



UNIVERSITÉ LILLE 2 DROIT ET SANTÉ
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2017

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Kératites bactériennes et fongiques : résultats microbiologiques de
2009 à 2015 avec le dispositif eSwab au CHRU de Lille.
Une étude épidémiologique.**

Présentée et soutenue publiquement le 20 janvier 2017 à 18 heures
au Pôle Recherche de la Faculté
par Caroline MORELLO

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Jean-François ROULAND

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Pierre LABALETTE

Monsieur le Docteur Olivier GAILLOT

Monsieur le Docteur Thibaut LEROY

Directeur de Thèse :

Monsieur le Professeur Pierre LABALETTE

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé.....	1
Introduction.....	3
I. Contexte.....	3
II. Rappels de physiopathologie.....	4
1. Anatomie de la cornée.....	4
2. Le film lacrymal.....	4
3. Les mécanismes de défense de la surface oculaire.....	4
4. La survenue d'une kératite infectieuse.....	5
III. Les prélèvements microbiologiques.....	6
1. Le grattage cornéen.....	6
2. L'examen direct.....	7
3. La culture.....	7
4. L'identification et l'antibiogramme.....	7
5. Résultats.....	7
Matériels et méthodes.....	8
I. Prise en charge des abcès de cornée au CHRU de Lille.....	8
II. Objectif et caractéristiques de notre étude.....	10
III. Matériels et méthodes.....	10
1. Diagnostic.....	11
2. Résultats des analyses microbiologiques.....	11
3. Autres données recueillies.....	12
4. Groupes microbiens et habitat naturel.....	13
IV. Statistiques.....	17
Résultats.....	18
I. Taux d'échantillons positifs.....	18
II. Population de l'étude.....	18
III. Facteurs de risque.....	18
IV. Micro-organismes.....	20
V. Associations micro-organismes et facteurs de risque.....	21
1. Selon le micro-organisme retrouvé :.....	21
2. Selon le type microbien :.....	21
3. Selon l'habitat naturel des micro-organismes :.....	22
VI. Échantillons poly-microbiens.....	22
VII. Taille de l'abcès.....	22
Discussion.....	24
I. Rendement diagnostique de la méthode.....	24
II. Population étudiée.....	24
III. Facteurs de risque retrouvés.....	25
1. Les lentilles de contact.....	25
2. Les pathologies de surface.....	25
3. Les greffes de cornée.....	26
4. Les pathologies systémiques.....	26
5. Les traumatismes récents.....	26

IV. Diversité des micro-organismes retrouvés.....	26
V. Facteurs de risque associés aux différents micro-organismes identifiés.....	27
VI. Échantillons poly-microbiens.....	28
VII. Échantillons stériles en culture.....	29
VIII. Taille de l'abcès.....	29
IX. Analyse.....	29
Conclusion.....	31
Références bibliographiques.....	32
Annexe.....	34
Récupération des données <i>via</i> la facturation de l'hôpital.....	34

RÉSUMÉ

INTRODUCTION : les kératites à micro-organismes pyogènes sont des infections potentiellement cécitantes. Leur prise en charge comprend un prélèvement microbiologique pour adapter le traitement administré. Les modalités de réalisation de ce prélèvement diffèrent selon les centres. Nous décrivons ici les résultats obtenus au CHRU de Lille.

MATÉRIELS ET MÉTHODES : les résultats microbiologiques des patients passés par le service d'Ophtalmologie du CHRU de Lille du 17/09/2009 au 31/03/2015 pour lesquels le diagnostic probable de kératite à bactérie ou champignon pyogène avait été posé ont été réunis et analysés rétrospectivement. La sélection des cas retenus a été effectuée sur des photographies en couleur prises avant le prélèvement. Les prélèvements avaient été réalisés par grattage cornéen avec les écouvillons eSwab comprenant un milieu de transport liquide puis acheminés aux services de microbiologie. Les facteurs de risque présents chez les patients ont été identifiés.

RÉSULTATS : parmi 131 échantillons analysés, 82,4% [74,8 % -88,5 %] contenaient au moins une espèce microbienne. Des facteurs de risque étaient retrouvés pour 80% des patients, les plus fréquents étant les pathologies de surface (28,2%) et le port de lentilles de contact (26,7%). Les organismes les plus fréquemment retrouvés étaient *Pseudomonas aeruginosa* (19,1%), *Staphylococcus epidermidis* (15,3%), *Moraxella* spp. (13,7%) et *Staphylococcus aureus* (13%). Il y avait 12,2% d'échantillons polymicrobiens. *P. aeruginosa* était significativement plus souvent retrouvé chez les porteurs de lentilles de contact ($p < 0,0001$), *Moraxella* spp. chez les patients présentant une pathologie de surface ($p = 0,026$) et *S. aureus* dans les suites récentes d'un traumatisme ($p = 0,04$). Nous n'avons pas retrouvé d'association

significative entre le type de microbe en culture et la taille de l'abcès ou la présence d'une pathologie systémique.

CONCLUSION : le taux d'échantillons positifs est important et dans la fourchette haute des données de la littérature. Les proportions d'organismes retrouvés et leur association à différents facteurs de risque sont également concordantes avec les données publiées. Le dispositif eSwab est un moyen simple, pratique et fiable pour l'analyse microbiologique des abcès cornéens à pyogènes. Cependant, pour affirmer la non-infériorité de cette méthode de prélèvement par rapport à la méthode avec ensemencement direct, il faudrait mettre en place une étude prospective comparative.

INTRODUCTION

I. Contexte

La kératite infectieuse, ou abcès de cornée, est une urgence ophtalmologique. Elle peut potentiellement entraîner une cécité si elle n'est pas traitée correctement et rapidement (1). Il s'agit heureusement d'une pathologie rare en l'absence de facteur de risque. Ceux-ci sont principalement : le port de lentilles de contact, les pathologies de la surface oculaire (par exemple, la blépharite), les traumatismes cornéens, les anomalies de la statique palpébrale, la chirurgie cornéenne et l'immunodépression (locale par collyres ou générale) (2).

Les kératites bactériennes sont les plus fréquentes des kératites infectieuses non virales recensées dans les pays industrialisés (jusqu'à 95%) (3).

Les modalités de prise en charge varient en fonction de la sévérité de la présentation clinique. Un traitement ambulatoire peut être envisagé en l'absence de signe de gravité ou de co-infection fongique ou amibienne, associant une antibiothérapie locale probabiliste et un suivi ambulatoire rapproché. Dans le cas contraire, des prélèvements à visée microbiologique sont indispensables avant l'introduction d'un traitement anti-infectieux renforcé dans le cadre d'une prise en charge hospitalière (4).

Les prélèvements microbiologiques sont bien codifiés dans certains centres et comportent plusieurs étapes que nous décrivons dans la partie « Les prélèvements microbiologiques » (Introduction, III.).

Le but de ce travail est, tout d'abord, de décrire les résultats microbiologiques obtenus en prélevant des kératites à pyogènes^a avec le dispositif eSwab (bioMérieux, France) dans le cadre des urgences ophtalmologiques au centre hospitalier régional universitaire (CHRU) de Lille et de rechercher des associations entre le type de

a) « pyogènes », définition : micro-organismes dont l'expression du pouvoir pathogène est la production de pus.

micro-organisme retrouvé, le type de fore à laquelle ils appartiennent et les facteurs de risque que présentent les patients.

Nous comparerons ensuite nos résultats avec ceux de la littérature afin d'évaluer la fiabilité de cette technique de prélèvement.

II. Rappels de physiopathologie

1. Anatomie de la cornée

La cornée forme la partie antérieure de l'œil. Elle est transparente, avasculaire et responsable des deux tiers du pouvoir réfractif de l'œil (le cristallin assurant le tiers restant).

Elle est constituée de 5 couches accolées les unes aux autres : l'épithélium, la couche de Bowman, le stroma, la membrane de Descemet et l'endothélium.

Elle est protégée par le film lacrymal et les paupières.

2. Le film lacrymal

Le film lacrymal s'organise en trois couches intriquées qui participent toutes aux principales fonctions de défense. Il s'agit de :

1. la couche lipidique, la plus superficielle, qui limite l'évaporation des larmes et assure sa bonne adhérence à la surface du niveau aqueux sous-jacent,
2. la couche aqueuse, contenant mucines, électrolytes, facteurs de croissance, hormones, cytokines, immunoglobulines et cellules immunitaires et épithéliales desquamées,
3. la couche muqueuse, contenant différents types de mucines, qui a un rôle d'ancrage du film lacrymal à la surface des cellules épithéliales cornéennes et conjonctivales.

3. Les mécanismes de défense de la surface oculaire

Les principaux mécanismes de défenses au niveau de la surface oculaire sont tout d'abord mécaniques, grâce au battement des paupières et au flux des larmes. Au niveau biochimique, plusieurs acteurs entrent en jeu : les IgA sécrétoires, le lysozyme, la lactoferrine et les radicaux libres produits par les mucocytes.

Les IgA sécrétoires sont produites par les plasmocytes des glandes lacrymales et de la conjonctive. Elles se lient aux micro-organismes et inhibent ainsi leur adhésion. Elles neutralisent également certaines toxines et certains virus.

Le lysozyme est une enzyme bactériolytique. Il constitue 30 % de la masse des protéines lacrymales. Sa concentration diminue avec l'âge et dans les sécheresses oculaires.

La lactoferrine est un puissant chélateur du fer, rendant indisponible ce nutriment essentiel à la vie des bactéries. Il s'agit d'un mécanisme de défense non spécifique mais essentiel.

Des radicaux libres sont produits dans le réseau mucinique par les mucocytes présents dans l'épithélium. Ils sont bactéricides. (5)

4. La survenue d'une kératite infectieuse

Une kératite infectieuse ou abcès cornéen est défini par la survenue d'un infiltrat cornéen en regard d'une ulcération épithéliale, d'origine infectieuse. Sa survenue sur un œil sain est rare.

Pour qu'un micro-organisme puisse se développer dans la cornée, la réunion de plusieurs conditions est nécessaire :

a) altération de l'épithélium cornéen

Cette condition est presque toujours remplie. Les bactéries peuvent alors adhérer à la surface épithéliale lésée au niveau des récepteurs aux glycoprotéines grâce à leurs *pili* ou à des adhésines non filamenteuses. Certaines bactéries, comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ou *Pseudomonas aeruginosa* ont des capacités d'adhésion importantes, ce qui explique leur fréquence élevée dans les séries publiées de kératites bactériennes. La multiplication des bactéries est très importante au cours des 48 premières heures. Elles vont pénétrer d'autant plus profondément dans la cornée qu'elles sécrètent des toxines et/ou des enzymes protéolytiques. L'invasion bactérienne induit également une réponse immunitaire de l'hôte, à la fois cellulaire et humorale, avec la libération de nombreux facteurs pro-inflammatoires. Cette réponse peut être elle-même délétère en provoquant une fonte stromale et une nécrose tissulaire.

Certaines bactéries peuvent exceptionnellement infecter la cornée malgré un épithélium intact. Il s'agit de bactéries sécrétant des facteurs de virulence permettant une adhésion intense (par exemple : *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*) voire une transcytose (*Listeria monocytogenes*).

b) altération d'un ou plusieurs des systèmes de défense de la cornée :

- anomalies du clignement des paupières, notamment en cas de malposition palpébrales (ectropion, lagophtalmie, ...) ou de défaut de clignement (lié à la paupière ou à une anesthésie cornéenne)

- anomalie du film lacrymal diminuant son pouvoir anti-microbien normal (inhibition de l'adhésivité et de la prolifération bactérienne),

- diminution de la sensibilité cornéenne, suite à une infection virale, une paralysie, ou une irritation chronique (lorsque les nerfs sensitifs à la surface de la cornée sont constamment stimulés, on observe une perte de la réponse de production de larmes suite à un stimulus).

III. Les prélèvements microbiologiques

1. Le grattage cornéen

Lorsqu'il existe des signes de gravité, le grattage cornéen est le prélèvement de référence. Celui-ci est réalisé après anesthésie topique (unidose d'oxybuprocaine ou de tetracaïne sans conservateur) avec le fil d'une lame de bistouri ou directement avec un écouvillon stérile. Si des techniques de biologie moléculaires sont requises (PCR *Acanthamoeba*, virus), le port de gants stériles sans talc est recommandé lors du prélèvement.

Le grattage cornéen concerne les bords et le fond de l'ulcère. Dans la technique de référence (4), un premier prélèvement est d'abord apposé sur une ou deux lames porte-objet (idéalement, par l'ophtalmologiste qui effectue le prélèvement) pour examen direct. Un deuxième échantillon est ensemencé directement sur différents milieux de culture pour la recherche de bactéries et levures.

2. L'examen direct

L'examen direct se fait après coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG) et coloration de Gram. Il permet de déterminer immédiatement la présence ou l'absence de micro-organismes et de commencer à les caractériser : cocci ou bacilles, Gram positif ou Gram négatif. L'observation attentive des cellules inflammatoires permet aussi d'orienter le diagnostic, la présence de bactéries dans le cytoplasme de polynucléaires neutrophiles étant un élément essentiel en faveur d'une infection bactérienne.

3. La culture

La culture se fait sur plusieurs milieux riches en nutriments, liquides et solides, plus ou moins sélectifs des agents pathogènes possibles. La pousse microbienne est obtenue en 24 à 72 heures, sauf si un traitement antibiotique était en cours au moment du prélèvement.

4. L'identification et l'antibiogramme

Les bactéries responsables d'infections cornéennes sont en général facilement identifiées par les techniques conventionnelles modernes (en spectrométrie de masse MALDI-TOF) ou, si nécessaire, par séquençage génétique.

L'antibiogramme est en règle générale disponible dans les 48 à 96 heures. Il fournit une évaluation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques utiles au traitement. Cependant, les critères d'interprétation de la sensibilité concernent les traitements par voie générale, alors que des concentrations bien plus élevées peuvent être obtenues localement par des formes galéniques topiques.

5. Résultats

Selon la littérature, le grattage cornéen au bistouri permet l'identification de la ou les micro-organismes en cause dans 56 à 86 % des cas (6–15). Ces résultats tombent autour de 41 à 58 % lorsqu'une antibiothérapie locale était déjà en cours (7,11) ou si l'anesthésique local a été insuffisamment rincé avant le grattage (16).

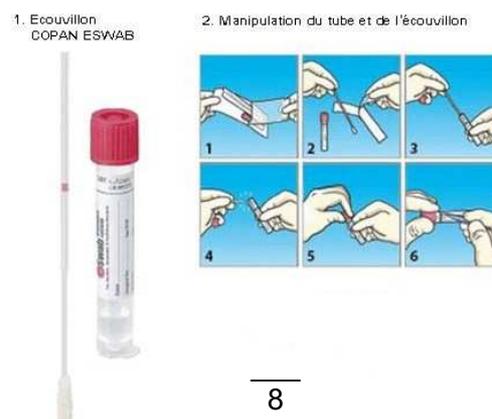
MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Prise en charge des abcès de cornée au CHRU de Lille

Au CHRU de Lille, les patients consultant aux urgences ophtalmologiques sont tout d'abord vus par des ophtalmologistes juniors. Ayant plus ou moins d'expérience, ils en réfèrent ensuite au médecin senior d'astreinte. Les consignes devant une lésion cornéenne ulcérée avec infiltrat en regard, rougeur, douleur et sécrétions, comprennent la réalisation de photographies couleurs et clichés en lumière bleue après l'instillation de fluorescéine, afin de documenter la lésion et d'avoir une image de référence pour la suite du suivi. Depuis mi-septembre 2009, les prélèvements à visée bactériologique sont faits en routine à l'aide d'écouvillons avec milieu de transport liquide. Ils étaient auparavant réalisés sur écouvillons secs. Les écouvillons utilisés du 17/09/2009 au 31/03/2015 étaient des écouvillons du laboratoire bioMérieux, appelés eSwab. Depuis le 1^{er}/04/2015, le laboratoire MWE fourni les écouvillons Sigma Transwab, aux caractéristiques très similaires.

Le milieu de transport présent avec ces écouvillons est un gel isotonique d'Amies permettant la stabilisation des germes pendant le transport. Il contient des parabens, inhibiteurs de la contamination microbienne exogène. Un acheminement rapide vers le service de bactériologie est indispensable (idéalement moins de 2 heures).

Figure 1 : écouvillon eSwab : principe d'utilisation



Les prélèvements sont réalisés sur l'ulcère cornéen après instillation d'un collyre anesthésiant topique (oxybuprocaine 4mg/mL) en unidose de 0,4mL sans conservateur. Un voire deux écouvillons sont envoyés au laboratoire de bactériologie.

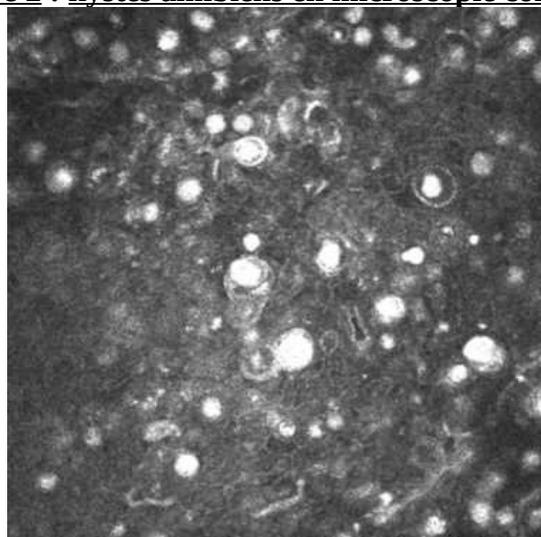
L'examen direct après coloration de Gram est systématiquement réalisé, ainsi que la mise en culture sur différents type de géloses : gélose Columbia au sang (en aérobiose et anaérobiose), gélose « chocolat » polvitaminée (en atmosphère carbonique), bouillon de Rosenow, voire milieu de Sabouraud (en cas de suspicion d'infection fongique). Après 24 à 72 heures d'incubation, les colonies éventuellement présentes sont identifiées par spectrométrie de masse MALDI-TOF, et un antibiogramme est réalisé.

Si des filaments mycéliens ou des éléments levuriformes visibles à l'examen direct sont retrouvés, l'échantillon est transmis au laboratoire de mycologie pour identification et antibiogramme.

À la différence de la méthode de référence, les prélèvements ne sont pas faits avec une lame de bistouri, mais par frottement direct de l'écouvillon contre l'ulcère cornéen. L'apposition sur lame pour l'examen direct n'est pas réalisée par l'ophtalmologue effectuant le prélèvement (les lames pour l'examen direct sont préparée par les techniciens du laboratoire de microbiologie à partir du dispositif eSwab).

Si l'aspect clinique est inhabituel ou évocateur d'infection amibienne, une microscopie confocale (*Figure 2*) est réalisée le jour-même (ou dans les 48 heures si le patient a été vu initialement un jour férié) par des opérateurs expérimentés.

Figure 2 : kystes amibiens en microscopie confocale



Échelle : |--| 20 micromètres
(CHRU de Lille)

Si l'aspect clinique évoque une infection virale, le grattage cornéen est alors réalisé avec une lame de bistouri puis apposé sur un écouvillon sec et adressé rapidement dans le service de virologie pour analyse PCR.

II. Objectif et caractéristiques de notre étude

L'objectif de notre étude était de déterminer le rendement diagnostique des prélèvements réalisés sur des abcès à micro-organismes pyogènes avec des écouvillons à milieu de transport liquide. Les abcès étaient définis comme des ulcérations cornéennes avec infiltrat en regard, évoquant une infection bactérienne ou fongique.

Cette étude rétrospective, monocentrique, descriptive, a concerné les résultats des prélèvements réalisés de septembre 2009 à avril 2015 au CHRU de Lille, acheminés au laboratoire de microbiologie sur des écouvillons eSwab et pour lesquels un cliché photographique de la lésion cornéenne avait été réalisé. Ces prélèvements avaient été faits chez des patients se présentant aux urgences ophtalmologiques pour œil rouge douloureux chez qui l'examen ophtalmologique retrouvait une lésion cornéenne compatible avec le diagnostic d'abcès de cornée à pyogènes.

III. Matériels et méthodes

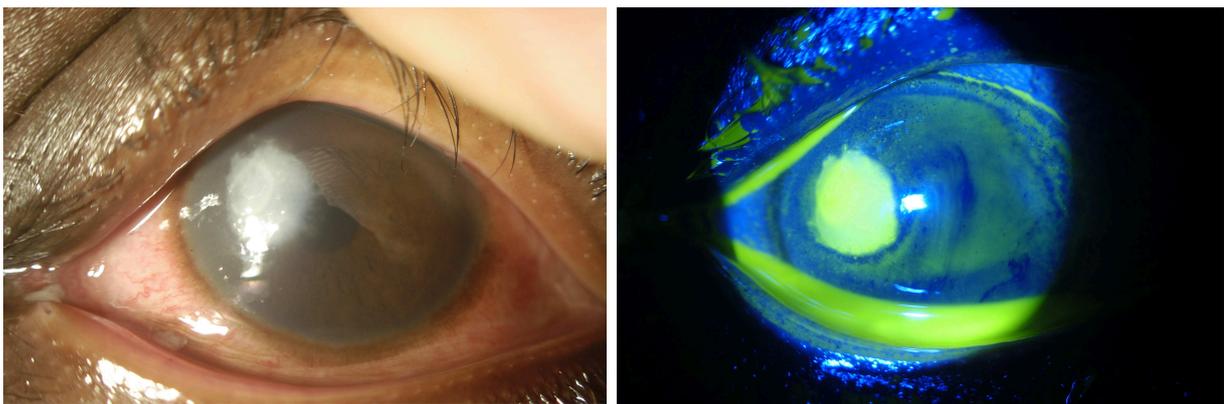
Pour récupérer les données, nous avons tout d'abord interrogé le service de facturation du CHRU afin d'obtenir la liste de tous les patients passés par le service entre le 17/09/2009 et le 31/03/2015, ayant bénéficié de prélèvements à visée microbiologique et pour qui le diagnostic d'abcès de cornée avait été porté et encodé selon les codes diagnostiques CIM-10 (*Annexe*). Sur les 1654 prélèvements identifiés, nous n'avons retenu que les 340 pour lesquels nous disposions des photographies associées.

1. Diagnostic

Le diagnostic initial et les prélèvements étant majoritairement réalisés aux urgences par des ophtalmologistes juniors, une relecture de toutes les photographies a été effectuée par un ophtalmologiste référent afin de confirmer ou d'infirmer le diagnostic d'abcès de cornée à pyogènes. Ont ainsi été écartés les prélèvements d'infiltrats inflammatoires stériles, de kératites virales ou d'allure amibienne, et des ulcères trophiques. Ont également éliminés les prélèvements per-opératoires lors de greffes de cornée.

Cette étape validée, il est resté 131 prélèvements, effectivement réalisés sur de véritables abcès de cornée d'allure bactérienne ou mycotiques.

Figure 3 : abcès cornéen à *Pseudomonas aeruginosa* : clichés en lumière naturelle (à gauche) et en lumière bleue après intillation de fluorescéine (à droite)



(CHRU de Lille)

2. Résultats des analyses microbiologiques

Nous avons ensuite récupéré les résultats microbiologiques de ces 131 échantillons dans la base de données du logiciel CirusNuit.

Nous avons considéré comme positif tout échantillon contenant au moins un micro-organisme, sans tenir compte de la quantité retrouvée en culture.

Certains échantillons contenaient plusieurs espèces microbiennes. Pour faciliter l'étude statistique, nous avons choisi d'analyser les résultats germe par

germe et non pas échantillon par échantillon. Sur les 131 échantillons retenus, nous avons donc analysé un total de 154 identifications microbiennes.

3. Autres données recueillies

Pour les 131 patients, nous avons recueilli différentes données concernant :

a) l'abcès :

- la taille de l'infiltration :
 - petite : grand axe étant inférieur à 20 % du diamètre cornéen
 - grande : moyenne entre grand et petit axe supérieure à 50 % du diamètre cornéen
 - moyenne : entre « petite » et « grande »
- la notion d'antibiothérapie locale préalable

b) les facteurs de risque présents dans l'histoire de la maladie :

- la présence ou non d'une pathologie de surface ou d'une pathologie cornéenne sous-jacente et leur classification par types :
 - blépharite
 - syndrome sec
 - dystrophie de cornée :
 - dystrophie de Cogan
 - kératalgie récidivante
 - kératite en bandelettes
 - anesthésie cornéenne (dont kératites neurotrophiques post-HSV/VZV)
 - insuffisance limbique
 - décompensation endothéliale
 - trouble de la statique palpébrale
- le port de lentilles de contact souples ou non
- la présence ou non d'un traumatisme local récent (moins d'un mois) :
 - corps étranger cornéen
 - frottement itératif (troubles psychiatriques, dystrichiasis, entropion)
 - chirurgie cornéenne récente (LASIK, chirurgie de la cataracte)
 - végétal
 - coup d'ongle

- mécanisme inconnu

- la présence d'une greffe de cornée
- la présence ou non d'une pathologie générale associée à un terrain immunodéprimé (diabète, cancer en cours de traitement, leucémie lymphoïde chronique, corticothérapie par voie générale au long cours) ou maladies pouvant être associées à une atteinte inflammatoire de la surface oculaire (maladie de Crohn, syndrome de Sjögren, polyarthrite rhumatoïde, rosacée)
- si aucun facteur de risque n'était retrouvé dans le dossier du patient, nous avons extrapolé que le patient n'en présentait pas.

c) le patient :

L'âge au moment du diagnostic et le sexe ont également été répertoriées.

4. Groupes microbiens et habitat naturel

Nous avons ensuite classé les résultats bactériologiques selon leur type microbien et leur habitat naturel (*Tableau 1*).

Tableau 1 : Types des micro-organismes retrouvés et leur habitat naturel

Habitat	Type de microbe	Micro-organismes
cutané	Cocci à Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>
		Autres staphylocoques à coagulase négative ^a
	Bacilles à Gram positif	<i>Propionibacterium acnes</i> Corynébactéries
muqueuse oropharyngée	Cocci à Gram positif	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
		Streptocoques pyogènes ^b
		Streptocoques oropharyngés banaux ^c
	Bacilles à Gram négatif	<i>Moraxella</i> spp. ^d <i>Haemophilus influenzae</i>
intestins	Cocci à Gram positif	Entérocoques
intestins ^e , cutané ^f	Fungi	levures
intestins ^g (et environnement) ^h	Bacilles à Gram négatif	Entérobactéries
environnement	Fungi	Champignons filamenteux ⁱ
environnement (eau)	Bacilles à Gram négatif	Bactéries aquacoles ^j

a) ex. *Staphylococcus hominis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. lungdunensis*

b) ex. *Streptococcus pyogenes*, *S. dysgalactiae*, *S. du groupe milleri*

- c) ex. *Streptococcus salivarius*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. mitis* et autres
- d) ex. *Moraxella lacunata*, *M. nonliquefaciens*, *M. catarrhalis*
- e) ex. *Fusarium* spp., *Aspergillus fumigatus*
- f) ex. *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Ochrobactrum anthropi*, *Achromobacter xylosoxidans*
- g) ex. *Candida albicans*
- h) ex. *Candida lipolytica*
- i) ex. *Serratia* spp.
ex. *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*

Pour préciser l'habitat des différents micro-organismes, nous nous sommes basés sur la composition des flores microbiennes naturelles (organismes commensaux et/ou saprophytes) du sujet sain et de données d'écologie environnementale.

a) La « flore » de la surface oculaire

La surface oculaire est une zone stérile, ne possédant pas de flore microbienne résidente. Cependant, étant en contact avec le milieu extérieur et la peau des annexes de l'œil, certains micro-organismes peuvent y être présents mais de façon transitoire et non pathogène. Ceci est confirmé par le fait que la majeure partie des échantillons cornéens analysés dans le cadre de pathologies autres que des abcès sont le plus souvent stériles, contrairement à des échantillons prélevés au niveau cutané, par exemple.

b) La flore bactérienne cutanée

Elle peut être de 3 types : flore résidente, flore transitoire, flore de proximité anatomique.

La flore cutanée résidente correspond à un ensemble stable d'espèces de micro-organismes (bactéries, levures, voire animaux) présents à la surface de la peau ou dans ses annexes, sans prédominance inhabituelle d'une de ces espèces. Elle est variable d'un individu à l'autre, et chez un même individu à différents moments de sa vie. Les principaux groupes bactériens de cette flore sont les staphylocoques, microcoques et apparentés, corynébactéries, *Actinomyces* et apparentés (par exemple, *Propionibacterium acnes*), ainsi qu'un certain nombre de bactéries anaérobies strictes (par exemple, les peptocoques et peptostreptocoques).

La flore cutanée transitoire correspond à un ensemble d'espèces microbiennes qui ne sont pas constamment présentes dans la flore cutanée

résidente, mais qui appartiennent le plus souvent aux mêmes groupes bactériens (staphylocoques, corynébactéries, *Actinomyces*). On peut également y trouver certaines levures (*Candida parapsilosis* ou *Candida lipolytica*, retrouvée une fois dans cette étude). Elles peuvent y persister pendant plusieurs jours ou semaines. Au sein de cette flore peuvent être présentes des bactéries produisant des facteurs de virulence. Leur caractère pathogène n'apparaît qu'en cas de prolifération inhabituellement importante. L'exemple le plus courant est *Staphylococcus aureus*, le staphylocoque doré. La présence transitoire de ces bactéries pathogènes impose une quantification de ces micro-organismes dans les échantillons d'intérêt diagnostique. (17–19)

La flore de proximité anatomique ou environnementale est également transitoire et composée d'espèces microbiennes qui s'ajoutent temporairement à la flore résidente en raison de leur proximité anatomique ou temporelle. Il s'agit par exemple de la flore oropharyngée (notamment salivaire), de la flore intestinale, de flores environnementales diverses, notamment aquacoles. (20)

Enfin, certaines espèces de micro-organismes ont un pouvoir pathogène suffisamment constant pour être classées dans une dernière catégorie que nous appellerons « **flore probablement pathogène** ». Elle correspond à des espèces microbiennes précédemment décrites dont la présence est quasi constamment associée à une infection clinique. Parmi ces espèces, citons *Streptococcus pyogenes* (le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A) et *Streptococcus dysgalactiae*.

c) La flore nasale et oropharyngée

La flore nasale est similaire à la flore cutanée car elle est en contact permanent avec l'air et à une température proche inférieure à 37°C.

La flore oropharyngée est divisée en deux catégories : flore salivaire et flore du sillon gingivo-dentaire. Toutes deux ont une grande importance pour la microbiologie cornéenne en raison de leur proximité anatomique avec l'œil.

La flore salivaire comprend, parmi les bactéries à Gram positif, de très nombreux streptocoques alpha-hémolytiques non groupables, des corynebactéries et *Streptococcus pneumoniae*. Les streptocoques alpha-hémolytiques non groupables ne sont éventuellement pathogènes que s'ils passent dans la circulation

sanguine (endocardite d'Osler, par exemple). *Streptococcus pneumoniae* est un germe encapsulé, possédant une hémolysine : il est potentiellement pathogène, mais retrouvé chez 30 % de sujets sains au niveau ORL.

Parmi les bactéries à Gram négatif, on retrouve de nombreuses espèces de *Neisseria* et de *Moraxella* dénuées localement de pouvoir pathogène, à l'exception du méningocoque au potentiel invasif redoutable. *Haemophilus influenzae* est présent chez 80 % des sujets sains mais est aussi fréquemment responsable de conjonctivites. De même *Moraxella lacunata*, commensal de l'oropharynx, peut être pathogène au niveau oculaire.

Dans le sillon gingivo-dentaire, se trouvent des bactéries potentiellement pathogènes lorsqu'elles sont inoculées dans d'autres sites anatomiques. Il s'agit principalement de streptocoques du groupe *milleri* (*anginosus*, *constellatus* et *intermedius*), de bacilles à Gram négatif (BGN) aérobies comme *Eikenella corrodens* et de nombreuses espèces anaérobies (*Prevotella*, *Porphyromonas*).

d) Les micro-organismes environnementaux occasionnellement présents sur les muqueuses et la peau

Ce sont principalement des bactéries aquacoles, c'est-à-dire qui vivent dans l'eau. Ces bactéries sont globalement peu pathogènes localement mais parfois très résistantes aux antibiotiques (20). Elles peuvent donc s'implanter plus durablement en cas de sélection par une antibiothérapie. Citons par exemple : *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Ochrobactrum anthropi* et *Achromobacter xyloxidans*. La première (*P. aeruginosa*) possède de nombreux facteurs de virulence à la différence des 3 autres. Elle est de ce fait la plus pathogène dans les abcès de cornée.

À côté de ces bactéries environnementales aquacoles, il existe une contamination possible par des micro-organismes aériens (en général portés par les micro-poussières de l'air), tels que les champignons filamenteux (exemple, *Fusarium* sp., *Aspergillus fumigatus*, *Paecilomyces lilacinus*).

e) Les bactéries de la flore intestinale

Elles sont une source possible de contamination de la surface oculaire, par contact direct le plus souvent (frottement, mains non lavées). Il s'agit par exemple

de *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*.

À noter également que des levures de type *Candida albicans* sont présentes dans la flore intestinale humaine chez 50 % de la population.

IV. Statistiques

Les paramètres qualitatifs ont été décrits en termes de fréquence et de pourcentage. Les paramètres numériques gaussiens ont été décrits en termes de moyenne et de déviation standard et les paramètres numériques non gaussiens en termes de médiane et d'intervalle interquartiles. La normalité des paramètres numériques a été vérifiée graphiquement et testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Le taux de échantillons positifs était estimé avec son intervalle de confiance à 95%.

L'association entre la positivité de l'échantillon et la taille de l'abcès était estimée grâce au test de tendance de Cochran-Armitage. Ce test a également été utilisé (lorsque l'effectif le permettait) pour tester l'association entre le type de germe et la taille de l'abcès.

Des tests du Chi-deux ou de Fisher exact ont été réalisés (lorsque l'effectif le permettait) pour tester l'association entre chaque germe, chaque famille de germe ou chaque habitat avec les variables suivantes : « abcès sur greffe de cornée ou non », « abcès sur pathologie de surface ou non », « lentilles souples ou non », « traumatisme récent ou non », « pathologies générales » et « facteurs de risque ou non ».

Les statistiques ont été réalisées par l'unité de méthodologie biostatistique du CHRU de Lille. Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

RÉSULTATS

I. Taux d'échantillons positifs

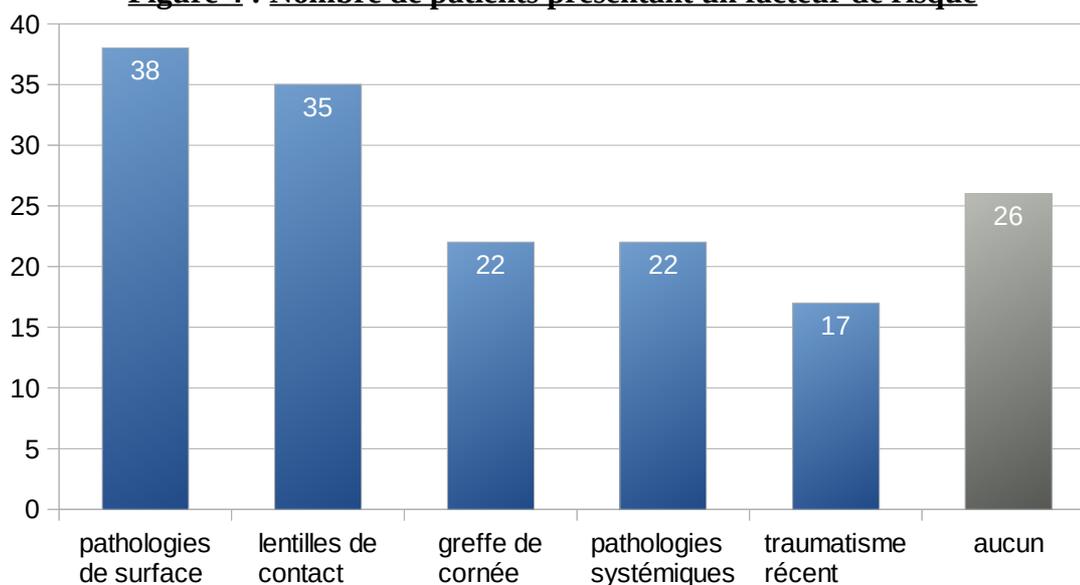
Le pourcentage d'échantillons positifs dans notre étude était de 82,4 % avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 74,8 % et 88,5 %.

II. Population de l'étude

La population étudiée comprenait 46,6 % d'hommes pour 53,4 % de femmes avec une moyenne d'âge au moment du diagnostic calculée à 51,9 ans (allant de 7 à 97 ans).

III. Facteurs de risque

Figure 4 : Nombre de patients présentant un facteur de risque



Des facteurs de risques ont le plus souvent pu être retrouvés chez nos patients avec abcès de cornée à pyogènes (80,1 %). Comme illustré dans la *figure 4*, les facteurs les plus fréquemment retrouvés étaient :

1 – les pathologies de surface (29,0%) dont :

- 13 sur blépharites (34,2 %)
- 8 sur dystrophies de cornée (21,1 %)
- 7 sur troubles de la statique palpébrale (15,8 %)
- 3 sur insuffisance limbique (7,9 %)
- 5 sur anesthésie cornéennes (13,2 %)
- 2 sur décompensation endothéliale (5,3 %)
- 1 sur syndrome sec (2,6 %)

2 – le port de lentilles de contact (26,7%)

3 – la greffe de cornée (16,8%)

4 – certaines pathologies systémiques étaient retrouvées chez 16,8 % des patients :

9 patients avaient un terrain immunodéprimé (diabète, cancer en cours de traitement, leucémie lymphoïde chronique, corticothérapie par voie générale au long cours),

13 patients avaient une pathologie pouvant être associées à une atteinte inflammatoire de la surface oculaire (maladie de Crohn, syndrome de Sjögren, polyarthrite rhumatoïde, rosacée).

5 – les traumatismes récents (13,0%) dont :

- 6 sur corps étrangers cornéens (35,3 %)
- 3 sur irritation mécanique chronique des yeux (17,7 %)
- 2 sur chirurgie cornéenne récente (un cas post-chirurgie réfractive par Lasik et un autre sur incision de phaco-émulsification) (11,8 %)
- 2 sur traumatisme par un végétal (11,8 %)
- 2 suite à un coup d'ongle (11,8 %)

2 de mécanisme inconnu (11,8 %)

Certains patients présentaient plusieurs facteurs de risque concomitants.

IV. Micro-organismes

Parmi les 108 prélèvements positifs nous avons retrouvé 131 micro-organismes. Le détail des identifications microbiennes figure dans le *Tableau 4*. Les plus fréquents étaient :

- 1 – *Pseudomonas aeruginosa* (19,1%)
- 2 – *Staphylococcus epidermidis* (15,3%)
- 3 – *Moraxella spp.* (13,7%)
- 4 – *Staphylococcus aureus* (13,0%)
- 5 – champignons (6,1%)

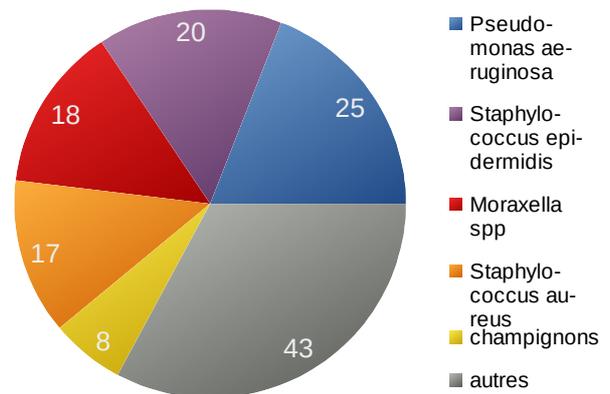


Figure 5 : Micro-organismes les plus fréquemment retrouvés

De manière plus générale, les familles de micro-organismes les plus fréquemment retrouvées parmi les prélèvements positifs étaient :

- 1 – Bacilles à Gram négatif (48,1%)
- 2 – Cocci à Gram positif (42,7%)
- 3 – Champignons (6,9%)
- 4 – Bacilles à Gram positif (2,3%)

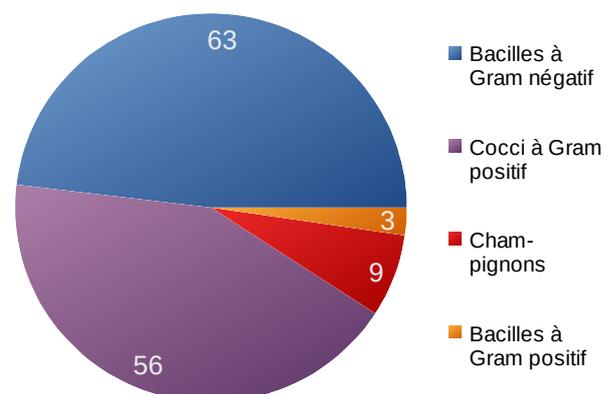


Figure 6 : Familles de micro-organismes les plus fréquemment retrouvées

Les micro-organismes peuvent être classés selon leur habitat naturel et mènent à la répartition suivante :

- 1 – micro-organismes de la flore cutanée (36,6 %)
- 2 – micro-organismes environnementaux (27,5 %)
- 3 – micro-organismes oropharyngés (27,5 %)
- 4 – micro-organismes de la flore intestinale (8,4 %)

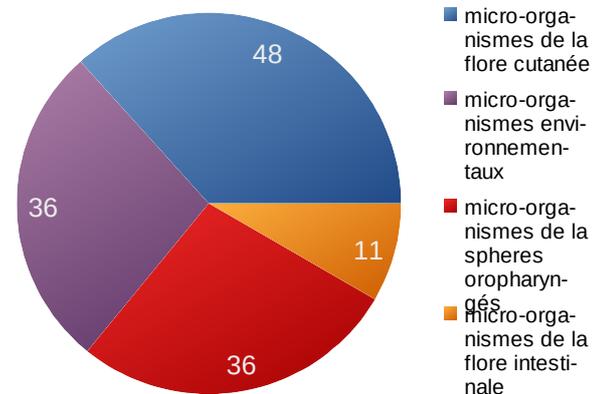


Figure 7 : Micro-organismes retrouvés selon leurs habitat naturel

V. Associations micro-organismes et facteurs de risque

Nous avons cherché à étudier l'association entre les germes retrouvés et les facteurs de risque présentés par les patients. Les résultats statistiquement significatifs sont les suivants :

1. Selon le micro-organisme retrouvé :

- Les infections à *P. aeruginosa* étaient plus importantes chez les porteurs de lentilles de contact : 42,9 % *versus* 6,2 % pour les non porteurs ($p < 0,0001$).
- Les infections à *Staphylococcus aureus* étaient plus fréquentes suite à un traumatisme récent : 26,3 % *versus* 8,9 % ($p = 0,04$).
- Les infections à *Moraxella* spp. étaient plus fréquentes chez les patients présentant une pathologie de surface : 20,9 % *versus* 8,1 % pour ceux ne présentant pas de pathologie de surface ($p = 0,026$).

2. Selon le type microbien :

- Les infections à bacilles Gram négatifs (BGN) sont très fréquentes chez les porteurs de lentilles de contact : 61,9 % de BGN retrouvés chez les porteurs *versus* 33 % de BGN retrouvés chez les non porteurs ($p = 0,0012$).

3. Selon l'habitat naturel des micro-organismes :

- Les microbes d'origine oropharyngée sont plus fréquemment retrouvés chez les patients présentant une pathologie de surface : 40,5 % *versus* 22,8 % ($p = 0,04$).
- Les germes environnementaux présents dans l'eau et les sols sont plus fréquemment retrouvés chez les porteurs de lentilles de contact : 63,9 % *versus* 15 % ($p < 0,0001$).

VI. Échantillons poly-microbiens

Parmi les 131 échantillons retenus, 16 contenaient plusieurs micro-organismes différents (12,2 %) (Tableau 3).

Quatorze sur 16 contenaient un staphylocoque [*S. aureus*, $n = 4$, staphylocoques à coagulase négative, $n = 11$ (dont 9 *S. epidermidis*)]. L'association la plus fréquemment retrouvée (50 % des échantillons, $n = 8$) était celle d'un coque à Gram positif : staphylocoque ($n = 7$) (*S. aureus* ou à coagulase négative) ou streptocoque pyogène ($n = 1$) et une moraxelle.

Tableau 3 : échantillons poly-microbiens et facteurs de risque retrouvés

Micro-organismes		Facteur de risque présent					
		Pathologie de surface	Lentilles	Grefe	Pathologie systémique	Traumatisme récent	Pas de facteur de risque
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	0	0	0	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	0	0	0	1	1	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	0	1	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	1	0	0	1	0	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	0	0	0	0	0	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>		1	0	0	1	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Moraxella nonliquefaciens</i>		0	0	1	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>		0	1	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	1	0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Moraxella lacunata</i>		1	0	0	1	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Corynebacterium macginleyi</i>	0	0	0	0	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	0	1	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0	1	0	0	0
Total :		4	3	1	7	2	3

Légende : flore cutanée flore intestinale flore environnementale flore oropharyngée

VII. Taille de l'abcès

Les analyses statistiques n'ont pas permis de mettre en évidence d'association significative entre la taille de l'abcès et la positivité d'un échantillon.

Tableau 4 : Micro-organismes isolés, classés par type et selon les facteurs de risque retrouvés

Germe	Habitat	Nombre de prélèvements positifs	Facteur de risque présent					
			Pathologie de surface	Lentilles	Grefe	Pathologie systémique	Traumatisme récent	Pas de facteur de risque
Cocci Gram Positifs								
<i>Staphylococcus aureus</i>	cutané	17	6	0	3	3	5	4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		20	7	4	2	4	2	6
Staphylocoques à coagulase négative autres (<i>hominis</i> , <i>warneri</i> , <i>capitis</i> , <i>haemolyticus</i> , <i>lugdunensis</i>)		7	1	2	2	1	0	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	muqueuse oropharyngée	7	2	0	3	1	1	2
Streptocoques pyogènes (<i>Streptococcus dysgalactiae</i>)		2	1	0	0	1	0	0
Streptocoques alpha-hémolytiques		2	1	0	0	1	1	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	intestins	2	2	0	1	0	0	0
Sous-total		57	20	6	11	11	9	14
Bacilles Gram Positifs								
<i>Corynebacterium macginleyi</i>	cutané	2	1	0	0	0	0	1
<i>Propionibacterium acnes</i>		1	0	1	0	0	0	0
Sous-total		3	1	1	0	0	0	1
Bacilles Gram Négatifs								
<i>Moraxella</i> [<i>lacunata</i> (n=9), <i>nonliquefaciens</i> (n=5), <i>catarrhalis</i> (n=2)]	muqueuse oropharyngée	18	9	1	0	3	2	5
<i>Haemophilus influenzae</i>		2	2	0	1	0	1	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	environnement	25	2	18	1	0	3	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		3	1	1	2	0	0	0
<i>Ochrobactrum anthropi</i>		1	0	1	0	0	0	0
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>		1	0	0	1	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	intestins	5	0	1	2	0	0	2
<i>Morganella morganii</i>		3	1	2	0	0	0	1
<i>Proteus mirabilis</i>		1	0	0	1	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>		2	1	2	0	0	0	0
<i>Citrobacter koseri</i>		1	0	0	0	0	0	1
<i>Escherichia coli</i>		1	0	0	1	0	0	0
Sous-total			45	18	28	9	3	6
Fungi								
Champignons filamenteux (<i>Fusarium</i> spp., <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i>)	environnement	5	1	2	0	1	0	1
Levures : <i>Candida albicans</i>	intestins	2	1	0	0	1	0	0
Levures : <i>Candida lipolytica</i>	cutané	1	0	1	0	0	0	0
Sous-total		8	2	3	0	2	0	3
Total		131						

DISCUSSION

I. Rendement diagnostique de la méthode

Sur les 131 échantillons retenus, 82,4 % étaient positifs en utilisant un recueil par écouvillon eSwab. Ce résultat est comparable aux valeurs les plus hautes de la littérature [56 à 86 % (5–14)]. Il faut toutefois noter que nous avons considéré positifs tous les échantillons contenant au moins un micro-organisme cultivable sans distinction de la quantité retrouvée en culture ou de la virulence potentielle de l'espèce. En effet, la présence d'un abcès cornéen clairement documenté dans chaque cas ne permettait d'exclure aucune espèce présente, même si son pouvoir pathogène était réputé faible. C'est le cas par exemple de *S. epidermidis* (retrouvé en culture pure dans 11 échantillons), qui s'il est un commensal cutané banal n'en est pas moins capable de former des biofilms persistants sur des membranes biologiques (21).

II. Population étudiée

La population étudiée est située dans une fourchette d'âges très large allant de 7 à 97 ans. Nous pourrions donc penser qu'elle est représentative de la population générale.

Or, nous avons un sexe-ratio de 0,87 et une moyenne d'âge à 51 an. Ce sexe-ratio correspond à celui de la population française de plus de 64 ans et la moyenne d'âge de la population française est de 41 ans (22).

La population à risque de développer des abcès de cornée est composée principalement de porteurs de lentilles de contact (moyenne d'âge : 33 ans), de patients greffés (souvent plus âgés, autour de 50 ans) ou présentant des pathologies de surface (moyenne d'âge : 56 ans) (7). La population de notre étude n'est donc pas représentative de la population générale mais de la population à risque d'abcès de cornée.

III. Facteurs de risque retrouvés

Les facteurs de risque que nous avons retrouvés chez les patients présentant des abcès de cornée que nous avons prélevés à visée microbiologique sont globalement concordants avec la littérature malgré quelques différences.

1. Les lentilles de contact

Dans notre étude, les lentilles de contact sont le 2^e facteur de risque le plus fréquemment retrouvé (26,7%). Dans la littérature, il s'agit souvent du 1^{er} facteur de risque d'abcès de cornée retrouvé avec une fréquence allant de 36,5 % à 50,3 % (7,15).

La moindre fréquence des abcès sous lentilles s'explique par le fait que les petits abcès, sans critère de gravité ne justifient pas systématiquement un prélèvement à visée microbiologique.

De plus, il y a un biais de recrutement hospitalier : les porteurs de lentilles sont en général suivis en ville par la personne qui leur a prescrit leurs lentilles et on peut donc imaginer qu'ils vont d'abord se tourner vers leur ophtalmologiste traitant en cas de problème.

2. Les pathologies de surface

Les pathologies de surface sont le 1^{er} facteur de risque retrouvé dans notre étude avec une fréquence de 28,2 %.

Ce facteur de risque arrive en général en 2^e position dans les autres études. Dans la littérature, les fréquences varient de 21,3 % (7), à 50 % (15), en passant par d'autres études avec 36,9 % de kératites bactériennes sur pathologies de surface (21).

Ceci peut s'expliquer par la démographie médicale de la région des Hauts-de-France, pauvre en ophtalmologistes : les patients présentant des pathologies de surface sont souvent suivis en milieu hospitalier. Ce résultat est également concordant avec la population de notre étude qui est globalement plus âgée que la population générale, les pathologies de surface étant plus fréquentes dans cette tranche d'âge.

3. Les greffes de cornée

La greffe de cornée est un facteur de risque important d'abcès pour plusieurs raisons : les irrégularités de surface, au niveau de la jonction entre la cornée du porteur et le greffon ou au niveau des fils, rendent le film lacrymal plus instable. Il en résulte une moins bonne protection de la cornée. À ces facteurs directement liés à la greffe s'ajoutent souvent des problèmes de surface oculaire (blépharite sur rosacée, anomalies de la sensibilité cornéenne, troubles trophiques).

De plus, les patients sont souvent sous antibio-corticoïdes locaux ou corticoïdes locaux seuls au long cours en prévention du rejet de greffe. Cela déstabilise la flore lacrymale et conjonctivale locale. L'effet immunosuppresseur des corticoïdes affaiblit également les défenses locales.

Dans notre étude, le taux d'abcès sur greffe de cornée est de 16,8 %. Les chiffres retrouvés dans la littérature sont beaucoup plus bas (3,5 % (15) à 4 % (7)). Ceci s'explique probablement par un biais de recrutement dans le service d'ophtalmologie de Lille où la proportion régionale de kératoplasties est importante du fait du nombre d'ophtalmologues limité dans la région des Hauts-de-France.

4. Les pathologies systémiques

Le taux de patients présentant un abcès de cornée à pyogène et une pathologie systémique était de 16,8 % dans notre série. Nous n'avons cependant pas pu mettre en évidence d'association statistiquement significative entre la présence d'une pathologie systémique et un type de germe, ou avec la taille de l'abcès.

5. Les traumatismes récents

Les abcès sur traumatisme récent (moins d'un mois) arrivent en 5^e position avec une fréquence à 13 %. Cela correspond globalement aux données retrouvées dans la littérature qui varient entre 11 et 20 % (7,15,23).

IV. Diversité des micro-organismes retrouvés

Nous avons retrouvé la plupart des micro-organismes pathogènes « classiques » des abcès cornéens, comme *P. aeruginosa* (n = 25), *S. aureus*

(n = 17), *Moraxella lacunata* (n = 9) ou *S. pneumoniae* (n = 7). Une grande variété d'autres espèces a également été détectée, certaines étant des pathogènes émergents connus (*C. macginleyi*), d'autres moins fréquemment décrites dans les travaux plus anciens (*M. nonliquefaciens*, *S. maltophilia*). La qualité de cette documentation est probablement due à l'implémentation dès 2009 de la spectrométrie de masse pour l'identification des micro-organismes. Cette technique permet en effet la caractérisation fiable de chaque colonie microbienne présente, y compris les plus petites ou celles dont la pousse est la plus lente.

V. Facteurs de risque associés aux différents micro-organismes identifiés

De façon très grossière, les infections à micro-organismes de la flore oropharyngée étaient plus fréquemment retrouvées chez les patients présentant une pathologie de surface alors que les infections à micro-organismes environnementaux (principalement des BGN) concernaient plutôt les porteurs de lentilles de contact. Ainsi, l'unique facteur de risque significativement associé aux abcès à *P. aeruginosa* était le port de lentilles de contact, comme précédemment décrit dans la littérature (4,7,15). Alors que plusieurs espèces environnementales et/ou de la flore intestinale sont en général présentes dans le liquide de conservation des lentilles chez ce type de patients, il s'agissait ici d'infections monomicrobiennes, confirmant le pouvoir pathogène bien supérieur de *P. aeruginosa* dans ce contexte.

La présence de *Moraxella* spp. était statistiquement plus souvent associée à la présence d'une pathologie de surface, comme retrouvé dans la littérature (12, 25, 26). Il est intéressant de noter que si *M. lacunata*, pathogène cornéen reconnu, était l'espèce la plus fréquemment retrouvée (n = 9), l'espèce commensale de l'oropharynx *M. nonliquefaciens* était présente chez 5 autres patients. Cette bactérie pourrait être un pathogène méconnu ou émergent dans ce contexte, peut-être en raison de son identification délicate avant l'introduction de la spectrométrie de masse en microbiologie.

Une association significative a été identifiée entre la présence de *S. aureus* et un traumatisme cornéen récents, confirmant la virulence de cette bactérie dans des lésions tissulaires préexistantes.

Les staphylocoques à coagulase négative constituaient le 2^e groupe bactérien le plus fréquemment retrouvé, mais aucune association significative avec un facteur de risque n'a pu être mise en évidence. Il est probable que dans un certain nombre de cas, ces bactéries n'aient été que des contaminants transitoires de la surface de l'œil, en particulier quand une autre espèce plus virulente était concomitamment présente. Cependant, la présence d'une culture pure de *S. epidermidis* dans sept échantillons d'abcès de cornée typiques suggéraient fortement une implication directe de la bactérie dans le pouvoir pathogène.

Enfin, la présence de streptocoques alpha-hémolytiques de la flore nasopharyngée, *a priori* dépourvus de pouvoir pathogène chez des patients présentant une pathologie de surface indiquait le risque important de contamination par contiguïté qui existe chez le sujet âgé en particulier.

VI. Échantillons poly-microbiens

Parmi les échantillons analysés, 12,2 % (n = 16) contenaient plusieurs micro-organismes. Dans un cas, l'association de deux pathogènes cornéens authentiques était présente (*Corynebacterium macginleyi* et *Moraxella lacunata*). Dans 12 de ces échantillons cependant, une espèce réputée peu virulente (staphylocoque à coagulase négative, streptocoque alpha-hémolytique) était associée un pathogène authentique pour la cornée (*Moraxella lacunata*, streptocoque bêta-hémolytique) ou encore une levure. Il nous semble raisonnable dans ces cas de ne pas ignorer le « contaminant » au seul profit du pathogène établi, ce dernier pouvant avoir favorisé l'implantation durable du premier.

VII. Échantillons stériles en culture

Au total, 17,6 % des prélèvements n'ont pas produit de culture en dépit d'un aspect clinique évocateur d'abcès à pyogène. Trois facteurs au moins peuvent être à l'origine de ce problème :

1. un effet bactériostatique de l'excipient de l'anesthésique local,
2. l'administration préalable d'une antibiothérapie topique [certaines études montrent une baisse du taux de positivité de 41 à 58 % dans ce cas (6,10)],
3. le développement d'une réponse immunitaire préjudiciable aux micro-organismes chez des patients pris en charge tardivement.

VIII. Taille de l'abcès

Il est intéressant de noter qu'aucune association n'a été retrouvée entre la taille de l'abcès et la positivité de l'échantillon. Ceci peut s'expliquer de deux façons : soit, la technique de prélèvement avec le dispositif eSwab est très sensible, soit, les microbes présents au centre d'un volumineux abcès de cornée ont été lysés au sein de la zone nécrotique.

IX. Analyse

Les résultats des prélèvements réalisés sur 5 ans au CHRU de Lille avec uniquement des écouvillons eSwab contenant un milieu de transport liquide, sur des abcès d'aspect clinique compatible avec une infection par des micro-organismes pyogènes, sont comparables avec les données retrouvées dans la littérature.

Cette méthode de prélèvement microbiologique semble donc au moins aussi efficace que la méthode de référence avec ensemencement direct sur milieu de culture par l'ophtalmologiste. Elle nous donne cependant moins d'informations sur l'examen direct car elle ne comprend pas d'apposition directe sur lame au moment du prélèvement.

Le côté très pratique du dispositif eSwab (peu de logistique associée) et l'évolution progressive des techniques dans les autres écoles, nous amène à penser

qu'une généralisation de l'utilisation de cette méthode de prélèvement va se développer.

Afin de confirmer son efficacité, il faudrait mettre en place une étude prospective, randomisée comparant les deux méthodes de prélèvement. Les principales raisons pour lesquelles cela n'a pas été fait pour cette étude sont le nombre élevé de passages aux urgences et d'intervenants différents.

CONCLUSION

Les résultats microbiologiques obtenus avec les écouvillons comprenant un milieu de transport liquide (eSwab, dans notre étude), sur des abcès de cornée à micro-organismes pyogènes sont globalement concordants avec la littérature. Cette méthode de prélèvement possède une bonne sensibilité.

Ils ne peuvent évidemment pas être utilisés seuls dans la prise en charge des abcès de cornée, car tous ne sont pas d'étiologie bactérienne. D'autres méthodes diagnostiques, telles que la microscopie confocale ou des prélèvements à visée biomoléculaire (PCR virale, par exemple), doivent être utilisées au moindre doute devant une lésion d'aspect atypique.

Notre étude montre que les écouvillons à milieu de transport liquide ont toute leur place dans la prise en charge en urgence des abcès de cornée à pyogènes.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. McLeod SD, LaBree LD, Tayyanipour R, Flowers CW, Lee PP, McDonnell PJ. The Importance of Initial Management in the Treatment of Severe Infectious Corneal Ulcers. *Ophthalmology*. 1995 Dec;102(12):1943–8.
2. Musch DC, Sugar A, Meyer RF. Demographic and Predisposing Factors in Corneal Ulceration. *Arch Ophthalmol*. 1983 Oct 1;101(10):1545–8.
3. Shah A, Sachdev A, Coggon D, Hossain P. Geographic variations in microbial keratitis: an analysis of the peer-reviewed literature. *Br J Ophthalmol*. 2011 Jun;95(6):762–7.
4. T Bourcier, M. Labetoulle. Infections de la surface oculaire. In: *Surface Oculaire - Rapport SFO 2015*. Elsevier Masson; 2015.
5. T Bourcier, A. Sauer, M. Saleh, A. Dory, G. Prevost, M. Labetoulle. *Surface oculaire - Rapport SFO 2015* [Internet]. Elsevier Masson. Elsevier Masson; 2015 [cited 2016 Oct 24]. Available from: http://www.em-consulte.com/em/SFO/2015/html/file_100018.html
6. Afshari NA, Ma JJK, Duncan SM, Pineda R, Starr CE, Decroos FC, et al. Trends in resistance to ciprofloxacin, ceftazidime, and gentamicin in the treatment of bacterial keratitis. *J Ocul Pharmacol Ther Off J Assoc Ocul Pharmacol Ther*. 2008 Apr;24(2):217–23.
7. Bourcier T, Thomas F, Borderie V, Chaumeil C, Laroche L. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br J Ophthalmol*. 2003 Jul;87(7):834–8.
8. Yeh DL, Stinnett SS, Afshari NA. Analysis of bacterial cultures in infectious keratitis, 1997 to 2004. *Am J Ophthalmol*. 2006 Dec;142(6):1066–8.
9. Ancele E, Lequeux L, Fournié P, Chapotot E, Douat J, Arné J-L. Kératites bactériennes sévères. Étude épidémiologique, clinique et microbiologique. *J Fr Ophtalmol*. 2009 Oct;32(8):558–65.
10. Green M, Apel A, Stapleton F. Risk factors and causative organisms in microbial keratitis. *Cornea*. 2008 Jan;27(1):22–7.
11. Van der Meulen IJ, van Rooij J, Nieuwendaal CP, Van Cleijnenbreugel H, Geerards AJ, Remeijer L. Age-related risk factors, culture outcomes, and prognosis in patients admitted with infectious keratitis to two Dutch tertiary referral centers. *Cornea*. 2008 Jun;27(5):539–44.
12. Ibrahim YW, Boase DL, Cree IA. Epidemiological characteristics, predisposing factors

- and microbiological profiles of infectious corneal ulcers: the Portsmouth corneal ulcer study. *Br J Ophthalmol*. 2009 Oct;93(10):1319–24.
13. Pachigolla G, Blomquist P, Cavanagh HD. Microbial keratitis pathogens and antibiotic susceptibilities: a 5-year review of cases at an urban county hospital in north Texas. *Eye Contact Lens*. 2007 Jan;33(1):45–9.
 14. Constantinou M, Daniell M, Snibson GR, Vu HT, Taylor HR. Clinical efficacy of moxifloxacin in the treatment of bacterial keratitis: a randomized clinical trial. *Ophthalmology*. 2007 Sep;114(9):1622–9.
 15. Schaefer F, Bruttin O, Zografos L, Guex-Crosier Y. Bacterial keratitis: a prospective clinical and microbiological study. *Br J Ophthalmol*. 2001 Jul 1;85(7):842–7.
 16. Labetoulle M, Frau E, Offret H, Nordmann P, Naas T. Non-preserved 1% lidocaine solution has less antibacterial properties than currently available anaesthetic eye-drops. *Curr Eye Res*. 2002 Aug;25(2):91–7.
 17. Das S, Rao AS, Sahu SK, Sharma S. *Corynebacterium* spp as causative agents of microbial keratitis. *Br J Ophthalmol*. 2016 Jul 1;100(7):939–43.
 18. Funke G, Pagano-Niederer M, Bernauer W. *Corynebacterium macginleyi* Has to Date Been Isolated Exclusively from Conjunctival Swabs. *J Clin Microbiol*. 36(12): 3670–3673rd ed. 1998 Dec;
 19. Jousseaume A, Funke G, Jousseaume F, Herberich G. *Corynebacterium macginleyi*: a conjunctiva specific pathogen. *Br J Ophthalmol*. 2000 Dec;84(12):1420–2.
 20. Brooke J. *Stenotrophomonas maltophilia*: an Emerging Global Opportunistic Pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 25(1): 2–41st ed. 2012 Jan;
 21. Edmiston CE, McBain AJ, Kiernan M, Leaper DJ. A narrative review of microbial biofilm in postoperative surgical site infections: clinical presentation and treatment. *J Wound Care*. 2016 Dec 2;25(12):693–702.
 22. The World Factbook — Central Intelligence Agency [Internet]. [cited 2016 Nov 20]. Available from: <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/fr.html>
 23. Darugar A, Gaujoux T, Goldschmidt P, Chaumeil C, Laroche L, Borderie V. Caractéristiques cliniques, microbiologiques et thérapeutiques d’une série de 111 kératites bactériennes sévères. *J Fr Ophtalmol*. 2011 Jun;34(6):362–8.

ANNEXE

Récupération des données *via* la facturation de l'hôpital

Requête abcès cornéen et prélèvement microbiologique (Guillaume CLÉMENT)

Objectif : Identifier les séjours en ophtalmologie pour abcès de cornée et ayant eu un prélèvement microbiologique entre 2010 et 2015

Méthodologie :

Période : date de fin de séjour comprise entre le 01/01/2010 et le 31/12/2015

Structure : UF 1771, 1777, 1780

Diagnostics CIM-10 :

- H160 Ulcère de la cornée
- H160 01 Ulcère cornéen perforé
- H160 03 Ulcère de cornée par lagophtalmie
- H160 04 Ulcère de Mooren
- H161 Autres kératites superficielles sans conjonctivite
- H162 Kératoconjonctivite
- H162 01 Kératite neurotrophique
- H163 Kératite interstitielle et profonde
- H163 01 Abcès de cornée
- H163 02 Autres kératites interstitielles diffuses
- H164 Néovascularisation cornéenne
- H168 Autres kératites
- H169 Kératite, sans précision

La liste des séjours répondant à ces conditions a été fournie au laboratoire de bactériologie pour extraction des informations relatives à toute éventuelle demande concernant ces séjours.

Résultats :

L'onglet "Données" présente, dans les colonnes oranges les données PMSI du patient (IPP et données nominatives, n°IEP de séjour, dates ...) et dans les colonnes bleues les données issues du labo de bactériologie.

Seuls ont été conservés, des séjours sortant initialement pour l'un des codes diagnostics ci-dessus, les séjours présentant au moins un examen dans la base de bactériologie.

Il n'y a pas eu de filtre concernant le type d'examen bactériologique (colonne Q "Libellé de la tarification") car plusieurs types peuvent correspondre à un écouvillonnage de lésion cornéenne.

La base regroupe en fait également les demandes de virologie et de parasitologie, vous pouvez isoler les demandes de bactériologie en filtrant sur la colonne "EXEC - Libellé service".

Si le volume de patients est trop conséquent, vous pouvez réduire le nombre d'années considérées en filtrant sur la colonne "DATE SORTIE SEJOUR".

Vous pouvez également vous restreindre aux codes CIM-10 spécifiques de l'abcès de cornée, mais ce n'est pas conseillé car il est quasi -certain qu'un nombre non négligeable d'abcès cornéens sont codés en ulcère de cornée.

AUTEUR : MORELLO Caroline

Date de Soutenance : 20 janvier 2017

Titre de la Thèse : Kératites bactériennes et fongiques : résultats microbiologiques de 2009 à 2015 avec le dispositif eSwab au CHRU de Lille. Une étude épidémiologique.

Thèse - Médecine - Lille 2017

Cadre de classement : DES Ophtalmologie

Mots-clés : abcès de cornée, kératite bactérienne, kératite fongique, eSwab, écouvillon avec milieu de transport liquide

Résumé :

Introduction : les kératites à micro-organismes pyogènes sont des infections potentiellement cécitantes. Leur prise en charge comprend un prélèvement microbiologique pour adapter le traitement administré. Les modalités de réalisation de ce prélèvement diffèrent selon les centres. Nous décrivons ici les résultats obtenus au CHRU de Lille.

Matériels et méthodes : les résultats microbiologiques des patients passés par le service d'Ophtalmologie du CHRU de Lille du 17/09/2009 au 31/03/2015 pour lesquels le diagnostic probable de kératite à bactérie ou champignon pyogène avait été posé ont été réunis et analysés rétrospectivement. La sélection des cas retenus a été effectuée sur des photographies en couleur prises avant le prélèvement. Les prélèvements avaient été réalisés par grattage cornéen avec les écouvillons eSwab comprenant un milieu de transport liquide puis acheminés aux services de microbiologie. Les facteurs de risque présents chez les patients ont été identifiés.

Résultats : parmi 131 échantillons analysés, 82,4% [74,8 % -88,5 %] contenaient au moins une espèce microbienne. Des facteurs de risque étaient retrouvés pour 80% des patients, les plus fréquents étant les pathologies de surface (28,2%) et le port de lentilles de contact (26,7%). Les organismes les plus fréquemment retrouvés étaient *Pseudomonas aeruginosa* (19,1%), *Staphylococcus epidermidis* (15,3%), *Moraxella* spp. (13,7%) et *Staphylococcus aureus* (13%). Il y avait 12,2% d'échantillons polymicrobiens. *P. aeruginosa* était significativement plus souvent retrouvé chez les porteurs de lentilles de contact ($p < 0,0001$), *Moraxella* spp. chez les patients présentant une pathologie de surface ($p = 0,026$) et *S. aureus* dans les suites récentes d'un traumatisme ($p = 0,04$). Nous n'avons pas retrouvé d'association significative entre le type de microbe en culture et la taille de l'abcès ou la présence d'une pathologie systémique.

Conclusion : le taux d'échantillons positifs est important et dans la fourchette haute des données de la littérature. Les proportions d'organismes retrouvés et leur association à différents facteurs de risque sont également concordantes avec les données publiées. Le dispositif eSwab est un moyen simple, pratique et fiable pour l'analyse microbiologique des abcès cornéens à pyogènes. Cependant, pour affirmer la non-infériorité de cette méthode de prélèvement par rapport à la méthode avec ensemencement direct, il faudrait mettre en place une étude prospective comparative.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Jean-François ROULAND

Assesseurs : Monsieur le Docteur Olivier GAILLOT

Monsieur le Docteur Thibaut LEROY

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Pierre LABALETTE