



HAL
open science

Étude rétrospective de 53 cas d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien à partir des cas pris en charge à l'EnvA entre 2017 et 2020

Caroline Miltchaliev

► To cite this version:

Caroline Miltchaliev. Étude rétrospective de 53 cas d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien à partir des cas pris en charge à l'EnvA entre 2017 et 2020. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03830725

HAL Id: dumas-03830725

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03830725v1>

Submitted on 26 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2022

**ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE 53 CAS D'ULCÈRES CORNÉENS
À COLLAGÉNASES CHEZ LE CHIEN À PARTIR DES CAS PRIS
EN CHARGE À L'ENVA ENTRE 2017 ET 2020**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE
présentée et soutenue publiquement devant
la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)
le 20 mai 2022

par

Caroline, Katia, Marie, Liliane MILTCHALIEV

sous la direction de
Sabine CHAHORY

JURY

Président du jury :	M. Henri-Jean BOULOUIS	Professeur émérite à l'EnvA
Directrice de thèse :	Mme Sabine CHAHORY	Professeur à l'EnvA
Examinatrice :	Mme Anne-Claire LAGRÉE	Maître de Conférences à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version du 8 février 2022

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Maître de conférences HDR	DPASP
M	Blot	Stephane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loic	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Fédérighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédictte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guéneç	Christelle	Maître de conférences HDR	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
M	Perrot	Sébastien	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Benckroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Constant	Fabienne	Maître de conférences	DPASP
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
Mme	Decambron	Adeline	Maître de conférences	DEPEC
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences associé	DPASP
M	Desbois	Christophe	Maître de conférences	DEPEC
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guélin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
M	Maufré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mespouhès-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Ravary-Plumioën	Bérandère	Maître de conférences	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP

Remerciements

Au Professeur Henri-Jean BOULOUIS, président du Jury de cette thèse,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance de ma thèse.
Remerciements respectueux.

Au Professeur Sabine CHAHORY,
Pour avoir accepté d'être ma directrice de thèse et pour m'avoir confié ce sujet,
Pour m'avoir encadrée et épaulée tout au long de ce travail, pour vos conseils avisés, votre disponibilité, votre patience, et votre gentillesse.
Très sincères remerciements.

Au Docteur Anne-Claire LAGRÉE,
Pour avoir accepté d'être examinatrice de mon jury de thèse.
Remerciements chaleureux.

Au Docteur Coline JONDEAU et au Docteur Matthieu BOTT,
Pour m'avoir encadrée avec une grande gentillesse lors de mes journées de travail au service d'ophtalmologie du Chuv-Ac.
Remerciements chaleureux.

Aux laboratoires TVM et Dômes Pharma,
Pour leur soutien financier ayant permis à ce projet d'aboutir.

Remerciements

A mes parents,

Pour leur soutien sans faille dans tout ce que j'entreprends, pour m'avoir conseillée et soutenue dans chacun de mes choix et pour leur amour sans limite, un immense merci, je vous aime plus que tout au monde.

A ma grand-mère Vivianne,

Pour m'avoir transmis l'amour des êtres vivants, animaux et plantes, je t'embrasse fort.

Et à mon grand-père Alain,

Pour m'avoir transmis le sens de la rigueur et de la discipline, je t'embrasse.

A ma grand-mère Liliana,

Pour s'être tendrement occupée de moi quand j'étais petite, je pense à toi chaque jour, repose en paix.

Et à mon grand-père Hristo,

Que j'aurais tant aimé connaître, pour partager avec lui son amour de la médecine et les valeurs qui lui étaient chères, repose en paix.

A ma grande tante Maria,

Pour m'avoir transmis l'amour du voyage, de la découverte mais aussi de la vie parisienne, je tiens beaucoup à toi.

A ma tante Ludmilla,

Pour avoir dédié sa vie à soigner les autres en dépit des risques pour elle-même, ton sourire restera gravé dans mon cœur, repose en paix.

A mon parrain Éric,

Pour son humour sans pareil qui adoucit toujours les repas de famille,

A tous les autres membres de ma famille,

Pour avoir cru en moi et m'avoir accompagnée dans ce rêve qui a toujours été le mien, merci.

A Charlotte, Léa et Mirabelle,

Pour nos folles années avec les dauphins, j'espère que notre amitié durera longtemps !

A Carla et Lucie,

Pour former ma famille de cœur depuis sept ans, vous êtes des femmes extraordinaires et notre amitié compte parmi les choses les plus précieuses pour moi.

A Aurélie, Samuel, Gabrielle, Ophélie, Aline, Constance et Louise,

Pour être mes plus belles rencontres en Alforie, merci d'avoir mis des paillettes dans ma vie lors de ces cinq années à l'école.

A tous mes autres amis,

Pour toutes nos aventures, nos fous-rires et à ceux à venir, merci !

Et à Maxime,

Pour tout l'amour et le bonheur que tu m'apportes depuis bientôt 5 ans, il me tarde de continuer à réaliser mes rêves et bâtir ma vie à tes côtés, je t'aime.

Table des matières

Table des matières	1
Liste des figures.....	5
Liste des tableaux	7
Liste des abréviations.....	11
Introduction	13
Première partie : étude bibliographique des ulcères cornéens à collagénases chez le chien	15
I. Anatomie, histologie et physiologie de la cornée.....	15
A. Structures oculaires associées à la cornée	15
1. <i>Structure générale de l'œil</i>	15
2. <i>Paupières</i>	16
3. <i>Membrane nictitante</i>	17
4. <i>Conjonctive</i>	18
5. <i>Appareil et film lacrymal</i>	19
B. Morphologie de la cornée	22
C. Histologie de la cornée.....	22
1. <i>Epithélium antérieur</i>	24
2. <i>Membrane basale sous-épithéliale</i>	25
3. <i>Stroma</i>	25
4. <i>Membrane de Descemet</i>	28
5. <i>Epithélium postérieur</i>	28
D. Physiologie de la cornée	29
1. <i>Métabolisme</i>	29
2. <i>Vascularisation</i>	29
3. <i>Innervation</i>	31
4. <i>Transparence</i>	34
5. <i>Turgescence</i>	35
6. <i>Réfraction cornéenne</i>	36
7. <i>Mécanismes de défense</i>	36
a) <i>Mécanismes non spécifiques</i>	36
b) <i>Mécanismes spécifiques</i>	37
c) <i>Privilège immun</i>	37
II. Présentation des ulcères cornéens	38
A. Classification des ulcères cornéens selon leur profondeur	38
1. <i>Ulcères superficiels</i>	38
2. <i>Ulcères à bords décollés</i>	39
3. <i>Ulcères stromaux</i>	40
4. <i>Descemétocèles</i>	42
5. <i>Perforation cornéenne</i>	43
B. Cicatrisation cornéenne.....	45
1. <i>Cicatrisation épithéliale</i>	45
2. <i>Cicatrisation stromale</i>	46
3. <i>Cicatrisation de la membrane de Descemet et cicatrisation endothéliale</i>	48
4. <i>Retard de la cicatrisation</i>	49
C. Etiologie des ulcères cornéens.....	49
III. Présentation des ulcères cornéens d'origine bactérienne.....	50
A. Etiologie	50

1. Flore résidente et transitoire de la cornée	50
2. Physiopathologie de la kératite bactérienne	50
3. Bactéries fréquemment isolées.....	51
a) <i>Staphylococcus</i> sp.	51
b) <i>Streptococcus</i> sp.....	53
c) <i>Pseudomonas</i> sp.	54
4. Autres micro-organismes isolés.....	54
B. Physiopathologie.....	55
1. Collagénolyse physiologique	55
2. Collagénolyse pathologique.....	56
C. Epidémiologie.....	57
D. Diagnostic	58
1. Signes fonctionnels	58
2. Signes lésionnels	58
3. Recherche d'anomalies oculaires associées à l'ulcère	58
4. Test à la fluorescéine	59
5. Examen cytologique.....	60
6. Culture bactériologique et antibiogramme	61
E. Traitement.....	62
1. Traitement médical.....	62
a) Voie d'administration des médicaments	63
b) Anti-infectieux	63
i. Antibiotiques	64
ii. Antifongiques	68
c) Cycloplégiques.....	69
d) Anti-inflammatoires	69
e) Anti-collagénases.....	70
f) Substituts lacrymaux	71
g) RGTA	71
h) Prévention des traumatismes auto-induits	72
2. Traitement chirurgical.....	72
a) Colles adhésives.....	72
b) Techniques de recouvrement.....	73
i. Recouvrement conjonctival	73
ii. Recouvrement par la troisième paupière et tarsorrhaphie latérale temporaire.....	73
c) Greffes	73
i. Greffes de conjonctive	74
ii. Greffe de cornée	75
iii. Greffe de biomatériau	76
❖ Greffe de membrane amniotique.....	77
❖ Greffe de sous-muqueuse intestinale de porc.....	78
❖ Greffe de matrice acellulaire vésicale porcine.....	79
❖ Greffe de péricarde de bovin.....	79
d) Enucléation	80
3. Nouvelles perspectives de traitement : le cross-linking	80
F. Pronostic.....	84
Seconde partie : étude rétrospective de 53 cas d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien, traités au Chuv-Ac entre 2017 et 2020	85
I. Contexte de l'étude	85
A. Les ulcères cornéens à collagénases.....	85
B. Objectifs de l'étude.....	86
II. Matériel et méthodes.....	86
A. Critères d'inclusion	86
B. Recueil des données.....	86

C. Examen ophtalmologique	87
D. Examen bactériologique	88
E. Suivi clinique des animaux	88
F. Analyse des données	89
III. Résultats	89
A. Analyse descriptive	89
1. <i>Commémoratifs</i>	89
2. <i>Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases</i>	92
3. <i>Historique avant la première consultation au Chuv-Ac</i>	93
4. <i>Examen bactériologique réalisé lors de la première consultation au Chuv-Ac</i>	94
5. <i>Présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac</i>	98
6. <i>Traitement</i>	101
7. <i>Suivi clinique</i>	108
B. Analyse statistique	109
1. <i>Commémoratifs</i>	109
2. <i>Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases</i>	110
3. <i>Historique avant la première consultation au Chuv-Ac</i>	111
4. <i>Analyse bactériologique effectuée lors de la première consultation au Chuv-Ac</i>	111
5. <i>Présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac</i>	113
6. <i>Traitement</i>	113
IV. Discussion	115
A. <i>Commémoratifs</i>	115
B. <i>Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères cornéens à collagénases</i>	116
C. <i>Examen bactériologique réalisé lors de la première consultation au Chuv-Ac</i>	117
D. <i>Présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac</i>	123
E. <i>Traitement</i>	124
F. <i>Limites et perspectives de l'étude</i>	127
Conclusion	129
Liste des références bibliographiques	131
Annexes	135

Liste des figures

Figure 1. Schéma des trois tuniques du globe oculaire (Gelatt, 2021)	15
Figure 2. Coupe histologique d'un œil de chien dont le corps vitré a été retiré, coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, observation au grossissement moyen, E. Reyes-Gomez, d'après unité d'histologie de l'ENVA	16
Figure 3. Schéma de l'anatomie des paupières (Sanchez, 2014)	17
Figure 4. Schéma de l'anatomie de la membrane et de la glande nictitante (Sanchez, 2014)	18
Figure 5. Schéma de l'anatomie de la conjonctive (Sanchez, 2014)	19
Figure 6. Schéma de la structure du film lacrymal (Gelatt, 2021)	20
Figure 7. Schéma des glandes de l'appareil lacrymal (Stades, 2007a)	20
Figure 8. Schéma de l'appareil nasolacrymal du chien (Sanchez, 2014)	21
Figure 9. Photographies de cornées saines, chiens de berger croisés, C. Miltchaliev	22
Figure 10. Schéma de la structure générale de la cornée (Gelatt, 2021)	23
Figure 11. Coupe histologique montrant la structure générale de la cornée d'un chien, HE, grossissement moyen, E. Reyes-Gomez, d'après unité histologie du Biopôle	23
Figure 12. Schéma de l'épithélium antérieur cornéen (Gelatt, 2021)	24
Figure 13. Coupe histologique de l'épithélium antérieur, chien, HE, grossissement moyen, E. Reyes-Gomez, d'après unité d'histologie du Biopôle	25
Figure 14. Schéma de l'organisation des fibres de collagène dans le stroma cornéen (Gelatt, 2021)	26
Figure 15. Coupe histologique du stroma cornéen, chien, HE, fort grossissement, (d'après Department of ophthalmology and visual sciences de l'université du Wisconsin-Madison, s. d.) ...	27
Figure 16. Stroma cornéen, chien, microscope électronique à transmission (d'après Ross <i>et al.</i> , 2015)	27
Figure 17. Membrane de Descemet, chien, HE à gauche et APS à droite, fort grossissement (UW-Madison Department of Ophthalmology and Visual Sciences of ophthalmology and visual sciences of, 2021)	28
Figure 18. Schéma des étapes de la néovascularisation cornéenne (Maggs, 2015a)	31
Figure 19. Néovascularisation cornéenne superficielle d'un ulcère à bords décollés (gauche) et néovascularisation profonde d'une perforation cornéenne ponctiforme avec une uvéite antérieure associée (droite) chez un chien de race carlin (gauche) et bouledogue français (droite) présentant un ulcère cornéen, unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac	31
Figure 20. Schéma de l'innervation du limbe et de la cornée (Gelatt, 2021)	33
Figure 21. Schéma de l'innervation cornéenne (Gelatt, 2021)	34
Figure 22. Schéma illustrant le mécanisme de déturgescence cornéenne (Martin, 2005)	35
Figure 23. Ulcère cornéen à collagénases et œdème cornéen associé, chez un chien Berger allemand (gauche) et perforation cornéenne et œdème cornéen associé (droite), Chien un chien Bulldog anglais, unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac	36
Figure 24. Schéma d'un ulcère superficiel (Faure, 2018)	39
Figure 25. Ulcère cornéen superficiel chez un chien, unité ophtalmologie Chuv-Ac	39
Figure 26. Schéma d'un ulcère à bords décollés (Faure, 2018)	40
Figure 27. Ulcère cornéen à bords décollés chez un chien, unité ophtalmologie Chuv-Ac	40
Figure 28. Schéma d'un ulcère stromal moyen (Faure, 2018)	41
Figure 29. Ulcère stromal moyen, chez un chien, unité ophtalmologie Chuv-Ac	42
Figure 30. Schéma d'un descemétocèle (Faure, 2018)	43

Figure 31. Desmécète chez un chat (Rodriguez <i>et al.</i> , 2021).....	43
Figure 32. Schémas des complications potentielles de l'ulcère cornéen profond (Maggs, 2015a) ..	44
Figure 33. Perforation cornéenne sur un ulcère à collagénases, iridocèle et bouchon de fibrine, chez un chien croisé Labrador, unité ophtalmologie Chuv-Ac.....	44
Figure 34. Schéma d'un staphylome irien (Faure, 2018)	45
Figure 35. Schéma du processus de cicatrisation épithélial (Turner, 2008)	46
Figure 36. Schéma du processus de cicatrisation stromal lors de lésion superficielle (Chaudieu, 2004).....	47
Figure 37. Schéma du processus de cicatrisation stromal lors de lésion profonde (Chaudieu, 2004)	48
Figure 38. Schéma de l'action des toxines produites par <i>S. pseudintermedius</i> sur les cellules hôtes (Maali <i>et al.</i> , 2018).....	52
Figure 39. Ulcères cornéens à collagénases, Jack Russel (gauche) et chien croisé (droite), unité ophtalmologie du Chuv-Ac	56
Figure 40. Schéma du processus de développement d'un ulcère à collagénases (Turner, 2008) ..	57
Figure 41. Mise en évidence d'ulcères cornéens par le test à la fluorescéine, unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac	59
Figure 42. Spatule de Kimura, cytobrosse en nylon et lame de scalpel stérile pouvant être utilisées pour réaliser le prélèvement cornéen en vue de l'analyse cytologique (McLellan, 2014)	60
Figure 43. Ecouvillonnage conjonctival à l'aide de la cytobrosse en nylon stérile (gauche) et élément du prélèvement (droite), unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac	61
Figure 44. Traitement d'un ulcère à collagénases par greffe conjonctivale, Bulldog anglais, aspect avant la greffe (a), 7 jours après (b) et 3 mois après (c), unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac.....	75
Figure 45. Traitement par greffe de cornée congelée d'une descemécète, Bulldog anglais, aspect avant la greffe (a), immédiatement après (b), 2 semaines après (c) et 2 mois après (d) (Hansen <i>et Guandalini</i> , 1999).....	76
Figure 46. Traitement par greffe de membrane amniotique équine d'un ulcère à collagénases, Bichon à poils frisés, aspect avant la greffe (a), 4 semaines après (b), 5 semaines après (c), 6 semaines après (d) et 10 semaines après (e), unité ophtalmologie du Chuv-Ac.....	78
Figure 47. Traitement par greffe de BIOSIS d'une descemécète, Pékinois : aspect avant la chirurgie (a), 72 heures (b), 10 jours après (c) et 1 mois et demi après (d), unité ophtalmologie du Chuv-Ac	79
Figure 48. Traitement par greffe de péricarde de bovin (Tutopatch ®) d'un ulcère à collagénases, chien : aspect pendant la chirurgie (a), 1 mois après (b) et 3 mois après (c) (Dulaurent <i>et al.</i> , 2014)	80
Figure 49. Schéma de principe de la procédure du <i>cross-linking</i> (d'après Pot <i>et al.</i> , 2014)	81
Figure 50. Installation pour la réalisation d'un CXL chez un carlin présentant un ulcère à collagénases, positionnement de la source d'irradiation (a), application de la riboflavine (b) et fluorescence de la riboflavine lors de l'irradiation (c) (Pot <i>et al.</i> , 2014)	81
Figure 51. Traitement par CXL d'un ulcère à collagénases, Carlin, aspect avant le CXL (a), 24 heures après, 72 heures après, 7 jours après et 3 semaines après, unité ophtalmologie du Chuv-Ac.....	82
Figure 52. Différents groupes d'ulcères cornéens à collagénases de l'étude selon les résultats de la culture bactériologique.....	96

Liste des tableaux

Tableau 1. Sécrétions des glandes lacrymales chez le chien (Sanchez, 2014)	21
Tableau 2. Antibiotiques efficaces sur les germes les plus fréquemment isolés lors d'ulcère cornéens chez le chien (Maggs, 2015b ; Ekapopphan <i>et al.</i> , 2018 ; Suter <i>et al.</i> , 2018)	68
Tableau 3. Anti-collagénases disponibles pour le traitement des ulcères à collagénases (Whitley et Hamor, 2021)	71
Tableau 4. Bilan des options thérapeutiques pour chaque type d'ulcère cornéen.....	84
Tableau 5. Répartition des races parmi les 52 chiens de l'étude	90
Tableau 6. Répartition des statuts reproducteurs parmi les 52 chiens de l'étude.....	90
Tableau 7. Moyenne, médiane et écart-type de l'âge des 52 chiens inclus dans l'étude.....	91
Tableau 8. Commémoratifs des chiens présentant un ulcère à collagénases pour lesquels la culture bactériologique est positive et ceux des chiens dont la culture est négative	91
Tableau 9. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases parmi les 52 chiens de l'étude.....	92
Tableau 10. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases chez les chiens ayant fourni un résultat positif à la culture et chez ceux ayant fourni un résultat négatif.....	93
Tableau 11. Moyenne, médiane et écart-type de la durée d'évolution de l'atteinte cornéenne avant la présentation de chaque chien au Chuv-Ac	94
Tableau 12. Traitements administrés aux chiens avant la première consultation au Chuv-Ac	94
Tableau 13. Souches bactériennes mises en évidence par l'analyse bactériologique des prélèvements effectués sur les 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude	95
Tableau 14. Différents groupes d'ulcères cornéens à collagénases à culture bactériologique positive de l'étude selon les résultats de la culture bactériologique	97
Tableau 15. Nature de l'infection bactérienne des 32 ulcères cornéens à collagénases pour lesquels la culture bactériologique a donné un résultat positif selon le morphotype du chien	97
Tableau 16. Résistances aux antibiotiques des trois espèces bactériennes le plus fréquemment isolées des ulcères cornéens à collagénases de l'étude.....	98
Tableau 17. Caractéristiques permettant d'établir le grade de sévérité de chacun des 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude.....	99
Tableau 18. Moyenne, médiane et écart-type des grades de sévérité des 42 ulcères cornéens à collagénases de l'étude pour lesquels il a pu être déterminé	100
Tableau 19. Grades de sévérité moyens et médians et écart-type des ulcères à collagénases à culture bactériologique positive de l'étude pour lesquels le grade de sévérité a pu être déterminé	100
Tableau 20. Type de traitement mis en place sur les 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude à l'issue de la consultation initiale au Chuv-Ac.....	101
Tableau 21. Type de traitement mis en place sur les 32 ulcères cornéens à collagénases de l'étude dont la culture bactériologique a donné un résultat positif selon la nature de l'infection bactérienne	102
Tableau 22. Type de traitement médical mis en place sur les 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude	102
Tableau 23. Antibiotique administré en première intention par voie topique pour traiter les 53 ulcères de l'étude	103

Tableau 24. Antibiotique de seconde intention administré par voie topique pour traiter les 30 ulcères de l'étude pour lesquels un changement d'antibiothérapie locale a été effectué.....	103
Tableau 25. Choix du second antibiotique administré par voie locale en fonction du premier antibiotique administré pour les 30 ulcères de l'étude pour lesquels un changement d'antibiothérapie locale a été effectué	104
Tableau 26. Molécules autres que les antibiotiques utilisées dans le traitement médical des ulcères cornéens de l'étude	105
Tableau 27. Résultat du traitement médical pour les 29 ulcères cornéens à collagénases de l'étude n'ayant pas fait l'objet d'une chirurgie immédiate.....	106
Tableau 28. Résultat du traitement médical des ulcères cornéens à collagénases de l'étude dont la culture bactériologique était positive et n'ayant pas été pris en charge par une chirurgie immédiate selon la nature de l'infection bactérienne.....	107
Tableau 29. Techniques chirurgicales employées pour traiter les 35 ulcères de l'étude pris en charge par une chirurgie immédiate ou bien en échec au traitement médical (seul ou à son association au CXL)	107
Tableau 30. Techniques chirurgicales employées pour traiter les 22 ulcères dont la culture bactériologique était positive pris en charge par une chirurgie immédiate ou bien en échec au traitement médical (seul ou à son association au CXL) selon la nature de l'infection bactérienne.....	108
Tableau 31. Moyenne, médiane et écart-type du délai entre la consultation initiale au Chuv-Ac et le succès du traitement médical, seul ou associé au CXL, ou la prise en charge chirurgicale (jours)	109
Tableau 32. Commémoratifs des chiens présentant un ulcère à collagénases dont le traitement médical a réussi et ceux des chiens dont le traitement médical a échoué	110
Tableau 33. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué	111
Tableau 34. Eléments antérieurs à la première consultation au Chuv-Ac chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué	111
Tableau 35. Résultats de l'analyse bactériologique chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué	112
Tableau 36. Nature de l'infection bactérienne des ulcères à culture bactériologique positive dont le traitement médical a réussi et de ceux dont le traitement médical a échoué.....	112
Tableau 37. Eléments de présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué	113
Tableau 38. Eléments du traitement médical mis en place chez les chiens n'ayant pas été pris en charge par une chirurgie immédiate ni perdus de vue au cours de la prise en charge au Chuv-Ac chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué	114
Tableau 39. Potentiels facteurs prédisposant au développement d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien.....	117
Tableau 40. Résultats de la culture bactériologique effectuée sur des ulcères collagénases	119
Tableau 41. Espèces bactériennes isolées lors d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien	120
Tableau 42. Résistances aux antibiotiques des souches de <i>Staphylococcus</i> sp. isolées lors d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien	121
Tableau 43. Résistances aux antibiotiques des souches de <i>Streptococcus</i> sp. isolées lors d'ulcères à collagénases chez le chien.....	122

Tableau 44. Résistances aux antibiotiques des souches de <i>Pseudomonas sp.</i> isolées lors d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien	123
Tableau 45. Grades de sévérité moyens des ulcères cornéens à collagénases	124
Tableau 46. Pourcentage de succès suite au traitement médical d'ulcères cornéens à collagénases dans différentes études.....	125

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
AIS : Anti-inflammatoire stéroïdien
AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien
AMT : *Amniotic membrane transplantation* - Greffe de membrane amniotique
APS : Acide périodique schiff
ARN : Acide ribonucléique
ATP : Adénosine triphosphate
CALT : *Conjunctival-Associated Lymphoid Tissue* – Tissus lymphoïde associé à la conjonctive
Chuv-Ac : Centre hospitalier universitaire vétérinaire d'Alfort pour Animaux de compagnie
CO₂ : Dioxyde de carbone
CoPS : Staphylocoque à coagulase positive
CoNS : Staphylocoque à coagulase négative
CPA : Cellule présentatrice d'antigènes
CXL : *Cross-Linking*
EALT : *Eye-Associated Lymphoid Tissue* – Tissus lymphoïde associé à l'œil
ECVO : *European College of Veterinary Ophthalmologists* - Collège Européen des Ophtalmologues Vétérinaires
EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique
EGF : *Epidermal growth factor* - Facteur de croissance épidermique
HE : Hématoxyline et éosine
FGF : *Fibroblast growth factor* - Facteurs de croissance des fibroblastes
GAG : Glycosaminoglycane
GN : Granulocyte neutrophile
HCO₃⁻ : Bicarbonates
IC95 : Intervalle de confiance à 95 %
Ig : Immunoglobuline
IL : Interleukine
Jonction GAP : Jonction communicante
KCS : Kératoconjonctivite sèche
KGF : *Keratinocyte Growth Factor* - Facteur de croissance des kératinocytes
LDALT : *Lacrimal-Drainage-Associated Lymphoid Tissue* – Tissus lymphoïde associés aux voies lacrymales de drainage
IL-1 : Interleukine 1
MEC : Matrice extracellulaire
MGG : May-Grünwald Giemsa
MMP : Métalloprotéases matricielles
MRSP : *Methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius* - *Staphylococcus pseudintermedius* résistants à la méticilline
NAC : N-acétylcystéine
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NPPc : *Non professional phagocytory cells* - Cellules phagocytaires non professionnelles
O₂ : Dioxygène
OR : Odds ratio
PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor* - Facteur de croissance dérivé des plaquettes
PSM : *Phenol soluble modulins* - Modulines solubles dans le phénol
RGTA : *Regenerating agent* - Carboxyméthylglucose sulfate
SCCED : *Spontaneous chronic corneal epithelial defect* - Erosion cornéenne épithéliale chronique spontanée
SIS : Sous-muqueuse de l'intestin grêle de porc
TLR : Récepteurs cellulaires de type toll
TGF : *Transforming growth factor* - Facteurs de croissance transformants

TIMP : *Tissue inhibitor of metalloproteinases* - Inhibiteurs tissulaires des MMP

UV-A : Ultra-violets A

VEGF : *Vascular endothelial growth factor* - Facteur de croissance vasculaire et endothélial

Introduction

La cornée est la partie antérieure de la tunique fibreuse de l'œil. Transparente, elle est essentielle à la vision. Parmi les différentes affections pouvant l'impacter, la kératite est une inflammation qui peut, dans certains cas, provoquer un ulcère. Les ulcères cornéens correspondent à une perte, plus ou moins importante, de tissu cornéen. Il s'agit d'une pathologie fréquente en ophtalmologie vétérinaire, notamment chez le chien. Ces ulcères sont souvent classés selon leur profondeur et on distingue notamment les ulcères superficiels et stromaux, des descémétocèles et perforations cornéennes. Néanmoins, ils peuvent aussi être classés selon leurs complications et on distingue ainsi les ulcères simples des ulcères compliqués, caractérisés, entre autres, par une infection. Les ulcères à collagénases sont des ulcères compliqués caractérisés par la dissolution rapide du stroma. Ce processus, nommé kératomalacie, donne un aspect blanchâtre et gélatineux à la cornée. Ces ulcères se développent lors d'un déséquilibre entre l'activité des enzymes protéolytiques endogènes et/ou exogènes et celle de leurs inhibiteurs. Ils sont souvent associés à une infection bactérienne ou parfois mycosique. Il s'agit toujours d'urgences thérapeutiques puisqu'ils peuvent évoluer rapidement vers la perforation. Si une prise en charge médicale peut être tentée en première intention sur les atteintes les moins sévères, en l'absence d'amélioration rapide ou si la lésion est trop sévère à l'admission, une prise en charge chirurgicale est indiquée. Dans tous les cas, le pronostic est réservé.

Après l'étude bibliographique des ulcères à collagénases, ce travail de thèse présentera une étude rétrospective menée sur les chiens atteints d'ulcères à collagénases pris en charge au Chuv-Ac (centre hospitalier universitaire vétérinaire d'Alfort) entre Janvier 2017 et Décembre 2020. Les principaux objectifs de cette étude étaient notamment de comparer l'évolution clinique des chiens présentant des ulcères à collagénases pour lesquels une bactérie avait été identifiée de celle des chiens pour lesquels aucune bactérie ne l'avait été, de rechercher une éventuelle corrélation entre le morphotype du chien et la nature de la bactérie isolée, de rechercher une possible corrélation entre la bactérie isolée et l'évolution clinique, et enfin de mettre en évidence d'éventuels facteurs de risques d'ulcères à collagénases d'origine bactérienne.

Première partie : étude bibliographique des ulcères cornéens à collagénases chez le chien

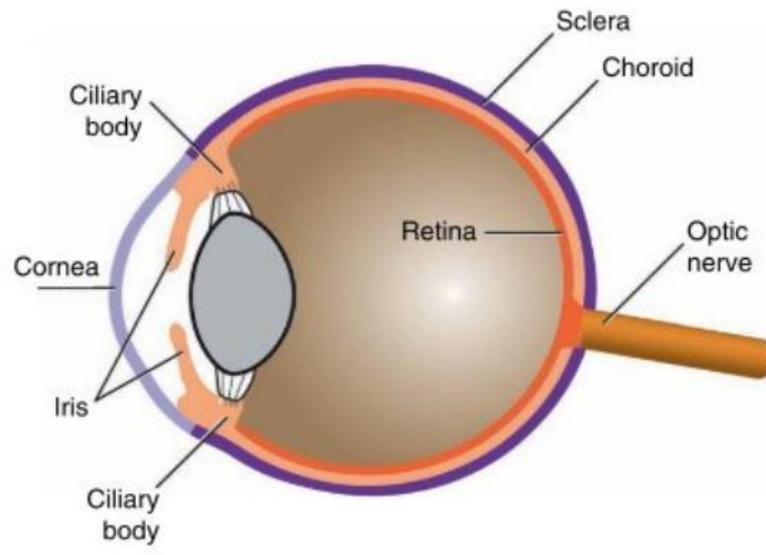
I. Anatomie, histologie et physiologie de la cornée

A. Structures oculaires associées à la cornée

1. Structure générale de l'œil

Comme l'illustre la première figure, l'œil est composé de trois tuniques : la tunique fibreuse superficielle, la tunique vasculaire intermédiaire et la tunique nerveuse, interne. La tunique fibreuse est composée de deux parties représentées sur la figure 2 : la sclère, opaque, postérieure, et la cornée, transparente, antérieure. Cette tunique donne sa forme à l'œil, protège les structures intraoculaires et permet la pénétration des rayons lumineux dans le globe (Murphy *et al.*, 2013).

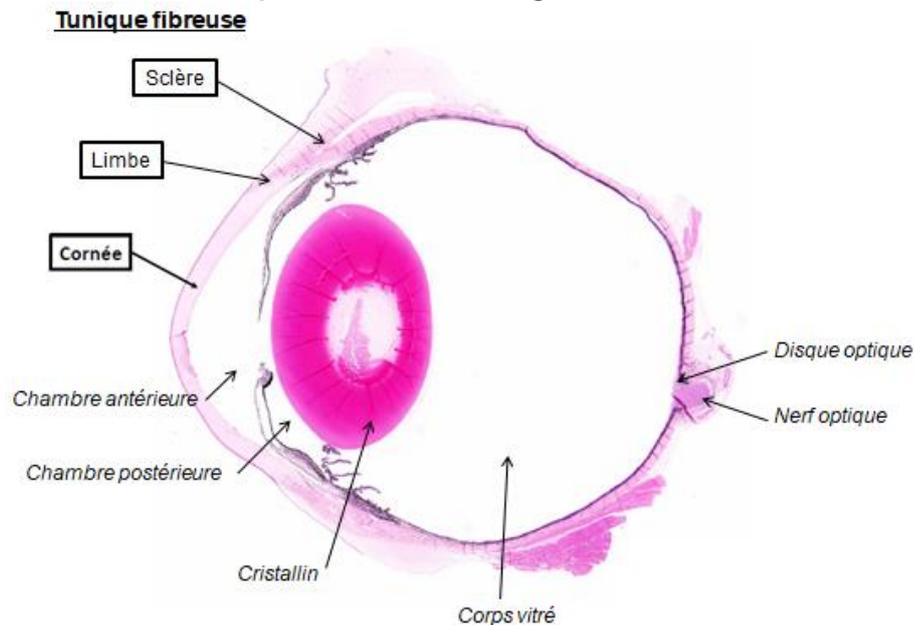
Figure 1. Schéma des trois tuniques du globe oculaire (Gelatt, 2021)



Les trois tuniques du globe oculaire sont :

- la tunique fibreuse (violet clair et violet foncé) composée de la cornée et de la sclère
- l'uvée (orange clair) composée de l'iris, du corps ciliaire et de la choroïde
- la tunique nerveuse (orange foncé) composée de la rétine et du nerf optique

Figure 2. Coupe histologique d'un œil de chien dont le corps vitré a été retiré, coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, observation au grossissement moyen, E. Reyes-Gomez, d'après unité d'histologie de l'ENVA



La tunique fibreuse est la tunique la plus externe du globe oculaire. Elle est composée de la sclère et de la cornée dont la frontière se situe au niveau du limbe.

2. Paupières

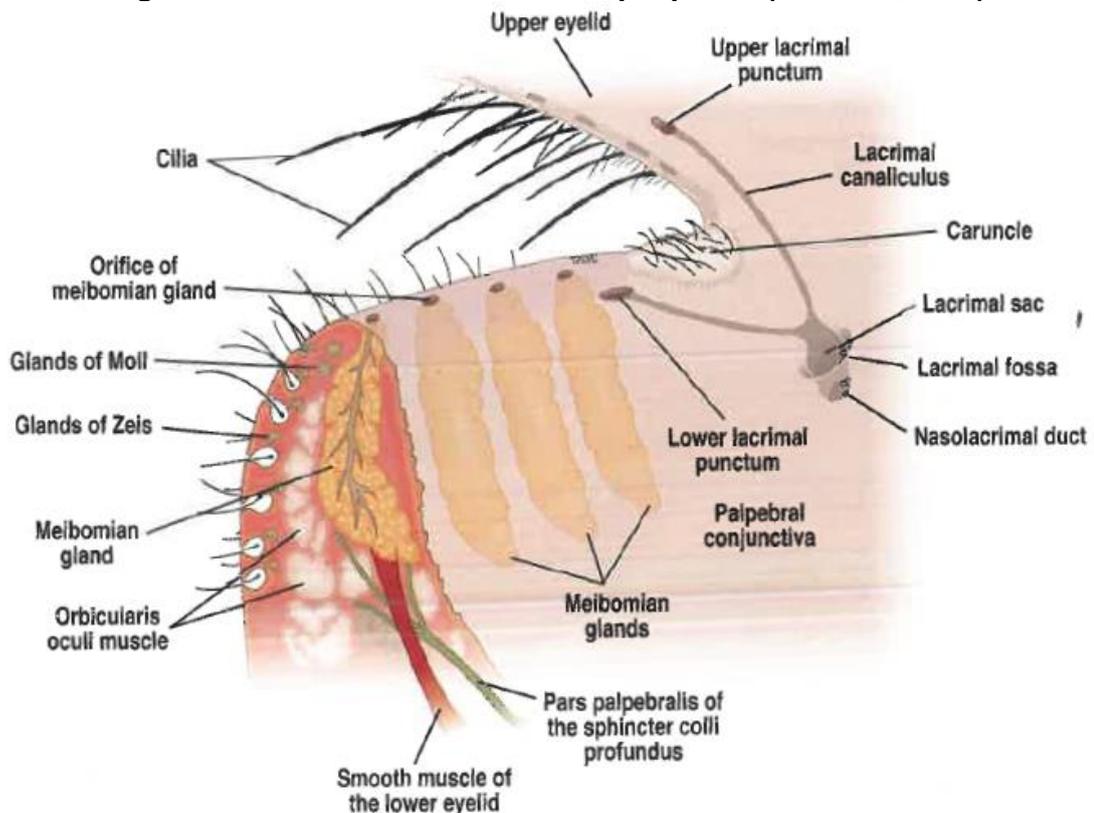
L'œil est protégé par deux paupières : la paupière inférieure et la paupière supérieure dont l'anatomie est décrite par la figure 3. Ce sont des replis cutanéomuqueux formés de trois couches : la peau en surface, une couche musculaire intermédiaire et la conjonctive palpébrale en profondeur. Les deux paupières se rejoignent au niveau des canthi médial et latéral. La fente palpébrale est l'espace délimité par le bord libre supérieur et inférieur des paupières. Elle est généralement en forme d'amande mais cela varie selon les races. Le bord libre de la paupière supérieure porte deux à quatre rangées de cils alors que le bord libre de la paupière inférieure est glabre. Les paupières contiennent des glandes lacrymales (Turner, 2008).

L'ouverture et la fermeture des paupières sont contrôlées par deux groupes de muscles antagonistes. Leur fermeture résulte de la contraction du muscle orbiculaire palpébral qui est innervé par la branche palpébrale du nerf auriculo-palpébral issu du nerf facial (nerf VII). Chez le chien, la paupière supérieure étant la plus mobile, elle recouvre davantage la cornée lors du clignement. Leur ouverture résulte quant à elle en partie du relâchement du muscle précédent. Cependant, elle nécessite aussi la contraction du muscle releveur de la paupière supérieure qui est innervé par le nerf oculomoteur (nerf III). Enfin, la contraction d'autres muscles, comme la partie palpébrale du muscle sphincter profond de l'œil et le muscle de Müller, participe, dans une moindre mesure, à l'ouverture des paupières (Turner, 2008).

L'innervation sensitive des paupières est assurée par des branches du nerf trijumeau (nerf V). La douleur oculaire provoque un blépharospasme et le maintien de la contraction serrée du muscle orbiculaire des paupières (Turner, 2008).

Les paupières sont des barrières mécaniques qui protègent l'œil des traumatismes externes. Elles contrôlent également l'entrée de la lumière dans le globe et participent à l'étalement et au drainage du film lacrymal à la surface de la cornée (Sanchez, 2014).

Figure 3. Schéma de l'anatomie des paupières (Sanchez, 2014)



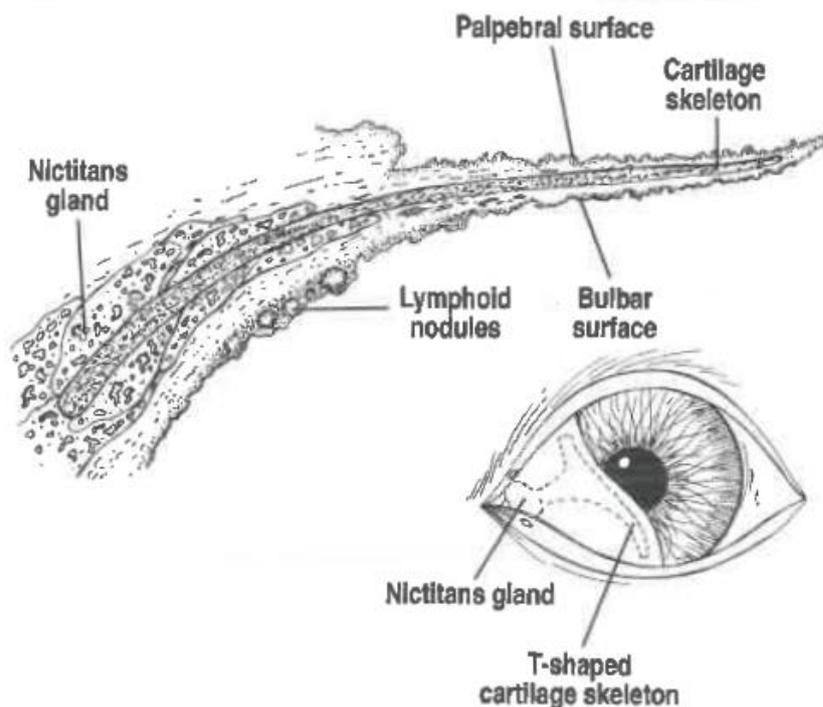
Le globe oculaire du chien est protégé par deux paupières : une paupière supérieure et une paupière inférieure, se rejoignant au niveau des canthi médial et latéral et définissant l'ouverture de la fente palpébrale. Ces paupières abritent les glandes lacrymales.

3. Membrane nictitante

La membrane nictitante est aussi appelée troisième paupière. Comme le montre la figure 4, il s'agit d'un repli conjonctival provenant du canthus médial qui recouvre la surface antérieure du globe. Son bord libre a une largeur de quatre à cinq millimètres et est généralement pigmenté chez le chien. Elle se compose d'un cartilage hyalin en forme de T, entouré d'un tissu conjonctif fibreux, lui-même recouvert par l'épithélium conjonctival. La membrane nictitante comporte une face en contact avec la conjonctive palpébrale et une face en contact avec la conjonctive bulbaire. Sur sa face bulbaire, l'épithélium conjonctival comporte des agrégats lymphoïdes et des cellules caliciformes. Sur ses deux faces, des plasmocytes sécréteurs d'IgA (immunoglobuline A) sont présents. Chez le chien, la membrane nictitante est dépourvue de muscles. Ses mouvements sont donc passifs. Elle fait protrusion lorsque le globe se rétracte dans l'orbite, ce qui signe dans certains cas une douleur oculaire. Une fonte des tissus rétrobulbaires ou une réduction de la taille du globe sont d'autres causes de sa protrusion (Turner, 2008).

La membrane nictitante est une barrière mécanique qui protège le globe lorsqu'elle fait protrusion. Elle participe aussi à l'étalement du film lacrymal et à l'élimination des débris. La glande nictitante se situe à la base du cartilage hyalin auquel elle est reliée par un tissu conjonctif lâche. Elle produit un tiers de la phase aqueuse du film lacrymal (Sanchez, 2014).

Figure 4. Schéma de l'anatomie de la membrane et de la glande nictitante (Sanchez, 2014)



Le globe est protégé par une troisième paupière nommée membrane nictitante, repli conjonctival soutenu par une partie cartilagineuse.

4. Conjonctive

La conjonctive est la muqueuse qui unit les paupières au globe oculaire. Elle se compose de deux parties représentées sur la figure 5 : la conjonctive palpébrale qui tapisse la face interne des paupières et la conjonctive bulbaire qui recouvre la partie antérieure de la sclère. Ces deux conjonctives sont en continuité au niveau des fornix conjonctivaux inférieur et supérieur. En effet, la conjonctive palpébrale se réfléchit au niveau des fornix et devient la conjonctive bulbaire. La conjonctive palpébrale est très adhérente aux paupières alors que la conjonctive bulbaire est moins adhérente au globe sous-jacent, sauf au niveau du limbe où elle s'attache fermement à une capsule fibreuse, la capsule de Ténon. Cette différence permet le libre mouvement du globe sous les paupières (Turner, 2008 ; Maggs, 2015a).

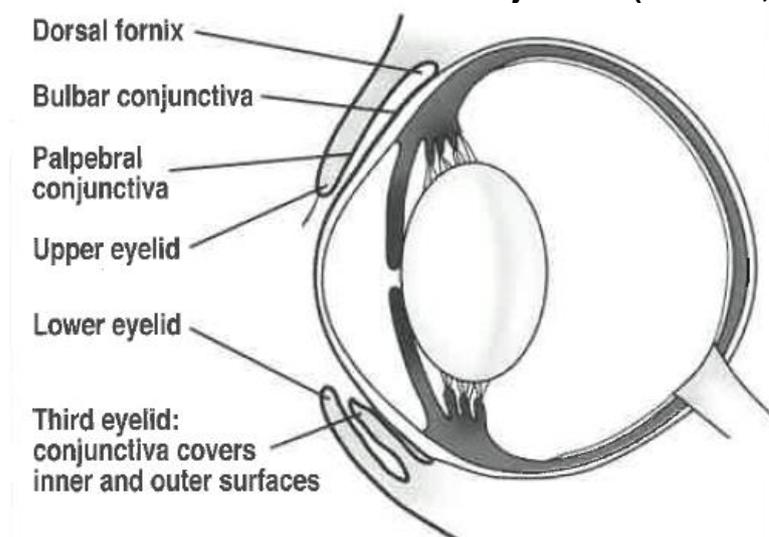
L'épithélium conjonctival est un épithélium pluristratifié, non kératinisé, composé de cellules squameuses (cellules des conjonctives palpébrales et bulbaires) à cubiques (cellules des fornix) possédant des microvillosités. Ces dernières constituent des points d'ancrage pour la composante mucinique du film lacrymal. Le stroma conjonctival contient un tissu lymphoïde nommé CALT (*Conjunctial-Associated Lymphoid tissue* – Tissu lymphoïde associé à la conjonctive) qui associe un tissu diffus et des agrégats lymphoïdes (Turner, 2008).

Les parties superficielles et profondes de la conjonctive sont vascularisées et innervées par la branche ophtalmique du nerf trijumeau (nerf V). Les vaisseaux conjonctivaux sont superficiels, longs, arborisés et rouge vif contrairement aux vaisseaux scléaux qui sont plus profonds, rectilignes et rouge foncé (Turner, 2008).

La conjonctive prévient la dessiccation cornéenne, améliore les mouvements des paupières et du globe et forme une barrière contre les corps étrangers et les micro-organismes pathogènes (Sanchez, 2014).

Le sac conjonctival est l'espace formé entre les paupières et le globe. Il est souligné par la conjonctive. Il héberge une flore bactérienne commensale chez tous les chiens. Les bactéries les plus fréquemment isolées sont des bactéries gram positives comme *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp. et *Corynebacterium* sp.. Cependant, cette flore varie selon les races et le climat sous lequel les chiens vivent (Turner, 2008).

Figure 5. Schéma de l'anatomie de la conjonctive (Sanchez, 2014)



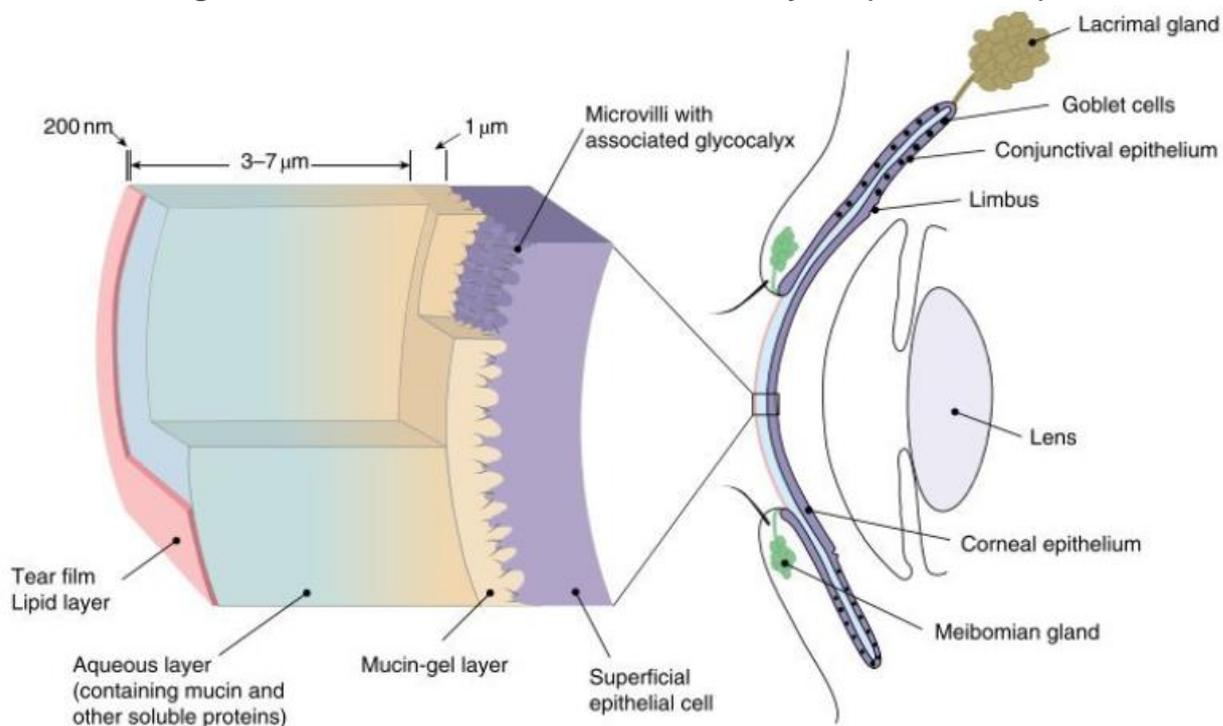
Les paupières sont unies au globe oculaire par une muqueuse : la conjonctive. Celle-ci est formée de deux secteurs anatomiques : la conjonctive palpébrale et la conjonctive bulbaire.

5. Appareil et film lacrymal

Le film lacrymal maintient l'intégrité et le fonctionnement normal de l'œil. Son pH moyen est de 7,5 chez le chien. Il est formé de trois couches représentées sur la figure 6 (Turner, 2008) :

- La couche lipidique est la plus superficielle. Elle contient du cholestérol, des cérides, des lipides polaires et neutres, des triglycérides et des acides gras oméga-hydroxyliques. Elle maintient le film lacrymal en place et limite l'évaporation de la phase aqueuse.
- La couche aqueuse est intermédiaire. Elle contient 98% d'eau. Les 2% restants contiennent des électrolytes, du glucose, de l'urée, des mucines, des glycoprotéines et des protéines. Parmi les protéines, certaines possèdent des propriétés antimicrobiennes qui peuvent être : non spécifiques comme le lysozyme, la lactoferrine, le complément et l' α -lysine ; ou spécifiques comme les immunoglobulines (principalement IgA mais aussi IgG et IgM). D'autres protéines sont aussi présentes dans la phase aqueuse : l'albumine, la lipocaline, l'EGF (*Epidermal growth factor* - Facteur de croissance épidermique), les TGF (*Transforming growth factor* - Facteurs de croissance transformants) et des interleukines (IL). La phase aqueuse lubrifie la cornée, participe à sa nutrition et possède des propriétés anti-infectieuses. Sa sécrétion est évaluée par le test de Schirmer.
- La couche mucinique est la plus profonde. Elle contient des mucines qui sont des glycoprotéines fortement glycosylées et hydrophiles. Les mucines peuvent être libres dans le film lacrymal. Dans ce cas, elles favorisent son adhésion à la cornée, lubrifient la cornée et aident à éliminer les débris. Les mucines peuvent aussi être fixées aux micropilli des cellules épithéliales cornéennes. Elles forment alors un glycocalyx qui empêche les pathogènes de pénétrer la cornée.

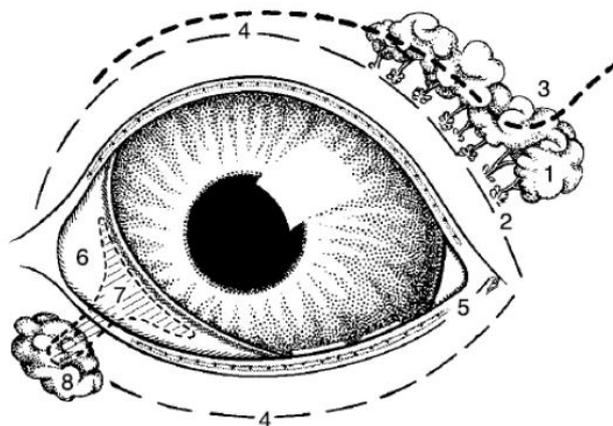
Figure 6. Schéma de la structure du film lacrymal (Gelatt, 2021)



Le film lacrymal est composé de trois couches distinctes : une couche mucineuse en profondeur, accolée à la surface épithéliale ; une couche aqueuse épaisse en position intermédiaire qui contient des mucines et d'autres protéines solubles ; et une fine couche lipidique superficielle.

Comme le montre la figure 8, l'appareil lacrymal se compose d'un système sécréteur et d'un système excréteur, complétés par le système d'étalement. Le système sécréteur se compose de plusieurs glandes : la glande lacrymale, la glande nictitante, les glandes de Meibomius et les cellules mucipares conjonctivales représentées sur la figure 7. Le tableau 1 décrit la phase du film lacrymal produite par chacune de ces glandes (Turner, 2008).

Figure 7. Schéma des glandes de l'appareil lacrymal (Stades, 2007a)



(1) Glande lacrymale principale ; (2) Glandes lacrymales accessoires ; (3) Processus zygomatique de l'os frontal ; (4) Fornix conjonctival ; (5) Glandes de Meibomius ; (6) Membrane nictitante ; (7) Cartilage de la membrane nictitante ; (8) Glande nictitante

Le film lacrymal est constitué de trois phases : lipidique, aqueuse et mucinique. Chaque glande lacrymale produit une phase différente du film lacrymal.

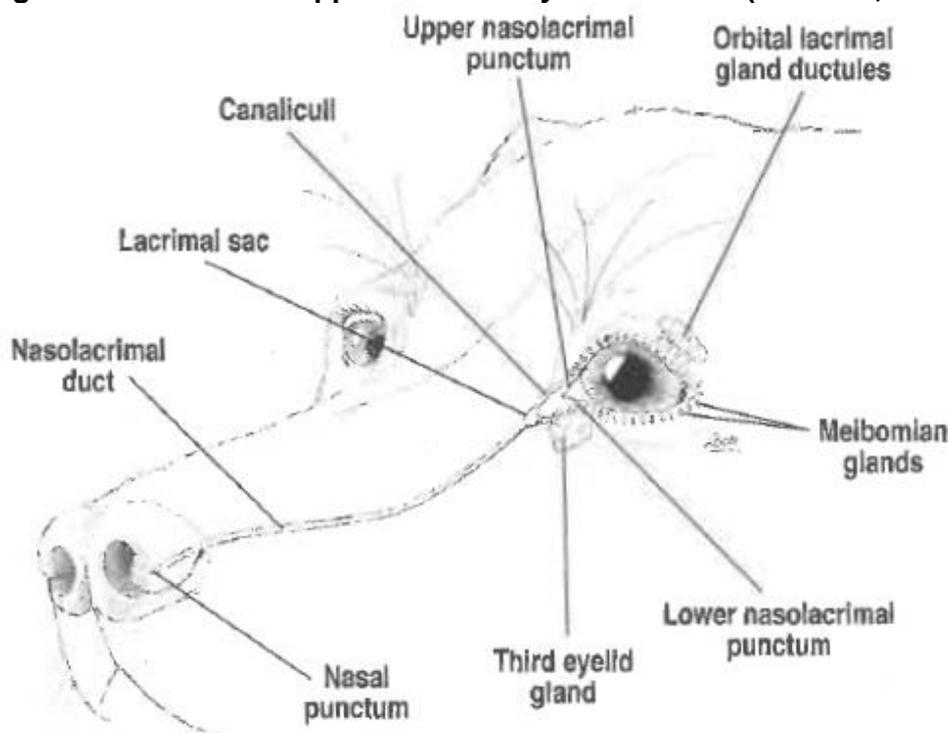
Tableau 1. Sécrétions des glandes lacrymales chez le chien (Sanchez, 2014)

Glande	Localisation	Sécrétion
Glandes de Meibomius	Dans la conjonctive palpébrale, le long du bord libre des paupières	Phase lipidique
Glande lacrymale principale	Dorso-latérale au globe, en dessous du ligament orbitaire	2/3 de la phase aqueuse
Glande nictitante	A la base de la membrane nictitante	1/3 de la phase aqueuse
Glandes mucipares	Diffuses dans la conjonctive et dans la glande nictitante	Phase mucinique

L'étalement du film lacrymal en une fine couche uniforme sur la cornée est permis par le clignement des paupières. Toute paralysie du nerf facial provoque alors un défaut d'étalement et donc une kératoconjonctivite sèche (KCS). La membrane nictitante participe aussi à cet étalement (Turner, 2008).

Le système excréteur assure l'élimination de l'excédent du film lacrymal. Il débute par les points lacrymaux supérieur et inférieur situés dans la conjonctive palpébrale, à quelques millimètres de la commissure médiale des paupières. Ces points lacrymaux forment l'entrée des canalicules lacrymaux qui rejoignent ensuite le sac lacrymal situé dans la fosse lacrymale de l'os lacrymal. Ce dernier se poursuit par le conduit nasolacrymal qui traverse la cavité nasale et s'abouche au niveau de l'ostium lacrymal au plancher du vestibule nasal (Sanchez, 2014). Chez les races dolichocéphales et mésocéphales, le conduit nasolacrymal est long et droit alors qu'il est court et tortueux chez les races brachycéphales (Turner, 2008).

Figure 8. Schéma de l'appareil nasolacrymal du chien (Sanchez, 2014)



L'appareil nasolacrymal du chien est composé d'un système sécréteur (les glandes lacrymales), d'un système d'étalement (les paupières) et d'un système excréteur (les conduits lacrymaux).

B. Morphologie de la cornée

La cornée représente un quart de la tunique fibreuse alors que la sclère en représente trois quarts. Elle est séparée de cette dernière par le limbe cornéen. Sur sa face antérieure, elle est en contact avec le film lacrymal, les paupières et la membrane nictitante. Sur sa face postérieure, elle est en contact avec l'humeur aqueuse dans la chambre antérieure (Constantinescu, 2005).

La cornée a une forme elliptique. Son diamètre horizontal est 10% plus important que son diamètre vertical ce qui explique qu'en vue rostrale, elle est légèrement allongée horizontalement (Evans et al., 2013). En vue latérale, son rayon de courbure est supérieur à celui de la sclère (Martin et al., 2005).

Chez le chien, le rayon de courbure de la cornée varie entre 8,5 et 9 millimètres et il augmente chez les chiens de grand format (Murphy et al., 2013). Il peut être altéré lors de processus pathologiques comme le kératocône¹ et l'inflammation ou après une chirurgie oculaire (Constantinescu, 2005).

Chez le chien, l'épaisseur de la cornée est en moyenne de 620 micromètres en région axiale mais elle peut varier entre 410 et 720 micromètres selon les races. La cornée est plus fine en région axiale qu'en région du limbe. Elle est plus épaisse chez les chiens âgés (Murphy et al., 2013) et chez les chiens mâles (Martin et al., 2005).

Comme l'illustre la figure 9, la cornée saine est lisse, avasculaire et transparente.

Figure 9. Photographies de cornées saines, chiens de berger croisés, C. Miltchaliev



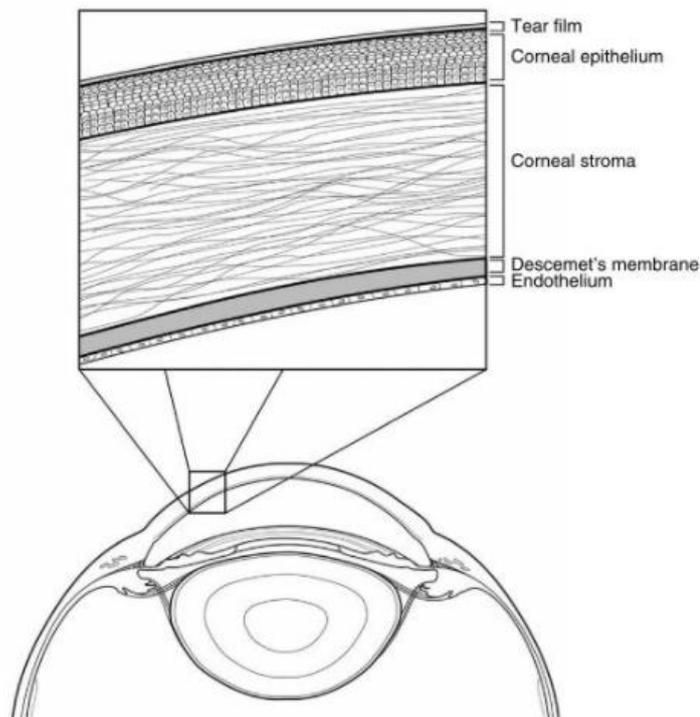
La cornée saine apparaît lisse, brillante, avasculaire et transparente.

C. Histologie de la cornée

La cornée est formée d'une succession de cinq couches qui sont représentées sur les figures 10 et 11. Il s'agit, de la plus superficielle à la plus profonde, de : l'épithélium antérieur, la membrane basale sous-épithéliale, le stroma, la membrane de Descemet et l'épithélium postérieur (Murphy et al., 2013). Chaque couche présente une unité physique et biochimique qui affecte le fonctionnement, l'homéostasie et la cicatrisation de l'ensemble de la cornée (Sanchez, 2014).

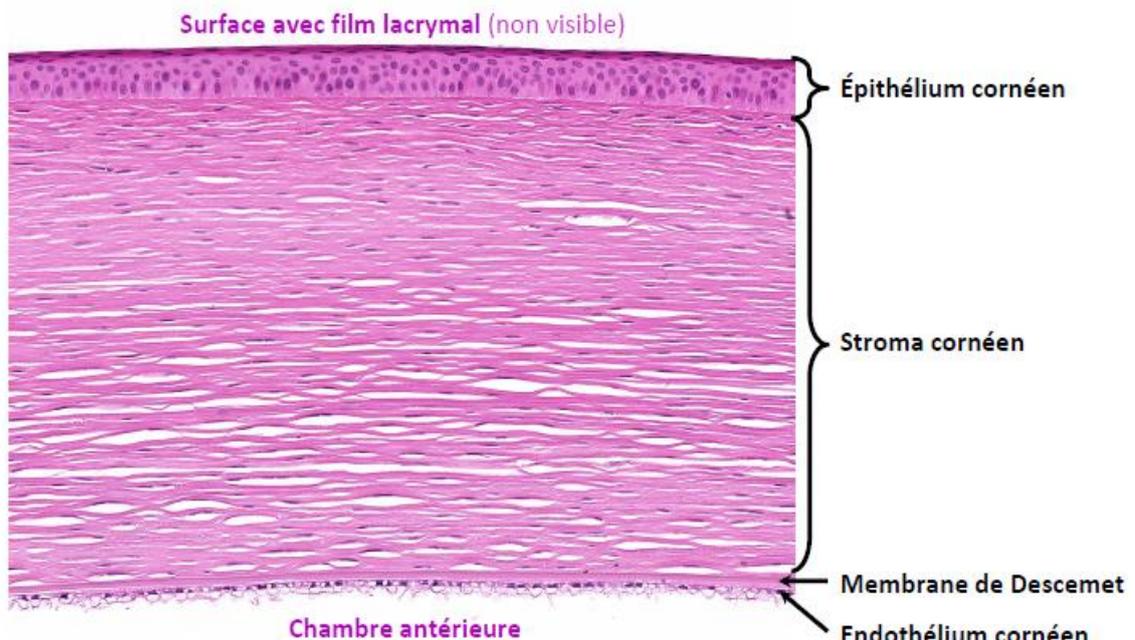
¹ Un kératocône est une maladie dégénérative de l'œil qui provoque la perte de la sphéricité de la cornée qui prend la forme d'un cône.

Figure 10. Schéma de la structure générale de la cornée (Gelatt, 2021)



La cornée est formée de cinq couches successives : l'épithélium cornéen antérieur, la membrane basale sous épithéliale, le stroma cornéen, la membrane de Descemet et l'endothélium cornéen.

Figure 11. Coupe histologique montrant la structure générale de la cornée d'un chien, HE, grossissement moyen, E. Reyes-Gomez, d'après unité histologie du Biopôle



La cornée est située à l'interface entre le film lacrymal et la chambre antérieure de l'œil. Elle se compose d'un épithélium, d'un stroma, de la membrane de Descemet et d'un endothélium dont la composition histologique varie selon les couches.

1. Épithélium antérieur

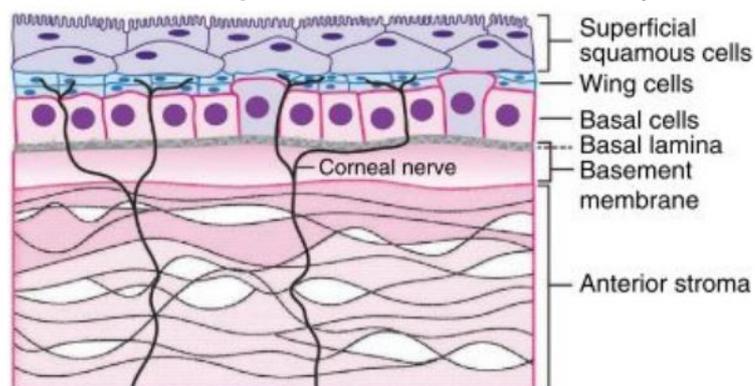
L'épithélium antérieur est représenté sur la figure 12. Il forme la couche la plus superficielle de la cornée. Il est en continuité avec la conjonctive bulbaire au niveau du limbe cornéen (Constantinescu, 2005). Il possède la même origine embryonnaire que les paupières et l'épithélium conjonctival : il est dérivé de l'ectoderme (Sanchez, 2014).

Il s'agit d'un épithélium multistratifié, pavimenteux, non kératinisé et squameux (Constantinescu, 2005). Il est composé chez le chien de cinq à sept couches de cellules et son épaisseur varie entre 25 et 40 micromètres (Martin *et al.*, 2005). Il représente un neuvième de l'épaisseur totale de la cornée (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

Il est formé de trois couches : des cellules basales en profondeur, des cellules intermédiaires et des cellules superficielles. En profondeur, il y a une couche de cellules basales de forme cylindrique à polygonales. Ce sont de grosses cellules avec une base aplatie, un apex bombé et un noyau en région apicale. Elles sont fixées entre elles par des desmosomes et à la lame basale par des hémidesmosomes (Hamor et Ehrhart, 2006). Ces cellules se divisent en permanence puis les cellules filles sont repoussées vers la surface, s'aplatissent et perdent leurs organites. Elles produisent ainsi les cellules de la couche intermédiaire puis de la couche superficielle. Ces cellules synthétisent aussi la lame basale sous-épithéliale (Sanchez, 2014). En position intermédiaire, il y a deux ou trois couches de cellules polyédriques avec un petit noyau rond. En superficie, il y a deux ou trois couches de cellules polygonales, très aplaties et non kératinisées. Ces cellules sont larges d'environ 50 micromètres et épaisses de cinq micromètres. Elles desquament continuellement et sont remplacées par les cellules de la couche intermédiaire, elles-mêmes issues des cellules de la couche basale (Khnel, 2015). Le temps de renouvellement total est de sept jours (Stades, 2007). Les cellules superficielles possèdent des microvillosités et des micropilli qui s'accrochent à la couche de mucines du film lacrymal et renforcent sa rétention (Martin *et al.*, 2005). Ces structures sont en effet recouvertes d'un glycocalyx composé de mucines qui interagissent avec les mucines du film lacrymal et le fixe sur la cornée (Sanchez, 2014). De plus, les cellules superficielles sont légèrement saillies à la surface, ce qui contribue aussi au maintien du film lacrymal (Murphy *et al.*, 2013).

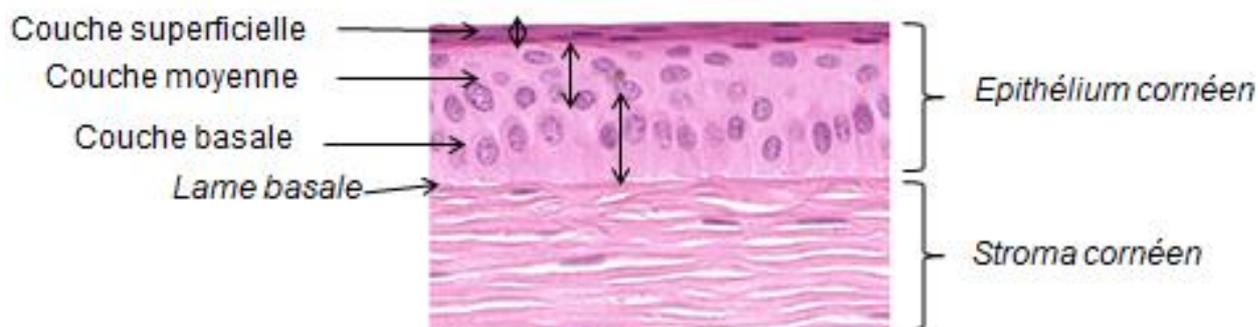
L'épithélium antérieur isole la cornée du film lacrymal. Une atteinte de sa structure entraîne la pénétration des larmes dans le stroma, le développement d'un œdème et la perte de la transparence de la cornée (Constantinescu, 2005).

Figure 12. Schéma de l'épithélium antérieur cornéen (Gelatt, 2021)



L'épithélium antérieur cornéen a une structure en couche : cellules squameuses non kératinisées (2 à 3 couches) ; cellules intermédiaires polyédriques (2 à 3 couches) ; cellules basales (1 couche) ; et membrane basale.

Figure 13. Coupe histologique de l'épithélium antérieur, chien, HE, grossissement moyen, E. Reyes-Gomez, d'après unité d'histologie du Biopôle



La coupe histologique de l'épithélium antérieur cornéen révèle sa structure en trois couches : superficielle, moyenne et basale.

2. Membrane basale sous-épithéliale

La membrane basale sous-épithéliale est située en profondeur de l'épithélium antérieur. Elle se compose d'une lame basale et d'une couche de fibres réticulaires. Les cellules basales de l'épithélium antérieur sont ancrées dans cette membrane basale par de nombreux hémidesmosomes, des fibres de collagène et la laminine (Hamor et Ehrhart, 2006).

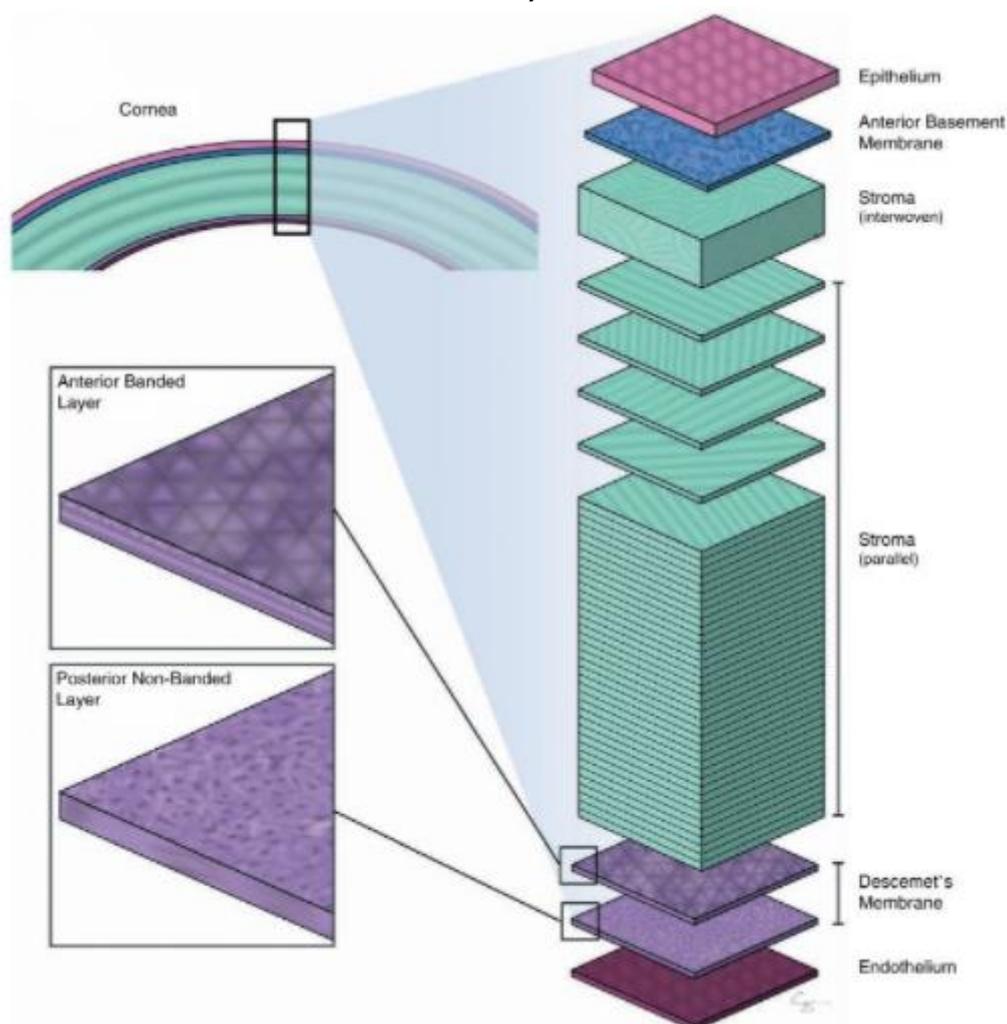
3. Stroma

Le stroma est la couche principale de la cornée : il représente 90% de son épaisseur (Hamor et Ehrhart, 2006). Il dérive des cellules mésenchymateuses de la crête neurale et partage son origine embryonnaire avec l'endothélium cornéen, la chambre antérieure, la partie antérieure du stroma irien, le muscle ciliaire et la plus grande partie de l'angle iridocornéen (Sanchez, 2014).

Comme indiqué sur la figure 14, le stroma cornéen se compose de 200 à 250 couches, appelées lamelles, superposées, parallèles et épaisses d'environ deux micromètres. Ces lamelles sont formées de fibrilles de collagène, épaisses de 20 à 60 nanomètres et entourées d'une matrice extracellulaire (MEC) (Sanchez, 2014).

Au sein d'une lamelle, la majorité des fibrilles est regroupée en faisceaux denses, équidistants, parallèles à la surface de la cornée et traversant tout son diamètre. En revanche, les faisceaux des lamelles successives sont disposés perpendiculairement les uns aux autres. Les lamelles adjacentes sont fixées entre elles par des fibres qui dévient de leur trajectoire parallèle (Khnel, 2015). Cet arrangement particulier des lamelles assure la transparence de la cornée et permet à 99% de la lumière pénétrant dans le stroma de passer dans le globe (Hamor et Ehrhart, 2006). Les lamelles sont plus obliques et entrelacées dans la partie antérieure du stroma et plus régulières et parallèles dans sa partie postérieure. Cet arrangement explique que le stroma antérieur soit plus réfléchissant en biomicroscopie que le stroma postérieur (Martin *et al.*, 2005).

Figure 14. Schéma de l'organisation des fibres de collagène dans le stroma cornéen (Gelatt, 2021)



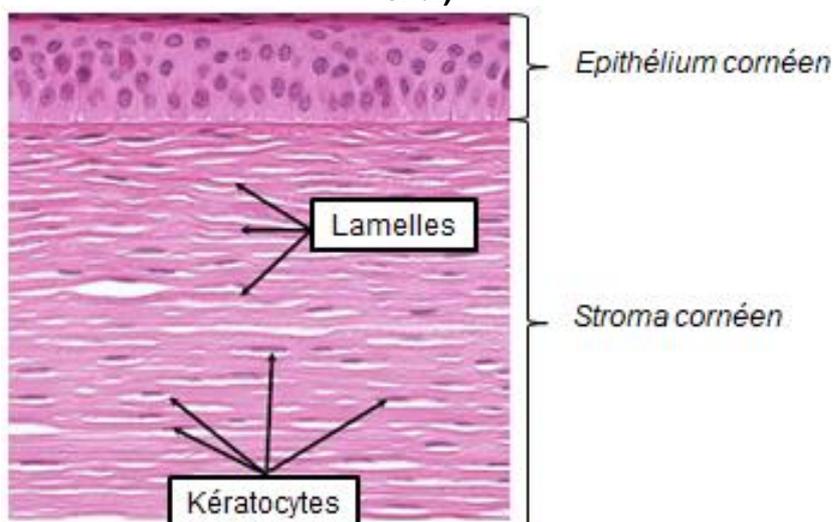
L'épithélium antérieur produit une membrane basale antérieure composée d'un enchevêtrement complexe de fibres. Les 10% supérieurs de l'épaisseur du stroma sont constitués de fibres de collagène entremêlées tandis que les 90% sous-jacents sont formés de fibres de collagènes parallèles entre elles à orientation aléatoire. La membrane de Descemet est composée de deux couches. La couche antérieure est composée majoritairement de collagène de type III qui forment des travées hexagonales en coupe de face et des bandes parallèles en coupe transversale. La couche postérieure est formée d'un réseau dense de fibres de collagène entremêlées.

Les kératocytes sont les cellules principales du stroma. Ils sont représentés sur les figures 15 et 16. Ce sont des fibrocytes inactifs (fibroblastes modifiés) dispersés entre les fibrilles de collagène. Ce sont des cellules allongées, en forme de fuseau, possédant un petit noyau, peu de cytoplasme et des prolongements cellulaires ramifiés. Ils produisent la MEC (Sanchez, 2014). Après une lésion cornéenne, ils se transforment en fibroblastes et forment un tissu cicatriciel qui n'est pas transparent (Hamor et Ehrhart, 2006). Quelques lymphocytes, macrophages et neutrophiles s'intercalent aussi entre les lamelles (Maggs, 2015a).

La MEC remplit tous les interstices à l'intérieur des lamelles et entre les lamelles. Elle enveloppe les kératocytes et leurs prolongements. Elle contient des glycosaminoglycane sulfatés (GAGs) comme l'héparane, l'acide hyaluronique, le sulfate de chondroïtine sulfaté, la chondroïtine 6-sulfate, le kératane sulfate et le dermatane sulfate (Hamor et Ehrhart, 2006). Le kératane sulfate et le dermatane sulfate sont les principaux GAGs du stroma. Ils sont produits par les kératocytes, l'épithélium antérieur et l'endothélium. Le dermatane sulfate est plus concentré

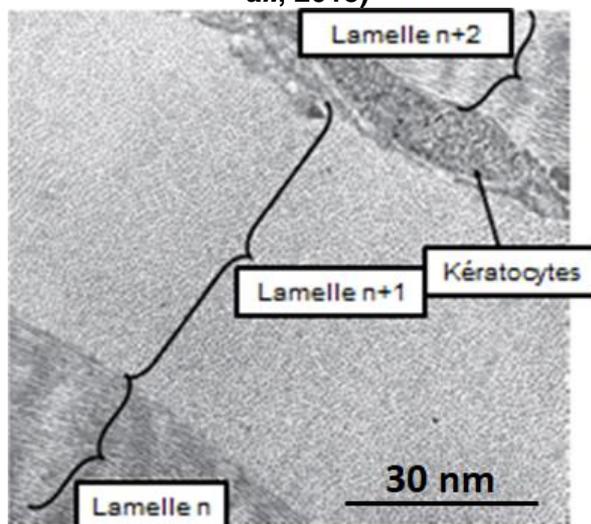
dans la partie antérieure du stroma alors que le kératane sulfate est plutôt présent dans la partie postérieure (Martin *et al.*, 2005). Les GAGs agissent comme des anions : ils se lient aux molécules d'eau et maintiennent de cette façon le degré optimal d'hydratation de la cornée et l'espacement régulier des fibrilles de collagène (Martin *et al.*, 2005). Un défaut des GAGs ou une altération du rapport entre le dermatane et le kératane sulfate entraîne une hydratation excessive de la cornée et donc un œdème et son opacification (Hamor et Ehrhart, 2006).

Figure 15. Coupe histologique du stroma cornéen, chien, HE, fort grossissement, (d'après Department of ophthalmology and visual sciences de l'université du Wisconsin-Madison, s. d.)



Sur une coupe histologique de stroma cornéen, les lamelles stromales apparaissent parallèles les unes aux autres. Les noyaux basophiles des kératocytes sont également aisés à reconnaître.

Figure 16. Stroma cornéen, chien, microscope électronique à transmission (d'après Ross *et al.*, 2015)



Le fort grossissement du microscope électronique à transmission permet de visualiser la succession des lamelles de fibrilles de collagènes dont la taille varie entre 20 et 60 nanomètres.

Le stroma contient de l'élastine (Sanchez, 2014) et cinq types différents de collagène : type I à V. Le collagène de type I est majoritaire (Hamor et Ehrhart, 2006).

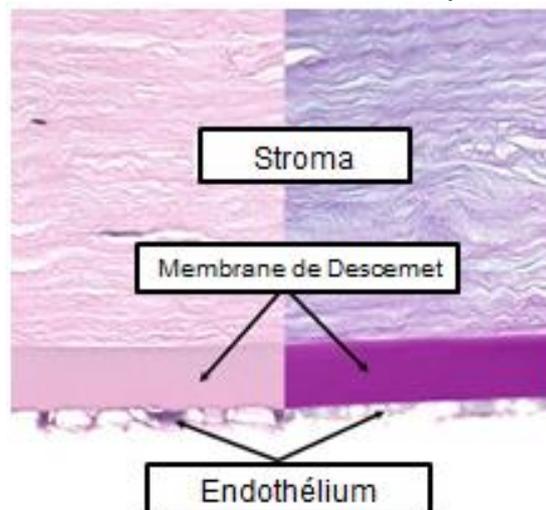
4. Membrane de Descemet

La membrane de Descemet est une lame basale modifiée qui correspond à la lame basale de l'épithélium postérieur (Martin *et al.*, 2005). Elle est représentée sur la figure 17. C'est une membrane acellulaire hyaline qui sépare le stroma de l'épithélium postérieur (Turner, 2008). Son épaisseur varie entre sept et dix micromètres. Elle est sécrétée en continu au cours de la vie de l'animal par les cellules de l'épithélium postérieur. Elle s'épaissit donc avec l'âge (Constantinescu, 2005).

Elle se compose uniquement de fibres de collagène dont le type IV est le plus abondant. Sa structure comporte trois couches composées de fibres de collagène de type différent. La couche antérieure contient des fibres de types V et VI ; la couche intermédiaire de types IV et VIII ; et la couche postérieure de types III et IV (Hamor et Ehrhart, 2006).

Elle possède des propriétés élastiques et est en tension au sein de la cornée. Elle peut s'amincir ou se rompre en cas de glaucome, de blessures pénétrantes ou d'ulcère cornéen perforant. Cette plasticité explique la formation de hernies lors de desmécocèle : la membrane de Descemet apparaît bombée, noire et transparente à travers le lit de l'ulcère (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

Figure 17. Membrane de Descemet, chien, HE à gauche et APS à droite, fort grossissement (UW-Madison Department of Ophthalmology and Visual Sciences of ophthalmology and visual sciences of, 2021)



La membrane de Descemet est une membrane acellulaire hyaline qui constitue l'interface entre le stroma et l'endothélium cornéen.

5. Epithélium postérieur

L'épithélium postérieur est la couche la plus profonde de la cornée. Il l'isole de la chambre antérieure. Il se compose d'une seule couche de cellules hexagonales ou polygonales aplaties. Il est souvent nommé « endothélium cornéen » même s'il ne s'agit pas d'un réel endothélium. Il partage la même origine embryonnaire que le stroma et que plusieurs composants de la chambre antérieure (Sanchez, 2014).

Ses cellules possèdent des microvillosités et des digitations sur leur membrane latérale qui leur permettent de s'imbriquer avec les autres cellules. Elles sont unies entre elles par des desmosomes, des jonctions serrées et des jonctions GAP. Ces cellules sont très actives métaboliquement. Elles contiennent de nombreuses mitochondries, du réticulum endoplasmique

lisse et rugueux et des vésicules pycnotiques (Hamor et Ehrhart, 2006). Leur principal rôle est de prélever des ions dans le stroma pour les libérer dans l'humeur aqueuse. Elles possèdent ainsi des pompes $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPases sur leurs membranes latérales qui prélèvent ces ions et entraînent un mouvement d'eau suivant les ions. Elles participent donc au maintien de l'état de déshydratation relatif du stroma et au mécanisme de déturgescence cornéenne (Martin *et al.*, 2005 ; Stades, 2007).

Chez le jeune chien, la densité cellulaire de l'endothélium varie entre 2 700 et 2 800 cellules par millimètre carré (Martin *et al.*, 2005). Chez le chien adulte, les cellules endothéliales sont dans un état post-mitotique et leur capacité de réplication est limitée. Par conséquent, la densité cellulaire de l'endothélium diminue lors du vieillissement de l'animal (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

D. Physiologie de la cornée

1. Métabolisme

L'épithélium antérieur et l'endothélium possèdent une forte activité métabolique. Ils consomment la majeure partie du dioxygène (O_2) et du glucose cornéen. En revanche, le stroma possède une faible activité métabolique donc ses besoins en O_2 et en énergie sont faibles (Martin *et al.*, 2005).

L' O_2 présent dans la cornée possède trois sources : le film lacrymal qui est la principale source d' O_2 pour l'épithélium antérieur, les capillaires du limbe et l'humeur aqueuse qui est une source importante pour l'endothélium (Martin *et al.*, 2005).

L' O_2 nécessaire au métabolisme de l'épithélium antérieur provient de la fraction aqueuse du film lacrymal. Le glucose est acheminé par les larmes et les capillaires limbiques. Il est principalement utilisé pour la glycolyse aérobie qui permet la production de glucose-6-phosphate dont 85% est métabolisé en pyruvate. Si la majorité du pyruvate est transformée en acide lactique, une fraction est utilisée pour produire de l'ATP (adénosine triphosphate) via le cycle de Krebs. Les 15% de glucose-6-phosphate restants participent à la voie des pentoses phosphates qui assure la production de NADPH (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) et de ribose-5-phosphate. L'épithélium antérieur contient une enzyme, l'anhydrase carbonique, qui facilite l'élimination du dioxyde de carbone (CO_2) issu du métabolisme cellulaire en le transformant en bicarbonates (HCO_3^-). Le glucose en excès est stocké sous forme de glycogène dans les cellules épithéliales (Hendrix *et al.*, 2021).

L'endothélium a besoin de beaucoup de glucose pour faire fonctionner ses pompes ATPases et maintenir l'état de déturgescence du stroma. L'énergie y est produite par plusieurs voies métaboliques : la glycolyse qui est principalement anaérobie, le cycle de Krebs et la voie des pentoses phosphates. L'apport de glucose et d' O_2 est assuré par l'humeur aqueuse (Dubielzig, 2010).

L'acide lactique produit par le métabolisme cornéen est un composé osmotiquement actif qui impacte la turgescence cornéenne. Lorsque sa concentration augmente, en cas d'hypoxie par exemple, il provoque un appel d'eau dans la cornée et un œdème cornéen (Martin *et al.*, 2005).

2. Vascularisation

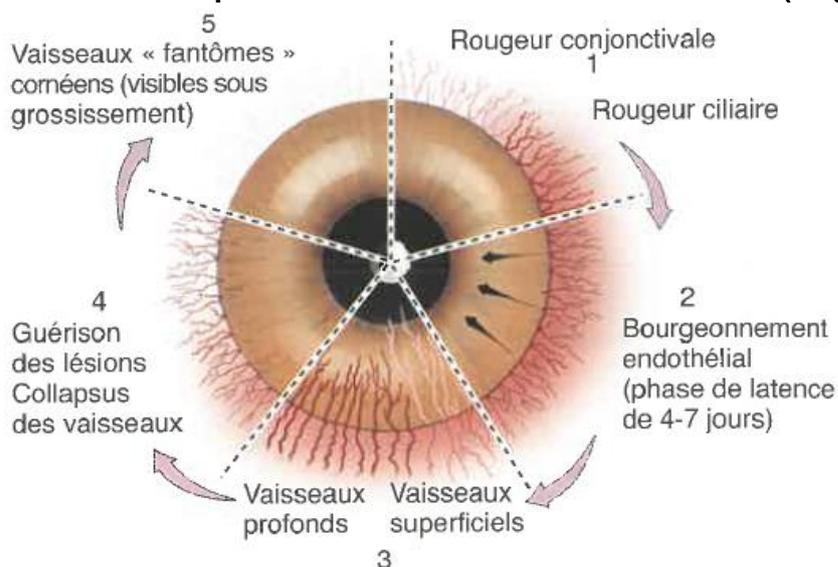
La cornée est une structure avasculaire nourrie par le film lacrymal, les capillaires du limbe et l'humeur aqueuse. L'absence de vaisseaux dans la cornée s'explique par l'expression du récepteur 1 au facteur de croissance des cellules endothéliales des vaisseaux (VEGF). Ce récepteur fixe le VEGF et l'empêche d'initier la formation des vaisseaux (Murphy *et al.*, 2013). Une grande variété d'inhibiteurs de la vascularisation a été identifiée : l'angiostatine, l'endostatine, la

thrombostatine, le facteur plaquettaire 4, la fibronectine et la prolactine. Leurs interactions sont cependant complexes et incomplètement comprises à ce jour. Une autre hypothèse expliquant l'absence de vascularisation cornéenne serait l'inhibition mécanique de son développement car la cornée serait trop compacte (Martin *et al.*, 2005).

A l'inverse, plusieurs facteurs, comme par exemple l'hypoxie, l'inflammation et les néoplasies, peuvent stimuler la néovascularisation cornéenne. Ces événements induisent la libération de facteurs pro-angiogéniques comme le facteur angiogénique tumoral, le facteur de croissance des fibroblastes (FGF) et le facteur de croissance transformant bêta (TGF β). Les lymphokines produites par les lymphocytes T activés et les prostaglandines E1 peuvent aussi provoquer une néovascularisation cornéenne. Les granulocytes neutrophiles (GN) sont souvent impliqués dans le processus de néovascularisation. L'œdème cornéen, qui diminue la compacité de la cornée, est un facteur favorisant la néovascularisation mais n'est pas suffisant à lui seul (Martin *et al.*, 2005).

La néovascularisation cornéenne fait partie du processus normal de cicatrisation cornéenne. Elle est stimulée par des cytokines inflammatoires et d'autres facteurs produits par les kératocytes et les cellules sanguines ayant infiltré la cornée. Elle se déroule en une succession d'étapes résumées sur la figure 18. Elle débute en région du limbe et les vaisseaux grandissent d'un à deux millimètres par jour en direction de la lésion. Elle peut être superficielle ou profonde, ce qui indique la profondeur de la lésion d'origine et prend dans chaque cas un aspect macroscopique différent comme l'illustre la figure 19. La néovascularisation superficielle se développe dans le tiers antérieur du stroma par arborisation des vaisseaux conjonctivaux lors d'atteinte superficielle. Les vaisseaux prennent un aspect arborisé depuis le limbe. La néovascularisation profonde se développe en cas de lésions profondes et s'étend de façon rectiligne depuis la circulation ciliaire. Les vaisseaux ressemblent à une « haie » ou à des « poils de pinceau » : ils sont courts, droits et non ramifiés. Les vaisseaux superficiels et profonds peuvent ensuite s'anastomoser et former une « bordure en brosse ». Cette néovascularisation favorise la cicatrisation cornéenne via l'apport d'agents anti-collagénases contre les métalloprotéinases matricielles (MMP), des protéases, de l'O₂ et des nutriments. Elle augmente cependant l'opacité cornéenne puisqu'une partie du fluide vasculaire fuit dans le stroma. Après la cicatrisation, la réponse vasculaire régresse, les vaisseaux ne sont plus perfusés et forment des « fantômes » visibles à la lampe à fente. L'endothélium peut alors évacuer l'excès de fluide du stroma et la cornée retrouve son épaisseur et sa transparence initiales (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

Figure 18. Schéma des étapes de la néovascularisation cornéenne (Maggs, 2015a)



La néovascularisation cornéenne se manifeste d'abord par l'apparition d'une rougeur conjonctivale puis ciliaire. Après une phase de latence de 4 à 7 jours, un bourgeonnement de l'endothélium cornéen débute. Une néovascularisation apparaît alors sous forme de vaisseaux superficiels d'abord (arborisés depuis le limbe cornéen) puis profonds (rectilignes depuis la circulation ciliaire). Dès lors que les lésions cornéennes ont cicatrisé, un collapsus des vaisseaux se produit laissant place à des vaisseaux dit « fantômes ».

Figure 19. Néovascularisation cornéenne superficielle d'un ulcère à bords décollés (gauche) et néovascularisation profonde d'une perforation cornéenne ponctiforme avec une uvéite antérieure associée (droite) chez un chien de race carlin (gauche) et bouledogue français (droite) présentant un ulcère cornéen, unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac



A gauche les néovaisseaux cornéens superficiels apparaissent sous forme d'une arborisation depuis le limbe cornéen. A droite les néovaisseaux cornéens profonds apparaissent sous une forme rectiligne, « en brosse », depuis la circulation ciliaire.

3. Innervation

La complexité de l'innervation cornéenne est rapportée par les figures 20 et 21. L'innervation sensitive de la cornée est assurée par les nerfs ciliaires longs issus de la branche ophtalmique du

nerf trijumeau (nerf V) (Murphy *et al.*, 2013). Ces terminaisons nerveuses superficielles sont sensibles à la douleur, à la pression et à la température (Martin *et al.*, 2005). Elles constituent le point de départ du réflexe de clignement cornéen transmis par la cinquième paire de nerfs crâniens (Dubielzig, 2010).

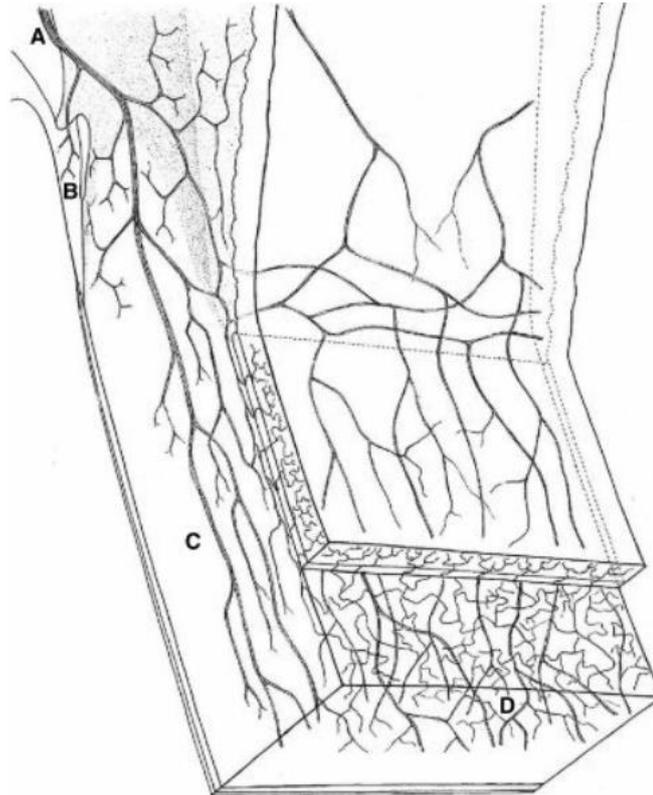
Le nerf trijumeau est composé de trois branches : la branche ophtalmique, la branche maxillaire et la branche mandibulaire. La branche ophtalmique pénètre dans l'orbite puis se divise en trois nerfs : le nerf frontal, le nerf lacrymal et le nerf nasociliaire. Le nerf nasociliaire se ramifie et forme deux nerfs ciliaires longs qui se dirigent rostralement au bulbe en cheminant à travers la sclère. Les nerfs ciliaires longs se divisent et forment le plexus limbique. Ce plexus, d'une épaisseur de 0,8 à 1 millimètre, comporte deux parties. Le plexus périscléral est la partie la plus externe. Il contient des axones périscléaires de grand diamètre. Le plexus péricornéen est la partie la plus interne. Il contient des axones plus petits mais en plus grande quantité et plus ramifiés. Le plexus limbique est le point de départ de 14 à 18 faisceaux nerveux, constitués chacun de 30 à 40 axones. Ces faisceaux pénètrent dans la cornée et se dirigent de façon centripète vers son apex en perdant rapidement leur gaine de myéline. Ils s'arborisent puis s'anastomosent pour former le plexus stromal. Le plexus stromal innerve la moitié antérieure du stroma. Il est divisé en deux parties. La partie antérieure constitue le plexus sub-épithélial, très dense et complexe. La partie postérieure comprend un nombre modéré d'axones dispersés et bien individualisés. Certains axones ont un trajet ascendant et traversent la membrane basale pour rejoindre l'épithélium antérieur. Ils se regroupent en faisceaux constitués de deux à six axones et forment les cordons épithéliaux du plexus sub-basal. Sur le trajet ascendant, des ramifications sont émises et se placent entre les différentes couches de cellules épithéliales. Au niveau du limbe, des fibres du système nerveux autonome viennent compléter l'innervation sensitive de la cornée. Les fibres orthosympathiques sont issues du ganglion cervical supérieur et les fibres parasymphatiques du ganglion ciliaire (Murphy *et al.*, 2013).

Contrairement à l'épithélium antérieur et à la partie antérieure du stroma, la partie postérieure du stroma, la membrane de Descemet et l'endothélium sont dépourvus d'innervation sensitive. Les ulcères cornéens superficiels sont donc plus douloureux que les ulcères profonds (Turner, 2008). De plus, la densité en terminaisons nerveuses est plus importante en région axiale de la cornée. Les ulcères centraux sont donc plus douloureux que les ulcères périphériques (Sanchez, 2014). Enfin, la densité en terminaisons nerveuses est moins importante chez le jeune chien et chez le chien âgé par rapport au chien adulte ainsi que chez le chien brachycéphale par rapport au chien dolichocéphale ou mésocéphale (Murphy *et al.*, 2013). Les chiens de morphotype brachycéphale ont donc une sensibilité cornéenne plus faible (Sanchez, 2014).

L'innervation sensitive est vitale pour la physiologie cornéenne. Les chiens présentant un défaut de sensibilité cornéenne produisent moins de larmes et clignent moins des yeux, ce qui provoque une sécheresse cornéenne et favorise l'ulcération (Sanchez, 2014). L'innervation sensitive contribue aussi à l'homéostasie et à la cicatrisation de l'épithélium antérieur. Elle joue un rôle trophique positif puisque le métabolisme et l'activité mitotique de l'épithélium antérieur dépendent d'elle (Martin *et al.*, 2005). Toute lésion provoquant une dénervation partielle de la cornée, provoque la perte de cette influence trophique et donc un retard de cicatrisation. On parle alors de « kératite neurotrophique ». On la rencontre chez les patients souffrant d'atteinte neurologique, ou suite à une cyclophotocoagulation au laser ou une chirurgie oculaire (Martin *et al.*, 2005).

La douleur cornéenne peut aggraver l'affection oculaire lorsque les nerfs cornéens libèrent des médiateurs pro-inflammatoires qui causent un spasme de l'iris et du corps ciliaire et interrompent la barrière entre l'œil et le sang (Sanchez, 2014).

Figure 20. Schéma de l'innervation du limbe et de la cornée (Gelatt, 2021)



L'innervation cornéenne est complexe :

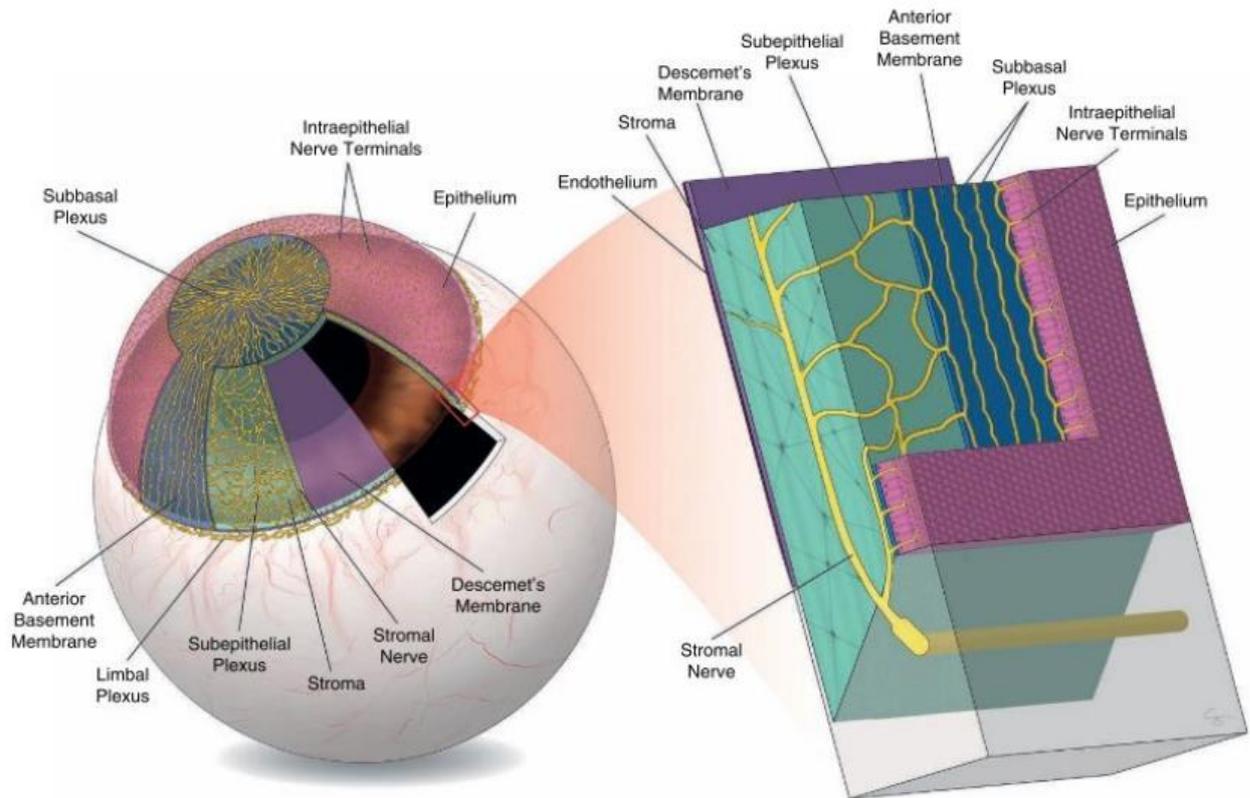
A : Nerf ciliaire long qui innerve la région limbique puis émet des branches dans la cornée.

B : Maillage nerveux dans la région trabéculaire.

C : Pauvreté de l'innervation dans les couches profondes de la cornée et absence d'innervation de la membrane de Descemet.

D : Richesse de l'innervation dans l'épithélium et le stroma antérieur cornéen.

Figure 21. Schéma de l'innervation cornéenne (Gelatt, 2021)



L'innervation cornéenne fait intervenir plusieurs plexus nerveux. Le plexus limbique forme un anneau où les fibres myélinisées de la sclère prédominent. Les nerfs quittent ensuite ce plexus par paquets et perdent leur gaine de myéline lorsqu'ils pénètrent dans la portion centrale de la cornée. Le plexus sub-épithélial est constitué d'une grande densité d'axones qui s'anastomosent sous la membrane basale de l'épithélium antérieur. Ce plexus donne naissance aux plexus sub-basal situé entre la membrane basale de l'épithélium antérieur et l'épithélium postérieur et où les fibres nerveuses sont horizontales et parallèles. Finalement les fibres de ce plexus prennent une direction verticale pour terminer dans les différentes couches de l'épithélium postérieur.

4. Transparence

La transparence de la cornée est indispensable à son fonctionnement. Différents éléments permettent de maintenir cette transparence (Turner, 2008 ; Sanchez, 2014) :

- l'absence de vaisseaux lymphatiques et sanguins dans la cornée,
- l'absence de gaine de myéline autour des nerfs cornéens,
- l'absence de pigmentation cornéenne (absence de mélanine et d'autres pigments),
- la relative acellularité de la cornée,
- l'absence de cellules kératinisées dans la cornée,
- la distribution parallèle et la petite taille des fibrilles de collagène et des GAGs dans le stroma,
- et la relative deshydratation du stroma.

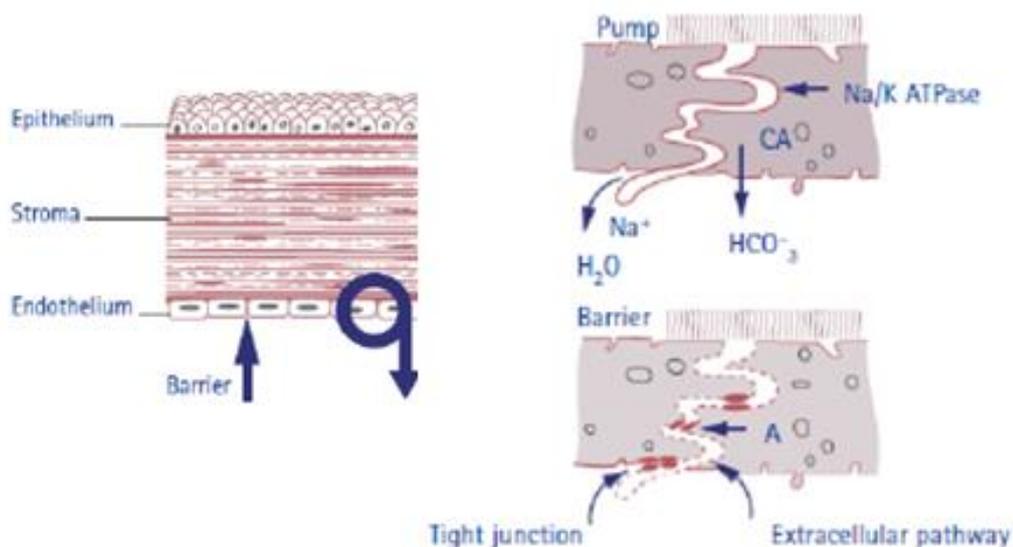
Une modification d'un de ces caractères entraîne une altération de la transparence cornéenne. Différents facteurs peuvent intervenir : pertes de substance épithéliale, dysfonctionnements lacrymaux, kératinisation, mélanose ou néovascularisation cornéenne, infiltration leucocytaire, accumulation de lipides ou de minéraux, formation d'un œdème cornéen ou d'un tissu cicatriciel (Maggs, 2015a).

5. Turgescence

La cornée contient entre 75% et 80% d'eau (Martin *et al.*, 2005). Cependant, il s'agit d'un milieu relativement déshydraté (Stades, 2007).

In vitro, une pièce d'exérèse de cornée immergée dans une solution aqueuse devient turgescence. Elle gonfle selon son axe antérieur-postérieur avec un léger raccourcissement de la longueur tangentielle. L'eau y est en effet retenue par les GAGs du stroma. Cette turgescence s'accompagne d'une perte de transparence. *In vivo*, la cornée est dans un état dit de « déturgescence » représenté sur la figure 22. Cet état de déshydratation est maintenu par l'épithélium antérieur et par l'endothélium cornéen. Les cellules de ces deux couches sont en effet équipées de pompes ioniques qui évacuent le fluide cornéen en excès par un transport actif (Constantinescu, 2005). L'épithélium antérieur empêche la pénétration des larmes dans le stroma (Maggs, 2015a). L'endothélium joue un rôle encore plus important que l'épithélium antérieur. En effet, les forces hydrostatiques s'exerçant dans le globe dirigent l'humeur aqueuse de la chambre antérieure vers la cornée. L'endothélium est une barrière incomplète à ce flux : malgré ses jonctions serrées, une partie de l'humeur aqueuse entre dans la cornée sous l'effet du gradient de pression intraoculaire. L'eau est ensuite pompée dans le stroma puis relarguée dans la chambre antérieure par les pompes Na^+K^+ ATPases présentes sur la membrane latérale des cellules endothéliales et par une pompe Na^+ présente dans l'humeur aqueuse. Ces pompes ramènent le Na^+ et le Cl^- dans l'humeur aqueuse créant ainsi un gradient osmotique qui attire passivement l'eau en dehors du stroma. Sous l'influence de l'anhydrase carbonique ou d'une pompe HCO_3^- ATPase, les ions HCO_3^- sont également pompés et relâchés dans l'humeur aqueuse (Martin, 2005). La baisse de densité cellulaire de l'endothélium causée par le vieillissement de l'animal est compensée par l'augmentation du nombre de pompes sur les cellules restantes (Sanchez, 2014).

Figure 22. Schéma illustrant le mécanisme de déturgescence cornéenne (Martin, 2005)



La déturgescence cornéenne observée in vitro est permise par l'action des cellules de l'épithélium antérieur et de l'endothélium cornéen dont les pompes ioniques évacuent les fluides cornéens en excès.

Toute lésion de ces deux barrières entraîne un flux entrant d'eau dans la cornée supérieure au flux sortant. L'afflux d'eau désorganise l'agencement des fibrilles de collagène en les écartant les unes des autres et provoque le développement d'un œdème cornéen. Cet œdème augmente l'épaisseur de la cornée, lui donne une couleur bleue-grise et un aspect trouble que l'on retrouve sur les photographies de la figure 23. L'eau pénètre de façon variable selon les zones de la

cornée, ce qui donne à sa surface un aspect irrégulier et ondulé (Constantinescu, 2005 ; Stades, 2007). Une atteinte de l'épithélium antérieur provoque un œdème localisé et souvent transitoire puisque les capacités de régénération de l'épithélium sont élevées. La cornée apparaît tuméfiée et bleutée jusqu'à ce qu'une nouvelle couche d'épithélium recouvre la lésion. En revanche, une lésion de l'endothélium est plus grave à cause de ses capacités de régénération limitées. Elle conduit à un œdème sévère, plus opaque et plus diffus, et donc à une perte de transparence importante (Martin *et al.*, 2005 ; Maggs, 2015a). Ce processus débute à partir d'une densité cellulaire endothéliale inférieure à 500 ou 800 cellules par millimètre carré et est nommé « décompensation des cellules endothéliales » (Sanchez, 2014). Finalement, on retient qu'une rupture de l'épithélium antérieur provoque un afflux d'eau dans la cornée qui augmente son épaisseur de deux fois alors qu'une rupture de l'endothélium augmente son épaisseur de trois à quatre fois (Stades, 2007).

Figure 23 Ulcère cornéen à collagénases et œdème cornéen associé, chez un chien Berger allemand (gauche) et perforation cornéenne et œdème cornéen associé (droite), Chien un chien Bulldog anglais, unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac



Lors d'œdème cornéen, la cornée prend un aspect trouble de couleur gris-bleuté et son épaisseur augmente à cause de l'accumulation d'eau entre les fibres de collagène du stroma.

6. Réfraction cornéenne

La cornée est transparente contrairement à la sclère qui est opaque. Il s'agit du premier dioptre de l'œil et joue un rôle fondamental dans la transmission et dans la réfraction des rayons lumineux qui traversent le globe (Martin *et al.*, 2005). En effet, 70% de la réfraction subie par les rayons lumineux dans le globe a lieu au niveau de la cornée et la cornée possède un pouvoir de réfraction supérieur à celui du cristallin (Turner, 2008).

7. Mécanismes de défense

a) Mécanismes non spécifiques

Les mécanismes de défense non spécifiques sont efficaces même s'ils ne sont pas spécifiques d'un antigène donné. Ainsi, la cornée est d'abord protégée par différentes barrières mécaniques : les paupières inférieure et supérieure, la membrane nictitante, le film lacrymal et l'épithélium antérieur (Sanchez, 2014).

L'épithélium antérieur est une barrière mécanique très efficace qui empêche les microorganismes pathogènes de pénétrer dans la cornée. Exceptés les herpesvirus et *Moraxella bovis*, aucun germe ne peut provoquer une kératite primaire chez l'animal en l'absence de lésion

épithéliale. Ceci explique que les bactéries présentes dans les cul-de-sacs conjonctivaux ne provoquent que très rarement des affections cornéennes (Maggs, 2015a). L'épithélium antérieur protège les couches cornéennes profondes de la pénétration des larmes et des micro-organismes pathogènes grâce à ses jonctions serrées (Dubielzig, 2010).

Le film lacrymal fixe et élimine les particules et microorganismes pathogènes. L'effet de rinçage des larmes permet l'élimination de ces éléments. Il prévient également la dessiccation de l'épithélium antérieur et de la partie superficielle du stroma. De plus, sa phase aqueuse contient des protéines antimicrobiennes : IgA (mais aussi IgG et IgM), lysozyme, lactoferrine et lipocaline. La lactoferrine se fixe au fer libre dans les larmes et empêche donc les bactéries d'acquérir le fer qui leur est indispensable pour proliférer. Elle peut aussi se lier directement aux bactéries et perturber leur membrane. Elle a également un rôle anti-inflammatoire (Flanagan et Willcox, 2009). Enfin, le film lacrymal constitue une voie d'accès à la partie antérieure de la cornée pour les cellules inflammatoires (Martin *et al.*, 2005).

La flore commensale de la surface oculaire participe à sa protection contre les infections potentielles. Elle se compose de bactéries et d'agents fongiques. La compétition ayant lieu au sein de cette flore commensale pour l'espace et les nutriments permet de limiter sa prolifération. Ainsi, une atteinte de cet équilibre, lors de traitement antibiotique topique ou d'immunodépression par exemple, conduit à une prolifération bactérienne incontrôlée qui est néfaste pour la cornée (Martin *et al.*, 2005).

b) Mécanismes spécifiques

La réponse immune adaptative est spécifique d'un agent pathogène donné. Elle consiste en un afflux de cellules inflammatoires, la libération d'agents collagénolytiques, la néovascularisation de la cornée et la perte de sa transparence (Sanchez, 2014).

Les tissus lymphoïdes associés à l'œil sont à l'origine de cette réponse immune adaptative. L'EALT (*Eye-Associated Lymphoid Tissue* – tissu lymphoïde associé à l'œil) regroupe le CALT (*Conjunctival-Associated Lymphoid Tissue* – tissu lymphoïde associé à la conjonctive) et le LDALT (*Lacrimal-Drainage-Associated Lymphoid Tissue* – tissu conjonctif associé aux voies lacrymales de drainage). Les cellules effectrices sont des lymphocytes et des plasmocytes, respectivement responsables de la réponse immunitaire cellulaire et humorale. La réponse cellulaire repose principalement sur les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques et dans une moindre mesure sur les lymphocytes T CD4+ *helpers*. La réponse humorale est permise par la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes qui sécrètent les IgA présentes dans le film lacrymal. Ces IgA se fixent aux bactéries et aux virus, provoquent leur agglutination, leur neutralisation et leur lyse. Ces deux réponses nécessitent l'action initiale des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) comme les macrophages et les cellules de Langerhans (Sanchez, 2014 ; Faure, 2018). Les toll-like récepteurs (TLR) reconnaissent chacun un ensemble spécifique de micro-organismes. La reconnaissance de l'antigène par le TLR initie une réponse immunitaire dirigée spécifiquement contre ce dernier via les CPAs (Sanchez, 2014).

c) Privilège immun

La surface cornéenne est un site où s'exerce le « privilège immun » : le système immunitaire y reste quiescent malgré une exposition constante à des stimuli antigéniques. Cette caractéristique est vitale pour le maintien de la vision car les réactions immunitaires peuvent provoquer une perte de l'intégrité cornéenne et donc de sa transparence (Sanchez, 2014).

Cet état de quiescence immunitaire est maintenu grâce à l'absence de présentation de l'antigène au système immunitaire. En effet, il y a un faible nombre de macrophages et de cellules

de Langerhans résidant à la surface de la cornée. Si davantage de ces cellules sont nécessaires, elles sont recrutées dans la conjonctive ou le film lacrymal. De plus, il n'y a pas de TLRs à la surface de la cornée car ils sont internalisés dans les couches profondes de l'épithélium antérieur. Cependant, dès lors qu'un TLR est activé, à la faveur d'un ulcère par exemple, le privilège immun disparaît et des CPAs initient la réponse immunitaire adaptative (Sanchez, 2014).

II. Présentation des ulcères cornéens

L'ulcère cornéen est une perte, plus ou moins profonde, de tissu cornéen (Stades, 2007). Ce dernier provoque une inflammation de la cornée, une kératite. Il s'agit d'un motif de consultation fréquent en médecine vétérinaire, notamment chez le chien (Kern, 1990). Les ulcères cornéens peuvent être classés selon leur profondeur et selon s'ils sont simples ou compliqués.

A. Classification des ulcères cornéens selon leur profondeur

1. Ulcères superficiels

Comme l'illustre le schéma de la figure 24, les ulcères superficiels correspondent à la perte d'une partie de l'épithélium antérieur, l'intégrité de la lame basale étant conservée (Kern, 1990). Les marges de la lésion sont régulières et composées de tissu sain (Stades, 2007). Un exemple de ce type d'ulcère cornéen est donné sur la figure 25.

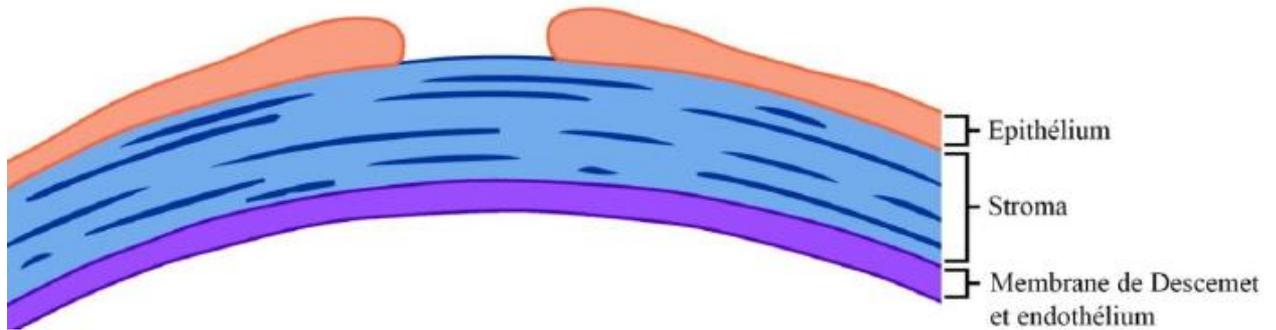
Ils ont trois types de causes : une irritation mécanique (poils, entropion², distichiasis³, cils ectopiques, corps étranger, etc...) ; une sécheresse cornéenne (KCS) ; ou une infection, le plus souvent par des virus, mais aussi des champignons (Stades, 2007).

Le traitement doit éliminer la cause primaire sous-jacente, stimuler la cicatrisation cornéenne, diminuer la douleur oculaire et prévenir les surinfections qui peuvent provoquer l'apparition d'ulcères à collagénases. Il associe, par voie topique, un antibiotique topique à large spectre, des substituts lacrymaux et un agent mydriatique comme l'atropine à 1%. Un contrôle doit être réalisé cinq jours après son initiation afin de vérifier son efficacité (Stades, 2007). En effet, les ulcères superficiels peuvent être simples ou bien compliqués d'une infection bactérienne ou encore réfractaires au traitement initié. Dans ce dernier cas, une cause sous-jacente doit être recherchée (Whitley et Hamor, 2021).

² L'entropion est un enroulement de la paupière supérieure ou inférieure vers l'intérieur de l'œil provoquant le frottement des cils contre la cornée et donc une irritation.

³ Lors de distichiasis, il existe une deuxième rangée de cils surnuméraire au niveau des glandes de Meibomius, responsable d'une irritation de la cornée.

Figure 24. Schéma d'un ulcère superficiel (Faure, 2018)



Un ulcère cornéen superficiel correspond à la perte d'une partie de l'épithélium cornéen antérieur.

Figure 25. Ulcère cornéen superficiel chez un chien, unité ophtalmologie Chuv-Ac



Lors d'ulcère cornéen superficiel la lésion cornéenne reste discrète, ses marges sont saines et formées de tissu sain.

2. Ulcères à bords décollés

Comme l'indique la figure 26, les ulcères à bords décollés sont des ulcères superficiels particuliers car leurs marges sont décollées. Ils sont chroniques, peu douloureux, peu inflammatoires en début d'évolution, entraînant peu de vascularisation, et non infectés (Whitley et Hamor, 2021). Un exemple de ce type d'ulcère cornéen est donné sur la figure 27.

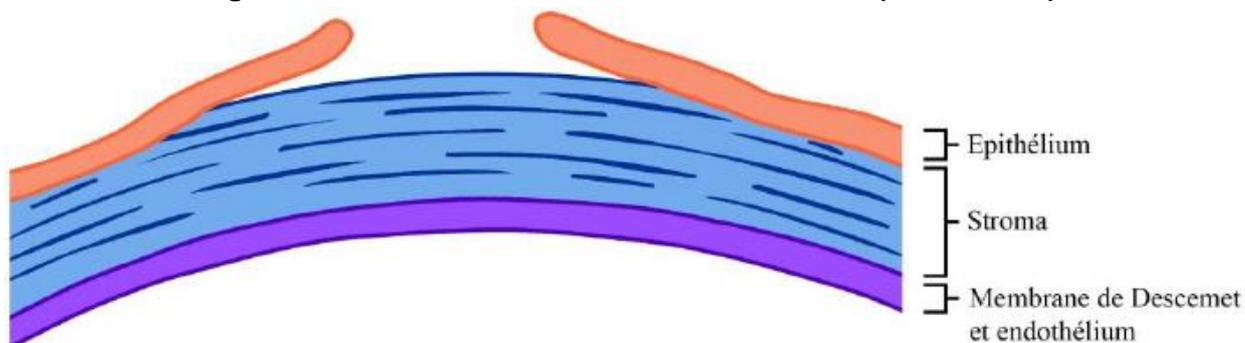
Ils sont fréquents chez les chiens de race Boxer chez lequel ils sont d'origine dégénérative, provoqués par la diminution de l'attachement entre les cellules basales de l'épithélium antérieur et la membrane basale (Stades, 2007). Ils ont aussi d'autres causes comme les traumatismes, une absence de lame basale, des anomalies du stroma antérieur, une innervation anormale de la cornée, une altération des facteurs de migration des cellules épithéliales, une hausse de l'activité protéolytique du film lacrymal ou encore un œdème cornéen sévère (Dubielzig, 2010).

Ce sont des ulcères indolents : ils sont difficiles à traiter et persistent plusieurs semaines à plusieurs mois. Une prise en charge médicale similaire à celle des ulcères superficiels doit être associée à une prise en charge chirurgicale afin d'éliminer les tissus décollés. La désépithélialisation consiste à débrider l'ulcère de façon centripète jusqu'à ce que l'épithélium soit

fermement adhérent au stroma. Elle peut être accompagnée d'une kératotomie⁴ superficielle et parfois d'une kératectomie⁵ (Stades, 2007 ; Sanchez, 2014).

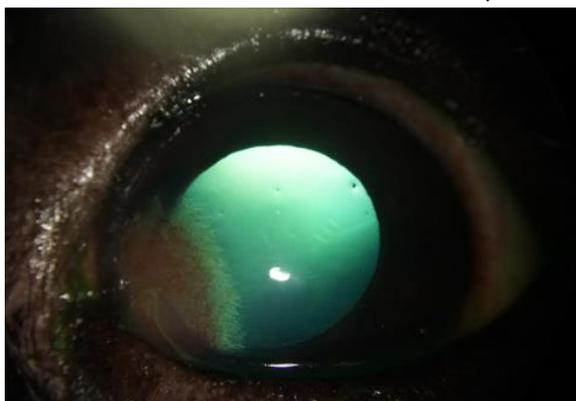
La récurrence, sur le même œil ou l'œil opposé, est fréquente puisque ces chiens présentent souvent un défaut de structure de la membrane basale (Stades, 2007).

Figure 26. Schéma d'un ulcère à bords décollés (Faure, 2018)



Un ulcère cornéen à bords décollés est un ulcère cornéen superficiel particulier dans lequel les marges épithéliales de la lésion se décollent du stroma sous-jacent.

Figure 27. Ulcère cornéen à bords décollés chez un chien, unité ophtalmologie Chuv-Ac



Un ulcère cornéen à bord décollé se reconnaît facilement à son aspect macroscopique : ses bords sont irréguliers et apparaissent décollés du reste de la cornée sous-jacente.

3. Ulcères stromaux

Les ulcères stromaux associent une destruction totale de l'épithélium antérieur et une perte plus ou moins profonde du stroma comme représenté sur la figure 28 (Kern, 1990). Ils ont une forme en cratère et leurs marges sont ramollies et gonflées, d'aspect collant et pâteux, et de couleur variant du jaune au vert (Stades, 2007). Un exemple de ce type de lésion cornéenne est représenté sur la figure 29. Ils sont associés à des zones d'opacité cornéenne provoquées par l'infiltration leucocytaire et l'œdème cornéen. Lors d'infiltration leucocytaire marquée, la cornée se teinte en jaune, ce qui indique un sepsis. Selon le stade d'évolution de la lésion, ils peuvent être associés à une néovascularisation cornéenne superficielle et profonde (Martin *et al.*, 2005).

⁴ La kératotomie est une intervention chirurgicale qui consiste à inciser la cornée.

⁵ La kératectomie est une intervention chirurgicale qui consiste à inciser puis retirer une portion ou la totalité de la cornée.

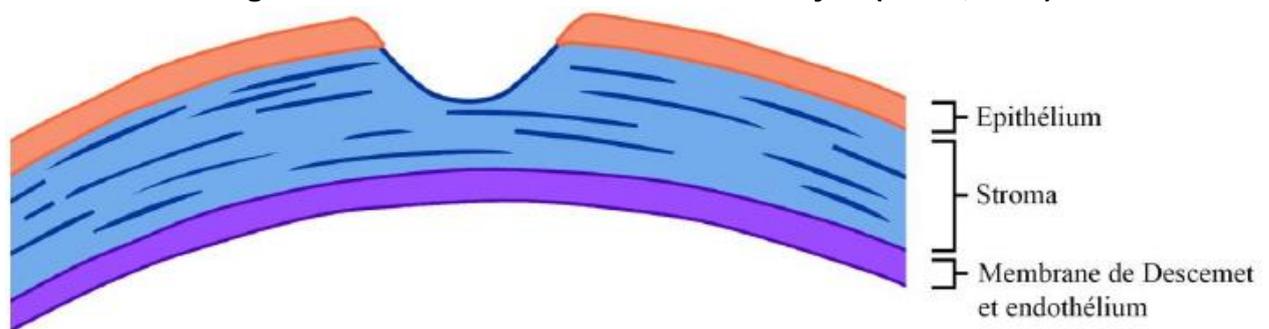
Ils peuvent être d'origine traumatique mais ils sont le plus souvent provoqués par la surinfection bactérienne d'une lésion cornéenne préexistante (Stades, 2007).

Ils sont classés selon leur profondeur en ulcères stromaux superficiels, moyens et profonds. Ils sont aussi classés selon leurs complications éventuelles. D'une part, les ulcères « simples » aussi dits « non progressifs » sont caractérisés par l'absence d'infection ou d'autre complication. Ce sont des ulcères peu profonds, bien circonscrits avec un œdème local. D'autre part, les ulcères « compliqués » aussi dits « progressifs » sont caractérisés par une infection et d'autres complications. Ce sont des ulcères moyens ou profonds. Ils sont associés à de la nécrose et à un œdème généralisé. Ils cicatrisent plus difficilement et ils altèrent la vision par la formation d'une cicatrice importante, de synéchies⁶ antérieures ou bien en conduisant à la perforation de la cornée (Kern, 1990 ; Whitley, 2000).

En l'absence d'un traitement efficace, les ulcères stromaux peuvent rapidement s'étendre en surface et en profondeur. Ils peuvent évoluer en quelques jours en descémétocèle ou vers la perforation, la panophtalmie et la perte totale de l'œil (Stades, 2007).

La prise en charge thérapeutique doit être immédiate. Pour les ulcères non compliqués, une prise en charge médicale intensive, par voie topique, avec des antibiotiques, des anti-collagénases et de l'atropine peut suffire. En revanche, pour les ulcères compliqués le traitement médical seul n'est pas toujours suffisant. Il peut être couplé à un *cross-linking*⁷ ou bien à une prise en charge chirurgicale (Whitley et Hamor, 2021).

Figure 28. Schéma d'un ulcère stromal moyen (Faure, 2018)



L'ulcère stromal associe la destruction totale de l'épithélium antérieur cornéen avec une perte, plus ou moins profonde, du stroma cornéen sous-jacent.

⁶ Une synéchie antérieure correspond à une adhérence anormale entre l'iris et la cornée. Une synéchie postérieure correspond à une adhérence anormale entre la capsule cristallinienne et la cornée.

⁷ Le *cross-linking* est une thérapie en cours de développement en médecine vétérinaire qui consiste à appliquer une solution de riboflavine sur la cornée puis à l'irradier pendant 30 minutes avec des UV-A. Cette procédure favorise la création de lésions covalentes entre les fibrilles de collagène du stroma cornéen et stimule ainsi la cicatrisation cornéenne.

Figure 29. Ulcère stromal moyen, chez un chien, unité ophtalmologie Chuv-Ac



Un ulcère stromal moyen a une forme de « cratère » et un aspect pâteux de couleur variant du jaune au vert. Ses marges sont épaissies et œdémateuses.

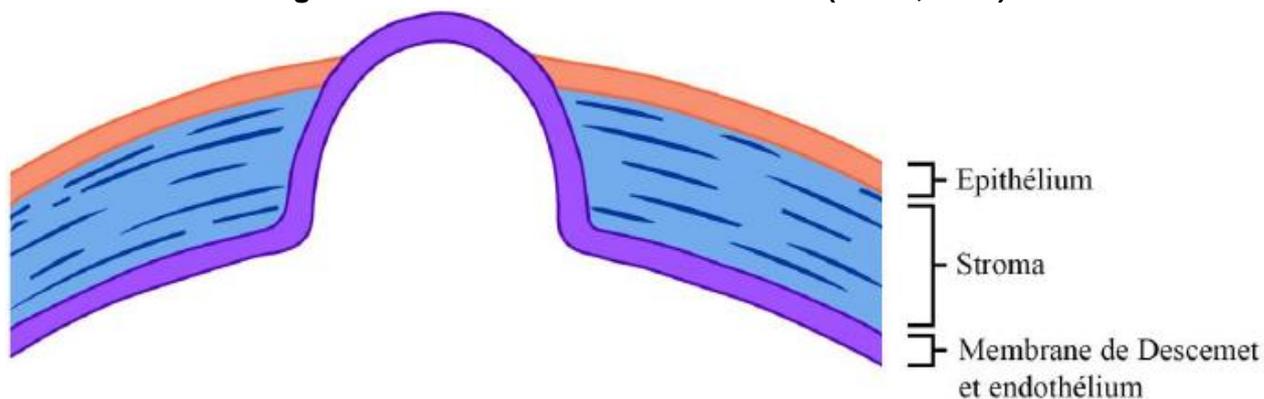
4. Descémétocèles

Comme le montre la figure 30, les descémétocèles correspondent à la perte totale de l'épithélium antérieur et du stroma cornéen. Ils provoquent l'exposition de la membrane de Descemet qui apparaît bombée sous la pression de l'humeur aqueuse (Kern, 1990) et qui peut parfois faire protrusion sous la forme d'une « ampoule » translucide si la surface atteinte est suffisamment importante (Stades, 2007). Ils ont l'aspect d'un ulcère profond dont le lit ne fixe pas la fluorescéine et dont les marges œdémateuses fixent la fluorescéine. La figure 31 donne un exemple de ce type d'ulcère cornéen (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

Ils sont parfois provoqués par un traumatisme seul mais sont, le plus souvent, causés par la dissolution enzymatique progressive du collagène stromal à la suite d'une surinfection bactérienne après un microtraumatisme ou un traumatisme initial (Stades, 2007).

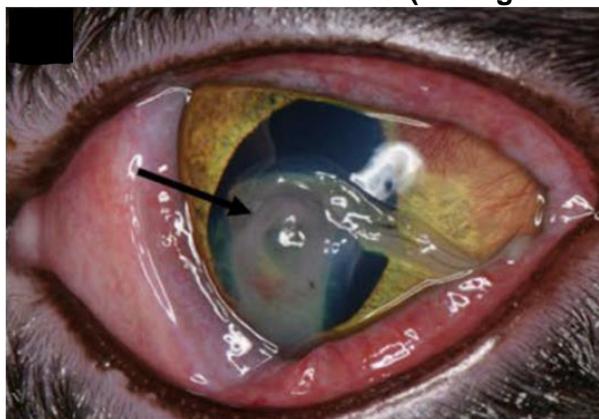
Le risque de perforation de la cornée est très élevé en cas de descémétocèle. Le traitement doit donc être précoce et intensif. Le traitement médical est similaire à celui de l'ulcère stromal profond. La prise en charge chirurgicale est obligatoire et doit être immédiate (Stades, 2007). L'évaluation du segment postérieur de l'œil doit toujours être réalisé pour déterminer le pronostic visuel après la chirurgie, pour cela l'examen avec l'ophtalmoscope est nécessaire (Whitley et Hamor, 2021).

Figure 30. Schéma d'un descémétocèle (Faure, 2018)



Une descémétocèle associe la perte totale de l'épithélium antérieur et du stroma cornéen. La membrane de Descemet fait protrusion à la surface du globe.

Figure 31. Desmécèle chez un chat (Rodriguez et al., 2021)



La membrane de Descemet fait protrusion à la surface de l'œil sous forme d'une « ampoule » lors de descémétocèle.

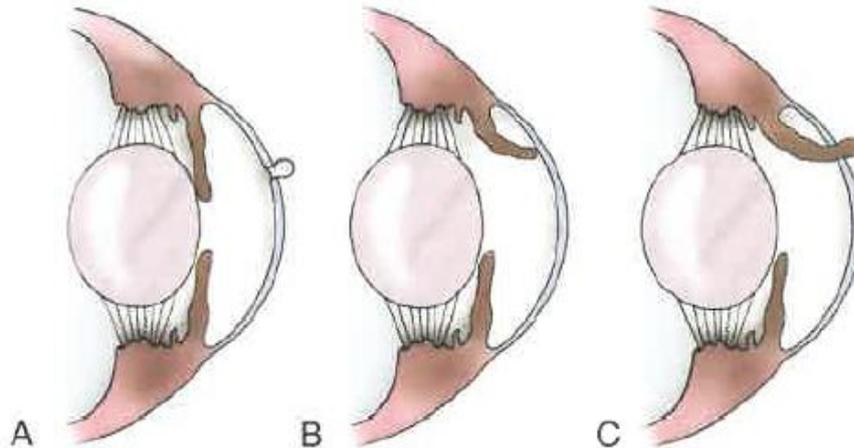
5. Perforation cornéenne

Les perforations cornéennes se produisent lors de la rupture de la membrane de Descemet (Kern, 1990). Elles sont souvent la conséquence d'un traumatisme direct perforant comme un coup de griffe. Elles peuvent également être la complication d'ulcères à collagénases (Stades, 2007).

Selon la taille de la perforation, plusieurs complications peuvent être observées comme l'indique la figure 32. Quand la perforation est de petite taille, elle est comblée par l'échappement d'une petite quantité d'humeur aqueuse qui coagule en surface. Quand la perforation est de plus grande taille, l'iris s'y engouffre. Il se forme une synéchie antérieure lorsque l'iris est incorporé dans la plaie en voie de cicatrisation. Il s'agit en revanche d'un prolapsus de l'iris, aussi appelé iridocèle, lorsque l'iris fait protrusion. L'iris apparaît noir, gris ou rouge selon la chronicité et la quantité de fibrine déposée à sa surface. La fibrine augmente le volume de l'iris et lui donne une forme de champignon. Par conséquent, l'évaluation de la lésion et de la difficulté du traitement est compliquée à réaliser. Le pronostic et le traitement ne doivent donc être déterminés qu'après avoir retiré l'excédent de fibrine et évalué l'étendue de la blessure. Un exemple d'iridocèle est représenté sur la figure 33. Une partie de l'uvée peut également faire protrusion à travers la brèche. Il s'agit alors d'un staphylome irien comme représenté sur la figure 34. En quelques heures, la lésion est recouverte par des caillots sanguins et un exsudat se forme (Marrion, 2008 ; Slatter et al., 2015a).

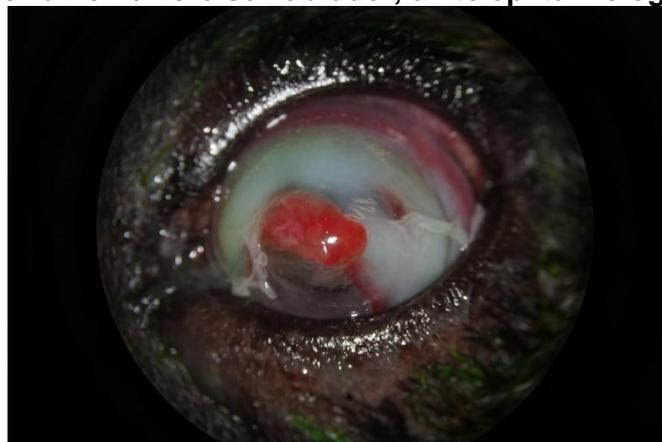
Les perforations cornéennes provoquent souvent une altération des structures intraoculaires et le risque d'infection intraoculaire est élevé. Le traitement chirurgical consiste à retirer la partie herniée si elle est présente puis à combler la perte de substance par une greffe. Le traitement médical est intensif. Il associe un antibiotique topique et systémique, des anti-inflammatoires par voie systémique, des cycloplégiques et des substituts lacrymaux (Martin *et al.*, 2005).

Figure 32. Schémas des complications potentielles de l'ulcère cornéen profond (Maggs, 2015a)



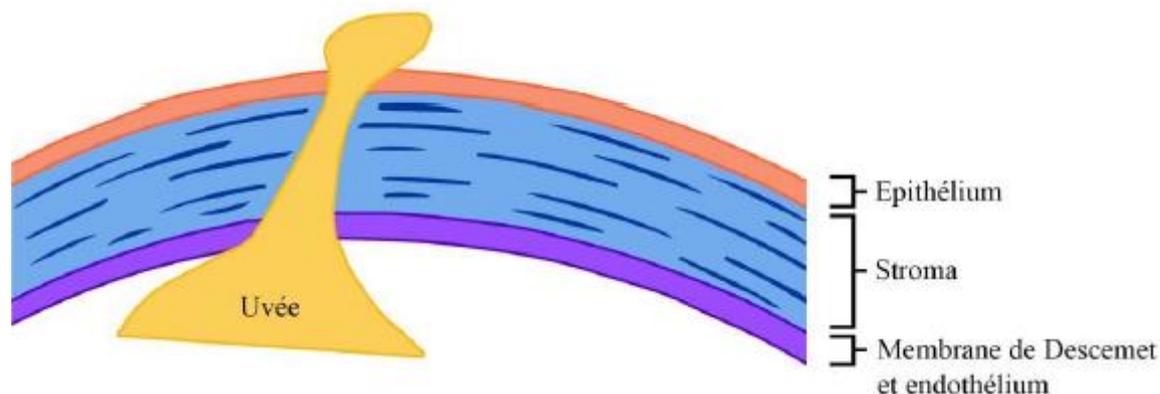
*Un ulcère cornéen profond peut avoir plusieurs complications :
(A) Descémétocèle (B) Synéchie antérieure (C) Prolapsus de l'iris*

Figure 33. Perforation cornéenne sur un ulcère à collagénases, iridocèle et bouchon de fibrine, chez un chien croisé Labrador, unité ophtalmologie Chuv-Ac



L'iridocèle correspond à un prolapsus de l'iris à travers la cornée lors d'ulcère cornéen perforant

Figure 34. Schéma d'un staphylome irien (Faure, 2018)



Le staphylome irien correspond à un prolapsus d'une partie de l'uvée à travers la cornée lors d'ulcère cornéen perforant.

B. Cicatrisation cornéenne

Un ulcère cicatrisé est un ulcère ré-épithélialisé qui ne retient plus la fluorescéine (Maggs, 2015a). Après une lésion cornéenne, la cicatrisation dépend de la profondeur de l'atteinte et de l'âge de l'animal. De façon générale, plus la couche cornéenne est profonde, moins ses capacités régénératives sont élevées. L'épithélium antérieur possède les meilleures capacités de régénération, le stroma des capacités intermédiaires et l'endothélium des capacités limitées voire nulles (Sanchez, 2014).

1. Cicatrisation épithéliale

L'épithélium antérieur possède de fortes capacités de régénération grâce au glissement et aux mitoses des cellules épithéliales (Dellmann, 1998). La cicatrisation épithéliale comprend trois phases : la migration, la prolifération et l'adhésion cellulaire qui sont représentées sur la figure 35 (Sanchez, 2014).

La première phase est la migration cellulaire. L'heure suivant la lésion cornéenne, les cellules épithéliales en marge de l'atteinte se rétractent et deviennent plus épaisses. Après une à trois heures, des GNs et de la fibrine colonisent la lésion et les hémidesmosomes situées en périphérie disparaissent. Les cellules superficielles desquament. Après une phase de latence de trois à six heures, les cellules glissent et migrent de façon centripète pour recouvrir la lésion. Puis, elles gonflent en se remplissant d'eau. Chez certains chiens, cette migration centripète des cellules est aussi responsable de la migration de pigments foncés depuis le limbe vers la région centrale de la cornée (Sanchez, 2014). La lésion est entièrement recouverte de cellules épithéliales donc les pathogènes ne peuvent plus pénétrer la cornée et la douleur et l'œdème cornéen disparaissent (Stades, 2007).

La seconde phase est la prolifération cellulaire. Les mitoses débutent 24 heures après la lésion et permettent de rétablir l'épaisseur initiale de l'épithélium. La majorité des cellules souches épithéliales sont des cellules localisées au niveau du limbe. Ces cellules subissent des mitoses, glissent vers le centre de la cornée et régénèrent les cellules de la couche basale. Lors de ce mouvement, des mélanocytes du limbe peuvent être transportés vers la cornée et provoquer le développement d'une mélanose, noire et bien délimitée, et donc d'une perte de transparence cornéenne. Ce phénomène s'observe surtout lors du syndrome oculaire des races brachycéphales (Carlins, Shi Tzu). Ensuite, les cellules basales de l'épithélium entrent en mitose et progressent vers la surface pour remplacer les cellules de la couche intermédiaire puis de la couche superficielle. La cicatrisation a donc lieu dans deux plans simultanément : le plan axial partant du

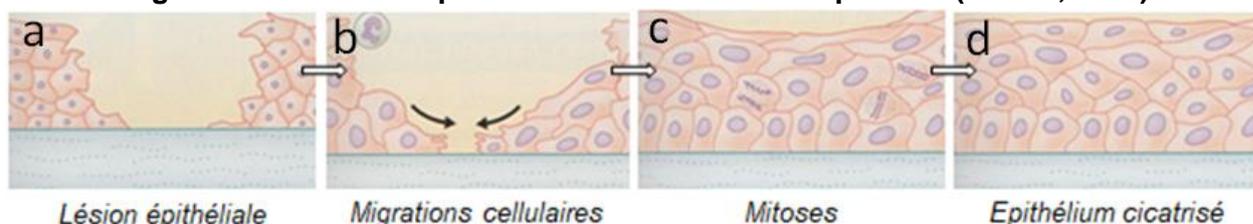
limbe et à évolution centripète ; et le plan superficiel partant de l'épithélium basal et évoluant vers la surface (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

La dernière phase est l'adhésion cellulaire. Les unités d'attachement ne sont produites qu'une fois le défaut totalement recouvert. Des hémidesmosomes sont formés en une semaine si la lame basale est intacte. Si elle est lésée, ils sont formés en six à sept semaines et au cours de ce délai, l'épithélium non attaché est plus à risque de développer une nouvelle lésion (Martin *et al.*, 2005).

De façon générale, la vitesse et la qualité de la cicatrisation dépend de la profondeur de la lésion épithéliale initiale. Les lésions très superficielles cicatrisent en 24 à 48 h sans laisser des cicatrices tandis que les lésions plus profondes cicatrisent en quatre à sept jours en laissant une cicatrice microscopique très peu profonde sous la forme de cellules basales positionnées de façon irrégulière (Stades, 2007 ; Sanchez, 2014).

Finalement, de nombreux facteurs régulent la migration, la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales. Il s'agit de l'EGF, du TGF β , du NGF (*Nerve growth factor*), de l'IGF (*Insulin-like growth factor*), du facteur de croissance des kératinocytes et de la substance P. Ces facteurs sont produits par les glandes lacrymales, les kératocytes et les nerfs cornéens (Khammari Chebbi *et al.*, 2008 ; Sanchez, 2014).

Figure 35. Schéma du processus de cicatrisation épithélial (Turner, 2008)



Lors de lésion, la cicatrisation de l'épithélium cornéen se fait en trois phases successives :

- (a) Lésion de l'épithélium cornéen antérieur
- (b) Colonisation de la lésion par des GNs (1 à 3 heures après la lésion) puis migration centripète des cellules épithéliales en périphérie pour combler la perte de substance (3 à 6 heures après)
- (c) Entrée en mitose des cellules souches du limbe cornéen puis migration vers le centre de la cornée afin de régénérer les cellules de la couche basale de l'épithélium cornéen (cicatrisation dans le plan axial) puis entrée en mitose des cellules de la couche basale et progression des cellules vers la surface pour remplacer les cellules de la couche intermédiaire puis de la couche superficielle (cicatrisation dans le plan vertical) (24h après la lésion)
- (d) Mise en place des hémidesmosomes entre les cellules de l'épithélium et aspect de l'épithélium antérieur cicatrisé (1 à 7 semaines après la lésion)

En cas de perte de l'épithélium cornéen ou du limbe, la cicatrisation se fait par migration de l'épithélium conjonctival sur la cornée. Une fois sur la cornée, l'épithélium conjonctival produit des cellules qui se différencient en six semaines en cellules épithéliales cornéennes mais la cornée perd sa transparence (Martin *et al.*, 2005).

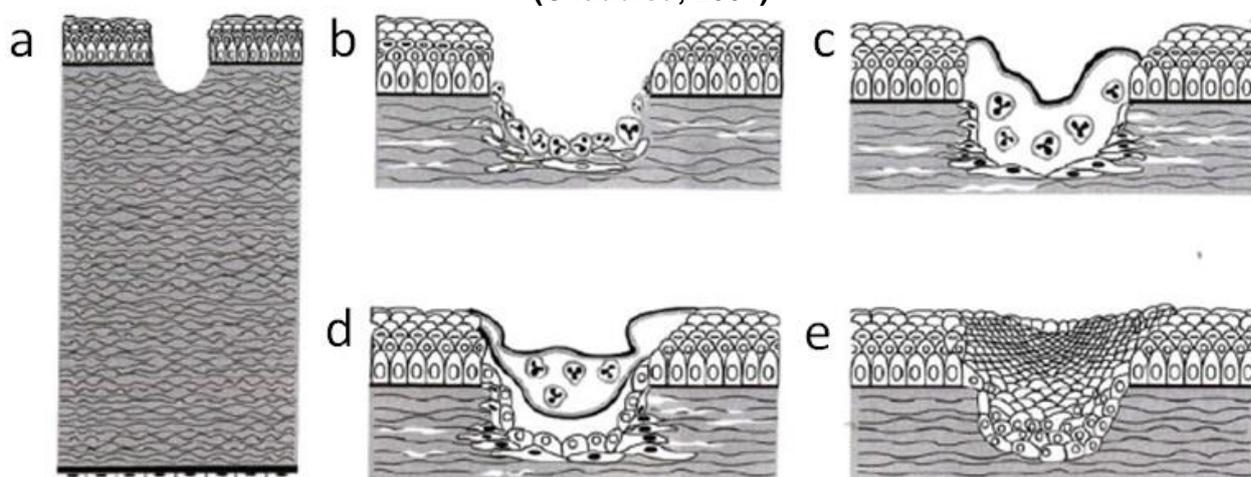
2. Cicatrisation stromale

Lorsque la lésion cornéenne atteint le stroma, de nouveaux processus cicatriciels entrent en jeu. Ces processus sont rapportés par la figure 36. Selon les cas, les lésions stromales peuvent cicatriser avec ou sans néovascularisation.

En quelques heures, des granulocytes neutrophiles, attirés par chimiotactisme et transportés par le film lacrymal, l'humeur aqueuse ou les vaisseaux limbiques, gagnent la lésion. Ils migrent ensuite dans le stroma cornéen, entourent et infiltrent la lésion qui est alors le siège d'un œdème

intense. Les cellules épithéliales en périphérie de la lésion migrent et se divisent, ce qui arrondit les marges de la lésion. Cependant, cela ne suffit pas à combler entièrement la perte de substance. Dans les heures qui suivent, les kératocytes situés dans la zone lésée et en bordure entrent en apoptose. En revanche, les kératocytes situés un peu plus loin s'activent, se transforment en fibroblastes, prolifèrent et migrent dans la plaie. Ils synthétisent du collagène et des GAGs. Les fibres de collagène néoformées sont irrégulières et altèrent la transparence cornéenne. Après deux à trois jours, la plaie est comblée par un tissu associant kératocytes, fibroblastes, fibres de collagène et MEC néoformés. Des macrophages envahissent la lésion et détruisent les débris cellulaires. Le tissu cicatriciel est initialement très médiocre car le rapport entre le collagène et les GAGs y est très différent de celui du tissu sain. En effet, le tissu cicatriciel est d'abord constitué de dermatane sulfate et non de kératane sulfate. Après 15 à 30 jours, le kératane sulfate est détecté, ce qui indique la transformation des fibroblastes en kératocytes. Trois mois sont ainsi nécessaires pour rétablir le taux normal de kératane sulfate. La résistance à la traction du tissu cicatriciel progresse lentement : seulement 50% de la résistance initiale est atteinte après 100 jours. Enfin, un « bouchon » épithélial se met en place en surface pour recouvrir le tissu stromal néoformé mais ce dernier ne permet pas non plus une forte résistance du tissu cicatriciel (Martin *et al.*, 2005 ; Maggs, 2015a).

Figure 36. Schéma du processus de cicatrisation stromal lors de lésion superficielle (Chaudieu, 2004)



Lors de lésion stromale superficielle, la cicatrisation cornéenne se fait en plusieurs étapes :
 (a) *Ulcère stromal superficiel*

(b) *Envahissement du site lésionnel par des GNs et des cellules épithéliales situées en périphérie de la lésion, ce qui arrondit les marges de la lésion.*

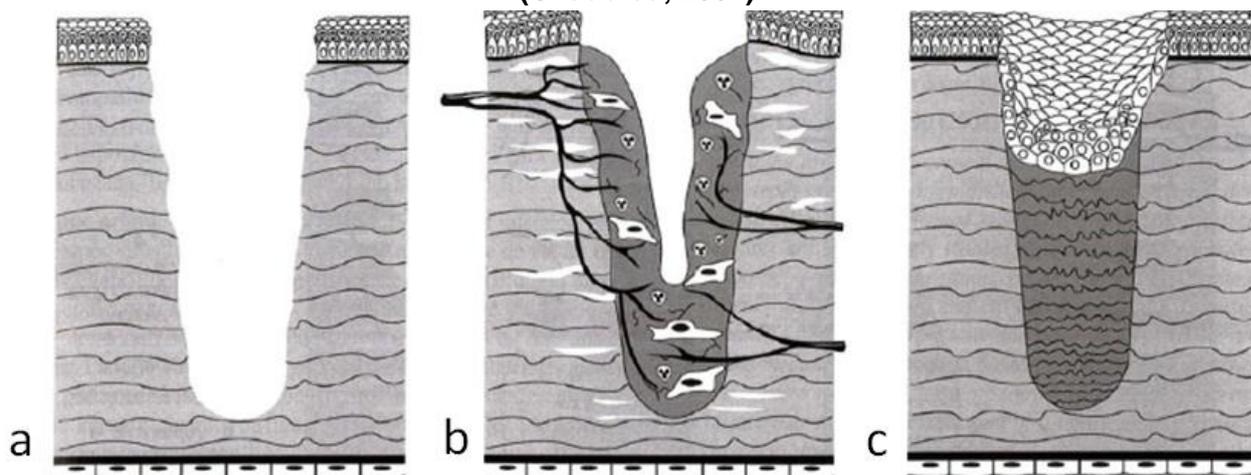
(c) *Lyse des kératocytes situés dans la zone lésée mais activation puis transformation en fibroblastes de ceux situés en périphérie de la lésion.*

(d) *Migration des fibroblastes dans la plaie. Ils y synthétisent du collagène et des GAGs.*

(e) *Mise en place d'un « bouchon » épithélial*

Lors de lésions plus sévères (profondes, infectées ou chroniques) une néovascularisation superficielle et/ou profonde se développe depuis le limbe. Ce processus est décrit sur la figure 37. Ces néovaisseaux transportent vers la lésion des leucocytes (dont des GNs) et plusieurs facteurs de croissance (Stades, 2007). Les GNs produisent des MMPs qui s'associent aux MMPs produites par les kératocytes et par les cellules épithéliales pour dissoudre le stroma lésé (Sanchez, 2014). Ainsi, la lésion est comblée par un tissu de granulation fibrovasculaire et le tissu cicatriciel est plus dense que lors de cicatrisation stromale avasculaire (Maggs, 2015a).

Figure 37. Schéma du processus de cicatrisation stromal lors de lésion profonde (Chaudieu, 2004)



Lors de lésion stromale profonde, une néovascularisation se développe :

(a) Ulcère stromal profond

(b) Développement d'une néovascularisation stromale superficielle et profonde permettant le transport de leucocytes et de facteurs de croissance vers la lésion et in fine la formation d'un tissu de granulation fibrovasculaire

(c) Tissu stromal cicatriciel dense recouvert d'un « bouchon » épithélial

La cicatrisation stromale peut prendre des années : comme l'épithélium guérit plus rapidement que le stroma, la lésion est recouverte d'un nouvel épithélium en dessous duquel le stroma se régénère lentement (Maggs, 2015a). Par ailleurs, plusieurs facteurs régulent la cicatrisation stromale et sa rapidité. Le TGF- β régule par exemple la synthèse du collagène et des GAGs (Khammari Chebbi *et al.*, 2008).

Contrairement aux ulcères superficiels dont la cicatrisation ne laisse aucune cicatrice macroscopiquement visible, une cicatrice blanche, appelée fibrose stromale, est présente sur la cornée lors d'ulcère stromal (Stades, 2007). En effet, la prolifération des fibroblastes interrompt l'alignement normal des lamelles de collagène dans le stroma et provoque l'opacification de la cornée. Ainsi, plus la lésion initiale est profonde, plus le tissu cicatriciel est dense et persistant. Dans certains cas, une inflammation excessive se développe et forme un tissu de granulation avec une cicatrice importante (Turner, 2008). Au fil du temps, le tissu cicatriciel régresse en partie mais le chien présente souvent une mélanose du tissu cicatriciel et des dépôts lipidiques autour de la cicatrice (Maggs, 2015a).

3. Cicatrisation de la membrane de Descemet et cicatrisation endothéliale

La membrane de Descemet possède une certaine élasticité et est sous tension. En cas de rupture, elle se rétracte et s'enroule sur elle-même. Le stroma est alors exposé à l'humeur aqueuse tant que la membrane de Descemet n'est pas totalement régénérée par les cellules endothéliales sous-jacentes. Cependant, après une lésion, la membrane de Descemet reforme rarement une couche complète : en général, une portion tuméfiée et œdémateuse du stroma persiste (Turner, 2008 ; Maggs, 2015a).

La cicatrisation endothéliale est très limitée puisque ses cellules ont de faibles capacités de régénération. Les cellules endothéliales sont pluripotentes, elles peuvent se différencier en cellules endothéliales, en fibroblastes ou en cellules épithéliales. Chez le chien adulte, la cicatrisation endothéliale se fait uniquement par migration et hyperplasie cellulaire et non par mitose. En effet, les cellules endothéliales ne se divisent plus une fois la cornée mature (Turner, 2008). La

cicatrisation endothéliale est donc meilleure chez le chiot (Martin *et al.*, 2005). Enfin si la densité des cellules endothéliales diminue sous le seuil de 500 à 800 cellules par millimètre carré, la cicatrisation devient impossible et l'œdème cornéen se développe (Maggs, 2015a).

4. Retard de la cicatrisation

La cicatrisation cornéenne nécessite un apport complet de nutriments, notamment de vitamine A et C qui stimulent la croissance des kératocytes. Un défaut d'apport conduit à un retard de cicatrisation (Stades, 2007).

La présence d'agents mécaniques irritants dans la cornée, comme les poils et les follicules pileux, les exsudats, les grains de sable, les cicatrices, les micro-organismes, les enzymes lytiques ou les corps étrangers, retarde aussi la cicatrisation (Stades, 2007).

Certains antibiotiques et certains agents employés lors du diagnostic retardent aussi la cicatrisation cornéenne (Stades, 2007 ; Maggs, 2015a) :

- La ciprofloxacine retarde fortement la cicatrisation de l'épithélium antérieur alors que la polymyxine, la néomycine et la gentamicine provoquent un retard modéré.
- Les corticostéroïdes appliqués par voie topique diminuent la néovascularisation, la mélanose et la fibrose stromale, ce qui améliore la transparence cornéenne. De plus, ils régulent les signes d'uvéite antérieure ce qui contribue au maintien de l'acuité visuelle. Néanmoins, les corticoïdes retardent la régénérescence de l'épithélium et de l'endothélium et le transport des cellules inflammatoires. Ils diminuent l'activité fibroblastique et, au contraire, ils augmentent l'activité des collagénases. Ils diminuent donc la résistance du tissu réparé. Enfin, ils réduisent les mécanismes de résistance aux agents infectieux. Par conséquent, ils ne doivent être employés qu'après avoir fait la balance entre leurs bénéfices et leurs risques et en prévenant leurs effets délétères. Ils sont indiqués si et seulement si l'infection est contrôlée, si un épithélium recouvre totalement la plaie et si l'intégrité structurelle de la cornée est maintenue.
- Les anesthésiques locaux peuvent retarder le processus d'épithélialisation, diminuer le réflexe de fermeture palpébral et causer une hypersensibilité très douloureuse. Ainsi, ils ne doivent être utilisés qu'à des fins diagnostiques.

Des modifications de la morphologie de la lame basale, notamment une diminution du nombre d'hémidesmosomes, retarde la cicatrisation et conduit au développement d'ulcères indolents chez le chien de race Boxer (Stades, 2007).

C. Etiologie des ulcères cornéens

Un ulcère cornéen se développe quand une rupture de l'épithélium antérieur cornéen se produit et expose les couches cornéennes plus profondes comme le stroma. Ainsi, il existe différentes causes d'ulcères cornéens chez le chien comme :

- les malformations palpébrales (lagophtalmie, distichiasis, ectopie ciliaire, masse palpébrale ;
- les corps étrangers cornéens, qu'ils aient adhéré à la surface de l'épithélium antérieur ou bien qu'ils aient pénétré dans ce dernier, le stroma ou plus profondément encore ;
- les traumatismes cornéens ;
- la kératoconjonctivite sèche ;
- les infections bactériennes (développées dans la suite de cette thèse), virales (notamment par l'herpesvirus canin de type I) ou fongiques (notamment *Aspergillus spp.*) de la cornée ;

- et les brûlures chimiques de la cornée qu'elles soient acides ou basiques (Whitley et Hamor, 2021).

III. Présentation des ulcères cornéens d'origine bactérienne

Comme abordé dans le II, il existe plusieurs causes d'ulcères cornéens (Marrion, 2008). Cependant, même lorsque la cause n'est initialement pas infectieuse, l'atteinte de l'intégrité de l'épithélium conduit souvent à une infection bactérienne secondaire (Asghari et Gharachorlou, 2011).

A. Etiologie

1. Flore résidente et transitoire de la cornée

La microflore conjonctivale et cornéenne se compose : d'une flore résidente qui est commensale et d'une flore transitoire qui regroupe des micro-organismes pathogènes. La flore résidente inhibe la prolifération des bactéries pathogènes en entrant en compétition avec celles-ci pour l'espace et les nutriments et en sécrétant des substances qui inhibent leur croissance. Les bactéries incriminées dans les ulcères cornéens sont donc, le plus souvent, des bactéries opportunistes qui prolifèrent quand la flore résidente est inhibée par une affection concomitante ou par l'application d'antibiotiques ou de corticoïdes sur le long terme (Asghari et Gharachorlou, 2011).

Le sac conjonctival du chien en bonne santé contient une flore microbienne variée qui peut potentiellement être pathogène. La composition de cette flore dépend de l'individu, de la région géographique, des saisons et des techniques de prélèvement, mise en culture et identification (Maggs, 2015a). Une étude menée en Australie sur 100 chiens rapporte que les sacs conjonctivaux de 22% d'entre eux ne contenaient pas de bactéries, 46% une seule souche bactérienne et 32% au moins 2 souches. Dans cette étude les bactéries gram positives étaient prédominantes, en particulier *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp. et *Corynebacterium* sp.. En revanche les bactéries gram négatives étaient isolées dans moins de 10% des cas et une seule bactérie anaérobie obligatoire était isolée : *Clostridium* sp. (McDonald et Watson, 1976). Une autre étude souligne également la prédominance des bactéries gram positives et en particulier celle des staphylocoques et des streptocoques. Les bactéries gram négatives isolées dans ce cas étaient *Pseudomonas* sp., *Neisseria* sp. et *E. coli* (Gaskin, 1980).

Moins fréquemment, le sac conjonctival peut contenir des organismes fongiques. Une étude menée sur des chiens en bonne santé vivant dans le sud de la France a isolé 14 genres fongiques différents des culs-de-sac-conjonctivaux de 22% des individus inclus dans l'étude. Les principaux genres isolés étaient *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* et *Aspergillus*. Cette flore fongique pourrait correspondre à une flore passagère issue de l'environnement ou être corrélée à la présence de champignons sur la peau, à proximité des yeux (Verneuil *et al.*, 2014).

2. Physiopathologie de la kératite bactérienne

Pour se multiplier et envahir la cornée, les bactéries doivent d'abord adhérer à sa surface. Les capacités d'adhérence varient selon les espèces de bactéries. L'adhésion nécessite à la fois des facteurs bactériens, comme la présence de fimbriae, et à la fois des récepteurs sur la cellule cible cornéenne. Les bactéries sont incapables d'adhérer aux cellules épithéliales cornéennes saines. Elles peuvent uniquement se lier aux cellules lésées, souvent après un traumatisme. Elles adhèrent aux récepteurs cellulaires exposés par la lésion ou bien à la fibronectine liée à la cellule lésée. Après avoir adhérees à la cellule, les bactéries sont endocytées par cette dernière, pénètrent le stroma et s'y multiplient de façon démesurée. Elles produisent ensuite des toxines et

des protéases qui participent à la dissolution du stroma (Kern, 1990 ; Martin *et al.*, 2005 ; Whitley et Hamor, 2021).

3. Bactéries fréquemment isolées

Chez le chien présentant un ulcère cornéen, les bactéries les plus fréquemment isolées sont des bactéries aérobies et les trois genres les plus fréquents sont : *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. et *Pseudomonas* spp. (Whitley et Hamor, 2021).

a) *Staphylococcus* sp.

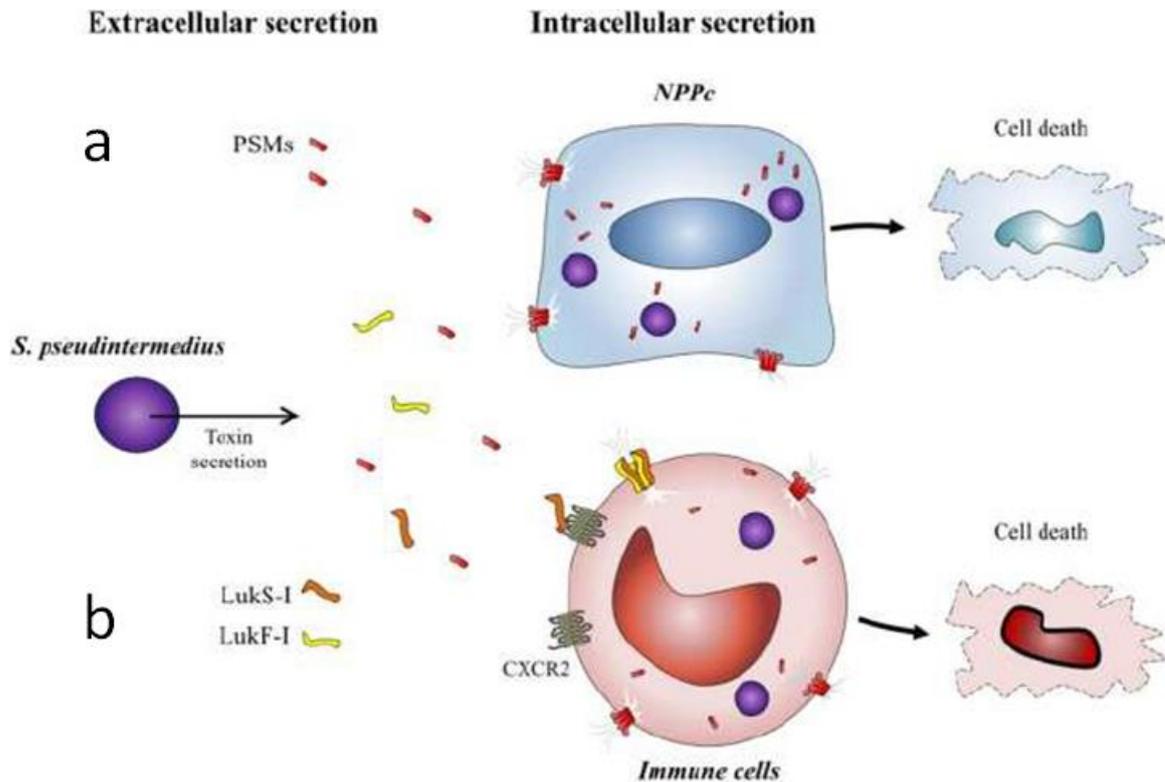
Les staphylocoques appartiennent à la famille des *Micrococcaceae* qui regroupe des bactéries aéro-anaérobies facultatives, sans spores et immobiles (Freney, 1994). Le genre *Staphylococcus* comporte 62 espèces (Bond et Loeffler, 2012). Il regroupe des coques gram positifs arrangés en amas plans, irréguliers, pigmentés ou non et possédant une catalase (Hauduroy *et al.*, 1937). Les colonies sont convexes, opaques, blanches à jaunâtres, d'aspect crémeux et mesurent un à trois millimètres de diamètre après 24 heures d'incubation (Freney, 1994). La majorité des espèces de staphylocoques pathogènes possèdent la coagulase (CoPS), une enzyme qui catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine. Les staphylocoques qui ne possèdent pas la coagulase (CoNS) sont des pathogènes mineurs à l'origine d'infections opportunistes (Bond et Loeffler, 2012).

Les staphylocoques sont des bactéries résidentes de la flore cutanée et des muqueuses chez le chien (Bond et Loeffler, 2012). Ils sont isolés chez 80% des chiens sains (Maali *et al.*, 2018).

Le staphylocoque majoritairement isolé lors d'ulcère cornéen chez le chien est *S. pseudintermedius* mais *S. aureus* est aussi décrit. *S. pseudintermedius* est un pathogène opportuniste retrouvé sur la peau, dans les oreilles et sur des blessures cutanées (Lehner *et al.*, 2014). Il provoque des infections sévères, la destruction et la nécrose profonde des tissus. Il est isolé lors de pyodermatite, de fasciite nécrosante ou d'otite. Son pouvoir pathogène repose sur de nombreux facteurs (Maali *et al.*, 2018) :

- la sécrétion d'enzymes protéolytiques comme des coagulases et des protéases,
- la sécrétion de la protéine A qui participe à la destruction de la MEC, et la sécrétion de différentes toxines cytotoxiques, responsables de la virulence. Cette sécrétion de toxines cytotoxiques est illustrée par la figure 38.

Figure 38. Schéma de l'action des toxines produites par *S. pseudintermedius* sur les cellules hôtes (Maali et al., 2018)



Lors de son invasion cornéenne, *S. pseudintermedius* produit des toxines cytotoxiques.
 (a) Sécrétion intra- et extracellulaire de toxines cytotoxiques nommées PSMs (Phenol soluble modulins –modulines solubles dans le phénol) se fixant à la fois sur les cellules non immunitaires (NPPc) et sur les cellules immunitaires (GNs, macrophages) sans interagir avec un récepteur cellulaire et provoquant la lyse et la mort de ces cellules.
 (b) Sécrétion extracellulaire de la toxine cytotoxique, la leucocidine, composée de deux parties, LukS-I et LukF-I se fixant au récepteur CXCR2, présent uniquement sur les cellules immunitaires et provoquant la lyse et la mort de ces cellules.

Dans le passé, la majorité des infections à *S. pseudintermedius* étaient traitées avec des antibiotiques à large spectre. Aujourd'hui, cela n'est plus possible à cause de l'émergence de souches de *S. pseudintermedius* résistantes à la méticilline : les MRSP (Beever *et al.*, 2015). Cette résistance repose sur le gène *mecA* du chromosome bactérien. Il code pour une protéine cellulaire modifiée, la protéine de liaison à la pénicilline 2a (PBP2a, *Penicillin-binding protein 2a*), qui se lie à la pénicilline, diminue son affinité pour la bactérie et la rend inefficace (Bond et Loeffler, 2012 ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Suter *et al.*, 2018). Les MRSP sont donc résistants à tous les antibiotiques de la famille des β -lactamines (Lehner *et al.*, 2014). Ils sont présents chez des chiens sains, sans aucun signe d'infection et sans historique de traitement antibiotique récent. Ces chiens sont donc des réservoirs qui participent à la diffusion des MRSP dans l'environnement (dont les cliniques vétérinaires) et vers d'autres animaux et l'homme puisque la bactérie peut se transmettre de l'animal à l'homme et vice-versa (Kjellman *et al.*, 2015).

Parfois les staphylocoques sont des bactéries multi-résistantes, c'est-à-dire qu'ils résistent à au moins trois autres classes d'antibiotiques en plus des β -lactamines : aminoglycosides, macrolides, lincosamides, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprime ou fluoroquinolones. Contre ces bactéries multi-résistantes, les antibiotiques à large spectre sont tous inefficaces

(Lehner *et al.*, 2014). Par conséquent, la culture bactérienne associée à la réalisation d'un antibiogramme doit être systématique pour minimiser l'emploi d'antibiotiques inappropriés (Beever *et al.*, 2015).

In fine, le traitement antibiotique de choix lors d'infection par des staphylocoques dépend de la sensibilité de la souche à la méticilline. Pour les souches sensibles, l'association d'une β -lactamine, comme l'oxacilline ou la cloxacilline, avec un aminoside est efficace. En revanche, les souches résistantes à la méticilline sont également souvent résistantes aux aminosides et aux quinolones. Le traitement doit alors associer un glycopeptide comme la vancomycine et un autre antibiotique : acide fusidique, chloramphénicol, cotrimoxazole, fosfomycine ou rifampicine (Freney, 1994) et amikacine, vancomycine, teicoplanine et linezolid (Bond et Loeffler, 2012). Cependant, tous ces antibiotiques ne sont pas autorisés en médecine vétérinaire en France, en particulier la vancomycine ne l'est pas.

b) *Streptococcus* sp.

Les streptocoques appartiennent à la famille des *Streptococcaceae* qui regroupe des coques gram positifs, aéro-anaérobies facultatives, sans catalase, sans cytochrome, sans spores et immobiles. Les streptocoques sont des cellules ovoïdes qui mesurent moins de deux micromètres de diamètre et qui sont disposées en paires ou en chaînettes, courtes ou longues selon les espèces. Ce sont des bactéries homofermentaires qui produisent uniquement de l'acide lactique lors de la fermentation du glucose. Les colonies sont petites, diffuses, convexes ou mucoïdes et translucides en surface (Hauduroy *et al.*, 1937 ; Freney, 1994).

Le genre *Streptococcus* regroupe plus de 100 espèces réparties en 4 ensembles : les streptocoques pyogènes ; les streptocoques oraux ; les streptocoques du groupe D ; et les streptocoques non classés. Les streptocoques les plus pathogènes sont les streptocoques β -hémolytiques (responsables d'une hémolyse totale sur gélose au sang) alors que les streptocoques α -hémolytiques (responsables d'une hémolyse partielle) et non hémolytiques sont les moins pathogènes (Freney, 1994). Or, chez le chien atteint d'ulcère cornéen, la majorité des streptocoques isolés sont des streptocoques β -hémolytiques (Auten *et al.*, 2020).

L'ensemble des streptocoques pyogènes regroupe des streptocoques β -hémolytiques classés selon un antigène de groupe (classification de Lancefield), les plus importants en terme de pathogénicité sont ceux du groupe A (*S. pyogenes*), du groupe B (*S. agalactiae*), du groupe C (*S. equi*) et du groupe G (*S. canis*) (Freney, 1994).

Streptococcus canis est un streptocoque pyogène, β -hémolytique, appartenant au groupe G. C'est un pathogène opportuniste chez le chien, naturellement isolé sur la peau, dans l'appareil génital, gastro-intestinal, auriculaire et amygdalien. C'est un agent pathogène impliqué dans le développement de kératites mais aussi d'infections du tractus urinaire et de l'appareil respiratoire, d'otites externes, d'endocardites, de fasciite nécrosante, de septicémie et de choc toxique. C'est une bactérie zoonotique parfois transmise du chien à l'homme *via* une morsure. *S. canis* présente plusieurs facteurs de virulence : une protéine analogue de la protéine M sécrétée par *S. pyogenes* qui possède une forte activité anti-phagocytaire et la streptolysine O (Sykes, 2014 ; Enache *et al.*, 2020).

In fine, le traitement antibiotique de choix lors d'infection par des streptocoques repose sur l'utilisation de bétalactamines comme les céphalosporines ou de phénicolés comme le chloramphénicol. Cependant, certains auteurs ont montré l'émergence de résistances des streptocoques au chloramphénicol (Guyonnet *et al.*, 2020).

c) *Pseudomonas* sp.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie gram négative fréquemment isolée lors d'ulcères cornéens chez le chien (Hindley *et al.*, 2016 ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Auten *et al.*, 2020 ; Tsvetanova *et al.*, 2021). Il s'agit d'une bactérie omniprésente dans l'environnement et d'un pathogène opportuniste faisant partie de la flore commensale oculaire (Leigue *et al.*, 2016). Cependant, dans certaines études elle reste moins fréquemment isolée (Guyonnet *et al.*, 2020).

P. aeruginosa appartient à la famille des *Pseudomonadaceae* et au genre *Pseudomonas* qui regroupe des bâtonnets gram négatifs, aérobies stricts, ne formant pas de spores et mobiles grâce à des cils polaires. Elle mesure entre 1,5 et 3 micromètres de long et 0,5 micromètres de large et possède des extrémités arrondies. Elle peut être sous forme isolée, par paires ou en courte chaînette. Les colonies sont rondes, lisses, brillantes, convexes au centre et striées en périphérie. *P. aeruginosa* produit trois sortes de pigments : la pyoverdine, pigment vert fluorescent exigeant pour sa production la présence de phosphates et de sulfates et devenant jaune-brun par oxydation ; un pigment jaune-vert devenant rouge par oxydation ; et la pyocyanine, seul pigment caractéristique de la bactérie, pigment bleu devenant rouge-brun en s'oxydant. *P. aeruginosa* est capable de survivre et de se multiplier dans de nombreuses conditions environnementales : elle survit longtemps dans le milieu extérieur et dans les milieux de culture. Elle est assez résistante aux antiseptiques mais est détruite en une heure à 55°C (Hauduroy *et al.*, 1937).

Il existe deux phénotypes de *P. aeruginosa* : un type cytotoxique extracellulaire et un type capable de pénétrer dans la cellule cornéenne et d'y survivre sans provoquer sa lyse (Ledbetter et Scarlett, 2008). *P. aeruginosa* possède de nombreux facteurs de pouvoir pathogène (Leigue *et al.*, 2016)

- Ses protéases qui détruisent rapidement le stroma, la membrane basale de l'épithélium antérieur et les mucines du film lacrymal. Elles donnent un aspect glaireux à l'ulcère. Il s'agit de l'élastase qui clive le collagène de type III et IV et de la lamine qui clive le collagène de type I. L'élastase en particulier active la MMP-2 et la MMP-9.
- Ses hémolysines contribuent à l'invasion et à la destruction des tissus.
- La pyocyanine inhibe la capture d'O₂ par les cellules cornéennes et participe à la destruction tissulaire.

Le traitement des infections à *P. aeruginosa* nécessite une antibiothérapie topique agressive. Les antibiotiques efficaces sont l'amikacine, la gentamicine, la norfloxacine et la polymyxine (Leigue *et al.*, 2016). Cependant, le pourcentage de *P. aeruginosa* résistant aux antibiotiques, dont les β -lactamines, les aminoglycosides mais aussi les fluoroquinolones, ne cesse d'augmenter (Subedi *et al.*, 2018).

4. Autres micro-organismes isolés

D'autres bactéries aérobies sont isolées lors d'ulcère cornéen chez le chien comme : *Acinetobacter* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Micrococcus* spp., *Pantoea* spp. et *Proteus* spp. (Whitley et Hamor, 2021).

Les bactéries anaérobies obligatoires sont plus rarement identifiées. Dans l'étude de Ledbetter et Scarlett, ces dernières n'ont été isolées que chez 14% des chiens présentant une kératite ulcéreuse. Il s'agissait d'*Actinomyces* spp., *Bactérioides* spp., *Capnocytophaga* spp., *Clostridium* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptococcus* spp., et *Peptostreptococcus* spp.. Ces bactéries anaérobies sont majoritairement présentes lors de co-infections avec des bactéries aérobies, lors d'anomalies préexistantes de la cornée ou lors de maladie dermatologique chronique (Ledbetter et Scarlett, 2008).

Selon la localisation géographique, des champignons sont parfois isolés lors d'ulcère cornéen chez le chien. Il s'agit le plus souvent d'*Aspergillus* spp.. D'autres microorganismes fongiques ont toutefois été isolés lors d'ulcère cornéen chez le chien : *Acremonium* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillata* spp., *Candida* spp., *Cephalosporium* spp., *Chrysosporium* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Hormographiella* spp., *Penicillium* spp., *Phialemonium* spp., *Pseudoallescheria* et *Scedosporium* spp.. Ces champignons sont principalement retrouvés chez des chiens ayant reçu un traitement antibiotique ou antiinflammatoire stéroïdien à long terme ou bien ayant des antécédents de traumatisme oculaire (Whitley et Hamor, 2021).

B. Physiopathologie

1. Collagénolyse physiologique

Le renouvellement de la MEC du stroma cornéen est permis par l'équilibre entre sa synthèse, sa dégradation et son réarrangement. La cicatrisation cornéenne est un processus complexe où interagissent plusieurs éléments : des protéases, des facteurs de croissance et des cytokines, produits par les cellules épithéliales, les kératocytes, les cellules inflammatoires et les glandes lacrymales. De nombreuses interactions autocrines et paracrines ont lieu entre les cellules épithéliales et les fibroblastes stromaux. Des interactions exocrines ont également lieu via les facteurs sécrétés par les glandes lacrymales (Ollivier *et al.*, 2007).

Les protéases sont des enzymes protéolytiques qui dégradent les composants stromaux. Les protéases endogènes sont produites par les cellules résidentes de la cornée comme les cellules épithéliales et les kératocytes, et par les cellules inflammatoires comme les GNs et les macrophages (Ollivier *et al.*, 2007). Elles appartiennent à deux catégories (Vanore *et al.*, 2007) :

- les métalloprotéases matricielles (MMPs) comme la MMP-2 et la MMP-9,
- et les sérines protéases comme l'élastase produite par les GNs qui est capable de lyser le collagène de type III et IV, la laminine et la fibronectine.

Les MMPs sont des endoprotéases contenant un ion zinc et dépendantes du calcium. Elles interviennent dans plusieurs processus physiologiques dont le remodelage tissulaire. Elles agissent aussi lors de processus pathologiques dont les cancers, l'angiogenèse et la cicatrisation des plaies. Ces enzymes sont produites par les kératocytes et les leucocytes. En temps normal, elles existent sous forme de pro-enzyme ou bien sous forme latente. Leur activation provoque une dissolution rapide du stroma (Martin *et al.*, 2005). Il existe plus de vingt MMPs différentes qui sont différenciées par leur substrat. Ainsi, elles forment quatre familles enzymatiques (Couture, 2006) :

- les collagénases (MMP-1) qui dégradent le collagène de type I, II et III,
- les gélatinases A (MMP-2) et B (MMP-9) qui détruisent les fibres de collagène dénaturées,
- les stromelysines (MMP-3) non spécifiques mais qui activent d'autres MMPs,
- et les MMPs membranaires (MT-MMPs) qui interviennent dans les interactions paracellulaires.

La MMP-2 est synthétisée par les kératocytes. Présente sous forme latente dans la cornée, elle joue un rôle de surveillance. Lorsque la cornée est endommagée, sa quantité augmente, elle est activée et dégrade le collagène (Ollivier *et al.*, 2007).

La MMP-9 est synthétisée par les cellules épithéliales et les GNs lors de blessure cornéenne. Elle est donc uniquement présente au sein d'une cornée lésée (Ollivier *et al.*, 2007).

Des inhibiteurs des protéases sont présents dans le film lacrymal et dans la cornée. Il s'agit de l'inhibiteur de la protéase $\alpha 1$, de la macroglobuline $\alpha 2$ et de certains inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases matricielles (TIMPs) (Ollivier *et al.*, 2007).

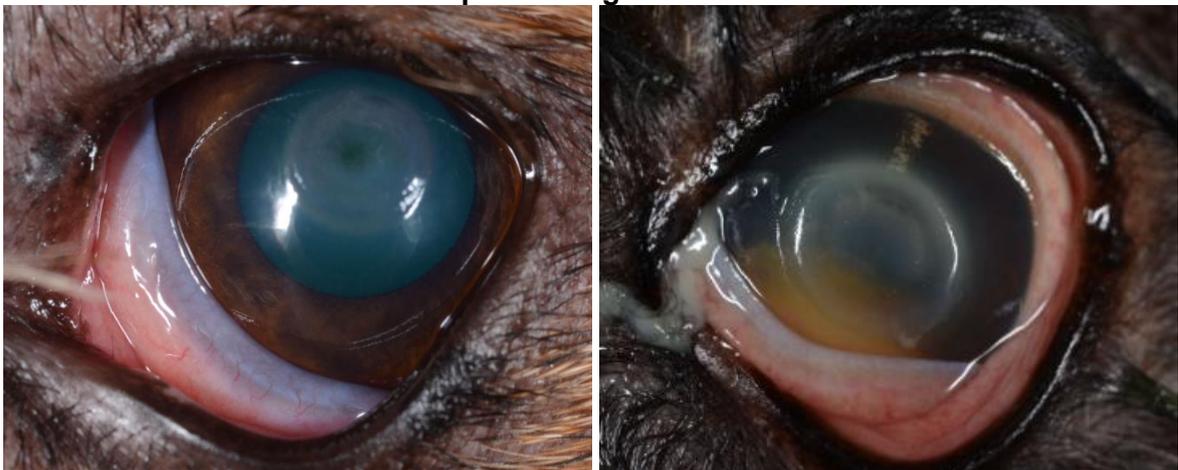
Lors du processus cicatriciel normal, le remodelage du collagène augmente grâce à l'activation des MMPs. Cependant leur activité lytique est limitée par l'action des inhibiteurs de protéases, ce qui prévient la dégradation excessive du stroma (Vanore *et al.*, 2007 ; Ollivier *et al.*, 2007).

Le niveau d'activité protéolytique du film lacrymal est corrélé à la cicatrisation cornéenne. En effet, il augmente après une lésion cornéenne. Puis, au cours de la cicatrisation cornéenne, il diminue. Ainsi, le niveau d'activité protéolytique du film lacrymal est révélateur de l'efficacité du traitement mis en place. Un traitement efficace provoque sa diminution rapide alors qu'il reste très élevé en cas d'ulcère réfractaire (Ollivier *et al.*, 2007).

2. Collagénolyse pathologique

Les ulcères à collagénases sont caractérisés par la dissolution rapide du stroma. Ce processus est nommé kératomalacie. Ils ont un aspect blanchâtre et gélatineux. La structure du stroma y est très altérée : perte de l'architecture lamellaire, de la biréfringence et collapsus des tissus à cause de leur liquéfaction. Un exemple de l'aspect macroscopique de ces ulcère est donné figure 39 (Whitley et Hamor, 2021).

Figure 39. Ulcères cornéens à collagénases, Jack Russel (gauche) et chien croisé (droite), unité ophtalmologie du Chuv-Ac



Un ulcère cornéen à collagénases présente un aspect gélatineux et blanchâtre expliqué par le processus de kératomalacie.

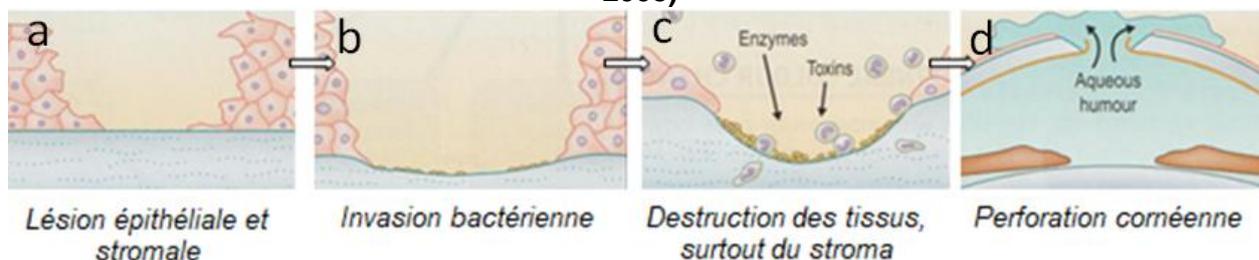
La kératomalacie est une complication des ulcères d'origine bactérienne ou mycosique qui apparaît lors d'un déséquilibre entre l'activité des protéases et celle de leurs inhibiteurs, en faveur des protéases. Ce déséquilibre provoque la dégradation de tous les composants du stroma : collagène, protéoglycanes et autres composants de la MEC (Ollivier *et al.*, 2007).

Comme en témoigne la figure 40, les lésions cornéennes sont provoquées par les protéases endogènes et par les protéases exogènes, c'est-à-dire les enzymes protéolytiques libérées par les bactéries et les champignons infectant la cornée. Par exemple, *P. aeruginosa* libère les élastases A et B ; la protéase alcaline ; la protéase IV ; et l'élastase modifiée, qui dissolvent le stroma. Elle peut aussi activer les MMPs endogènes et provoquer ainsi la destruction du stroma de façon indirecte. En l'absence de traitement, *P. aeruginosa* peut provoquer la dissolution totale du stroma en 24 à 48 heures et induire une descémétocèle ou une perforation cornéenne (Martin *et al.*, 2005). D'autres bactéries comme les streptocoques libèrent aussi des collagénases. Certains champignons, comme *Aspergillus sp.* et *Fusarium sp.*, produisent des sérines protéases (Whitley et Hamor, 2021).

La réponse immunitaire est aussi fondamentale dans le développement des ulcères à collagénases. En effet, l'infection cornéenne induit le recrutement de cellules inflammatoires qui sont une source d'enzymes collagénolytiques. Ainsi, les enzymes lysosomiales des GNs provoquent davantage de dégâts que celles libérées par *P. aeruginosa*. Par conséquent, les

traitements qui inhibent le fonctionnement de la cyclo-oxygénase et qui augmentent l'activité des GNs accélèrent l'ulcération de la cornée, au même titre que l'administration de corticoïdes par voie topique car ils potentialisent l'activité des protéases (Martin *et al.*, 2005).

Figure 40. Schéma du processus de développement d'un ulcère à collagénases (Turner, 2008)



- (a) Ulcère cornéen atteignant l'épithélium antérieur et le stroma
 (b) Invasion et multiplication des bactéries opportunistes pathogènes sur le site lésionnel
 (c) Dégradation de tous les composants stromaux (collagène, protéoglycanes, MEC) car l'activité des protéases endogènes (libérées par les cellules inflammatoires comme les GNs) et exogènes (libérées par les bactéries et champignons) dépasse celle de leurs inhibiteurs
 (d) Stade évolutif ultime de l'ulcère à collagénases : perforation de la cornée lorsque la totalité des composants stromaux sont lysés

C. Epidémiologie

Chez le chien, les facteurs de risque de développement d'ulcères à collagénases sont : les traumatismes oculaires directs, les anomalies de conformation des structures oculaires (exophtalmie, lagophtalmie, macroblépharon⁸, entropion, trichiasis, distichiasis, cils ectopique, tumeur palpébrale) et la présence d'une kératoconjonctivite sèche (KCS) ou d'autres défauts qualitatifs du film lacrymal (Famose, 2014 ; Costa *et al.*, 2019). Des comorbidités potentialisent souvent la pathogénicité des micro-organismes comme une baisse d'excrétion des larmes, une exposition aux rayons UV ou une maladie systémique immunosuppressive comme le diabète sucré et la maladie de Cushing (Martin *et al.*, 2005).

Par conséquent, certaines races de chien sont particulièrement à risque. Il s'agit des chiens brachycéphales et en particulier des Carlins, des Bouledogues français, des Shih Tzu et des Pékinois, ces races souffrant souvent d'une diminution de la sensibilité cornéenne, de KCS et d'anomalies des structures oculaires, qui augmentent le risque de développement d'ulcère cornéen à collagénases (Suter *et al.*, 2018).

En particulier, les facteurs de risque d'infection par un MRSP sont des visites régulières chez le vétérinaire, une hospitalisation précédente de l'animal et la réalisation de traitements topiques auriculaires ou par les corticoïdes (Lehner *et al.*, 2014). De plus, une étude a montré que les MRSP adhèrent mieux aux cornéocytes des chiens atteints de dermatite atopique et des chiens souffrant de prurit. Ils sont plus fréquemment isolés chez les chiens ayant reçu un traitement antibiotique pour une infection à un pathogène qui n'est pas un MRSP et chez les chiens ayant subi une intervention chirurgicale (Kjellman *et al.*, 2015).

La prévalence des infections oculaires à bactéries gram négatives augmente avec la réalisation de traitements antérieurs (Martin *et al.*, 2005). En particulier, les facteurs de risque d'une infection oculaire par *P. aeruginosa* sont : une baisse de l'immunité, une maladie oculaire

⁸ Un macroblépharon est une anomalie des paupières provoquant une diminution de la fente palpébrale.

concomitante (KCS, uvéite antérieure, kératite pigmentaire), et une blessure ou une chirurgie oculaire récente (Subedi *et al.*, 2018).

D. Diagnostic

Un examen ophtalmologique complet permet au vétérinaire de mettre en évidence les signes fonctionnels et lésionnels de l'ulcère cornéen mais aussi d'autres anomalies oculaires qui y sont potentiellement associées. Cet examen doit comprendre, dans cet ordre, un examen microbiologique, l'estimation des réflexes cornéens et palpébraux, un test de Schirmer, un examen complet de l'anatomie et de la fonction des structures oculaires et enfin un test à la fluorescéine. C'est ce dernier test qui permet *in fine* de diagnostiquer l'ulcère cornéen (Maggs, 2015a).

1. Signes fonctionnels

Lors d'ulcère cornéen, le chien présente des signes de douleur oculaire : enophtalmie, prociptence de la membrane nictitante, blépharospasme, épiphora et photophobie (Martin *et al.*, 2005).

Les signes fonctionnels dépendent de la profondeur de l'ulcère. En cas d'ulcère superficiel, le chien souffre d'une douleur oculaire très vive alors qu'en cas d'ulcère plus profond, la douleur est moins importante (Meyer, 2008). Néanmoins, en cas d'ulcère perforant, le blépharospasme devient très intense (Marion, 2008).

En raison de cette douleur oculaire, la troisième paupière peut faire protrusion et rendre l'examen difficile (Turner, 2008). L'emploi d'un anesthésique par voie topique ou bien la sédation de l'animal est ainsi nécessaire afin de mener à bien l'examen ophtalmologique (Turner, 2008).

2. Signes lésionnels

Lors d'ulcère cornéen, la surface cornéenne, normalement lisse et transparente, présente une irrégularité et des degrés variables d'opacification correspondant à des foyers d'œdème, bleuté et aux limites indistinctes, ou à des infiltrats leucocytaires, verts jaunâtres avec des limites indistinctes. Les ulcères datant de plus de trois à six jours présentent une néovascularisation rouge, superficielle ou profonde (Martin *et al.*, 2005). Un myosis et un effet Tyndall peuvent être observés en cas d'uvéite antérieure, ainsi qu'un hypopion ou un hyphéma, dans les cas les plus graves (Chahory, 2019).

Les signes lésionnels dépendent de la profondeur de l'ulcère. En cas d'ulcère superficiel ou stromal, la cornée est irrégulière et plus ou moins opacifiée par l'œdème et l'infiltration leucocytaire qu'elle subit. En cas de descémétocèle, la membrane de Descemet apparaît lisse, non œdémateuse et ne retient pas la fluorescéine. En cas d'ulcère perforé, de la fibrine, parfois accompagnée d'un prolapsus de l'iris, envahit le lit de l'ulcère (Marrion, 2008).

Los d'ulcère à collagénases l'aspect de la cornée est caractéristique : le stroma apparaît ramolli, gélatineux et blanchâtre à cause du processus de kératomalacie (Dubielzig, 2010). Ces ulcères surinfectés sont aussi associés à des écoulements mucopurulents ou purulents (Martin *et al.*, 2005).

3. Recherche d'anomalies oculaires associées à l'ulcère

L'examen ophtalmologique ne doit pas se limiter à l'étude de l'ulcère cornéen. Il doit également chercher à identifier des facteurs prédisposants comme la présence de malimplantation ciliaire ou d'un entropion. Le sac conjonctival doit être examiné avec attention pour détecter un potentiel corps étranger qui pourrait y être logé. Le test de Schirmer doit être réalisé afin de mettre en évidence une potentielle KCS, dans la mesure du possible ; sinon il sera réalisé dès que la cornée

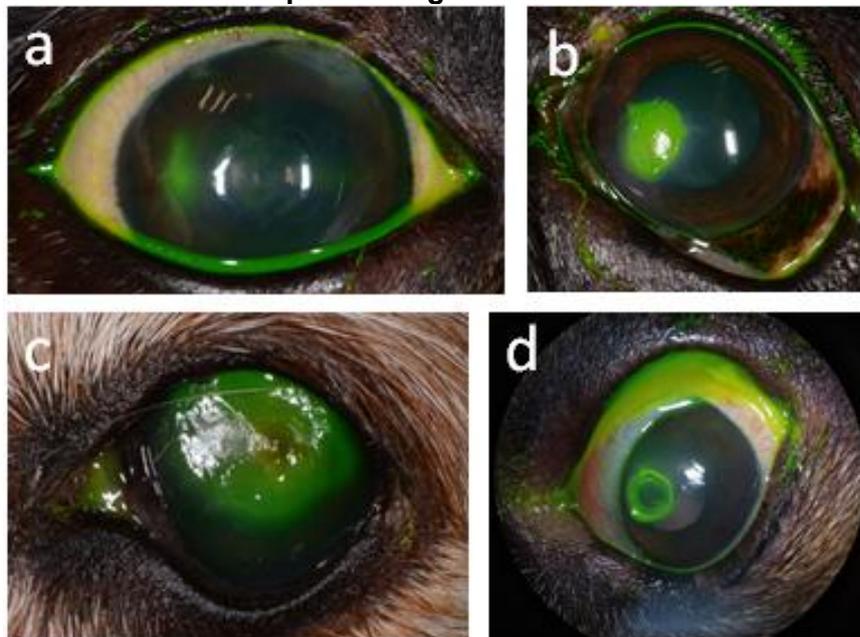
sera stabilisée. Si l'ulcère est très profond et douloureux, ce test peut éventuellement être réalisé uniquement sur l'œil controlatéral, bien qu'il existe des cas de KCS unilatérale (Turner, 2008).

4. Test à la fluorescéine

La fluorescéine est un colorant orange qui est un acide faible hydrosoluble et qui ne se fixe qu'au stroma. Elle ne peut pas pénétrer l'épithélium antérieur ni la membrane de Descemet car ils sont lipophiles. Elle prend une couleur verte au contact des solutions alcalines comme le film lacrymal et est fluorescente en lumière bleue (Sanchez, 2014).

Le test à la fluorescéine doit être réalisé dès lors que le chien présente une douleur oculaire d'origine indéterminée. Il permet de diagnostiquer l'ulcère cornéen et est très utile dans le suivi de leur cicatrisation. Le test consiste à instiller une goutte de fluorescéine dans l'œil, à attendre quelques secondes puis à rincer abondamment avec un collyre pour enlever l'excès de colorant. Il faut ensuite évaluer la rétention sur la cornée. Pour cela on observe la cornée, de préférence dans une pièce sombre, avec une lampe ultraviolette (lampe de Wood) ou une lumière de couleur bleue Cobalt afin de mettre en évidence la fluorescence du colorant (Martin *et al.*, 2005). Si la cornée reste colorée en vert, le test est positif et indique la présence d'un ulcère. La figure 41 montre qu'en fonction de la nature de l'ulcère, la rétention de la fluorescéine sur la cornée ne se fait pas de la même manière. Les lésions superficielles sont colorées moins intensément que les lésions profondes. Lors d'ulcère à collagénases, le colorant est retenu sur de larges plages de tissu dégénéré (Sanchez, 2014). Lors de descémétocèle, le colorant se fixe uniquement sur les bords de l'ulcère car la membrane de Descemet, lipophile, ne fixe pas le colorant (Meyer, 2008). Lors d'ulcère cicatrisé, le colorant ne se fixe pas car le stroma est recouvert par l'épithélium antérieur ; seule une perte de substance est visible dans ce cas (Martin *et al.*, 2005).

Figure 41. Mise en évidence d'ulcères cornéens par le test à la fluorescéine, unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac



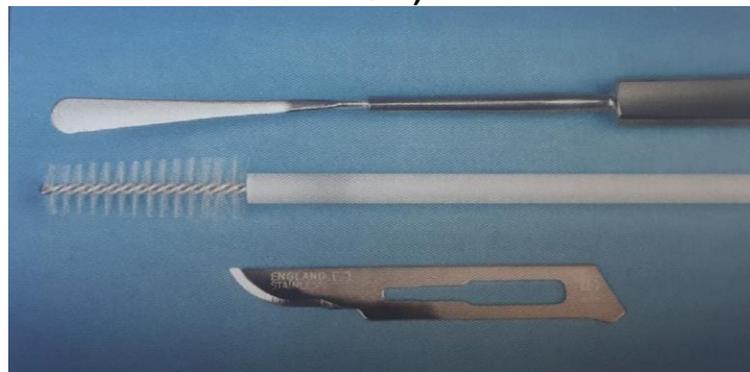
- (a) *Ulçère superficiel*
- (b) *Ulçère à bords décollés*
- (c) *Ulçère stromal à collagénases*
- (d) *Descémétocèle*

5. Examen cytologique

L'analyse cytologique d'un frottis conjonctival ou cornéen est un moyen rapide et facile d'amorcer le diagnostic étiologique de l'ulcère. C'est une aide qui permet dans certains cas d'exclure les causes bactériennes ou fongiques. Le résultat permet d'orienter le traitement dans l'attente des résultats de la bactériologie (Martin *et al.*, 2005).

Le prélèvement est réalisé après instillation d'un anesthésique topique dans l'œil. Il peut se faire avec plusieurs instruments : un écouvillon stérile, l'extrémité non coupante d'une lame de scalpel stérile, une spatule en platine malléable de Kimura ou une cytobrosse en nylon stérile (Featherstone et Heinrich, 2021).

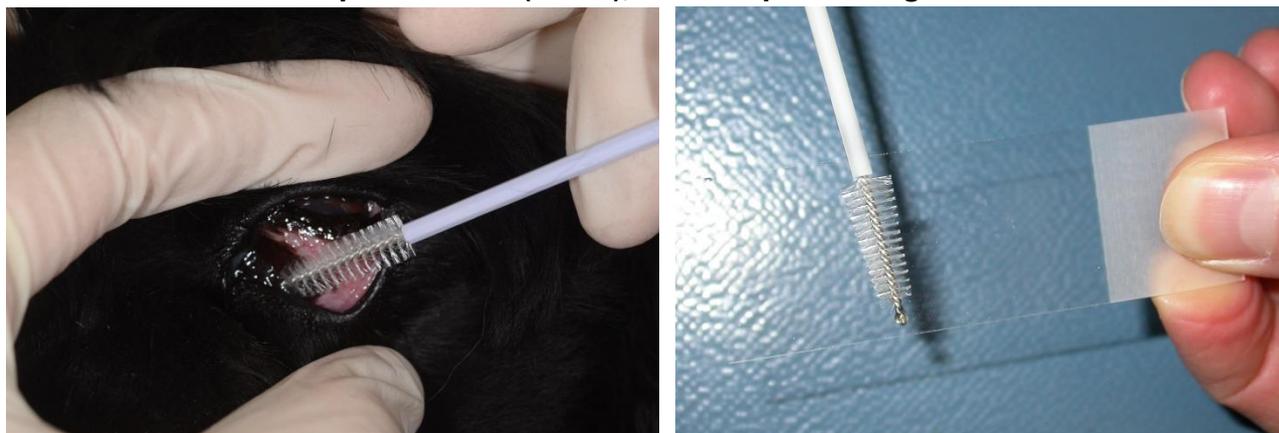
Figure 42. Spatule de Kimura, cytobrosse en nylon et lame de scalpel stérile pouvant être utilisées pour réaliser le prélèvement cornéen en vue de l'analyse cytologique (McLellan, 2014)



Différents outils permettent de réaliser un prélèvement en vue de l'analyse cytologique lors d'ulcère cornéen : la spatule de Kimura, la cytobrosse en nylon et la lame de scalpel stérile en sont des exemples.

L'écouvillonnage est la méthode la moins traumatique, elle doit être privilégiée lors d'ulcère profond et d'ulcère à collagénases. Elle est décrite sur la figure 43. Cependant, le nombre de cellules récolté avec l'écouvillon est souvent trop faible pour permettre le diagnostic. La spatule de Kimura permet de réaliser des prélèvements avec précision et de récolter davantage de cellules profondes. Il s'agit de la technique de référence pour établir le diagnostic en ophtalmologie vétérinaire. Toutefois, cette méthode peut endommager le prélèvement (artéfacts de fragmentation) et la surface oculaire. L'utilisation de l'extrémité non coupante d'une lame de scalpel donne des résultats similaires à ceux obtenus avec la spatule de Kimura mais présente un risque accru de traumatisme pour l'œil. *In fine*, les étalements obtenus avec les cytobrosses contiennent moins de cellules que ceux réalisés à la spatule mais les cellules y sont plus étalées et de meilleure qualité. Le prélèvement est ensuite étalé sur une lame, séché à l'air, fixé et éventuellement coloré par une coloration de May-Grünwald Giemsa (MGG), Diff-quick ou de gram (Featherstone et Heinrich, 2021).

Figure 43 Ecouvillonnage conjonctival à l'aide de la cytobrosse en nylon stérile (gauche) et élément du prélèvement (droite), unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac



L'écouvillonnage est la méthode de prélèvement la moins traumatique pour effectuer un prélèvement cornéen en vue de réaliser un examen cytologique. Il peut être effectué à l'aide d'une cytobrosse stérile. Il doit ensuite être étalé sur une lame pour pouvoir être analysé.

La lecture de la lame se fait au microscope optique. Le vétérinaire recherche les différents types cellulaires présents (cellules épithéliales, inflammatoires, néoplasiques, bactéries, inclusions virales, champignons), leur morphologie (coques, bacilles...), leur localisation (extra ou intracellulaire), leur nombre et leur coloration (bactéries gram + ou gram -, etc ...) (Martin *et al.*, 2005 ; Sanchez, 2014). En particulier, en cas d'ulcère à collagénases, l'observation de coques est en faveur d'une infection à *Staphylococcus* sp. ou *Streptococcus* sp. et l'observation de bâtonnets à *P. aeruginosa*.

6. Culture bactériologique et antibiogramme

La réussite du traitement de l'ulcère nécessite l'emploi d'un antibiotique au spectre efficace. Il est donc nécessaire d'identifier au préalable la (ou les) bactérie(s) en cause. La culture bactérienne et l'antibiogramme à partir d'un prélèvement direct de l'ulcère, permettent d'identifier le pathogène (Auten *et al.*, 2020).

Selon certains auteurs le prélèvement devrait, de préférence, être fait le plus rapidement possible lors de l'examen ophtalmologique, et avant l'application de tout agent topique sur l'œil car ils contiennent des conservateurs qui peuvent altérer les résultats de la culture bactériologique. Par exemple, la tétracaïne et les colorants (Rose Bengal, Vert lissamine) ont un impact négatif sur la croissance des micro-organismes (Featherstone et Heinrich, 2021). Néanmoins, une étude a montré qu'une application unique d'un anesthésique local comme la proxymétacaïne sur un œil douloureux avant le prélèvement n'interférait pas avec la culture bactériologique (Sanchez, 2014). De même, une autre étude a montré que l'application de proparacaïne, de tropicamide et de fluorescéine de façon topique sur l'œil avant réalisation d'un prélèvement dans le fornix conjonctival n'avait aucune influence sur les résultats de la culture bactériologique. En effet, d'après les auteurs leur application ne diminuait pas significativement la quantité ni la nature des espèces bactériennes isolées (Mironovich *et al.*, 2022).

Idéalement, le prélèvement destiné à l'analyse bactériologique devrait être fait avant l'initiation d'un traitement antibiotique. Cependant, quand l'animal est déjà sous traitement, un résultat positif à la culture bactériologique est significatif (Featherstone et Heinrich, 2021).

Le prélèvement est habituellement réalisé en écartant les paupières supérieure et inférieure, avec un écouvillon stérile. Il existe plusieurs tailles d'écouvillon, les petits étant plus adaptés pour les animaux avec des yeux de petite taille ou présentant un ulcère cornéen profond. L'écouvillon

peut être humidifié avec une solution saline stérile pour améliorer la qualité du prélèvement (réculte de microorganismes viables) et rendre la procédure plus agréable pour le patient. Lorsque le prélèvement se fait par écouvillonnage, le clinicien doit exercer un délicat mouvement de rotation sur la zone ulcérée. Le prélèvement peut aussi être réalisé en grattant la surface cornéenne, idéalement toujours dans la même direction, avec une lame chirurgicale stérile ou une spatule de Kimura. Le prélèvement est ensuite transféré sur un écouvillon stérile. Le choix de l'instrument pour le prélèvement dépend de la préférence du clinicien et de la localisation de la lésion. Dans les deux cas, il faut être attentif à ne pas toucher les paupières, les poils et la peau lors du prélèvement, afin de ne pas contaminer ce dernier. De plus, il faut prélever une quantité suffisante de matériel car plus la quantité prélevée est importante, plus la culture a de chance d'être un succès (Featherstone et Heinrich, 2021).

Afin de limiter le risque de rupture cornéenne sur des ulcères profonds, en particulier les descémétocèles, une alternative possible au prélèvement direct de l'ulcère est le prélèvement du fornix conjonctival. En effet, cette technique offre le plus souvent des résultats en accord avec le prélèvement direct. Sur ce point, une étude a montré une exacte corrélation entre les résultats de la culture bactériologique sur prélèvement direct de l'ulcère et sur prélèvement dans le fornix conjonctival pour 75% des ulcères testés, soit pour 42 des 56 ulcères inclus dans l'étude. Dans cette étude, une vingtaine d'espèces bactériennes ont été isolées parmi lesquelles les plus fréquentes étaient *Staphylococcus pseudintermedius* (25%), les streptocoques bêta-hémolytiques (23%) et *Pseudomonas aeruginosa* (12%), espèces par ailleurs fréquemment isolées lors d'ulcères à collagénases (Auten *et al.*, 2020).

Le délai entre le prélèvement et sa réception par le laboratoire d'analyse doit être réduit au minimum et le soin appliqué au stockage et au transport du prélèvement jusqu'au laboratoire est capital (Asghari et Gharachorlou, 2011). Pour l'analyse bactériologique, le prélèvement peut être placé dans un tube sec stérile, dans un tube avec du gel ou dans un milieu contenant du charbon (Featherstone et Heinrich, 2021). Le milieu de transport présent dans le tube permet d'éviter une diminution de la croissance des micro-organismes (Sanchez, 2014).

Le choix du milieu de culture est fondamental et doit permettre à la fois l'identification des bactéries aérobies et anaérobies (Sanchez, 2014). L'identification des bactéries anaérobies nécessite d'utiliser une enceinte permettant d'assurer cette condition d'anaérobiose.

E. Traitement

Le traitement des ulcères cornéens repose sur l'identification et l'élimination de la cause primaire, le soutien du processus de cicatrisation et la suppression de la douleur (Sanchez, 2014). Le traitement médical peut être utilisé seul ou en combinaison avec le traitement chirurgical. La nature du traitement dépend de la profondeur de l'ulcère (Kern, 1990). Le traitement médical peut suffire pour les ulcères superficiels et certains ulcères profonds vascularisés. Néanmoins, le traitement chirurgical est indispensable pour les descémétocèles et les perforations cornéennes (Turner, 2008 ; Sanchez, 2014). Enfin, tous les ulcères cornéens pouvant évoluer très rapidement, leur évolution doit être contrôlée très régulièrement par le vétérinaire. Les animaux présentant des ulcères très profonds doivent préférentiellement être ramenés chaque jour chez leur vétérinaire afin de réaliser un contrôle ophtalmologique. Si cela est impossible, ils peuvent être hospitalisés mais cette dernière option est parfois mal tolérée, notamment par les brachycéphales (Martin *et al.*, 2005).

1. Traitement médical

Le traitement médical vise à éliminer les micro-organismes pathogènes, à limiter l'activité des enzymes protéolytiques présentes sur le site de l'ulcère et à contrôler la douleur.

a) Voie d'administration des médicaments

Le traitement médical des ulcères cornéens associe des médicaments par voie topique et parfois par voie systémique. Ainsi, les antibiotiques par voie topique sont utilisés en routine dans le traitement des ulcères cornéens. En effet, des études ont montré que l'application fréquente d'antibiotiques par voie topique fournit de meilleurs résultats que les voies sous-conjonctivale ou systémique (Martin *et al.*, 2005).

Le traitement topique utilise plusieurs formes galéniques comme les gouttes ou les pommades (Turner, 2008). Pour pénétrer la cornée intacte, ces préparations topiques doivent à la fois être liposolubles et hydrosolubles car l'épithélium et l'endothélium sont lipophiles alors que le stroma est hydrophile. La plupart des antibiotiques topiques sont hydrosolubles et ne pénètrent donc pas la cornée intègre. Leur pénétration peut être améliorée en les combinant à des sels organiques ou à des conservateurs qui altèrent la barrière épithéliale. Cependant, lors d'ulcère cornéen, la diffusion de l'antibiotique est améliorée par la rupture de l'épithélium (Sanchez, 2014).

Les collyres regroupent des solutions et des suspensions. La surface oculaire supporte en moyenne 30 microlitres de fluide et le volume moyen d'une larme est de 50 microlitres. Par conséquent, une goutte de produit suffit et tout excès sera drainé par les voies naso-lacrymales. De plus, l'application de plus d'une goutte de substitut lacrymal accélère l'élimination des autres médicaments administrés par voie topique. Par conséquent, si plusieurs substances doivent être appliquées simultanément sur l'œil, il faut appliquer les gouttes avant les pommades et séparer chaque instillation d'au moins cinq minutes (idéalement dix à quinze minutes) (Sanchez, 2014).

Les pommades ophtalmiques permettent un contact prolongé avec l'œil et une élimination minimale par les voies naso-lacrymales. Elles assurent l'accumulation des médicaments à la surface de l'œil et donc la diminution de la fréquence d'application. Cependant, elles sont contre-indiquées en cas de risque de perforation cornéenne puisqu'elles sont toxiques pour la chambre antérieure et risquent de provoquer une uvéite sévère. De plus, l'application d'une pommade oculaire présente plus de risques de léser le globe que l'instillation d'un collyre (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

La fréquence d'administration des traitements topiques dépend de la gravité de l'ulcère : plus il est sévère, plus la fréquence d'administration augmente. Ainsi, lors d'ulcère à collagénases, le traitement doit être administré toutes les une à deux heures lors des 24 à 48 premières heures. En cas d'amélioration clinique, la fréquence peut être réduite à deux à quatre fois par jour (Maggs, 2015a).

Les antibiotiques peuvent aussi être administrés par voie systémique lorsque la répétition du traitement topique n'est pas réalisable ou en cas de perforation cornéenne ou de risque élevé de perforation. L'association amoxicilline et acide clavulanique ou encore la céphalosporine peuvent par exemple être administrés per os (Turner, 2008). Néanmoins, le traitement par voie systémique demeure moins efficace puisqu'en l'absence de vascularisation cornéenne, les antibiotiques administrés par voie systémique n'atteignent pas une concentration thérapeutique efficace dans la cornée (Maggs, 2015a).

b) Anti-infectieux

Les anti-infectieux (antibiotiques, antifongiques et antiviraux) sont une composante fondamentale du traitement médical mis en place lors d'ulcère cornéen. Cependant, nous détaillerons ici uniquement les antibiotiques et les antifongiques qui sont les seuls indiqués lors d'ulcères à collagénases chez le chien.

i. Antibiotiques

En raison, de la sensibilité antibiotique variable des agents pathogènes isolés lors d'ulcères à collagénases chez le chien, le choix de l'antibiotique doit systématiquement être guidé par le résultat de l'analyse cytologique et de la culture bactérienne. Par ailleurs, étant donné l'émergence de phénomènes d'antibiorésistance, un enjeu actuel est de déterminer pour chaque patient l'antibiotique possédant le meilleur spectre d'action (Auten et al., 2020). De plus, plus l'ulcère est sévère, c'est-à-dire étendu et profond, plus le risque qu'il comporte des bactéries multi-résistantes est élevé (Ekapopphan et al., 2018).

En effet, les bactéries possèdent plusieurs facteurs de résistance aux antibiotiques : des mutations des gènes du chromosome bactérien et des éléments génétiques mobiles comme les plasmides, les transposons et les intégrons. Les plasmides sont des molécules d'ADN indépendantes du chromosome bactérien, capables de réplication autonome et non indispensables à la survie de la bactérie. Ils portent un nombre variable de gènes dont certains sont des gènes de résistance aux antibiotiques. De plus, ces plasmides et les gènes qu'ils portent, peuvent se transmettre entre bactéries grâce au processus de transfert horizontal de gènes. Les transposons sont des séquences d'ADN capables de se déplacer dans le génome de façon autonome grâce à la transposase. Ils sont aussi appelés « gènes sauteurs ». Les intégrons sont des systèmes de capture et d'expression de gènes. Ils peuvent être localisés sur des plasmides ou des transposons. Ils peuvent capturer des gènes de résistance aux antibiotiques. Tous ces éléments mobiles peuvent porter des gènes de résistance aux β -lactamines en codant pour des β -lactamases ; des gènes de résistance aux aminoglycosides en codant pour des enzymes altérant leur site actif ; et des gènes de résistance aux fluoroquinolones (Subedi *et al.*, 2018).

Les résultats des analyses bactériologiques peuvent cependant être longs à obtenir. Par conséquent, compte tenu de la rapidité d'évolution possible d'un ulcère à collagénases, un antibiotique, ou une association d'antibiotiques, à large spectre est souvent choisi en première intention, dans l'attente des résultats (Tsvetanova *et al.*, 2021).

Ainsi, de nombreuses études ont été menées, et ce dans plusieurs pays du monde, afin d'établir la sensibilité aux antibiotiques des pathogènes isolés lors d'ulcères à collagénases chez le chien et de guider le vétérinaire dans son choix thérapeutique. Nous détaillerons ci-dessous les principales lignes directrices de ces études.

Les principales familles d'antibiotiques utilisés par voie topique lors d'ulcère à collagénases sont rapportées dans le tableau 2. Il s'agit :

- Des antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne : pénicillines, céphalosporines, bacitracine, vancomycine.
- Des antibiotiques qui détruisent la paroi bactérienne : polymyxine B et gramicidine.
- Des antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique bactérienne : aminoglycosides, tétracyclines, oxazolidinones et chloramphénicol.
- Des antibiotiques qui altèrent le métabolisme bactérien du folate : sulfonamides, pyriméthamine et triméthoprime.
- Des antibiotiques qui inhibent la synthèse bactérienne d'ADN : fluoroquinolones (Herring, 2007).

Les céphalosporines font partie de la famille des bêtalactamines. En particulier, la céfalexine est une céphalosporine de première génération à laquelle les staphylocoques et les streptocoques bêta-hémolytiques sont sensibles (Hindley *et al.*, 2016). Cependant, une résistance émergente des staphylocoques aux céphalosporines est à envisager selon certains auteurs ayant isolé jusqu'à

16% de souches résistantes (Suter *et al.*, 2018). Par ailleurs, *P. aeruginosa* est résistante aux céphalosporines (Hindley *et al.*, 2016 ; Suter *et al.*, 2018).

L'acide fusidique est un acide organique possédant des propriétés antibiotiques bactériostatiques. Il est efficace sur les bactéries à gram positif, en particulier les staphylocoques (Hindley *et al.*, 2016 ; Guyonnet *et al.*, 2020). Néanmoins, certaines études soulignent l'existence de résistances : 17 à 50% des souches résistantes (Suter *et al.*, 2018 ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Verdenius *et al.*, 2021). Par ailleurs, les streptocoques bêta-hémolytiques et *Pseudomonas* sp. sont également résistants à l'acide fusidique (Hindley *et al.*, 2016).

La polymyxine B est un antibiotique bactéricide de la famille des polypeptides. Elle est efficace contre les bactéries gram négatives, en particulier *Pseudomonas* sp. En effet, plusieurs auteurs ont établi la sensibilité des souches de *P. aeruginosa* à la polymyxine B : 90% à 100% des souches sensibles selon les pays et les études (Hindley *et al.*, 2016 ; Suter *et al.*, 2018 ; Tsvetanova *et al.*, 2021). Cependant, une étude récente a mis en évidence l'émergence de résistances de *P. aeruginosa* à cet antibiotique : 12% de souches résistantes selon une étude menée au Royaume-Uni (Verdenius *et al.*, 2021). En revanche, les streptocoques bêta-hémolytiques sont quant à eux résistants à la polymyxine B (Hindley *et al.*, 2016), de même que les staphylocoques (Suter *et al.*, 2018). Par conséquent, la polymyxine B est souvent utilisée en association avec d'autres antibiotiques afin d'étendre son spectre d'action. Ainsi, l'association entre la polymyxine B et la bacitracine ou bien la gramicidine est un traitement de premier choix lors d'ulcère cornéen chez le chien. En effet, la bacitracine et la gramicidine sont des antibiotiques bactéricides efficaces contre les bactéries gram positives qui permettent d'étendre le spectre de la polymyxine B.

La gentamicine est un antibiotique bactéricide de la famille des aminoglycosides. Son spectre d'action concerne les bactéries gram négatives dont *P. aeruginosa* et les entérobactéries (Ekapopphan *et al.*, 2018). Selon les études, 80 à 100% des souches de *P. aeruginosa* sont sensibles à la gentamicine (Hindley *et al.*, 2016 ; Suter *et al.*, 2018 ; Tsvetanova *et al.*, 2021 ; Verdenius *et al.*, 2021). Néanmoins, plusieurs études ont souligné l'existence de résistances des streptocoques bêta-hémolytiques à cet antibiotique : 20 à 100% des souches y sont résistantes selon les auteurs (Hindley *et al.*, 2016 ; Suter *et al.*, 2018 ; Guyonnet *et al.*, 2020 ; Verdenius *et al.*, 2021). Enfin, bien qu'une étude indique que 80% des souches de staphylocoques seraient sensibles à la gentamicine (Hindley *et al.*, 2016), d'autres publications suggèrent un taux de résistance aux alentours de 35% des souches (Guyonnet *et al.*, 2020 ; Verdenius *et al.*, 2021). *In fine*, malgré sa toxicité pour l'épithélium cornéen et le fait qu'elle puisse retarder la cicatrisation cornéenne, la gentamicine reste indiquée en première intention lors d'ulcère à collagénases chez le chien, surtout lorsque les résultats de l'analyse cytologique sont en faveur d'une infection par un germe gram négatif.

La néomycine est un antibiotique bactéricide de la famille des aminosides dont le spectre d'action est un peu plus large que celui de la gentamicine. En effet, elle est active à la fois sur les bactéries gram négatives et les gram positives, dont *Staphylococcus aureus*. Cependant, les streptocoques bêta-hémolytiques y sont résistants (Hindley *et al.*, 2016 ; Suter *et al.*, 2018 ; Guyonnet *et al.*, 2020). De ce fait, elle est souvent utilisée en association avec la polymyxine B et la bacitracine ou la gramicidine, afin d'élargir son spectre gram positif.

La tobramycine est un antibiotique bactéricide de la famille des aminosides proche de la gentamicine. Elle est efficace contre les bactéries gram négatives comme *Pseudomonas* sp. mais son spectre gram positif est réduit aux staphylocoques. En effet, si la majorité des staphylocoques y sont sensibles, 80% des souches de streptocoques bêta-hémolytiques y sont résistants. Ainsi, si la culture bactériologique révèle la présence d'un streptocoque, une bithérapie devra être instaurée, par exemple en combinant la tobramycine au chloramphénicol. De même, en cas d'identification de coques à l'analyse cytologique, l'ajout d'un antibiotique efficace contre les bactéries gram positives, comme le chloramphénicol, doit être envisagé (Guyonnet *et al.*, 2020).

Le chloramphénicol est un antibiotique de la famille des phénicolés. Il a un large spectre d'activité contre les coques et les bacilles gram positifs et négatifs anaérobies, les rickettsies, *Mycoplasma*, et *Chlamydia*. Puisqu'il s'agit d'un antibiotique bactériostatique, une administration à trop faible fréquence ou une pathologie cornéenne préexistante peuvent provoquer un échec thérapeutique lors de son utilisation (Hindley *et al.*, 2016). Il s'agit d'un antibiotique de première intention pour traiter les ulcères cornéens chez le chien puisque plusieurs études ont montré que la majorité des staphylocoques y sont sensibles (Hindley *et al.*, 2016 ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Guyonnet *et al.*, 2020), de même pour les streptocoques (Hindley *et al.*, 2016 ; Tsvetanova *et al.*, 2021). Cependant, d'autres auteurs ont montré l'existence de streptocoques bêta-hémolytiques résistants au chloramphénicol : jusqu'à 46% des souches (Guyonnet *et al.*, 2020). De même, certains auteurs ont souligné l'existence de staphylocoques résistants au chloramphénicol : 45% des souches (Verdenius *et al.*, 2021). De plus, *P. aeruginosa* est souvent résistante au chloramphénicol donc ce dernier est souvent utilisé en bithérapie avec la polymyxine B, la gentamicine, la framycétine ou encore la ciprofloxacine, qui sont efficaces sur *Pseudomonas* (Hindley *et al.*, 2016).

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques à spectre d'action assez large. Elles sont notamment efficaces contre les mycoplasmes et les chlamydias. De plus, elles possèdent par ailleurs des propriétés anti-collagénases qui favorisent la réépithélialisation. En revanche, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas sp.* et *Proteus sp.* y sont généralement résistantes (Suter *et al.*, 2018 ; Verdenius *et al.*, 2021).

La norfloxacine est un antibiotique bactéricide de la famille des quinolones. Les streptocoques bêta-hémolytiques y sont résistants alors la majorité des staphylocoques y sont sensibles (Guyonnet *et al.*, 2020).

Les fluoroquinolones, comme la ciprofloxacine et l'ofloxacine, sont des antibiotiques de seconde intention. Bien qu'il s'agisse d'antibiotiques bactéricides très puissants et à large spectre, leur emploi excessif a conduit à l'apparition de nombreuses résistances. Par conséquent, en France, l'usage en médecine vétérinaire des fluoroquinolones et les céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération, dits « antibiotiques critiques », est réglementé puisqu'il s'agit d'antibiotiques dont l'usage est fondamental en médecine humaine. Ils ne peuvent être utilisés qu'une fois les résultats de la culture bactérienne et de l'antibiogramme obtenus, si et seulement si ces derniers attestent de la sensibilité de la bactérie à ces antibiotiques (Guyonnet *et al.*, 2020). Par ailleurs, les fluoroquinolones retardent la cicatrisation cornéenne ce qui explique que leur usage dans le traitement des ulcères à collagénases chez le chien doit être limité (Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015b). Si certaines études montrent que la sensibilité des bactéries aux fluoroquinolones reste élevée, exceptée pour certains Streptocoques bêta hémolytiques, (Hindley *et al.*, 2016 ; Tsvetanova *et al.*, 2021), d'autres études rapportent l'émergence de résistances. Ainsi, selon les études jusqu'à 50% des souches de staphylocoques sont résistantes aux fluoroquinolones de seconde génération (Suter *et al.*, 2018 ; Ekapopphan *et al.*, 2018). De même plusieurs auteurs témoignent de la résistance des streptocoques bêta-hémolytiques aux fluoroquinolones : 19 à 80% des souches selon les études (Hindley *et al.*, 2016 ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Guyonnet *et al.*, 2020). De même si certains auteurs rapportent la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux fluoroquinolones (Hindley *et al.*, 2016 ; Tsvetanova *et al.*, 2021), d'autres ont mis en évidence 60% de souches résistantes à l'enrofloxacine (Verdenius *et al.*, 2021). Finalement, les fluoroquinolones peuvent dans certains cas être efficaces dans le traitement des ulcères à collagénases chez le chien. Néanmoins, elles ne doivent pas être utilisées en monothérapie lorsque l'analyse cytologique révèle la présence de coques gram positifs. Dans ce dernier cas, une bithérapie avec une céphalosporine est recommandée.

Enfin, il est important de garder à l'esprit que si l'association antibiotique choisie est efficace contre les bactéries isolées *in vitro*, *in vivo*, l'infection peut pourtant persister en raison d'un schéma thérapeutique inadéquat (mauvaise posologie ou fréquence d'administration) ou de facteurs propres au patient (présence de débris cornéens, chirurgie ou pathologie oculaire antérieure) (Hindley *et al.*, 2016).

Tableau 2. Antibiotiques efficaces sur les germes les plus fréquemment isolés lors d'ulcère cornéens chez le chien (Maggs, 2015b ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Suter *et al.*, 2018)

Morphologie et coloration de Gram de la bactérie	Espèce bactérienne	Molécules disponibles	Nom déposé
Coques gram positifs	<i>Staphylococcus sp.</i>	Acide fusidique Néomycine Bacitracine** Ceftiofur, céfalexine** Chloramphénicol Erythromycine** Fluoroquinolones*** Gentamicine* Méthicilline** Polymyxine B	Isathal Tévémixine Ophtalon Ofloxacine Soligental Tevemyxine
	<i>Streptococcus sp.</i>	Amoxicilline** Bacitracine** Céphalosporines** Chloramphénicol Gentamicine Pénicilline** Polymyxine B	Ophtalon Soligental Tévémixine
Coques gram négatifs	<i>Neisseria sp.</i>	Pénicilline** Triméthoprimé sulfa** Tétracyclines	Ophtocycline
Bacilles gram positifs	<i>Corynebacterium sp.</i>	Pénicilline** Tétracyclines Triméthoprimé sulfa**	Ophtocycline
Bacilles gram négatifs	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Amikacine** Fluoroquinolones*** Gentamicine Polymyxine B Tobramycine	Ofloxacine Soligental Tevemyxine Tobrex
	<i>Escherichia coli</i>	Chloramphénicol Fluoroquinolones*** Gentamicine Chlortétracycline	Ophtalon Ofloxacine Soligental Ophtocycline
	<i>Enterobacter sp.</i>	Amoxicilline**	
	<i>Proteus sp.</i>	Amikacine** Chloramphénicol Fluoroquinolones*** Gentamicine Tobramycine	Ophtalon Ofloxacine Soligental Tobrex

* Variable selon les études et les souches

** Antibiotique non disponible en France par voie locale

*** Antibiotique disponible par voie locale mais uniquement en pharmacopée humaine

ii. Antifongiques

Un traitement antifongique doit être réalisé si la culture mycologique est positive. La majeure partie des antifongiques sont des fongistatiques et non des fongicides. Le traitement doit donc être prolongé au moins trois mois et nécessite la présence d'un système immunitaire fonctionnel (Sanchez, 2014).

Différentes familles de molécules antifongiques peuvent être utilisées chez le chien : les polyènes, les azolés, les pyrimidines et d'autres molécules. Ces molécules sont principalement administrées par voie locale en raison de l'absence de vascularisation cornéenne et des effets secondaires des médicaments administrés par voie systémique (Austin *et al.*, 2017).

Ce traitement ne sera pas développé, notre étude se limitant aux infections d'origine bactérienne.

c) Cycloplégiques

Les molécules cycloplégiques sont utilisées pour relâcher le corps ciliaire et lever son spasme douloureux. Elles permettent aussi de limiter la formation de synéchies postérieures en favorisant la mydriase (Herring, 2007).

L'atropine est un antagoniste cholinergique qui bloque de façon réversible les récepteurs cholinergiques sur les muscles lisses et les glandes sécrétrices. Chez le chien, elle peut être utilisée par voie topique sous forme collyre à la concentration d'1%. La mydriase maximale est atteinte en une heure et celle-ci dure 96 à 120 heures. Cependant, en raison de ses effets secondaires, l'atropine doit être utilisée avec précaution. Il s'agit de la salivation, des vomissements (de façon occasionnelle chez le chien, plutôt observés chez le chat), de la réduction de la production des larmes et de la hausse de la pression intraoculaire. Les chiens souffrant d'une KCS et de glaucome sont donc particulièrement à risque de complications. Par ailleurs, une marche en cercle de façon compulsive et disparaissant à l'arrêt du traitement a été décrite de façon occasionnelle chez certains chiens âgés. Finalement, l'atropine doit être utilisée « à effet », c'est-à-dire de façon à provoquer une dilatation de la pupille. Initialement, elle est appliquée une à trois fois par jour puis, en fonction du maintien de la dilatation pupillaire (Herring, 2007 ; Maggs, 2015b).

d) Anti-inflammatoires

L'application par voie topique d'anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), comme la dexaméthasone ou la prednisolone, est contre indiquée lors d'ulcère cornéen car ils exacerbent les infections cornéennes et retardent la cicatrisation cornéenne. En effet, par voie topique, les AIS inhibent la migration des leucocytes et la phagocytose des bactéries par les macrophages et les monocytes. Ainsi, ils potentialisent les infections cornéennes, qu'elles soient bactériennes, fongiques ou virales. De plus, des études menées *in vitro* ont démontré que les corticoïdes administrés par voie topique stimulent la libération de collagénases par les GNS ce qui favorise le développement d'ulcères à collagénases. De plus, les AIS diminuent également le taux de cicatrisation des cellules épithéliales et stromales cornéennes (Herring, 2007).

De même, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) par voie topique ne sont pas recommandés dans le traitement des ulcères cornéens puisqu'ils sont irritants et provoquent un blépharospasme, un épiphora et une hyperhémie conjonctivale. Une étude menée sur des lapins a montré que l'application topique de diclofenac ou de flurbiprofène retarde la réépithélialisation cornéenne mais pas la cicatrisation stromale. Enfin, une étude menée *in vitro* sur des cellules épithéliales cornéennes de chien a montré que le suprofen appliqué topiquement retarde, de façon concentration dépendante, la cicatrisation de ces cellules (Gelatt, 2021).

En revanche, les AINS peuvent être administrés par voie systémique, orale ou injectable, afin de réduire l'infiltration leucocytaire cornéenne et la douleur (Maggs, 2015a). Nous pouvons citer le méloxicam utilisé une fois par jour à la dose de 0,1 à 0,2 mg/kg (Faure, 2018) et d'autres molécules comme le déracoxib, le carprofène, le firocoxib, et le galliprant (Herring, 2007). Néanmoins, leur emploi doit rester limité dans la mesure où leur administration par voie systémique provoque des effets secondaires rénaux (insuffisance rénale aigüe et modification de l'homéostasie potassique et sodique), gastro-intestinaux (ulcération de la muqueuse gastrique et

intestinale, nausées, vomissements, diarrhées) et ils sont aussi des antiagrégants plaquettaires (Herring, 2007).

e) Anti-collagénases

Différentes molécules sont utilisées pour leurs propriétés anti-collagénases dans le traitement des ulcères profonds progressifs. Ces molécules sont listées dans le tableau 3. Elles sont combinées car elles ont des modes d'action différents (Whitley et Hamor, 2021). Pour prévenir la dissolution du stroma, elles doivent être administrées toutes les une à deux heures jusqu'à ce que la cicatrisation de l'ulcère soit correctement engagée (disparition des signes de douleur, stagnation ou diminution de l'étendue de l'ulcère). Ensuite, la fréquence d'application peut être diminuée : entre quatre et six fois par jour (Ollivier *et al.*, 2007).

Certaines de ces molécules sont des chélateurs métalliques, comme la N-acétylcystéine (NAC), l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) et les tétracyclines (Whitley et Hamor, 2021). Ils inhibent les MMPs en chélatant le calcium et le zinc, deux cofacteurs essentiels à leur activité et à la stabilité de leur structure (Couture, 2006).

La NAC diminue *in vitro* l'activité des enzymes MMPs. Elle est utilisée à une concentration variant entre 1% et 20%. Une faible concentration améliore le renouvellement de l'épithélium tandis qu'une concentration élevée entraîne la nécrose des tissus (Sanchez, 2014).

L'EDTA inhibe fortement l'activité des MMPs *in vitro*. Il est employé à la concentration de 0,2% pour éviter ses effets toxiques sur les cellules épithéliales (ils apparaissent à une concentration de 0,37%) (Couture, 2006).

Les tétracyclines, et en particulier l'oxytétracycline et la doxycycline, administrées par voie topique et systémique, possèdent une activité anti-collagénase et anti-inflammatoire indépendante de leur activité antibactérienne. On suppose qu'elles agissent en chélatant le calcium et en inhibant l'expression de certains gènes, de l'antitrypsine $\alpha 1$ et en dégradant et en inhibant les leucocytes (Sanchez, 2014). Elles sont aussi capables d'inhiber spécifiquement les MMPs 9 (Couture, 2006).

Le sérum, autologue ou hétérologue, a une composition proche de celle du film lacrymal. Cependant, il contient davantage de fibronectine, de lysozyme, de vitamine A et de TGF-B1 et moins de facteur de croissance épithélial, d'IgA et de vitamine C (Herring, 2007). En particulier, le sérum contient la macroglobuline $\alpha 2$ et l'antitrypsine $\alpha 1$ qui lui confèrent un large spectre anti-collagénases. Contrairement aux autres substances, il est à la fois efficace contre les MMPs et contre les sérines protéases. Il agit en piégeant les enzymes protéasiques. Le sérum contient aussi des facteurs de croissance favorisant la cicatrisation cornéenne. Sur ce point, le sérum est préféré au plasma car il contient une concentration plus élevée en EGF, en PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) et en vitamine A. Il stimule donc davantage la croissance, la migration et la différenciation des cellules épithéliales. Le sérum doit être préparé de façon aseptique : du sang veineux est prélevé sur tube sec sur le patient, centrifugé et le surnageant est récolté. Il doit ensuite être stocké au réfrigérateur. Une fois ouvert, le tube doit être utilisé dans un délai de sept jours puis jeté à cause du risque de contamination bactérienne. Des sérums hétérologues canin, félin ou équin peuvent aussi être utilisés puisque les facteurs bénéfiques sont communs à toutes les espèces et à tous les individus d'une même espèce. Ces derniers restent efficaces jusqu'à 180 jours lorsqu'ils sont stockés entre -20 et -80°C mais en pratique, ils doivent être conservés au maximum huit jours au réfrigérateur avant d'être jetés en raison du risque de contamination bactérienne (Ollivier *et al.*, 2007 ; Whitley et Hamor, 2021). Finalement, si le sérum est un traitement de choix lors d'ulcères à collagénases, le plasma semble en être un substitut efficace (Conway *et al.*, 2015).

L'ilomostast est un agent thiol qui est un inhibiteur synthétique prometteur des MMPs. Il est efficace contre l'élastase de *Pseudomonas sp.*, les protéases alcalines et les MMPs 1 et 9 mais n'est pas disponible en France (Vanore *et al.*, 2007).

Cependant, l'efficacité de ces molécules inhibitrices de MMPs a été montrée uniquement *in vitro* et leur efficacité *in vivo* demeure non prouvée (Martin *et al.*, 2005).

Tableau 3. Anti-collagénases disponibles pour le traitement des ulcères à collagénases (Whitley et Hamor, 2021)

Principe actif	Nom déposé	Concentration	Activité inhibitrice	Mécanisme d'inhibition
N-acétylcystéine	NAC collyre	5 à 10%	Inhibiteur des MMPs	Chélation (Ca et Zn)
Ethylène Diamine tétra-acétique (EDTA)	NAC collyre	0,2%	Inhibiteur des MMPs	Chélation (Ca et Zn)
Tétracyclines : doxycycline, oxytétracycline	Ophthocycline	0,1%	Inhibiteur des MMPs	Chélation (Ca et Zn)
Ilomostast*	Galardine	0,1%	Inhibiteur des MMPs	Chélation (Ca et Zn)
Sérum (inhibiteur de la protéase α1 et macroglobuline α2)	/	Sans dilution	Inhibiteur des MMPs et des sérines protéases	Piégeage des protéases

* Non disponible en France.

f) Substituts lacrymaux

Les substituts lacrymaux participent à la lubrification de la cornée, limitent sa dessiccation, facilitent le clignement palpébral et réduisent la douleur. Il en existe plusieurs : des polymères de cellulose, des dérivés du vinyle, l'acide polyacrylique, le hyaluronate de sodium et le sulfate de chondroïtine. En particulier, le hyaluronate de sodium augmente la migration des cellules épithéliales et améliore donc la cicatrisation cornéenne. Le sulfate de chondroïtine accélère lui la cicatrisation des ulcères indolents (Sanchez, 2014).

g) RGTA

Les RGTAs (*Regenerating agent* - Carboxyméthylglucose sulfate) sont de grands biopolymères de la famille des polysaccharides. Ils sont dérivés du dextran par des substitutions avec des groupes carboxyméthyles et sulfates. Ce sont des protecteurs tissulaires et des promoteurs de la cicatrisation. En effet, ils sont conçus pour imiter et remplacer les héparanes sulfates liés aux protéines de la MEC, aux facteurs de croissance et aux facteurs angiogéniques d'ordinaire détruits lors de lésion cornéenne. Ces ligands auxquels se fixent les RGTAs sont ainsi protégés contre les protéases et leur activité est favorisée. En particulier, ils protègent le TGF- β qui favorise la synthèse du collagène et des GAGs stromaux. Les RGTAs restaurent ainsi le microenvironnement physiologique de la MEC qui est nécessaire à la cicatrisation cornéenne. De plus, ils inhibent les héparinases, les élastases, les plasmines et la cathepsine G. Les avantages de ces composés sont multiples. Ils sont bien tolérés localement et à l'échelle de l'organisme. Ils produisent un effet antalgique immédiat qui augmente avec les instillations. Ils réduisent les signes cliniques d'inflammation et les signes histologiques d'œdème, de fibrose, d'inflammation et de néovascularisation. Ils accélèrent et améliorent la cicatrisation cornéenne (Khammari Chebbi *et al.*, 2008 ; Brignole-Baudouin *et al.*, 2013).

Cependant, en médecine vétérinaire, une seule étude a été menée sur ces composés. Cette dernière portait sur 11 chiens seulement, référés pour la prise en charge d'ulcères n'ayant pas rétrocedé au traitement médical mis en place en première intention. Au total, 10 chiens atteints d'ulcères superficiels et 5 chiens atteints de kératopathie bulleuse ont reçu un traitement topique

avec des RGTAs pendant 3 jours. Finalement, 83.3% des ulcères ont cicatrisé après 6 à 35 jours de ce traitement. Ainsi, si les RGTAs représentent une approche adjuvante novatrice dans le cadre de la prise en charge des ulcères non infectés, aucun ulcère à collagénase n'a été inclus dans cette étude et l'efficacité des RGTAs sur ces derniers reste à démontrer (Martinez *et al.*, 2019).

h) Prévention des traumatismes auto-induits

Le port de la collerette doit être conseillé pour les chiens qui se frottent les yeux avec leur membre ou contre un objet de leur environnement, qui présentent des signes cliniques de traumatismes péri-oculaires ou encore un risque élevé de perforation du globe. La collerette prévient les risques de blépharite traumatique, de dermatite péri-oculaire ou de rupture du globe (Maggs, 2015a).

2. Traitement chirurgical

Les résultats du traitement médical sont variables. Ils dépendent du degré d'avancement de l'ulcère au moment de sa prise en charge, du niveau d'observance du traitement par les propriétaires et des résistances des pathogènes aux molécules administrées. Tous ces facteurs peuvent influencer négativement l'évolution de l'ulcère, provoquant sa progression et dans certains cas la perforation du globe (Spiess *et al.*, 2014). Ainsi, les ulcères impliquant plus de 50% de l'épaisseur de la cornée nécessitent souvent un traitement chirurgical sauf s'il s'agit d'ulcères ponctiformes ou de moins de 2 millimètres de diamètre. Les ulcères à collagénases et les ulcères ne rétrocedant pas au traitement médical doivent aussi être traités chirurgicalement (Sanchez, 2014). Le choix de la procédure dépend de plusieurs éléments : taille, localisation et stade évolutif de l'ulcère, expérience du clinicien et matériel à disposition (Martin *et al.*, 2005). Finalement, avant toute chirurgie, le traitement médical pré-opératoire (antibiotiques par voie topique et AINS par voie systémique) permet d'enrayer le processus à collagénases et de stabiliser la cornée. Ce traitement médical sera par ailleurs poursuivi après la chirurgie (antibiothérapie par voies topique et systémique, un AINS par voie systémique et un cycloplégique par voie topique) et ce jusqu'à la complète cicatrisation cornéenne (Faure, 2018).

a) Colles adhésives

Une colle adhésive à base d'isobutyl cyanoacrylate peut être appliquée pour augmenter la résistance de la cornée en cas d'ulcère profond de diamètre inférieur à deux millimètres. Cette technique est indiquée pour les ulcères infectés car elle possède des propriétés antimicrobiennes et participe la diminution de la nécrose du stroma (Sanchez, 2014).

La colle doit être appliquée sous anesthésie, à minima locale, sur une lésion préalablement désépithélialisée et séchée. Elle doit être appliquée en quantité la plus faible possible (une seule goutte) car un excès provoque une irritation. L'application se fait avec une aiguille fine de 25 à 30 gauges et pour cela il est souvent nécessaire d'anesthésier l'animal. L'animal ne doit pas cligner des paupières dans les 15 à 60 secondes suivant l'application pour permettre la prise de la colle, ce qui est facilité par la mise en place d'un blépharostat. Après le comblement de la perte de substance par la colle, l'application d'un antibiotique topique à large spectre et d'un cycloplégique comme l'atropine 1%, reste nécessaire afin de limiter le risque infectieux et la douleur d'origine ciliaire. Une fois la lésion cicatrisée, la colle est spontanément éliminée de la cornée (Whitley et Hamor, 2021).

Les avantages de cette technique sont qu'elle permet de conserver la transparence cornéenne, qu'elle est peu coûteuse et peut être réalisée même si l'animal n'est pas assez stable pour subir une anesthésie générale (Whitley et Hamor, 2021). Mais son efficacité est souvent limitée car elle ne restaure pas l'intégrité cornéenne lors de lésion profonde ou très étendue. De plus, la colle se décolle souvent trop rapidement et peut provoquer une irritation et un inconfort oculaire (Martin *et al.*, 2005).

b) Techniques de recouvrement

i. Recouvrement conjonctival

Le recouvrement conjonctival est indiqué pour les ulcères profonds de grande taille et non progressifs. Il consiste à recouvrir l'ulcère par transposition d'une partie de la conjonctive. La technique de choix lors de lésion cornéenne étendue est le recouvrement conjonctival à 360°, aussi appelé recouvrement complet. Cette procédure comprend deux étapes : la mise en place du recouvrement puis son retrait au minimum 3 semaines plus tard. Il en existe plusieurs variantes dont certaines sont plus rapides et aisées à réaliser : un recouvrement à 180°, un recouvrement en pont ou en pédicule (Whitley et Hamor, 2021).

Les avantages de cette technique sont que l'hémorragie provoquée par la dissection de la conjonctive et la vascularisation immédiate apportée par le recouvrement sont bénéfiques pour stopper la destruction du stroma par les collagénases (diffusion des antibiotiques administrés par voie systémique et de certaines molécules anti-collagénases comme l'alpha2-macroglobuline). Ainsi, le recouvrement conjonctival apporte un soutien tectonique à la cicatrisation cornéenne grâce à un tissu fibrovasculaire qui permet de combler le défaut de substance cornéenne. De plus, lorsque le recouvrement n'est pas complet, il ne couvre qu'une portion de la cornée. Cela permet à l'animal de continuer à voir et au clinicien de continuer à examiner la cornée et la chambre antérieure et de pouvoir évaluer la cicatrisation de l'ulcère et détecter d'éventuelles complications comme une uvéite antérieure (Whitley et Hamor, 2021).

L'inconvénient de cette procédure est qu'une cicatrice sera toujours présente à cause du développement d'un tissu fibreux. Pour la minimiser, des corticoïdes par voie topique sont souvent administrés pendant deux à trois semaines, après cicatrisation. La régression de la cicatrice prend ensuite plusieurs mois (Martin, 2005). De plus, lors de recouvrement complet, la vision de l'animal est réduite et le clinicien ne peut pas suivre l'évolution de l'ulcère (Whitley et Hamor, 2021).

ii. Recouvrement par la troisième paupière et tarsorrhaphie latérale temporaire

Le recouvrement par la troisième paupière, aussi appelé recouvrement par la membrane nictitante, consiste à suturer la membrane nictitante à la paupière supérieure. Il crée une barrière mécanique supplémentaire protégeant la cornée des causes d'irritation potentielles, comme par exemple, le mouvement des paupières, les cils de distichiasis et les entropions. C'est une procédure adjuvante qui peut compléter le traitement médical ou chirurgical des ulcères à collagénases. En effet, seul, il n'apporte pas un soutien structural suffisant à la cicatrisation cornéenne et possède deux inconvénients principaux. Tout d'abord, il s'oppose à la pénétration des médicaments dans la cornée puisque ces derniers glissent sur la surface antérieure de la membrane nictitante et sont directement évacués par le point lacrymal. Ensuite, il empêche de surveiller l'évolution de l'ulcère en dessous et de détecter une possible aggravation (Turner, 2008 ; Sanchez, 2014 ; Maggs, 2015a).

La tarsorrhaphie latérale temporaire consiste à suturer les paupières inférieure et supérieure entre elles du côté latéral. La suture permet encore la surveillance de l'ulcère et son traitement médical topique du côté médial tout en protégeant mécaniquement la cornée (Maggs, 2015a).

c) Greffes

Différents types de greffes peuvent être utilisés pour traiter les ulcères à collagénases : les greffes conjonctivales, de cornée ou de biomatériaux. Si chacune de ces techniques possède ses propres avantages et inconvénients, le déroulement général de la procédure et les traitements pré et post-opératoire sont similaires. Ces greffes sont toujours effectuées sous anesthésie générale après réalisation d'une kératectomie pour éliminer les tissus endommagés. Le greffon est ensuite suturé à la cornée par des points simples en zone saine. Lors d'ulcère à collagénases, la greffe doit être

étendue au-delà de la zone de kératomalacie pour être efficace. Ainsi, un débridement incorrect ou des sutures mal réalisées sont des causes majeures de déhiscence de la greffe.

i. Greffes de conjonctive

Lors d'une greffe de conjonctive, le greffon provient le plus souvent de la conjonctive bulbaire mais parfois aussi de la conjonctive palpébrale. Il existe cinq techniques de greffe différentes : la greffe totale (sur 360°), la greffe en pont (ou bi-pédiculée), la greffe en capot (sur 180°C), la greffe pédiculée (ou par rotation d'un lambeau) et la greffe libre (ou en îlot) (Whitley et Hamor, 2021). La technique la plus fréquemment utilisée est la greffe par rotation d'un lambeau (Sanchez, 2014). Un exemple de prise en charge d'un ulcère à collagénases par greffe conjonctivale au Chuv-Ac est décrit sur la figure 44.

La greffe conjonctivale présente plusieurs avantages. Elle comble la perte de substance et apporte un soutien mécanique à la cornée lésée. Elle apporte des fibroblastes produisant du collagène et permettant de régénérer plus rapidement le stroma que les kératocytes seuls. Elle donne de meilleurs résultats visuels que le recouvrement conjonctival en limitant la formation de la cicatrice. Elle possède des propriétés antimicrobiennes et anti-collagénases qui contribuent à stopper la dissolution du stroma. Elle apporte des vaisseaux à la lésion, ce qui favorise la diffusion des antibiotiques systémiques et des substances anti-collagénases. Elle est donc préférée au recouvrement conjonctival, malgré sa technicité plus élevée, pour le traitement des ulcères stromaux profonds, progressifs ou infectés (Vanore *et al.*, 2007 ; Maggs, 2015a). Une étude rétrospective menée de 2012 à 2018 sur 100 chiens a montré que la greffe conjonctivale permettait une prise en charge efficace des ulcères profonds, des descémétocèles et des ulcères perforants. Cette dernière permettait à terme de préserver la vision chez 96% des chiens en limitant l'opacification du greffon (Gogova *et al.*, 2020).

Son principal inconvénient est la persistance d'une opacité cornéenne en regard du greffon qui nuit dans certains cas à la vision, notamment lorsque l'ulcère est localisé en région axiale ou est très étendu (Vanore *et al.*, 2007). Ainsi, dans l'étude de Gogova *et al.* 62% des individus présentaient une opacification faible à légère du greffon, la présence d'une kératite pigmentaire ou d'un euryblépharon étant significativement associée à une opacification plus marquée de ce dernier (Gogova *et al.*, 2020). De plus, lors de perforation cornéenne, le greffon conjonctival n'a pas une intégrité suffisante pour former une barrière étanche à l'humeur aqueuse de la chambre antérieure. Cela résulte en une fuite continue d'humeur aqueuse dans la cornée ce qui augmente l'inflammation et favorise la formation de synéchies antérieures (Whitley et Hamor, 2021). Par conséquent, la greffe de conjonctive donne ainsi de moins bons résultats fonctionnels qu'une greffe de cornée ou d'un autre biomatériau (Martin *et al.*, 2005).

Sa principale complication est la déhiscence du greffon lorsque l'ulcère cornéen progresse et endommage la cornée au niveau des points de fixation du greffon à la cornée. Par conséquent, lors de la greffe, les sutures doivent être placées dans une portion saine de la cornée après débridement de cette dernière (Whitley et Hamor, 2021).

Figure 44. Traitement d'un ulcère à collagénases par greffe conjonctivale, Bulldog anglais, aspect avant la greffe (a), 7 jours après (b) et 3 mois après (c), unité d'ophtalmologie du Chuv-Ac



(a) Pré-opératoire : hyperhémie conjonctivale marquée, écoulement mucopurulent abondant, néovascularisation cornéenne, œdème cornéen diffus marqué, ulcère stromal profond à associé à des signes de kératomalacie.

(b) 7 jours après la greffe : hyperhémie conjonctivale modérée, écoulement mucopurulent modéré, néovascularisation cornéenne sur 360°, œdème cornéen diffus marqué, greffon conjonctival en place, points en place, zone de tension et déchirure partielle de la greffe en région ventro-temporale.

(c) 3 mois après la greffe : néovascularisation cornéenne modérée, œdème cornéen diffus moins marqué, greffe conjonctivale en place, pigmentation verticillée médiale (non visible sur la photo), 4 kystes sous-épithéliaux en relief de 2mm de diamètre sur les anciens sites de suture de la greffe sans néovascularisation associée

ii. Greffe de cornée

Il existe différents types de greffes de cornée : la cornée peut être fraîche ou congelée et la greffe peut être autologue, lorsque le greffon est prélevé sur le patient lui-même, dans une zone saine de sa cornée, ou homologue, lorsque le greffon est prélevé sur un autre individu. La greffe est dite homologue lorsque le greffon est prélevé sur un individu de la même espèce que le receveur (Whitley et Hamor, 2021). La greffe de cornée permet de restaurer l'épaisseur cornéenne et d'apporter un support tectonique à la cicatrisation. Elle est indiquée lors de lésions perforantes (Lacerda *et al.*, 2017). Elle procure une bonne transparence cornéenne après la cicatrisation et donc une bonne acuité visuelle (Martin *et al.*, 2005 ; Stades, 2007).

La transposition cornéo-sclérale et la transposition cornéo-conjonctivale sont des techniques de greffe autologues qui consistent à faire glisser un pédicule de cornée sur le globe et à le fixer ensuite, respectivement à la sclère ou à la conjonctive. Elles sont indiquées lors de lésions cornéennes centrales et profondes ou perforantes. Les avantages de cette technique sont l'absence de nécessité de trouver un donneur et l'absence de rejet du greffon. Elles laissent une cicatrice minimale sur la cornée qui permet au chien de conserver une bonne acuité visuelle (Gogova *et al.*, 2020). Les inconvénients sont qu'elles créent un traumatisme des portions saines de la cornée et laissent une cicatrice plus importante que les autres techniques de greffes cornéennes (Whitley et Hamor, 2021).

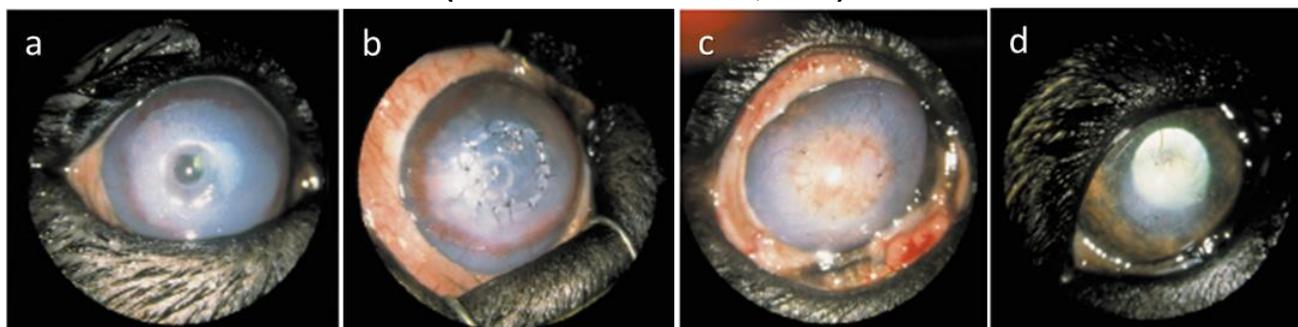
Lors de greffe autologue de cornée lamellaire fraîche, une portion de cornée saine adjacente à la lésion est prélevée et greffée sur celle-ci. Cette technique est indiquée pour traiter les ulcères stromaux profonds, les descémétocèles, les ulcères perforés et les abcès cornéens. Cependant, elle fragilise le territoire cornéen adjacent prélevé (Whitley et Hamor, 2021). Il est donc contre-indiqué d'utiliser un greffon dépassant 50% de l'épaisseur de la cornée (Bussières, 2004). Enfin, la surface cornéenne pouvant être traitée par cette méthode est limitée et conditionnée par la surface de cornée saine adjacente disponible (Hansen et Guandalini, 1999).

Lors de greffe homologue de cornée congelée, la cornée est prélevée à la mort du chien donneur, placée dans une solution antibiotique puis congelée à -30°C. La conservation peut durer jusqu'à un an. Au moment de la greffe, le greffon est décongelé dans une solution tiède stérile. Cette technique est indiquée pour traiter les descémétocèles et les perforations cornéennes. Son principal avantage est l'absence de rejet puisque l'endothélium est détruit par la congélation. Or ce sont les antigènes de l'endothélium qui sont à l'origine du processus immunologique de rejet (Whitley et Hamor, 2021). Un autre avantage est la grande taille des greffes pouvant être réalisées puisque le greffon ne provient pas de la cornée saine du patient (Hansen et Guandalini, 1999). Enfin, la greffe de cornée congelée est plus pratique que la greffe de cornée fraîche de par l'existence d'une banque de cornées congelées (Bussieres, 2004). Un exemple de greffe de cornée congelée est donné par la figure 45.

La kératoplastie pénétrante, aussi appelée greffe de cornée pleine épaisseur, était dans le passé peu utilisée en médecine vétérinaire à cause du manque de donneurs de cornée, de la difficulté de prélèvement de la cornée du donneur, du milieu de conservation nécessaire pour le greffon et de la faible durée de conservation des cellules endothéliales (Hansen et Guandalini, 1999). Cependant, elle représente maintenant une alternative à la kératoplastie lamellaire comme en témoigne l'étude de *Lacerda et al.* dans laquelle 42% des chiens inclus dans l'étude ont été traités par kératoplastie pénétrante (Lacerda *et al.*, 2017).

Les complications ayant été observées lors de greffe cornéenne sont la déhiscence ou la pigmentation du greffon, le développement d'un glaucome ou bien d'un processus à collagénases (Hansen et Guandalini, 1999 ; Lacerda *et al.*, 2017). Quelle que soit le type de greffe (fraîche ou congelée ; autologue ou homologue ; kératoplastie pénétrante ou lamellaire), un rejet du greffon peut se produire dans 18 à 59% des cas. En cas de rejet, un traitement médical associant des antibiotiques, des cycloplégiques, de la cyclosporine A et des corticoïdes ou bien une nouvelle prise en charge chirurgicale peuvent être nécessaires afin que le patient puisse recouvrer une acuité visuelle satisfaisante (Lacerda *et al.*, 2017).

Figure 45. Traitement par greffe de cornée congelée d'une descémétocèle, Bulldog anglais, aspect avant la greffe (a), immédiatement après (b), 2 semaines après (c) et 2 mois après (d) (Hansen et Guandalini, 1999)



- (a) Pré-opératoire : descémétocèle sur l'œil droit
- (b) Post-opératoire immédiat : greffon cornéen en place
- (c) 2 semaines après la greffe : apparition d'une néovascularisation du greffon
- (d) 2 mois après la greffe : recouvrement partiel de la transparence cornéenne

iii. Greffe de biomatériau

Plusieurs biomatériaux peuvent être greffés pour traiter les ulcères cornéens : la membrane amniotique bovine, équine ou ovine ; la sous-muqueuse de l'intestin grêle du porc ; le péricarde bovin ou équin ; ou encore la matrice acellulaire vésicale porcine (Dulaurent *et al.*, 2014). Les greffes de biomatériaux laissent moins de cicatrices que les greffes conjonctivales. Cependant,

elles n'apportent pas de vascularisation à l'ulcère. Par conséquent, elles ne peuvent être employées que sur des ulcères stables (Martin *et al.*, 2005).

❖ Greffe de membrane amniotique

La membrane amniotique est l'annexe fœtale la plus interne du placenta. Elle est composée de 3 éléments :

- un épithélium unistratifié, détruit lors de la préparation et de la conservation, souvent à - 80°C, de la membrane amniotique (Lassaline *et al.*, 2005) ;
- une membrane basale, transparente, élastique et résistante à la traction (Solomon *et al.*, 2002) ;
- et un stroma avasculaire, composé de fibroblastes, de fibres de collagène, de protéoglycanes, de glycoprotéines, d'acide hyaluronique et de facteurs de croissance (Kim, 2001).

Pour traiter les ulcères cornéens à collagénases chez le chien, il est possible de greffer de la membrane amniotique bovine déshydratée ou bien de la membrane amniotique équine ou ovine, cryoconservée (Dhall *et al.*, 2018). Un exemple de prise en charge d'un ulcère à collagénases par greffe de membrane amniotique équine au Chuv-Ac est donné par la figure 46.

Selon la profondeur de l'ulcère, plusieurs techniques peuvent être employées : la greffe une couche, deux couches ou plusieurs couches. Plus l'ulcère est profond, plus le nombre de couches doit être élevé (Costa *et al.*, 2019). Par ailleurs, l'effet de la greffe dépend de la face du greffon en contact avec la cornée :

- lors d'une greffe *sensu stricto*, la face stromale de la membrane amniotique est apposée à la cornée, le greffon va adhérer à cette dernière et in fine être incorporé à la cornée ;
- en revanche lors d'un recouvrement par la membrane amniotique, la membrane basale est apposée à la cornée et les cellules épithéliales cornéennes migrent sous cette dernière qui forme alors un pansement protecteur (Ollivier, 2005 ; Lassaline *et al.*, 2005).

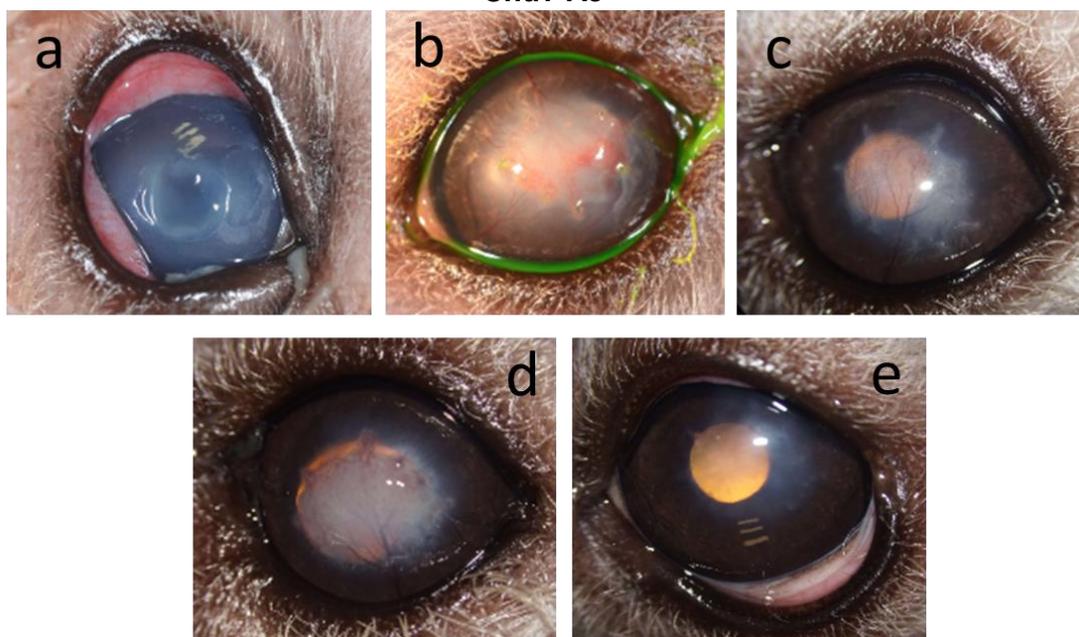
La greffe de membrane amniotique (AMT) possède des propriétés (Whitley et Hamor, 2021) :

- favorisant le renouvellement épithélial via l'EGF, le facteur de croissance des kératocytes (KGF), la laminine et le collagène de type VII ;
- anti-fibrotiques via l'inhibition du signal de transduction associé au facteur de croissance TGF β dans les fibroblastes de la cornée et de la conjonctive ;
- anti-inflammatoires via des cytokines comme l'interleukine 10 et l'antagoniste au récepteur de l'interleukine 1 ;
- anti-protéases via la présence d'inhibiteurs de protéases dans le stroma et l'apport de collagène exogène servant de substrat pour les protéases du film lacrymal ;
- et anti-angiogéniques.

Ainsi, l'AMT favorise la cicatrisation cornéenne, réduit la douleur, l'inflammation et l'infection. De plus, elle limite la fibrose cicatricielle et donne de meilleurs résultats fonctionnels et esthétiques que la greffe conjonctivale (Ollivier *et al.*, 2006 ; Costa *et al.*, 2019).

Les complications sont rares. Il s'agit principalement de la pigmentation cornéenne et du rejet de la greffe. Un taux de complication plus élevé est observé pour les ulcères profonds et étendus, en présence d'autres atteintes oculaires et lors de l'utilisation de membrane amniotique humaine (Costa *et al.*, 2019).

Figure 46. Traitement par greffe de membrane amniotique équine d'un ulcère à collagénases, Bichon à poils frisés, aspect avant la greffe (a), 4 semaines après (b), 5 semaines après (c), 6 semaines après (d) et 10 semaines après (e), unité ophtalmologie du Chuv-Ac



- (a) *Pré-opératoire : hyperhémie conjonctivale très marquée, sécrétions purulentes, ulcère stromal à collagénases étendu mais moyennement profond, œdème cornéen diffus, néovascularisation profonde pré-limbique en région dorsale en regard d'une zone de kératopathie bulleuse*
- (b) *4 semaines après la greffe : hyperhémie conjonctivale modérée, sécrétions muqueuses, greffe et points en place, néovascularisation dorsale dense, tissu de granulation et fibrose stromale en voie de résorption*
- (c) *5 semaines après la greffe : hyperhémie conjonctivale modérée, sécrétions muqueuses, greffe en place et correctement épithélialisée, tissu de granulation et néovascularisation en voie de résorption*
- (d) *6 semaines après la greffe : sécrétions muqueuses, points de suture résorbés, greffe en place et correctement épithélialisée, nette régression du tissu de granulation mais persistance de quelques néovaisseaux*
- (e) *10 semaines après la greffe : sécrétions séreuses, régression complète du tissu de granulation, persistance de quelques vaisseaux cornéens grêles et fibrose axiale discrète.*

❖ **Greffe de sous-muqueuse intestinale de porc**

La sous-muqueuse de l'intestin grêle (SIS) est un biomatériau isolé du jéjunum du porc. Elle se compose de trois couches : la musculaire-muqueuse, la sous-muqueuse et la couche compacte de la muqueuse. Elle est obtenue par débridement mécanique afin d'éliminer les tissus méésentériques, la muqueuse, la musculature et la séreuse ; les quelques cellules restantes étant lysées par un lavage hypotonique. Elle est conservée par lyophilisation et stérilisée par l'oxyde d'éthylène. Avant d'être greffée sur la cornée, elle est réhydratée dans une solution saline stérile. La SIS est composée de protéines associées à des carbohydrates et à des lipides. Sa composition se rapproche donc de la composition de la MEC cornéenne : collagène, GAGs, protéoglycanes et glycoprotéines (Bussières, 2004). Un exemple de prise en charge d'un ulcère à collagénases par greffe de BIOSIS au Chuv-Ac est donné par la figure 47.

Après la greffe, la cicatrisation se fait en trois étapes. D'abord, une néovascularisation cornéenne se développe, stimulée par les facteurs de croissance contenu par le greffon. Puis, le tissu épithélial et stromal prolifèrent. La SIS forme alors une matrice protéique biocompatible qui

est envahie par les fibroblastes ensuite remplacée par les cellules stromales. Enfin, la MEC est remodelée. D'ailleurs, la SIS contient des facteurs de croissance qui régulent ce remodelage (Vanore *et al.*, 2007).

La greffe de SIS est une méthode peu coûteuse et relativement facile à réaliser. Dans certains cas, elle peut être recouverte d'une greffe de conjonctive. Cela procure un meilleur soutien structurel et un apport vasculaire d'éléments à activité antimicrobienne et anticollagénases à la cornée (Bussières, 2004).

Les complications ayant été observées sont : une fuite d'humeur aqueuse, la déhiscence du greffon, l'apparition de synéchies, d'une uvéite chronique, d'un hyphéma ou encore d'une cataracte (Vanore *et al.*, 2007).

Figure 47. Traitement par greffe de BIOSIS d'une descemétocèle, Pékinois : aspect avant la chirurgie (a), 72 heures (b), 10 jours après (c) et 1 mois et demi après (d), unité ophtalmologie du Chuv-Ac



(a) Pré-opératoire : macroblépharon, discret entropion inféro-médial, hyperémie conjonctivale marquée, vascularisation dorso-temporale développée, œdème cornéen diffus plus marqué axialement, descemétocèle axial associé à des signes de kératomalacie.

(b) 72 heures après la greffe : retrait d'un point de recouvrement, hyperémie conjonctivale marquée, greffe et sutures cornéennes en place, œdème cornéen au niveau des points, vascularisation dorso-temporale grêle superficielle.

(c) 10 jours après la greffe : greffe et sutures cornéennes en place, œdème cornéen au niveau des points, vascularisation dorso-temporale grêle superficielle, bulles épithéliales dorsales, tissu de granulation dorsal et temporal, réépithélialisation en cours.

(d) 1 mois et demi après la greffe : greffe et sutures cornéennes en place, œdème cornéen au niveau des points, vascularisation dorso-temporale et ventrale superficielle, bulles épithéliales dorsales, tissu de granulation sur la totalité de la zone de greffe, test fluorescéine négatif.

❖ Greffe de matrice acellulaire vésicale porcine

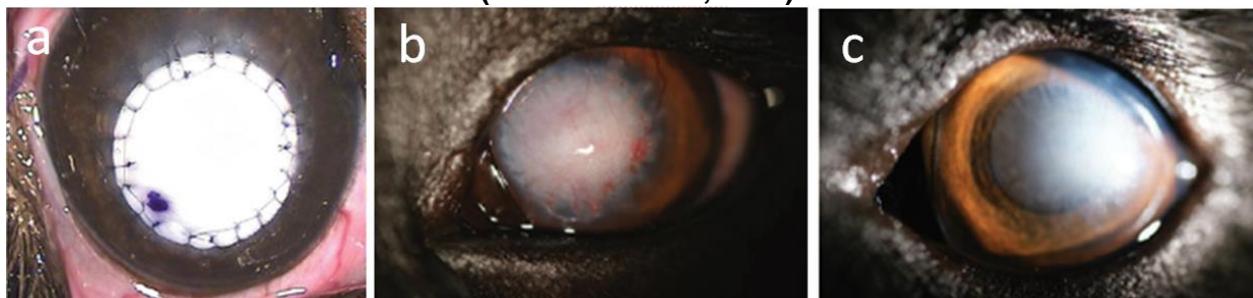
La matrice acellulaire vésicale porcine est constituée uniquement de protéines. Par conséquent, elle protège la cornée et fournit un support mécanique à sa cicatrisation (Faure, 2018). Cependant, l'absence de vascularisation et de fibrose associée rend cette greffe moins efficace que la greffe de cornée fraîche ou congelée (Whitley et Hamor, 2021).

❖ Greffe de péricarde de bovin

Le péricarde est l'enveloppe la plus externe du cœur. Il est prélevé à la mort du bovin puis rendu inerte par un traitement physico-chimique. Sa fixation à la cornée doit être réalisée préférentiellement du côté rugueux du greffon car cela facilite son intégration. La cicatrisation comprend trois phases : le développement d'une néovascularisation ; l'assimilation du greffon et sa ré-épithélialisation ; et enfin la régression vasculaire et le remodelage stromal permettant de recouvrir la transparence cornéenne. Ce biomatériau est exclusivement constitué de collagène et d'élastine. Par conséquent, la greffe fournit uniquement un support tectonique à la cicatrisation

cornéenne. Un exemple de prise en charge d'un ulcère à collagénases par greffe de péricarde de bovin est donné par la figure 48. (Dulaurent et al., 2014).

Figure 48. Traitement par greffe de péricarde de bovin (Tutopatch®) d'un ulcère à collagénases, chien : aspect pendant la chirurgie (a), 1 mois après (b) et 3 mois après (c) (Dulaurent et al., 2014)



- (a) Pendant la chirurgie : suture du greffon de péricarde de bovin sur le site de kératectomie.
(b) 1 mois après la greffe : néovascularisation et fibrose cornéenne.
(c) 3 mois après la greffe : persistance d'une cicatrice cornéenne.

d) Enucléation

Pour certains ulcères à collagénases, l'enucléation peut être la meilleure option thérapeutique pour le patient. En effet, lorsque les lésions cornéennes sont très profondes (perforation cornéenne, iridocèle) et en présence d'une panophtalmie, le pronostic de récupération visuelle est si faible que l'enucléation doit être envisagée (Turner, 2008).

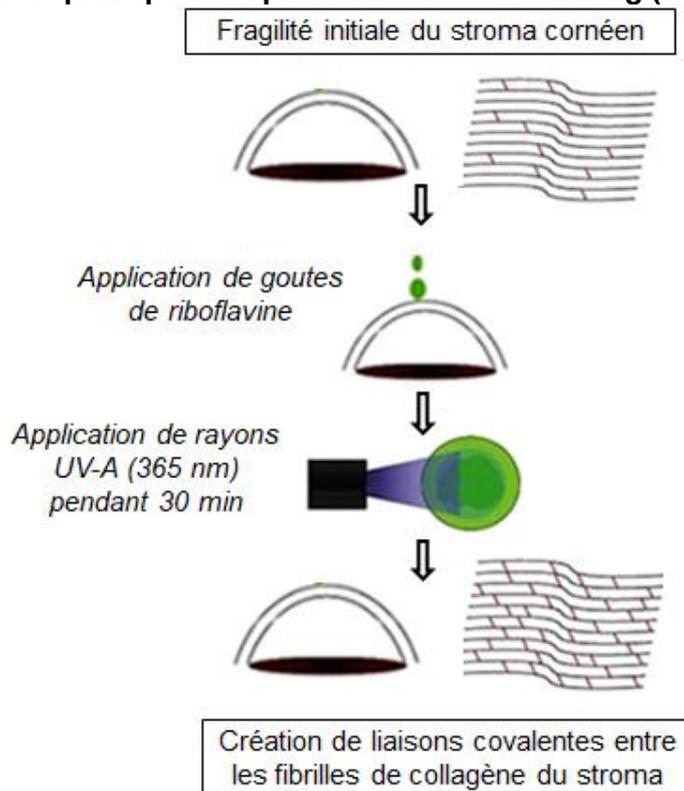
3. Nouvelles perspectives de traitement : le *cross-linking*

Le *cross-linking* (CXL) est une technique développée au début des années 2000 en ophtalmologie humaine et qui est aujourd'hui utilisée en médecine vétérinaire. Si son indication initiale en médecine humaine était le traitement du kératocône, de nos jours, il est utilisé dans le traitement des kératites infectieuses lorsque celles-ci ne répondent pas au traitement antimicrobien ou lorsqu'un ulcère à collagénase se développe (Spiess et al., 2014 ; Whitley et Hamor, 2021).

Chez le chien, le CXL s'effectue sous anesthésie générale ou forte sédation et après avoir appliqué un anesthésique topique sur la cornée. Il consiste à appliquer sur l'œil une solution iso-osmolaire de riboflavine à 0,1% puis à illuminer pendant un temps donné la cornée avec des UV-A (ultra-violet A) à une longueur d'onde de 365 à 370 nanomètres et à une puissance de 30 mW/cm³, en prenant garde à épargner le limbe. La solution de riboflavine est administrée toutes les trois minutes pendant toute la durée de l'irradiation. La riboflavine (vitamine B2) agit comme un photo-sensibilisateur lorsqu'elle est exposée aux UV-A. Elle produit des radicaux libres qui provoquent la création de nouvelles liaisons covalentes entre les fibres de collagène dans le stroma. Selon les protocoles, les marges de l'ulcère peuvent être préalablement nettoyées et les débris tissulaires retirés. La pénétration de la riboflavine dans le stroma doit être confirmée en visualisant sa fluorescence dans la chambre antérieure avec une lampe bleue Cobalt. Un traitement antibiotique post-opératoire doit être appliqué jusqu'à la cicatrisation complète de l'épithélium antérieur. La figure 49 présente un schéma du principe de la technique et la figure 50 l'installation utilisée pour la réalisation d'un *cross-linking* chez un chien (Spiess et al., 2014 ; Pot et al., 2014).

Actuellement, différents protocoles de CXL existent. Une étude a montré l'efficacité du CXL accéléré dans le traitement des ulcères à collagénases. Cette méthode permet de diminuer la durée de l'anesthésie générale en donnant les mêmes résultats que le CXL classique (Famose, 2014).

Figure 49. Schéma de principe de la procédure du *cross-linking* (d'après Pot *et al.*, 2014)



Le *cross-linking* consiste à illuminer avec des UV-A pendant 30 minutes la cornée imprégnée de riboflavine. Cette procédure favorise la création de liaisons covalentes entre les fibrilles de collagène du stroma cornéen et stimule ainsi la cicatrisation cornéenne.

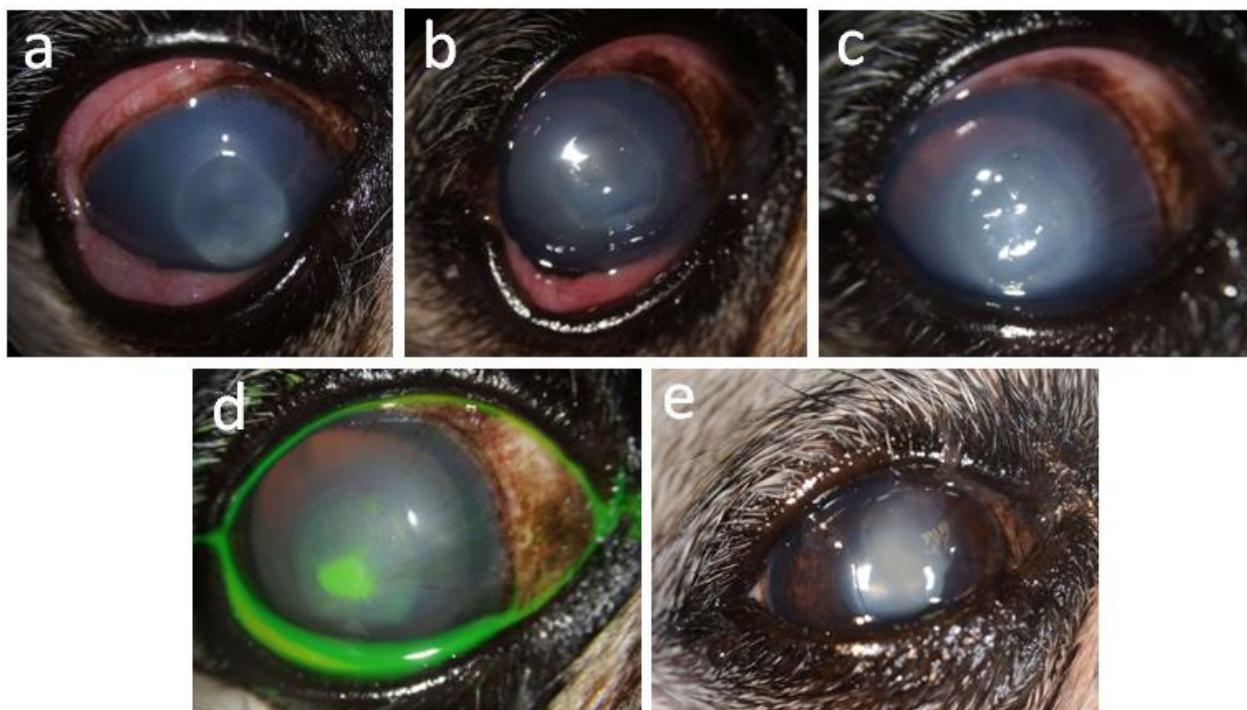
Figure 50. Installation pour la réalisation d'un CXL chez un carlin présentant un ulcère à collagénases, positionnement de la source d'irradiation (a), application de la riboflavine (b) et fluorescence de la riboflavine lors de l'irradiation (c) (Pot *et al.*, 2014)



Le *cross-linking* s'effectue sur un chien placé sous anesthésie générale et placé en décubitus dorsal.

Le CXL a plusieurs effets sur la cornée. Il provoque la création de nouvelles liaisons covalentes entre les fibrilles de collagène dans les 300 micromètres supérieurs du stroma et augmente ainsi sa résistance biomécanique et biochimique, notamment face à l'action des protéases et des collagénases (Whitley et Hamor, 2021). De plus, les radicaux libres libérés altèrent l'ADN, l'ARN et la membrane des micro-organismes présents dans le stroma. Le CXL possède donc une activité antimicrobienne contre de nombreuses bactéries, champignons, virus et protozoaires. Enfin, le CXL provoque l'apoptose des kératocytes situés dans la partie antérieure du stroma et diminue donc l'inflammation de la cornée en modifiant la réponse immunitaire locale médiée par les cellules dendritiques et les cellules de Langerhans (Spiess *et al.*, 2014 ; Famose, 2014 ; Pot *et al.*, 2014). Un exemple de traitement d'un ulcère cornéen à collagénases via un *cross-linking* au Chuv-Ac est donné sur la figure 51.

Figure 51. Traitement par CXL d'un ulcère à collagénases, Carlin, aspect avant le CXL (a), 24 heures après, 72 heures après, 7 jours après et 3 semaines après, unité ophtalmologie du Chuv-Ac



- (a) *Pré-opératoire : lagophtalmie, jetage mucopurulent, hyperhémie conjonctivale marquée, œdème cornéen, absence de néovascularisation, œdème cornéen diffus, ulcère cornéen para-axial dorso-médial associé à des signes de kératomalacie, plus marquée en région ventrale.*
- (b) *24 heures après le CXL : réduction des sécrétions oculaires purulentes, diminution de l'œdème cornéen.*
- (c) *72 heures après le CXL : perte de substance stromale de 6mm de diamètre, para-axiale dorso-médiale, régression des signes de kératomalacie, œdème cornéen diffus moins marqué, néovascularisation dorsale, pigmentation médiale verticillée.*
- (d) *7 jours après le CXL : début de l'épithélialisation de l'ulcère, régression des signes de kératomalacie, test à la fluorescéine positif sur 2mm.*
- (e) *3 semaines après le CXL : épithélialisation complète de l'ulcère et test à la fluorescéine négatif.*

Les complications possibles du CXL sont le développement d'une kératite pigmentaire, d'une infection post-opératoire ou de lésions de l'endothélium cornéen. Les lésions de l'endothélium se développent à cause de la cytotoxicité de la photo-activation de la riboflavine pour les cellules endothéliales. La profondeur de l'absorption maximale des UV-A par le stroma dans une cornée saturée en riboflavine est de 300 micromètres. Plus en profondeur, le niveau d'absorption chute

sous le niveau de toxicité pour les structures plus profondes de la cornée (comme l'endothélium) et de l'œil (comme l'iris, le cristallin et la rétine). Par conséquent, le CXL ne doit pas être réalisé lorsque l'épaisseur totale de la cornée est inférieure à 300 microns (Famose, 2014 ; Pot *et al.*, 2014)

Cependant, il n'y a pas encore de consensus sur l'efficacité de cette technique (Chan *et al.*, 2015). Une étude cas-clinique a montré qu'en moins de 20 jours après le CXL la progression de l'ulcère était stoppée et qu'après 40 jours les lésions présentaient un état quiescent, sans inflammation avec une cicatrice en formation (Spiess *et al.*, 2014). Une autre étude cas-clinique a montré que le CXL permet une diminution rapide de la douleur oculaire (en trois jours), une disparition de l'infiltration cellulaire (en sept jours), une épithélialisation rapide des lésions (dans les 15 jours), une disparition de la vascularisation cornéenne (en un mois) et in fine un recouvrement total de la fonction visuelle avec des degrés de cicatrices variable (en un mois) (Famose, 2014). Cependant aucune étude comparative prospective n'a réussi à montrer une différence significative de temps de cicatrisation et de taux de complications par rapport au traitement médical intensif. De plus, l'amélioration clinique observée est difficile à attribuer au CXL ou au traitement intensif post-opératoire. Par ailleurs, il n'y a pas de consensus sur le protocole à appliquer (Chan *et al.*, 2015). Enfin, l'échec de la procédure peut être associé à un manque de collagène dans le stroma à l'initiation du CXL, notamment pour les ulcères profonds (Pot *et al.*, 2014).

In fine, le CXL semble constituer une alternative prometteuse à la greffe conjonctivale lorsque la superficie de l'ulcère est si importante que la cicatrice laissée par cette dernière provoquerait une perte de vision trop importante (Chan *et al.*, 2015).

Finalement, comme l'illustre le tableau 4, la prise en charge d'un ulcère cornéen, qu'elle soit médicale ou chirurgicale, dépend de sa profondeur.

Tableau 4. Bilan des options thérapeutiques pour chaque type d'ulcère cornéen

Type d'ulcère	Traitement médical	Traitement chirurgical
Ulcères stromaux non infectés	<p>Immédiat.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Antibiotiques topiques large spectre 3 fois par jour ✓ Atropine 1% topique toutes les 12 à 24 heures pendant 3 jours ✓ Substituts de larmes ✓ +/- AINS par voie systémique Ex. Méloxicam ✓ Contrôle dans les 2 à 5 jours, selon les facteurs de risque de complications 	<p>Si profondeur de l'ulcère > 50% de l'épaisseur cornéenne.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Colle adhésive à base d'isobutyl cyanoacrylate si ulcère de petite taille ✓ +/- Kératectomie pour retirer les tissus nécrotiques ✓ Greffe de conjonctive ✓ Greffe de cornée ✓ Greffe de biomatériaux
Ulcères à collagénases d'origine bactérienne	<p>Intensif et immédiat.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Antibiotique topique ciblant <i>P. aeruginosa</i> mais aussi <i>Staphylococcus</i> et <i>Streptococcus</i> toutes les 2 heures pendant 24 heures puis décroissance progressive de la fréquence des applications selon l'évolution ✓ Cycloplégique topique à effet (obtention d'une mydriase) ✓ Anti collagénases topiques toutes les 2 heures pendant 48 heures puis toutes les 4 à 6 heures jusqu'à la cicatrisation ✓ AINS par voie systémique 	<p>En absence d'amélioration ou en cas d'aggravation.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Kératectomie pour retirer les tissus infectés / nécrotiques ✓ Greffe de conjonctive ✓ Greffe de cornée ✓ Greffe de biomatériaux ✓ CXL ✓ Enucléation
Descemétocèles et Perforations cornéennes	<p>Intensif et immédiat.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Antibiotiques topiques et systémiques ✓ AINS systémique ✓ Cycloplégique topique 	<p>Immédiat et obligatoire.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Greffe de conjonctive ✓ Greffe de cornée ✓ Greffe de biomatériaux ✓ +/- Excision de l'iris ✓ Enucléation

F. Pronostic

En cas d'ulcère cornéen à collagénases, le pronostic est réservé car le risque de rupture cornéenne et de prolapsus de l'iris est toujours présent (Turner, 2008). En particulier, lors de perforation cornéenne, le pronostic est très réservé car le risque d'infection bactérienne dans la chambre antérieure et de panophtalmie est très élevé. De plus, le pronostic visuel est moins bon lors d'ulcère à collagénases perforant que lors de lésion traumatique perforante car le taux d'infection intraoculaire augmente lors d'ulcère à collagénases (Dubielzig, 2010). Enfin, certains ulcères cornéens à collagénases provoquent une uvéite antérieure, laquelle peut engendrer des séquelles irréversibles comme une hypertension oculaire et un glaucome, une cataracte ou un décollement de la rétine (Chahory, 2019).

Seconde partie : étude rétrospective de 53 cas d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien, traités au Chuv-Ac entre 2017 et 2020

I. Contexte de l'étude

A. Les ulcères cornéens à collagénases

Parmi les affections cornéennes, les ulcères cornéens à collagénases provoquent la dissolution rapide du stroma et peuvent évoluer vers la perforation. La cornée lésée prend un aspect gélatineux et blanchâtre appelé kératomalacie (Dubielzig, 2010). Les lésions sont causées par une forte activité protéolytique dans le stroma et le film lacrymal pré-cornéen. Cette protéolyse entraîne la destruction de tous les composants stromaux (collagène, protéoglycanes, etc...). Elle a deux origines : l'action de protéases endogènes produites par les cellules résidentes de la cornée (cellules épithéliales et fibroblastes) et les cellules inflammatoires (granulocytes neutrophiles et macrophages) ; mais aussi l'action de protéases exogènes produites par des bactéries ou parfois des champignons ayant infecté la cornée (Ollivier *et al.*, 2007 ; Vanore *et al.*, 2007).

Les bactéries les plus fréquemment isolées lors d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien sont *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. et *Pseudomonas aeruginosa* (Suter *et al.*, 2018). *Staphylococcus pseudintermedius* sécrète des coagulases et des protéases capables de détruire les composants stromaux. Elle libère aussi des toxines cytotoxiques capables d'induire la lyse cellulaire (Maali *et al.*, 2018). Les streptocoques β -hémolytiques, dont *Streptococcus canis*, produisent des hémolysines à l'origine de leur pouvoir pathogène (Auten *et al.*, 2020). *P. aeruginosa* produit quant à elle deux protéases, l'élastase et la protéase alcaline, et stimule aussi l'activité des protéases endogènes. Elle peut provoquer la dissolution totale du stroma en moins de 48 heures (Martin *et al.*, 2005). Certains champignons, comme *Aspergillus* sp. et *Fusarium* sp., produisent des sérines protéases également capables de lyser le collagène stromal (Andrew, 2003).

En raison de leur rapidité d'évolution, les ulcères cornéens à collagénases doivent faire l'objet d'un traitement médical précoce et intensif afin d'éliminer les micro-organismes pathogènes et de limiter l'activité des protéases. Dans l'attente des résultats de la culture bactérienne et de l'antibiogramme, un antibiotique à large spectre doit être prescrit (Martin *et al.*, 2005). Ce dernier peut être associé à un traitement antifongique (Sanchez, 2014). De plus, un traitement anti-collagénases à base de N-acétylcystéine, d'éthylène diamine tétra-acétique ou bien de sérum autologue ou hétérologue doit être administré (Ollivier *et al.*, 2007). Par ailleurs, des molécules cycloplégiques comme l'atropine et des anti-inflammatoires non stéroïdiens administrés par voie systémique complètent le traitement médical (Turner, 2008). Enfin, les substituts lacrymaux peuvent être administrés pour soutenir la cicatrisation (Khammari Chebbi *et al.*, 2008).

Si les lésions cornéennes impliquent plus de 50% de l'épaisseur cornéenne lors de la consultation initiale ou bien si l'ulcère cornéen progresse en dépit du traitement médical, une prise en charge chirurgicale doit être envisagée. Différentes techniques de greffes, comme la greffe de conjonctive, de cornée ou de biomatériaux, peuvent alors être employées. Dans le cas d'ulcères peu étendus et peu profonds, un comblement avec une colle à base d'isobutyl cyanoacrylate ou un recouvrement conjonctival peuvent représenter des alternatives à la greffe. En revanche, dans le cas des ulcères perforés les plus sévères, l'énucléation doit être envisagée (Martin *et al.*, 2005).

Enfin, le *cross-linking* du collagène par photoactivation de la riboflavine, une nouvelle approche thérapeutique consistant à appliquer une substance photosensible - la riboflavine - sur la cornée puis à l'irradier par des ultra-violets A, apparaît comme un traitement alternatif prometteur. Cette procédure permet en effet de créer de nouvelles liaisons covalentes entre les fibrilles de collagène et d'éliminer certains micro-organismes pathogènes (Spiess *et al.*, 2014).

In fine, l'identification des agents bactériens est un enjeu majeur afin de mettre en place un traitement médical efficace lors d'ulcère à collagénases et d'éviter l'aggravation, la perte de la vision et du globe.

B. Objectifs de l'étude

Cette étude rétrospective a porté sur les chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et traités au Chuv-Ac entre 2017 et 2020.

Dans un premier temps, cette étude visait à comparer l'analyse descriptive à l'admission et l'évolution clinique des chiens présentant des ulcères cornéens à collagénases pour lesquels une bactérie avait été identifiée, de celles des chiens pour lesquels aucune bactérie ne l'avait été.

Dans un second temps, ce travail cherchait à mettre en évidence une éventuelle corrélation entre le morphotype du chien et la nature de la bactérie isolée.

Dans un dernier temps, cette étude recherchait une possible corrélation entre la nature de la bactérie isolée et le grade de sévérité de l'ulcère d'une part et l'évolution clinique de l'ulcère d'autre part.

II. Matériel et méthodes

A. Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion des chiens recrutés pour cette étude étaient :

- un diagnostic clinique d'ulcère cornéen à collagénases établi au Chuv-Ac entre le 1^{er} Janvier 2017 et le 31 Décembre 2020 et fondé sur l'examen de la cornée (perte de substance stromale, kératomalacie, collagénolyse),
- et une culture bactérienne et un antibiogramme effectué au Biopôle sur un prélèvement du lit de l'ulcère ou de ses marges.

Parmi les chiens recrutés, deux groupes d'animaux ont ainsi pu être formés, à savoir :

- les chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et une culture bactériologique positive ayant permis d'identifier la (ou les) bactérie(s) associée(s),
- et les chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et une culture bactériologique négative, n'ayant pas permis de mettre en évidence une bactérie associée.

B. Recueil des données

Les données ont été recueillies à l'aide du logiciel Clovis version 13 13 4 qui est le logiciel de gestion des fichiers clients du Chuv-Ac. Le service de bactériologie du Biopôle localisé sur le site de l'EnvA a fourni la liste des chiens examinés au service d'ophtalmologie du Chuv-Ac ayant fait l'objet d'un prélèvement et d'une analyse bactériologique entre le 1^{er} Janvier 2017 et le 31 Décembre 2020. Le dossier de chaque chien de cette liste a ensuite été lu afin de vérifier si l'animal répondait aux critères d'inclusion de l'étude, c'est-à-dire qu'un ulcère cornéen à collagénases avait bien été diagnostiqué. Les résultats de ce recueil de données sont rapportés dans l'annexe 1 pour le chien numéro 1 (cas 1).

Par la suite, pour chaque chien inclus dans l'étude, plusieurs données ont été recueillies :

- l'anamnèse : nom du propriétaire, de l'animal, âge, race, sexe, statut reproducteur ;
- les potentiels facteurs de prédisposition aux ulcères cornéens à collagénases : le morphotype brachycéphale ou une lagophtalmie, la présence d'une autre maladie oculaire, des traitements oculaires en cours, la réalisation récente d'une chirurgie oculaire, la valeur du test de Schirmer, ou encore la présence d'une maladie intercurrente et auquel cas son traitement ;
- les éléments relatifs à l'historique de l'ulcère cornéen avant sa prise en charge au Chuv-Ac : durée d'évolution et traitements mis en place ;
- les aspects cliniques de l'ulcère cornéen lors de sa prise en charge au Chuv-Ac : latéralisation, localisation, profondeur, superficie, signes de kératomalacie et d'uvéite antérieure (myosis, effet Tyndall, hypopion) ;
- les résultats de la culture bactérienne et de l'antibiogramme ;
- les caractéristiques du traitement mis en place au Chuv-Ac : traitement médical seul, traitement médical associé à un CXL, ou bien traitement médical associé à une prise en charge chirurgicale ;
- l'évolution clinique au cours du suivi ;
- et la durée du traitement jusqu'à la cicatrisation ou à l'intervention chirurgicale dans le cas où elle a eu lieu.

En particulier les critères d'inclusion dans le morphotype brachycéphale étaient les suivants : animal présentant une face aplatie et un crâne plus large que long. La lagophtalmie décrit quant à elle une incapacité du chien à fermer entièrement ses paupières. Ainsi, la brachycéphalie et la lagophtalmie ne sont pas incompatibles puisque la lagophtalmie peut être une conséquence d'une hyper-brachycéphalie chez certaines races brachycéphales, lorsqu'il y a par exemple une exophtalmie importante. Finalement, les races brachycéphales incluses dans l'étude étaient les Bouledogues français et anglais, les Shi Tzu, les Carlins, les Staffordshire bull terrier, les Boston terrier, les Cavaliers King Charles, les Pékinois et les Shar Pei. Parmi ces chiens, deux ont été considérés lagophtalme en raison d'une hyper-brachycéphalie décrite dans leur dossier sur le logiciel Clovis.

C. Examen ophtalmologique

Tous les chiens inclus dans l'étude ont reçu un examen ophtalmologique complet réalisé par un vétérinaire diplômé du collège européen d'ophtalmologie (ECVO) ou bien un résident ECVO, sous la supervision d'un diplômé ECVO, exerçant au Chuv-Ac. Après le recueil de l'anamnèse et des commémoratifs auprès du propriétaire, l'examen a débuté par l'évaluation de la fonction visuelle, c'est-à-dire l'évaluation de la réponse à la menace et à l'éclair lumineux (ou *Dazzle reflex*) et l'examen des réflexes photomoteurs directs et indirects. Ensuite, chaque œil a reçu un examen complet s'intéressant successivement à la taille et position du globe oculaire ; à l'aspect des paupières, des conjonctives et de la membrane nictitante ; à l'appareil lacrymal ; à la cornée ; à la chambre antérieure ; à la pupille et à l'iris ; au cristallin ; et enfin au vitré et au fond de l'œil.

Le test de Schirmer (Dina-stri Schirmer Plus, Gecis, Lamotte-Beuvron, France) a été réalisé afin d'évaluer la sécrétion lacrymale sauf dans les cas où le stress de l'animal ou la sévérité des lésions ne le permettait pas.

Le test à la fluorescéine (fluorescéine 0,5% collyre unidose, Fluodrop®, TVM, Lempdes, France) a été réalisé pour évaluer l'intégrité de la cornée. La profondeur de l'ulcère a été évaluée à l'aide d'une lampe à fente (SL-15 Kowa, Kowa Life Science Division, Tokyo, Japan). Trois niveaux de profondeur ont été définis : les ulcères superficiels pour lesquels la perte de substance était limitée au tiers supérieur du stroma ; les ulcères moyens pour lesquels elle atteignait le second tiers ; et les ulcères profonds quand elle était étendue au tiers postérieur.

La mesure de la tension oculaire par tonométrie électronique par rebond (Tonovet, Icare, Vantaa, Finlande) et l'évaluation de l'effet Tyndall en biomicroscopie ont permis d'explorer la chambre antérieure.

L'examen du vitré et le fond d'œil ont été réalisés par ophtalmoscopie indirecte (Heine Omega 500, Herrsching, Germany). Cependant, chez certains chiens l'étendue des lésions n'a pas permis une évaluation correcte de ce segment.

Par ailleurs, des photographies de l'aspect de la cornée ont été prises sur certains chiens afin de faciliter l'objectivation de l'évolution des lésions au cours du traitement.

D. Examen bactériologique

Tous les chiens inclus dans l'étude ont fait l'objet d'un prélèvement cornéen pour réaliser une analyse bactériologique, selon le protocole ci-dessous :

Après 2 instillations d'un anesthésique local stérile, la tétracaïne (Tétracaïne® collyre unidose, TVM, Lempdes, France), à 5 minutes d'intervalle, un prélèvement cornéen était réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile (Portagerm™ Amies Agar) humidifié avec quelques gouttes de soluté physiologique stérile. L'écouvillon était passé trois à cinq fois sur la zone ulcérée ou bien sur les marges de l'ulcère en cas d'ulcère très profond présentant un risque élevé de perforation. Le clinicien veillait à ne jamais toucher les paupières au cours de la procédure. Puis l'écouvillon était remis dans le tube de prélèvement sans le toucher.

L'analyse bactériologique était réalisée dans le service de bactériologie du Biopôle. L'écouvillon permettait d'ensemencer deux géloses. La première gélose ensemencée était une gélose au sang (laboratoire Biomérieux). La deuxième gélose était une gélose Hektoen (fabriquée à partir d'une poudre provenant du laboratoire Biorad) et son ensemencement était réalisé après avoir replongé l'écouvillon dans la gélose Portagerm™. L'incubation était réalisée à 37°C pendant 24 à 48 heures. Un antibiogramme était demandé pour chaque souche isolée. Les antibiotiques testés étaient : la polymyxine B, la gentamicine, la norfloxacine, la doxycycline, la ciprofloxacine, le chloramphénicol, l'acide fusidique, la néomycine, la tétracycline, la tobramycine et selon la bactérie isolée la lincomycine, l'érythromycine et l'oxacilline. Enfin, la lecture des résultats était réalisée sous la supervision d'un vétérinaire spécialiste en bactériologie.

E. Suivi clinique des animaux

A la suite de la première consultation, chaque chien a fait l'objet d'un suivi clinique régulier. Ce suivi avait lieu tous les jours si l'animal était hospitalisé au service des soins intensifs du Chuv-Ac ou lors de consultations espacées de deux à trois jours au service d'ophtalmologie si le traitement était administré par les propriétaires à leur domicile. A chaque consultation de suivi, un examen ophtalmologique comprenait l'examen des surfaces oculaires et de la chambre antérieure et un test à la fluorescéine.

Le succès du traitement médical était déterminé par l'obtention d'un résultat négatif au test de la fluorescéine, résultat qui indiquait une réépithélialisation complète de la lésion cornéenne. En revanche, en cas de progression importante de l'ulcère cornéen (extension en profondeur et en superficie) ou de signes marqués d'uvéite antérieure, une prise en charge chirurgicale pouvait être proposée. Le recours à une prise en charge chirurgicale était considéré comme un échec du traitement médical.

F. Analyse des données

Une analyse descriptive des données a tout d'abord été réalisée. Elle s'est intéressée successivement aux commémoratifs, aux facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères cornéens à collagénases, à l'historique avant la première consultation au Chuv-Ac, aux signes cliniques lors de la présentation initiale, aux résultats de la culture bactériologique, au traitement mis en place et finalement au suivi de l'animal. Lorsqu'un chien inclus dans l'étude avait présenté plusieurs épisodes indépendants d'ulcères à collagénases entre 2017 et 2020 seul le premier épisode était inclus dans l'étude.

Une analyse statistique a ensuite été menée. Cette dernière avait trois objectifs :

- Comparer l'analyse descriptive à l'admission et l'évolution clinique des chiens présentant des ulcères cornéens à collagénases pour lesquels une bactérie avait été identifiée, de celles des chiens pour lesquels aucune bactérie ne l'avait été.
- Mettre en évidence une éventuelle corrélation entre le morphotype du chien et la nature de la bactérie isolée.
- Rechercher une éventuelle corrélation entre la nature de la bactérie isolée et le grade de sévérité de l'ulcère d'une part et l'évolution clinique de l'ulcère d'autre part.

Les analyses statistiques ont toutes été réalisées à l'aide du logiciel en ligne BiostaTGV (<https://biostatgv.sentiweb.fr/?module=tests>).

III. Résultats

Cinquante-deux chiens ont été inclus dans cette étude représentant 53 ulcères cornéens à collagénases puisqu'un animal présentait un ulcère à collagénases sur chacun de ses yeux. Parmi ces 53 ulcères, 32 ont fourni un résultat positif à la mise en culture bactériologique et 21 un résultat négatif.

A. Analyse descriptive

1. Commémoratifs

Les différentes races des chiens inclus dans notre étude ont été recensées et leur répartition est résumée dans le tableau 5. Vingt races de chien ont été incluses dans l'étude. Parmi l'ensemble des chiens présentant un ulcère à collagénases (groupe C), les races les plus fréquentes étaient les Bouledogues français (n=15 ; f=29%), les Shih Tzu (n=8 ; f=15%), les Carlins (n=5 ; f=10%) et les Bouledogues anglais (n=4 ; f=8%). Parmi les chiens pour lesquels la culture bactériologique était positive (groupe CCP), les races les plus fréquentes étaient les Bouledogues français (n=9 ; f=29%) et les Shih Tzu (n=8 ; f=26%). Parmi les chiens pour lesquels la culture était négative (groupe CCN), les races les plus fréquentes étaient les Bouledogues français (n=6 ; f=28%), les Bouledogues anglais (n=4 ; f=19%) et les Carlins (n=3 ; f=14%). Le morphotype brachycéphale était dominant parmi les chiens inclus dans l'étude puisqu'il concernait 38 (73%) des chiens inclus. Parmi ces derniers, deux Shih Tzu (5%) étaient de morphotype lagophtalme, conséquence d'une hyper brachycéphalie. La totalité des chiens de race Shih Tzu présentait un résultat positif à la culture bactériologique alors que la totalité des chiens de race Bouledogue anglais présentait un résultat négatif à la culture bactériologique.

Tableau 5. Répartition des races parmi les 52 chiens de l'étude

Race, n (%)	C (N=52)	CCP (N=31)	CCN (N=21)
Bouledogue français	15 (29)	9 (29)	6 (29)
Shih Tzu	7 (15)	7 (26)	0 (0)
Carlin	5 (10)	2 (7)	3 (14)
Bouledogue anglais	4 (8)	0 (0)	4 (19)
Yorkshire terrier	3 (6)	1 (3)	2 (10)
Chihuahua	2 (4)	1 (3)	1 (5)
Staffordshire bull terrier	2 (4)	1 (3)	1 (5)
Teckel	2 (4)	2 (7)	0 (0)
Akita Inu	1 (2)	0 (0)	1 (5)
Berger blanc suisse	1 (2)	0 (0)	1 (5)
Bichon à poils frisés	1 (2)	1 (3)	0 (0)
Bichon maltais	1 (2)	1 (3)	0 (0)
Boston terrier	1 (2)	1 (3)	0 (0)
Cavalier King Charles	1 (2)	1 (3)	0 (0)
Jack Russel terrier	1 (2)	0 (0)	1 (5)
Croisé Labrador	1 (2)	0 (0)	1 (5)
Pékinois	1 (2)	1 (3)	0 (0)
Pinscher nain	1 (2)	1 (3)	0 (0)
Shar Pei	1 (2)	1 (3)	0 (0)
Croisé Shih Tzu	1 (2)	1 (2)	0 (0)

C : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

Le statut reproducteur des chiens inclus dans notre étude (entier *versus* stérilisé) a été recensé et sa répartition est résumée dans le tableau 6. Parmi les chiens inclus dans l'étude, il y avait 22 femelles dont 12 stérilisées et 30 mâles dont 6 castrés. Ainsi, 46% des ulcères à collagénases ont été observés chez des mâles entiers, 23% chez des femelles stérilisées, 20% chez des femelles entières et 12% chez des mâles castrés. Tous les ulcères des chiens mâles castrés étaient associés à un résultat positif à la culture bactériologique alors qu'il n'y avait pas de différence significative pour les autres catégories.

Tableau 6. Répartition des statuts reproducteurs parmi les 52 chiens de l'étude

Statut reproducteur, n (%)	C (N=52)	CCP (N=31)	CCN (N=21)
Femelle entière	10 (20)	8 (26)	2 (9)
Mâle entier	24 (46)	11 (35)	13 (62)
Femelle stérilisée	12 (23)	6 (20)	6 (29)
Mâle castré	6 (12)	6 (20)	0 (0)

C : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

L'âge moyen et l'âge médian des chiens inclus dans notre étude ont été recensés et leur répartition est résumée dans le tableau 7. Lors de la présentation clinique initiale au Chuv-Ac, l'âge moyen des chiens inclus dans l'étude était de 79,6 mois soit environ 6 ans et 7 mois et l'âge médian était de 78 mois soit 6 ans et 6 mois. Le chien le plus jeune avait 6 mois et le plus âgé avait 15 ans.

Tableau 7. Moyenne, médiane et écart-type de l'âge des 52 chiens inclus dans l'étude

Age (mois)	C (N=52)	CCP (N=31)	CCN (N=21)
Moyen	79,6	89	65,7
Médian	78	90	60
Ecart-type	47,6	46,5	46,8

C : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

Les critères épidémiologiques des chiens dont la culture bactériologique a donné un résultat positif et ceux des chiens dont la culture a donné un résultat négatif ont été comparés. Comme l'illustre le tableau 8, aucune différence significative n'a été trouvée entre les deux groupes. Cependant, les chiens de race Shih Tzu présentaient tous des ulcères ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique et les chiens de race Bouledogue anglais tous des ulcères ayant fourni un résultat négatif.

Tableau 8. Commémoratifs des chiens présentant un ulcère à collagénases pour lesquels la culture bactériologique est positive et ceux des chiens dont la culture est négative

Paramètre étudié, n (%)	CCP (N=31)	CCN (N=21)	OR	IC ₉₅	p
Race					
✓ Bouledogue français (<i>versus</i> autres races)	9 (29)	6 (29)	1,02	[0,30 ; 3,48]	0,97
✓ Shih Tzu (<i>versus</i> autres races)	8 (25,8)	0 (0)	15,55	[0,85 ; 285,96]	0,06
✓ Carlins (<i>versus</i> autres races)	2 (6,4)	3 (14,3)	0,41	[0,06 ; 2,72]	0,36
✓ Bouledogue anglais (<i>versus</i> autres races)	0 (0)	4 (19)	0,06	[0,003 ; 1,22]	0,07
Sexe mâle	17 (54,8)	13 (61,9)	0,74	[0,24 ; 2,31]	0,61
Entier	19 (61,3)	15 (71,4)	0,63	[0,19 ; 2,08]	0,45
Age > 78 mois	17 (55)	9 (43)	1,61	[0,53 ; 4,95]	0,40

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

Points clefs Le morphotype brachycéphale était le plus fréquent parmi les chiens inclus dans l'étude (70% des cas). Les trois races de chiens les plus fréquentes étaient les Bouledogues français, les Shi Tzu et les Carlins. Presque la moitié des chiens (43%) étaient des mâles entiers et l'âge médian des chiens était de 6 mois et 6 ans. Aucune association significative n'a été trouvée entre la race, le sexe, le statut reproducteur ou encore l'âge du chien et l'obtention d'un résultat positif à la culture bactériologique.

2. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases

Les facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases évoqués dans la littérature ont été recensés chez les chiens inclus dans notre étude et leur répartition est résumée dans le tableau 9. Quarante-sept chiens, soit 90%, présentaient au moins un facteur de prédisposition potentiellement associé au développement d'un ulcère à collagénases et 31 chiens, soit 60%, en présentaient deux ou plus. Le facteur le plus fréquemment rencontré était le morphotype brachycéphale (n=38 ; f=73%). Le second facteur le plus fréquent était l'insuffisance lacrymale quantitative, c'est-à-dire la KCS (n=20 ; f=38%). Les autres facteurs identifiés chez les chiens inclus dans l'étude étaient un traitement corticoïde par voie topique antérieur à la présentation au Chuv-Ac ; une anesthésie générale récente ; une maladie systémique concomitante ; une désépithélialisation ou une chirurgie oculaire récente.

Tableau 9. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases parmi les 52 chiens de l'étude

Facteurs, n (%)	C (N=52)	CCP (N=31)	CCN (N=21)
Morphotype brachycéphale	38 (73)	24 (77)	14 (67)
Insuffisance lacrymale quantitative ✓ KCS	20 (38)	14 (45)	6 (29)
Maladie cornéenne ✓ Infiltration lipidique ou calcique ✓ Autre kératopathie	4 (8) 1 (2) 3 (6)	4 (13) 1 (3) 3 (10)	0 (0) 0 (0) 0 (0)
Traitement topique avec des corticoïdes	6 (12)	4 (13)	2 (10)
Anesthésie générale récente	12 (23)	7 (23)	5 (24)
Maladie systémique ✓ Maladie d'Addison ✓ Epilepsie idiopathique ✓ Maladie dermatologique chronique ✓ Entéropathie chronique	9 (17) 1 (2) 2 (4) 4 (8) 2 (4)	7 (23) 0 (0) 1 (3) 4 (13) 2 (7)	2 (10) 1 (5) 1 (5) 0 (0) 0 (0)
Désépithélialisation cornéenne	5 (10)	3 (10)	2 (10)
Chirurgie oculaire	3 (6)	1 (3)	2 (10)
Au moins un facteur identifié	47 (90)	30 (97)	17 (81)
Deux facteurs ou plus identifiés	31 (60)	22 (71)	9 (43)

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

Ces facteurs ont ensuite été comparés entre les chiens présentant un ulcère dont la culture bactériologique était positive et ceux dont la culture était négative. Le tableau 10 rapporte les résultats. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes pour ces facteurs. Néanmoins, les ulcères à collagénases des chiens présentant par ailleurs une insuffisance lacrymale quantitative (KCS) étaient plus fréquemment associés à un résultat positif à la culture bactériologique.

Tableau 10. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases chez les chiens ayant fourni un résultat positif à la culture et chez ceux ayant fourni un résultat négatif

Paramètre étudié, n (%)	CCP (N=31)	CCN (N=21)	OR	IC ₉₅	p
Morphotype brachycéphale	24 (77)	14 (67)	1,71	[0,50 ; 5,91]	0,39
KCS	14 (45)	6 (29)	2,06	[0,63 ; 6,71]	0,23
Maladie cornéenne	4 (13)	0 (0)	7,03	[0,36 ; 137,95]	0,20
Anesthésie générale récente	7 (23)	5 (24)	0,93	[0,25 ; 3,46]	0,92
Traitement topique à base de corticoïdes	4 (13)	2 (10)	1,41	[0,23 ; 8,48]	0,71
Maladie systémique	7 (23)	2 (10)	2,77	[0,51 ; 14,91]	0,24
Désépithélialisation cornéenne	3 (10)	2 (10)	1,02	[0,16 ; 6,68]	0,99
Chirurgie oculaire	1 (3)	2 (10)	0,32	[0,03 ; 3,74]	0,36

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

Points clefs Quatre-vingt-dix pour cent des chiens inclus dans l'étude présentaient au moins un facteur de prédisposition au développement d'ulcères cornéens à collagénases et plus de la moitié d'entre eux en présentaient au moins deux (60% des cas). Les deux facteurs les plus fréquemment rencontrés étaient le morphotype brachycéphale (73% des cas) et la KCS (38% des cas). Aucune association statistique n'a été trouvée entre la présence d'un facteur de prédisposition potentiel et le résultat de la culture bactériologique bien qu'un résultat positif fût souvent obtenu lors de KCS.

3. Historique avant la première consultation au Chuv-Ac

Les durées d'évolution de l'atteinte cornéenne chez les 52 chiens inclus dans l'étude avant leur première présentation au Chuv-Ac ont été recensées et sont résumées dans le tableau 11. Dans le cas particulier du chien présentant un ulcère à collagénases sur chacun de ses yeux, la durée retenue était celle de l'ulcère évoluant depuis le plus longtemps. Ainsi, la durée d'évolution moyenne avant la première consultation au Chuv-Ac était de 7,7 jours et la durée médiane de 3 jours. L'ulcère présenté le plus précocement au Chuv-Ac évoluait depuis moins de 24 heures et l'ulcère présenté le plus tardivement depuis 2 mois. Par ailleurs, la durée d'évolution moyenne avant la prise en charge au Chuv-Ac des ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique (9,4 jours) n'était pas significativement différente de celle des ulcères ayant fourni un résultat négatif (5,0 jours) ($p=0,15$ d'après le test de Student).

Tableau 11. Moyenne, médiane et écart-type de la durée d'évolution de l'atteinte cornéenne avant la présentation de chaque chien au Chuv-Ac

Durée d'évolution (jours)	C (N=51*)	CCP (N=31)	CCN (N=20*)
Moyenne	7,7	9,4	5,0
Médiane	3	3	3
Ecart-type	11,2	13,7	4,8

*La durée d'évolution de l'ulcère avant la consultation au Chuv-Ac était inconnue chez un chien.

C : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

Parmi les chiens inclus dans l'étude, 30 chiens avaient déjà été présentés à un vétérinaire avant la consultation au Chuv-Ac. Ainsi, comme le rapporte le tableau 12, avant la première consultation au Chuv-Ac, 56% des chiens inclus dans l'étude avaient reçu un traitement antibiotique par voie topique, 38% un traitement anti-collagénases, 14% un traitement cycloplégique, 21% un traitement anti-inflammatoire par voie systémique et 8% un traitement antibiotique par voie systémique.

Tableau 12. Traitements administrés aux chiens avant la première consultation au Chuv-Ac

Traitement, n (%)		C (N=52)	CCP (N=31)	CCN (N=21)
Voie topique	Antibiotique	29 (56)	18 (56)	12 (57)
	Anti-collagénases	20 (38)	11 (34)	9 (43)
	Atropine	7 (14)	6 (19)	2 (10)
Voie systémique	Anti-inflammatoire	11 (21)	9 (28)	2 (10)
	Antibiotique	4 (8)	3 (9)	2 (10)

C : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases

CCP : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était positive

CCN : chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases et pour lesquels la culture bactériologique était négative

Points clefs La durée d'évolution médiane de l'ulcère avant la présentation du chien au Chuv-Ac était de 3 jours. Plus de la moitié des chiens avaient été présentés à un premier vétérinaire avant la consultation au Chuv-Ac et avaient reçu un traitement antibiotique par voie topique (56% des cas). Aucune association statistique n'a été trouvée entre la durée d'évolution de l'ulcère et l'obtention d'un résultat positif à la culture bactériologique.

4. Examen bactériologique réalisé lors de la première consultation au Chuv-Ac

Lors de la première consultation au Chuv-Ac, un prélèvement cornéen était systématiquement réalisé sur chaque ulcère afin de faire une culture bactériologique sur gélose au sang et sur gélose Hektoen. Cinquante-trois prélèvements ont ainsi été réalisés car, parmi les 52 chiens inclus dans l'étude, un individu présentait un ulcère sur chaque œil. Les résultats de ces analyses sont

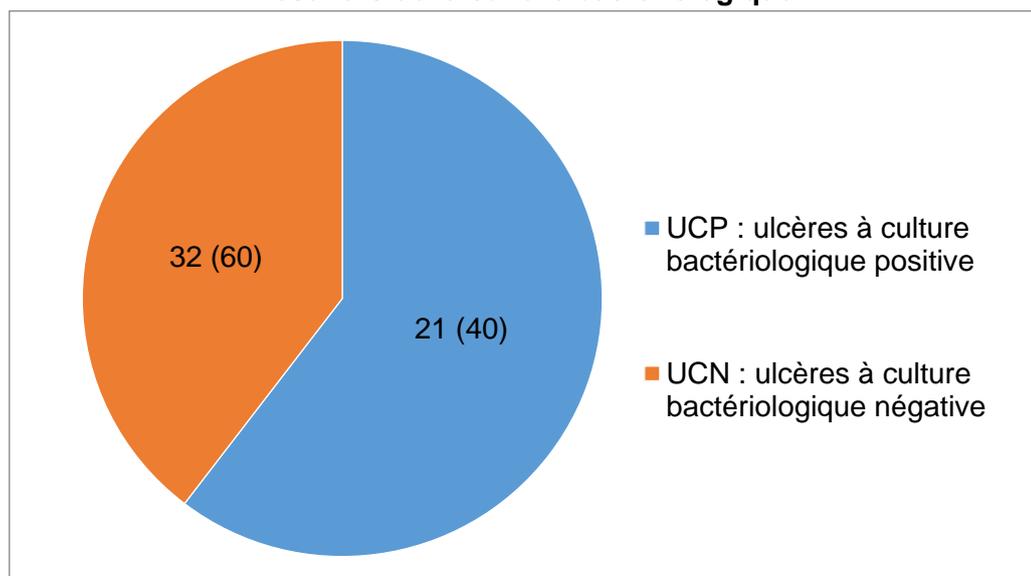
rapportés dans le tableau 13. Trente-deux prélèvements testés (60%) ont fourni un résultat positif et 21 un résultat négatif (40%). Parmi les ulcères à collagénases ayant donné un résultat positif à la culture bactériologique, 47 souches bactériennes ont été isolées pour un total de 17 espèces bactériennes différentes. Les souches les plus fréquemment isolées étaient des souches gram positives (n=35 ; f=75%). Les staphylocoques (n=19 ; f=40%), les streptocoques (n=10 ; f=21%) et *Pseudomonas aeruginosa* (n=5 ; f=11%) étaient les germes les plus souvent identifiés.

Tableau 13. Souches bactériennes mises en évidence par l'analyse bactériologique des prélèvements effectués sur les 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude

Bactéries	n (%)
Gram positives	35 (75)
<i>Staphylococcus</i> sp.	19 (40)
✓ <i>S. pseudintermedius</i>	15 (32)
✓ <i>S. epidermidis</i>	2 (4)
✓ <i>S. schleiferi</i>	1 (2)
✓ <i>S. capitis</i>	1 (2)
<i>Streptococcus</i> sp.	10 (21)
✓ <i>S. canis</i>	6 (13)
✓ <i>Streptococcus</i> du groupe G	3 (6)
✓ <i>S. minor</i>	1 (2)
<i>Corynebacterium</i> sp.	1 (2)
<i>Enterococcus faecalis</i>	3 (6)
<i>Cutibacterium acnes</i>	1 (2)
<i>Rothia nasimurium</i>	1 (2)
Gram negatives	12 (25)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (11)
<i>Moraxella canis</i>	2 (4)
<i>Serratia marcescens</i>	2 (4)
<i>Escherichia coli</i>	1 (2)
<i>Pasteurella</i> sp.	1 (2)
<i>Capnocytophaga canimorsus</i>	1 (2)

Comme l'illustre la figure 52, les résultats de l'analyse bactériologique ont permis de classer les 53 ulcères cornéens à collagénases inclus dans l'étude, groupe U, dans deux sous-groupes : les ulcères ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique (n=32 ; f=60%), groupe UCP, et ceux ayant fourni un résultat négatif (n=21 ; f=40%), groupe UCN.

Figure 52. Différents groupes d'ulcères cornéens à collagénases de l'étude selon les résultats de la culture bactériologique



Comme indiqué dans le tableau 14, les résultats ont également permis de différencier les ulcères pour lesquels la culture bactériologique révélait une infection dite « simple », c'est-à-dire pour laquelle une seule souche bactérienne était isolée (n=20 ; f=62%), des ulcères pour lesquels une infection dite « mixte » était présente, c'est-à-dire pour laquelle au moins deux souches bactériennes différentes ont été identifiées (n=12 ; f=38%). Ainsi, la majorité des ulcères cornéens à culture bactériologique positive ne comportaient qu'une seule souche bactérienne.

Lors d'infection simple, 80% des bactéries isolées étaient gram positives (16 cas sur 20). Les seules bactéries gram négatives isolées seules étaient *P. aeruginosa* (3 cas), *C. canimorsus* (1 cas) et *C. acnes* (1 cas). Finalement, les bactéries les plus fréquemment isolées lors d'infection simple étaient *S. pseudintermedius* (n=9 ; f=45%), *P. aeruginosa* (n=3 ; f=15%) et *S. canis* (n=2 ; f=10%).

Lors d'infection mixte, la bactérie la plus fréquemment isolée était *S. pseudintermedius* (n=6 ; f=50%) et les autres souches les plus fréquemment identifiées étaient les streptocoques (n=7 ; f=58%) et *Pseudomonas* sp. (n=2 ; f=17%). L'association bactérienne la plus fréquente était le couple *S. pseudintermedius* et *Streptococcus* sp. (3 cas).

Tableau 14. Différents groupes d'ulcères cornéens à collagénases à culture bactériologique positive de l'étude selon les résultats de la culture bactériologique

Groupes	n (%)
Infection « simple », à une souche bactérienne	20 (62)
✓ <i>Staphylococcus</i> sp.	12 (60)
▪ <i>S. pseudintermedius</i>	9 (45)
▪ <i>S. epidermidis</i>	1 (5)
▪ <i>S. schleiferi</i>	1 (5)
▪ <i>S. capitis</i>	1 (5)
✓ <i>Streptococcus</i> sp.	3 (15)
▪ <i>S. canis</i>	2 (10)
▪ <i>Streptococcus</i> du groupe G	1 (5)
✓ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 (15)
✓ Autre espèce bactérienne isolée seule	2 (10)
▪ <i>Cutibacterium acnes</i>	1 (5)
▪ <i>Capnocytophaga canimorsus</i>	1 (5)
Infection « mixte », à plusieurs souches bactériennes	12 (38)
✓ <i>S. pseudintermedius</i>, <i>Streptococcus</i> sp.	3 (25)
✓ <i>S. pseudintermedius</i>, <i>P. aeruginosa</i>, germes gram négatifs	2 (17)
✓ <i>S. pseudintermedius</i>, germes gram négatifs	1 (8)
✓ <i>Streptococcus</i> sp., germes gram positifs autres que <i>S. pseudintermedius</i>	2 (17)
✓ <i>Streptococcus</i> sp., germes gram négatifs	2 (17)
✓ Germes gram négatifs autres que <i>P. aeruginosa</i>	1 (8)
✓ Germes gram positifs et négatifs autres que <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp. et <i>P. aeruginosa</i>	1 (8)

Le morphotype des chiens pour lesquels le prélèvement cornéen a fourni un résultat positif à la culture bactériologique a été étudié. Le tableau 15 rapporte les résultats. Le morphotype brachycéphale était le plus fréquent parmi les ulcères ayant fourni un résultat positif (78% des cas), que ce soit lors d'infection simple (70% des cas) ou d'infection mixte (92% des cas). Les souches de *Staphylococcus* sp. étaient plus fréquemment isolées chez les chiens brachycéphales, de même que celles de *Streptococcus* sp. et *Pseudomonas* sp..

Tableau 15. Nature de l'infection bactérienne des 32 ulcères cornéens à collagénases pour lesquels la culture bactériologique a donné un résultat positif selon le morphotype du chien

Morphotype, n (%)	Bactériologie positive (N=32)	Infection simple (N=20)	<i>Staphylococcus</i> sp. seul (N=12)	<i>Streptococcus</i> sp. seul (N=3)	<i>Pseudomonas</i> sp. seul (N=3)	Infection mixte (N=12)
Brachycéphale	25 (78)	14 (70)	10 (83)	2 (67)	2 (67)	11 (92)
Non brachycéphale	7 (22)	6 (30)	2 (17)	1 (33)	1 (33)	1 (8)

Un antibiogramme a été réalisé pour chacune des 47 souches bactériennes isolées dans l'étude afin d'identifier les éventuelles résistances aux antibiotiques. Le tableau 16 regroupe les résultats. Les souches de *Staphylococcus* sp. présentaient le plus grand nombre de résistances et étaient principalement résistantes à la néomycine (n=9 ; f=47%), à la polymyxine B (n=8 ; f=42%), au chloramphénicol (n=6 ; f=32%) et à la tétracycline (n=6 ; f=32%). Les souches de

Streptococcus sp. étaient surtout résistantes à la polymyxine B (n=8 ; f=80%), à la néomycine (n=7 ; f=70%) et à la norfloxacine (n=7 ; f=70%). Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistantes à l'acide fusidique (n=5), 80% (n=4) au chloramphénicol et 60% (n=3) à la doxycycline et à la tétracycline.

Tableau 16. Résistances aux antibiotiques des trois espèces bactériennes le plus fréquemment isolées des ulcères cornéens à collagénases de l'étude

Antibiotique, n (%)	<i>Staphylococcus</i> sp. N=19	<i>Streptococcus</i> sp. N=10	<i>Pseudomonas</i> N=5
Acide fusidique	1 (5)	1 (10)	5 (100)
Chloramphénicol	6 (32)	1 (10)	4 (80)
Ciprofloxacine	2 (11)	3 (30)	0 (0)
Doxycycline	4 (21)	1 (10)	3 (60)
Erythromycine	2 (11)	0 (0)	0 (0)
Gentamicine	3 (16)	0 (0)	0 (0)
Lincomycine	1 (5)	0 (0)	0 (0)
Néomycine	9 (47)	7 (70)	0 (0)
Norfloxacine	3 (16)	7 (70)	0 (0)
Oxacilline	0 (0)	1 (10)	0 (0)
Polymyxine B	8 (42)	8 (80)	0 (0)
Tétracycline	6 (32)	5 (50)	3 (60)
Tobramycine	3 (16)	5 (50)	0 (0)

Points clés La majorité des ulcères cornéens à collagénases inclus dans l'étude ont fourni un résultat positif à la culture bactériologique (60% des cas). Lorsque la culture était positive, une majorité d'infection « simple », c'est-à-dire pour lesquelles une seule souche bactérienne était isolée a été mise en évidence (62% des cas). Les bactéries isolées étaient le plus souvent gram positives. *Staphylococcus* sp. et *Streptococcus* sp. étaient les deux espèces les plus fréquemment isolées. La bactérie gram négative la plus fréquemment isolée était *Pseudomonas aeruginosa*. Les chiens de morphotype brachycéphale présentaient plus souvent un résultat positif à la culture bactériologique. Différents profils de résistance aux antibiotiques ont été mis en évidence selon l'espèce bactérienne considérée.

5. Présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac

L'examen ophtalmologique effectué lors de la première consultation au Chuv-Ac a d'abord permis d'identifier la présence d'un ulcère cornéen à collagénases et de le latéraliser. Ainsi, dans notre étude, 30 ulcères (57%) étaient situés sur l'œil gauche et 23 sur l'œil droit (43%).

Les caractéristiques de chaque ulcère cornéen à collagénases ont ensuite été évaluées : sa profondeur, sa superficie, sa localisation et la présence ou l'absence d'hypopion ou d'hyphéma associé.

Concernant la profondeur, les ulcères ont été classés selon le pourcentage d'épaisseur du stroma qu'ils atteignaient :

- ulcère stromal antérieur : [0% - 30%] de l'épaisseur du stroma ;
- ulcère stromal moyen : [31% - 50%] de l'épaisseur du stroma ;
- ulcère stromal profond : [> 50% de l'épaisseur du stroma ;
- et ulcère perforant : \geq 100% de l'épaisseur du stroma.

Concernant la superficie, les ulcères ont été classés selon leur diamètre maximal :

- petit : diamètre maximal appartenant à l'intervalle [0mm - 4mm] ;
- moyen : diamètre maximal appartenant à l'intervalle [5mm - 7mm] ;
- et large : diamètre maximal \geq 8mm.

Concernant la localisation, les ulcères étaient classés selon qu'ils étaient périphériques, centraux ou en position intermédiaire.

Il convient de noter que certaines données étaient parfois manquantes dans le dossier Clovis de l'animal. Ainsi, si la profondeur et la présence d'un hypopion ou d'un hyphéma étaient renseignées pour chacun des 53 ulcères, la superficie et la localisation n'étaient connus que dans 46 et 47 cas respectivement.

In fine, le tableau 17 résume les résultats obtenus. Dans l'échantillon constitué de l'ensemble des ulcères, les ulcères stromaux profonds étaient les plus fréquents (n=25 ; f=47%). La plupart des ulcères était de petite superficie (n=24 ; f=52%) et la majorité des ulcères étaient centraux (n=27 ; f=57%). Par ailleurs, parmi les 53 ulcères à collagénases inclus dans l'étude, huit étaient associés à un hypopion et quatre à un hyphéma, dont deux ulcères qui présentaient les deux lésions. Aucune différence statistique significative n'a été mise en évidence concernant la profondeur de l'ulcère entre les ulcères associés à une culture bactériologique positive et ceux associés à une culture négative (p=0,93 d'après le test de Student).

Tableau 17. Caractéristiques permettant d'établir le grade de sévérité de chacun des 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude

Caractéristiques de l'ulcère, n (%)		Score	U (N=53)	UCP (N=32)	UCN (N=21)
Profondeur¹	Stromal antérieur	1	12 (23)	6 (19)	6 (29)
	Stromal moyen	2	11 (21)	7 (22)	4 (19)
	Stromal profond	3	25 (47)	18 (56)	7 (33)
	Perforant	4	5 (9)	1 (3)	4 (19)
Superficie²	Petit	1	24 (52)	15 (52)	9 (53)
	Moyen	2	13 (28)	7 (24)	6 (35)
	Large	3	9 (20)	7 (24)	2 (12)
Localisation³	Périphérique	1	17 (36)	9 (32)	8 (42)
	Intermédiaire	2	3 (6)	3 (11)	0 (0)
	Central	3	27 (57)	16 (57)	11 (58)
Hypopion/Hyphéma¹	Présent	2	8 (15)	5 (16)	3 (14)
	Absent	0	45 (85)	27 (84)	18 (86)

¹ Information connue pour 53 ulcères ; ² pour 46 ulcères ; ³ pour 47 ulcères.

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Finalement, les grades de sévérité moyens et médians des ulcères à collagénases inclus dans l'étude ont été calculés. Le calcul du grade de sévérité consiste à additionner les scores attribués pour chacun des quatre critères cités précédemment, à savoir la profondeur, la superficie, la localisation et la présence d'un hypopion ou d'un hyphéma. Par exemple, pour un ulcère stromal profond (score de 3), de petite superficie (score de 1), en position intermédiaire (score de 2), non associé à un hypopion ou à un hyphéma (score de 0), le grade de sévérité vaut 5 (grade = 3 + 1 + 2 + 0 = 5). Ce calcul n'a pu être réalisé que pour 42 des 53 ulcères à collagénases inclus dans l'étude. En effet, au moins une donnée était manquante dans le dossier Clovis de 11 ulcères et il était donc impossible d'établir le grade de sévérité de ces derniers. Comme l'illustre le tableau 18, les grades de sévérité moyens et médians des ulcères à collagénases inclus dans notre étude

étaient respectivement de 6,8 et 7. Le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases ayant donné un résultat positif à la culture bactériologique (6,9) n'était pas significativement différent de celui des ulcères à collagénases ayant donné un résultat négatif à la culture bactériologique (6,6) ($p = 0,65$ d'après le test de Student).

Tableau 18. Moyenne, médiane et écart-type des grades de sévérité des 42 ulcères cornéens à collagénases de l'étude pour lesquels il a pu être déterminé

Grade	U (N=42 ¹)	UCP (N=26 ²)	UCN (N=16 ³)
Moyen	6,8	6,9	6,6
Médian	7	7	7
Ecart-type	2,2	2,1	2,4

¹En raison de certaines données manquantes dans le dossier Clovis, le grade de sévérité n'a pu être calculé que pour 42 ulcères sur 53 ; ² Pour 26 ulcères sur 32 ; ³ Pour 16 ulcères sur 21.

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Finalement, le tableau 19 indique le grade de sévérité des ulcères cornéens en fonction des souches bactériennes isolées. Ainsi, le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases à infection bactérienne mixte (7,9) n'était pas significativement différent de celui des ulcères à infection bactérienne simple (6,25) ($p=0,13$ d'après le test de Student). Par ailleurs, lors d'infection à une seule souche bactérienne, le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases associés à *P. aeruginosa* (7,67) n'était pas significativement différent du grade de sévérité moyen de ceux associés à *Staphylococcus* sp. (6,3) et *Streptococcus* sp. (4,67) ($p=0,38$ et $p=0,11$ d'après le test de Student).

Tableau 19. Grades de sévérité moyens et médians et écart-type des ulcères à collagénases à culture bactériologique positive de l'étude pour lesquels le grade de sévérité a pu être déterminé

Groupes	Grade moyen	Grade médian	Ecart-type
Infection simple¹	6,25	6,5	2,29
✓ <i>Staphylococcus</i> sp. ²	6,3	6	2,41
✓ <i>Streptococcus</i> sp.	4,67	4	2,08
✓ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,67	8	1,53
Infection mixte²	7,9	7,5	1,3

¹En raison de certaines données manquantes dans le dossier Clovis, le grade de sévérité n'a pu être calculé que pour 16 ulcères sur 20 ; ² Pour 10 ulcères sur 12.

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Points clefs Le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases de l'étude était de 6,8 sur une échelle de 12. Aucune différence significative n'a été trouvée concernant le grade de sévérité entre les ulcères associés à une culture bactériologique positive et ceux pour lesquels elle était négative. Le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases à infection bactérienne mixte n'était pas significativement différent de celui des ulcères à infection bactérienne simple. Lors d'infection simple, aucune différence significative concernant le grade de sévérité n'a été mise en évidence entre les trois espèces bactériennes les plus fréquentes : *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. et *Pseudomonas* sp.

6. Traitement

A l'issue de la consultation initiale, les chiens de l'étude ont reçu deux types de prise en charge : soit un traitement médical, soit une chirurgie immédiate, c'est-à-dire réalisée dans les 24 heures suivant la consultation initiale, laquelle était également associée à un traitement médical. Comme l'illustre le tableau 20, 24 ulcères à collagénases (45%) ont fait l'objet d'une prise en charge chirurgicale immédiate et 29 ulcères (55%) ont fait l'objet d'un traitement médical.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant la prise en charge initiale de l'ulcère (chirurgicale *versus* médicale) entre les ulcères ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique et ceux ayant fourni un résultat négatif (OR = 0,86 ; IC_{95%} = [0,28 ; 2,58] ; p = 0,78).

Tableau 20. Type de traitement mis en place sur les 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude à l'issue de la consultation initiale au Chuv-Ac

Type de traitement, n (%)	U (N=53)	UCP (N=32)	UCN (N=21)
Chirurgie immédiate	24 (45)	14 (44)	10 (48)
Traitement médical	29 (55)	18 (56)	11 (52)

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Le tableau 21 met en parallèle le type de traitement mis en place à l'issue de la première consultation au Chuv-Ac et la nature de l'infection bactérienne. Tout d'abord, il est fondamental de rappeler que le résultat de la culture bactériologique n'était pas connu au moment de choisir le type de traitement. En effet, le choix du traitement s'est uniquement fait selon des critères anamnestic-cliniques puisqu'il faut plusieurs jours pour connaître les résultats de l'analyse bactériologique. *In fine*, le traitement a été mis en place avant de connaître le résultat de la culture bactériologique. Néanmoins on remarque que lors d'infection simple, le traitement médical a été plus souvent réalisé que la chirurgie immédiate (60% *versus* 40% des cas), alors que, lors d'infection mixte, le traitement médical était réalisé dans les mêmes proportions que la chirurgie immédiate (50% dans chaque cas). Aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant la prise en charge initiale de l'ulcère (chirurgicale *versus* médicale) entre les ulcères associés à une infection simple et ceux associés à une infection mixte (OR = 0,67 ; IC_{95%} = [0,16 ; 2,82] ; p = 0,58). Par ailleurs, la prise en charge chirurgicale immédiate a été plus souvent mise en œuvre lors d'infection isolée à *Pseudomonas aeruginosa* que lors d'infection isolée par une souche de *Staphylococcus* sp. ou *Streptococcus* sp. (67% *versus* 42% et 0% des cas). Cependant, aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant la prise en charge initiale de l'ulcère (chirurgicale *versus* médicale) entre les ulcères associés à une infection à *P. aeruginosa* et ceux associés respectivement à *Staphylococcus* sp. (OR = 2,8 ; IC_{95%} = [0,20 ; 40,06] ; p = 0,22) et *Streptococcus* sp. (OR = 11,67 ; IC_{95%} = [0,32 ; 422] ; p = 0,18).

Tableau 21. Type de traitement mis en place sur les 32 ulcères cornéens à collagénases de l'étude dont la culture bactériologique a donné un résultat positif selon la nature de l'infection bactérienne

Groupe, n (%)	Traitement médical	Chirurgie immédiate
Infection simple (N=20)	12 (60)	8 (40)
Infection mixte (N=12)	6 (50)	6 (50)
<i>Staphylococcus</i> sp. seul (N=12)	7 (58)	5 (42)
<i>Streptococcus</i> sp. seul (N=3)	3 (100)	0 (0)
<i>Pseudomonas</i> sp. seule (N=3)	1 (33)	2 (67)

Quelle que soit la nature du traitement mis en place à l'issue de la première consultation, tous les chiens inclus dans l'étude ont reçu un traitement médical. Ce dernier pouvait être « intensif » lorsque sa fréquence d'administration était toutes les deux à quatre heures pendant les 48 premières heures ou « classique » lorsque sa fréquence d'administration était toutes les six heures les 48 premières heures. Comme l'illustre le tableau 22, au total, 34 ulcères à collagénases (64%) ont reçu un traitement médical intensif et 19 ulcères (36%) ont reçu un traitement médical classique.

Tableau 22. Type de traitement médical mis en place sur les 53 ulcères cornéens à collagénases de l'étude

Type de traitement médical, n (%)	U (N=53)	UCP (N=32)	UCN (N=21)
Intensif	34 (64)	22 (69)	12 (57)
Classique	19 (36)	10 (31)	9 (43)

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Tous les ulcères inclus dans l'étude ont reçu une antibiothérapie par voie topique. Le choix de l'antibiothérapie topique de première intention s'est porté sur un antibiotique à large spectre en attendant le résultat de l'antibiogramme. Ce choix pouvait varier selon le clinicien en charge du cas. En particulier, à partir de la publication de l'article de *Guyonnet et al.* fin janvier 2020, l'association de la tobramycine et du chloramphénicol a davantage été prescrite en première intention. Comme l'indique le tableau 23, quatre types de traitement antibiotique différents ont été administrés en première intention : la tobramycine seule sur 29 ulcères (55%), le chloramphénicol seul sur trois ulcères (6%), l'association tobramycine et chloramphénicol sur 19 ulcères (36%), et enfin l'association néomycine et polymyxine B sur deux ulcères (4%).

Tableau 23. Antibiotique administré en première intention par voie topique pour traiter les 53 ulcères de l'étude

Antibiotique, n (%)	U (N=53)	UCP (N=32)	UCN (N=21)
Tobramycine	29 (55)	19 (59)	10 (48)
Chloramphénicol	3 (6)	0 (0)	3 (14)
Tobramycine et chloramphénicol	19 (36)	12 (38)	7 (33)
Néomycine et polymyxine B	2 (4)	1 (3)	1 (5)

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Dans certains cas, une modification de l'antibiothérapie topique a été réalisée à l'issu d'une des consultations de suivi au service ophtalmologie du Chuv-Ac sur la base des résultats de l'antibiogramme. Ainsi, 30 ulcères parmi les 53 inclus dans l'étude (57%) ont fait l'objet de ce changement. Comme le souligne le tableau 24, l'association tobramycine et chloramphénicol (37%) ou le chloramphénicol seul (33%) ont été le plus souvent choisis en seconde intention. La tobramycine seule et l'association de la néomycine et de la polymyxine B ont été administrés dans des proportions similaires (13%). Notons que la ciprofloxacine et l'ofloxacine (antibiotiques critiques) ont quant à elles été prescrites ponctuellement (3%).

Tableau 24. Antibiotique de seconde intention administré par voie topique pour traiter les 30 ulcères de l'étude pour lesquels un changement d'antibiothérapie locale a été effectué

Antibiotique par voie locale, n (%)	U (N=30)	UCP (N=18)	UCN (N=12)
Tobramycine	4 (13)	3 (16)	1 (7)
Chloramphénicol	10 (33)	6 (32)	4 (29)
Tobramycine et chloramphénicol	11 (37)	6 (32)	5 (36)
Néomycine et polymyxine B	4 (13)	2 (11)	2 (14)
Ciprofloxacine	1 (3)	1 (5)	0 (0)
Ofloxacine	1 (3)	1 (5)	0 (0)

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Concernant ces 30 ulcères pour lesquels un changement d'antibiothérapie locale a été effectué, le tableau 25 indique le choix du second antibiotique en fonction du premier antibiotique administré. Lorsque la tobramycine était administrée en première intention, un changement pour son association au chloramphénicol était le plus souvent réalisé (73%). Par ailleurs, lorsque l'association chloramphénicol et tobramycine était initialement prescrite le plus fréquemment un changement pour du chloramphénicol seul était réalisé (56%) et plus rarement pour de la tobramycine seule (25%).

Tableau 25. Choix du second antibiotique administré par voie locale en fonction du premier antibiotique administré pour les 30 ulcères de l'étude pour lesquels un changement d'antibiothérapie locale a été effectué

n (%)		Premier antibiotique			
		Tobramycine (N=11)	Chloramphénicol (N=3)	Tobramycine et chloramphénicol (N=16)	Néomycine Polymyxine B (N=1)
Second	Tobramycine	-	-	4 (25)	-
	Chloramphénicol	1 (9)	-	9 (56)	-
	Tobramycine et chloramphénicol	8 (73)	2 (0,67)	-	1 (100)
	Néomycine et polymyxine B	1 (9)	1 (0,33)	2 (13)	-
	Ciprofloxacine	1 (9)	-	-	-
	Ofloxacine	-	-	1 (6)	-

En ce qui concerne les ulcères pour lesquels le résultat de la bactériologie est revenu négatif, le traitement antibiotique par voie topique a été poursuivi sans changement d'antibiothérapie. La durée du traitement dans ce cas variait selon les cliniciens entre une et deux semaines.

Les autres molécules utilisées dans le traitement médical des ulcères cornéens de l'étude ont été recensées et rapportées dans le tableau 26. Selon les cas, les ulcères ont été traités localement par des molécules anti-collagénases (85%), de l'atropine à la concentration d'un pourcent (92%) et d'autres molécules (81%) ; et par voie systémique par des anti-inflammatoires (68%) ou des antibiotiques (42%). Deux molécules anti-collagénases différentes ont été administrées simultanément sur 21% des ulcères de l'étude.

Tableau 26. Molécules autres que les antibiotiques utilisées dans le traitement médical des ulcères cornéens de l'étude

Traitement, n (%)		U (N=53)	UCP (N=32)	UCN (N=21)
Voie locale	Anti-collagénases	45 (85)	27 (84)	18 (86)
	✓ N-acétylcystéine ¹	21 (40)	14 (44)	7 (33)
	✓ Sérum hétérologue	32 (60)	20 (63)	12 (57)
	✓ Sérum autologue	3 (6)	3 (9)	0 (0)
	Association de 2 molécules différentes	11 (21)	10 (31)	1 (5)
	Atropine²	49 (92)	31 (97)	18 (86)
	Autre traitement par voie locale	43 (81)	25 (78)	18 (86)
	✓ Hyaluronate de sodium ³	39 (74)	22 (69)	17 (81)
	✓ Cyclosporine A ⁴	19 (36)	9 (28)	10 (48)
	✓ Vitamine A ⁵	18 (34)	13 (41)	5 (24)
✓ RGTA ⁶	6 (11)	5 (16)	1 (5)	
✓ Diméticone ⁷	2 (4)	1 (3)	1 (5)	
✓ Fluorométholone ⁸	2 (4)	1 (3)	1 (5)	
✓ Indométacine ⁹	1 (2)	0 (0)	1 (5)	
Voie systémique	Anti-inflammatoire	36 (68)	21 (66)	15 (71)
	✓ Méloxicam ¹⁰	31 (58)	17 (53)	14 (67)
	✓ Dexaméthasone ¹¹	13 (25)	9 (28)	4 (19)
	✓ Cimicoxib ¹²	1 (2)	0 (0)	1 (5)
	Antibiotique	22 (42)	14 (44)	8 (38)
	✓ Amoxicilline et acide clavulanique ¹³	20 (38)	12 (38)	8 (38)
✓ Céfalexine ¹⁴	1 (2)	1 (3)	0 (0)	
✓ Marbofloxacin ¹⁵	1 (2)	1 (3)	0 (0)	

Noms déposés : ¹NAC COLLYRE – ²ATROPINE – ³VISKYAL, VISMED, AN-HYPRO – ⁴OPTIMMUNE – ⁵OPHTOSAN – ⁶CERAPLIQ – ⁷OPHTASILOXANE – ⁸FLUCON – ⁹INDOCOLLYRE – ¹⁰METACAM – ¹¹RAPIDEXON – ¹²CIMALGEX – ¹³CLAVASEPTIN – ¹⁴CEFACARE – ¹⁵MARBOCYL.

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

L'évolution des ulcères cornéens selon le traitement mis en place a été étudiée pour chaque chien inclus dans l'étude et les résultats sont indiqués dans le tableau 27. Parmi les 52 chiens inclus dans notre étude, 47 ont eu un suivi régulier depuis le diagnostic de l'ulcère cornéen à collagénases lors de la première consultation jusqu'à la cicatrisation ou la prise en charge chirurgicale. Cinq chiens ont été perdus de vue. Parmi les 24 ulcères à collagénases n'ayant pas fait l'objet d'une chirurgie immédiate et ayant bénéficié d'un suivi complet, 11 ulcères (46%) ont cicatrisé grâce au traitement médical, seul ou associé à un *cross-linking* du collagène du stroma cornéen par photoactivation de la riboflavine (CXL). Plus particulièrement, sept ont cicatrisé grâce au traitement médical seul (29%) et quatre grâce au traitement médical associé au CXL (17%). En revanche, 13 ulcères (54%) ont fait l'objet d'une prise en charge chirurgicale en raison d'une progression défavorable malgré le traitement médical mis en place. Par ailleurs, aucune différence significative concernant l'évolution de l'ulcère (succès *versus* échec du traitement médical) n'a été

mise en évidence entre les ulcères pour lesquels la culture bactériologique était positive et ceux pour lesquels elle était négative (OR = 1,09 ; IC95% = [0,20 ; 5,76] ; p = 0,92).

Tableau 27. Résultat du traitement médical pour les 29 ulcères cornéens à collagénases de l'étude n'ayant pas fait l'objet d'une chirurgie immédiate

Evolution suite au traitement médical, n (%)	U (N=24 ¹)	UCP (N=15 ²)	UCN (N=9 ³)
Guérison suite au traitement médical	11 (46)	7 (47)	4 (44)
✓ Seul	7 (29)	4 (27)	3 (33)
✓ Associé à un <i>cross-linking</i>	4 (17)	3 (20)	1 (11)
Echec thérapeutique ayant conduit à une prise en charge chirurgicale	13 (54)	8 (53)	5 (56)

¹Cinq ulcères parmi les 29 n'ayant pas fait l'objet d'une chirurgie immédiate ont été perdus de vue avant la cicatrisation ou la prise en charge chirurgicale : ²trois ulcères à culture bactériologique positive et ³deux à culture négative.

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Le tableau 28 détaille en particulier l'évolution des ulcères ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique pris en charge par un traitement médical. Ainsi, la guérison suite au traitement médical était plus fréquente lors d'infection bactérienne mixte (83%) que lors d'infection bactérienne simple (17%). En effet, dans l'échantillon, il existait une association significative brute entre la nature de l'infection bactérienne (simple *versus* mixte) et la guérison de l'ulcère suite à sa prise en charge médicale (OR = 0,06 ; IC_{95%} = [0,004 ; 0,818] ; p = 0,035). Ainsi, dans la population des chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases, sous réserve que les biais de sélection et de classement, s'ils existent, ne remettent pas en cause l'inférence, il y a de grandes chances pour que la guérison suite au traitement médical soit plus fréquente parmi les ulcères associés à une infection cornéenne mixte que parmi les ulcères associés à une infection cornéenne simple. De plus, seuls 29% des ulcères infectés par *Staphylococcus* sp. seul ont cicatrisé grâce au traitement médical et tous les ulcères ayant fourni un résultat positif pour un *Streptococcus* sp. isolé ou *Pseudomonas* sp. seule ont finalement été pris en charge chirurgicalement.

Tableau 28. Résultat du traitement médical des ulcères cornéens à collagénases de l'étude dont la culture bactériologique était positive et n'ayant pas été pris en charge par une chirurgie immédiate selon la nature de l'infection bactérienne

Groupe, n (%)	Succès du traitement médical			Echec du traitement médical
	Seul	Avec CXL	Total	
Infection à une seule souche bactérienne (N=9 ¹)	2 (22)	0 (0)	2 (22)	7 (78)
Infection mixte (N=6 ²)	2 (33)	3 (50)	5 (83)	1 (17)
<i>Staphylococcus</i> sp. seul (N=6 ³)	2 (33)	0 (0)	2 (33)	4 (67)
<i>Streptococcus</i> sp. seul (N=2 ⁴)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (100)
<i>Pseudomonas</i> sp. seul (N=1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)

*Cinq ulcères ont été perdus de vue avant la cicatrisation ou la prise en charge chirurgicale : ¹3 ulcères à infection simple, ²1 ulcère à infection mixte, ³1 ulcère infecté par *Staphylococcus* sp. seul et ⁴1 ulcère infecté par *Streptococcus* sp. seul.*

Les différentes techniques chirurgicales employées pour traiter les 37 ulcères pour lesquels la chirurgie immédiate était indiquée ou bien en échec au traitement médical seul ou à son association au CXL sont rapportées dans le tableau 29. Parmi les 37 ulcères ayant été traités chirurgicalement, la greffe de conjonctive (38%) et la greffe de membrane amniotique (30%) étaient les techniques les plus employées. La greffe de BIOSIS ou de cornée ainsi que la blépharorrhaphie associée à la pose d'une lentille cornéenne et l'énucléation étaient moins fréquemment employées.

Tableau 29. Techniques chirurgicales employées pour traiter les 35 ulcères de l'étude pris en charge par une chirurgie immédiate ou bien en échec au traitement médical (seul ou à son association au CXL)

Technique chirurgicale, n (%)	U (N=37)	UCP (N=22)	UCN (N=15)
Greffe conjonctivale	14 (38)	8 (36)	6 (40)
Greffe de membrane amniotique	11 (30)	5 (23)	6 (40)
Greffe de BIOSIS	4 (11)	3 (14)	1 (7)
Greffe de cornée	1 (3)	1 (5)	0 (0)
Blépharorrhaphie et pose d'une lentille	3 (8)	3 (14)	0 (0)
Enucléation	4 (11)	2 (9)	2 (13)

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Le tableau 30 décrit les différentes techniques chirurgicales utilisées pour traiter les 22 ulcères à collagénases à culture bactériologique positive pour lesquels la chirurgie immédiate était indiquée ou pour lesquels le traitement médical ou son association au CXL n'a pas permis la guérison. Quelle que soit la nature de l'infection, la greffe conjonctivale était la technique chirurgicale la plus fréquemment employée : elle a été utilisée dans 33% des prises en charge

chirurgicales d'ulcères à collagénases à infection simple, 43% des ulcères à infection mixte, 33% des ulcères à *Staphylococcus* sp. et *Pseudomonas* sp. et 50% des ulcères à *Streptococcus* sp..

Tableau 30. Techniques chirurgicales employées pour traiter les 22 ulcères dont la culture bactériologique était positive pris en charge par une chirurgie immédiate ou bien en échec au traitement médical (seul ou à son association au CXL) selon la nature de l'infection bactérienne

Groupe, n (%)	Grefte conjonctivale	Grefte de membrane amniotique	Grefte de BIOSIS	Grefte de cornée	Blépharorrhaphie et pose d'une lentille	Enucléation
Infection simple (N=15)	5 (33)	3 (20)	2 (13)	1 (7)	3 (20)	1 (7)
Infection mixte (N=7)	3 (43)	2 (29)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	1 (14)
<i>Staphylococcus</i> sp. (N=9)	3 (33)	2 (22)	1 (11)	0 (0)	2 (29)	1 (11)
<i>Streptococcus</i> sp. (N=2)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)
<i>Pseudomonas</i> sp. (N=3)	1 (33)	0 (0)	1 (33)	0 (0)	1 (33)	0 (0)

Points clefs Seuls 55% des ulcères cornéens à collagénases de l'étude ont fait l'objet d'un traitement médical, les autres ayant été pris en charge immédiatement par une chirurgie. Tous les chiens inclus dans l'étude ont reçu un traitement médical avec au moins un antibiotique par voie topique. Les antibiotiques topiques les plus fréquemment prescrit étaient la tobramycine et son association au chloramphénicol. Plus de la moitié des ulcères de l'étude ont fait l'objet d'un changement d'antibiothérapie topique au cours du traitement, le plus souvent du chloramphénicol ou son association à la tobramycine était prescrit. D'autres molécules complétaient le traitement médical comme des anti-collagénases et de l'atropine par voie topique ou un anti-inflammatoire non stéroïdien et un antibiotique par voies systémiques. Finalement 46% des ulcères n'ayant pas fait l'objet d'une chirurgie immédiate ont cicatrisé grâce au traitement médical seul ou en association au *cross-linking*, les autres ont été pris en charge chirurgicalement.

7. Suivi clinique

Finalement, le tableau 31 rapporte les délais moyen et médian entre la première consultation au Chuv-Ac et le succès du traitement médical, seul ou en association au CXL, ou la prise en charge chirurgicale pour les 29 ulcères n'ayant pas fait l'objet d'une chirurgie immédiate. Le délai moyen entre l'initiation du traitement médical lors de la première consultation au Chuv-Ac et son succès, à savoir l'obtention d'un résultat négatif au test à la fluorescéine, était de 18,7 jours lorsqu'il n'était pas associé à un CXL et de 25 jours lorsqu'il l'était. Par ailleurs, le délai moyen entre l'initiation du traitement médical lors de la première consultation au Chuv-Ac et la prise en charge chirurgicale était de 10,7 jours.

Tableau 31. Moyenne, médiane et écart-type du délai entre la consultation initiale au Chuv-Ac et le succès du traitement médical, seul ou associé au CXL, ou la prise en charge chirurgicale (jours)

Délai (jours)	Jusqu'au succès du traitement médical seul			Jusqu'au succès du traitement médical associé au			Jusqu'à la prise en charge chirurgicale		
	U (7/29)	UCP (4/18)	UCN (3/11)	U (4/29)	UCP (3/18)	UCN (1/11)	U (13/29)	UCP (8/18)	UCN (5/11)
Moyen	18,7	21,3	15,3	25	29,7	11	10,7	9,4	12,8
Médian	16	17	16	26	30	11	6	4	14
Ecart-type	12,5	17	3,1	11,2	7,5	*	12,3	14,9	7,5

U : ulcères à collagénases inclus dans l'étude

UCP : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique

UCN : ulcères à collagénases ayant fourni un résultat négatif à la culture bactériologique

Points clefs Le délai moyen entre l'initiation du traitement médical et son succès était de 18,7 jours lorsqu'il n'était pas associé à un CXL et de 25 jours lorsqu'il l'était. Le délai moyen entre l'initiation du traitement médical et la prise en charge chirurgicale était de 10,7 jours.

B. Analyse statistique

L'analyse statistique s'est intéressée aux 24 ulcères ayant été pris en charge via un traitement médical et n'ayant pas été perdus de vue. Les deux groupes comparés étaient les ulcères ayant guéri suite au traitement médical (seul ou en association avec le CXL) (n=11) et les ulcères pour lesquels ce dernier a échoué, c'est-à-dire ceux pour lesquels une prise en charge chirurgicale a été nécessaire (n=13).

1. Commémoratifs

Le tableau 32 rapporte les résultats de la comparaison concernant les commémoratifs. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes concernant les commémoratifs. Cependant, la plupart des ulcères des chiens de race Bouledogue français ont présenté un échec au traitement médical alors que tous les ulcères des chiens de race Carlins ont cicatrisé grâce au traitement médical.

Tableau 32. Commémoratifs des chiens présentant un ulcère à collagénases dont le traitement médical a réussi et ceux des chiens dont le traitement médical a échoué

Paramètre étudié, n (%)	Succès du traitement médical (N=11)	Echec du traitement médical (N=13)	OR	IC ₉₅	P
Race					
✓ Bouledogue français <i>versus</i> autres races	2 (18)	7 (54)	0,19	[0,03 ; 1,25]	0,08
✓ Shih Tzu <i>versus</i> autres races	1 (9)	1 (8)	1,20	[0,07 ; 21,72]	0,90
✓ Carlin <i>versus</i> autres races	4 (36)	0 (0)	16,2	[0,76 ; 343,82]	0,07
✓ Bouledogue anglais <i>versus</i> autres races	1 (9)	0 (0)	3,52	[0,13 ; 95,09]	0,45
Sexe mâle	9 (82)	6 (46)	5,25	[0,80 ; 34,43]	0,08
Entier	7 (64)	8 (62)	1,09	[0,21 ; 5,76]	0,92
Age > 78 mois	7 (64)	5 (38)	2,80	[0,53 ; 14,74]	0,22

2. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases

Les facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases chez le chien évoqués par la littérature ont été comparés entre les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux pour lesquels il a échoué. Les résultats sont présentés dans le tableau 33. Aucune différence significative n'a été trouvée entre les deux groupes concernant le morphotype brachycéphale, les maladies cornéennes et en particulier la KCS, un traitement local avec des corticoïdes, une précédente désépithélialisation ou la présence d'une maladie systémique. En revanche, le pourcentage de chiens ayant subi une anesthésie générale récente parmi les chiens en échec au traitement médical (46%) était supérieur à celui parmi les chiens ayant présenté une réussite au traitement médical (0%, $p = 0,04$). **Dans l'échantillon, il existait une association significative brute entre une anesthésie générale récente et la guérison de l'ulcère suite à sa prise en charge médicale (OR = 0,05 ; IC_{95%} = [0,002 ; 1,03]; $p = 0,04$).** Ainsi, dans la population des chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases, sous réserve que les biais de sélection et de classement, s'ils existent, ne remettent pas en cause l'inférence, il y a de grandes chances pour que la guérison suite au traitement médical soit moins fréquente parmi les ulcères associés à une anesthésie générale récente que parmi les ulcères ne l'étant pas.

Tableau 33. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères à collagénases chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué

Paramètre étudié, n (%)	Succès du traitement médical (N=11)	Echec du traitement médical (N=13)	OR	IC ₉₅	P
Morphotype brachycéphale	8 (73)	10 (77)	0,80	[0,13 ; 5,09]	0,81
Maladie cornéenne	4 (36)	3 (23)	1,90	[0,32 ; 11,31]	0,45
KCS	3 (27)	3 (23)	1,25	[0,20 ; 7,96]	0,81
Anesthésie générale récente	0 (0)	6 (46)	0,05	[0,002 ; 1,03]	0,04
Traitement local à base de corticoïdes	1 (9)	1 (8)	1,20	[0,07 ; 21,72]	0,90
Maladie systémique	1 (9)	2 (15)	0,55	[0,04 ; 7,05]	0,65
Désépithélialisation	0 (0)	3 (23)	0,13	[0,006 ; 2,83]	0,20
Chirurgie oculaire	0 (0)	0 (0)	1,17	[0,02 ; 63,97]	0,94

3. Historique avant la première consultation au Chuv-Ac

Comme résumé dans le tableau 34, la durée d'évolution ayant précédé la première consultation au Chuv-Ac et la consultation d'un vétérinaire antérieurement à la présentation au Chuv-Ac ont été comparés dans les deux groupes. Aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant l'historique entre le groupe d'ulcères pour lesquels le traitement médical a réussi et le groupe pour lequel il a échoué.

Tableau 34. Eléments antérieurs à la première consultation au Chuv-Ac chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué

Paramètre étudié, n (%)	Succès du traitement médical (N=11)	Echec du traitement médical (N=13)	OR	IC ₉₅	P
Durée d'évolution > 7,7 jours	3 (27)	3 (23)	1,25	[0,20 ; 7,96]	0,81
Second avis au Chuv-Ac (versus premier avis au Chuv-Ac)	4 (36)	6 (46)	0,67	[0,13 ; 3,45]	0,63

4. Analyse bactériologique effectuée lors de la première consultation au Chuv-Ac

Les pourcentages d'ulcères ayant donné un résultat positif à la culture bactériologique ont été comparés dans les deux groupes. Comme le rapporte le tableau 35, aucune différence significative n'a été trouvée entre le groupe d'ulcères pour lesquels le traitement médical a réussi et le groupe pour lequel il a échoué.

Tableau 35. Résultats de l'analyse bactériologique chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué

Paramètre étudié, n (%)	Succès du traitement médical (N=11)	Echec du traitement médical (N=13)	OR	IC ₉₅	P
Bactériologie positive (versus négative)	7 (64)	8 (62)	1,09	[0,21 ; 5,76]	0,92

La nature de l'infection bactérienne des ulcères pour lesquels la culture bactériologique était positive a été comparée entre le groupe d'ulcères pour lesquels le traitement médical a réussi et le groupe pour lequel il a échoué. Les résultats sont indiqués dans le tableau 36.

La proportion d'ulcères associés à une infection simple parmi les chiens en échec au traitement médical (88%) était supérieure à celle parmi les chiens ayant présenté une réussite au traitement médical (29%, $p = 0,04$). **Dans l'échantillon, il existait une association significative brute entre la nature de l'infection (simple versus mixte) et la guérison de l'ulcère suite à sa prise en charge médicale (OR = 0,06; IC_{95%} = [0,004 ; 0,82]; $p = 0,04$).** Ainsi, dans la population des chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases, sous réserve que les biais de sélection et de classement, s'ils existent, ne remettent pas en cause l'inférence, il y a de grandes chances pour que la guérison suite au traitement médical soit moins fréquente parmi les ulcères associés à une infection simple que parmi les ulcères associés à une infection mixte.

En revanche, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes en ce qui concerne la présence d'une infection simple à *Staphylococcus* sp., à *Streptococcus* sp. ou à *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 36. Nature de l'infection bactérienne des ulcères à culture bactériologique positive dont le traitement médical a réussi et de ceux dont le traitement médical a échoué

Paramètre étudié, n (%)	Succès du traitement médical (N=7)	Echec du traitement médical (N=8)	OR	IC ₉₅	P
Infection simple (versus mixte)	2 (29)	7 (88)	0,06	[0,004 ; 0,82]	0,04
<i>Staphylococcus</i> sp. (versus autre souche isolée seule)	2 (29)	4 (50)	0,40	[0,05 ; 3,42]	0,40
<i>Streptococcus</i> sp. (versus autre souche isolée seule)	0 (0)	2 (25)	0,17	[0,007 ; 4,30]	0,29
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (versus autre souche isolée seule)	0 (0)	1 (13)	0,33	[0,01 ; 9,57]	0,52

5. Présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac

Le grade de sévérité des ulcères lors de la première consultation au Chuv-Ac a été comparé dans chacun des deux groupes et les résultats sont indiqués dans le tableau 37. Aucune différence significative n'a été trouvée entre les deux groupes concernant le grade de sévérité de l'ulcère.

Tableau 37. Eléments de présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué

Paramètre étudié, n (%)	Succès du traitement médical (N=10)	Echec du traitement médical (N=9)	OR	IC ₉₅	P
Grade de sévérité > 6,8	4 (40)	4 (44)	0,83	[0,13 ; 5,17]	0,84

6. Traitement

Les différentes modalités du traitement médical mis en place sur les ulcères à collagénases de l'étude ont été comparées entre le groupe d'ulcères pour lesquels le traitement médical a réussi et le groupe pour lequel il a échoué et sont rapportées dans le tableau 38. Aucune différence significative n'a été trouvée entre les deux groupes concernant le rythme d'administration du traitement (intensif *versus* classique) ; la nature de l'antibiotique de première intention prescrit par voie topique ; la réalisation d'un changement d'antibiothérapie topique au cours de la prise en charge ; la nature du second antibiotique prescrit par voie topique ; la nature de la spécialité anticollagénases administrée ; la combinaison de deux anticollagénases ; ou l'administration d'un traitement antibiotique par voie systémique. Néanmoins, parmi les ulcères ayant reçu du chloramphénicol en seconde intention ou du NAC comme anticollagénases, la cicatrisation était plus fréquente que l'échec du traitement médical. Enfin, la proportion d'ulcères ayant été traités avec un AINS par voie systémique parmi les chiens en échec au traitement médical (77%) était supérieure à celle parmi les chiens ayant présenté une réussite au traitement médical (36%, $p = 0,02$). **Dans l'échantillon, il existait une association significative brute entre l'administration d'un AINS par voie systémique et l'absence de guérison de l'ulcère suite à sa prise en charge médicale (OR = 0,06 ; IC_{95%} = [0,005 ; 0,627] ; $p = 0,02$).** Ainsi, dans la population des chiens présentant un ulcère cornéen à collagénases, sous réserve que les biais de sélection et de classement, s'ils existent, ne remettent pas en cause l'inférence, il y a de grandes chances pour que la guérison suite au traitement médical soit moins fréquente parmi les ulcères traités avec un AINS par voie systémique que parmi les ulcères ne recevant pas d'AINS par voie systémique.

Tableau 38. Eléments du traitement médical mis en place chez les chiens n'ayant pas été pris en charge par une chirurgie immédiate ni perdus de vue au cours de la prise en charge au Chuv-Ac chez les chiens dont le traitement médical a réussi et ceux dont le traitement médical a échoué

Paramètre étudié, n (%)	Succès du traitement médical (N=11)	Echec du traitement médical (N=13)	OR	IC ₉₅	P
Traitement intensif (<i>versus</i> classique)	6 (55)	11 (85)	0,22	[0,03 ; 1,49]	0,12
Uniquement de la tobramycine (<i>versus</i> tous les autres cas)	1 (9)	3 (23)	0,33	[0,03 ; 3,78]	0,38
Uniquement tobramycine et chloramphénicol (<i>versus</i> tous les autres cas)	0 (0)	1 (8)	0,36	[0,01 ; 9,82]	0,55
Changement d'antibiothérapie (<i>versus</i> pas de changement)	9 (82)	10 (77)	1,34	[0,18 ; 10]	0,77
Chloramphénicol en 2 ^{ème} intention	6 (55)	3 (23)	4	[0,69 ; 23,09]	0,12
Tobramycine et chloramphénicol en 2 ^{ème} intention	3 (27)	5 (38)	0,60	[0,11 ; 3,40]	0,56
Néomycine, polymyxine B et ciprofloxacine en 2 ^{ème} intention	0 (0)	1 (8)	0,36	[0,01 ; 9,82]	0,55
Deux anticollagénases (<i>versus</i> un seul)	3 (28)	2 (15)	2,06	[0,28 ; 15,36]	0,48
Sérum hétérologue seul (<i>versus</i> autres anticollagénases)	8 (73)	12 (92)	0,22	[0,02 ; 2,53]	0,23
NAC seul (<i>versus</i> autres anticollagénases)	5 (45)	2 (15)	4,58	[0,67 ; 1,20]	0,12
Antibiotique par voie systémique	3 (27)	6 (46)	0,44	[0,08 ; 2,44]	0,35
AINS par voie systémique	4 (36)	10 (77)	0,06	[0,005 ; 0,627]	0,02

Points clefs Dans l'échantillon, il existait une association significative brute entre une anesthésie générale récente et la guérison de l'ulcère suite à sa prise en charge médicale (OR = 0,05 ; p = 0,04). Il existait aussi une association significative brute entre la nature de l'infection (simple *versus* mixte) et la guérison de l'ulcère suite à sa prise en charge médicale (OR = 0,06 ; p = 0,04). Enfin, il existait une association significative brute entre l'administration d'un AINS par voie systémique et l'absence de guérison de l'ulcère suite à sa prise en charge médicale (OR = 0,06 ; p = 0,02).

IV. Discussion

A. Commémoratifs

Le morphotype brachycéphale était dominant chez les chiens de cette étude puisque 73% des chiens étaient de race brachycéphale. Les races les plus fréquentes étaient les Bouledogues français (29%), les Shih Tzu (15%), les Carlins (10%) et les Bouledogues anglais (8%). Ce résultat est en accord avec la littérature (Suter *et al.*, 2018 ; Tsvetanova *et al.*, 2021). Il peut s'expliquer par la fréquence accrue des anomalies de conformation des structures oculaires (exophtalmie, lagophtalmie, macrolépharon, entropion, trichiasis, distichiasis, cils ectopique, tumeur palpébrale) et des anomalies quantitatives (KCS) ou qualitatives du film lacrymal chez ces races, ce qui les rend plus sensibles au développement d'ulcères à collagénases (Famose, 2014 ; Costa *et al.*, 2019). Aucune association statistique significative n'a été mise en évidence entre la race et l'obtention d'un résultat positif à la culture bactériologique. Néanmoins, en ce qui concerne les Shih Tzu et les Bouledogues anglais, il est possible que nos analyses aient manqué de puissance statistique en raison de la petite taille de nos échantillons. En effet, le pourcentage de chiens de race Shih Tzu était supérieur parmi les chiens ayant présenté une culture bactériologique positive (26%) que parmi les chiens ayant présenté une culture bactériologique négative (0% : $p = 0,06$). De même, le pourcentage de chiens Bouledogues anglais était inférieur parmi les chiens ayant présenté une culture bactériologique positive (0%) que parmi les chiens ayant présenté une culture négative (19% ; $p = 0,07$). Ainsi, les Shih Tzu pourraient présenter davantage de surinfections bactériennes lors d'ulcères à collagénases, ce qui pourrait s'expliquer par leur sensibilité accrue à la kératoconjonctivite sèche (KCS) ou leur morphotype plus souvent lagophtalme. Par contre, il est difficile d'expliquer pourquoi les Bouledogues anglais présenteraient moins de surinfection bactérienne.

Dans cette étude, les chiens étaient majoritairement des mâles (58% des cas) et le plus souvent entiers (80% de mâles entiers *versus* 20% de mâles castrés). En revanche, les proportions de femelles entières et stérilisées étaient semblables (55% de femelles stérilisées et 45% de femelles entières). Ces résultats divergent donc de ceux de l'étude de *Guyonnet et al.* dans laquelle les femelles étaient majoritaires (51% des cas) et les proportions d'individus stérilisés étaient semblables, que ce soit concernant les mâles ou bien les femelles (50% de mâles entiers *versus* 50% de mâles castrés ; 48% de femelles entières *versus* 52% de femelles stérilisées) (*Guyonnet et al.*, 2020). Finalement, il semble difficile d'expliquer cette différence concernant le sexe des chiens présentant des ulcères à collagénases pris en charge au Chuv-Ac sur la période 2017 à 2020 par rapport à la période 2010 à 2016. Une hypothèse pourrait être que la popularité des chiens mâles ait augmenté ces dernières années par rapport aux femelles et que les réticences à la castration soient plus vives, ce qui expliquerait une augmentation de la représentation des chiens mâles entiers dans l'échantillon. Aucune association statistique significative n'a pu être mise en évidence entre le sexe de l'animal et la présence d'un résultat positif à la culture bactériologique.

L'âge moyen des chiens inclus dans l'étude était d'environ 6 ans et 7 mois, avec un âge minimal de 6 mois et maximal de 15 ans. Ce résultat est en accord avec celui de l'étude menée par *Guyonnet et al.* qui rapportait un âge médian de 7 ans et des âges variant de 8 mois à 16 ans et 2 mois (*Guyonnet et al.*, 2020). Aucune association statistique significative n'a pu être mise en évidence entre l'âge de l'animal et l'obtention d'un résultat positif à la culture bactériologique.

Enfin, l'étude n'a montré aucune association significative entre le succès du traitement médical et la race ; le sexe ; le statut reproducteur ou encore l'âge, ce qui est en accord avec les résultats de l'étude de *Faure et al.*, publiée en 2018, sur les chiens vu en consultation au Chuv-Ac entre 2012 et 2015.

B. Facteurs de prédisposition potentiellement associés au développement d'ulcères cornéens à collagénases

Le tableau 39 compare les résultats de l'étude concernant ces facteurs à ceux des autres études de la littérature.

Dans cette étude 90% des chiens présentaient au moins un facteur de prédisposition potentiellement associé au développement d'un ulcère à collagénases et 60% des chiens en présentaient deux ou plus. Ces proportions sont similaires à celles rapportées par la littérature (Hindley *et al.*, 2016 ; Faure, 2018 ; Guyonnet *et al.*, 2020 ; Tsvetanova *et al.*, 2021).

Le morphotype brachycéphale était très représenté dans notre étude puisque 73% des chiens présentaient ce morphotype. Cette proportion est en accord avec les précédentes études portant sur les ulcères à collagénases chez le chien (Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Suter *et al.*, 2018 ; Guyonnet *et al.*, 2020 ; Tsvetanova *et al.*, 2021 ; Verdenius *et al.*, 2021). Par ailleurs, ce morphotype n'était pas significativement associé à l'obtention d'un résultat positif à la culture bactériologique.

Une KCS était présente chez 38% des chiens inclus dans l'étude. Aucune association statistique significative n'a pu être mise en évidence entre la présence d'une KCS et l'obtention d'un résultat positif à la culture bactériologique. Cependant, il est possible que nos analyses aient manqué de puissance statistique en raison de la petite taille de nos échantillons (31 cas d'ulcères à collagénases à culture positive et 21 cas d'ulcères à collagénases à culture négative). En effet, le pourcentage de chiens présentant une KCS était supérieur parmi les chiens ayant présenté une culture bactériologique positive (45%) que parmi les chiens ayant présenté une culture bactériologique négative (29% : $p = 0,16$). Ainsi, l'insuffisance lacrymale pourrait être à l'origine d'une diminution des mécanismes de défense cornéens contre les bactéries pathogènes provoquant un surcroît de surinfection (Whitley et Hamor, 2021).

Certains chiens inclus dans l'étude ont subi une anesthésie générale récente avant le diagnostic d'ulcère cornéen à collagénases (23% des cas) mais aucune association significative n'a pu être mise en évidence entre l'anesthésie et la présence d'un résultat positif à la culture bactériologique. En revanche, lors de cette anesthésie, les yeux pouvaient se dessécher car un collyre protecteur n'était pas systématiquement appliqué.

Par ailleurs, la présence d'autres facteurs de prédisposition éventuels au développement d'ulcères à collagénases décrits par la littérature comme un traitement local avec des corticoïdes (Lehner *et al.*, 2014), une maladie systémique (Martin *et al.*, 2005 ; Kjellman *et al.*, 2015), une précédente désépithélialisation ou chirurgie oculaire (Hindley *et al.*, 2016 ; Tsvetanova *et al.*, 2021), a été répertoriée pour chacun des chiens inclus dans l'étude. Cependant, l'analyse statistique de ces données n'a pas montré d'association significative entre ces facteurs et la présence d'un résultat positif à la culture bactériologique.

Tableau 39. Potentiels facteurs prédisposant au développement d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien

Facteur (% de chiens affectés)	Etude	Guyonnet et al., 2020, France ¹	Faure et al., 2018, France ¹	Tsvetanova et al., 2020, Royaume-Uni	Hindley et al., 2016, Australie
Au moins un facteur identifié	90	95	90	50	97
Deux facteurs ou plus identifiés	60	39	50	39	51
Morphotype brachycéphale	73	65	71	60	81
Kératoconjonctivite sèche	38	42	47	31	24
Maladie cornéenne					
✓ Infiltration lipidique ou calcique	8	11	18	11	14
✓ SCCED	2	9	8	14,5	12
✓ Kératite (pigmentaire, ponctuée superficielle...)	0	9	5	-	2
✓ Dégénérescence endothéliale	6	2	14	-	-
	0	4	3	-	-
Anesthésie générale récente	23	11	13	13	-
Maladie systémique	17	4	5	13	-
Traitement local avec des corticoïdes	12	11	13	7	31
Désépithélialisation	10	7	5	-	-
Chirurgie oculaire	6	-	-	8	36

¹ Les chiens inclus de l'étude de *Faure et al.* menée au Chuv-Ac de 2012 à 2015 sont inclus dans l'étude de *Guyonnet et al.* menée au Chuv-Ac de 2010 à 2016.

Par ailleurs, aucune association significative n'a été trouvée entre le succès du traitement médical et le morphotype brachycéphale ; la présence d'une KCS ; un traitement local avec des corticoïdes ; une précédente désépithélialisation ; ou encore la présence d'une maladie systémique. En revanche, la guérison suite au traitement médical était moins fréquente parmi les ulcères associés à une anesthésie générale récente que parmi les ulcères ne l'étant pas.

C. Examen bactériologique réalisé lors de la première consultation au Chuv-Ac

Chaque ulcère cornéen à collagénases de l'étude a fait l'objet d'un prélèvement afin de réaliser une culture bactériologique. Cette dernière avait pour but de déterminer l'implication de protéases exogènes d'origine bactérienne, dans le processus de kératomalacie. Les résultats de l'étude sont rapportés dans le tableau 40 et comparés aux données de la littérature.

Dans cette étude portant sur des chiens pris en charge au Chuv-Ac entre 2017 et 2020, la proportion d'ulcère ayant donné un résultat positif à la culture bactériologique était de 60% (32 cas sur 53). Cependant, parmi les 40% d'ulcères ayant donné un résultat négatif à la culture bactériologique (21 cas sur 53), 57% (soit 12 cas) avaient reçu un traitement antibiotique par voie topique, suite à la présentation à un autre vétérinaire avant la consultation au Chuv-Ac. Ainsi, cette administration d'antibiotique antérieurement au prélèvement cornéen a pu fausser les résultats de la culture bactériologique. Par conséquent, dans cette étude la proportion d'ulcère ayant donné un résultat positif à la culture bactériologique était d'au moins 60% mais ce pourcentage a pu être biaisé par une première antibiothérapie. Par ailleurs, ce pourcentage est inférieur à celui de l'étude menée sur les chiens traités au Chuv-Ac entre 2012 et 2015 (70,6%) et supérieure à celle de l'étude menée sur les chiens traités au Chuv-Ac entre 2010 et 2016 (51,5%) (*Faure, 2018 ; Guyonnet et al., 2020*). De plus, cette proportion est semblable à celle retrouvée dans des études menées dans plusieurs pays étrangers comme la Suisse (65,7%), le Royaume-Uni (57%), la

Nouvelle-Zélande (59%), l'Australie (59%) ou encore la Thaïlande (59,4%) (Hindley *et al.*, 2016 ; Suter *et al.*, 2018 ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Tsvetanova *et al.*, 2021 ; Verdenius *et al.*, 2021).

Dans cette étude, les souches bactériennes isolées étaient majoritairement gram positives (75%). Ce résultat est similaire à ceux des études précédemment menées en France par Faure *et al.* (82,4%) et Guyonnet *et al.* (81,5%) ainsi qu'avec le résultat de l'étude menée en Suisse par Suter *et al.* (76,1%). Deux autres études menées en Thaïlande et en Australie ont isolé une moins grande proportion de souches gram positives, respectivement 58,3% et 51,1% (Hindley *et al.*, 2016 ; Ekapopphan *et al.*, 2018). En revanche, une étude menée au Royaume-Uni a isolé une majorité de souches bactériennes gram négatives (57%) (Tsvetanova *et al.*, 2021). Par conséquent, s'il semble que des bactéries gram positives soient le plus souvent impliquées lors d'ulcères à collagénases chez le chien, des bactéries gram négatives peuvent aussi être isolées.

Les analyses réalisées ont mis en évidence deux types d'infections bactériennes : les infections simples et les infections mixtes. Dans cette étude, la majorité des infections étaient des infections simples (62%). Ce résultat s'accorde avec celui des deux études menées précédemment en France par Faure *et al.* (66,7%) et Guyonnet *et al.* (52,9%) et à l'étranger au Royaume-Uni (85,7%), en Australie (92,8%) et en Thaïlande (73,7%) (Hindley *et al.*, 2016 ; Ekapopphan *et al.*, 2018 ; Tsvetanova *et al.*, 2021). Cependant, il semble que les infections mixtes soient plus fréquentes en France qu'à l'étranger, cette différence pouvant s'expliquer par exemple par des méthodes différentes de mises en culture, par une différence dans la qualité de réalisation du prélèvement (possible contamination de l'échantillon) ou bien par une réelle différence entre les pays. Différentes études ont été menées pour connaître l'impact des conditions de réalisation du prélèvement cornéen sur les résultats de la mise en culture bactérienne lors d'ulcère à collagénases chez le chien. Ainsi, deux études ont montré que la réalisation d'une anesthésie topique avec de la proparacaine 0,5% n'avait aucun impact sur les résultats de la culture bactériologique (Fentiman *et al.*, 2018 ; Edwards *et al.*, 2019). De plus, une autre étude a montré que l'instillation de tropicamide ou de fluorescéine avant la réalisation du prélèvement cornéen n'avait pas d'impact non plus sur le résultat de la mise en culture bactériologique dans le cadre d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien (Mironovich *et al.*, 2022). Par ailleurs, certains auteurs se sont intéressés au niveau de contamination bactérienne des solutions multi-doses utilisées dans le cadre du diagnostic en ophtalmologie vétérinaire (proparacaine, tropicamide et solutions nettoyantes). Ces derniers ont montré que les niveaux de contamination bactérienne de ces solutions après une à deux semaines étaient très faibles lorsqu'ils étaient utilisés et stockés de façon conforme aux recommandations des fabricants (Betbeze *et al.*, 2007). Ainsi, leur utilisation n'interfère pas avec la réalisation ultérieure d'une analyse bactériologique. In fine, les différents auteurs s'accordent pour dire que l'anesthésie topique de la cornée doit être réalisée aussi souvent que possible afin de soulager la douleur du chien, de le rendre plus facilement manipulable et donc de faciliter le prélèvement cornéen.

Tableau 40. Résultats de la culture bactériologique effectuée sur des ulcères collagénases

n (%)	Etude, 2021	Guyonn et al., 2020	Faure et al., 2018	Suter et al., 2018, Suisse	Tsvetanova et al., 2020	Verdenius et al., 2020	Hindley et al., 2016	Ekapopphan et al., 2018
Pays	France	France	France	Suisse	Royaume-Uni	Nouvelle-Zélande	Australie	Thaïlande
Chiens	52	53	34	89	106	122	71	32
Ulcères à collagénases	53	57	38	146	110	130	71	32
Ulcères à culture bactérienne positive	32 (60)	17 (51,5) ¹	12 (70,6) ²	96 (65,7)	63 (57)	77 (59)	42 (59)	19 (59,4) ³
Souches bactériennes isolées	47	27	17	113	72	-	45	24
Souches bactériennes gram positives	35 (75)	22 (81,5)	14 (82,4)	86 (76,1)	31 (43)	-	23 (51,1)	14 (58,3)
Ulcères à infection simple	20 (62)	9 (52,9)	8 (66,7)	-	54 (85,7)	-	39 (92,8)	14 (73,7)
Ulcères à infection mixte	12 (38)	8 (47,1)	4 (33,3)	-	9 (14,3)	-	3 (7,2)	5 (26,3)

¹ Seuls 33 ulcères sur 57 ont fait l'objet d'un prélèvement et d'une analyse bactériologique

² Seuls 17 ulcères sur 38 ont fait l'objet d'un prélèvement et d'une analyse bactériologique

³ Sept ulcères sur les 32 prélevés ont présenté une culture mycologique positive : 5 ulcères présentaient une infection isolée par *Candida spp.* et 2 par des champignons dématés

Dans cette étude, les bactéries les plus fréquemment isolées étaient les *Staphylococcus sp.* (40%), les *Streptococcus sp.* (21%) et *Pseudomonas sp.* (11%). Comme l'illustre le tableau 41, ces résultats sont en accord avec les études menées en Suisse et en Nouvelle-Zélande qui ont trouvé des proportions similaires d'infection à ces trois souches et en majorité à *Staphylococcus sp.* (Suter et al., 2018 ; Verdenius et al., 2021). Dans cette étude *Streptococcus sp.* n'était que la seconde espèce la plus fréquemment isolée ce qui diffère des études précédemment menées en France dans lesquelles les streptocoques étaient les bactéries les plus fréquemment isolées (Faure, 2018 ; Guyonnet et al., 2020). Enfin, les études menées au Royaume-Uni, en Australie et en Thaïlande ont mis en évidence des proportions supérieures d'infection à *Pseudomonas sp.* variant de 20% à 40% (Hindley et al., 2016 ; Ekapopphan et al., 2018 ; Tsvetanova et al., 2021). Ainsi il semble que *Pseudomonas sp.* soit plus fréquemment isolée en dehors du continent européen.

Tableau 41. Espèces bactériennes isolées lors d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien

Souches (%)	Etude, 2021	Guyonnet et al., 2020	Faure et al., 2018	Suter et al., 2018, Suisse	Tsvetanova et al., 2020	Verdenius et al., 2020	Hindley et al., 2016	Ekapopphan et al., 2018
<i>Staphylococcus</i>	40	37,0	35,3	40,7	13,9	47,2	17,8	45,8
<i>Streptococcus</i>	21	40,7	41,7	25,7	27,8	24,7	31,1	8,3
<i>Corynebacterium</i>	2	3,7	5,9	2,7	-	-	2,2	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	3,7	-	-	1,4	-	-	-
<i>Cutibacterium acnes</i>	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rothia nasimurium</i>	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i>	11	3,7	5,9	10,6	40,3	10,1	31,1	20,8
<i>Moraxella canis</i>	4	-	-	-	-	-		
<i>Serratia marcescens</i>	4	-	-	-	-	-	2,2	4,2
<i>E. coli</i> et autres bactéries coliformes	2	3,7	-	7,9	13,4	-	6,7	4,2
<i>Pasteurella</i>	2	-	-	7,1	1,4	-	6,7	-
<i>Capnocytophaga canimorsus</i>	2	-	-	-	-	-	-	-

Enfin, pour chaque prélèvement ayant fourni un résultat positif à la culture bactériologique, un antibiogramme a été réalisé. Les résistances des trois espèces bactériennes les plus fréquemment isolées sont rapportées dans les tableaux 42, 43 et 44 et comparées aux données de la littérature.

La résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus* sp. varie beaucoup selon les études. Dans cette étude, les souches sont souvent résistantes à la néomycine (47%) et à la polymyxine B (42%). Concernant la néomycine, cette résistance était déjà décrite en France et au Royaume-Uni (Faure, 2018 ; Tsvetanova et al., 2021). En revanche, les souches isolées en Australie et en Suisse sont plutôt sensibles à la néomycine (Hindley et al., 2016 ; Suter et al., 2018). Concernant la polymyxine B, la résistance des staphylocoques semble avoir augmenté en France depuis l'étude de Faure et al. qui rapportait seulement 17% de souches résistantes contre 42% dans cette étude. Ce pourcentage élevé de souches résistantes à la polymyxine B reste cependant en deçà des résistances rapportées en Australie (88%) et en Nouvelle-Zélande (100%) (Hindley et al., 2016 ; Verdenius et al., 2021). Par ailleurs, tous les staphylocoques de l'étude étaient sensibles à l'oxacilline et la majorité à la lincomycine (95%) et à l'acide fusidique (95%). Si la sensibilité à l'oxacilline et à la lincomycine n'était pas décrite par les autres études, la sensibilité à l'acide fusidique était aussi rapportée par les précédentes études menées en France (Faure, 2018 ; Guyonnet et al., 2020).

Tableau 42. Résistances aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus* sp. isolées lors d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien

Antibiotique (%)	Etude, 2021	Guyonnet et al., 2020	Faure et al., 2018	Suter et al., 2018, Suisse	Tsvetanova et al., 2020	Verdenius et al., 2020	Hindley et al., 2016	Ekapopphan et al., 2018
Acide fusidique	5	10	0	17	30	32	0	-
Amoxicilline acide clavulanique	-	-	-	-	0	-	-	-
Céphalosporines	-	-	-	16	0	-	0	-
Chloramphénicol	32	20	33	-	40	45	13	18,2
Ciprofloxacin	11	10	17	-	10	-	0	54,6
Clindamycine	-	-	-	-	60	-	-	-
Doxycycline	21	-	-	-	30	-	-	-
Enrofloxacin	-	-	-	48	10	15	-	-
Erythromycine	11	-	-	-	-	-	-	-
Framycétine	-	-	-	-	-	-	0	-
Gentamicine	16	40	50	23	20	35	13	27,3
Lincomycine	5	-	-	-	-	-	-	-
Marbofloxacin	-	-	-	-	10	-	-	-
Néomycine	47	-	50	23	40	-	0	-
Norfloxacin	16	20	33	-	-	-	-	-
Ofloxacin	-	-	-	-	10	-	-	-
Oxacilline	0	-	-	-	-	-	-	-
Polymyxine B	42	-	17	-	-	100	88	-
Tétracycline	32	-	-	48	10	30	-	-
Tobramycine	16	30	17	-	-	-	-	27,3

Dans cette étude, les souches de *Streptococcus* sp. étaient résistantes à la polymyxine B (80%), à la néomycine (70%), à la norfloxacin (70%), à la tétracycline (50%) et à la tobramycine (50%), ce qui est en accord avec les données des précédentes études. En revanche les streptocoques isolés dans cette étude étaient sensibles à la gentamicine (100%) ce qui s'oppose aux résultats des études menées précédemment en France qui rapportaient respectivement 36% et 57% de souches résistantes (Faure, 2018 ; Guyonnet et al., 2020). De même une majorité de souches de *Streptococcus* sp. étaient sensibles au chloramphénicol (90%), ce qui s'oppose au résultat de l'étude menée précédemment en France par Guyonnet et al. en 2020 qui rapportait 55% de souches résistantes. De plus, la sensibilité des souches de l'étude à l'acide fusidique (90%) n'est pas retrouvée au Royaume-Uni ni en Australie (Hindley et al., 2016 ; Tsvetanova et al., 2021).

Tableau 43. Résistances aux antibiotiques des souches de *Streptococcus* sp. isolées lors d'ulcères à collagénases chez le chien

Antibiotique (%)	Etude, 2021	Guyonnet et al., 2020	Faure et al., 2018	Suter et al., 2018, Suisse	Tsvetanova et al., 2020	Verdenius et al., 2020	Hindley et al., 2016	Ekapopphan et al., 2018
Acide fusidique	10	-	29	-	100	32	100	-
Amoxicilline acide clavulanique	-	-	-	-	0	-	-	-
Céphalosporines	-	-	-	0	0	-	0	-
Chloramphénicol	10	45	14	-	12	45	0	-
Clindamycine	-	-	-	-	0	-	-	-
Ciprofloxacine	30	55	57	-	67	-	83	-
Doxycycline	10	-	-	-	0,5	-	-	-
Enrofloxacin	-	-	-	19	63	15	-	-
Erythromycine	0	-	-	-	-	-	-	-
Framycétine	-	-	-	-	-	-	100	-
Gentamicine	0	36	57	95	95	35	100	-
Lincomycine	0	-	-	-	-	-	-	-
Marbofloxacine	-	-	-	-	63	-	-	-
Néomycine	70	100	71	100	100	-	100	-
Norfloxacine	70	100	86	-	-	-	-	-
Ofloxacine	-	-	-	-	67	-	-	-
Oxacilline	10	-	-	-	-	-	-	-
Polymyxine B	80	-	-	-	100	100	100	-
Tétracycline	50	-	-	68	-	30	-	-
Tobramycine	50	82	71	-	-	-	-	-

Enfin, les souches de *Pseudomonas* sp. isolées étaient résistantes à l'acide fusidique (100%), au chloramphénicol (80%), à la doxycycline (60%) et à la tétracycline (60%). Ces résultats sont en accord avec les différentes études de la littérature. La sensibilité à la gentamicine et à la polymyxine B décrite dans la littérature est également observée dans notre étude (100% des souches sensibles).

In fine, la résistance des bactéries aux antibiotiques varie selon les études, aussi bien en France qu'à l'étranger.

Tableau 44. Résistances aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas sp.* isolées lors d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien

Antibiotique (%)	Résultats de l'étude, France	Guyonnet et al., 2020, France	Faure et al., 2018, France	Suter et al., 2018, Suisse	Tsvetanova et al., 2020, Royaume-Uni	Verdenius et al., Nouvelle-Zélande 2020	Hindley et al., 2016, Australie	Ekapopphan et al., 2018, Thaïlande
Acide fusidique	100	-	-	-	100	100	100	-
Amoxicilline acide clavulanique	-	-	-	-	100	-	-	-
Céphalosporines	-	-	-	67	100	-	100	-
Chloramphénicol	80	-	-	-	96,5	100	100	-
Clindamycine	-	-	-	-	96,4	-	-	-
Ciprofloxacine	0	-	-	-	3,5	-	0	-
Doxycycline	60	-	-	-	100	-	-	-
Enrofloxacin	-	-	-	-	14	60	-	-
Erythromycine	0	-	-	-	-	-	-	-
Framycétine	-	-	-	-	-	-	0	-
Gentamicine	0	-	-	0	0	20	8	-
Lincomycine	0	-	-	-	-	-	-	-
Marbofloxacine	-	-	-	-	3,5	-	-	-
Néomycine	0	-	-	16	34,5	-	78	-
Norfloxacine	0	-	-	-	-	-	-	-
Ofloxacine	-	-	-	-	3,5	-	-	-
Oxacilline strepto	0	-	-	-	-	-	-	-
Polymyxine B	0	-	-	-	3,5	12	7	-
Tétracycline	60	-	-	-	-	100	-	-
Tobramycine	0	-	-	-	-	-	-	-

Enfin, aucune association significative n'a été mise en évidence entre le succès du traitement médical et le résultat (positif versus négatif) de la mise en culture bactérienne. En revanche, la guérison suite au traitement médical était moins fréquente parmi les ulcères associés à une infection simple que parmi les ulcères associés à une infection mixte.

D. Présentation clinique lors de la première consultation au Chuv-Ac

Le tableau 45 compare les données de la littérature concernant le grade de sévérité des ulcères cornéens à collagénases chez le chien.

Pour rappel dans notre étude, le grade de sévérité de l'ulcère était déterminé par l'étude de quatre caractéristiques de l'ulcère, décrites dans l'étude de Tsvetanova *et al.* : sa profondeur (score variant de un à quatre, avec un score de un pour un ulcère très superficiel et de quatre pour un ulcère perforant) ; sa superficie (score variant de un à trois, avec un score de un pour un ulcère ponctiforme et de trois pour un ulcère très étendu) ; sa localisation (score variant de un à trois avec un score de un pour un ulcère périphérique et de trois pour un ulcère central) et la présence (score de deux) ou l'absence (score de zéro) d'hypopion ou d'hyphéma associé. Les valeurs de score de chaque caractéristique étaient additionnés afin d'établir le grade de sévérité de l'ulcère. Finalement, le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases inclus dans notre étude était de 6,8 sur une échelle de 12, ce qui est inférieur au grade de sévérité moyen rapporté par l'étude de Tsvetanova *et al.* menée au Royaume-Uni (7,81).

Dans cette étude, le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases ayant donné un résultat positif à la culture bactériologique (6,9) n'était pas significativement différent de celui des ulcères ayant donné un résultat négatif à la culture bactériologique (6,6). Ce résultat est en accord avec celui de l'étude de Tsvetanova et al. qui ne montrait pas non plus de différence significative entre les deux groupes.

Par ailleurs, bien que le résultat ne soit pas statistiquement significatif, le grade de sévérité moyen des ulcères à infection mixte (7,9) était supérieur au grade de sévérité moyen des ulcères à infection simple (6,25 ; $p=0,13$). Ainsi, il est possible que nos analyses aient manqué de puissance statistique en raison de la petite taille de nos échantillons (10 cas d'ulcères à infection mixte et 16 cas d'ulcères à infection simple).

De même, bien que le résultat ne soit pas statistiquement significatif, le grade de sévérité moyen des ulcères à collagénases associés à *P. aeruginosa* (7,67) était supérieur à celui des ulcères associés à *S. pseudintermedius* (6,3, $p=0,38$) et *S. canis* (4,67, $p=0,11$). Ainsi, il est possible que nos analyses aient manqué de puissance statistique en raison de la petite taille de nos échantillons (10 cas d'ulcères infectés par *Staphylococcus* sp. seul ; 3 cas par *Streptococcus* sp. seul et 3 cas par *Pseudomonas* sp. seul). Ce résultat s'accorde avec la littérature qui rapporte la tendance à un grade de sévérité plus élevé lors d'infection à *Pseudomonas* sp. (Hindley et al., 2016 ; Tsvetanova et al., 2021).

Tableau 45. Grades de sévérité moyens des ulcères cornéens à collagénases

Grade	Résultats de l'étude, France	Tsvetanova et al., 2020, Royaume-Uni	Hindley et al., 2016, Australie
Ulcères à collagénases	6,8	7,81	-
Ulcères à collagénases à culture positive	6,9	-	-
Ulcères à collagénases à culture négative	6,6	7,44	-
Infection simple	6,25	-	-
Infection mixte	7,9	7,78	-
<i>P. aeruginosa</i>	7,67	8,61	6
<i>Staphylococcus</i> sp.	6,3	7,83	5,79
<i>Streptococcus</i> sp.	4,67	-	4,40

E. Traitement

Le traitement des ulcères cornéens à collagénases doit être précoce et intensif en raison de leur rapidité d'évolution. Il peut être médical en associant notamment des antibiotiques, des anti-collagénases et des molécules cycloplégiques par voie topique ou bien chirurgical dès lors que les lésions impliquent plus de 50% de l'épaisseur cornéenne ou bien que ces dernières s'aggravent malgré le traitement médical initié (Sanchez, 2014). Dans notre étude 45% des ulcères cornéens à collagénases ont fait l'objet d'une prise en charge chirurgicale immédiate en raison de la sévérité de l'atteinte oculaire lors de la première consultation au Chuv-Ac et seuls 55% des ulcères ont été pris en charge *via* un traitement médical. Par ailleurs, aucune association significative n'a pu être mise en évidence entre le type de traitement mis en place (chirurgical *versus* médical) et la présence d'un résultat positif à la culture bactériologique ou bien la nature de l'infection bactérienne lorsqu'elle était mise en évidence.

Parmi les ulcères pris en charge *via* un traitement médical seul, 46% ont cicatrisé grâce au traitement médical seul ou à son association au *cross-linking*. Comme en témoigne le tableau 46, ce résultat est inférieur à celui des précédentes études menées en France et à celui de l'étude réalisée en Australie et se rapproche de l'étude menée au Royaume-Uni (Hindley et al., 2016 ;

Faure, 2018 ; Guyonnet *et al.*, 2020 ; Tsvetanova *et al.*, 2021). Comme nous le verrons plus tard, ces différences de succès peuvent entre autres s'expliquer par les différences de protocole thérapeutique mis en place selon les études et notamment la nature de l'antibiotique choisi. Finalement, 54% des ulcères de l'étude ont fait l'objet d'une prise en charge chirurgicale. Par ailleurs, l'étude n'a pas montré d'association entre l'obtention d'un résultat positif à la culture bactériologique et le succès du traitement médical. En revanche, la guérison suite au traitement médical était plus fréquente parmi les ulcères associés à une infection cornéenne mixte (83% des cas) que parmi les ulcères associés à une infection cornéenne simple (22% des cas, $p=0,035$). Cela peut s'expliquer par le fait que lors d'infection mixte la plupart des bactéries isolées sont des agents opportunistes peu pathogènes et peu résistants aux antibiotiques. En revanche, lors d'infection simple les bactéries isolées sont souvent davantage pathogènes et antibiorésistantes. Finalement, seuls 33% des ulcères à *Staphylococcus* sp. ont cicatrisé grâce au traitement médical seul et aucun ulcère ayant fourni un résultat positif pour *Streptococcus* sp. seul ou *Pseudomonas* sp. seule n'a cicatrisé sans prise en charge chirurgicale.

Tableau 46. Pourcentage de succès suite au traitement médical d'ulcères cornéens à collagénases dans différentes études

%	Résultats de l'étude, France	Faure et al., 2018, France	Guyonnet et al., 2020, France	Hindley et al., 2016, Australie	Tsvetanova et al., 2020, Royaume-Uni
Succès traitement médical	46	63	54	57	43

Les techniques chirurgicales les plus fréquemment employées pour traiter les ulcères à collagénases de l'étude étaient la greffe de conjonctive (38%) et la greffe de membrane amniotique (30%). La greffe de BIOSIS, la greffe de cornée, la blépharorrhaphie associée à la pose d'une lentille cornéenne et l'énucléation étaient moins fréquemment employées.

Si les études s'accordent à souligner l'importance du traitement antibiotique et anticollagénases par voie locale dans la prise en charge des ulcères cornéens à collagénases chez le chien, il est difficile de comparer leurs résultats puisque les protocoles de traitement médical varient beaucoup d'une étude à l'autre. En effet, dans les études menées en France par Faure *et al.* et Guyonnet *et al.* les ulcères ont reçu un traitement médical intensif avec application de tobramycine et de sérum équin par voie topique toutes les 2 à 4 heures. Lorsque des signes d'uvéite antérieure étaient présents, de l'atropine à la concentration d'un pour cent et du méloxicam à la dose de 0,1 mg/kg une fois par jour ont complété le protocole. Par ailleurs, dans les études menées en dehors de la France, l'antibiotique administré par voie topique était le plus souvent une fluoroquinolone de deuxième génération comme la ciprofloxacine ou l'ofloxacine. Celle-ci pouvait être associée à un autre antibiotique à plus large spectre comme le chloramphénicol, la polymyxine B ou la céfazoline (Hindley *et al.*, 2016 ; Tsvetanova *et al.*, 2021). Cependant, en France une telle prescription est impossible en raison de la réglementation concernant les antibiotiques critiques. Dans cette étude les axes du traitement médical différaient de ceux évoqués précédemment et variaient sensiblement selon les ulcères. Ainsi, nous allons détailler les différents aspects de ce traitement.

Un antibiotique par voie locale a été utilisé pour traiter chaque ulcère inclus dans l'étude. Si le choix de l'antibiotique doit être guidé par les résultats de la culture bactériologique, ces derniers ne sont pas disponibles immédiatement. Par conséquent, un antibiotique ou une combinaison d'antibiotiques doit être choisi de façon probabiliste dans l'attente des résultats de l'antibiogramme. Dans notre étude, le choix de l'antibiothérapie de première intention était dépendant du clinicien qui choisissait selon son appréciation, ses habitudes de prescription et les données de la littérature. Ainsi, l'antibiotique le plus fréquemment choisi en première intention était la tobramycine

(55% des cas). Il s'agit d'un aminoside bactéricide dont le spectre d'action comporte de nombreuses bactéries gram négatives mais peu de bactéries gram positives en dehors de *Staphylococcus* sp. Cependant, l'association tobramycine et chloramphénicol était aussi fréquemment utilisée (36% des cas). Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique de la famille des phénicolés qui permet d'étendre le spectre de la tobramycine puisque la majorité des *Staphylococcus* sp. et des *Streptococcus* sp. y sont sensibles (Herring, 2007). Quelques cas ont été traités avec du chloramphénicol seul (6%) ou une combinaison néomycine et polymyxine B (4%). Dans notre étude aucune fluoroquinolone ni céphalosporine de troisième ou de quatrième génération n'a été utilisée en première intention dans le traitement puisque la réglementation sur les antibiotiques critiques interdit d'y recourir en l'absence d'antibiogramme (Guyonnet *et al.*, 2020). Aucune association significative n'a été trouvée entre la nature de l'antibiotique de première intention choisi et le succès du traitement médical. Par ailleurs, dans 62% des cas une modification de l'antibiothérapie par voie locale a été réalisée au cours du suivi à la faveur des résultats de l'antibiogramme. Les antibiotiques prescrits en deuxième intention étaient le plus fréquemment la combinaison de tobramycine et de chloramphénicol (36%) ou le chloramphénicol seul (30%). La tobramycine et la combinaison néomycine et polymyxine B ont respectivement été prescrites dans 12% des cas. L'antibiogramme réalisé sur deux ulcères a révélé la présence de bactéries multi-résistantes justifiant l'emploi de fluoroquinolones (ofloxacine et ciprofloxacine). Aucune association significative n'a été trouvée entre le fait d'effectuer un changement d'antibiothérapie locale ou encore la nature de l'antibiotique administré en seconde intention et le succès du traitement médical. Cependant, lors de l'utilisation du chloramphénicol en seconde intention le succès du traitement (55% des cas) était plus fréquent que son échec (23% des cas, $p=0,12$). Ainsi, notre étude a pu manquer de puissance statistique pour démontrer l'intérêt du chloramphénicol aussi bien en première qu'en seconde intention.

Les molécules anticollagénases par voie locale ont très souvent été utilisées dans le traitement des ulcères cornéens à collagénases de l'étude (85% des cas). Le sérum hétérologue était plus fréquemment utilisé (60%) que le sérum autologue (6%) puisqu'il était plus facile de l'obtenir en grande quantité. Quelle que soit son origine, le sérum favorise la cicatrisation cornéenne en piégeant les enzymes protéasiques et également via les facteurs de croissance cornéens qu'il contient (Herring, 2007). Certains ulcères (40%) ont reçu du NAC dont les propriétés sont aussi intéressantes puisqu'il améliore le renouvellement de l'épithélium en diminuant l'activité des enzymes MMPs (Sanchez, 2014). Aucune association significative n'a été trouvée entre la nature de la molécule anti collagénase utilisée et le succès du traitement médical. Néanmoins, lors de l'utilisation de NAC le succès du traitement médical (45% des cas) était plus fréquent que l'échec (15% des cas, $p=0,12$). Notre étude a donc pu manquer de puissance statistique pour démontrer l'intérêt du chloramphénicol en seconde intention. De plus, une combinaison de plusieurs molécules aux propriétés anti-collagénases, par exemple le sérum hétérologue et le NAC, a été utilisée pour 11 ulcères (21% des cas). Cela permet de combiner leurs effets puisque leurs modes d'actions sont différents (Whitley et Hamor, 2021). Cependant, aucune association significative n'a été trouvée concernant le succès du traitement entre les ulcères ayant reçu une seule ou plusieurs molécules anti collagénases.

Une molécule cycloplégique, comme l'atropine à la concentration d'un pourcent appliquée localement, a été utilisée dans le traitement de 92% des cas. Cette dernière diminue la douleur cornéenne en favorisant le relâchement du corps ciliaire et prévient la formation de synéchies antérieures en provoquant une mydriase (Herring, 2007).

De plus, 81% des ulcères ont reçu au moins un autre traitement par voie locale. Certains de ses traitements visaient à soutenir et améliorer la cicatrisation cornéenne comme le hyaluronate de sodium (administré dans 74% des cas) qui stimule la migration des cellules épithéliales cornéenne ; la vitamine A (administré dans 34% des cas) qui stimule la cicatrisation cornéenne ; et les RGTA (administrés dans 11% des cas) qui produisent aussi un effet antalgique immédiat et diminuent l'inflammation (Khammari Chebbi *et al.*, 2008 ; Sanchez, 2014). Par ailleurs, 36% des

chiens de l'étude étaient traités avec de la cyclosporine A. En effet, cette molécule immunosuppressive efficace dans la prise en charge des KCS dysimmunitaires leur avait été prescrite avant la prise en charge de l'ulcère cornéen à collagénases (Herring, 2007).

Un traitement anti-inflammatoire non stéroïdien administré par voie systémique a complété le traitement dans 68% des cas. Le plus fréquemment du méloxicam à la concentration de 0,1mg/kg une fois par jour par voie orale a été prescrit. Selon certaines études, ce dernier participe à la réduction de la douleur cornéenne, en réduisant en particulier l'infiltration leucocytaire de la cornée lors d'uvéite antérieure (Maggs, 2015b). Cependant, l'utilisation d'AINS reste débattue en raison de leurs effets secondaires notamment gastro-intestinaux et rénaux (Herring, 2007). En particulier, cette étude a trouvé une association significative entre l'utilisation d'un AINS par voie systémique et l'échec du traitement médical.

Enfin, une antibiothérapie par voie systémique a été associée à l'antibiothérapie locale dans 42% des cas, en particulier lors de perforation cornéenne ou de risque élevé de perforation. Le plus fréquemment l'association de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique a été choisie bien que certains cas aient été traités avec une céphalosporine. Néanmoins, certains auteurs soulignent le manque d'efficacité thérapeutique de l'antibiothérapie par voie systémique lors d'ulcère à collagénases puisqu'ils sont associés à une disparition de la vascularisation cornéenne ce qui empêche l'obtention d'une concentration thérapeutique efficace dans la cornée (Maggs, 2015a). Dans cette étude, aucune association statistique n'a été trouvée entre l'utilisation d'une antibiothérapie par voie systémique et le succès du traitement médical. Ce résultat est plutôt surprenant puisque plusieurs études ont montré l'intérêt de l'utilisation des antibiotiques par voie systémique dans le traitement des ulcères cornéens à collagénases car ces derniers diffusent bien dans les larmes. Par exemple, une étude sur des lapins pour lesquels une ulcération cornéenne avait été induite de façon iatrogène cicatrisaient plus rapidement lorsqu'ils étaient traités avec de la tétracycline par voie systémique que lorsqu'ils ne l'étaient pas (Seedor *et al.*, 1987). Une autre étude a montré que l'administration de tétracycline par voie systémique à des lapins présentant un ulcère cornéen à *Pseudomonas* sp. était associée à une guérison plus rapide (Levy et Katz, 1990).

F. Limites et perspectives de l'étude

La principale limite de cette étude est son caractère rétrospectif. En effet, la sélection des cas s'est fondée sur l'analyse des données présentes dans les dossiers médicaux des chiens sur Clovis. Or, au cours de cette sélection, nous avons fait face au manque de données dans certains dossiers. D'une part, cela nous a contraint à restreindre le nombre de cas inclus dans l'étude : 53 cas seulement ce qui limite fortement la puissance statistique de l'étude. D'autre part, cela nous a empêchés dans certains cas de déterminer des éléments d'intérêt pour notre étude. Par exemple le grade de sévérité de l'ulcère n'a pu être déterminé que pour 42 des 53 chiens inclus dans l'étude. Enfin, le manque de suivi de certains animaux a également été problématique puisque cinq cas parmi les 53 inclus dans l'étude ont été perdus de vue, ce qui diminue d'autant plus la puissance statistique de l'étude.

Les importantes variations du traitement médical d'un ulcère à l'autre constituent une autre limite de cette étude. En effet, la nature des molécules administrées, leur posologie ou leur schéma d'application ainsi que le manque de contrôle sur l'observance du traitement par le propriétaire à son domicile compliquent l'évaluation de l'efficacité du traitement médical.

Finalement, une perspective de cette étude serait de réaliser une étude prospective qui comparerait l'efficacité de différents types de traitements médicaux d'ulcère cornéens à collagénases. Ces traitements seraient notamment caractérisés par l'emploi d'antibiotiques et de molécules anti-collagénases différentes, pour lesquels les posologies et schémas d'application seraient définis avec précision. Ces traitements pourraient être administrés en milieu hospitalier afin de s'assurer d'un meilleur suivi et d'une observance optimale.

Conclusion

Les ulcères cornéens à collagénases sont une forme particulièrement grave d'atteinte cornéenne chez le chien car ils provoquent la dissolution rapide du stroma cornéen. Ce processus nommé kératomalacie est provoqué par une forte activité protéolytique ayant deux origines : l'action de protéases endogènes libérées par certaines cellules cornéennes couplée à celle de protéases exogènes libérées notamment par des bactéries. Les bactéries les plus fréquemment incriminées dans ce processus sont *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. et *Pseudomonas* sp. Cependant, la nature des souches isolées varie selon les individus et les localisations géographiques. La prise en charge de ces ulcères doit être rapide en raison de leur rapidité d'aggravation. Dans certains cas, une prise en charge médicale, associant les voies topique et systémique, est indiquée. Les piliers de ce traitement sont les antibiotiques qui visent à éliminer l'infection et les molécules anticollagénases qui permettent de réduire l'activité protéolytique. En raison de l'émergence de nombreuses résistances bactériennes, l'antibiothérapie doit être guidée par les résultats d'une mise en culture et d'un antibiogramme. Un cycloplégique administré par voie locale, un anti-inflammatoire non stéroïdien ou un antibiotique administré par voie systémique peuvent compléter la prise en charge. Finalement, une prise en charge chirurgicale peut être nécessaire lorsque l'atteinte cornéenne est très sévère au moment de l'admission ou en cas d'absence de réponse au traitement médical initié.

Dans cette étude rétrospective, la majorité des ulcères cornéens à collagénases étaient associés à un résultat positif à la culture bactériologique (32 cas sur 53). Aucune association n'a été trouvée entre la race du chien et la présence d'une infection bactérienne bien que les chiens de race Shih Tzu semblaient présenter davantage d'ulcères infectés. Les bactéries isolées étaient le plus souvent *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. et *Pseudomonas* sp. Les souches présentaient des résistances variées aux antibiotiques. Le grade de sévérité des ulcères n'était pas plus élevé lorsque la culture bactériologique était positive que lorsqu'elle était négative mais il était plus élevé lors d'infection mixte que lors d'infection simple. De plus, le grade de sévérité des ulcères associés à *P. aeruginosa* semblait supérieur à celui des ulcères à staphylocoques ou streptocoques. Une majorité des ulcères de l'étude a été prise en charge chirurgicalement dans les 24 heures suivant la première consultation au Chuv-Ac (29 cas sur 53). Quasiment la moitié des ulcères pris en charge médicalement a cicatrisé (11 cas sur 24). La guérison suite au traitement médical était moins fréquente parmi les chiens ayant récemment subi une anesthésie générale ou présentant une infection bactérienne simple. Aucune association n'a été mise en évidence entre la nature de l'antibiothérapie ou du traitement anti-collagénases administré et le succès du traitement médical. Néanmoins, il semble que l'administration de NAC et le changement d'antibiothérapie locale avec ajout du chloramphénicol soient associées à de meilleurs résultats.

La nature rétrospective de cette étude et la grande variabilité concernant la nature du traitement médical mis en œuvre chez chaque chien constituent les deux principales limites de cette analyse. Ainsi, il serait pertinent de réaliser une étude prospective incluant davantage de cas pour comparer différents protocoles de traitement médical définis avec précision et administrés en contexte hospitalier pour s'assurer de leur parfaite observance.

Liste des références bibliographiques

- ANDREW S.E. (2003) Corneal fungal disease in small animals. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 18(3), 186-192
- ASGHARI A., GHARACHORLOU A. (2011) Assessing the role of proper administration of antibiotics in the treatment of corneal ulcers in dog. *Advances in Environmental Biology* 5(8), 2084-2087
- AUSTIN A., LIETMAN T., ROSE-NUSSBAUMER J. (2017) Update on the Management of Infectious Keratitis. *Ophthalmology* 124(11), 1678-1689
- AUTEN C.R., URBANZ J.L., DEES D.D. (2020) Comparison of bacterial culture results collected via direct corneal ulcer vs conjunctival fornix sampling in canine eyes with presumed bacterial ulcerative keratitis. *Veterinary Ophthalmology* 23(1), 135-140
- BEEVER L., BOND R., GRAHAM P.A., *et al.* (2015) Increasing antimicrobial resistance in clinical isolates of *Staphylococcus intermedius* group bacteria and emergence of MRSP in the UK. *Veterinary Record* 176(7), 172-172
- BETBEZE C.M., STILES J., KROHNE S.G. (2007) Assessment of bacterial contamination of three multidose ophthalmic solutions. *Veterinary Ophthalmology* 10(2), 81-83
- BOND R., LOEFFLER A. (2012) What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. *Journal of Small Animal Practice* 53(3), 147-154
- BRIGNOLE-BAUDOUIIN F., WARNET J.M., BARRITAU D., BAUDOUIIN C. (2013) RGTA-based matrix therapy in severe experimental corneal lesions: Safety and efficacy studies. *Journal Français d'Ophthalmologie* 36(9), 740-747
- BUSSIERES M. (2004) The use of porcine small intestinal submucosa for the repair of full-thickness corneal defects in dogs, cats and horses. *Veterinary ophthalmology* 7(5), 352-9
- CHAHORY S. (2019) Pathologie oculaire [polycopié]. ENVA.UC94
- CHAN T.C.Y., LAU T.W.S., LEE J.W.Y., *et al.* (2015) Corneal collagen cross-linking for infectious keratitis: an update of clinical studies. *Acta Ophthalmologica* 93(8), 689-696
- CHAUDIEU G. (2004) Les ulcères cornéens du chien et du chat. Première partie : symptômes, étiologie, diagnostic. *Pratique médicale & chirurgicale de l'animal de compagnie* 39(1), 5-12
- CONSTANTINESCU G.M. (2005) La tête. In *Guide pratique d'anatomie du chien et du chat*. Paris, Éditions Med'Com, pp 116-117
- CONWAY E.D., STILES J., TOWNSEND W.M., WENG H.-Y. (2015) Evaluation of species differences and the effects of storage duration and temperature on the anticollagenase efficacy of canine, feline, and equine serum on in vitro corneal degradation. *American Journal of Veterinary Research* 76(11), 989-995
- COSTA D., LEIVA M., SANZ F., *et al.* (2019) A multicenter retrospective study on cryopreserved amniotic membrane transplantation for the treatment of complicated corneal ulcers in the dog. *Veterinary Ophthalmology* 22(5), 695-702
- COUTURE S. (2006) Topical effect of various agents on gelatinase activity in the tear film of normal dogs. *Veterinary ophthalmology* 9(3), 157-64
- DELLMANN H.-D. (1998) Eye. In *Textbook of Veterinary Histology*, Eds Dellmann H.-D., Eurell J.A.C., 5th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, pp 334-335
- DHALL S., SATHYAMOORTHY M., KUANG J.-Q., *et al.* (2018) Properties of viable lyopreserved amnion are equivalent to viable cryopreserved amnion with the convenience of ambient storage. *PLoS One* 13(10), e0204060
- DUBIELZIG R.R. (2010) Diseases of the Cornea and Sclera. In *Veterinary Ocular Pathology: A Comparative Review*, Eds Dubielzig R.R., Ketring K.L., McLellan G.J., Albert D.M. Edinburgh, Saunders, pp 201-245
- DULAURENT T., AZOULAY T., GOULLE F., *et al.* (2014) Use of bovine pericardium (Tutopatch[®]) graft for surgical repair of deep melting corneal ulcers in dogs and corneal sequestra in cats. *Veterinary Ophthalmology* 17(2), 91-99

- EDWARDS S.G., MAGGS D.J., BYRNE B.A., KASS P.H., LASSALINE M.E. (2019) Effect of topical application of 0.5% proparacaine on corneal culture results from 33 dogs, 12 cats, and 19 horses with spontaneously arising ulcerative keratitis. *Veterinary Ophthalmology* 22(4), 415-422
- EKAPOPPHAN D., SRISUTTHAKARN A., MOONARMART W., BUDDHIRONGAWATR R., BANGPHOOMI N. (2018) Identification and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from severe corneal ulcers of dogs in Thailand. *The Journal of Veterinary Medical Science* 80(8), 1259-1265
- ENACHE A.E., MITCHELL C., KAFARNIK C., WALLER A.S. (2020) *Streptococcus canis* multilocus sequence typing in a case series of dogs with ulcerative keratitis. *Veterinary Ophthalmology* 23(2), 252-258
- FAMOSE F. (2014) Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in eight dogs. *Veterinary Ophthalmology* 17(5), 358-367
- FAURE J. (2018) Etude rétrospective de 38 cas d'ulcères cornéens à collagénases chez le chien à partir des cas pris en charge au CHUVA entre 2012 et 2015. Thèse Méd. Vét. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort
- FEATHERSTONE H.J., HEINRICH C.L. (2021) Ophthalmic Examination and Diagnosis. In *Veterinary ophthalmology*, Eds Gelatt K.N., 6th ed. Hoboken, NJ, John Wiley & Sons, Inc.
- FENTIMAN K.E., RANKIN A.J., MEEKINS J.M., ROUSH J.K. (2018) Effects of topical ophthalmic application of 0.5% proparacaine hydrochloride on aerobic bacterial culture results for naturally occurring infected corneal ulcers in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 253(9), 1140-1145
- FLANAGAN J., WILLCOX M. (2009) Role of lactoferrin in the tear film. *Biochimie* 91(1), 35-43
- FRENEY J. (1994) Manuel de bactériologie clinique. volume 2., 2nd ed. Amsterdam, Elsevier
- GASKIN J.M. (1980) Microbiology of the Canine and Feline Eye. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 10(2), 303-316
- GELATT K.N. (2021) *Veterinary ophthalmology*, 6th ed. Hoboken, NJ, John Wiley & Sons, Inc.
- GOGOVA S., LEIVA M., ORTILLÉS Á., et al. (2020) Corneoconjunctival transposition for the treatment of deep stromal to full-thickness corneal defects in dogs: A multicentric retrospective study of 100 cases (2012-2018). *Veterinary Ophthalmology* 23(3), 450-459
- GUYONNET A., DESQUILBET L., FAURE J., et al. (2020) Outcome of medical therapy for keratomalacia in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 61(4), 253-258
- HAMOR R., EHRHART E. (2006) Eye. In *Textbook of Veterinary Histology*, Eds Eurell J.A.C., Frappier B.L., 6th ed. Oxford, Blackwell Pub., pp 350-353
- HANSEN P.A., GUANDALINI A. (1999) A retrospective study of 30 cases of frozen lamellar corneal graft in dogs and cats. *Veterinary Ophthalmology* 2(4), 233-241
- HAUDUROY P., EHRINGER G., URBAIN A., GUILLOT G., MAGROU J. (1937) Dictionnaire de bactéries pathogènes pour l'homme, les animaux et les plantes. Paris, Masson
- HENDRIX D.V.H., THOMASY S.M., GUM G.G. (2021) Physiology of the Eye. In *Veterinary Ophthalmology*, Eds Gelatt K.N., 6th ed. Hoboken, NJ, John Wiley & Sons, Inc., pp 124-167
- HERRING I.P. (2007) Clinical Pharmacology and Therapeutics. In *Veterinary ophthalmology*, Eds Gelatt K.N., 4th ed. Hoboken, NJ, Wiley-Blackwell
- HINDLEY K.E., GROTH A.D., KING M., GRAHAM K., BILLSON F.M. (2016) Bacterial isolates, antimicrobial susceptibility, and clinical characteristics of bacterial keratitis in dogs presenting to referral practice in Australia. *Veterinary Ophthalmology* 19(5), 418-426
- KERN T.J. (1990) Ulcerative Keratitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 20(3), 643-666
- KHAMMARI CHEBBI C., KICHENIN K., AMAR N., et al. (2008) Étude pilote d'un nouvel agent de thérapie matricielle (RGTA OTR4120®) dans les ulcères de cornée et les dystrophies cornéennes rebelles. *Journal Français d'Ophthalmologie* 31(5), 465-471
- KHNEL W. (2015) Organes des sens - Œil. In *Atlas de poche d'histologie*, Eds Khnel W., Duval D. Paris, Lavoisier Médecine-Sciences, pp 434-438
- KIM J.-S. (2001) Amniotic Membrane Transplantation in Infectious Corneal Ulcer. *Cornea* 20(7), 720-726

- KJELLMAN E.E., SLETTEMEÅS J.S., SMALL H., SUNDE M. (2015) Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from healthy dogs in Norway—occurrence, genotypes and comparison to clinical MRSP. *Microbiologyopen* 4(6), 857-866
- LACERDA R.P., PEÑA GIMENEZ M.T., LAGUNA F., *et al.* (2017) Corneal grafting for the treatment of full-thickness corneal defects in dogs: a review of 50 cases. *Veterinary Ophthalmology* 20(3), 222-231
- LASSALINE M.E., BROOKS D.E., OLLIVIER F.J., *et al.* (2005) Equine amniotic membrane transplantation for corneal ulceration and keratomalacia in three horses. *Veterinary Ophthalmology* 8(5), 311-317
- LEDBETTER E.C., SCARLETT J.M. (2008) Isolation of obligate anaerobic bacteria from ulcerative keratitis in domestic animals. *Veterinary Ophthalmology* 11(2), 114-122
- LEHNER G., LINEK M., BOND R., *et al.* (2014) Case-control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany. *Veterinary Microbiology* 168(1), 154-160
- LEIGUE L., MONTIANI-FERREIRA F., MOORE B.A. (2016) Antimicrobial susceptibility and minimal inhibitory concentration of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from septic ocular surface disease in different animal species. *Open Veterinary Journal* 6(3), 215
- LEVY J.H., KATZ H.R. (1990) Effect of systemic tetracycline on progression of *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in the rabbit. *Annals of Ophthalmology* 22(5), 179-183
- MAALI Y., BADIOU C., MARTINS-SIMÕES P., *et al.* (2018) Understanding the Virulence of *Staphylococcus pseudintermedius*: A Major Role of Pore-Forming Toxins. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8, 221
- MAGGS D.J. (2015a) Cornée et sclère. In *Ophthalmologie vétérinaire*, Eds Slatter D.H., Maggs D.J., Miller P.E., Ofri R., Le Sueur-Almosni F., Mennecier I., 5th ed. Paris, Éditions Med'com
- MAGGS D.J. (2015b) Pharmacologie et traitements des affections oculaires. In *Ophthalmologie vétérinaire*, Eds Slatter D.H., Maggs D.J., Miller P.E., Ofri R., Le Sueur-Almosni F., Mennecier I., 5th ed. Paris, Éditions Med'com
- MARRION R. (2008) Diseases of the Cornea and Sclera. In *Handbook of Small Animal Practice*. Amsterdam, Elsevier, pp 954-967
- MARTIN C.L., PICKETT P.J., SPIESS B.M. (2005) Cornea and Sclera. In *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. London, Manson Publ, pp 241-297
- MARTINEZ J.A., CHIAPPINI F., BARRITAU D. (2019) Case Reports for Topical Treatment of Corneal Ulcers with a New Matrix Therapy Agent or RGTA® in Dogs. *Veterinary Sciences* 6(4), 103
- MCDONALD P.J., WATSON A.D.J. (1976) Microbial flora of normal canine conjunctivae. *Journal of Small Animal Practice* 17(12), 809-812
- MEYER C. (2008) Urgences en ophtalmologie du chien et du chat. Thèse Méd. Vét. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar
- MIRONOVICH M.A., MITCHELL M.S., LIU C., CARTER R.T., LEWIN A.C. (2022) The effect of topical ophthalmic proparacaine, fluorescein, and tropicamide on subsequent bacterial cultures in healthy dogs. *Veterinary Ophthalmology* 25(1), 44-51
- MURPHY C.J., SAMUELSON D.A., POLLOCK R.V.H. (2013) The eye. In *Miller's Anatomy of the Dog.*, Eds Evans H.E., De Lahunta A., 4th ed. St. Louis, Mo, Elsevier, pp 748-752
- OLLIVIER F.J. (2005) Medical and surgical management of melting corneal ulcers exhibiting hyperproteinase activity in the horse. *Clinical techniques in equine practice* 4(1), 50-71
- OLLIVIER F.J., KALLBERG M.E., PLUMMER C.E., *et al.* (2006) Amniotic membrane transplantation for corneal surface reconstruction after excision of corneolimbic squamous cell carcinomas in nine horses. *Veterinary Ophthalmology* 9(6), 404-413
- OLLIVIER F.J., GILGER B.C., BARRIE K.P., *et al.* (2007) Proteinases of the cornea and precorneal tear film. *Veterinary Ophthalmology* 10(4), 199-206
- POT S.A., GALLHÖFER N.S., MATHEIS F.L., *et al.* (2014) Corneal collagen cross-linking as treatment for infectious and noninfectious corneal melting in cats and dogs: results of a prospective, nonrandomized, controlled trial. *Veterinary Ophthalmology* 17(4), 250-260

- RODRIGUEZ E.N., TOWNSEND W.M., STILES J. (2021) Double drape tectonic patch with cyanoacrylate glue for surgical repair of corneal defects: 8 cases. *Veterinary Ophthalmology* 24(4), 419-424
- ROSS M.H., PAWLINA W. (2015) Histology: a text and atlas, 7th ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins Health
- SANCHEZ R.F. (2014) The cornea. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Ophthalmology*, Eds Gould D., McLellan G.J., British Small Animal Veterinary Association, 3rd ed. Quedgeley, pp 200-232
- SEEDOR J.A., PERRY H.D., MCNAMARA T.F., *et al.* (1987) Systemic Tetracycline Treatment of Alkali-Induced Corneal Ulceration in Rabbits. *Archives of Ophthalmology* 105(2), 268-271
- SOLOMON A., MELLER D., PRABHASAWAT P., *et al.* (2002) Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetocelles, and deep ulcers. *Ophthalmology* 109(4), 694-703
- SPIESS B.M., POT S.A., FLORIN M., HAFEZI F. (2014) Corneal collagen cross-linking (CXL) for the treatment of melting keratitis in cats and dogs: a pilot study. *Veterinary Ophthalmology* 17(1), 1-11
- STADES F.C. (Éd.) (2007) Cornea and Sclera. In *Ophthalmology for the Veterinary Practitioner*, Eds Wyman M., Boevé M.H., Neumann W., Spiess B.M., 2nd ed. Hannover, Schlütersche, pp 129-155
- SUBEDI D., VIJAY A.K., WILLCOX M. (2018) Overview of mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an ocular perspective. *Clinical and Experimental Optometry* 101(2), 162-171
- SUTER A., VOELTER K., HARTNACK S., SPIESS B.M., POT S.A. (2018) Septic keratitis in dogs, cats, and horses in Switzerland: associated bacteria and antibiotic susceptibility. *Veterinary Ophthalmology* 21(1), 66-75
- SYKES J.E. (2014) Streptococcal and Enterococcal Infections. In *Canine and Feline Infectious Diseases*. Missouri, Elsevier, pp 334-337
- TSVETANOVA A., POWELL R.M., TSVETANOV K.A., SMITH K.M., GOULD D.J. (2021) Melting corneal ulcers (keratomalacia) in dogs: A 5-year clinical and microbiological study (2014–2018). *Veterinary Ophthalmology* 24(3), 265-278
- TURNER S.M. (2008) Cornea. In *Small animal ophthalmology, Saunders solutions in veterinary practice*, Eds Turner S.M. Edinburgh ; New York, Elsevier Saunders, pp 121-193
- UW-MADISON DEPARTMENT OF OPHTHALMOLOGY AND VISUAL SCIENCES OF OPHTHALMOLOGY AND VISUAL SCIENCES OF (2021) Coupe histologique du stroma cornéen
- VANORE M., CHAHORY S., PAYEN G., CLERC B. (2007) Surgical repair of deep melting ulcers with porcine small intestinal submucosa (SIS) graft in dogs and cats. *Veterinary ophthalmology* 10(2), 93-99
- VERDENIUS C.Y., BROENS E.M., DJAJADININGRAT-LAANEN S.C. (2021) Corneal stromal ulcerations in a referral population of dogs and cats in the Netherlands (2012-2019) : bacterial isolates and antibiotic resistance. In *Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Ophthalmologists*, 21/05/2021, [visioconférence]
- VERNEUIL M., DURAND B., MARCON C., GUILLOT J. (2014) Conjunctival and cutaneous fungal flora in clinically normal dogs in Southern France. *Journal de Mycologie Médicale* 24(1), 25-28
- WHITLEY R.D. (2000) Canine and feline primary ocular bacterial infections. *Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice* 30(5), 1151-1167
- WHITLEY R.D., HAMOR R.E. (2021) Diseases and Surgery of the Canine Cornea and Sclera. In *Veterinary ophthalmology*, Eds Gelatt K.N., 6th ed. Hoboken, NJ, John Wiley & Sons, Inc.

Annexes

Annexe 1. Exemple du recueil de données pour le chien numéro 1 (cas 1)
1 présence du critère et 0 absence du critère

Cas	Anamnèse												
	Bouledogue français	Shih Tzu	Carlin	Bouledogue anglais	Yorkshire terrier	Chihuahua	Staffordshire bull terrier	Teckel	Akita inu	Berger blanc suisse	Bichon à poils frisés	Bichon maltais	Boston terrier
1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Cas	Anamnèse														
	Cavalier king charles	Jack Russel Terrier	Croisé labrador	Pékinois	Pinscher nain	Share pei	Croisé Shih Tzu	Mâle	Femelle	Entier	Stérilisé	Age (mois)	Age < 78 mois	Age > 78 mois	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	132	0	1	

Cas	Facteurs de prédisposition potentiels												
	Brachycéphale	Maladie cornéenne	Anesthésie générale	Corticothérapie locale	Maladie systémique	Désépithélialisation	Chirurgie oculaire	Au moins un facteur	Au moins deux facteurs	Au moins trois facteurs	Au moins quatre facteurs	Au moins cinq facteurs	KCS
1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1

Cas	Historique	Bactériologie
-----	------------	---------------

	Consultation par un vétérinaire avant le Chuv-Ac	Par voie topique			Par voie systémique		Durée évolution (jours)	Culture positive	Culture négative	Infection simple	Infection mixte	Staphylococcus seul	Streptococcus seul	Pseudomonas aeruginosa seul
		Antibiotique	Anti-collagénases	Atropine	Antiinflammatoire	Antibiotique								
1	0	0	0	0	0	0		1	0	1	0	0	0	1

Cas	Ulcère											Présence Hypopion/Hyphéma	Grade de sévérité
	Stromal antérieur	Stromal moyen	Stromal profond	Perforant	Surface			Localisation					
					Petit	Moyen	Large	Périphérique	Intermédiaire	Central			
1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	8

Cas	Traitement									
	Chirurgie immédiate	Traitement médical	Type de traitement médical		Anti-collagénases				Atropine	
			Intensif	Classique	Sérum hétérologue	NAC	Sérum autologue	Au moins un		Au moins deux
1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1

Cas	Traitement											
	Premier antibiotique					Changement d'antibiotique	Deuxième antibiotique					
	Tobramycine	Chloramphénicol	Tobramycine et Chloramphénicol	Néomycine et polymyxine B			Tobramycine	Chloramphénicol	Tobramycine et Chloramphénicol	Néomycine et polymyxine B	Ofloxacin	Ciprofloxacine
1	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-

Cas	Traitement											
	Autres traitements par voie locale											
	Hyaluronate de sodium	Indométacine	Cyclosporine A	Diméticone	Fluorométholone	RGTA	Vitamine A	Au moins un	Au moins deux	Au moins trois	Au moins quatre	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Cas	Traitement									
	Antibiotique par voie systémique					Anti-inflammatoire par voie systémique				
	Amoxicilline et acide clavulanique	Marbofloxacine	Céfaléxine	Au moins un	Au moins deux	Méloxicam	Déxaméthasone	Cimicoxib	Au moins un	Au moins deux
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Cas	Résultats traitement médical								Technique chirurgicale						
	Perdu de vue	Guérison traitement médical seul	Délais (jours)	Guérison traitement médical et cross-linking	Délais (jours)	Guérison suite au traitement médical	Echec traitement médical	Délais (jours)	Recours à la chirurgie	Grefe conjonctivale	Grefe de membrane amniotique	Grefe BIOSIS	Grefe de cornée	Blépharorrhaphie et pose d'une lentille	Enucléation
1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0	1	0

ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE 53 CAS D'ULCÈRES CORNÉENS À COLLAGÉNASES CHEZ LE CHIEN À PARTIR DES CAS PRIS EN CHARGE À L'ENVA ENTRE 2017 ET 2020

AUTEUR : Caroline MILTCHALIEV

RÉSUMÉ :

La cornée constitue la partie antérieure de la tunique fibreuse de l'œil. Les ulcères cornéens correspondent à une perte plus ou moins profonde de substance cornéenne et sont une des atteintes cornéennes les plus fréquentes chez le chien. Les ulcères cornéens à collagénases sont une forme compliquée d'ulcères cornéens caractérisée par une dissolution rapide du stroma au cours d'un processus nommé kératomalacie. Ce dernier se développe lors d'un déséquilibre entre l'activité d'enzymes protéolytiques endogènes et/ou exogènes et celle de leurs inhibiteurs. Une infection bactérienne ou mycosique est souvent sous-jacente. Les bactéries impliquées varient selon les individus et les localisations géographiques. Ces ulcères peuvent très vite s'aggraver et se perforer. Par conséquent, ce sont des urgences thérapeutiques. Une prise en charge médicale peut d'abord être envisagée si la lésion n'est pas trop sévère. Dans ce cas, le traitement est intensif, il associe les voies topique et systémique, et ses piliers sont l'antibiothérapie et les molécules anticollagénases par voie topique. En raison du développement croissant de résistances bactériennes aux antibiotiques, l'antibiothérapie doit être guidée par une mise en culture et la réalisation d'un antibiogramme. Par ailleurs, le *cross-linking* du collagène cornéen semble être une technique d'avenir prometteuse pour améliorer le taux de succès du traitement médical. Néanmoins, si l'atteinte cornéenne est très profonde au moment de l'admission du chien ou si la lésion évolue défavorablement en dépit du traitement, une prise en charge chirurgicale est nécessaire via une greffe conjonctivale, de biomatériau ou de cornée et parfois une énucléation.

L'identification des bactéries et de leurs éventuelles résistances aux antibiotiques est donc un enjeu majeur dans le succès du traitement médical. Cette étude rétrospective, réalisée sur 53 ulcères cornéens chez le chien, visait à identifier ces bactéries et d'éventuels facteurs de risque à l'échec du traitement médical. La plupart des ulcères de l'étude étaient associés à une infection bactérienne (32 cas sur 53). Aucune association n'a été trouvée entre la race du chien et la présence d'une infection. *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. et *Pseudomonas* sp. étaient les bactéries le plus fréquemment isolées et celles-ci présentaient des résistances variées aux antibiotiques. Le grade de sévérité des ulcères était plus élevé lors d'infection impliquant des souches différentes et le grade de sévérité des ulcères associés à *P. aeruginosa* semblait supérieur à celui des ulcères associés à des staphylocoques ou des streptocoques. La majorité des ulcères de l'étude a fait l'objet d'une prise en charge chirurgicale immédiate en raison de la sévérité des lésions à l'admission (29 cas sur 53). Presque la moitié des ulcères pris en charge via un traitement médical a cicatrisé (11 cas sur 24). Deux facteurs étaient associés à un échec du traitement médical : une anesthésie générale récente et une seule bactérie isolée en culture. Bien qu'aucune association n'ait été mise en évidence entre la nature des composantes du traitement médical et son succès, il semble que l'administration de N-acétylcystéine et qu'un changement d'antibiothérapie topique avec ajout du chloramphénicol soient associées à de meilleurs résultats.

MOTS CLÉS :

ULCÈRE CORNÉEN / CORNÉE / KÉRATITE / OPHTALMOLOGIE / MALADIE OCULAIRE / BACTÉRIE / CARNIVORE DOMESTIQUE / CHIEN / CHUV-AC.

JURY :

Président : Pr Henri-Jean BOULOUIS
Directrice de thèse : Pr Sabine CHAHORY
Examinatrice : Dr Anne-Claire LAGRÉE

RETROSPECTIVE STUDY OF 53 MELTING CORNEAL ULCERS IN DOGS PRESENTED AT ENVA BETWEEN 2017 AND 2020

AUTHOR: Caroline MILTCHALIEV

SUMMARY:

Cornea is the front layer of the fibrous tunic of the eye. Corneal ulcers are a defect in the cornea that involves the epithelium, and more or less the underlying stroma and is one of the most common corneal diseases in dogs. Melting corneal ulcers are a complicated class of corneal ulcers that can lead to a rapid dissolution of the stroma in a process called keratomalacia. This class of ulcers is the result of an imbalance between the activity of endogenous and/or exogenous proteolytic enzymes and their inhibitors. A bacterial or fungal infection is often underlying the disease. The bacteria involved vary between dogs and geographic locations. These ulcers can quickly worsen and perforate the cornea. Therefore, they are therapeutic emergencies. If the damage is not too severe, medical treatment may be considered first. It must be intensive, combining topical and systemic routes, and its pillars must be antibiotic therapy and topical anti-collagenase molecules. As bacterial antibiotic resistance keeps increasing, antibiotic therapy should be guided by a culture and an antibiogram. In addition, corneal collagen cross-linking seems to be a promising future technique to improve the success rate of medical treatment. However, if corneal damage is too severe at the time of admission of the dog or if it progresses unfavourably despite the treatment, surgical management may be necessary via conjunctival, biomaterial or corneal grafting and sometimes enucleation.

The identification of the bacteria involved in the development of these ulcers and their possible resistance to antibiotics is therefore a major issue in the success of medical treatment. This retrospective study, carried out on 53 corneal ulcers in dogs, aimed to identify these bacteria and to search for possible risk factors for the failure of medical treatment. Most of the ulcers in the study were associated with bacterial infection (32 cases out of 53). No association was found between canine breeds and the presence of bacterial infection of the ulcer. *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* and *Pseudomonas sp.* were the most frequently isolated bacteria and these had varying degrees of resistance to antibiotics. The severity grade of ulcers was higher in infections involving several different strains and the severity grade of ulcers associated with *P. aeruginosa* appeared to be higher than that of ulcers associated with staphylococci or streptococci. Most ulcers in the study were managed immediately by surgery because of the severity of the lesions on admission (29 cases out of 53). Almost half of ulcers treated with medical treatment has finally healed (11 cases out of 24). Two factors were associated with failure of medical treatment: recent general anaesthesia and the presence of a simple bacterial infection. Although no association was found between the nature of the different components of medical treatment and its success, it appears that the administration of N-acetylcysteine and a change in topical antibiotic therapy to chloramphenicol are associated with better outcomes.

KEYWORDS:

CORNEAL ULCER / CORNEA / KERATITIS / OPHTHALMOLOGY / EYE DISEASE / BACTERIA / DOMESTIC CARNIVORE / DOG / CHUV-AC

JURY:

Chairperson: Pr Henri-Jean BOULOUIS

Thesis Director: Pr Sabine CHAHORY

Reviewer: Dr Anne-Claire LAGRÉE