la plus pertinente pour évaluer l'efficacité d'un lavage ? Grant [5] affirme que l'ion ammonium ne serait pas particulièrement toxique pour les tissus oculaires et que seul le pH compte. Ceci nous oblige pour faciliter la compréhension du lecteur à faire un rappel sur la physiopathologie des brûlures oculaires par bases, et notamment sur sa partie toute initiale : la destruction tissulaire directe par l'agent chimique.

Il y a déjà longtemps que Hugues a souligné que la sévérité d'une brûlure oculaire dépend de la concentration, la durée d'exposition et surtout du pH de l'agent chimique [6, 7]. Il faut y rajouter le volume et les propriétés propres à l'agent chimique. Ainsi, la liposolubilité de l'ammoniaque lui permet de franchir plus facilement la barrière épithéliale, et son caractère hydrosoluble lui permet de franchir rapidement le stroma cornéen. Ceci explique en grande partie sa capacité de pénétration à travers la cornée [4, 5, 7-9]. Enfin, il ne faut pas oublier que le symptôme n'est en fait que le résultat d'une succession d'interactions chimiques comme le démontrent Burgher, Blomet et Mathieu [10]. Ainsi, sur le plan chimique pur, les bases entraînent un seul type de réaction : des réactions acido-basiques. Il reste donc à chercher des substrats biologiques acides. Or, les structures tissulaires possèdent une quantité infinie de couples acides-base (par exemple les acides aminés). L'échelle des pK nous montre que les premières réactions chimiques réalisées seront celles qui délivreront le plus grand bénéfice en terme énergétique, selon les lois de la thermodynamique. Ces premières réactions se feront donc avec des acides faibles. Or, lors d'une brûlure oculaire par base forte, celle-ci est en contact avec

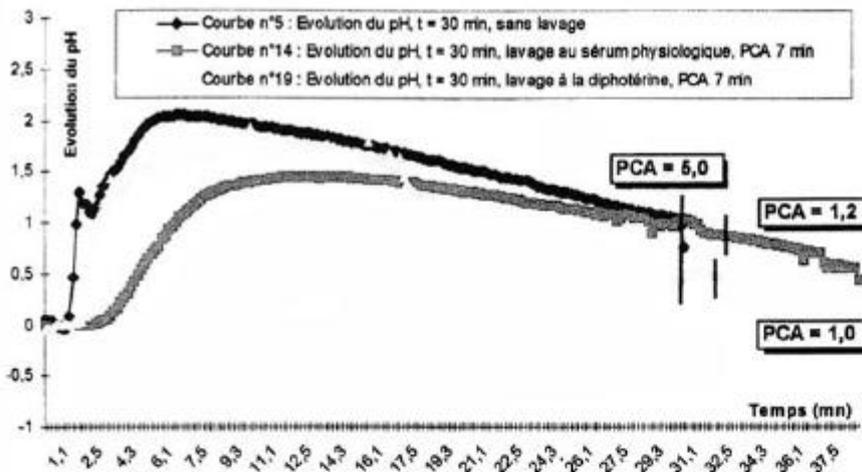
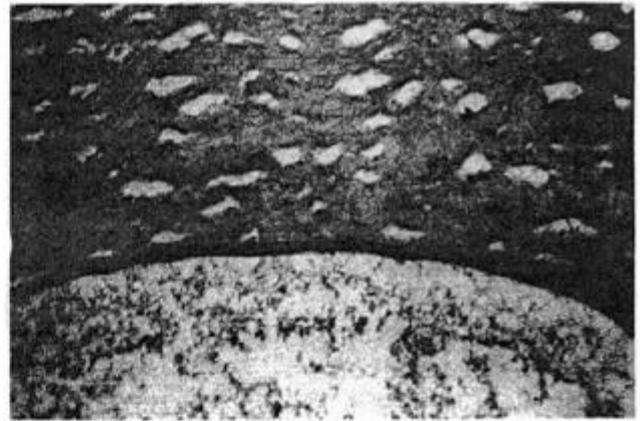
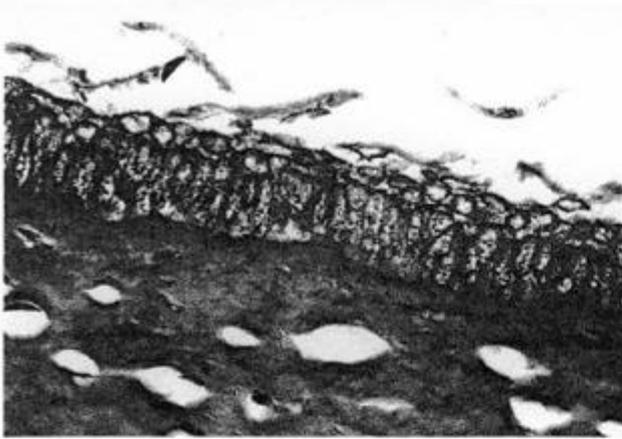


Figure 7 : Graphique comparatif des courbes d'évolution du pH. Expérimentation lavage à 30 min, PCA après 7 min. Courbes avec lavage à la Diphotérine® et au sérum physiologique superposables avec quasi retour au pH physiologique. Taux d'ammoniaque intracaméculaire faible.

des acides faibles : les acides gras constituant la membrane lipidique des membranes cellulaires. Puis, après ces premières réactions chimiques, il y a deux possibilités. Soit, ces réactions ont entraîné la consommation totale de la base, et l'action chimique s'arrête. C'est là qu'intervient la notion de concentration de l'agresseur chimique. Soit, ces premières réactions n'ont pas permis une consommation totale de la base, et alors elle va pouvoir s'attaquer à des acides plus forts. D'autres réactions chimiques vont alors se mettre en place, et elles ne s'arrêteront que par épuisement de l'agresseur chimique ou de réactant biologique. Mais chaque nouvelle réaction chimique va entraîner la production de nouvelles entités chimiques. Ceci induit une modification de l'équilibre des entités chimiques et ainsi une modification des niveaux métaboliques. La gravité de l'interaction dépendra donc du nombre de niveaux touchés par la réaction et de la quantité de produit réactant modifié à chaque niveau. À ce niveau intervient une donnée biologique : ces réactions initiales de la base avec les lipides de la membrane plasmique entraînent la nécrose cellulaire. Autrement dit, la base va pouvoir entrer en contact avec les tissus cornéens plus profonds, et donc initier d'autres réactions chimiques, avec le collagène stromal par exemple. Néanmoins, la pénétration de la base à l'intérieur du tissu cornéen n'est pas seulement due à cette action ; elle dépend aussi des lois classiques de la diffusion : loi de la pression osmotique, loi de Fick. Sur le plan biologique, les lésions induites par les bases peuvent être ainsi résumées. Au niveau épithélial, les bases entraînent une saponification et une lyse des membranes cellulaires ce qui aboutit à la mort cellulaire

et ainsi cliniquement à un ulcère. Cette nécrose serait secondaire à l'élévation brutale du pH [11, 12]. La nécrose peut également toucher les cellules souches limbiques qui assurent le renouvellement de l'épithélium cornéen. Il est bien évident que la destruction d'un nombre important de cellules souches limbiques compromet la cicatrisation épithéliale à long terme. Sur le plan clinique, cette destruction est appréciée par l'ischémie limbique dont l'étendue est un des éléments des classifications pronostiques des brûlures oculaires alcalines [6, 13, 14]. Puis, si le produit basique n'a pas été consommé en totalité par les premières réactions chimiques liées à la destruction des membranes cellulaires [10], il va alors pouvoir pénétrer dans les couches plus profondes de la cornée, et notamment dans le stroma cornéen mais seulement après destruction de la membrane basale [15]. Le stroma cornéen va alors pouvoir servir de substrat pour de nouvelles réactions chimiques avec la base. Les bases peuvent détruire elle-même le stroma, d'une part, par nécrose des kératocytes [16] ; et d'autre part, par clivage en fragments peptidiques des brins de collagène [17]. Nous avons encore vu que la base peut entraîner une dénaturation du collagène et des glycosaminoglycanes, avec des conséquences sur la transparence cornéenne [10, 18, 19]. Il faut encore citer un effet indirect sur ce stroma : la brûlure oculaire va rapidement léser le trabéculum, avec pour conséquence augmentation de la pression intraoculaire ce qui est un facteur d'œdème stromal. Enfin, comme toute cellule, les cellules endothéliales peuvent nécroser par réaction de la base sur la couche lipidique de la membrane cytoplasmique. Il reste encore à signaler que le



8	9
10	

Figure 8 : Analyse anatomo-pathologique d'une cornée brûlée par l'ammoniaque et lavée 3 minutes après par du sérum physiologique. Epithélium coagulé. Stroma œdémateux.

Figure 9 : Analyse anatomo-pathologique d'une cornée brûlée par l'ammoniaque, n'ayant pas bénéficié de lavage, et ayant été prélevée à 5 minutes : Stroma œdémateux. Membrane de Descemet normale. Cellules endothéliales absentes.

Figure 10 : Analyse anatomo-pathologique d'une cornée brûlée par l'ammoniaque et lavée 3 minutes après par de la Diphotérine® : épithélium vacuolisé et coagulé. Stroma normal.

taux de glucose dans l'humeur aqueuse est abaissé, ce qui diminuera d'autant les possibilités métaboliques des tissus cornéens [20]. De même, la diminution du taux intracamerulaire d'acide ascorbique [21, 22] compromet la réparation du collagène stromal. C'est ainsi que les conséquences biologiques de ces premières réactions chimiques vont elles-mêmes entraîner d'autres perturbations biologiques expliquant l'évolution et ainsi la symptomatologie de ces brûlures oculaires par bases.

Ce rapnel physiopathologique expose la chaîne de réactions possibles de l'ammoniaque avec de nombreux acides faibles, constituants tissulaires. Dans ce cadre ce sont les ions OH^- qui agissent et non l'ion ammonium lui-même. Il faut également rappeler la possibilité pour les cations de se lier au collagène et de le dénaturer. Enfin il ne faut pas ignorer les troubles biologiques possibles sur la seule variation de pH. Mais dans ce dernier cas la concentration des ions OH^- intervient. De sorte qu'il est difficile de savoir laquelle de ces deux données (pH, concentration d'ammoniaque) est la plus pertinente. D'autant que ces deux valeurs ne sont que des méthodes d'évaluation indirectes du problème posé,

puisque'il s'agit de mesures réalisées au sein de l'humeur aqueuse alors que le problème posé concerne la cornée. Ainsi, le pH d'humeur aqueuse est certainement plus faible que le pH cornéen et nous ne savons pas doser le pourcentage d'ammoniaque c'est à dire d'ions OH^- ou NH_4^+ qui interagissent chimiquement au niveau de la cornée. Néanmoins l'étude conjointe de ces deux données nous apporte des enseignements, notamment pour comprendre l'intérêt d'un lavage à la Diphotérine®. La meilleure efficacité de la Diphotérine® par rapport à un lavage isotonique au sérum physiologique a été prouvé par des expérimentations *in vitro* et, *in vivo* [3, 23] et sur des résultats de clinique humaine [24] dans le cas de lavage oculaire dans les premières minutes suivant la brûlure. Il est tout à fait intéressant de comprendre l'efficacité théorique d'une telle solution. La Diphotérine® est une solution amphotère, hypertonique par rapport à la chambre antérieure de l'œil. Un amphotère est un élément chimique capable de se lier avec une base ou un acide sans modification du pH du milieu. De sorte que la Diphotérine® est capable de chélater aussi bien un acide qu'une base et de part son

hypertonie elle crée un mouvement d'eau de la chambre antérieure hypotonique vers la surface externe de la cornée hypertonique, entraînant ainsi avec ce mouvement d'eau les ions OH^- . Et ce sont ces ions OH^- qu'elle va chélater. Cette vision des mécanismes expliquant l'efficacité de la Diphotérine® est simpliste. D'autres mécanismes, en cours d'évaluation, semblent rentrer en jeu pour expliquer notamment sa capacité à faire ressortir des ions OH^- de la chambre antérieure. Par contre ces explications permettent de comprendre que son efficacité ne peut se traduire que de façon retardée. C'est ce que nous constatons lorsque nous comparons les courbes de pH enregistré 7 minutes après un lavage. Ces courbes de pH (fig. 6) montrent une inflexion de la courbe pH quelques secondes à quelques minutes après le lavage par la Diphotérine®, alors qu'une telle inflexion n'existe pas avec un lavage au sérum physiologique. L'analyse de la courbe pH n° 16 (fig. 4) est très intéressante puisque après une inflexion de la courbe pH, nous constatons une remontée. Ceci s'explique par un volume de lavage insuffisant. Notre analyse se trouve limitée par le fait que ces comparaisons sont uniquement basées sur des cas uniques et non sur une moyenne d'expérimentations. Deux autres éléments doivent être gardés à l'esprit. Ces mesures de pH concernent la chambre antérieure, et non la cornée. Il est certain que la diminution de pH enregistrée dans la chambre antérieure est nettement plus sensible au niveau du stroma cornéen. Il est tout à fait normal que les mesures de concentrations d'ammoniaque soient identiques après lavage avec le sérum physiologique ou la Diphotérine®. Les comparaisons doivent tenir compte des biais de la mesure de la concentration. La Diphotérine® ne capte que les ions OH^- et donc la concentration totale en ammoniaque (NH_4OH et NH_4^+) est identique. Enfin il faut remarquer que 30 minutes après la brûlure, la courbe pH ne subit pas d'inflexion que ce soit après un lavage au sérum physiologique ou à la Diphotérine® (fig. 7). Sur le plan anatomo-pathologique, des résultats intéressants se dégagent de cette étude. L'épithélium présente donc une nécrose rapide puisqu'elle existe même pour les expérimentations de 1 minute. L'épithélium cornéen est coagulé dans de nombreuses expérimentations, ce qui est également retrouvé chez l'homme [1]. Par contre la membrane de Bowman et la membrane de Descemet persistent dans toutes les expérimentations. Ceci permet d'envisager le passage d'ammoniaque à travers ces membranes comme à travers des membranes semi-perméables (ce qu'elles sont d'ailleurs sur le plan biologique), et ceci sans qu'elles subissent de lésions immédiates par la base. Il est probable que l'absence de lésions immédiates de ces membranes soit due à leur structure en collagène. Il semble en effet que le collagène stromal ne soit dégradé

que secondairement lors de brûlures alcalines. Grant et Kern [18] ont montré que la lésion immédiate sur le collagène stromal est une liaison entre le cation et le collagène survenant seulement lorsque le pH augmente. Cette liaison est en partie réversible, et la destruction ou la lyse du collagène est donc une étape plus tardive dans les brûlures oculaires par bases, conséquence de la réaction cornéenne à la brûlure. Il est à noter que l'existence d'une membrane de Bowman est discutée chez le lapin [25]. La présence d'un œdème stromal dans les expérimentations sans lavage ou avec lavage par du sérum physiologique (fig. 8 et 9) est par contre tout à fait remarquable puisqu'il n'est pas retrouvé avec la Diphotérine® (fig. 10) (discret œdème pour l'expérimentation n° 18). L'œdème stromal est un facteur péjoratif, puisque Kubota et Fagerholm [26] ont démontré que l'importance de cet œdème initial est corrélée à l'importance de la taie cicatricielle séquelle, à l'origine de la baisse de vision. Ces auteurs l'expliquent par le fait que les lacunes stromales ainsi formées par l'œdème vont être colonisées par les kératocytes. Ceux-ci vont alors former un réseau anarchique de fibres collagènes à l'origine de la diminution de transparence de la cornée. Il faut d'ailleurs noter que les expérimentations décrites par Kubota et Fagerholm comportent toutes un lavage au sérum physiologique pendant 2 minutes suivant une brûlure par de la soude 1 N pendant 60 secondes.

CONCLUSION

Il semble que 30 minutes après une brûlure par l'ammoniaque, l'effet d'un lavage oculaire externe soit hypothétique puisque nous ne retrouvons pas d'inflexion de la courbe pH. Il faut d'ailleurs remarquer qu'après ce délai le retour au pH physiologique est quasiment atteint, ce qui est un argument supplémentaire. Par contre, il semble que l'intérêt d'un lavage oculaire à la Diphotérine® par rapport à un lavage oculaire au sérum physiologique, pendant les 10 premières minutes, suivant une brûlure oculaire à l'ammoniaque, puisse être établi sur des arguments anatomo-pathologiques : l'absence d'œdème stromal lors d'un lavage à la Diphotérine® et sa présence lors de lavage au sérum physiologique et sur des arguments biologiques : l'inflexion de la courbe pH lors d'un lavage à la Diphotérine®.

Remerciements : Laboratoire de recherche de PREVOR pour le financement de cette étude. Laboratoire de Biophysique du Pr Doly (Faculté de pharmacie de Clermont Ferrand) dans lequel cette étude a été réalisée. Laboratoire de Biochimie du Pr Gentou (Faculté de médecine de Clermont Ferrand) pour la mesure des dosages d'ammoniaque.

RÉFÉRENCES

- Gérard M, Merle H, Ayeoubou L, Richer R. Étude prospective sur les brûlures oculaires par bases en Martinique : premiers résultats sur deux ans. *J Fr Ophthalmol*, 1999;22:834-47.
- Gérard M, Lous V, Merle H, Josset P, Menerath JM, Blomet J. Étude expérimentale sur la pénétration intra-oculaire de l'ammoniaque. *J Fr Ophthalmol*, 2000. (Sous presse).
- Josset P, Pelosse B, Saxeux H. Intérêt d'une solution isotonique amphitolère dans le traitement précoce des brûlures chimiques basiques cornéocylindriques. *Bull Soc Ophthalmol Fr*, 1996;6-7:765.
- Paterson CA, Pfister RR, Levinson RA. Aqueous humor pH changes after experimental alkali burns. *Am J Ophthalmol*, 1975;79:414-9.
- Grant WM. Experimental investigation of paracentesis in the treatment of ocular ammonia burns. *Arch Ophthalmol*, 1950;44:399-404.
- Hughes Jr WF. Alkali burns of the eye. Clinical and pathological course. *Arch Ophthalmol*, 1946;36:189-214.
- Burns RR, Paterson CA. Chemical injuries: mechanisms of corneal damage and repair. In: "Beuerman RW, Croxon CE, Kaufman HE: Healing processes in the cornea. Advances in applied biotechnology series", Gulf Publ Co, Houston, 1989;1:45-58.
- Poulquén Y. Les brûlures de la cornée. *Clin Ophthalmol*, 1972;5:27-40.
- Segrist A. Konzentrierte Alkali und Säurewirkung auf Auge. *Ztschr F Augenh*, 1920;43:176-94.
- Burgher F, Blomet J, Mathieu L. Le risque chimique pour l'homme. In: « Le risque chimique et la santé au travail. Essai de toxicologie réflexive ». PREVOR, Valmondois, 1996.
- Assouline M. La cicatrisation. In: « Rigal D, L'épithélium cornéen. » Rapport de la Société Française d'Ophthalmologie, Masson, Paris, 1993, 49-55.
- Mac Culley JP. Chemical injuries. In: "Sinolin G, Thoft B A. The Cornea: scientific foundation and clinical practice, ed 2." Little Brown, Boston, 1987, 527-542.
- Hughes Jr WF. Alkali burns of the eye. Clinical and pathological course. *Arch Ophthalmol*, 1946;36:189-214.
- Ropper-Hall J. Thermal and chemical burns. *Trans Ophthalmol Soc UK*, 1965;85:634-53.
- Fini ME, Cui Tian-Yi, Mouldovan A, Grobelny D, Galardy RE, Fischer SJ. An inhibitor of the matrix metalloproteinase synthesized by rabbit corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1991;32:2997-3001.
- Malecaze F, Chollet P, Muraine M, Lesueur L, Arne JL. Cicatrisation cornéenne. *Encycl Méd Chir Ophthalmologie*, Éditions techniques, Paris, 1994, 21-020-C-20, 14 p.
- Pfister RR et al. Alkali burned collagen produces a locomotory and metabolic stimulant to neutrophils. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1987;28:295.
- Grant WM, Kern HL. Action of alkalis on the corneal stroma. *Arch Ophthalmol*, 1955;54:931-9.
- Chung JH, Fagerholm P. Stromal reaction and repair after corneal alkali wound in the rabbit: a quantitative microradiographic study. *Exp Eye Res*, 1987;45:227-37.
- Levinson R, Paterson CA, Pfister R R. Ascorbic acid prevents corneal ulceration and perforation following experimental alkali-burns. *Invest Ophthalmol*, 1976;15:986-93.
- Petroussos G, Poulquén Y. Effet de l'acide ascorbique sur l'ulcération dans les brûlures alcalines de la cornée. *Ophthalmic Res*, 1984;185-189.
- Pfister RR, Paterson CA. Additional clinical and morphological observations on the favorable effect of ascorbate in experimental ocular burns. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1977;16:478-487.
- Schrage N, Rick S, Scherer A, Reim A. Rinsing therapy in severe alkali burns of rabbit eye. *Congrès JERMCOV*, 1986.
- Falcy M, Blomet J. Évaluation de l'efficacité des premiers soins lors de projections de produits chimiques. *INRS, Document pour le médecin du travail*, 70, 2.
- Prince JH. The rabbit in eye research. Thomas Book, Springfield, 1964.
- Kubota M, Fagerholm P. Corneal alkali burn in the rabbit. Water-balance, healing and transparency. *Acta Ophthalmol*, 1931;59:635-40.