



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen

Faculté des sciences de la nature et de le vie / sciences de la terre et de
l'univers

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

THEME

Etude du profil bactériologique des kératites
infectieuses

Présenté par :

BELLAHCENE yasmine

BEKKAR sakinahidayet

Présidente : Bouali Wafaa Docteur MCA U. de Tlemcen

Encadrant : M'hamedi Imane Docteur MCB U. de Tlemcen

Examinatrice : Boudghène stambouli Amina Docteur MCA U. de Ain Temouchent

Promotion 2020/2021

RÉSUMÉ

Résumé

La kératite bactérienne est la plus fréquente des kératites infectieuses caractérisées cliniquement par une zone d'infiltration cornéenne sous-jacente à un ulcère épithélial causant une atteinte tissulaire secondaire à une réaction inflammatoire. Notre travail avait pour but de définir les aspects épidémiologiques, cliniques, et microbiologiques des abcès cornéens et de faire une comparaison entre la croissance des bactéries en biofilm sur les différents types de lentilles de contact et celle présente dans leurs étuis. Une grande proportion des kératites bactériennes est liée aux bacilles à gram négatif tel que *Pseudomonas* et les cocci à Gram positif de type *staphylocoque*. Le port fréquent de lentilles de contact est considéré comme le premier facteur de risque de kératite bactérienne, ainsi que la formation du biofilm sur les lentilles de contact et leurs étuis présente un risque pour la cornée, où il est important de sélectionner les bonnes solutions de nettoyage des lentilles pour empêcher leur développement. Une bonne prise en charge diagnostique et thérapeutique peut réduire le risque d'une évolution défavorable des abcès graves cornéens.

Mots-clés : kératite bactérienne, biofilm, lentilles de contact.

ملخص

التهاب القرنية الجرثومي هو التهاب القرنية المعدي الأكثر شيوعًا والذي يتميز سريريًا بوجود منطقة ارتشاح للقرنية تحت القرحة الظهارية مما يتسبب في تلف ثانوي للأنسجة مع رد فعل التهابي. يهدف عملنا إلى تحديد الجوانب الوبائية والسريرية والميكروبيولوجية لخراجات القرنية وإجراء مقارنة بين نمو البكتيريا في البيوفيلم على الأنواع المختلفة من العدسات اللاصقة وتلك الموجودة في حالاتهم. ترتبط نسبة كبيرة من التهاب القرنية الجرثومي بالعصيات سالبة الجرام مثل الزائفة موجبة الجرام والمكورات موجبة الجرام من أنواع المكورات العنقودية. يعتبر ارتداء العدسات اللاصقة بشكل متكرر عامل الخطر رقم واحد للإصابة بالتهاب القرنية الجرثومي. بالإضافة إلى تكوين الأغشية الحيوية على العدسات اللاصقة وحالاتها تشكل خطرًا على القرنية، حيث من المهم اختيار مطول تنظيف العدسة المناسب لمنع تطورها. يمكن أن تقلل الإدارة التشخيصية والعلاجية الجيدة من مخاطر المسار الغير مواتي لخراجات القرنية الشديدة.

الكلمات المفتاحية: التهاب القرنية الجرثومي، البيوفيلم، العدسات اللاصقة.

Abstract

Bacterial keratitis is the most common infectious keratitis clinically characterized by an area of corneal infiltration underlying an epithelial ulcer causing tissue damage secondary to an inflammatory reaction. Our work aimed to define the epidemiological, clinical and microbiological aspects of corneal abscesses and to make a comparison between the growth of bacteria in biofilm on the different types of contact lenses and that present in their cases. A large proportion of bacterial keratitis is linked to gram-negative bacilli such as *Pseudomonas* and gram-positive cocci of the staphylococcal types. Frequent wearing of contact lenses is considered the number one risk factor for bacterial keratitis. As well as biofilm formation on contact lenses and their cases poses a risk to the cornea, or it is important to select the right lens cleaning solutions to prevent their development.

Good diagnostic and therapeutic management can reduce the risk of an unfavorable course of severe corneal abscesses.

Keywords: bacterial keratitis, biofilm, contact lens

REMERCIEMENTS

ON REMERCIE TOUS D'ABORD LE DIEU PUISSANT DE NOUS AVOIR DONNÉ LA SANTÉ
ET LA VOLONTÉ D'ENTAMER ET DE TERMINER CE MÉMOIRE.

PAR CES PETITES LIGNES, ON SOUHAITE ADRESSER NOS REMERCIEMENTS LES
PLUS SINCÈRES À NOTRE ENCADRANT MADAME M'HAMED IIMEN MAÎTRE DE
CONFÉRENCES « B » À L'UNIVERSITÉ DE TLEMCEM, POUR AVOIR ACCEPTÉ
D'ENCADRÉ NOTRE TRAVAIL, POUR SON AIDE, SA DISPONIBILITÉ, SA GENTILLESSE,
SANS OUBLIER, LES PRÉCIEUX CONSEILS QU'ELLE NOUS A DONNÉS TOUT AU LONG
DE LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE.

ON REMERCIE ÉGALEMENT NOS PROFESSEURS POUR LA QUALITÉ DE
L'ENSEIGNEMENT QU'ILS NOUS À PRODIGUÉ AU COURS DE CES CINQ ANNÉES
PRÉCÉDENTES, ET POUR LEURS GÉNÉROSITÉS ET LA GRANDE PATIENCE DONT ILS
ONT SU FAIRE PREUVE MALGRÉ LEURS CHARGES ACADÉMIQUES ET
PROFESSIONNELLES.

ON REMERCIE MADAME BOUALI WAFAA MAÎTRE DE CONFÉRENCES « A » À
L'UNIVERSITÉ ABOU BAKR BELKAID DE TLEMCEM, QUI NOUS A FAIT L'HONNEUR
D'ACCEPTER DE PRÉSIDER LE JURY.

DE MÊME, ON REMERCIE MADAME BOUDRENSTAMBOULI AMINA MAÎTRE DE
CONFÉRENCES « A » À L'UNIVERSITÉ DE AIN TEMOUCHENT, POUR L'INTÉRÊT
QU'ELLE A PORTÉ À CE TRAVAIL EN EXAMINANT NOTRE MÉMOIRE.

ENFIN, ON REMERCIE L'ENSEMBLE DE NOS PROCHES, CAR CE MÉMOIRE N'AURAIT
JAMAIS PU AVOIR LE JOUR SANS LE SOUTIEN ACTIF DES MEMBRES DE NOS
FAMILLES, SURTOUT NOS PARENTS QU'ILS NOUS A TOUJOURS ENCOURAGÉ
MORALEMENT ET PHYSIQUEMENT.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Introduction..... | 1 |
| I. Synthèse bibliographique..... | 4 |
| Chapitre 1. Rappels anatomiques et physiologiques..... | 5 |
| 1. Anatomie de la corné..... | 5 |
| 2. Histologie de la cornée..... | 6 |
| 2.1. Epithélium cornéen..... | 6 |
| 2.2. La couche de Bowman..... | 6 |
| 2.3. Le stroma..... | 6 |
| 2.4. La membrane de Descemet..... | 6 |
| 2.5. L'endothélium cornéen..... | 7 |
| 3. L'innervation de la cornée | 7 |
| 3.1. L'innervation sensitive..... | 7 |
| 3.2. L'innervation sympathique..... | 8 |
| 4. Anatomie du limbe..... | 9 |
| 4.1. Anatomie microscopique..... | 9 |
| 4.2. Anatomie macroscopique..... | 9 |
| 5. Le film lacrymal..... | 10 |
| 5.1. Anatomie et propriétés du film lacrymal..... | 10 |
| 5.2. La régulation du film lacrymal..... | 11 |
| 5.2.1. La régulation nerveuse..... | 11 |
| 5.2.2. La régulation hormonale | 12 |

| | |
|--|----|
| 5.3. La sécrétion du film lacrymal..... | 12 |
| 6. Microbiologie de la surface oculaire | 13 |
| | |
| Chapitre 2. Les kératites infectieuses..... | 14 |
| 1. Les kératites infectieuses..... | 14 |
| 2. La survenue de la kératite | 14 |
| 3. Les kératites bactériennes | 15 |
| 4. Les microorganismes responsables des kératites bactériennes..... | 16 |
| 5. Mode de transmission..... | 18 |
| 6. Pronostic..... | 18 |
| 7. Diagnostic clinique..... | 18 |
| 8. Diagnostic microbiologique | 19 |
| 9. Traitements des kératites bactériennes..... | 20 |
| 9.1. Traitements médicaux | 20 |
| 9.2. Traitements adjuvants..... | 23 |
| 9.3. Traitements chirurgicaux..... | 23 |
| II. Partie expérimentale..... | 25 |
| 1. Présentation des articles et objectifs..... | 26 |
| 2. Analyse des articles..... | 27 |
| 2.1. Matériels et méthodes (Article N°01)..... | 27 |
| 2.2. Résultats..... | 28 |
| 2.3. Discussion..... | 31 |
| 2.4. Matériels et méthodes (Article N°02)..... | 33 |
| 2.4.1. Les germes utilisés..... | 33 |
| 2.4.2. Types de lentilles et de solutions d'entretien utilisés..... | 34 |
| 2.4.3. Formation du biofilm sur les lentilles de contact..... | 34 |
| 2.4.4. Formation du biofilm sur les étuis à lentilles | 35 |
| 2.4.5. Effet des solutions d'entretien des lentilles sur les biofilms..... | 35 |
| 2.4.6. Isolement du bactériophage..... | 35 |

| | |
|--|----|
| 2.4.7. Effet du bactériophage sur les biofilms des lentilles de contact..... | 36 |
| 2.4.8. Analyse statistique..... | 36 |
| 2.5. Résultats | 36 |
| 2.5.1. Formation du biofilm sur les lentilles de contact..... | 36 |
| 2.5.2. Formation du biofilm sur les étuis des lentilles de contact...37 | |
| 2.5.3. Effet des solutions d'entretien des lentilles sur les biofilms.37 | |
| 2.6. Discussion..... | 38 |
| Conclusion..... | 40 |
| Bibliographie..... | 42 |
| Annexes..... | 51 |

Liste des abréviations

AC : acuité visuelle

LC : lentilles de contact

CAZ : ceftazidime

BGN : bacilles gram négatifs

CGP : cocci gram positifs

HPMC : Hydroxypropylmethylcellulose

DO : Densité optique

MEB : Microscope électronique à balayage

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Rapports de la cornée..... | 5 |
| Figure 2 : Épithélium cornéen pavimenteux..... | 7 |
| Figure 3 : Représentation schématique des nerfs cornéens humains..... | 8 |
| Figure 4 : structure de l'angle irido-cornéen..... | 10 |
| Figure 5 : Schéma des différentes couches (lipidique, aqueuse et mucineuse) du film lacrymal..... | 11 |
| Figure 6 : Glandes lacrymales..... | 13 |
| Figure 7 : Kératite bactérienne associée aux lentilles de contact (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)..... | 15 |
| Figure 8 : Abscès due à streptococcus pneumoniae..... | 16 |
| Figure 9 : Kératopathie microcristalline suite à une greffe de cornée..... | 19 |
| Figure 10 : Abscès de cornée sur port de lentilles correctrices chez une femme de 34 ans. Pas de germe retrouvé à la culture..... | 29 |
| Figure 11 : Evolution de l'acuité visuelle (AV) avant et après traitement avec un recul de trois mois..... | 31 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Principaux bactéries isolées dans les Kératites bactériennes..... | 17 |
| Tableau 2 : Principaux antibiotiques locaux non associés disponibles en France et utilisés pour le traitement des kératites bactériennes..... | 22 |
| Tableau 3 : Caractéristiques cliniques des lésions..... | 29 |
| Tableau 4 : Résultats des prélèvements du grattage cornéen des patients..... | 30 |
| Tableau 5 : Résultats des prélèvements du liquide de conservation et du boîtier de nospatients..... | 30 |
| Tableau 6 : Comparaison des germes retrouvés dans notre série avec ceux retrouvés dans d'autres séries étrangères..... | 33 |
| Tableau 7 : Effet de la solution de nettoyage des lentilles etbactériophage sur les valeurs OD ₅₇₀ du surnageantfluide..... | 37 |

INTRODUCTION

L'œil est considéré comme l'une des parties les plus importantes du corps humain, car grâce à sa fonction visuelle la personne peut obtenir plus de 80% des informations émises par le monde extérieur. Cependant cette dernière peut être soumise à de nombreux risques comme les maladies et les ulcères cornéennes, puisqu'elle est estimée comme un organe très fragile et très sensible.

Les infections qui peuvent toucher la cornée sont dues essentiellement à de nombreux microorganismes tels que les champignons, les bactéries, les virus et les parasites. Ceux-ci ont la capacité de provoquer un aveuglement définitif à partir d'une simple conjonctivite, cette atteinte sévère de la cornée dépend de son état sous-jacent et du germe responsable également.

La kératite infectieuse ou abcès de la cornée inclut une série de pathologies éventuellement sévères et cécitantes de la surface oculaire. La cause majeure de ces abcès est due à des infections fongiques, amibiennes, herpétiques et bactériennes.

Les kératites d'origine bactériennes sont les plus fréquentes des kératites infectieuses caractérisées cliniquement par une zone d'infiltration cornéenne sous-jacente à un ulcère épithélial, qui peuvent causer une atteinte tissulaire secondaire à une réaction inflammatoire, constituant une véritable urgence thérapeutique, elles sont dominées par les bacilles à Gram négatif et les cocci à Gram positif. En effet, une prise en charge précoce est essentielle afin d'éviter la survenue des complications graves et de séquelles définitives, synonymes de baisse d'acuité visuelle.

La fréquence de cette pathologie est très élevée, et connaît une recrudescence ces dernières années à cause de l'accroissement des facteurs favorisants tel que le port de lentilles de contact qui sont responsables de plusieurs infections oculaires malgré qu'ils représentent plusieurs avantages, dont l'usage répandu explique la propagation de cette maladie. Les porteurs n'étant pas toujours bien sensibilisés aux règles d'hygiène et d'utilisation des lentilles, ce qui aboutit à une forte augmentation des infections cornéennes.

Sans oublier les biofilms qui constituent un facteur principal causant un ulcère cornéen en se développant sur les lentilles. Les bactéries se multiplient avec une densité généralement élevée, et se protègent par des films polysaccharidiques, qui leur permettent de tolérer des doses mille fois plus élevées de médicaments antibactériens en contraste à leurs formes planctoniques flottantes. Les biofilms sont plus fréquents sur les étuis à lentilles que celles des lentilles de contact, car les étuis à lentilles ne sont pas souvent manipulés autant de soin que les lentilles eux-mêmes.

Dans ce contexte, l'étude réalisée est partagée en deux parties différentes : la première est une synthèse bibliographique qui englobe tous ce qui concerne la cornée comprenant les rappels anatomiques et physiologiques, alors que la deuxième partie vise à faire une analyse d'articles qui sont liés au sujet que nous sommes entrain d'étudier, dans ce but on a analysé deux articles dont l'un s'attarde sur le risque de port de lentilles de contact surtout dans les pays industrialisés, alors que l'autre est consacré à l'étude du biofilm formés sur les lentilles de contact qui reste une source majeur causant une kératite bactérienne sévère.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Rappel anatomiques et physiologiques de la cornée

1. Anatomie de la cornée

La cornée est considérée comme l'un des plus importants éléments anatomiques de l'œil, où elle représente la partie antérieure du globe oculaire. C'est une structure transparente, avasculaire, dont la forme ressemble à un verre de montre. Cette dernière joue un rôle crucial autant qu'une barrière protectrice de l'œil, avec un diamètre qui varie entre 11.5 à 12 mm horizontalement, et 10 mm verticalement ; ainsi qu'une épaisseur d'environ 0,5 mm au centre et qui commence à augmenter jusqu'au 1 mm vers la périphérie [(Allouch Nahmias *et al.*, 2011 ; Renard *et al.*, 2009)].

Sa partie antérieure est lisse, recouverte partiellement ou totalement par les paupières, tandis que sa partie postérieure est incurvée constituant ainsi une paroi de la chambre antérieure de l'œil (Goldschmit.Pet *al.*, 2011).

La courbure de la cornée est régulière mais de temps en temps, ses méridiens n'ont pas la même courbure, elle est presque toujours convexe dans son méridien vertical (figure 1) (Asselin et Houzeau, 1897).

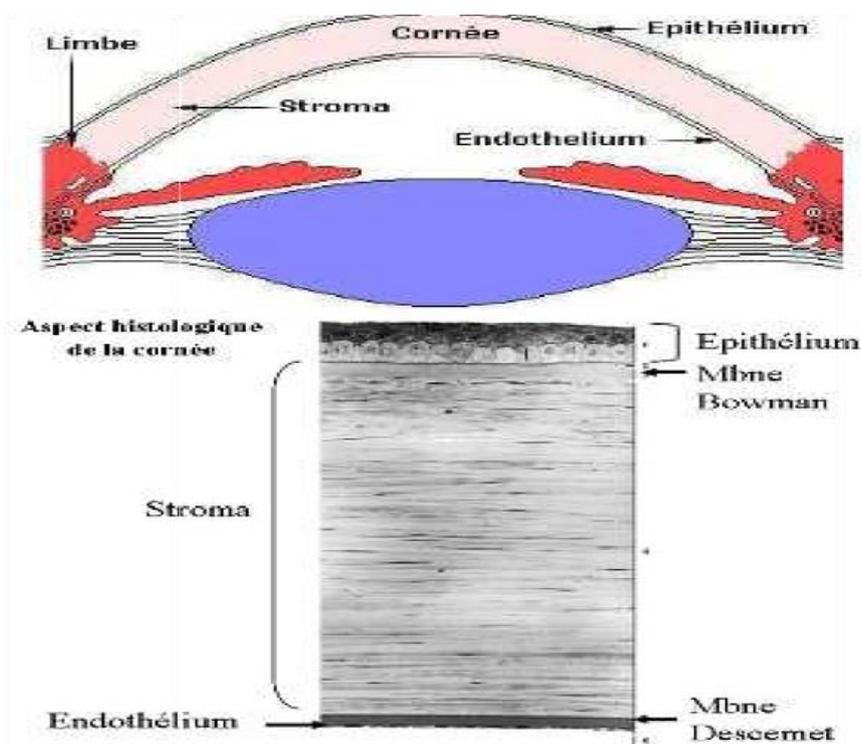


Figure 1 :rapports de la cornée : (Boro, 2014).

2. Histologie de la cornée

La cornée est formée de cinq couches adjacentes les unes aux autres (Bonhomme *et al.*, s.d.)

2.1. L'épithélium cornéen

L'épithélium cornéen se trouve en continuité avec l'épithélium conjonctivale, c'est un tissu stratifié, pavimenteux et non kératinisé qui constitue environ 10 % de l'épaisseur totale de la cornée à l'ordre de 50 micromètres. Le centre de l'épithélium cornéen est formé de 5 à 7 couches cellulaires, alors que la périphérie est constituée de 8 à 10 couches de cellules de 3 types différentes : les cellules superficielles, les cellules intermédiaires et les cellules basales (Goldschmit *et al.*, 2011).

2.2. La couche de Bowman

C'est une couche acellulaire qui se localise entre la membrane basale de l'épithélium cornéen et le stroma dont l'épaisseur varie entre 8 et 10 micromètres. Cette membrane est synthétisée au cours de la phase embryonnaire via les cellules basales de l'épithélium cornéen mais qui ne sera pas régénérée durant la vie de l'être humain (Goldschmit *et al.*, 2011).

Cette dernière est formée de fibrilles de collagènes de type 1, de protéoglycannes et de kératane sulfate ; où elle joue un rôle très important au tant qu'une barrière de protection des interactions épithélio-stromales (Akhtar *et al.*, 2008).

2.3. Le stroma

Le stroma cornéen est avasculaire ; transparent d'environ 500 um d'épaisseur, il forme la base de la cornée car il représente près de 90% de son épaisseur. Celui-ci est composé de lamelles de collagène, de kératocytes et de la substance fondamentale, en plus de lymphocytes (T ; B). En outre, il se constitue de cellules de schwann, langerhans et de cellules mononuclées également (Goldschmit *et al.*, 2011).

2.4. La membrane de Descemet

La couche de Descemet représente la lame basale de l'endothélium. Elle est essentiellement constituée de collagènes de type VIII et IV, avec des laminines 411, 511 (Kabosova *et al.*, 2007). Son diamètre mesure environ 3 microns à la naissance puis augmente pour atteindre 8 et 10 microns à l'âge adulte (Department of Biostatistics).

2.5. L'endothélium cornéen

L'endothélium cornéen est composé d'une monocouche de cellules plates et hexagonales d'environ 400000 cellules, dont chacune d'entre elles mesure approximativement entre 20 micromètres de diamètre et 5 micromètres d'épaisseur. Le nombre de ces cellules diminue en fonction de l'âge puisqu'ils n'ont pas la capacité de se multiplier (Meyer, 2005).

Etant localisé entre la membrane de Descemet et l'humeur aqueuse au niveau de la partie la plus postérieure de la cornée (Allouch Nahmias *et al.*, 2011), l'endothélium cornéen a pour fonction principale, la modulation des échanges entre ces deux couches afin d'assurer une bonne transparence cornéenne (figure 2) (Allouch Nahmias *et al.*, 2011).

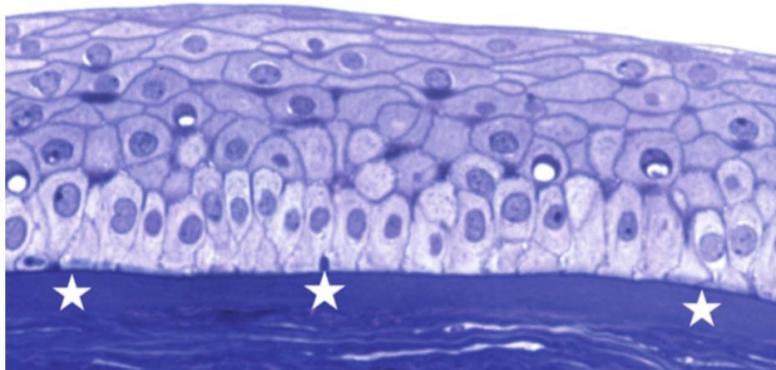


Figure 2 :Épithélium cornéen pavimenteux : Muraine et Gueudry, 2015.

3. L'innervation de la cornée

La cornée est très richement innervée, elle est parmi les tissus les plus sensibles de l'organisme (Allouch-Nahmias *et al.*, 2011). Cette innervation est effectuée par la branche nasociliaire du nerf ophtalmique et la branche du nerf trijumeau (Malet Elsevier, 2009).

3.1. L'innervation sensitive

Elle est assurée généralement par la branche ophtalmique afférente du ganglion trigéminal par l'intermédiaire des nerfs ciliaires longs et courts, elle permet de déclencher le réflexe cornéo-palpébral qui est responsable d'une fonction trophique sur l'épithélium. Elle joue également un rôle nécessaire notamment dans la trophicité de la cornée mais aussi dans le métabolisme cellulaire de l'épithélium et du stroma par l'intermédiaire de nombreuses cytokines. Elle reçoit les informations par des récepteurs situés dans l'épithélium cornéen dont la majorité sont des nocicepteurs polymodaux (70%).

Il existe 2 autres types de récepteurs présents dans les neurones sensitifs cornéens ; le premier étant les récepteurs mécano nociceptifs (20%) qui ont un rôle de déclenchement d'une sensation douloureuse et les récepteurs au froid (10%) entrant dans le réflexe de clignement spontané déclenché par le biais de refroidissement lié à l'évaporation du film lacrymal. (Cocheneret *et al.*, s.d.).

3.2. L'innervation sympathique

Elle nécessite un ganglion cervical supérieur homolatéral ; des fibres parasympathiques qui s'intègrent au niveau des nerfs ciliaires (courts et longs) et au nerf nasociliaire. L'inhibition de la cicatrisation épithéliale se fait par la stimulation sympathique (figure3) (Werner *et al.*, 1999).

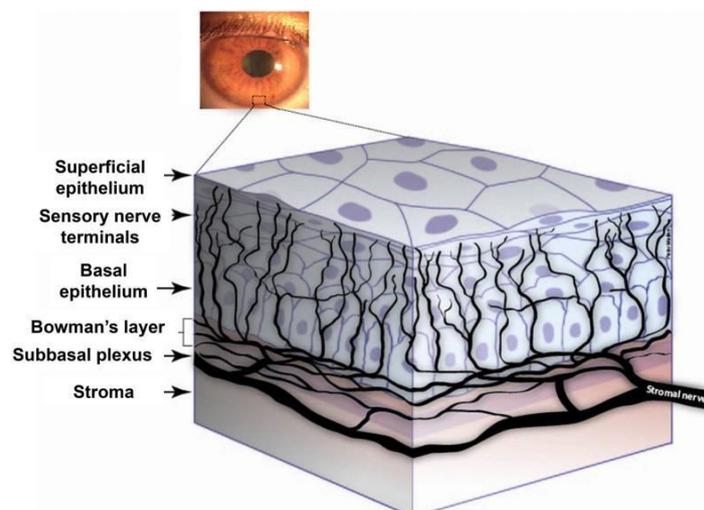


Figure 3 : Représentation schématique des nerfs cornéens humains : Yang *et al.*, 2018.

4. Anatomie du limbe

4.1. Anatomie microscopique

Le limbe est formé de la fusion d'éléments conjonctifs à partir du chorion conjonctival, de la capsule de Tenon et de l'épiscière. Le plan sous épithélial présent que dans les deux tiers externes du limbe correspond au limbe chirurgical, alors que le plan profond présente la transition entre le tissu conjonctif stromal organisé, et le tissu conjonctif scléral plus anarchique. A ce niveau le nombre de cellules augmente (fibroblastes, macrophages, lymphocytes, plasmocytes, mélanocytes, cellules de Langerhans), et il y'aura une disparition de la membrane de Descemet. Le limbe représente le réservoir de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, de lymphocytes, de mastocytes. Il contient des médiateurs, des immunoglobulines A, G et M et aussi des cellules de Langerhans (VAN BUSKIRK EM, 1989).

4.2. Anatomie macroscopique :

Le limbe est l'anneau de jonction entre la périphérie cornéenne transparente et la sclère opaque, qui a une largeur d'environ 1.5 mm sur les méridiens horizontaux et environ 2 mm sur les verticaux, il constitue une zone de transition entre l'épithélium conjonctival et l'épithélium cornéen. Sa face antérieure est recouverte par l'épithélium conjonctival qui se continue en avant par l'épithélium cornéen ; par contre la face interne est limitée par l'éperon scléral en arrière et la ligne de Schwalbe en avant (Yu *et al.*, 2008). Il contient les éléments du système excrétoire de l'humeur aqueuse, le trabéculum et le canal de Schlemm.

Le bord postérieur correspond à la ligne perpendiculaire à la surface du globe qui passe par L'éperon scléral, alors que le bord antérieur du limbe présente des limites différentes. Selon les anatomistes, il se définit comme la ligne unissant les extrémités postérieures des membranes de Bowman et de Descemet ; pour le chirurgien, le limbe est responsable au changement de couleur de la sclère qui, vue de l'extérieur, traverse du blanc au bleu-gris à l'endroit de la pénétration de la cornée transparente dans la sclère opaque. La vascularisation du limbe dépend des artères ciliaires antérieures émergeant de la sclère au niveau des insertions des muscles droits horizontaux (figure4).

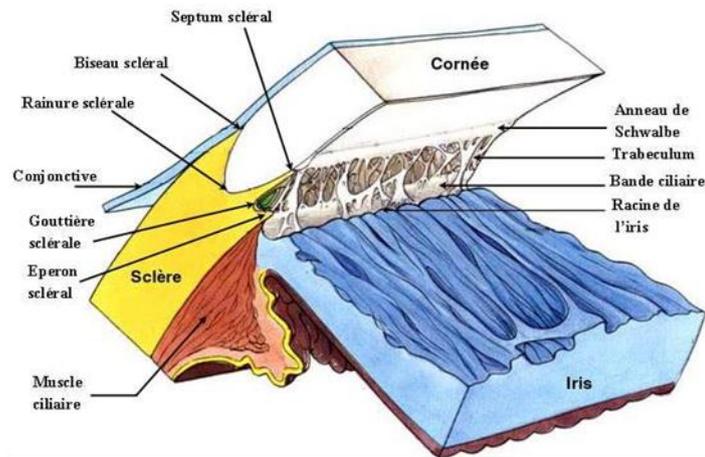


Figure 4 : Structure de l'angle irido-cornéen : Renard *et al.*, 2001.

5. Le film lacrymal

5.1. Anatomie et propriétés du film lacrymal

Le film lacrymal joue un rôle très important puisqu'il est considéré comme une barrière de défense de la surface oculaire qui vient juste après les paupières, celui-ci est caractérisé par un volume de 7 à 9 microlitres avec une sécrétion de 1 à 2 microlitres / min, et d'après les auteurs, il mesure entre 7 et 40 micromètres d'épaisseur (Pryda *et al.*, 1992). Il s'organise en trois couches étroitement intriquées qui participent toutes aux principales fonctions de défense. Il s'agit de (Bourcier et Labetoulle, 2015) :

La couche lipidique, ayant pour rôle la stabilisation du film lacrymal, elle s'étale à la surface de celui-ci constituant ainsi le premier « rempart » de la surface oculaire afin de limiter l'évaporation. Elle est formée d'un complexe de triglycérides, d'acides gras libres, de di-esters, de cholestérol, libre produit en grande partie par les glandes de Meibomius et des glandes de type holocrine qui se trouvent au niveau du tarse (Butovich, 2009). La couche aqueuse synthétisée par la glande lacrymale principale et les glandes séreuses, et qui représente le principal constituant du film lacrymal d'un point de vue quantitative, avec un mélange d'eau (98%), de protéines et de sucres. Elle apporte à la cornée des éléments nutritifs et de l'oxygène, et assure la mobilité de la conjonctive palpébrale sur la cornée. De plus, elle joue un rôle de protection immunologique grâce à la présence d'immunoglobulines et de

lysozymes (Erie *et al.*, 1997). La couche muqueuse (mucineuse) est la couche la plus profonde du film lacrymal, dont l'épaisseur varie entre 0,8 μm en avant de la cornée à 1,4 μm en avant de la conjonctive pour ce qui est de la portion directement au contact des cellules cornéo-conjonctivales. Cette couche muqueuse est en effet combinée au niveau aqueux pour sa plus grande partie, constituant ainsi un gel de mucines qui rend les membranes des cellules épithéliales conjonctivales et cornéennes hydrophiles (figure5) (Argueso,2013).

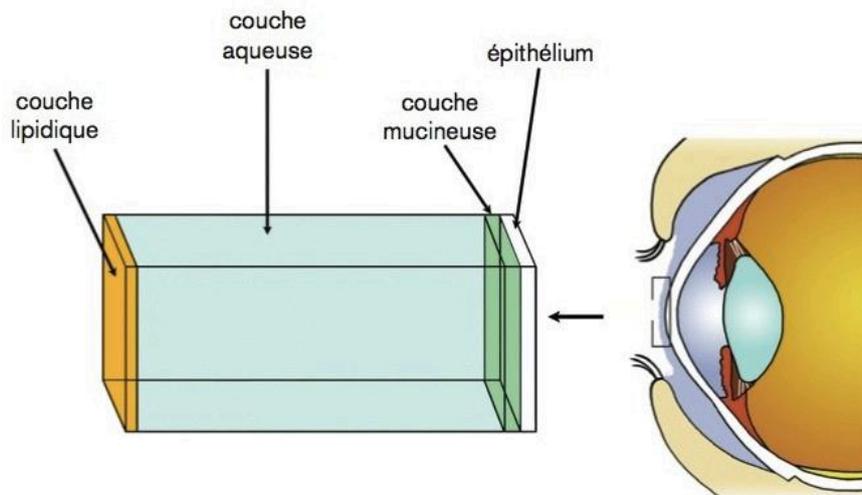


Figure 5 :Schéma des différentes couches (lipidique, aqueuse et mucineuse) du film lacrymal : Rachwaliket *al.*, 2015.

5.2.La régulation du film lacrymal

La stimulation lacrymale dépend d'un système neuronal périphérique associé avec le système nerveux central permettant d'introduire des composants émotionnels. Elle se fait par 2 types : la régulation nerveuse et la régulation hormonale.

5.2.1. La régulation nerveuse

L'étalement du film lacrymal et ses capacités à résister aux forces de cisaillement exercées lors du clignement sont nécessaires pour prévenir l'évaporation des larmes et leur contamination par des facteurs extrinsèques (corps étrangers, polluants...) entre chaque battement des paupières (VincentBorderie, 2004).

La production des larmes dépend d'un arc nerveux qui assure une bonne lubrification cornéo- conjonctivale avec une réponse adaptée à des éventuels stimuli traumatiques de la surface oculaire : celle-ci consiste en un influx nerveux vers le cerveau par le nerf trijumeau et un ordre de sécrétion adressé en retour à la glande lacrymale. Les stimuli émotionnels empruntent le même trajet. La boucle lacrymale réflexe stimule une production lacrymale suite à une stimulation cornéenne ; elle fait intervenir la glande lacrymale principale, la cornée, la conjonctive et même le système nerveux central (Stern *et al.*, 1998).

5.2.2. La régulation hormonale

La glande lacrymale principale présente les récepteurs aux hormones sexuelles, en particulier aux androgènes, ainsi que la 5 α - réductase (enzyme clé du métabolisme des androgènes) (Rocha *et al.*, 2000). Ces hormones régulent l'anatomie de la glande lacrymale principale, en plus ils sont indispensables au maintien des activités métaboliques et sécrétrices (Azzarolo *et al.*, 1995). En outre, ils sont responsables de la modulation du fonctionnement des glandes de Meibomius et leur sécrétion de lipides (Prydal, 1992).

5.3. La sécrétion du film lacrymal

Les larmes tapissent toute la cavité cornéo-conjonctivo-palpébrales, elles sont sécrétées en continu par les glandes lacrymales qui sont les glandes lacrymales principales, se trouvent sur la partie supéro-externe de l'orbite, responsables de la synthèse de la partie aqueuse du film lacrymal et les glandes lacrymales accessoires synthétisant la partie lipidique des larmes, disséminées dans la conjonctive et les paupières dont : les glandes sudoripares de Moll, au niveau du bord palpébral, les glandes sébacées de Meibomius dans le tarse et les glandes sébacées de Zeiss annexées aux follicules ciliaires (figure6) (Dupps et Wilson, 2006).

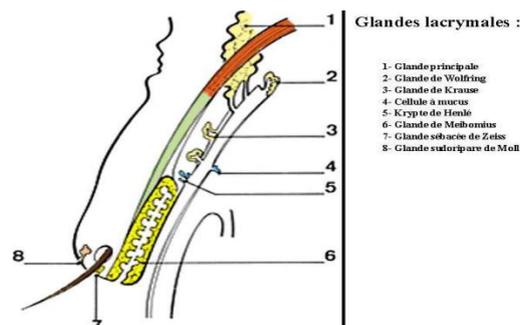


Figure 6 : Glandes lacrymales : Raynaud C *et al.*, 1996.

6. Microbiologie de la surface oculaire

La surface oculaire est un tissu muqueux qui est souvent exposé à des micro-organismes (champignons, bactéries, virus ...) puisqu'elle se situe entre l'environnement et le système immunitaire de l'hôte (Leger *et al.*, 2017). Cependant, il existe une flore bactérienne utile qui se trouve dans la surface cornéo- conjonctivale mais ne pénètrent pas l'épithélium et qui a pour rôle d'empêcher l'implantation et la colonisation des micro-organismes nuisibles dans l'œil. Ce microbiote oculaire est très diversifié, où nous trouvons des coques et des bâtonnets à Gram positif tel que les staphylocoques et les streptocoques et à Gram négatif comme *Pseudomonas* et *E.coli*(Lily et Madhavan, 2004) .On peut également trouver quelque champignon comme *Aspergillus* et *Penicillium*. Cependant, la diversité de ces germes dépend d'un individu à un autre en fonction de l'âge, le sexe, la race et la Constitution génétique (Sthapit et Tuladhar,2014), sans oublier l'exposition environnementale et la sensibilité. (Copeet *al.*, 2014). Avec ces facteurs, ces micro-organismes peuvent se transformés en germes pathogènes comme c'est le cas pour staphylocoque à coagulase négative qui sont le plus souvent isolés de la conjonctive et du bord de la paupière. [(Upadhyayet *al.*, 2001) ; (Ratnumnoiet *al.*, 2017)].

Chapitre 2 : les kératites infectieuses

1. Les kératites infectieuses

Les kératites infectieuses sont des maladies sévères de la cornée dues à une prolifération des micro-organismes, qui se déroulent au niveau d'un ulcère épithélial sous-jacent ; il s'agit d'une inflammation importante aboutissant à une dévastation des tissus où il va y' avoir une érosion épithéliale suivi d'une invasion puis d'une propagation des micro-organismes qui peut provoquer un perçage au niveau de la cornée. On peut la considérer comme une urgence thérapeutique puisqu' elle à la capacité d'entraîner des conséquences plus au moins graves. (Seal, Pleyer, 2007).

Les kératites infectieuses se divisent en trois grands groupes étiologiques parmi ces groupes on trouve les kératites d'origine bactériennes.

2. La survenue de la kératite

Une kératite infectieuse peut se manifester suite à une détérioration d'une ou plusieurs mécanismes de défense de la cornée comme le film lacrymal, la barrière épithéliale ou encore la conjonctive. (Boro, 2014). En effet les bactéries profitent de l'instabilité et la faiblesse des barrières cornéennes qui est dû principalement à une invasion de l'épithélium cornéen (Wong *et al.*, 2012), devenant ainsi capables de le percer directement. En effet, en franchissant la barrière cornéenne de l'épithélium, les bactéries se multiplient rapidement en produisant des enzymes (Moufaddal, 2019), ce qui facilite leur migration vers les cellules profondes en créant une réponse inflammatoire de l'hôte aboutissant à la fin à une dévastation tissulaire (Seal et Pleyer, 2007).

Il nécessite la présence de plusieurs conditions telles que l'altération de l'épithélium cornéen ou les bactéries sont capables s'adhérer à la surface épithéliale lésée au niveau des récepteurs aux glycoprotéines grâce à leurs pili ou à des adhésines non filamenteuses [(KRACHMER et MANNIS, 1997) ; (SCHEIN et al., 1992) ; (MASSOUDI, 2011)]. Ainsi que, l'altération des autres systèmes de défense de la cornée on peut trouver des anomalies du clignement des paupières, surtout dans le cas de malposition palpébrales (ectropion, lagophtalmie, ...) ; des anomalies du film lacrymal diminuant son pouvoir anti-microbien normal (inhibition de l'adhésivité et de la prolifération bactérienne) et également la sensibilité cornéenne est diminuée suite à une paralysie, une infection virale et 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) (Ritterband David, 2006).

Le port de lentilles de contact constitue, dans la plupart des séries, le premier facteur de risque (Bourcier T, 2003), retrouvé dans 40 à 50% des cas (Lin et al., 2019), ils sont à l'origine d'un ulcère centrale de couleur grise qui peut évoluer jusqu'à la nécrose (Bourcier et al., 2007). Il y a des variations saisonnières et géographiques d'incidences en fonction du lieu de vie, des habitudes locales en matière de prescription, des collyres antibiotiques et des conditions climatiques. Les porteurs de lentilles de couleur, de lentilles pansement ou de lentilles optiques de façon continu ou non sont les premiers à risque de complications infectieuses (Sauer et Bourcier, 2011).

3. Les kératites bactériennes

La kératite bactérienne est considérée comme une maladie très grave et sévère qui touche la cornée et qui provoque généralement un amoindrissement dur de la vue (Bourcier *et al.*, 2003).

C'est l'infection la plus coutumière des kératites infectieuses ; où elle constitue d'environ 65 à 90 % de l'ensemble des kératites microbiennes [(Shah *et al.*, 2011) ; (Keay *et al.*, 2006)], elle peut se manifester par des douleurs donnant une sensation de grains de sable accompagnée d'une rougeur oculaire (Arffa, 1991), pour cela il est nécessaire de la prendre en charge afin d'éviter tout type de complications graves (figure7) (McLeod *et al.*, 1995).



Figure 7 : Kératite bactérienne associée aux lentilles de contact (*Pseudomonas aeruginosa*) (Rachwalik, 2015)

4. Les micro-organismes responsables de kératites bactériennes

Il existe une variété de bactéries qui induisent une kératite bactérienne que ce soit aérobie ou anaérobie, mais on trouve quatre grands groupes de bactéries prédominants responsables de 90 % des cas qui sont : les staphylocoques, les streptocoques (figure8), Pseudomonas et les entérobactéries (Bourcier *et al.*, 2003); (Gudmundson *et al.*, 1989) (Tableau 1).



Figure 8 : Abscès due à *Streptococcus pneumoniae* : Bourcier T *et al.*, 2007.

Tableau 1 : Principales bactéries isolées dans les Kératites bactériennes (Schaefer F *et al.*, 2001).

En gras : les germes les plus rencontrés.

| Bactéries | Aérobies | Anaérobies |
|---|---|--|
| Cocci à Gram positif | <p><i>Staphylococcus</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>aureus</i> – <i>epidermidis et autres à coagulase négative</i> <p><i>Micrococcus</i></p> <p><i>Streptococcus</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>pneumoniae</i> – <i>autres streptocoques oraux</i> <p><i>Enterococcus</i></p> | <p><i>Peptococcus</i></p> <p><i>Peptostreptococcus</i></p> |
| Cocci à Gram négatif | <p><i>Branhamella</i></p> <p><i>Neisseria</i> :</p> <p><i>Gonorrhoeae, Meningitidis,</i></p> <p><i>Autres</i></p> | <p><i>Veillonella</i></p> |
| Bacilles à Gram Positif | <p><i>Bacillus, Corynebacterium</i></p> <p><i>Listeria</i></p> | <p><i>Propionibacterium</i></p> <p><i>Actinomyces, Clostridium</i></p> |
| Bacilles à Gram Négatif | <p><i>Pseudomonas</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>aeruginosa</i> – <i>non aeruginosa</i> <p><i>Stenotrophomonas</i></p> <p><i>Burckholderia</i></p> <p><i>Moraxella</i></p> | <p><i>Fusobacterium</i></p> <p><i>Bacteroides</i></p> <p><i>Capnocytophaga</i></p> |
| Coccobacille à gram négatif | | |
| Bacille à Gram positif ramifié | <p><i>Nocardia</i></p> | |
| BAAR (bacille acido alco- résistant) | <p><i>Mycobacterium</i></p> | |
| | <p><i>Enterobacteriaceae</i> :</p> <p><i>Klebsiella, Enterobacter,</i></p> <p><i>Serratia, Proteus, Escherichia,</i></p> <p><i>Citrobacter,</i></p> <p><i>Acinetobacter, Alcaligenes,</i></p> <p><i>Azotobacter, Haemophilus</i></p> | |

5. Mode de transmission

Le mode fréquent de contamination des kératites bactériennes est par contact direct ou indirect avec les sécrétions oculaires, par le biais des mains, des vêtements ou du linge de toilette ; aussi les mouches peuvent servir de vecteur en étant infectées par les sécrétions oculaires et éventuellement après contact avec les matières fécales dont le rôle infectieux est toutefois discuté (Dawson CR et al., 1996). Les foyers bactériens extra oculaires (pharyngés, pulmonaires) pourraient aussi jouer un rôle (Proenca-Pina et Bourcier, 2004).

6. Pronostic

Depuis quelques années le pronostic général des kératites bactériennes s'amende de plus en plus à cause des moyens thérapeutiques qui assurent une bonne maîtrise de l'infection cornéenne. Ce dernier dépend du classement de la gravité primitif, de la nocivité de l'agent causal, ainsi que la rapidité, l'efficacité et la tolérance du traitement, en plus de la réaction inflammatoire exercée par l'hôte et la persistance ou non des facteurs de risque responsable de son apparition, sans oublier la qualité de surveillance clinique. En revanche, les kératites bactériennes issues du port de lentilles de contact nécessitent une hospitalisation mais cela ne signifie pas un mauvais pronostic ; par contre la vieillesse et la présence d'antécédents d'immunodépression systémique ou d'une maladie chronique le constitue (Vander *et al.*, 2008). Cependant, l'extraction des micro-organismes nuisibles peut provoquer une perte de vision via l'opacification, les conséquences de la cicatrice ou encore de la néo vascularisation cornéenne. En pratique, le taux de guérison augmente par l'intermédiaire du traitement médical dont 60 à 85 % des patients reprennent une meilleure vision par rapport à celle d'avant ; alors que 35 % des malades perdent entre une et 3 lignes de l'acuité visuels et 1 % qui perdent jusqu'au 4 lignes [(Bourcier *et al.*, 2003) (Gudmundson *et al.*, 1989)].

7. Diagnostic clinique

L'acuité des symptômes cliniques et fonctionnels d'une kératite bactérienne se diffère en fonction de la virulence des micro-organismes et de l'état de la cornée. Habituellement, l'interrogatoire recueille et détermine si l'œil est douloureux, rouge, accompagné d'une photophobie et d'un blépharospasme. De plus, il permet aussi de chercher l'existence de facteurs de risque tels que les maladies de paupières ou la sensibilité de la cornée.

L'examen clinique initial marque un blépharospasme, un cercle périkératique, un œdème palpébral et une hyperhémie conjonctivale ou encore une ulcération épithéliale avec

un infiltrat stromal diffus où localisé. Des fois, il est difficile de réaliser une meilleure identification surtout lorsqu'il s'agit d'une infection au niveau d'une cornée pathologique, ou traitée auparavant par des antibiotiques. À travers le diagnostic clinique nous pouvons chercher la dimension, la localisation, la forme et la profondeur de la Lésion ainsi que d'autres informations sur l'inflammation cornéenne. Donc les critères mentionnés ci-dessous peuvent déterminer le traitement initial ainsi que les facteurs de risque décrivent la bactérie responsable également. Une inflammation causée par *Pseudomonas* peut causer un infiltrat diffus entouré d'un œdème stromal, et accompagner d'un élargissement de la lésion sur toute l'épaisseur de la cornée. Parmi les kératites bactériennes on trouve les kératopathies microcristallines (figure 9) dont les germes responsables sont très nombreux exemples *veridans*, *mitis*... Dont l'examen à la lampe à fonte montre une infiltration stromale à bord cristallin de couleur blanche et d'évolution Chronique. (Bourcier *et al.*, 2007).



Figure 9 : Kératopathie microcristalline suite à une greffe de cornée : A.Labbé *et al.*, 2012.

8. Diagnostic microbiologique

Il est nécessaire de réaliser un prélèvement de type grattage lorsqu'on est face à des signes de gravité. Ce dernier porte également sur les bords et le fond de l'ulcère, il s'effectue après une anesthésie topique, où il doit être appliqué via un fil d'une lame de bistouri à l'aide d'un écouvillon stérile. Il est conseillé d'utiliser des gants stériles sans talc pendant le prélèvement dans le cas où une demande de techniques moléculaire est nécessaire. Deux prélèvements sont nécessaires : l'un est disposée directement sur une lame de microscope afin de réaliser l'examen direct ; l'autre est ensemencer directement sur plusieurs milieux de culture dans le but d'identifier avec précision les bactéries responsables de

l'infection. L'examen direct est réalisé après la coloration de Gram est la coloration au May Grunwald Giensa afin de préciser et caractériser la présence ou l'absence des germes responsables. Il ne faut pas oublier que l'orientation dépend aussi d'une observation attentionnée des cellules inflammatoires. Si les bactéries sont retrouvées à l'intérieur du cytoplasme des polynucléaires neutrophiles ceci présente un signe d'une infection bactérienne. Les bactéries en croissance sont obtenues après une culture de 24 à 72 heures ; si le traitement avec les antibiotiques n'a pas avancé au moment du prélèvement. On peut identifier les germes et en particulier les bactéries responsables de kératites en utilisant des techniques et des méthodes plus modernes tels que la spectrométrie de masse ou bien à partir des techniques de séquençage si nécessaire. Généralement, on obtient un antibiogramme dans les 48 à 96 heures. (Labbé *et al.*, 2012).

On conclut que le prélèvement de type grattage a permis d'identifier les germes et les micro-organismes responsables avec un pourcentage de 56 à 86 % des cas (Shaefer *et al.*, 2001) ; (Bourcier. T *et al.*, 2003), alors que ce n'est pas le cas lorsqu'un traitement aux antibiotiques était déjà poursuivi où une anesthésie locale était incomplètement rincée avant le prélèvement, où il estimer par 41 à 58 % des cas. (Labetoulle *et al.*, 2002 ; Chédru-Legros *et al.*, 2007).

9. Thérapeutique

9.1. Traitement médical

Le traitement médical s'effectue par l'utilisation d'antibiotiques par voie topique dès la réalisation des prélèvements [(Vajpayee *et al.*, 2000 ; Bernett *et al.*, 1998)]. La méthodologie du traitement des kératites bactérienne dépend de l'absence ou de l'existence des signes de sévérité. Si cette dernière n'existait pas il peut-être utiliser un mono ou une bi - antibiothérapie à base d'antibiotiques classiques comme la fluoroquinolone (ofloxacine, ciprofloxacine), qui pourrait être associée ou non avec une autre classe tel que les macrolides les aminosides ou encore de la rifamycine, ces derniers doivent être prescrit avec une surveillance attentive qui dure les 24 heures. En outre, il existe d'autres molécules antibactériennes qui peuvent être utilisés en fonction de l'évolution clinique et les résultats obtenus par le laboratoire. Par contre, si les signes de gravité étaient présents avec absence de micro-organismes sur le frottis, dans ce cas-là il peut se faire une antibiothérapie à large

spectre qui sera actif à la fois sur les cocci à Gram positif et les bacilles à Gram négatif. Il s'agit également de la ticarcilline (7 mg/ml), La gentamicine (15 mg/ml) et de la vancomycine (50 mg par millilitre) (Tableau 2), ce type de traitement est utilisé sous forme de collyre qui sera appliqué tout le 5 minutes pendant 30 minutes dans un premier temps puis toutes les heures pendant 48 à 72h. [(Srinivasan *et al.*, 2012) ; (Suwan-Apighon *et al.*, 2007)].

Pour des kératites bactériennes qui sont moins sévères la durée de l'antibiothérapie dure environ 2 semaines alors qu'elle est de 4 semaines pour ceux qui sont à gravité importante. (Bourcier *et al.*, 2007).

Une injection sous-conjonctivale d'antibiotique peut être réalisée en cas d'une infection cornéenne sévère ou grave qui n'a pas répondu au traitement topique ou sous l'instillation des collyres. Néanmoins leur utilisation est déconseillée à cause du risque de nécrose conjonctival et d'un infarctus maculaire (Donnell, 1996).

Tableau 2 : Principaux antibiotiques locaux non associés disponibles en France et utilisés pour le traitement des kératites bactériennes (d'après dictionnaire Vidal, 2006).

UI : unités internationales.

Synthèse bibliographique

| Antibiotique | Famille | Collyre renforcé | Collyre/pommade d'officine |
|-----------------|--|------------------|--|
| Céfazoline | Céphalosporine 1 ^e Génération | 50mg/ml | - |
| Ceftazidime | Céphalosporine 3 ^e Génération | 12,5 ou 20mg/ml | - |
| Céfotaxime | Céphalosporine 3 ^e Génération | 50mg/ml | - |
| Ticarcilline | Carboxypénicilline | 7mg/ml | - |
| Pipéracilline | Uréidopénicilline | 20mg/ml | - |
| Imipénème | Carbapénème | 2mg/ml | - |
| Vancomycine | Glycopeptide | 25 ou 50mg/ml | - |
| Gentamycine | Aminoside | 15mg/ml | Gentalline collyre et pommade ophtalmique |
| Néomycine | - | - | Néomycine Diamant Collyre |
| Tobramycine | - | 20mg/ml | Tobrex collyre et Pommade ophtalmique |
| Amikacine | - | 25mg/ml | - |
| Chloramphénicol | Phénicolé | - | Cébénicol collyre |
| Bacitracine | Polypeptide | 5000 UI/ml | - |
| Colimycine | - | 125000 UI/ml | - |
| Oxytétracycline | Tétracycline | - | Posicycline collyre et pommade ophtalmique |
| Rifamycine | Rifamycine | - | RifamycineChibret collyre et pommade ophtalmique |
| Norfloxacin | Fluoroquinolone 2 ^e Génération | - | Chibroxine collyre |
| Ofloxacin | | - | Exocine collyre |
| Ciprofloxacine | | - | Ciloxan collyre et pommade ophtalmique |

:

9.2. Traitements adjuvants

Des mesures adjuvantes peuvent être rajoutés aux antibiotiques en supplément (Bourcier *et al.*, 2007), Il s'agit principalement des nano particules à la gélatine qui sont obtenus Par un mélange simple du nitrate d'argent, de maltose et de gélatine. Ces derniers sont utilisés en cas d'une mauvaise efficacité de l'antibiothérapie suite à une réduction de la pénétration des antibiotiques à travers la barrière oculaire, ou lorsqu'on est face à une kératopathie cristalline infectieuse (Porter *et al.*, 2018).

Il est nécessaire d'utiliser la ticarcilline qui présente une fonction Anti metalloproteinase qui a pour rôle d'inhiber la collagénase lorsqu'elle est secrétée avec les metalloproteinases afin d'assurer la keratolyse (Dursun *et al.*, 2001).

De plus, l'utilisation des corticoïdes dans le traitement est contestée puisqu' elle a la capacité d'induire une immuno- suppression. Néanmoins elle reste un moyen efficace en diminuant l'inflammation et en réduisant les cicatrices, la fusion stromale ainsi que la néovascularisation (Hindman *et al.*, 2009).

9.3. Traitements chirurgicaux

Dans certains cas, il est nécessaire de rajouter un traitement chirurgical à coté d'une kératectomie ou d'un traitement médical, il s'agit d'une greffe de la membrane amniotique qui peut être salutaire dans le cas d'une kératite bactérienne sévère à la phase aiguë de la maladie surtout lorsqu'il s'agit d'une surface oculaire pathologique. De plus, il a été prouvé que la membrane amniotique présentait un effet antalgique, anti-inflammatoire et antimicrobien.

Parfois, malgré l'utilisation d'un traitement médical, l'infection sévère peut conduire à une progression jusqu'au limbe, donc il serait nécessaire de réaliser une greffe de cornée à chaud. En outre, des méthodes de kératoplastie transfixiante ou lamellaire peuvent être utilisés (Anshu *et al.*, 2009), ou encore une amputation thérapeutique de LASIK sera effectuée en cas de nécessité.

En ce qui concerne une perforation de quelques diamètres de la colle cyanoacrylate, il peut se faire une greffe multicouche ou ce qu'on appelle un bouchon de la membrane amniotique. Les patients qui présentent des fontes stromales résistantes au traitement anti-infectieux, se traitent par un crosslinking cornéen (Tabibian *et al.*, 2016).

Enfin, pour les cas les plus graves, une injection rétrobulbaire de xylocaine/chlorpromazine, une éviscération et un recouvrement conjonctival sont à utilisés.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

La kératite bactérienne est considérée comme l'inflammation cornéenne la plus fréquente de toutes les kératites infectieuses (65 à 90%) (Shah et al., 2011 ; Keay et al., 2006), c'est une infection très grave qui provoque de nombreuses complications si elle n'a pas été traitée immédiatement (Karsten et al., 2016 ; Clemens et al., 2017), celle-ci peut entraîner un amincissement du stroma en plus d'une déviation de la membrane extracellulaire (Dakhil et al., 2017).

1. Présentation des articles et objectifs

Notre étude porte essentiellement sur deux articles différents. Le premier est connu sous le titre : abcès de cornée sur port de lentilles de contact : aspects cliniques, microbiologiques et thérapeutiques. Ce dernier a été réalisé par L.Benhmidoune et ses collaborateurs : A.Bensemlali, M.Bouazza et autres, il est publié en 2013 dans le journal français d'ophtalmologie où il était aussi disponible sur internet le 20 juin de la même année. La problématique de cette étude est l'augmentation du nombre des maladies et des abcès cornéens sévères chez les porteurs des lentilles de contact ; pour cela l'article a pour objectif de définir les aspects épidémiologiques, cliniques, microbiologiques, et la prise en charge des abcès graves de cornée nécessitant une hospitalisation au sein du service d'ophtalmologie.

Le deuxième article que nous sommes en train d'étudier c'est le : Bacterial and Fungal Biofilm formation on Contact Lenses and their Susceptibility to Lens Care Solutions, celui-ci est consigné par 3 auteurs dont Kackar.S, Suman.F et Kotian .MS en 2017. Il a été publié par Wolters Kluwer-Medknow dans le journal indien de microbiologie médicale. La problématique que les auteurs cherchent à résoudre au cours de cet étude est que la formation du biofilm sur les lentilles de contact ainsi que dans leurs étuis, peut être la première cause du développement des infections oculaires, donc le but principal serait de faire une comparaison entre la croissance des bactéries en biofilms sur les différents types de lentilles de contact et celle présente dans leurs étuis. De plus, il vise à caractériser l'action des solutions d'entretien des lentilles et des bactériophages également sur les biofilms.

2. Analyse des articles

Article N° 01

Titre : Abcès de cornée sur port de lentilles de contact : aspects cliniques, microbiologiques et thérapeutiques.

Auteurs : L. Benhmidoune, A. Bensemlali, M. Bouazza, R. Karami, H. El Mansouri, M. El Belhadji, R. Rachid, A. Chakib, A. Amraoui en 2013.

2.1. Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive, non comparative portant sur une série de cas de patients hospitalisés au service d'ophtalmologie du centre hospitalier universitaire de Casablanca présentant un abcès de cornée sur port de lentilles de contact entre janvier 2009 et janvier 2012. Au cours de cette étude Ils ont collecté toutes les données nécessaires pour chaque patient, d'âge, le sexe, les antécédents ophtalmologiques et généraux, la durée moyenne du port de lentille jusqu'à la déclaration de l'infection, le type de lentille portée (cosmétique ou correctrice), le délai moyen de consultation, et l'observance des règles d'hygiènes également l'ancienneté des signes fonctionnels et les traitements déjà reçus avant l'hospitalisation.

Deux examens ont été effectués, l'un est un examen clinique pour mesurer l'acuité visuelle corrigée et l'autre est un examen biomicroscopique afin de détailler les lésions et les signes de gravités.

Les patients ont bénéficié des prélèvements cornéens pour examen bactériologique, parasitologique et mycologique ainsi q'un examen direct et culture.

Initialement les patients en général ont reçus une antibiothérapie locale probabiliste, ainsi qu'une antibiothérapie générale en cas d'endophtalmie, à base de collyres renforcés ceftazidime (50mg/ml) +vancomycine (50mg/ml) à raison d'une goutte horaire pendant 72 h combinés à la tobramycine collyre et/ou ciprofloxacine collyre et de l'hexamidine (Desomédine®) à dose de charge d'une goutte huit fois par jour.

S'il y a une amélioration clinique, la posologie était diminuée pour les collyres fortifiés à une goutte toutes les huit heures par contre après 72h s'il n'y a pas d'amélioration et en cas de suspicion d'atteinte fongique ou amibienne, la polymixine contenu dans la Cébéméxine®, de l'amphotéricine B en collyre fortifiés (2,5 mg/ml) et du fluconazole per os (800 mg le premier jour puis 400 mg/j) ont été ajoutés.

Dans le cas d'endophtalmie, ils ont associé au ceftazidime 3g/ j injectable pendant 5 jours ; suivi d'un relai par voie oral, aux moyennes de 2 à 3 injection intravitréenne de ceftazidime (2 mg dans 0,05 mL) et de vancomycine (1 mg dans 0,05 mL). Le contrôle médical correspond d'un coté à l'évaluation de l'AV post-thérapeutique et d'autre à l'évolution des lésions. La régression moyenne était de trois mois.

2.2.Résultats

La médiane d'âge des patients était de 22 ans en plus des extrêmes compris entre 16 à 40ans. Parmi 88,2% il s'agissait d'une femme, ce qui correspond un sexe ratio de 7,5. Ils ont été découverts des facteurs de risque généraux (diabète, tuberculose) dans 17,5% des cas.

La plupart des patients étaient des porteurs de lentilles cosmétiques, achetés dans des cosmétiques ou un opticien sans ordonnance dont la majorité de ces porteurs étaient des jeunes filles avec une proportion de 58,8%.

Pour les lentilles cosmétiques, l'infection est apparue après dix jours de port (30 minutes — deux mois) en moyenne ; et après 17 mois en moyenne pour les lentilles correctrices (deux à 36 mois). D'autres difficultés infectieuses étaient observées le plus grand nombre de cas tel que le non-respect des règles de port des lentilles, un lavage avec l'eau du robinet, le port de lentilles pendant la nuit.

Des signes fonctionnels tell qu'une baisse de l'AV avec des douleurs et une rougeur oculaire étaient enregistrés chez tous les patients. Un traitement antibiotique préalable avait déjà été instauré chez 19,6 % des patients.

L'AV initiale allait de perception lumineuse positive à 4/10 avec une acuité inférieure à 1/10 dans 82,3 % et 41,2% des cas ont été présentés une inflammation des annexes.

Dans cette étude, 70,6% ont enregistrés un abcès central de taille de 4,3mm en moyenne avec des extrêmes allant de 2mm à 8mm dont il était unique chez 86,3% des cas. L'atteinte était stromale profonde dans 52,9 % des cas.

L'auteur et ses collaborateurs ont remarqués aussi l'existence d'une inflammation de la chambre antérieure à type de Tyndall par l'examen objective des cellules inflammatoires et des protéines circulant dans l'humeur aqueuse ou d'hypopion chez 47,1% des cas (Tableau 3).

Tableau 3 : Caractéristiques cliniques des lésions

| Caractéristiques cliniques | Nombre | Pourcentage |
|-----------------------------------|--------|-------------|
| Situation | | |
| Centrale | 36 | 70,6 |
| Périphérique | 15 | 29,4 |
| Atteinte stromale profonde | 27 | 52,9 |
| Lésions périphériques | | |
| Ulcérations et microabcès | 15 | 29,4 |
| Réaction de la chambre antérieure | 24 | 47,1 |
| Inflammation des annexes | 21 | 41,2 |

Des photographies du segment antérieur de deux patients peuvent également être utiles pour documenter la progression de la kératite (figure 10).

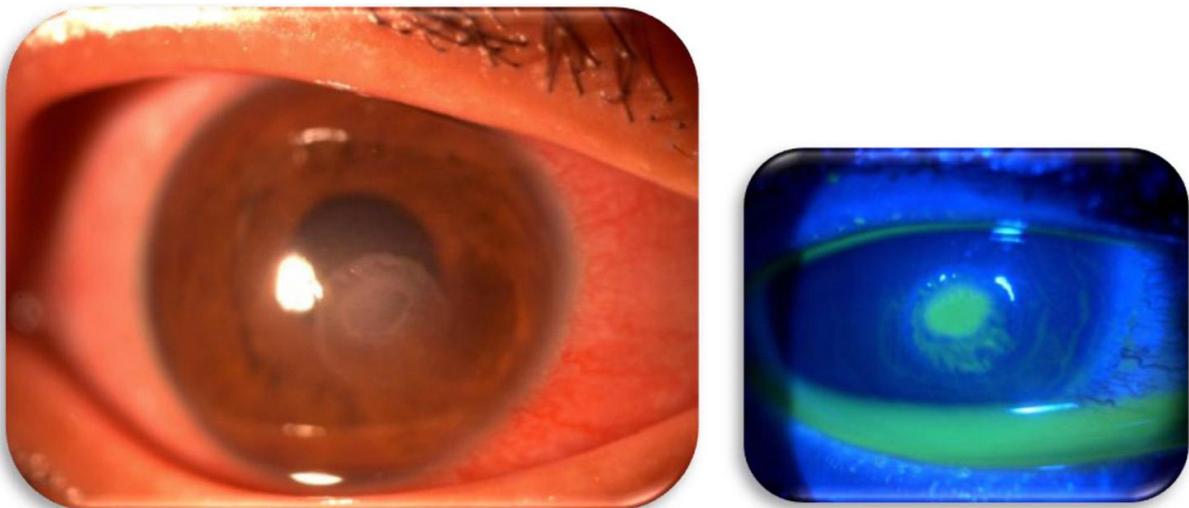


Figure 10 : Abscès de cornée sur port de lentilles correctrices chez une femme de 34 ans. Pas de germe retrouvé à la culture.

Les patients ont bénéficié d'un grattage cornéen avec recherche bactérienne et mycologique. Une proportion de 47,7% des patients ont eu un test positif, avec un germe identifié, sans réalisation d'une biopsie. Les résultats des prélèvements sont présentés dans les (Tableau 4 et 5).

Tableau 4 : Résultats des prélèvements du grattage cornéen des patients

| Germes | Nombre | Pourcentage |
|----------------------------------|--------|-------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12 | 50 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3 | 29 |
| <i>Staphylococcus coagulase—</i> | 4 | |
| <i>Serratia marcescens</i> | 2 | 8,5 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 | 4,2 |
| <i>Acanthamoeba</i> | 1 | 4,2 |
| <i>Fusarium</i> | 1 | 4,2 |

Tableau 5 : Résultats des prélèvements du liquide de conservation et du boîtier de nos patients.

| Germes | Nombre | Pourcentage |
|-----------------------------------|--------|-------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12 | 54.5 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3 | 31.8 |
| <i>Staphylococcus coagulase -</i> | 4 | |
| <i>Acanthamoeba</i> 1 | 4.5 | |
| <i>Serratia marcescens</i> 1 | 4.5 | |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 | 4.5 |

Le profil bactériologique de notre étude a montré une prédominance des bacilles à Gram négatif dont 50% dû au *Pseudomonas aeruginosa* qui se caractérise par un début brutal, des sécrétions mucopurulentes jaunes et vertes et 8,5% par *Serratia marcescens* qui sont trouvées surtout chez les porteurs de LC, les autres bactéries retrouvées étaient les cocci gram positifs (*Staphylococcus aureus* à coagulase-) à 29%. Une seule atteinte mycosique a été notée *Fusarium*) et un cas d'amibe (*Acanthamoeba*).

Une réalisation d'un examen du boîtier et du liquide de conservation pour 22 patients a été positif pour 73,6%. Avec *Pseudomonas* (54,5%) et de *Staphylocoque* (31,8%) comme germes responsables de contamination.

Une à trois injections intravitréennes d'antibiotique (ceftazidime et vancomycine) ont été administrées à ces patients suivit d'un traitement par voie oral. Pour l'évolution de l'AV, 39,2% des patients ont gardé une acuité inférieure à 1/10 e sur l'œil atteint. Ils ont suivi l'évolution des acuités dans la (figure 11). Durant le suivi, ils ont évalué l'évaluation l'abcès elle a été favorable que dans 41,2% en plus une restitution de la transparence cornéenne, alors qu'elle était défavorable pour le reste des cas ; avec la présence d'une opacité séquellaire compromettant l'axe visuel dans 49,3 % et de néovaisseaux cornéens superficiels et profond dans 27,8 % des cas.

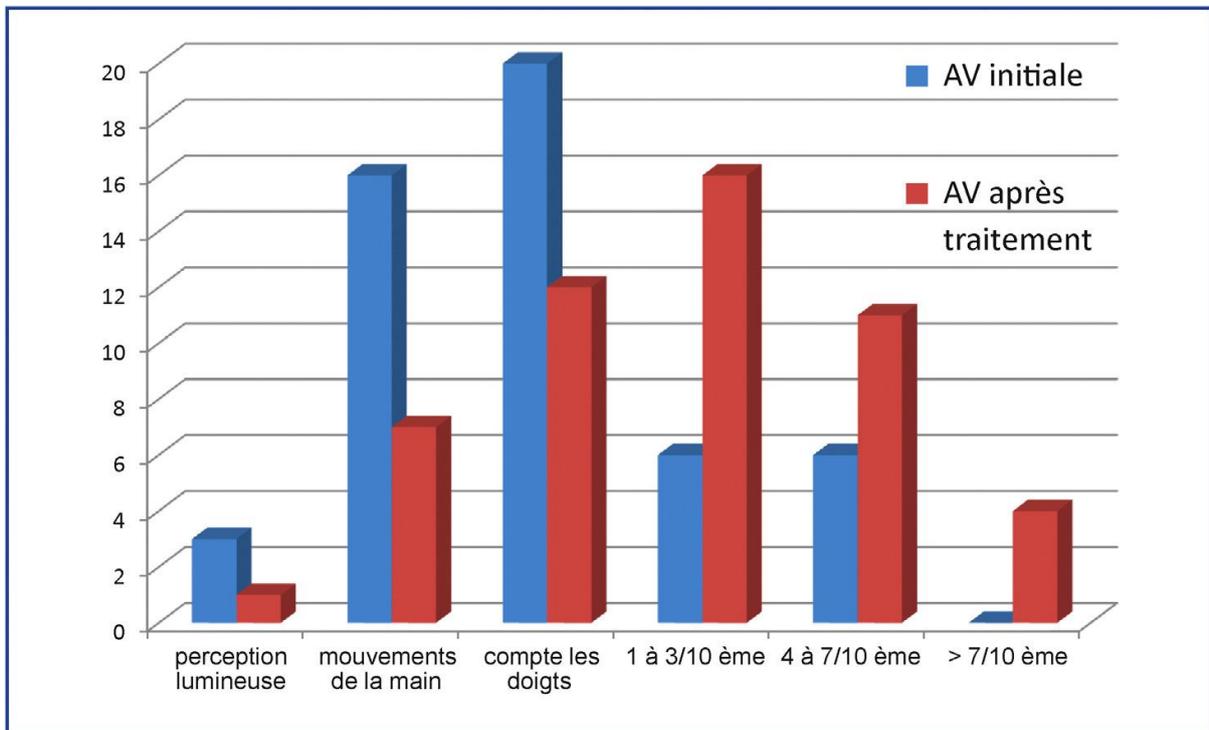


Figure 11 :Évolution de l'acuité visuelle (AV) avant et après traitement avec un recul de trois mois.

2.3.Discussion

Les lentilles de contact sont un corps étranger directement posé sur l'œil, elles représentent le plus fréquent des facteurs de risque qui conduisent à des abcès cornéens. Dans notre série de patients la plupart sont des porteurs de lentilles exclusivement cosmétiques environ 60%. De prédominance il s'agissait surtout des femmes jeunes et mineures. Dans ce

contexte tous les patients ont des facteurs de risque de complications infectieuses, soit l'inconscience des patients pour les règles de port des lentilles tels que le port nocturne et permanence, les erreurs d'hygiène et l'utilisation de lentilles multi patients. Les résultats de prélèvements n'étaient positifs que dans la moitié des patients (Tableau 6). Ces résultats montrent qu'il s'agit d'un taux réduit par rapport aux études d'autres pays tels que l'étude française : 91 % (Perol et al., $n = 83$) ou l'étude brésilienne : 65 % (Moriyama et Hofling-Lima, $n = 366$). En revanche, notre étude rejoint une série japonaise de 66 cas avec 44,8 % de positivité.

Cela peut être démontré par l'auto-traitement répété des patients avant leur arrivée à l'hôpital à cause de non-respect des règles d'hygiène et mauvaise manipulation de leur structure avec le laboratoire d'analyse pour ces échantillons.

De préférence faire les grattages au sein du laboratoire dans des conditions propice afin d'idéaliser le pourcentage de positivité. Notre série est comparable aux séries de la littérature tant en termes des germes (Tableau 6).

Le profil bactériologique de cette étude présenter une prépondérance de bacilles gram négatifs principalement *Pseudomonas aeruginosa* contrairement aux autres pays comme le Japon où les cocci gram positifs qui ont le pourcentage le plus élevé (83 % des cas).

En comparaison avec une étude française ou brésilienne l'atteinte d'amibe ou de levure est très faible comprise entre 10 et 40% (Tableau 6). La cause la plus probable de l'augmentation du nombre de kératites amibiennes est la popularisation des lentilles de contact, elles ont retrouvé dans 90% des cas. Le fait de ne pas en trouver dans notre série s'expliquerait par une confirmation biologique difficile (à cause d'une sensibilité insuffisante de l'examen direct et de la culture) et par le fait que la PCR ou la microscopie confocale qui améliorent sensiblement le diagnostic microbiologique ne sont pas d'utilisation courante dans ce contexte.

Le schéma de traitement proposé dans cette étude rejoint celui de la littérature. La difficulté qui est rencontrée était le retard d'activation et même le contrôle de ces infections bien qu'un bon traitement soit fourni.

Tableau 6 : Comparaison des germes retrouvés dans notre série avec ceux retrouvés dans d'autres séries étrangères.

| Catégorie des germes | Germes | Notre série (%) | Inoue et al. (Japon, 2007) n = 66 (%) | Perol et al. (France, 2009) n = 83 (%) | Moriyama et Hofling-Lima (Brésil, 1986) n = 366 (%) |
|----------------------|---------------------|-----------------|---------------------------------------|--|---|
| Bactéries | Cocci+ | 36 | 83 | 12.5 | 45.2 |
| | <i>Pseudomonas</i> | 64 | 5.7 | 54.3 | 21.7 |
| Amibes | <i>Acanthamoeba</i> | 4.5 | 2.9 | 12.5 | 39.7 |
| Mycoses | | 4.5 | 8.6 | - | 1.67 |

La progression des abcès sur port de lentilles reste faible en cas de retard de consultation (ce qui équivaut à cinq jours dans cette étude).

D'après la littérature ils ont observé que l'acuité visuelle moyenne finale reste faible (à l'entour de 1/10e) malgré un traitement agressif c'est ce qu'il montre la gravité de ces infections. Il est toujours considéré comme une pathologie grave exposant à des séquelles cornéennes irréversibles obligeait l'utilisation des kératoplasties lamellaires ou transfixiante ils n'ont aucune idée de ce qui arrivera à leurs patients mais, actuellement des greffes transfixiantes de cornée sur des séquelles de kératite sont réalisées pour cette série. Pour conclure cette étude la commercialisation des lentilles cosmétiques.

Article N° 02

Titre: Bacterial and Fungal Biofilm formation on Contact Lenses and their Susceptibility to Lens Care Solutions.

Auteurs: Siddharth Kackar, Ethel Suman, M. Shashidhar Kotian.

2.4. Matériels et méthodes

2.4.1. Les germes utilisés

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *E. coli* sont des germes qui ont été choisis par l'auteur et leur équipes après une autorisation du comité d'éthique institutionnel, ce choix a été fait dans le but d'étudier l'effet anti-biofilm du

bactériophage. Cette étude était réalisée dans le département de microbiologie, KasturbaMedicalcollege, Mangalore.

2.4.2. Types de lentilles et de solutions d'entretiens utilisés

L'auteur et ses collègues se sont appuyés dans leurs études sur un seul type de lentilles dures qui est le reflufocon A : lentille RGP en plus de deux types de lentilles souples dans la première était une lentille en silicone hydrogel (etafilcon A) et la deuxième était une lentille Poly 2-hydroxyethyl methacrylate (pHEMA). En outre, les solutions d'entretien étaient utilisées dans le but d'étudier leurs activités anti-biofilm, parmi eux on trouve : le RGP lens solution (glucose 0.006% p/v) ; le carboxyméthylcellulose (0.02%) ainsi que le Disodiummethylenediaminetetraaceticacid (EDTA), sans oublier les solutions de lentilles souples 1 comme l'eau purifiée, CMC et l'HPMC, et les solutions de lentilles souples 2 tels que : l'hydroxyalkylphosphonate, l'acide borique et la poloxamine.....etc

Afin de réaliser l'étude *in vitro*, les scientifiques ont pris un coliphage brut à partir d'une eau d'égout, de plus des échantillons de lentilles étaient préparés comme suit : 18 lentilles de contact RGP inutilisés avec 24 autres qui sont souples mais de deux types. Ces dernières ont été soumises chacune pour la création d'un biofilm à partir des germes choisis précédemment, cette étape été réalisée en trois exemplaires, néanmoins 7 lentilles souples de type 1 étaient laissées pour étudier après l'action du phage sur le biofilm formé.

2.4.3. Formation du biofilm sur les lentilles de contact

La méthode de formation du biofilm *in vitro* sur laquelle l'auteur et ses collègues se sont appuyés est celle de O'toole et Kolter dont le protocole est très simple, où ils ont préparé 200 microlitres de bouillon de culture de Brain Heart Infusion (BHI) de 48 heures, additionné au bouillon des microorganismes, le mélange a été rajouté à chacune des lentilles placées dans leurs étuis, et incubé à 37 °C pendant 48 h.

Juste après l'incubation, les manipulateurs prenaient ce bouillon en le plaçant dans une plaque de microtitration à raison de 200 microlitres par puit. Après avoir terminé ses étapes, les scientifiques ont mesuré de la densité optique en utilisant un spectrophotomètre.

Par la suite les lentilles ont été traités par un fixateur de Bouin pendant 10 minutes, puis rincées par une solution saline tamponnée (PBS) de pH 7,4 ce dernier a été aspiré des lentilles jusqu'à ce qu'ils soient totalement secs.

Deux séries de lentilles ont été manipulées, dont la première a été traitée par le même principe mentionné précédemment ; où ils ont été observés par la suite à l'aide d'un microscope électronique à balayage. Alors que le deuxième a été soumis à un comptage de colonies à l'aide d'un écouvillon, les manipulateurs ont prélevé les colonies présentes dans les lentilles en les plaçant dans une gélose nutritive, puis incubés à 37°C pendant 48 heures dans le but d'être dénombrés. Les résultats du comptage réalisé ont été mentionnés dans un tableau.

2.4.4. Formation du biofilm sur des étuis à lentilles

Les biofilms formés dans les étuis à lentilles ont été traités par le même principe mentionné précédemment (le dénombrement ou le comptage des colonies) dont les résultats étaient aussi disposés dans un tableau.

2.4.5. Effet des solutions d'entretien des lentilles sur les biofilms

L'auteur et ses collaborateurs ont étudié l'impact des solutions de nettoyage des lentilles sur les biofilms formés à l'intérieur de celles-ci. Cette étape est faite en ajoutant 200ul de bouillon contenant les germes. Ce mélange préparé a été incubé pendant une durée de 48h à 37°C dont le surnageant a été aspiré dans des plaques de microtitration juste après l'incubation. Après rinçage des lentilles traitées, les scientifiques les plaçaient au MEB pour l'observation. Après avoir terminé le processus, les résultats obtenus étaient analysés et les valeurs de la DO étaient enregistrées et tabulées.

2.4.6. Isolement du bactériophage

Les auteurs ont prélevé un échantillon à partir d'une eau usée traitée qui provient de la station d'épuration afin d'isoler le bactériophage nécessaire pour leur étude. Cette étape d'isolation consiste à faire centrifuger l'échantillon prélevé pendant 10 min, dont 1ml du surnageant était additionné à 5ml du bouillon de culture contenant *E.coli*.

Les manipulateurs ont incubé le mélange préparé à une température de 37°C pendant 18 à 24h en laissant une quantité de 1.5ml qui a été centrifugée dans le but de détruire toutes les cellules bactériennes. Le surnageant formé était filtré par un filtre de membrane de 0.45um, et le filtrat obtenu était dilué jusqu'à 10^{-5} afin de confirmer la présence du bactériophage, dont les 100ul étaient rajoutés à 1ml d'une culture de *E.coli*.

Ces derniers ontensemencé le tout dans des plaques contenant une gélose molle fondue où ils étaient incubés par la suite à 37°C pendant 24h sous une position verticale, puis observés et dénombrés en unité formant des plaques/ml/g (pfu/ml/g). Les bactériophages obtenus ont été conservés à une température base de -20°C.

2.4.7. Effet du bactériophage sur les biofilms des lentilles de contact

La lentille souple de type 1 était utilisée dans le but d'étudier l'action et l'effet du bactériophage sur les biofilms détectées au niveau de celle-ci. Cette opération était réalisée par des méthodes semblables à celles utilisées pour analyser l'action des solutions d'entretien des lentilles.

Les manipulateurs prenaient un volume de 200ul à partir d'une dilution de 10^{-2} de la suspension du phage ; qui a été ajoutée à 200ul du bouillon de culture contenant les germes étudiés (*S.aureus*, *P.aeruginosa* et *E.coli*), puis ils les ont incubés pendant 48h à 37°C dont le surnageant était aspiré dans des plaques de micro titration. Les valeurs de la DO étaient enregistrées par la spectrophotométrie alors que les colonies qui se trouvent dans les lentilles étaient dénombrées dont les valeurs ont été tabulées.

2.4.8. Analyse statistique

L'auteur et ses collègues ont pratiqué les essais précédents en trois exemplaires, ils ont réalisé une analyse statistique des données en utilisant le SPSS 16.0 pour Windows et le test de Kruskal-Wallis ainsi que le test de chi-carré, dont les deux dernières étaient considérées comme statistiquement significatives.

2.5.Résultats

2.5.1. Formation du biofilm sur les lentilles de contact

Après une observation attentive au MEB, les scientifiques ont trouvés que les microorganismes utilisés durant cette étude ont formé un biofilm abondant sur les deux types de lentilles ou ils ont constaté que celui-ci était plus dense sur les lentilles souples de type 1 que de type 2 (Tableau 7) et aussi par rapport aux lentilles dures. Néanmoins la quantité du biofilm formé à la surface des lentilles n'a pas été observée d'une manière précise.

Tableau 7 : Effet de la solution de nettoyage des lentilles et bactériophage sur les valeurs OD_{570} du surnageant fluide.

| Lentille | Solution | Moyenne DO₅₇₀ | P |
|--------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------|
| Lentille dure | En l'absence de solution | 1.245±0.39 | |
| | En présence de solution | 0.450±0.37 | <0.001 (VHS) |
| Lentille souple 1 | En l'absence de solution / phage | 1.352±0.59 | |
| | En présence de solution 1 | 0.692±0.18 | <0.001 (VHS) |
| | En présence de solution 2 | 0.146±0.04 | <0.001 (VHS) |
| | En présence de phage | 0.839±0.66 | 0.067 (NS) |
| Lentille souple 2 | En l'absence de solution | 1.250±0.26 | |
| | En présence de solution 1 | 0.650±0.09 | <0.001 (VHS) |
| | En présence de solution 2 | 0.319±0.08 | <0.001 (VHS) |

2.5.2. Formation du biofilm sur les étuis des lentilles de contact

En ce qui concerne les biofilms sur les étuis de lentilles, l'observation réalisée par les scientifiques à l'aide du MEB à montrer la formation de celui-ci sur leurs surfaces. Cette dernière est indiquée non seulement par la DO₅₇₀ mesurée mais aussi par les colonies dénombrées.

2.5.3. Effet des solutions de nettoyage des lentilles sur les biofilms

Pour les lentilles qui sont dures, l'auteur et ses collaborateurs n'ont pas trouvé une grande réduction du nombre de colonie sous l'effet des solutions d'entretien contrairement aux lentilles souples 1 et 2, où ils ont remarqué une baisse notable ($p = 0.020$).

En outre, le bactériophage n'avait aucun effet sur les lentilles de contact et leurs étuis car aucune réduction n'a été observée. La DO_{570} mesurée du surnageant à confirmer la diminution du nombre de colonies dans le cas des lentilles souples et dures en présence de leurs solutions de nettoyage.

Les résultats trouvés étaient similaires à celles observées par le Scanning Electron Microscopy (SEM). Les scientifiques ont constaté que la solution d'entretien des lentilles souples 2 étaient plus puissantes que celles des lentilles souples de type 1 et que la présence du bactériophage n'avait aucun impact pour réduire les biofilms formés à leurs surfaces.

2.6. Discussion

Selon l'étude réalisée par l'auteur et ses collègues, il a été trouvé que plusieurs germes dont les bactéries et les champignons (*Candidasp*) ont la capacité de produire des biofilms à la surface des lentilles de contact quel que soit leurs natures. De plus, ils ont démontré que les lentilles de contact ainsi que leurs étuis favorisent le développement des biofilms et que cette formation à l'intérieur des lentilles peut être la cause de l'apparition des kératites microbiennes chez leurs porteurs prolongés.

Imamura et al (2008), ont réalisé une étude sur différents types de lentilles comme le galylicon A et le lotrafilcon A ... où les résultats ont montré que les champignons *Fusarium* et *Candida* ont formé des biofilms sur toutes les types choisis et que leur architecture était variée en fonction du type de lentille utilisée.

En utilisant le modèle du biofilm créer *in vitro* ils ont affirmé que les candida et les fusarioses planctoniques qui sont phylogénétiquement diversifiés étaient sensibles au Moistureloc et au multiplus. L'étude réalisée par l'auteur et ses collègues à montrer que la nature de la lentille n'avait aucune action sur le développement du biofilm, cette dernière était semblable à celle rapportée par Retuerto et al (2012), au cours de leurs analyses.

En outre, les résultats trouvés par l'auteur et ses collègues ont décelé que les solutions d'entretien des lentilles souples présentaient un effet inhibiteur en réduisant la formation du biofilm au cours de leurs surface, celles incluant de l'hydroxyde alkyl phosphonate, de l'acide borique et de l'acétate en plus de la poloxamine disodique et le borate de de sodium pour les solutions de type 2 étaient plus efficaces que d'autres qui contiennent de l'eau purifiée ou de l'HPMC. Lors d'une étude réalisée précédemment, il a été démontré que le peroxyde d'hydrogène avec la solution quaterniummyristamidopropylDiméthylamine avait un effet

antifongique contre les souches de *Fusarium* formés à la surface des lentilles (Retuerto *et al.*, 2012).

L'effet inhibiteur des solutions d'entretien des lentilles de contact à confirmer que leur utilisation permet de prévenir d'un côté le développement du biofilm sur les lentilles et leurs étuis mais aussi contre la formation des abcès oculaires d'un autre côté. Les scientifiques ont prouvé que selon leurs études, les bactériophages n'avaient aucun effet significatif puisqu'ils ont utilisé des coliphages bruts qui ne sont pas spécifiques pour l'inhibition des biofilms de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa*.

Selon des études et des analyses effectuées précédemment, il a été montré que l'utilisation des endolysines des bactériophages en plus des phages modifiés présentant des enzymes anti-biofilms, peut être considérée comme une solution parfaite pour l'arrachage des biofilms de nature bactériens.

CONCLUSION

Au cours de cette étude, deux articles scientifiques étaient analysés sur le risque de port de lentilles de contact formant un nid favorable à la croissance des bactéries en biofilm, et qui constitue une source principale de la survenue des kératites bactériennes sévères. Le but majeur étant de déterminer et de préciser les caractéristiques cliniques, microbiologiques et épidémiologiques des infections cornéennes notamment des kératites bactériennes qui surviennent essentiellement suite à l'utilisation intensive des lentilles de contact, en plus d'une étude comparative sur la croissance du biofilm sur les lentilles et leurs étuis ; où ils visent à déterminer l'impact de leurs solutions d'entretien et des bactériophages également sur leur développement.

Dans ce travail, il a été constaté que 17.5% du total des patients présentaient une kératite bactérienne suite à des facteurs généraux, alors que 58.8% des cas étaient dues essentiellement au port des lentilles cosmétiques. La même chose pour 41.2% qui portaient des lentilles correctrices.

D'autre part, il a été trouvé que les solutions de nettoyage des lentilles de contact étaient efficaces sur la formation du biofilm, contrairement aux bactériophages.

L'inflammation cornéenne survient rarement à la suite du port de lentilles de contact et apparaît le plus souvent à cause de certains facteurs fondamentaux qui y conduisent. Cependant, elle peut être très grave en raison des dommages qu'elle provoque, ce qui peut affecter le pronostic visuel également. Par conséquent, l'éducation des utilisateurs des lentilles de contact est considérée comme l'une des propriétés de l'ophtalmologiste et de leurs prescripteurs pour cela, une réglementation stricte doit être élaborée afin de limiter la vente des lentilles, notamment cosmétiques.

L'étude réalisée précédemment concernant les biofilms a prouvé que les solutions d'entretien des lentilles de contact permettent de prévenir le développement du biofilm sur leurs surfaces. De plus, il a été confirmé que des recherches récentes sur le revêtement de surface anti-biofilm ainsi que l'utilisation des bactériophages modifiés exprimant des enzymes, permettent de minimiser le risque d'apparition des infections liées au port de lentilles de contact en raison de biofilm.

BIBLIOGRAPHIE

- A.Labbé, S. Kallel, A. Denoyer, B. Dupas, C. Baudouin *Journal Français d'Ophthalmologie*, Volume 35, Issue 8, October 2012, Pages 628-634.
- Akhtar, S., B.C. Kerr, A.J. Hayes, C.E. Hughes, K.M. Meek, and B. Caterson. 2008. Immunochemical localization of keratan sulfate proteoglycans in cornea, sclera, and limbus using a keratanase-generated neoepitope monoclonal antibody. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 49:2424-31.
- Allouch-Nahmias C., Goldschmit P., Borderie V., Touzeau O., Gaujoux T., Laroche L., Goemaere I. et Rault J., 2011. Anatomie de la cornée. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale – Ophthalmologie*, 21003-A-10, 1-16. Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.
- Anshu A, Parthasarathy A, Mehta JS, Htoon HM, Tan DT. Outcomes of therapeutic deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for advanced infectious keratitis: a comparative study. *Ophthalmology* 2009;116:615–23.
- ARFFA RC. Grayson's diseases of the cornea. St. Louis : Mosby Year Book ; 1991. Infectious ulcerative keratitis : Bacterial ; pp. 163-198.
- Argueso P. Glycobiology of the ocular surface: mucins and lectins. *Jpn J Ophthalmol* 2013 ; 57 : 150-5.
- Asselin et Houzeau. « Traité d'anatomie topographique avec applications à la chirurgie, » Volume 1 P. Asselin, 1877 - 1221 pages.
- Azzarolo AM, Bjerrum K, Maves CA, et al. Hypophysectomy- induced regression of female rat lacrimal glands : partial restoration and maintenance by dihydrotestosterone and prolactin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995 ; 36 : 216-26.
- B. Cochener, C. Albou-Ganem, G. Renard, Presbytie, Elsevier Masson.
- Bennett HG, Hay J, Kirkness CM, Seal DV, Devonshire P. Antimicrobial management of presumed microbial keratitis: guidelines for treatment of central and peripheral ulcers. *Br J Ophthalmol* 1998; 82:137-45.
- Bonhomme MD, PhD 3,5,6, A. Vabret, MD, PhD 4,5,6, O. Join-Lambert, MD, PhD 3,5,6 †5! , A-L. Lux, MD1, 6
- Boro, A. (2014). Aspects épidémio-cliniques des kératites au CSRéf de la commune V du district de Bamako.
- 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;87:834-8.

- Bourcier T, Thomas F, Borderie V, et al. Bacterial keratitis : predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br J Ophthalmol* 2003 ; 87 : 834-8.
- Bourcier, T., Chatel, M.-A., Chaumeil, C., Borderie, V., & Laroche, L. (2007). Kératites bactériennes. *EMC - Ophtalmologie*, 4(2), 1–9.
- Butovich IA. The Meibomian puzzle : combining pieces together. *Prog Retin Eye Res* 2009 ; 28 : 483-98.
- Chédru-Legros V, Fines-Guyon M, Chérel A, Perdriel A, Albessard F, Debruyne D, et al. Stabilité à – 20°C des collyres antibiotiques renforcés (amikacine, ceftazidime, vancomycine). *J Fr Ophtalmol.* oct2007;30(8):807- 13. 32. Chiquet C, Romanet J-P. Prescrire les collyres fortifiés. *J Fr Ophtalmol.* avr2007;30(4):423- 30.
- Cintron C. The molecular structure of the corneal stroma in health and disease. In: Chandler JW, Sugar J, Edelhauser HF, editors. *External diseases:cornea, conjonctiva, sclere, cyclids, lacrimal system.* London: CV Mosby; 1994.
- Clemens, L.E., Jaynes, J., Edward Lim, Kolar, S.S., Reins, R.Y., et Baidouri, H. (2017). Designed Host Defense Peptides for the Treatment of Bacterial Keratitis, doi: 10.1167/iops.17-22243.
- Cohen EJ. Management of small corneal infiltrates in contact lens wearers. *Arch Ophthalmol* 2000 ;118:276-7.
- Cope JR, Collier SA, Rao MM, Chalmers, R. Mitchell, L. et Richdale, k. (2015). Contact lens wearer demographics and risk behaviors for contact lens-related eye infections: United States, 2014. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2015;64:865–870.
- D.MASSOUDI 2011 Approches thérapeutiques des opacités cornéennes par modulation de l'activité de protéinases de la matrice extracellulaire(these)
- Dakhil TAB, Stone DU, et Gritz DC. (2017). Adjunctive Therapies for Bacterial Keratitis. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 24(1):11–17. doi: 10.4103/meajo.MEAJO_264_16.
- Dawson CR, Schachter J, Stephens RS.Chlamydial keratoconjunctivitis. In: "Pepose JS, Holland GN, Wilhelmus KR,Ocular infection and immunity" Mosby, St-Louis, 1996;63,818-29.
- Department of Biostatistics, CHU de Caen Normandie, Caen, France, Caen, France
- Dictionnaire Vidal, 2006.
- Dupps, W. J., & Wilson, S. E. (2006). Biomechanics and wound healing in the cornea. *Experimental Eye Research*, 83(4), 709–720.

- Dursun, D. Kim, MC. Solomon, A. et Pflugfelder, SC. (2001) Treatment of recalcitrant recurrent corneal erosions with inhibitors of matrix metalloproteinase-9, doxycycline and corticosteroids. *Am J Ophthalmol.* 132:8-13.
- Erie JC, Nevitt MP, Hodge DO, Ballard DJ. Incidence of ulcerative keratitis in defined population from 1950 through 1988. *Arch Ophthalmol* 1997; 111 ; 1665-71
- Goldschmit P, Borderie V, Touzeau O, Gaujoux T, Laroche L, Goemaere I, Rault J. Anatomie de la cornée. *Ophtalmologie*, 2011; 8(3): 1-16.
- Gudmundsson OG, Ormerod LD, Kenyon KR, Glynn RJ, Baker AS, Haaf J, et al. Factors influencing predilection and outcome in bacterial keratitis. *Cornea* 1989;8:115-21.
- Hindman, HB. Patel, SB. et Jun, AS. (2009). Rationale for adjunctive topical corticosteroids in bacterial keratitis. *Arch Ophthalmol.* 127:97-102.
- Kabosova, A., D.T. Azar, G.A. Bannikov, K.P. Campbell, M. Durbeej, R.F. Ghohestani, J.C. Jones, M.C. Kenney, M. Koch, Y. Ninomiya, B.L. Patton, M. Paulsson, Y. Sado, E.H. Sage, T. Sasaki, L.M. Sorokin, M.F. Steiner-Champlaud, T.T. Sun, N. Sundarraj, R. Timpl, I. Virtanen, and A.V. Ljubimov. 2007. Compositional differences between infant and adult human corneal basement membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48:4989-99
- Karsten, E. Watson, SL. et Foster, LJ. (2012). Diversity of microbial species implicated in keratitis: A review. *Open Ophthalmol J.* 6:110–24. doi: 10.2174/1874364101206010110. Kawashima, M. Kawakita, T. Den, S. Tomita, M. et Shimazaki, J. (2009). *Eye (Lond)*. Feb; 23(2):339-44.
- Keay, L. Edwards, K. et Naduvilath, T. (2006). Microbial keratitis predisposing factors and morbidity. *Ophthalmology.* 113:109–16. DOI:10.1016/j.ophtha.2005.08.013.
- Keay, L. Edwards, K. et Naduvilath, T. (2006). Microbial keratitis predisposing factors and morbidity. *Ophthalmology.* 113:109–16. DOI:10.1016/j.ophtha.2005.08.013.
- KRACHMER JH, MANNIS MJ, Bacterial keratitis. *Cornea and external disease: clinical diagnosis and management.* CV Mosby: 1997;1275-1306.
- 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.

- Leger, AJ, Desai, JV, Drummond, RA, Kugadas, A, Almaghrabi, F, Silver, P., ... Caspi, RR. (2017). An Ocular Commensal Protects against Corneal Infection by Driving an Interleukin-17 Response from Mucosal $\gamma\delta$ T Cells. *Immunity*. 2017 Jul 18;47(1):148-158.e5. Doi: 10.1016/j.immuni.2017.06.014.
- Les lentilles de contact Florence Malet Elsevier Masson, 2009 - 1052 pages.
- Lily Therese, k. et Madhavan, L. (2004). microbiology research centre vision research foundation l8, college road, chennai - 600 006.2004.
- Lin A, Rhee MK, Akpek EK, Amescua G, Farid M, Garcia-Ferrer FJ, et al. American Academy of Ophthalmology Preferred Practice Pattern C, External Disease P. Bacterial Keratitis Preferred Practice Pattern(R). *Ophthalmology* 2019;126:P1–55.
- McDonnell PJ. Empirical or culture-guided therapy for microbial keratitis? A plea for data. *Arch Ophthalmol* 1996;114:84-7.
- McGhee C, Niederer R. Resisting susceptibility: bacterial keratitis and generations of antibiotics. *Clin Experiment Ophthalmol* 2006;34:3-5.
- 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;102:1943-8.
- Meyer C. H., 2005. Anatomie et physiologie de l'œil. In *Œil et médecine interne*, 1-12. Modifications oculaires dans les maladies systémiques. Tischendorf F. W., Meyer C. H., Spraul C. W. (éditeurs). Éditions Médicales internationales, Cachan, France.
- MOUFADDAL, M. H. (2019). Diagnostic et Prise en charge d'une kératite bactérienne (Doctoral dissertation).
- Muraine M, Gueudry J. Rapport SFO 2015 - Surface oculaire [Internet]. 2015.
- Porter, AJ, Lee, GA. et Jun, AS. (2018). Infectious crystalline keratopathy. *Surv Ophthalmol* ;63:480–99.
- Proenca-Pina J, Bourcier T. Infections oculaires chlamydiennes. In : <<Bourcier T, Chaumeil C, Borderie V, Laroche L, Infections cornéennes. Diagnostic et traitement>> Elsevier, Paris, 2004;7:91-103.
- Prydal JI, Artal P, Woon H, Campbell FW. Study of human precorneal tear film thickness and structure using laser interferometry and confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992 ; 33 : 2006–2011.
- Rachwalik D, Pleyer U. Bakterielle Keratitis. *Klin Monatsblätter Für Augenheilkd*. 17 juin 2015;232(06):738-44.

- Ratnumnoi, Ravee., Keorochana N. et Sontisombat, C. (2017). Normal flora of conjunctiva and lid margin, as well as its antibiotic sensitivity, in patients undergoing cataract surgery at Phramongkutklao Hospital; 11: 237–241. doi: 10.2147/OPHTH.S109247. Renier G. (2008). Immunologie de l'oeil. Rev Fr Allergol, 48, 303-313.
- Raynaud C, Bonicel P, Rigal D. Anatomie de la cornée. Encycl Med Chir 1996 ;21 : 3-10
- Renard G, dighiero P, Ellies P, ThanTrong T. La cornée. Encycl Med Chir. CDROM 2001.
- Renard G., Borderie V., Baudoin A., Labbé A., Creuzot-Garcher C., Trinih L., Ruban J.-M., Fayet B. et Baggio E., 2009. Anatomie et physiopathologie des structures oculaires en contact avec les lentilles. In Les lentilles de contact, 57-105. Mallet F., George M.-N., Vayr F. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.
- Ritterband, David et al. Cornea 2006; 25 (3): 264-267.
- Rocha EM, Wickham LA, da Silveira LA, et al. Identification of androgen receptor protein and 5alpha- reductase mRNA in human ocular tissues. Br J Ophthalmol 2000 ; 84 : 76-84.
- Sauer A, Bourcier T, French Study Group for Contact Lenses Related Microbial K. Microbial keratitis as a foreseeable complication of cosmetic contact lenses: a prospective study. Acta Ophthalmol 2011;89: e439–42.
- Schaefer F, Bruttin O, Zografos L, Guex-Crosier Y. Bacterial keratitis: a prospective clinical and microbiological study. Br J Ophthalmol. 2001 Jul;85(7):842–7.
- SCHEIN OD, HIBBERD PL, STARCK T, BAKER AS, KENYON AR, Microbial contamination of in-use ocular medications. Arch Ophthalmol: 1992; 110: 82-85.
- Seal, DV. et Pleyer, U. (2007). Ocular Infection: Investigation and Treatment in Practice. CRC Press. 402 p.
- Shah, A. Sachdev, A. et Coggon, D. (2011). Geographic variations in microbial keratitis: An analysis of the peer-reviewed literature. Br J Ophthalmol.; 95:7627. doi: 10.1136/bjo.2009.169607.
- SRINIVASAN M, MASCARENHAS J, RAJARAMAN R et al. Corticosteroids for bacterial keratitis : the Steroids for Corneal Ulcers Trial (SCUT). Arch Ophthalmol, 2012 ; 130 : 143-150.

- Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, et al. A unified theory of the role of the ocular surface in dry eye. *Adv Exp Med Biol* 1998 ; 438 : 643-51.
- Sthapit, PR. et Tuladhar, NR. (2014). Conjunctival Flora of Normal Human Eye. *JSM Ophthalmol* 2(2): 1021.
- SUWAN-APICHON O, REYES JM, HERRETES S et al. Topical corticosteroids as adjunctive therapy for bacterial keratitis. *Cochrane Database Syst Rev*, 2007: CD005430. Review.
- T Bourcier, M. Labetoulle. Infections de la surface oculaire. In: *Surface Oculaire - Rapport SFO 2015*. Elsevier Masson; 2015
- T Bourcier, M. Labetoulle. Infections de la surface oculaire. In: *Surface Oculaire - Rapport SFO 2015*. Elsevier Masson; 2015.
- Tabibian D, Mazzotta C, Hafezi F. PACK-CXL: Corneal cross-linking in infectious keratitis. *Eye Vis* 2016;3:11.
- Upadhyay, M. Karmacharya, P. Koirala, S. Shah, D. Shakya, S. Shrestha, J. et Whitcher, J. (2001). The Bhaktapur Eye Study: Ocular trauma and antibiotic prophylaxis for the prevention of corneal ulceration in Nepal. *British Journal of Ophthalmology*. doi: 10.1136/bjo.85.4.388.
- Vajpayee RB, Dada T, Saxena R, Vajpayee M, Taylor HR, Venkatesh P, et al. Study of the first contact management profile of cases of infectious keratitis: a hospital-based study. *Cornea* 2000;19:52-6. Bennett HG, Hay J, Kirkness CM, Seal DV, Devonshire P. Antimicrobial management of presumed microbial keratitis: guidelines for treatment of central and peripheral ulcers. *Br J Ophthalmol* 1998; 82:137-45.
- VAN BUSKIRK EM, The anatomy of the limbus. *Eye* 1989 ; 3 : 101-108
- 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; 27:539-44.
- Vincent Borderie. *Les greffes en ophtalmologie*. s.l. : Elsevier, 2004. P14, p20
- Werner LP, Werner L, Dighiero P, Legeais JM, Renard G. Confocal microscopy in Bowman and stromal corneal dystrophies. *Ophthalmology* 1999;106:1697-704
- Wilhelmus KR, Hyndiuk RA, Caldwell DR, Abshire RL, Folkens AT, Godio LB. 0.3% ciprofloxacin ophthalmic ointment in the treatment of bacterial keratitis. The

Ciprofloxacin Ointment/Bacterial Keratitis Study Group. Arch Ophthalmol 1993;111:1210-8.

- Wong, RL, Gangwani, RA, Yu, LW, et al, Lai, JS. (2012). New treatments for bacterial keratitis. J Ophthalmol ID:831502.
- Yang AY, Chow J, Liu J. Corneal Innervation and Sensation: The Eye and Beyond. Yale J Biol Med. 28 mars 2018;91(1):13-21.
- Yu DF, Chen Y, Han JM, et al. MUC19 expression in human ocular surface and lacrimal gland and its alteration in Sjogren syndrome patients. Exp Eye Res 2008 ; 86 : 403-11.

Résumé

La kératite bactérienne est la plus fréquente des kératites infectieuses caractérisées cliniquement par une zone d'infiltration cornéenne sous-jacente à un ulcère épithélial causer une atteinte tissulaire secondaire à une réaction inflammatoire. Notre travail avait pour but de définir les aspects épidémiologiques, cliniques, et microbiologiques des abcès cornéens et de faire une comparaison entre la croissance des bactéries en biofilm sur les différents types de lentilles de contact et celle présente dans leurs étuis. Une grande proportion des kératites bactériennes est liée aux bacilles à gram négatif tel que *Pseudomonas* et les *cocci à Gram positif* de types *staphylocoque*. Le port fréquent de lentilles de contact est considéré comme le premier facteur de risque de kératite bactérienne, ainsi que la formation du biofilm sur les lentilles de contact et leurs étuis présente un risque pour la cornée, où il est important de sélectionner les bonnes solutions de nettoyage des lentilles pour empêcher leur développement. Une bonne prise en charge diagnostique et thérapeutique peut réduire le risque d'une évolution défavorable des abcès graves cornéen.

Mots-clés : kératite bactérienne, biofilm, lentilles de contact.

ملخص

التهاب القرنية الجرثومي هو التهاب القرنية المعدي الأكثر شيوعاً والذي يتميز سريريًا بوجود منطقة ارتشاح للقرنية تحت القرحة الظهارية مما يتسبب في تلف ثانوي للأنسجة مع رد فعل التهابي. يهدف عملنا إلى تحديد الجوانب الوبائية والسريية والميكروبيولوجية لخراجات القرنية وإجراء مقارنة بين نمو البكتيريا في البيوفيلم على الأنواع المختلفة من العدسات اللاصقة وتلك الموجودة في حالاتهم. ترتبط نسبة كبيرة من التهاب القرنية الجرثومي بالعصيات سالبة الجرام مثل الزائفة موجبة الجرام والمكورات موجبة الجرام من أنواع المكورات العنقودية. يعتبر ارتداء العدسات اللاصقة بشكل متكرر عامل الخطر رقم واحد للإصابة بالتهاب القرنية الجرثومي. بالإضافة إلى تكوين الأغشية الحيوية على العدسات اللاصقة وحالاتها تشكل خطرًا على القرنية، حيث من المهم اختيار محلول تنظيف العدسة المناسب لمنع تطورها.

يمكن أن تقلل الإدارة التشخيصية والعلاجية الجيدة من مخاطر المسار الغير مواتي لخراجات القرنية الشديدة.
الكلمات المفتاحية: التهاب القرنية الجرثومي، البيوفيلم، العدسات اللاصقة.

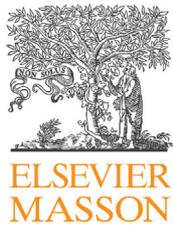
Abstract

Bacterial keratitis is the most common infectious keratitis clinically characterized by an area of corneal infiltration underlying an epithelial ulcer causing tissue damage secondary to an inflammatory reaction. Our work aimed to define the epidemiological, clinical and microbiological aspects of corneal abscesses and to make a comparison between the growth of bacteria in biofilm on the different types of contact lenses and that present in their cases. A large proportion of bacterial keratitis is linked to gram-negative bacilli such as *Pseudomonas* and gram-positive cocci of the staphylococcal types. Frequent wearing of contact lenses is considered the number one risk factor for bacterial keratitis. As well as biofilm formation on contact lenses and their cases poses a risk to the cornea, or it is important to select the right lens cleaning solutions to prevent their development.

Good diagnostic and therapeutic management can reduce the risk of an unfavorable course of severe corneal abscesses.

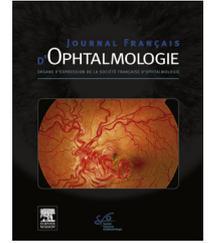
Keywords: bacterial keratitis, biofilm, contact lens.

ANNEXES



Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



ARTICLE ORIGINAL

Abcès de cornée sur port de lentilles de contact : aspects cliniques, microbiologiques et thérapeutiques[☆]

Contact lens related corneal ulcers: Clinical, microbiological and therapeutic features

L. Benhmidoune^{*}, A. Bensemlali, M. Bouazza, R. Karami, H. El Mansouri, M. El Belhadji, R. Rachid, A. Chakib, A. Amraoui

Service d'ophtalmologie, hôpital 20 Août 1953, CHU Ibn Rochd, quartier des Hôpitaux Anfa, rue Lahcen-Laarjouna, Casablanca, Maroc

Reçu le 8 avril 2012 ; accepté le 25 juin 2012
Disponible sur Internet le 20 juin 2013

MOTS CLÉS

Abcès de cornée ;
Kératites
infectieuses ;
Lentilles de contact ;
Lentilles cosmétiques

Résumé

Introduction. — Les abcès de cornée chez les porteurs de lentille de contact sont de plus en plus fréquents, et peuvent parfois entraîner des tableaux sévères. Le but de notre travail est de définir les caractères épidémiologiques, cliniques, microbiologiques et thérapeutiques de ces abcès dans notre contexte.

Patients et méthodes. — Nous avons mené une étude rétrospective descriptive non comparative d'une série de cas de patients présentant un abcès de cornée suite au port de lentilles de contact colligés entre janvier 2009 et janvier 2012.

Résultats. — L'âge moyen de nos patients était de 22 ans avec un sex-ratio F/H de 7,5. Des facteurs de risque généraux ont été retrouvés dans 17,5% des cas. La durée moyenne d'hospitalisation était de 15 jours. Parmi nos patients, 58,8% portaient des lentilles cosmétiques et 41,2% des lentilles correctrices. Le délai moyen de consultation était de cinq jours. Les signes cliniques étaient dominés par une douleur et rougeur oculaires, avec une baisse d'acuité visuelle qui était inférieure à 1/10 chez 82,3% des patients. Dans 70,6% des cas, l'abcès était central. Sa taille moyenne était de 4,3 mm. Une réaction de la chambre antérieure était retrouvée dans 47,1%. Le prélèvement bactériologique sur la cornée était positif

[☆] Sujet communiqué lors du 24^e congrès de la Société marocaine d'ophtalmologie en mai 2011.

^{*} Auteur correspondant. 65, boulevard Omar El Idrissi, Résidence Prestige du jardin, Apt 14, Mers Sultan, 20500 Casablanca, Maroc.
Adresse e-mail : lbenhmidoune@gmail.com (L. Benhmidoune).



KEYWORDS

Corneal ulcer;
 Infectious keratitis;
 Contact lenses;
 Cosmetic lenses

dans 47,8%. Les germes retrouvés étaient le *Staphylococcus aureus*, le *Pseudomonas aeruginosa* et les *Acanthamoeba*. Les prélèvements sur la lentille et le liquide de conservation étaient positifs dans 73,6% des cas. L'évolution a été favorable sous un traitement antibiotique local et général adapté aux résultats microbiologiques dans seulement 41,2% des cas. Chez le reste des patients, une opacité séquellaire gênante persistait.

Discussion. – Le port de lentille de contact cosmétique et thérapeutique est une cause importante d'abcès de cornée. Le retard de consultation donne des tableaux sévères avec non amélioration de l'acuité visuelle.

Conclusion. – L'ophtalmologiste a un rôle important dans la prévention des complications du port de lentille de contact, par une meilleure information sur l'hygiène, et le suivi de ses patients.

© 2013 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary

Introduction. – Corneal ulcers in contact lens wearers are becoming more common, and can sometimes lead to severe complications. The purpose of this study is to define the epidemiological, clinical, microbiological and therapeutic considerations of these ulcers within the above context.

Patients and methods. – We conducted an uncontrolled, descriptive, retrospective study of 51 patients presenting with contact lens related corneal ulcers to the ophthalmology department of the August 20, 1953 Hospital in Casablanca between January 2009 and January 2012.

Results. – The average age of our patients was 22 years, with a gender ratio of 7.5 female to male. General risk factors (diabetes and tuberculosis) were found in 17.5% of cases. The average length of hospital stay was 15 days. Of our patients, 58.8% wore cosmetic contact lenses and 41.18% wore therapeutic contact lenses. Mean duration prior to consultation was 5 days. The predominant clinical signs were eye pain and redness, with a decrease in visual acuity worse than 1/10 in 82.3% of patients. In 70.6% of cases, the ulcer was central. The average size was 4.3 mm. An anterior chamber reaction was found in 47.1%. Corneal bacterial cultures were positive in 47.8%. Pathogens found were *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acanthamoeba*. Contact lens and solution cultures were positive in 73.6% of cases. Outcomes were favorable with local and systemic antibiotic treatment adapted to microbiological results in only 41.2% of cases. In the remaining patients, significant secondary opacities persisted.

Discussion. – Cosmetic and therapeutic contact lens wear is a major cause of corneal ulcer. Delayed consultation results in severe sequelae with persistently decreased visual acuity.

Conclusion. – The ophthalmologist plays an important role in preventing complications of contact lens wear, through better hygiene instruction and follow-up of his or her patients.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Les kératites bactériennes sont des infections graves qui peuvent conduire à une baisse sévère de l'acuité visuelle. Beaucoup de patients ont un résultat fonctionnel médiocre malgré la mise en route d'un traitement adapté [1]. L'utilisation répandue des lentilles de contact ces 30 dernières années a entraîné une recrudescence de ce type d'infection [2]. Parmi les différents types de lentilles, ce sont les lentilles cosmétiques, notamment celles distribuées en dehors des circuits contrôlés, qui engendrent le plus de complications. Le non-respect du mode d'utilisation et le manque d'hygiène constituent également des facteurs de risque importants quant à l'apparition de complications infectieuses [3]. Le but de notre travail est d'étudier les caractéristiques cliniques, microbiologiques et thérapeutiques des abcès de cornée sur port de lentilles de contact dans notre contexte.

Patients et méthodes

Nous avons mené une étude rétrospective, descriptive, non comparative d'une série de cas de patients hospitalisés au service d'ophtalmologie du centre hospitalier universitaire de Casablanca pour un abcès de cornée sur port de lentilles de contact entre janvier 2009 et janvier 2012. Pour chaque patient ont été recueillis le sexe, l'âge, les antécédents ophtalmologiques et généraux, la durée moyenne du port de lentille jusqu'à la déclaration de l'infection, le type de lentille portée (cosmétique ou correctrice), le délai moyen de consultation, et l'observance des règles d'hygiène. Ont également été relevés : l'ancienneté des signes fonctionnels et les traitements déjà reçus avant l'hospitalisation. Un examen clinique a été réalisé, comprenant une mesure de l'acuité visuelle corrigée et un examen biomicroscopique complet détaillant les lésions et les signes de gravités : nombre d'abcès, taille de l'abcès, localisation sur la cornée, présence d'un hypopion, d'un tyndall

ou d'une endophtalmie. Tous les patients ont bénéficié de prélèvements cornéens pour examen bactériologique, parasitologique et mycologique avec examen direct et culture. Les mêmes examens ont été réalisés sur les boîtiers et liquides d'entretien quand ceux-ci étaient disponibles.

En ce qui concerne le traitement, tous les patients ont reçu initialement une antibiothérapie locale probabiliste, adaptée ensuite aux résultats microbiologiques, et une antibiothérapie générale en cas d'endophtalmie. Notre protocole thérapeutique était le suivant : collyres fortifiés, préparés en hospitalier, composés de ceftazidime (50 mg/mL) et de vancomycine (50 mg/mL) à raison d'une goutte horaire pendant 72 h, associés à la tobramycine collyre et/ou ciprofloxacine collyre et de l'hexamidine (Desoméline®) à raison d'une goutte huit fois par jour. En présence d'une amélioration clinique, la posologie était réduite à une goutte toutes les huit heures pour les collyres fortifiés, et une corticothérapie locale à base de dexaméthasone a été démarrée à raison d'une goutte quatre fois par jour. En l'absence d'amélioration clinique après 72 h et en cas de suspicion d'atteinte fongique ou amibienne, nous avons ajouté de la polymyxine contenu dans la Cébéméxine®, de l'amphotéricine B en collyre fortifiés (2,5 mg/ml) et du fluconazole per os (800 mg le premier jour puis 400 mg/j).

En cas d'endophtalmie, nous avons associé au traitement, de la ceftazidime par voie injectable, à raison de 3 g/j pendant cinq jours suivi d'un relai per os, et une moyenne de deux à trois injections intravitréennes de ceftazidime (2 mg dans 0,05 mL) et de vancomycine (1 mg dans 0,05 mL). Le suivi a consisté en l'évaluation de l'acuité visuelle post-thérapeutique et l'évolution des lésions. Le recul moyen était de trois mois.

Résultats

L'âge moyen de nos patients était de 22 ans, avec des extrêmes allant de 16 à 40 ans. Dans 88,2%, il s'agissait d'une femme (sex-ratio : 7,5). Le délai moyen de consultation était de cinq jours. Des facteurs de risque généraux (diabète, tuberculose) ont été retrouvés dans 17,5% des cas. Les patients porteurs de lentilles cosmétiques représentaient la majorité avec 58,8% et étaient principalement

Tableau 1 Caractéristiques cliniques des lésions.

| Caractéristiques cliniques | Nombre | Pourcentage |
|--|--------|-------------|
| <i>Situation</i> | | |
| Centrale | 36 | 70,6 |
| Périphérique | 15 | 29,4 |
| <i>Atteinte stromale profonde</i> | 27 | 52,9 |
| <i>Lésions périphériques</i> | | |
| Ulcération et microabcès | 15 | 29,4 |
| <i>Réaction de la chambre antérieure</i> | 24 | 47,1 |
| <i>Inflammation des annexes</i> | 21 | 41,2 |

des jeunes filles. Ce type de lentille a été le plus souvent acheté dans des parfumeries ou chez un opticien sans ordonnance. L'infection s'est déclarée, pour les lentilles cosmétiques, après une durée moyenne de port de dix jours (30 minutes – deux mois) et après une durée moyenne de 17 mois pour les lentilles correctrices (deux – 36 mois). Des facteurs de risque de complications infectieuses étaient retrouvés dans la majorité des cas : une mauvaise observance des règles de port avec parfois une ignorance totale de ces règles, un port nocturne, un lavage avec l'eau du robinet, l'utilisation de lentilles ou de boîtiers d'une tierce personne.

En ce qui concerne les signes fonctionnels, une baisse de l'acuité visuelle associée à des douleurs et une rougeur oculaire ont été notés chez tous nos patients. Un traitement antibiotique préalable avait déjà été instauré chez 19,6% des patients. L'acuité visuelle initiale allait de perception lumineuse positive à 4/10 avec une acuité inférieure à 1/10 dans 82,3%. À l'examen, l'inflammation des annexes (paupières et conjonctives) était présente dans 41,2% des cas. L'abcès était central dans 70,6% des cas. Il était unique dans 86,3%. Sa taille moyenne était de 4,3 mm avec des extrêmes allant de 2 mm à 8 mm. L'atteinte était stromale profonde dans 52,9% des cas. Une réaction de la chambre antérieure à type de tyndall ou d'hypopion a été retrouvée chez 47,1% des patients (Tableau 1). Des photographies du segment antérieur de deux patients sont représentées sur les Fig. 1 et 2. Tous nos patients ont bénéficié d'un grattage

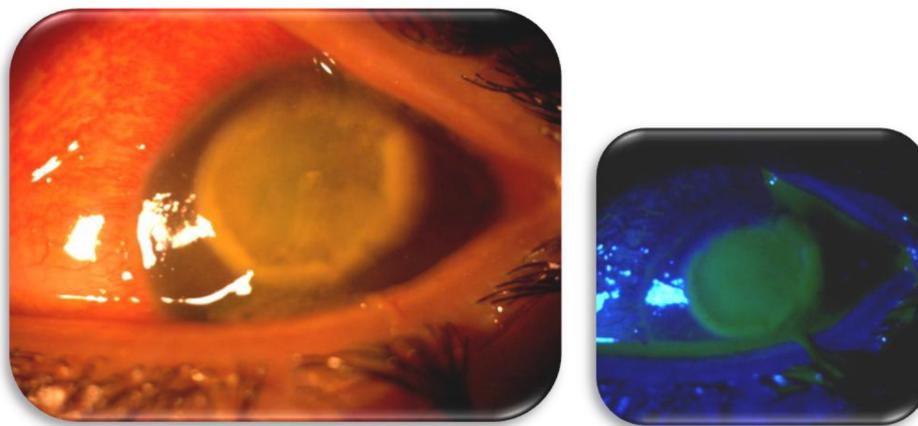


Figure 1. Abscès de cornée sur port de lentilles cosmétiques durant 30 minutes chez une fille de 17 ans. Germe retrouvé : *Pseudomonas aeruginosa*.

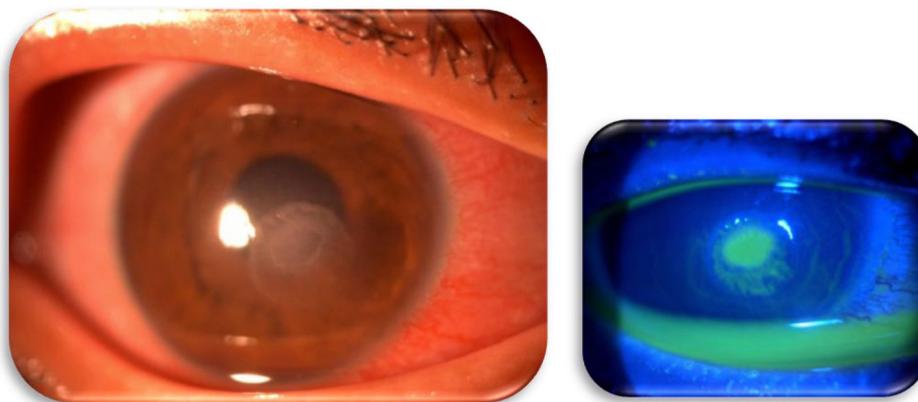


Figure 2. Abcès de cornée sur port de lentilles correctrices chez une femme de 34 ans. Pas de germe retrouvé à la culture.

Tableau 2 Résultats des prélèvements du grattage cornéen de nos patients.

| Germe | Nombre | Pourcentage |
|----------------------------------|--------|-------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12 | 50 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3 | 29 |
| <i>Staphylococcus coagulase-</i> | 4 | |
| <i>Serratia marcescens</i> | 2 | 8,5 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 | 4,2 |
| <i>Acanthamoeba</i> | 1 | 4,2 |
| <i>Fusarium</i> | 1 | 4,2 |

cornéen avec une étude bactériologique, parasitologique et mycologique. Le prélèvement était positif et a identifié un germe dans seulement 47,7% des cas. Aucune biopsie cornéenne n'a été réalisée. Les résultats des prélèvements sont présentés dans les Tableaux 2 et 3. Les bacilles gram négatifs étaient retrouvés dans une grande majorité des cas, avec 50% de *Pseudomonas aeruginosa* et 8,5% de *Serratia marcescens*. Les cocci gram positifs étaient représentés à 29% (*Staphylococcus aureus* et *coagulase-*). À noter qu'un seul cas d'amibe (*Acanthamoeba*) et un cas de levure (*Fusarium*) ont été retrouvés. L'examen du boîtier et du liquide de conservation a été réalisé chez 22 patients. Le prélèvement était positif dans 73,6% avec une majorité de *Pseudomonas* (54,5%) et de staphylocoque (31,8%).

Un patient sur quatre (24,5%) s'est compliqué d'endophtalmie. Le diagnostic a été suspecté sur la présence de tyndall vitréen s'il était visible à la lampe

Tableau 3 Résultats des prélèvements du liquide de conservation et du boîtier de nos patients.

| Germe | Nombre | Pourcentage |
|----------------------------------|--------|-------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12 | 54,5 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3 | 31,8 |
| <i>Staphylococcus coagulase-</i> | 4 | |
| <i>Acanthamoeba</i> | 1 | 4,5 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 1 | 4,5 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 | 4,5 |

à fente (LAF) ou sur la présence d'échos intravitréens à l'échographie en mode B. Ces patients ont bénéficié d'une à trois injections intravitréennes d'antibiotique (ceftazidime et vancomycine) puis relayé par un traitement per os. En ce qui concerne l'évolution de l'acuité visuelle, il n'a pas été noté une grande récupération ; 39,2% des patients ont gardé une acuité inférieure à 1/10^e sur l'œil atteint. L'évolution des acuités est représentée sur la Fig. 3. L'évolution de l'abcès a été favorable dans seulement 41,2% avec une restitution de la transparence cornéenne. Elle était défavorable dans le reste des cas, avec la présence d'une opacité séquellaire compromettant l'axe visuel dans 49,3% et la présence de néovaisseaux cornéens superficiels et profond dans 27,8% des cas.

Discussion

Les abcès de cornée représentent le risque majeur et le plus grave du port de lentilles de contact. Elles ont fait l'objet de plusieurs études chez les porteurs de lentilles correctrices [4,5]. Cependant, dans notre contexte, nous avons une grande majorité de porteurs de lentilles cosmétiques (près de 60%). Il s'agissait en grande partie de femmes majoritairement jeunes et mineures. Cela semble correspondre au profil démographique des porteurs de lentilles cosmétiques. Tous les patients présentaient des facteurs de risque de complications infectieuses. À savoir, un défaut d'observance des règles d'hygiène, des lentilles échangées avec une tierce personne, un lavage avec de l'eau courante du robinet. Ces facteurs, en plus de majorer les risques infectieux, compliquent singulièrement la prise en charge [3,6,7].

En ce qui concerne les résultats des prélèvements (Tableau 4), seule la moitié était positive dans notre série. Ce qui représente un taux faible par rapport à une étude française : 91% (Perol et al., n=83) [8] ou une étude brésilienne : 65% (Moriyama et Hofling-Lima, n=366) [9]. En revanche, notre étude rejoint une série japonaise de 66 cas avec 44,8% de positivité [10]. Cela pourrait s'expliquer, par une fréquente automédication de nos patients avant leur arrivée à l'hôpital, par le non-respect des règles d'hygiène et par la mauvaise coordination de notre structure avec le laboratoire analysant nos prélèvements. Il semblerait important de pouvoir réaliser les grattages au sein même du

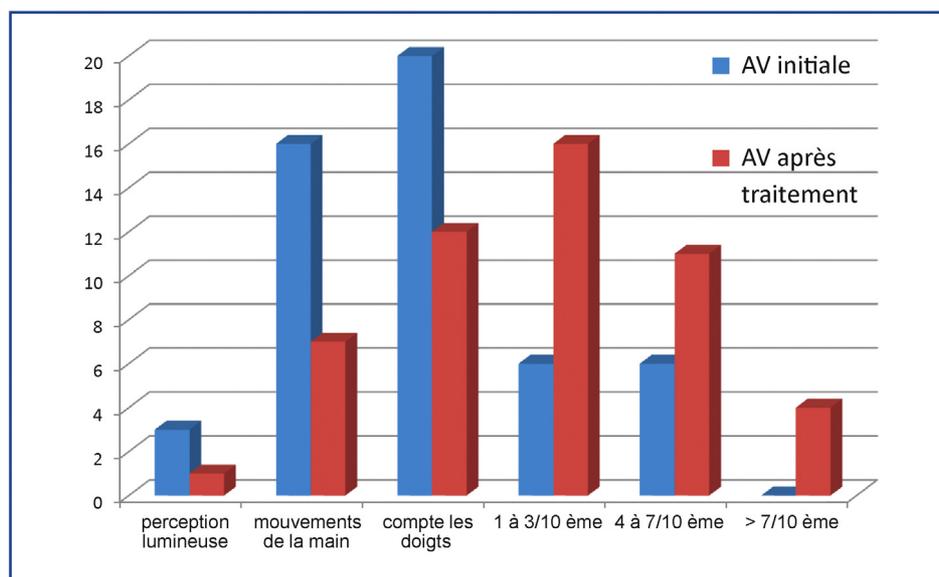


Figure 3. Évolution de l'acuité visuelle (AV) avant et après traitement avec un recul de trois mois.

laboratoire dans des conditions optimales afin de rehausser le pourcentage de positivité.

La comparaison des germes retrouvés dans notre série avec ceux de la littérature, est représentée dans le Tableau 4. Nous remarquons que nous retrouvons un grand nombre de bacille gram négatifs et essentiellement le *P. aeruginosa* contrairement aux autres pays comme le Japon où ce sont les cocci gram positifs qui prédominent (83% des cas). Dans notre série, le taux d'isolement d'amibe ou de levure est très faible en comparaison avec les études françaises ou brésiliennes où ce taux se situe entre 10 et 40% [8–10]. Le risque principal de survenue des kératites amibiennes est le port de lentilles de contact, retrouvé dans 90% des cas [11]. Le fait de ne pas en trouver dans notre série s'expliquerait par une confirmation biologique difficile (à cause d'une sensibilité insuffisante de l'examen direct et de la culture) et par le fait que la PCR ou la microscopie confocale qui améliorent sensiblement le diagnostic microbiologique ne sont pas d'utilisation courante dans notre contexte [11–13].

Le schéma de traitement proposé dans notre étude rejoint celui de la littérature [12]. Le problème qui reste posé est celui du retard de mise en route, et le contrôle de ces infections malgré un traitement bien ajusté. L'évolution des abcès sur port de lentilles contact reste médiocre en cas de retard de consultation (délai moyen de cinq jours

dans notre série). Conformément à la littérature [12,13], on constate que l'acuité visuelle moyenne finale reste faible (au alentour de 1/10^e) malgré un traitement agressif ce qui souligne ici la virulence de ces infections. Il s'agit encore une fois d'une pathologie grave exposant à des séquelles cornéennes irréversibles nécessitant à moyen terme le recourt à des kératoplasties lamellaires ou transfixiante. Nous n'avons pas assez de recul quant au devenir de nos patients dans cette série, mais actuellement des greffes transfixiantes de cornée sur des séquelles de kératite sont réalisées dans notre structure et nos patients pourront ainsi en bénéficier.

Enfin, concernant la commercialisation des lentilles cosmétiques, il n'existe pas de législation particulière en comparaison avec les lentilles correctrices (Directive 76/768/CEE sur les produits cosmétiques, Directive 93/42/CEE sur les dispositifs médicaux). Ces lentilles sont en vente libre dans les parfumeries et même par Internet. Il est probable qu'une délivrance stricte sur prescription médicale puisse éviter plusieurs cas désastreux en sélectionnant les sujets à risque comme cela a été le cas aux États-Unis, en Grande-Bretagne et en Australie où la législation sur ces ventes a été rendu plus contraignantes (Federal Food, Drug and Cosmetic Act; Selection 520. (n), The Opticians Act 1989 (Amendment) Order 2005). Il semblerait ainsi souhaitable de sensibiliser l'ophtalmologiste, les commerçants et le grand

Tableau 4 Comparaison des germes retrouvés dans notre série avec ceux retrouvés dans d'autres séries étrangères.

| Catégorie des germes | Germes | Notre série (%) | Inoue et al. [10] (Japon, 2007) n = 66 (%) | Perol et al. [8] (France, 2009) n = 83 (%) | Moriyama et Hofling-Lima [9] (Brésil, 1986) n = 366 (%) |
|----------------------|---------------------|-----------------|--|--|---|
| Bactéries | Cocci+ | 36 | 83 | 12,5 | 45,2 |
| | <i>Pseudomonas</i> | 64 | 5,7 | 54,3 | 21,7 |
| Amibes | <i>Acanthamoeba</i> | 4,5 | 2,9 | 12,5 | 39,7 |
| Mycoses | | 4,5 | 8,6 | — | 1,67 |

public pour réduire le taux de complications dû au port de lentilles de contact.

Conclusion

Les complications infectieuses dues au port de lentilles de contact sont rares mais potentiellement grave, pouvant engager le pronostic visuel. Elles surviennent rarement en dehors de facteurs de risque [12]. L'éducation des patients à la manipulation des lentilles fait partie des responsabilités de l'ophtalmologiste et des prescripteurs de lentilles. Une réglementation stricte devrait être établie avec l'objectif de supprimer la vente libre des lentilles cosmétiques.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt en relation avec cet article.

Références

- [1] Gudmundsson OG, Ormerod LD, Kenyon KR, Glynn RJ. Factors influencing predilection and outcomes in bacterial keratitis. *Cornea* 1989;8:115–21.
- [2] Dark JK, Stapleton F, Minassian D. Contact lenses and other risk factors in microbial keratitis. *Lancet* 1991;338:650–3.
- [3] Abry F, Sauer A, Bourcier T. Abcès cornéens sous lentilles de contact. Caractéristiques épidémiologiques des patients et étude des facteurs de risque environnementaux, du profil des porteurs et de leurs habitudes en matière de contactologie. *J Fr Ophtalmol* 2009;32:1560.
- [4] Liesegang TJ. Contact lens-related microbial keratitis: Part1: epidemiology. *Cornea* 1997;16:125–31.
- [5] Palmer ML, Hyndiuk RA. Contact lens-related infectious keratitis. *Int Ophtalmol Clin* 1993;33:23–49.
- [6] Guyomarch J, N'Guyen D. Kératites infectieuses et lentilles cosmétiques: étude rétrospective de 5 cas. *J Fr Ophtalmol* 2010;33:258–62.
- [7] Stapleton K, Keay L, Edwards K, Brian G. The incidence of contact lens-related microbial keratitis in Australia. *Ophtalmology* 2008;115:1655–62.
- [8] Perol J, Gaujoux T, Borderie VM. Kératites infectieuses chez les porteurs de lentilles de contact: analyse des facteurs de risque, des agents pathogènes et de l'évolution sous traitement. *J Fr Ophtalmol* 2009;32:15159.
- [9] Moriyama AS, Hofling-Lima AL. Contact lens-associated microbial keratitis. *Arq Bras Oftalmol* 2008;71:32–6.
- [10] Inoue N, Toshida H, Mamada N, Kogure N, Murakami A. Contact lens-induced infectious keratitis in Japan. *Eye Contact Lens* 2007;33:65–9.
- [11] Bourcier T, Borderie V, Laroche L. Infections cornéennes: diagnostic et traitement. Paris: Elsevier; 2004.
- [12] Chaumeil CH, Malet F. Complications infectieuses. In: Malet F, editor. *Les lentilles de contact. Rapport de la Société française d'ophtalmologie*. Paris: Ed Masson; 2009. p. 873–932.
- [13] Darugar A, Gaujoux T, Borderie V. Caractéristiques cliniques, microbiologies et thérapeutiques d'une série de kératites bactériennes sévères. *J Fr Ophtalmol* 2011;34:362–8.

Bacterial and Fungal Biofilm formation on Contact Lenses and their Susceptibility to Lens Care Solutions

Siddharth Kackar, Ethel Suman, M. Shashidhar Kotian¹

Departments of Microbiology and ¹Community Medicine, Kasturba Medical College, Manipal University, Mangalore, Karnataka, India

Abstract

Background: Microbial biofilm formation on contact lenses and lens storage cases may be a risk factor for contact lens-associated corneal infections. Various types of contact lens care solutions are used to reduce microbial growths on lenses. **Objectives:** The present study aimed at comparing the growths of biofilms on the different contact lenses and lens cases. The study also aimed at determining the effect of lens care solutions and bacteriophage on these biofilms. **Materials and Methods:** One type of hard lens and two types of soft lenses were used for the study. The organisms used were *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 60193 and *Escherichia coli* ATCC 25922. Biofilm production was performed by modified O'Toole and Kolter method and effect of lens cleaning solutions and a crude coliphage on biofilms was also studied. Results were visualised using scanning electron microscopy and quantitated by colony counting method and spectrophotometric measurement of optical density (OD). Statistical analysis was done by SPSS 11.5, Kruskal–Wallis test and Chi-square test. **Results:** Soft lens cleaning solutions had a significant inhibitory effect ($P = 0.020$) on biofilm formation on soft lenses and also lens cases ($P < 0.001$). Soft lens cleaning solution 2 was more efficient than solution 1. However, no such inhibitory effect was observed with regard to hard lens cleaning solution, but for a significant reduction in the OD values ($P < 0.001$). There was no significant inhibitory effect by bacteriophages. **Conclusion:** This study showed the importance of selecting the appropriate lens cleaning solution to prevent biofilm production on contact lenses.

Keywords: Anti-biofilm effect, bacteriophage, biofilm, contact lenses, lens cases, lens cleaning solutions

INTRODUCTION

Contact lenses are broadly classified into two categories—rigid or hard lenses and the much more recently developed soft lenses. The two types differ in their composition and the relative advantages and disadvantages they offer. They may also differ in their susceptibility to microbial infections.

Adhesion and colonisation by microorganisms, particularly bacteria and fungi, on contact lenses continues to be implicated in several adverse events. Microorganisms often form biofilms on lens surfaces.

Microbial growth is characterised as a biofilm when the microorganisms attach to a surface and/or to each other. Biofilms offer increased antibiotic resistance to microorganisms as compared to the planktonic/free-living mode of growth.^[1,2]

Microbial biofilm formation on contact lenses and lens storage cases may be a risk factor for contact lens-associated corneal infections.^[3] Many ocular infections occur when such

prosthetic devices come in contact with or are implanted in the eye, including microbial keratitis (MK),^[4] contact lens-related acute red eye,^[5] contact lens peripheral ulcer^[6] and infiltrative keratitis.^[5] MK may result in vision loss as a consequence of corneal scarring.^[7] Depending on the study design and location, contact lens wear accounts for approximately 12%–66% of all events of MK.^[8–14] The prevention of persistent contamination and colonisation of contact lenses and lens storage cases may help to reduce the incidence of MK in contact lens users.

Various types of contact lens care solutions are used to reduce microbial growths on lenses. The solutions differ in their relative microbicidal effects.^[15] Hence, determining the efficiency of lens care solutions becomes important.

Address for correspondence: Dr. Ethel Suman,

Department of Microbiology, Kasturba Medical College, Manipal University,
Mangalore, Karnataka, India.
E-mail: ethel.suman@manipal.edu

Access this article online

Quick Response Code:



Website:
www.ijmm.org

DOI:
10.4103/ijmm.IJMM_16_273

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 License, which allows others to remix, tweak, and build upon the work non-commercially, as long as the author is credited and the new creations are licensed under the identical terms.

For reprints contact: reprints@medknow.com

How to cite this article: Kackar S, Suman E, Kotian MS. Bacterial and fungal biofilm formation on contact lenses and their susceptibility to lens care solutions. *Indian J Med Microbiol* 2017;35:80-4.

The objective of our study was to determine and compare the growths of biofilms of various bacterial and fungal strains on the different types of contact lenses available by developing *in vitro* models. We also determined the effect of lens care solution on these biofilms.

We developed *in vitro* models for contact lens-associated bacterial and fungal biofilms. One type of rigid gas permeable (RGP) hard lens and two types of soft lenses were used in the study, one poly (2-hydroxyethyl methacrylate) (pHEMA) based and the other a silicone hydrogel lens.

The organisms used in the study were *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Candida albicans* ATCC 60193. These organisms were selected because they were among the most commonly involved organisms in corneal infections in contact lens users.^[16-20]

To test the efficacy of the antimicrobial action of lens-care solutions, one type of solution was used for the hard lenses while two types of solutions were used for the soft lenses.

Bacteriophages are increasingly being used to reduce bacterial infections and also in the treatment of diseases.^[21,22] However, studies conducted to study the interaction of bacteriophages with biofilms have found that while phages reduce bacterial growth, they do not completely eliminate it.^[23] Our study also explored this by testing the effect of a crude coliphage on bacterial biofilms. *Escherichia coli* ATCC 25922 was used to study the effect of the bacteriophage alongside the other test organisms.

Our study attempted to cover the gaps in knowledge that exist in this area due to the lack of research in India on the comparative susceptibility to biofilm formation of various types of lenses and the efficacy of lens cleaning solutions against these biofilms. Although there are a large number of contact lens users in our country, with a high incidence of ocular infections, not much work has been done in this area. Also while there is a large body of research on the use of bacteriophages in reducing hospital-acquired infections and in the treatment of diseases, there is not much work done on the effect of these phages on contact lens infections and their use in preventing or reducing ocular infections.

MATERIALS AND METHODS

Test organisms used

The test organisms used were *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 and *C. albicans* ATCC 60193. *E. coli* ATCC 25922 was also used to study the anti-biofilm activity of the phage. Institutional Ethics Committee clearance was obtained for the study. The work was done in the Department of Microbiology, Kasturba Medical College, Mangalore.

Types of lenses and lens care solutions used

One type of hard lens and two types of soft lenses were used for the study. The lenses used were:

- Hard lens: RGP lens (roflucocon A)

- Soft lens 1: Silicon hydrogel lens (etafilcon A)
- Soft lens 2: pHEMA lens.

Commonly used lens care solutions were used for studying the anti-biofilm activity. They included:

- RGP lens solution: Glucose (0.006% w/v), carboxymethyl cellulose (CMC - 0.02%), disodium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (0.1% w/v) in a buffered polymer complex and surfactant
- Soft lens solution 1: Purified water, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), CMC, EDTA, borax in sodium chloride base
- Soft lens solution 2: Hydroxyalkylphosphonate, boric acid, edetate disodium poloxamine, sodium borate and sodium chloride preserved with polyaminopropyl biguanide 0.0001%.

A crude coliphage obtained from sewage water was used. This was an *in vitro* descriptive study.

The sample size consisted of 18 unused RGP contact lenses and 24 unused soft contact lenses of two types each. Each lens was subjected to *in vitro* biofilm formation by the test organisms in triplicate. In addition, seven soft contact lenses of Type 1 were used to study the effect of phage on the biofilm.

Biofilm formation on contact lenses

This was done by the modified O'Toole and Kolter method.^[24] Two hundred microliter of 48 h broth culture in Brain Heart Infusion (BHI) broth of the organism was added to each lens placed in the lens case followed by 200 μ l of BHI. The lens cases were incubated at 37°C for 48 h. After incubation, the broth was aspirated into microtitre plates (200 μ l of broth in each plate) and optical density 570 (OD₅₇₀) was measured spectrophotometrically.

The lens and the lens cases were treated with Bouin's fixative for 10 min and then washed with phosphate buffered saline (PBS) of pH 7.4. This was done by adding 200 μ l of 0.5M PBS (pH 7.4). It was then aspirated till the lenses and lens cases were dry.

One set of contact lenses were then treated with Bouin's fixative for 10 min and aspirated. The contact lenses were then sputtered, and scanning electron microscopy (SEM) was performed.

The second set of contact lenses were subjected to colony counting. The contact lenses were swabbed and plated on nutrient agar. The plates were incubated at 37°C for 48 h and colony counting was performed. The results were tabulated.

Biofilm formation on contact lens cases

The biofilms that were produced in the contact lens cases were swabbed and colony counting was performed. The results were tabulated.

Effect of lens cleaning solution on biofilms

With each set of biofilm formation on the lenses, the effect of the lens cleaning solutions were also studied. This was done by adding 200 μ l of the broth containing the organism and 200

μl of the lens cleaning solution. The cases were incubated at 37°C for 48 h. After incubation, the supernatant was aspirated into microtitre plates, and the OD_{570} values were recorded spectrophotometrically.

The lenses were subjected to SEM after sputtering. Colony counting of the lenses and lens cases was also performed. The values were tabulated.

Isolation of bacteriophage

Treated sewage sample from sewage water treatment plant was centrifuged at $10,000\text{ g}$ for 10 min.^[25] One millilitre of the supernatant was added to 5 ml of 16–18 h old *E. coli* ATCC 25922 broth culture. The mixture was incubated at 37°C for 18–24 h. 1.5 ml of the mixture was centrifuged to pellet out bacterial cells. The supernatant was filtered through $0.45\ \mu\text{m}$ membrane filter. Confirmation of the presence of bacteriophages was done by performing 10-fold dilutions of the filtrate (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10,000 up to 10^{-5}). One hundred microliters of the dilutions were added to 1 ml of 18 h old *E. coli* culture. This was added to 5 ml of molten soft agar (tryptone agar). Pour plating was done, and the plates were incubated in an upright position for 24 h at 37°C . Then the plates were observed for clear plaques, and they were enumerated as plaque forming units per ml per gram (pfu/ml/g). Phages were stored at -20°C .

Effect of bacteriophage on biofilms on contact lenses

The organisms used were *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *E. coli* ATCC 25922. Soft lens 1 was used to study the effect of the phage.

The effect of the bacteriophage on biofilms was detected by methods similar to the effect of lens cleaning solution. However, in this case, $200\ \mu\text{l}$ of 1 in 100 dilution of phage suspension was added along with $200\ \mu\text{l}$ of the broth containing organisms. The cases were incubated at 37°C for 48 h. After incubation, the supernatant was aspirated into microtitre plates, and the OD_{570} values were recorded spectrophotometrically. Colony counting of the lenses and lens cases was performed. The values were tabulated.

Statistical analysis

All experiments were performed in either duplicate or triplicate. Statistical analysis was performed using SPSS 16.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) and using Kruskal–Wallis and Chi-square test. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Biofilm formation on contact lenses

There was abundant biofilm formation by the test organisms on both types of contact lenses as measured spectrophotometrically at OD_{570} . The biofilm produced was more in soft lens of Type 1 in comparison to soft lens of Type 2 and hard lens [Table 1]. SEM images also revealed abundant biofilm formation by the test organisms on lens surfaces. However, the difference in the amount of biofilm produced on different types of lenses was not significantly observed.

Table 1: Effect of the lens cleaning solution and bacteriophage on the OD_{570} values of the supernatant fluid

| Lens | Solution | Mean OD_{570} | P |
|-------------|------------------------------|------------------------|--------------|
| Hard lens | In absence of solution | 1.245 ± 0.39 | |
| | In presence of solution | 0.450 ± 0.37 | <0.001 (VHS) |
| Soft lens 1 | In absence of solution/phage | 1.352 ± 0.59 | |
| | In presence of solution 1 | 0.692 ± 0.18 | <0.001 (VHS) |
| | In presence of solution 2 | 0.146 ± 0.04 | <0.001 (VHS) |
| Soft lens 2 | In presence of phage | 0.839 ± 0.66 | 0.067 (NS) |
| | In absence of solution | 1.250 ± 0.26 | |
| | In presence of solution 1 | 0.650 ± 0.09 | <0.001 (VHS) |
| | In presence of solution 2 | 0.319 ± 0.08 | <0.001 (VHS) |

VHS: Very highly significant, NS: Not significant,^[31] OD: Optical density

Biofilm formation on contact lens cases

Biofilm production was also observed on contact lens cases as revealed by OD_{570} as well as by colony counts.

Effect of lens cleaning solution on biofilms

There was no significant reduction in the colony forming unit (CFU) counts by lens care solutions, in the case of hard lenses. A significant reduction ($P = 0.020$) was observed in the case of soft lenses 1 and 2. The bacteriophage produced no significant decrease in any case.

A similar result was observed in case of CFU counts from lens cases with only the soft lens solutions causing a significant decline in CFUs ($P < 0.001$).

OD_{570} values of supernatant fluid revealed a significant decrease in biofilms in the presence of lens care solutions in case of hard lenses as well as in Type 1 and Type 2 soft lenses [Table 1]. These findings were similar to the SEM findings [Figures 1–6]. Soft lens cleaning solution 2 was more efficient than solution 1.

Effect of bacteriophage on biofilms on contact lenses

The presence of bacteriophage, however, did not cause any decrease in biofilms.

DISCUSSION

Our study has demonstrated that various bacteria as well as fungi like *Candida* spp. have the ability to form biofilms on contact lenses irrespective of the nature of contact lenses. The study also revealed that besides contact lenses, the lens cases can also facilitate the formation of biofilms by microorganisms. The formation of biofilms on contact lenses may be the cause of MK in prolonged contact lens users.^[3] Imamura *et al.* tested etafilcon A, galyfilcon A, lotrafilcon A, balafilcon A, alphafilcon A and polymacon types of contact lenses and their results showed that clinical isolates of *Fusarium* and *C. albicans* form biofilms on all types of lenses. They also showed that the biofilm architecture varied with the lens type used. Furthermore, using the developed *in vitro* biofilm model, they showed that phylogenetically diverse planktonic fusaria and *Candida* were susceptible to MoistureLoc and

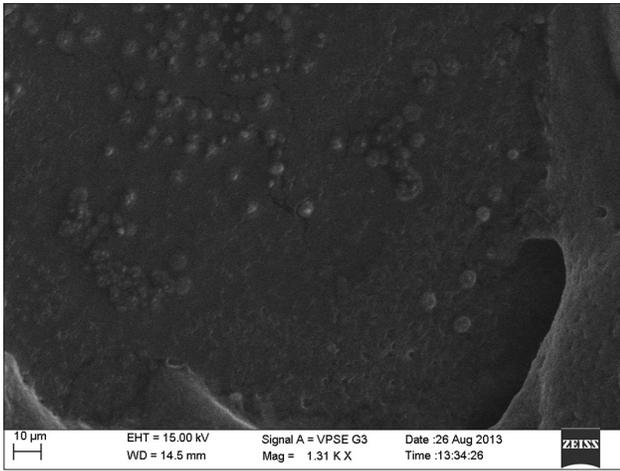


Figure 1: Scanning electron microscopy image of biofilm produced by *Staphylococcus aureus* on soft lens.

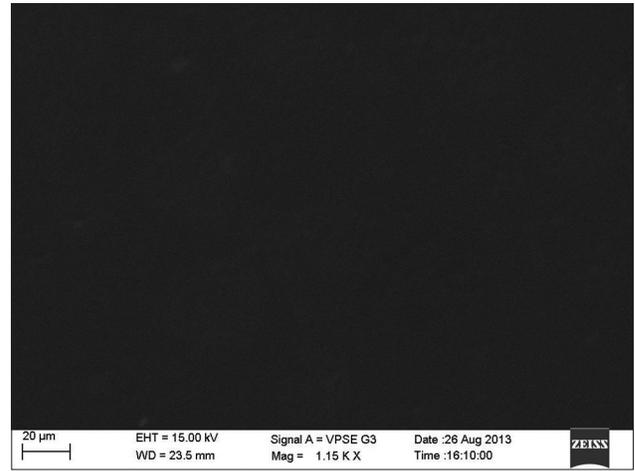


Figure 2: Scanning electron microscopy image of biofilm produced by *Staphylococcus aureus* on soft lens in presence of solution 1.

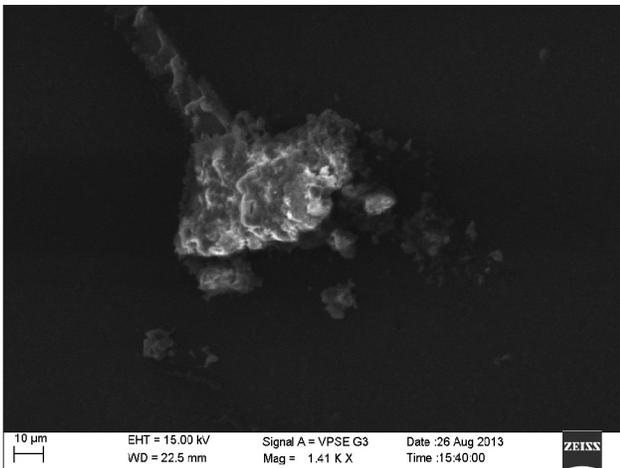


Figure 3: Scanning electron microscopy image of biofilm produced by *Pseudomonas aeruginosa* on soft lens.

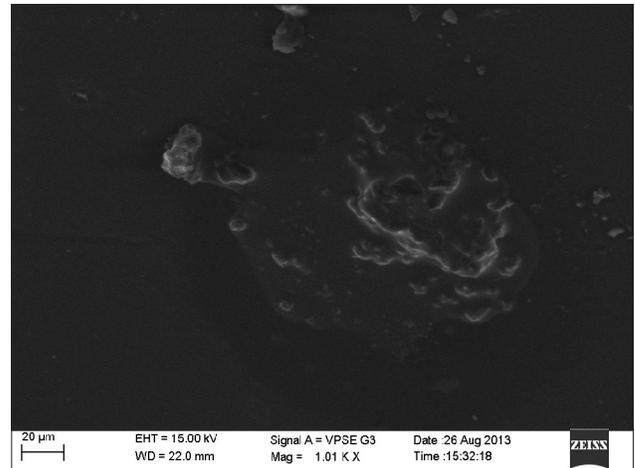


Figure 4: Scanning electron microscopy image of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on soft lens in presence of solution 2.

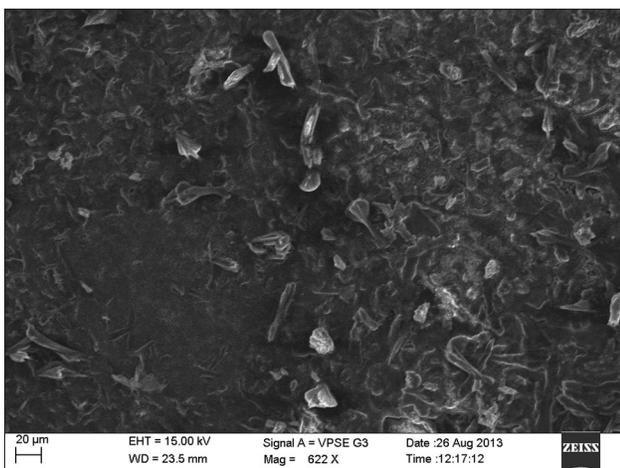


Figure 5: Scanning electron microscopy image of biofilm formation by *Candida albicans* on hard lens.

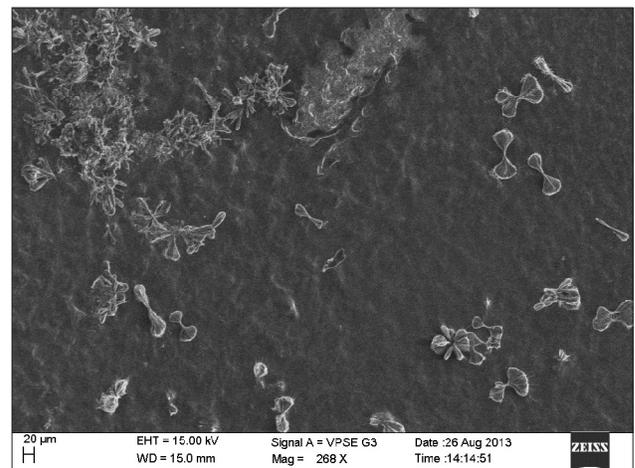


Figure 6: Scanning electron microscopy image of biofilm formation by *Candida albicans* on hard lens in presence of solution.

MultiPlus.^[26] The nature of the lens did not seem to have any effect on biofilm formation in our study, and this is similar to the study reported by Retuerto *et al.*^[27]

Our results indicate that soft lens cleaning solutions have a significant inhibitory effect on the formation of biofilms on soft type of contact lenses. Soft lens cleaning solution

containing hydroxyalkylphosphonate, boric acid, edetate disodium poloxamine, sodium borate (Solution 2) was more efficient than soft lens cleaning solution containing purified water, HPMC, CMC, EDTA and borax in sodium chloride base (solution 1). A previous study has demonstrated that hydrogen peroxide solution and polyquaternium-myristamidopropyl dimethylamine-preserved solution possess antifungal activity against *Fusarium* strains on contact lenses.^[27]

The inhibitory action of lens cleaning solution suggests that by using the appropriate lens cleaning solution biofilms can be prevented on contact lenses as well as in contact lens cases and this can go a long way in preventing ocular infections.

As per our study, the inhibitory effect of bacteriophage on biofilms was not significant. This could be due to the fact that the coliphages that we used in our study were the crude coliphages. Furthermore, these phages were used to inhibit *S. aureus* and *P. aeruginosa* biofilms for which they are not specific. Recent studies have suggested the use of bacteriophage endolysins as well as engineered phages expressing anti-biofilm enzymes as promising options for the eradication of bacterial biofilms.^[28-30] Further research in this area may yield promising results.

CONCLUSION

This study showed the importance of selecting the appropriate lens cleaning solution to prevent biofilm production on contact lenses. Future research into anti-biofilm surface coatings on contact lenses as well as newer strategies involving the possibility of using bacteriophages engineered to express anti-biofilm enzymes may aid in reducing the risk of biofilm-associated contact lens infections.

Financial support and sponsorship

The study was funded by the Indian Council of Medical Research under the Short Term Studentship (STS) – 2013 scheme.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001;358:135-8.
2. Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001;9:34-9.
3. McLaughlin-Borlace L, Stapleton F, Matheson M, Dart JK. Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis. *J Appl Microbiol* 1998;84:827-38.
4. Willcox MD, Holden BA. Contact lens related corneal infections. *Biosci Rep* 2001;21:445-61.
5. Szczotka-Flynn LB, Pearlman E, Ghannoum M. Microbial contamination of contact lenses, lens care solutions, and their accessories: A literature review. *Eye Contact Lens* 2010;36:116-29.
6. Wu P, Stapleton F, Willcox MD. The causes of and cures for contact lens-induced peripheral ulcer. *Eye Contact Lens* 2003;29 1 Suppl:S63-6.
7. Edwards K, Keay L, Naduvilath T, Snibson G, Taylor H, Stapleton F. Characteristics of and risk factors for contact lens-related microbial

- keratitis in a tertiary referral hospital. *Eye (Lond)* 2009;23:153-60.
8. 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;87:834-8.
9. Fong CF, Tseng CH, Hu FR, Wang IJ, Chen WL, Hou YC. Clinical characteristics of microbial keratitis in a university hospital in Taiwan. *Am J Ophthalmol* 2004;137:329-36.
10. Keay L, Edwards K, Naduvilath T, Taylor HR, Snibson GR, Forde K, *et al.* Microbial keratitis predisposing factors and morbidity. *Ophthalmology* 2006;113:109-16.
11. Mela EK, Giannelou IP, Koliopoulos JX, Gartaganis SP. Ulcerative keratitis in contact lens wearers. *Eye Contact Lens* 2003;29:207-9.
12. Wong T, Ormonde S, Gamble G, McGhee CN. Severe infective keratitis leading to hospital admission in New Zealand. *Br J Ophthalmol* 2003;87:1103-8.
13. Gebauer A, McGhee CN, Crawford GJ. Severe microbial keratitis in temperate and tropical Western Australia. *Eye (Lond)* 1996;10(Pt 5):575-80.
14. Rattanatham T, Heng WJ, Rapuano CJ, Laibson PR, Cohen EJ. Trends in contact lens-related corneal ulcers. *Cornea* 2001;20:290-4.
15. Hiti K, Walochnik J, Haller-Schober EM, Faschinger C, Aspöck H. Viability of *Acanthamoeba* after exposure to a multipurpose disinfecting contact lens solution and two hydrogen peroxide systems. *Br J Ophthalmol* 2002;86:144-6.
16. Cheng KH, Leung SL, Hoekman HW, Beekhuis WH, Mulder PG, Geerards AJ, *et al.* Incidence of contact-lens-associated microbial keratitis and its related morbidity. *Lancet* 1999;354:181-5.
17. Lam DS, Houang E, Fan DS, Lyon D, Seal D, Wong E; Hong Kong Microbial Keratitis Study Group. Incidence and risk factors for microbial keratitis in Hong Kong: Comparison with Europe and North America. *Eye (Lond)* 2002;16:608-18.
18. Houang E, Lam D, Fan D, Seal D. Microbial keratitis in Hong Kong: Relationship to climate, environment and contact-lens disinfection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001;95:361-7.
19. Green M, Apel A, Stapleton F. Risk factors and causative organisms in microbial keratitis. *Cornea* 2008;27:22-7.
20. Alexandrakis G, Alfonso EC, Miller D. Shifting trends in bacterial keratitis in south Florida and emerging resistance to fluoroquinolones. *Ophthalmology* 2000;107:1497-502.
21. Del Pozo JL, Alonso M, Arciola CR, Gonzalez R, Leiva J, Lasa I, *et al.* Biotechnological war against biofilms. Could phages mean the end of device-related infections? *Int J Artif Organs* 2007;30:805-12.
22. Donlan RM. Preventing biofilms of clinically relevant organisms using bacteriophage. *Trends Microbiol* 2009;17:66-72.
23. Sutherland IW, Hughes KA, Skillman LC, Tait K. The interaction of phage and biofilms. *FEMS Microbiol Lett* 2004;232:1-6.
24. O'Toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: A genetic analysis. *Mol Microbiol* 1998;28:449-61.
25. Tait K, Skillman LC, Sutherland IW. The efficacy of bacteriophage as a method of biofilm eradication. *Biofouling* 2002;18:306-11.
26. Imamura Y, Chandra J, Mukherjee PK, Lattif AA, Szczotka-Flynn LB, Pearlman E, *et al.* *Fusarium* and *Candida albicans* biofilms on soft contact lenses: Model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:171-82.
27. Retuerto MA, Szczotka-Flynn L, Ho D, Mukherjee P, Ghannoum MA. Efficacy of care solutions against contact lens-associated *Fusarium* biofilms. *Optom Vis Sci* 2012;89:382-91.
28. Bispo PJ, Haas W, Gilmore MS. Biofilms in infections of the eye. *Pathogens* 2015;4:111-36.
29. Lu TK, Collins JJ. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:11197-202.
30. Schmelcher M, Shen Y, Nelson DC, Eugster MR, Eichenseher F, Hanke DC, *et al.* Evolutionarily distinct bacteriophage endolysins featuring conserved peptidoglycan cleavage sites protect mice from MRSA infection. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:1453-65.
31. Thomas HH. *Understanding Biostatistics*. Kimberly Kist (Eds), Mosby Yearbook, Inc., St.Louis, Missouri: USA. 1991. p. 64-5.