

Les abcès de cornée : de la microbiologie à la thérapeutique

Thibaud Bouche

▶ **To cite this version:**

Thibaud Bouche. Les abcès de cornée : de la microbiologie à la thérapeutique. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02114499

HAL Id: dumas-02114499

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02114499

Submitted on 29 Apr 2019

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

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

UNIVERSITÉ de CAEN NORMANDIE

FACULTÉ de MÉDECINE

Année 2018/2019

THÈSE POUR L'OBTENTION

DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le : Mercredi 12 décembre 2018

Par

M. Thibaud BOUCHE
Né le 31 Janvier 1992 à Les Sables d'Olonne (*Vendée*)

TITRE DE LA THÈSE :

Les abcès de cornée : De la microbiologie à la thérapeutique

Président : Monsieur le Professeur Jean-Claude QUINTYN

Membres : Monsieur le Professeur Olivier JOIN-LAMBERT
Monsieur le Professeur Renaud VERDON
Madame le Docteur Julie GUEUDRY-MOUILHADE
Madame le Docteur Anne-Laure LUX

Directeur de thèse : Dr Anne-Laure LUX

UNIVERSITE DE CAEN · NORMANDIE

UFR SANTE

Année Universitaire 2018/2019

Doyen
Professeur Emmanuel TOUZÉ

Assesseurs
Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)
Professeur Guy LAUNOY (recherche)
Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3ème cycle)

Directrice administrative
Madame Sarah CHEMTOB

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS

M.	AGOSTINI Denis	Biophysique et médecine nucléaire
M.	AIDE Nicolas	Biophysique et médecine nucléaire
M.	ALLOUCHE Stéphane	Biochimie et biologie moléculaire
M.	ALVES Arnaud	Chirurgie digestive
M.	AOUBA Achille	Médecine interne
M.	BABIN Emmanuel	Oto-Rhino-Laryngologie
M.	BÉNATEAU Hervé	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
M.	BENOIST Guillaume	Gynécologie - Obstétrique
M.	BERGER Ludovic	Chirurgie vasculaire
M.	BERGOT Emmanuel	Pneumologie
M.	BIBEAU Frédéric	Anatomie et cytologie pathologique
Mme	BRAZO Perrine	Psychiatrie d'adultes
M.	BROUARD Jacques	Pédiatrie
M.	BUSTANY Pierre	Pharmacologie
Mme	CHAPON Françoise	Histologie, Embryologie
Mme	CLIN-GODARD Bénédicte	Médecine et santé au travail
M.	COQUEREL Antoine	Pharmacologie
M.	DAO Manh Thông	Hépatologie-Gastro-Entérologie
M.	DAMAJ Ghandi Laurent	Hématologie
M.	DEFER Gilles	Neurologie

M. DELAMILLIEURE Pascal Psychiatrie d'adultes

M. DENISE Pierre Physiologie

M. DERLON Jean-Michel Éméritat jusqu'au 31/08/2020 Neurochirurgie

Mme DOLLFUS Sonia Psychiatrie d'adultes

M. DREYFUS Michel Gynécologie - Obstétrique

M. DU CHEYRON Damien Réanimation médicale

Mme ÉMERY Evelyne Neurochirurgie

M. ESMAIL-BEYGUI Farzin Cardiologie

Mme FAUVET Raffaèle Gynécologie – Obstétrique

M. FISCHER Marc-Olivier Anesthésiologie – réanimation et médecine péri-opératoire

M. GÉRARD Jean-Louis Anesthésiologie – réanimation et médecine péri-opératoire

M. GUILLOIS Bernard Pédiatrie

Mme GUITTET-BAUD Lydia Epidémiologie, économie de la santé et prévention

M. HABRAND Jean-Louis Cancérologie option Radiothérapie

M. HAMON Martial Cardiologie

Mme HAMON Michèle Radiologie et imagerie médicale

M. HANOUZ Jean-Luc Anesthésiologie – réanimation et médecine péri-opératoire

M. HULET Christophe Chirurgie orthopédique et traumatologique

M. HURAULT de LIGNY Bruno Éméritat jusqu'au 31/01/2020 Néphrologie

M. ICARD Philippe Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

M. JOIN-LAMBERT Olivier Bactériologie - Virologie

Mme JOLY-LOBBEDEZ Florence Cancérologie

M. JOUBERT Michael Endocrinologie

Mme KOTTLER Marie-Laure Biochimie et biologie moléculaire

M. LAUNOY Guy Epidémiologie, économie de la santé et prévention

M. LE COUTOUR Xavier Epidémiologie, économie de la santé et prévention

M. LE HELLO Simon Bactériologie-Virologie

Mme LE MAUFF Brigitte Immunologie

M. LEPORRIER Michel Éméritat jusqu'au 31/08/2020 Hématologie

M. LEROY François Rééducation fonctionnelle

M.	LOBBEDEZ Thierry	Néphrologie
M.	MANRIQUE Alain	Biophysique et médecine nucléaire
M.	MARCÉLLI Christian	Rhumatologie
M.	MARTINAUD Olivier	Neurologie
M.	MAUREL Jean	Chirurgie générale
M.	MILLIEZ Paul	Cardiologie
M.	MOREAU Sylvain	Anatomie/Oto-Rhino-Laryngologie
M.	MOUTEL Grégoire	Médecine légale et droit de la santé
M.	NORMAND Hervé	Physiologie
M.	PARIENTI Jean-Jacques	Biostatistiques, info. médicale et tech. de communication
M.	PELAGE Jean-Pierre	Radiologie et imagerie médicale
Mme	PIQUET Marie-Astrid	Nutrition
M.	QUINTYN Jean-Claude	Ophtalmologie
M.	RAVASSE Philippe	Chirurgie infantile
M.	REZNIK Yves	Endocrinologie
M.	ROD Julien	Chirurgie infantile
M.	ROUPIE Eric	Médecine d'urgence
Mme	THARIAT Juliette	Radiothérapie
M.	TILLOU Xavier	Urologie
M.	TOUZÉ Emmanuel	Neurologie
M.	TROUSSARD Xavier	Hématologie
Mme	VABRET Astrid	Bactériologie - Virologie
M.	VERDON Renaud	Maladies infectieuses
Mme	VERNEUIL Laurence	Dermatologie
M.	VIADER Fausto	Neurologie
M.	VIVIEN Denis	Biologie cellulaire

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

PROFESSEUR ASSOCIÉ DES UNIVERSITÉS A TEMPS PLEIN

M.	VABRET François	Addictologie

PROFESSEURS ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

M.	de la SAYETTE Vincent	Neurologie
Mme	DOMPMARTIN-BLANCHÈRE Anne	Dermatologie
Mme	LESCURE Pascale	Gériatrie et biologie du vieillissement
M.	SABATIER Rémi	Cardiologie

PRCE

Mme LELEU Solveig	Anglais

UNIVERSITE DE CAEN · NORMANDIE

UFR SANTE - FACULTE DE MEDECINE

Année Universitaire 2018 / 2019

Doyen
Professeur Emmanuel TOUZÉ

Assesseurs
Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)
Professeur Guy LAUNOY (recherche)
Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3ème cycle)

Directrice administrative
Madame Sarah CHEMTOB

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

M.	**ALEXANDRE Joachim**	Pharmacologie clinique
Mme	**BENHAÏM Annie**	Biologie cellulaire
M.	**BESNARD Stéphane**	Physiologie
Mme	**BONHOMME Julie**	Parasitologie et mycologie
M.	**BOUVIER Nicolas**	Néphrologie
M.	**COULBAULT Laurent**	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	**CREVEUIL Christian**	Biostatistiques, info. médicale et tech. de communication
M.	**DE BOYSSON Hubert**	Médecine interne
Mme	**DEBRUYNE Danièle** Éméritat jusqu'au 31/08/2019	Pharmacologie fondamentale
Mme	**DERLON-BOREL Annie** Éméritat jusqu'au 31/08/2020	Hématologie
Mme	**DINA Julia**	Bactériologie - Virologie
Mme	**DUPONT Claire**	Pédiatrie
M.	**ÉTARD Olivier**	Physiologie
M.	**GABEREL Thomas**	Neurochirurgie
M.	**GRUCHY Nicolas**	Génétique
M.	**GUÉNOLÉ Fabian**	Pédopsychiatrie
M.	**HITIER Martin**	Anatomie - ORL Chirurgie Cervico-faciale
M.	**ISNARD Christophe**	Bactériologie Virologie
M.	**LEGALLOIS Damien**	Cardiologie
Mme	**LELONG-BOULOUARD Véronique**	Pharmacologie fondamentale

Mme	LEPORRIER Nathalie Éméritat jusqu'au 31/10/2020	Génétique
Mme	LEVALLET Guénaëlle	Cytologie et Histologie
M.	LUBRANO Jean	Chirurgie générale
M.	MITTRE Hervé	Biologie cellulaire
M.	REPESSÉ Yohann	Hématologie
M.	SESBOÜÉ Bruno	Physiologie
M.	TOUTIRAIS Olivier	Immunologie
M.	VEYSSIERE Alexis	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

Mme	ABBATE-LERAY Pascale	Médecine générale
M.	COUETTE Pierre-André (fin 31/08/19)	Médecine générale
M.	LE BAS François (fin 31/08/19)	Médecine générale
M.	SAINMONT Nicolas (fin 31/08/19)	Médecine générale
Mme	NOEL DE JAEGHER Sophie (fin 31/08/2021)	Médecine générale

REMERCIEMENTS

A mon président de jury, le **Professeur Jean-Claude QUINTYN**,

Vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse. Votre arrivée dans le service a créé une nouvelle dynamique de travail. Votre disponibilité et vos idées durant la fin de préparation de ma thèse ont été précieuses pour moi.

A mon directeur de thèse, le **Docteur Anne-Laure LUX**,

Merci pour tes nombreuses relectures du manuscrit et tes remarques judicieuses. Notre collocation Langrunaise bien que courte fut très agréable. La perceuse est toujours au top, le bricoleur que je suis reste à améliorer…

Aux membres du jury,

Le **Professeur Olivier JOIN LAMBERT**,

Merci de m'avoir accepté au sein de l'équipe de microbiologie. Ces six mois de stage ont été très enrichissants pour moi. Vos remarques judicieuses sur mes différents travaux m'ont beaucoup aidé.

Le **Professeur Renaud VERDON**,

Je vous suis reconnaissant d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse et de bien vouloir juger mon travail.

Le **Docteur Julie GUEUDRY-MOULHADE**,

Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Vos connaissances dans le domaine de l'infectiologie ophtalmologique vont je suis sûr être très enrichissantes lors de ma soutenance. Votre disponibilité lors de nos échanges par mail concernant des patients m'ont beaucoup aidé.

A toute **l'équipe d'ophtalmologie**,

Grâce à votre bonne humeur collective, j'ai toujours autant plaisir à venir travailler chaque matin.
Merci aux infirmières de m'avoir appris le Madison en salle de consultation, d'avoir remis mon col de chemise chaque matin, d'avoir supporté mes goûts musicaux douteux lors des après-midi d'IVT.
Merci aux secrétaires, pour votre disponibilité, pour avoir su créer en moi des poussées artistiques (bonjour à Désiré et aux boites de vitamines).
Merci aux internes, que je considère plus comme des amis que comme des collègues, pour tous ces moments passés ensemble et à venir.

A toute **l'équipe de microbiologie**,

Merci pour votre accueil, j'ai la satisfaction de savoir qu'à peu près tout le monde à de bonnes lunettes depuis mon passage. J'espère avoir su inciter en vous la flamme de l'ophtalmologie, du « fait historique du jour » et du « saint quotidien ». Je reste malgré tout très déçu d'avoir découvert que la gélose chocolat n'en contient absolument pas…
Merci à François, Claire, Zouzou et Laurent pour votre aide sur mes différents travaux.

A ma famille pour son soutien de tous les jours,
A Typhaine, pour m'avoir montré le chemin de la P1, et des 10 saisons de Friends qui ont suivi.
A ma mère, pour m'avoir amené là où j'en suis aujourd'hui.
A mon père, pour m'avoir fait découvrir dès le plus jeune âge l'ophtalmologie.
A mon oncle Guillaume pour ton énorme travail de traduction des articles.
A Frédéric, pour vos corrections finales.
A Léon, pour ton soutien inébranlable durant toutes ces années de travail.
A Laura, pour ton aide dans la rédaction des articles et de la thèse, pour continuer de rire à mes blagues et pour partager ma vie.

LISTE DES COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Publications :

Publication n°1

T. Bouche, J-C. Quintyn, R. Morello, L. Bouche, J. Bonhomme, A. Vabret, O. Join-Lambert, A-L. Lux

Differential microbiology of severe *vs.* non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases

Soumis à *Cornea*

Publication n°2

T. Bouche, C. Daurel, G. Quemener, A-L. Lux, O. Join-Lambert, J-C. Quintyn, F. Guérin

Concentration au niveau cornéen des antibiotiques utilisés dans la prise en charge des abcès de cornée

En cours d'écriture

Communications orales :

- 07 Mai 2018, Paris : 124 e Congrès International de la Société Française d'Ophtalmologie.

Etude ABCU : Abcès de cornée aux urgences ophtalmologiques.

Communications poster :

- 17-18 Décembre 2018, Paris : 38 e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse.

Concentration au niveau cornéen des antibiotiques utilisés dans la prise en charge des abcès de cornée.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AC : Abcès de cornée

ADN : Acide désoxyribonucléique

AKN : Amikacine

ARNm : Acide ribonucléique messager

ASC : Aire sous la courbe

ATB : Antibiotique

ATCD : Antécédents

AZT : Azithromycine

BGN : Bacille à Gram négatif

BGP : Bacille à Gram positif

C : Concentration

C-ATB : Collyre antibiotique

C3G : Céphalosporine de 3ème génération

CAZ : Ceftazidime

CEREES : Comité d'expertise pour les recherches, les études et les évaluations dans le domaine de la santé

CF : Collyres fortifiés

CGN : Cocci à Gram négatif

CGP : Cocci à Gram positif

C(i) : Concentration initiale

CIP : Ciprofloxacine

Cmax : Concentration maximale

CMI_{90} : Concentration minimale inhibitrice

CO_2 : Dioxyde de carbone

C(t) : Concentration au cours du temps

DCI : Dénomination commune internationale

EUCAST : *European commitee on antimicrobian susceptibility testing*

GMA : Greffe de membrane amniotique

HSV : Herpès simplex virus

IV : Intraveineux

J0 : Jour 0

MHE : Mueller Hinton E

MHF : Mueller Hinton F

NS : Non significatif

OCT : *Optical coherence tomography*

PCR : *Polymerase chain reaction*

PLP : Protéines de liaison des pénicillines

RIF : Rifampicine

SARM : *Staphylocoque aureus* résistant à la méticilline

SFO : Société française d'ophtalmologie

SIR : Sensible/Intermédiaire/Résistant

TNF : *Tumor necrosis factor*

TOB : Tobramycine

VAN : Vancomycine

VZV : Varicella zoster virus

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1. Présentation de la cornée 5
Figure 2. Limites physiques de la cornée 6
Figure 3. Schéma représentant les cinq couches constituant la cornée 7
Figure 4. Photographie de l'épithélium cornéen prise en microscopie optique après coloration hématoxiline, éosine, safran..... 7
Figure 5. Photographie de l'endothélium cornéen prise par OCT 8
Figure 6. Schéma des différentes couches (lipidique, aqueuse et muqueuse) du film lacrymal . 9
Figure 7. Bactéries à Gram positif et à Gram négatif.. 11
Figure 8. Les différentes étapes de la coloration de Gram..... 12
Figure 9. Physiopathologie de la cornée en cas d'agression, conduisant à un AC..... 25
Figure 10. Différences entre un AC non sévère (image de gauche) et un AC sévère (image de droite). 27
Figure 11. Prise en charge des AC selon la gravité clinique. 28

Tableau 1. Les bactéries Cocci aérobies (à Gram positif et à Gram négatif) observées en ophtalmologie. 13
Tableau 2. Les bactéries Bacilles aérobies (à Gram positif et à Gram négatif) observées en ophtalmologie. 14
Tableau 3. Les Coccobacilles observés en ophtalmologie. 14
Tableau 4. Les bactéries anaérobies (à Gram positif et à Gram négatif) observées en ophtalmologie. 14
Tableau 5. Noms des spécialités des collyres commerciaux au 1er Novembre 2018..... 22
Tableau 6. Critères de gravité d'un abcès de cornée. 27

SOMMAIRE

Liste des communications scientifiques

Listes des abréviations

Listes des figures et tableaux

Introduction générale 1

PARTIE I : État des connaissances 4

1. La cornée et le film lacrymal 5

1.1. Généralités sur la cornée 5

1.2. Histologie de la cornée 6

1.3. Le film lacrymal 8

2. Les germes en ophtalmologie 10

2.1. Généralités bactériologiques 10

2.1.1. Les cocci 13

2.1.2. Les bacilles 13

2.2. La flore commensale bactérienne de l'œil 15

3. Les antibiotiques 17

3.1. Les antibiotiques en ophtalmologie 17

3.1.1. Les collyres antibiotiques commerciaux 17

3.1.2. Les collyres antibiotiques fortifiés 22

4. Les abcès de cornée 24

4.1. Evaluation diagnostique 26

4.2. Stratégie thérapeutique 28
4.2.1. Traitement ambulatoire 28
4.2.2. Hospitalisation 29

Objectifs de la thèse 32

PARTIE II : Étude n°1
Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases **33**

PARTIE III : Étude n°2
Concentration au niveau cornéen des antibiotiques utilisés dans la prise en charge des abcès de cornée **35**

Conclusion 36

Bibliographie **39**

Annexe **44**

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'infectiologie ophtalmologique regroupe de nombreuses pathologies fréquemment rencontrées en pratique clinique. Ce domaine est très vaste, il regroupe à la fois des pathologies banales telles que les conjonctivites et des pathologies sévères comme l'endophtalmie, mettant en jeu le pronostic fonctionnel et anatomique de l'œil.

Parmi ces pathologies, les abcès de cornée (AC) constituent un véritable problème de santé publique, de par leur fréquence et leur gravité potentielle (Ancele 2009; Darugar et al. 2011). Le coût associé à cette pathologie en fait un enjeu économique majeur : collyres fortifiés onéreux, hospitalisations prolongées, consultations de suivi multiples, récupération fonctionnelle limitée (Lim, Lim, and Ray 2013). Selon différents critères cliniques et biologiques, un AC est considéré comme non sévère ou sévère. La détermination du degré de sévérité a un retentissement direct sur la prise en charge du patient. Les AC non sévères autorisent une prise en charge en ambulatoire, sans réalisation de prélèvement microbiologique, avec mise en place d'un traitement par collyres antibiotiques (ATB) commerciaux probabilistes (Dahlgren, Lingappan, and Wilhelmus 2008). A l'opposé, les AC sévères imposent une hospitalisation pour réalisation d'un prélèvement microbiologique par grattage cornéen à la lampe à fente et mise en place urgente de collyres fortifiés (CF) probabilistes horaires.

Ces recommandations de prise en charge des AC établies depuis les années 2000 sont encore à ce jour appliquées et reprises par la Société Française d'Ophtalmologie (SFO) (Bourcier 2016) ; cependant des évolutions sont à noter, tant sur le plan microbiologique qu'ophtalmologique : apparition de nouvelles résistances des germes aux antibiotiques (Malet 2009), optimisation des techniques de diagnostic en microbiologie (Lu and Liu 2016), généralisation du port de lentilles de

contact (Bourcier et al. 2003; Malet 2009). Ces évolutions pourraient entrainer une modification dans la prise en charge des AC.

De plus, la nature du germe à l'origine de l'AC pourrait avoir un impact sur la sévérité de ce dernier et par conséquent sur le traitement à mettre en place. En effet, la mise en évidence du germe permet une réévaluation de la prise en charge du patient par l'obtention d'un antibiogramme. Cependant, l'administration exclusivement locale des antibiotiques et le nombre limité d'ATB disponibles en ophtalmologie rendent parfois difficile l'interprétation de ces antibiogrammes, avec des discordances entre le résultat des antibiogrammes et les ATB réellement disponibles en pratique clinique.

1ère partie : ÉTAT DES CONNAISSANCES

1. La cornée et le film lacrymal

1.1. Généralités sur la cornée

Située à l'avant de l 'œil, à l'état physiologique la cornée est transparente, avasculaire et richement innervée par des branches des nerfs ciliaires (Bourcier 2016). Elle est convexe et irrégulièrement asphérique, à grand axe horizontal avec un rayon de courbure de la face postérieure plus courbe que celui de la face antérieure (6.5 mm contre 7.8 mm). Elle est dite prolate (plus bombée au centre qu'à la périphérie) (Figure 1).

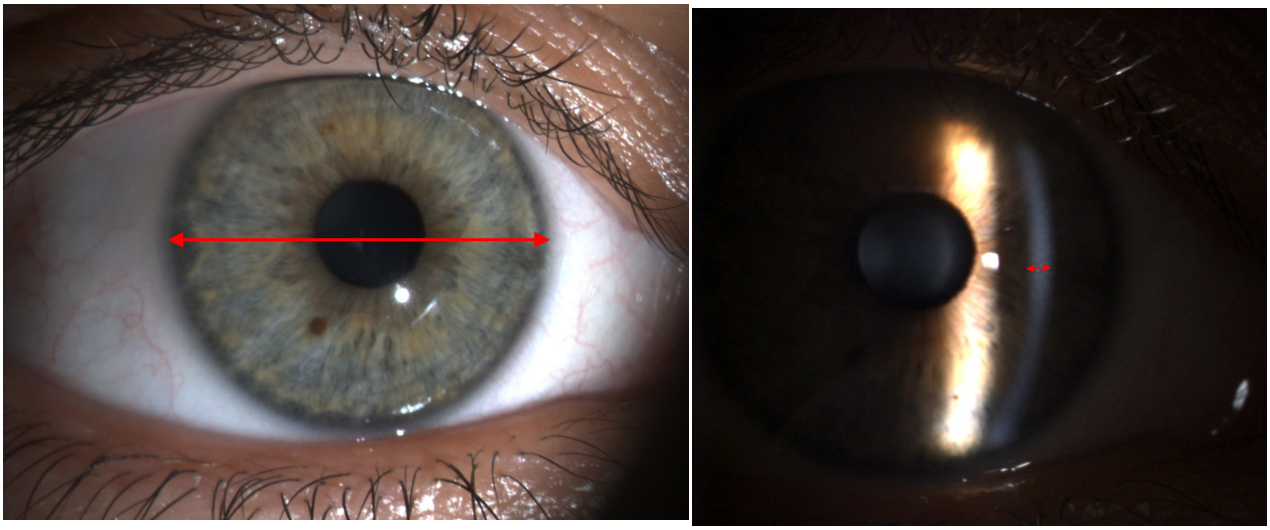


FIGURE 1. Présentation de la cornée (patiente de 30 ans, cornée saine ; Source : CHU de Caen)

La face antérieure de la cornée est recouverte par le film lacrymal qui forme une pellicule protectrice. Lors de l'occlusion palpébrale, elle est en contact avec la face postérieure des paupières. La face postérieure de la cornée constitue la limite externe de la chambre antérieure, en contact permanent avec l'humeur aqueuse qui circule au sein de la chambre antérieure. La limite entre la périphérie cornéenne et la sclère est constituée par le limbe (Figure 2).

Son épaisseur augmente du centre (520 microns) vers la périphérie (700 microns).

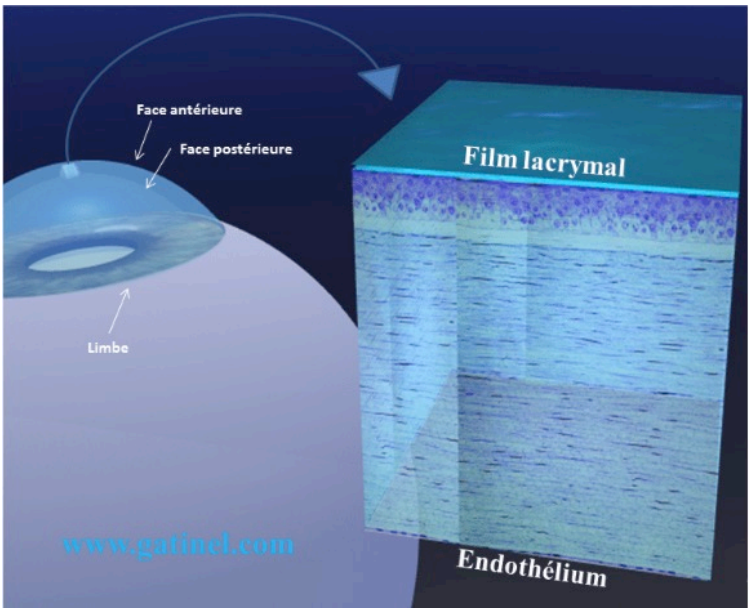


FIGURE 2. Limites physiques de la cornée (source : https://www.gatinel.com).

Le système optique de l'œil peut être assimilé à un ensemble de quatre dioptres sphériques centrés sur un même axe de révolution (face antérieure et postérieure de la cornée, face antérieure et postérieure du cristallin). La cornée représente le premier dioptre du système optique et représente les deux tiers du pouvoir réfractif de l'œil. Elle a une puissance dioptrique moyenne de 43 dioptries, avec un dioptre cornéen antérieur de 49 dioptries et un dioptre cornéen postérieur de -6 dioptries.

1.2. Histologie de la cornée

La cornée est constituée de cinq couches (Figure 3). D'avant en arrière on distingue :

- L'épithélium cornéen
- La membrane de Bowman
- Le stroma cornéen
- La membrane de Descemet
- L'endothélium cornéen

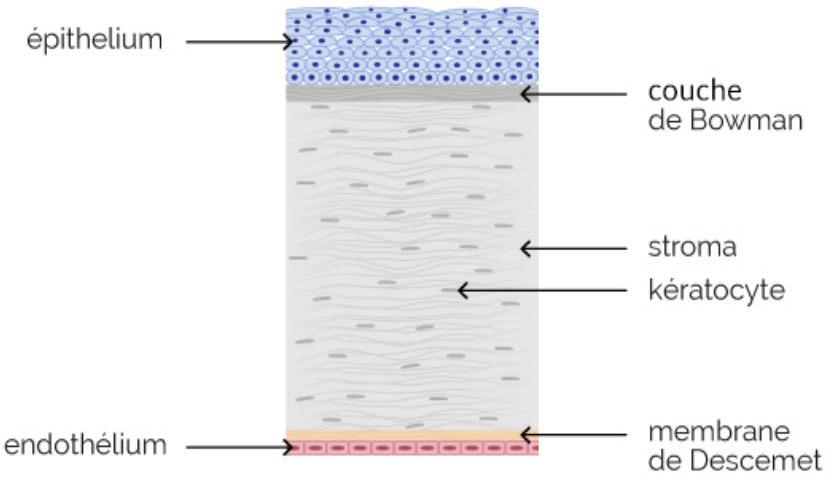


FIGURE 3. Schéma représentant les cinq couches constituant la cornée (source : www.mediris.com).

L'épithélium cornéen est pavimenteux et stratifié, il représente 10 % de l'épaisseur totale de la cornée.

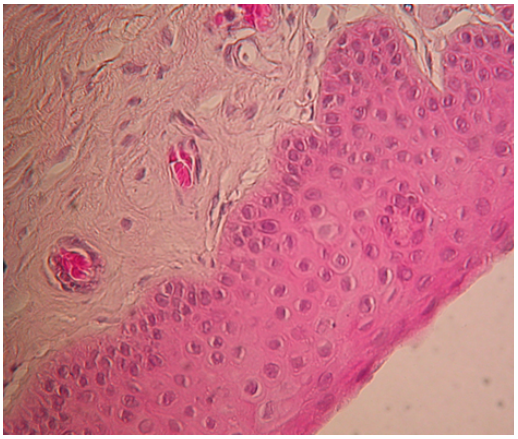


FIGURE 4. Photographie de l'épithélium cornéen prise en microscopie optique après coloration hématoxiline, éosine, safran (source : Allouch-Nahmias et al, 2011).

La membrane de Bowman est acellulaire et est formée de fibrilles et de collagène, elle sépare l'épithélium du stroma cornéen.

Le stroma représente à lui seul près de 90 % de l'épaisseur cornéenne. Il est constitué de lamelles de collagène, de kératocytes (qui assurent la biosynthèse du collagène et de mucopolysaccharides) et de substance fondamentale. Cette substance est riche en mucopolysaccharides et en eau et a un rôle dans la cohésion des fibres de collagène, permettant une bonne transparence cornéenne.

La membrane de Descemet composée de fibrilles de collagène de petit diamètre, représente la membrane basale de l'endothélium cornéen. Elle est amorphe, élastique et très résistante. Elle mesure environ dix microns et son épaisseur augmente avec l'âge.

L'endothélium cornéen ne comporte qu'une couche de cellules (environ 500 000) plates, hexagonales qui sont directement en contact avec l'humeur aqueuse (Figure 5). Leur nombre diminue physiologiquement avec l'âge, sans possibilité de création de nouvelles cellules. L'endothélium joue un rôle indispensable de barrière en modulant les échanges entre le stroma et l'humeur aqueuse afin d'assurer une bonne transparence cornéenne (Allouch-Nahmias et al. 2011).

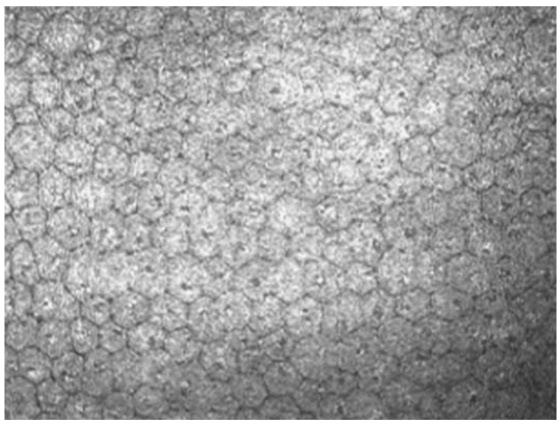


FIGURE 5. Photographie de l'endothélium cornéen prise par OCT. L'endothélium est formé d'une monocouche de cellules uniformes hexagonales plates, régulières d'où l'organisation en « nid d'abeilles » caractéristique. (source : (Allouch-Nahmias et al. 2011).

1.3. Le film lacrymal

Il constitue une interface entre l'œil et l'environnement extérieur. Il a pour rôle d'assurer une bonne hydratation cornéenne, une bonne qualité réfractive et une barrière contre les agressions extérieures. Il est composé d'eau, d'enzymes, de protéines, d'immunoglobulines, de lipides et de différents métabolites, répartis dans trois couches successives (lipidique, aqueuse et mucineuse) (Figure 6). Sa

constitution dépend de plusieurs éléments que sont la sécrétion des larmes, l'étalement correct de celles-ci à la surface oculaire et leur résorption par le canal lacrymo-nasal ainsi que l'évaporation dans l'air.

L'épaisseur du film lacrymal a été évaluée entre 35 à 40 µm, pour un volume total de 7 à 9 µL (Bernard et al. 2008). La sécrétion basale du film lacrymal serait comprise entre 0.7 à 2 µL/min (Mishima 1981; Baudouin and Labbé 2006). Son pH varie de 7.14 à 7.82 avec une pression osmotique de 305 milliosmoles/kg.

La couche aqueuse, faite à 98 % d'eau contient les principaux composants organiques et protéiques (5 à 8 g/l). Elle joue un rôle antimicrobien majeur grâce à la présence de lysozymes, de béta-lysines, de lactoferrines, d'anticorps et d'immunoglobulines (A et G).

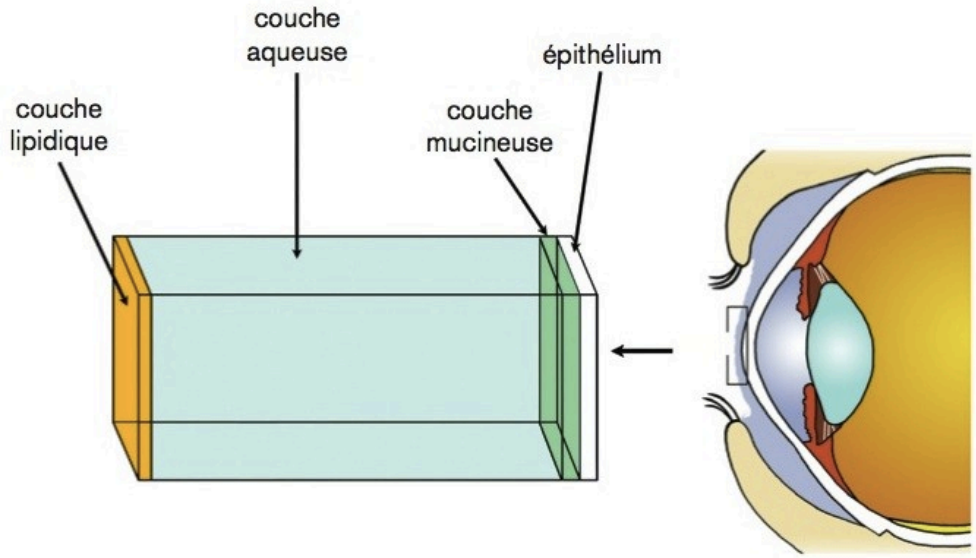


FIGURE 6. Schéma des différentes couches (lipidique, aqueuse et mucineuse) du film lacrymal (source : Matériaux de contactologie, M. Dion, 2010, édition Collège Edouard-Montpetit).

2. Les germes en ophtalmologie

Un AC est considéré, par argument de fréquence, d'origine bactérienne. En effet, 90 à 95 % des AC se révèlent d'origine bactérienne aux prélèvements microbiologiques (Barría, Chabouty, and Moreno 2016). Il est donc essentiel de connaitre les différentes bactéries en cause et leur mécanisme d'action afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique.

2.1. Généralités bactériologiques

Les bactéries sont classées en différentes familles, genres et espèces, selon des critères morphologiques et physiologiques.

Tout d'abord, on distingue deux grands ensembles de bactéries selon leur mécanisme respiratoire. Il y a d'une part les bactéries aérobies et d'autre part les bactéries anaérobies. Les bactéries anaérobies n'ont une croissance qu'en milieu privé d'oxygène, contrairement aux aérobies qui ont besoin d'oxygène pour se développer.

Ensuite, les bactéries se présentent sous différentes formes. On distingue les bactéries de forme sphérique, les cocci, par opposition aux bactéries de forme allongée (en bâtonnets), les bacilles.

De plus, les bactéries, cocci ou bacilles peuvent avoir une disposition spécifique. Elles peuvent s'organiser en amas, en chainettes, en ramification ou encore en paires.

Enfin, chaque bactérie, de forme ronde ou allongée, peut être différenciée selon si elle possède ou non une membrane externe en effectuant une coloration de Gram. On parle de bactéries à Gram négatif et de bactéries à Gram positif.

Ces différents paramètres (mécanisme respiratoire, forme, disposition et coloration), permettent de renseigner sur la taxonomie des bactéries.

La coloration de Gram

La coloration de Gram doit son nom au bactériologiste danois Hans Christian Gram. Cette technique a été mise au point en 1884.

Les bactéries présentent toutes une paroi constituée d'un peptidoglycane (composé de glycoprotéines) entourant la membrane cytoplasmique. Cette paroi est recouverte par une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, tandis que les bactéries Gram à positif en sont dépourvues. De plus, les bactéries à Gram positif ont un peptidoglycane plus épais (imperméable à l'alcool), tandis que les bactéries à Gram négatif ont une paroi fine (perméable à l'alcool) (Figure 7).

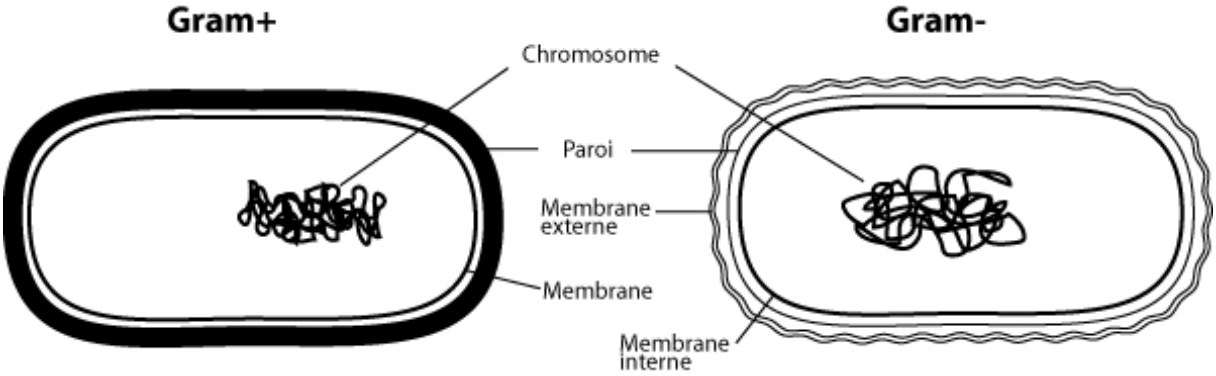
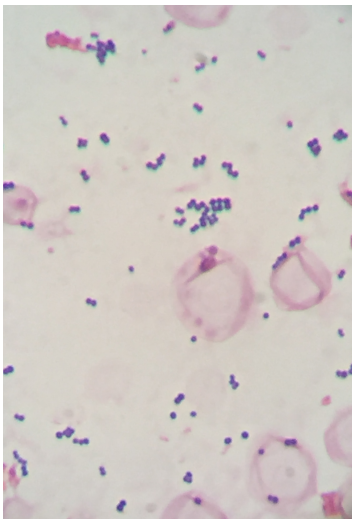


FIGURE 7. Bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Schéma différenciant une bactérie à Gram positif (à gauche) d'une bactérie à Gram négatif (à droite). (source : Université de Genève).

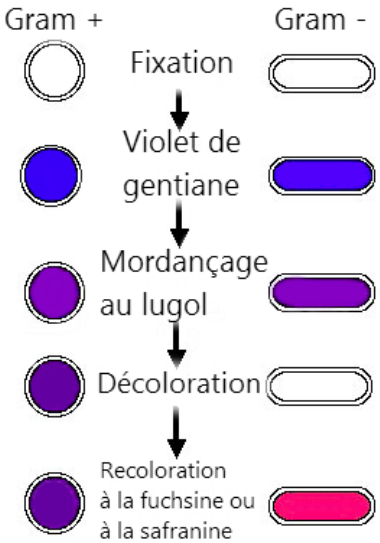
Plusieurs étapes permettent de réaliser la coloration de Gram (Figure 8).

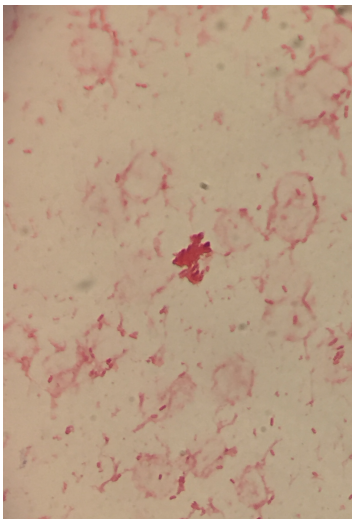
Après réalisation d'un frotti et fixation de celui-ci sur une lame avec de l'éthanol, on procède à une coloration au violet de gentiane (colorant basique), suivi d'un rinçage et d'une nouvelle coloration au lugol (solution iodo-iodurée). Le violet de gentiane permet de colorer toutes les bactéries, le lugol assure une stabilisation de la

coloration violette. Il s'en suit une décoloration à l'alcool, qui a pour rôle de pénétrer dans la bactérie en présence d'une membrane externe (bactérie à Gram négatif). Ainsi, devant une disparition de la coloration violette, on peut confirmer la pénétration de l'alcool dans la bactérie, attestant la présence d'une membrane externe et donc une bactérie à Gram négatif. En cas de bactérie à Gram positif, l'alcool ne pénètre pas et la coloration violette persiste. Une dernière étape de contre coloration avec de la fuchsine ou de la safranine permet de colorer les bactéries à Gram négatif en rose.



Examen direct :
Cocci à Gram + type *staphylocoque* (CHU Caen)





Examen direct :
Bacilles à Gram – type entérobactéries (CHU Caen)

FIGURE 8. Les différentes étapes de la coloration de Gram. La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif (en rose, image de droite), des bactéries à Gram positif (en violet, image de gauche). (source : http://www.antibiotique.eu/les-types-de-bacteacuteries.html)**.**

2.1.1. Les cocci

Parmi les cocci, selon l'examen direct, on distingue quatre catégories :

- Les cocci simples (monocoques),
- Les cocci réunis par deux ou diplocoques (pneumocoque, entérocoque, *Neisseria*),
- Les cocci groupés en chainettes (streptocoques),
- Les cocci groupés en amas (staphylocoques)

En ophtalmologie, un large nombre de cocci peuvent être mis en évidence (Tableau 1) (CMIT 2016).

Cocci à Gram +					**Cocci à Gram -**			
Streptococcaceae		***Micrococcaceae***			***Enterobacteriaceae***		***Neisseriaceae***	
Genre	**Espèce**	**Genre**	**Espèce**		**Genre**	**Espèce**	**Genre**	**Espèce**
	mitis		**coagulase négative**	**coagulase positive**		*faecalis*		*gonorrhoeae*
S.	*pneumoniae*		*epidermidis*	*aureus*	*E.*	*faecium*	*Neisseria*	*meningitidis*
	salivarius		*capitis*					
	gallolyticus	*S.*	*caprae*					
			haemolyticus					
			lugdunensis					
			schleiferi					
			warneri					

TABLEAU 1. Les bactéries cocci aérobies (à Gram positif et à Gram négatif) observées en ophtalmologie.

2.1.2. Les bacilles

Les bacilles sont également très représentés, et plus particulièrement les bacilles à Gram négatif (Tableau 2) (CMIT 2016).

Bacille à Gram +	Bacille à Gram -			
	Enterobacteriaceae		*Autres bacilles*	
	Genre	**Espèce**	**Genre**	**Espèce**
Corynebacterium	*Escherichia*	*coli*	*Pseudomonas*	*aeruginosa*
Listeria	*Klebsiella*	*pneumoniae*	*Acinobacter*	
Bacillus	*Proteus*	*mirabilis*	*Bordetella*	
	Raoultella	*ornithinolytica*		
	Serratia	*marcescens*		
	Salmonella			

TABLEAU 2. Les bactéries bacilles aérobies (à Gram positif et à Gram négatif) observées en ophtalmologie.

Certains germes présentent une forme ovoïde, d'où la terminologie de coccobacilles (Tableau 3) (CMIT 2016).

Coccobacilles	
Genre	**Espèce**
Brucella	
Campylobacter	
Haemophilus	
Moraxella	*lacunata*
	nonliquefaciens
	catarrhalis

TABLEAU 3. Les coccobacilles observés en ophtalmologie.

Parmi les bactéries **anaérobies,** celles à Gram positif sont plus fréquentes que celles à Gram négatif en ophtalmologie (Tableau 4).

Anaérobies à Gram +		Anaérobies à Gram -
Genre	**Espèce**	
Actinomyces		*Bacteroides*
Clostridium	botulinum	*Fusobacterium*
	difficile	*Porphyromonas*
	perfringens	*Prevotella*
	tetani	
Propionibacterium	*acnes*	

TABLEAU 4. Les bactéries anaérobies (à Gram positif et à Gram négatif) observées en ophtalmologie.

D’autres familles de bactéries existent, parmi lesquelles il convient de citer les bactéries atypiques :

- Bactéries intracellulaires : *Chlamydia, Rickettsia, Bartonella, Coxiella,*
- Mollicutes (sans paroi) : *Mycoplasma*,
- Spirochètes : *Borrelia, Leptospira, Treponema,*
- Les mycobacteries : *Mycobacterium* du complexe *tuberculosis,* mycobactéries atypique (dont *Mycobacterium avium*).

2.2. La flore commensale bactérienne de l’œil

La flore commensale correspond à un ensemble de bactéries et de protozoaires qui vivent au niveau d’un organisme, sans lui porter préjudice. Elle a un rôle de défense contre les agressions extérieures (effet barrière), en luttant contre la colonisation par des germes pathogènes et en assurant un renouvellement des cellules locales.

Il est donc essentiel de connaitre la flore habitante de l’œil afin de faire la distinction entre un germe naturellement présent au niveau conjonctival donc a priori non pathogène (dans des conditions physiologiques), et un germe pathogène, issu d’une flore exogène, responsable d’infections locales (conjonctivites, abcès, endophtalmies) qu’il convient de traiter.

La réalisation de culture issue d’un écouvillonnage conjonctival chez des sujets sains est positive dans plus de 90 % des cas (Barría, Chabouty, and Moreno 2016), mettant en évidence la richesse de la flore commensale de l’œil.

Les bactéries à Gram positif représentent 70 à 95 % de la flore commensale de l’œil (Grzybowski, Brona, and Kim 2017; Barría, Chabouty, and Moreno 2016), avec essentiellement *Staphylococcus epidermidis* et *Propionibacterium acnes* (Zhang, He,

Niu, Liu, et al. 2017). On observe ensuite, en proportion beaucoup plus faible *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* et les bacilles à Gram négatif (Ohtani et al. 2017).

Dans certaines circonstances (pathologies générales ou locales), la flore commensale de l'œil peut être perturbée et entraine une augmentation des bactéries habitantes. C'est le cas lors d'un dysfonctionnement meibomien, pathologie très fréquente chez les sujets âgés (Zhang, He, Niu, Chan, et al. 2017), mais également dans le cadre du glaucome. En effet, il a été constaté, chez les patients prenant un traitement au long cours par Latanoprost (collyre hypotonisant analogue de prostaglandines), une augmentation du nombre de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) (Ohtani et al. 2017). Dans la cadre de la pathologie diabétique, les études tendent à mettre en évidence une augmentation des bacilles à Gram négatif (Adam et al. 2015; Grzybowski, Brona, and Kim 2017). Chez les sujets alcooliques, la proportion de *Staphylococcus aureus* était plus importante comparée à celle chez les sujets sains, et des germes du genre *Moraxella et Haemophilus* étaient présents en quantité plus importante (Gunduz et al. 2016).

A l'opposé, le seuil basal de la flore commensale de l'œil peut être volontairement diminué dans un but pré-thérapeutique, c'est essentiellement le cas avant intervention de la cataracte pour lutter contre le risque d'endophtalmie post-opératoire. Ainsi, les massages meibomiens et l'administration de lévofloxacine en collyre ont permis de diminuer la quantité de germes conjonctivaux (Zhang, He, Niu, Liu, et al. 2017).

3. Les antibiotiques

3.1. Les antibiotiques en ophtalmologie

En ophtalmologie, le nombre d'antibiotiques disponible est assez limité puisque ceux administrés par voie générale (*per os* ou IV) sont inadaptés (biodisponibilité au niveau cornéen trop faible) (Robert and Denes 2012) ; ainsi, les antibiotiques locaux en collyres, gels ou pommades constituent le traitement de référence de la plupart des infections ophtalmologiques.

Deux types de collyres sont à différencier, il y a d'une part les **collyres commerciaux** (Tableau 5) et d'autre part les **collyres fortifiés**.

3.1.1. Les collyres antibiotiques commerciaux (Tableau 5)

La plupart des familles d'antibiotiques sont représentées en ophtalmologie.

- Les fluoroquinolones

Plusieurs générations de molécules appartenant à cette famille ont été découvertes depuis les années 1960. Les molécules actuellement disponibles en France sous formes de collyres appartiennent aux 2ème et 3ème génération. Il y a la norfloxacine, la ciprofloxacine, l'ofloxacine et la moxifloxacine. En pratique clinique, la ciprofloxacine et l'ofloxacine semblent être nettement plus prescrites que la norfloxacine et la moxifloxacine (CMIT 2016; Robert and Denes 2012).

Ces fluoroquinolones sont actives sur les staphylocoques (en dehors du SARM), les streptocoques et les entérobactéries. A noter que la ciprofloxacine est la fluoroquinolone la plus active sur *Pseudomonas aeruginos*a.

Leur mode d'action est bactéricide, « concentration-dépendant ». Elles agissent en inhibant la synthèse et le surenroulement de l'acide désoxyribonucléique (ADN) de deux enzymes : la Topo-isomérase IV et l'ADN gyrase, qui sont impliquées dans la

condensation et le déroulage de l'ADN. Elles ont une bonne biodisponibilité, même par voie topique, ce qui leur permet d'atteindre des concentrations bactéricides pour la plupart des bactéries ciblées.

La principale source de résistance de ces antibiotiques est une mutation chromosomique des gènes *gyrA* et *parC* (Graham et al. 1990).

- Les aminosides

En ophtalmologie, à ce jour, seuls la néomycine et la tobramycine sont disponibles sachant que la gentamicine a été retirée du marché en 2013 (https://www.vidal.fr).

Il est intéressant de noter que depuis 2010 et l'arrêt de commercialisation de la spécialité Néomycine Diamant® (https://www.vidal.fr), la néomycine est toujours commercialisée en association à un antibiotique polypeptide (la polymyxine B, antibiotique concentration dépendant et actif sur les bacilles à Gram négatif, inactif sur les bactéries à Gram positif, les cocci à Gram négatif et les germes anaérobies).

Les aminosides sont actifs contre les bactéries à Gram négatif (cocci et bacilles) et les staphylocoques mais ne sont que peu actifs contre les streptocoques et le pneumocoque (mauvaise pénétration de la paroi de la bactérie) (CMIT 2016; Robert and Denes 2012).

Leur mode d'action est bactéricide, « concentration-dépendent ».

Ils agissent en inhibant la synthèse protéique en ciblant le ribosome (responsable de la synthèse des protéines à partir de l'acide ribonucléique messager (ARNm)).

Les aminosides administrés en collyre sont intéressants en cas d'atteinte de la surface oculaire, mais peu utiles en cas d'infection intra oculaire dans la mesure où ils diffusent peu dans l'œil (concentrations faibles de collyre retrouvées dans la chambre antérieure).

Plusieurs mécanismes de résistances ont été mis en évidence : modification de la cible ribosomale, diminution du transport vers l'intérieur de la bactérie (pompe à efflux) et inactivation enzymatique.

- L'acide fusidique

Il est le seul représentant de cette famille d'antibiotique et est commercialisé sous forme de gel. Il est efficace sur *Staphylococcus aureus* et *epidermidis*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, cependant il n'est que très peu actif sur les streptocoques, les entérobactéries et les autres bacilles à Gram négatif (CMIT 2016; Robert and Denes 2012).

L'acide fusidique est bactériostatique. Il agit en bloquant la synthèse protéique au moment de la translocation de l'ARN au sein du ribosome.

La biodisponibilité sous forme de gel est satisfaisante (concentration correcte retrouvée dans l'humeur aqueuse après administration locale) (Thorn and Johansen 1997).

On retrouve deux types de résistance, la première par mutation du gène *fusA* et la seconde par une pompe à efflux.

- La rifamycine

La rifamycine est active sur la plupart des bactéries à Gram positif, certains à Gram négatif et sur quelques mycobactéries (CMIT 2016; Robert and Denes 2012).

C'est une molécule de bas poids moléculaire. Son mode d'action est bactériostatique. Elle agit en inhibant l'élongation de l'ARNm par un blocage de la sous-unité *bêta* de l'ARN polymérase ADN-dépendante.

La résistance est liée à la sélection du mutant porteur de la mutation du gène *rpoB* qui code pour la sous-unité *bêta* de l'ARN polymérase.

- Les macrolides

Seul l'azythromycine est disponible en collyre commercial. Il est actif sur les cocci à Gram positif et à Gram négatif, ainsi que sur les bacilles à Gram positif. A noter une moindre efficacité sur les entérobactéries et les *Pseudomonas* (CMIT 2016; Robert and Denes 2012).

Les macrolides sont des molécules de grand poids moléluclaire qui pénètrent peu dans l'œil, d'où leur utilisation privilégiée dans les AC plutôt que dans les infections intra oculaires.

Leur mécanisme d'action est bactériostatique et repose sur l'inhibition de la synthèse protéique ribosomale bactérienne par une inhibition de la sous-unité 50S ribosomale.

Les résistances sont liées à une inactivation de la cible (via une méthylase) ou une pompe à efflux.

- Les bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont une vaste famille d'antibiotiques. Elle regroupe les pénicillines (A, G, M, V, carboxypénicillines, uréidopénicillines), les inhibiteurs de bêta lactamases, les carbapénèmes, les céphalosporines (génération 1 à 5) et le monobactame. Leur mode d'action est bactéricide, temps-dépendant. Elles agissent essentiellement en inhibant la synthèse du peptidoglycane. Les principales résistances sont liées à une modification du site d'action (protéines de liaison des pénicillines (PLP)), la production d'une bêta lactamase ou encore des phénomènes d'efflux ou d'imperméabilité de la membrane externe.

En ophtalmologie, les bêta lactamines sont utilisées sous formes de collyres fortifiés. On retient essentiellement la ticarcilline, active sur les cocci à Gram positif (hors SARM) et certaines bactéries à Gram négatif (dont le *P. aeruginosa*) ainsi que le

ceftazidime (céphalosporine de troisième génération), active sur les cocci à Gram positif et certaines bactéries à Gram négatif dont le *P. aeruginosa*.

- Les glycopeptides

Deux ATB constituent cette famille, la vancomycine et la teicoplanine. Ils agissent en inibant la synthèse de la paroi bactérienne et sont bactéricides, temps-dépendants. Ils sont actifs sur les cocci à Gram positif (dont les SARM) et inactifs sur les bactéries à Gram négatif. En ophtalmologie, la vancomycine est utilisée sous forme de CF.

- Les tétracyclines

Seule la chlortétracycline est disponible en France depuis le retrait de l'oxytétracycline en 2008 (Robert and Denes 2012) ; cependant, du fait de son non remboursement par la sécurité sociale, la chlortétracycline a tendance à disparaitre dans les prescriptions des professionnels de santé.

Les tétracyclines agissent via la sous-unité 30S du ribosome permettant d'inhiber la synthèse protéique (activité bactériostatique). Elles sont actives sur les bactéries cocci à Gram positif ainsi que sur les bactéries dites atypiques, sans paroi ou intracellulaire.

Le développement de résistances (efflux, protection du ribosome) à des bactéries banales explique leur utilisation actuellement restreinte.

- Le chloramphénicol

Du fait d'effets indésirables rares mais potentiellement létaux lors d'administration par voie systémique (hématotoxicité grave, dyscrasie sanguine, anémie aplasique), cet antibiotique n'est à ce jour plus prescrit en pratique clinique en France (Robert and Denes 2012).

Famille	DCI	Spécialité	Conditionnement	Disponibilité
Fluoroquinolone	Norfloxacine	Chibroxine®	Collyre	Commercialisé
	Ofloxacine	Quinofree®, Monoox®, Exocine®	Collyre	Commercialisé
	Ciprofloxacine	Ciloxan®	Collyre ou pommade	Commercialisé
	Moxifloxacine	Vigamox®	Collyre	Commercialisé
Aminoside	Tobramycine	Tobrex®, Tobrabact®	Collyre (Tobrex et Tobrabact) ou pommade (Tobrex)	Commercialisé
	Néomycine	Néomycine Diamant®	Collyre	Retiré du marché en 2010
	Gentamicine	Gentalline®	Collyre	Retiré du marché en 2013
Acide fusidique		Fucithalmic®	Gel	Commercialisé
Rifamycine		Rifamycine-Chibret®	Collyre ou pommade	Commercialisé
Macrolide	Azithromycine	Azyter®	Collyre	Commercialisé
Tétracycline	Oxytétracycline	Posicycline®	Collyre	Retiré du marché en 2008
	Chlortétracycline	Aureomycine®	Pommade	Commercialisé
Chloramphénicol	Chloramphénicol	Cebenicol®	Collyre	Retiré du marché en 2007
Aminoside+Polypeptide	Néomycine+Polymyxine b	Atebemyxine®, Cebemyxine®	Collyre ou pommade	Commercialisé

10 antibiotiques (8 collyres, 4 pommades, 1 gel)

TABLEAU 5. Noms des spécialités des collyres commerciaux au 1er Novembre 2018.

3.1.2. Les collyres antibiotiques fortifiés

Les collyres fortifiés (CF) ont été développés à la fin des années 70. Ils sont réservés à l'usage hospitalier et suivent une réglementation stricte. En effet, l'usage de ces collyres s'effectue hors AMM, et ils nécessitent un environnement spécifique comprenant notamment un sas de surpression sous flux laminaire et une tenue stérile. Un CF est habituellement préparé à partir d'un antibiotique commercial (poudre, lyophilisat ou solution injectable) dilué dans du sérum physiologique. Avant sa mise à disposition, des tests physicochimiques et de concentration sont effectués puis il est congelé pendant une période de trois mois, afin de faciliter la délivrance en urgence au clinicien (Chiquet and Romanet 2007).

Avantages et inconvénients

Les CF présentent deux avantages majeurs par rapport aux collyres commerciaux :

- La concentration de l'antibiotique est élevée, ce qui améliore sa biodisponibilité locale.

- Un grand nombre d'antibiotiques peuvent être préparés sous forme de CF, permettant d'agrandir l'arsenal thérapeutique du prescripteur.

Cependant, ils présentent également des inconvénients. D'une part, leur utilisation est rendue difficile du fait de la préparation hospitalière indispensable et rigoureuse, et de la péremption rapide (environ une semaine (Osborn et al. 1976)) ; ainsi, de nombreux hôpitaux périphériques n'ont pas à leur disposition ce type de préparation. D'autre part, les CF présentent une toxicité locale importante : retard de cicatrisation (Stern et al. 1983), nécrose conjonctivale (Davison, Tuft, and Dart 1991), réaction allergique (Group. 1997), sténose canaliculaire (rare) (Weston and Loveless 2000), etc.

Indication et utilisations

Les CF sont indiqués dans le traitement des kératites bactériennes sévères ainsi qu'en traitement adjuvant des endophtalmies aiguës. Leur administration est habituellement réalisée sous la forme d'une bi voire d'une trithérapie, à large spectre, avec des instillations répétées : administrations horaires les 48 premières heures, en respectant un temps d'attente de cinq minutes entre chaque antibiotique. (Bourcier 2016). En pratique clinique, un nombre restreint d'antibiotique est utilisé. On retrouve le plus souvent : *ceftazidime, ticarcilline, amikacine, gentamicine* et *vancomycine*.

Les associations les plus répandues sont (McLeod et al. 1995; Ly et al. 2006) :

- Trithérapie :
    - ticarcilline + gentamicine + vancomycine
    - amikacine + ceftazidine + vancomycine
- Bithérapie :
    - ticarcilline + tobramycine

Ainsi, la palette d'antibiotiques en pratique quotidienne est limitée à moins d'une quinzaine de collyres. Ce nombre restreint pose plusieurs problèmes :

- Augmentation du risque de résistance par la prescription répétée à grande échelle des mêmes antibiotiques,
- Difficulté de prise en charge en cas de germes résistants ou atypiques.

Devant ces difficultés, la présence d'un antibiogramme adapté et la connaissance rigoureuse des différents germes ainsi que leur histoire naturelle parait donc indispensable. En effet, en fonction du germe et de la gravité clinique, différents schémas thérapeutiques peuvent être suivis (Hanet, Jamart, and Chaves 2012).

4. Les abcès de cornée

Les AC (ou kératite infectieuse), correspondent à la présence d'une collection infectieuse (essentiellement bactérienne) au niveau de la cornée d'un sujet.

Les AC sont liés essentiellement à une contamination locale (flore conjonctivale, palpébrale, cutanée, nasale, oropharyngée ou digestive) (Grzybowski, Brona, and Kim 2017). Ils peuvent également être post traumatiques, et dans ce cas, ce sont des bactéries exogènes qui sont à l'origine de la contamination. Nous avons énuméré précédemment les différentes familles de bactéries retrouvées en ophtalmologie, cependant les études ont montré que 90 % des AC sont représentés par seulement quatre groupes (Ohtani et al. 2017) : les staphylocoques, les streptocoques, Pseudomonas et les entérobactéries.

Dans tous les cas, la présence d'un épithélium cornéen altéré est une condition préalable au développement d'un AC (Bourcier 2016). Plusieurs facteurs en sont à l'origine : altération du clignement des paupières (paralysie faciale, ptosis), malposition palpébrale (ectropion, entropion), dysfonctionnement meibomien ou

syndrome sec à l'origine d'un mauvais film lacrymal (Zhang, He, Niu, Liu, et al. 2017).

L'épithélium cornéen lésé va permettre aux bactéries d'adhérer facilement à la surface cornéenne pour ensuite pénétrer dans le stroma cornéen (effet de toxines et enzymes protéolytiques). L'invasion bactérienne induit une réponse inflammatoire avec sécrétion de nombreux facteurs (interleukine, TNF alpha…) responsables d'une vasodilatation et perméabilisation des vaisseaux conjonctivaux et limbiques, potentiellement délétère avec aggravation de l'ulcération, fonte stromale et nécrose tissulaire (Malet 2009) (Figure 9).

Exceptionnellement, on peut retrouver un abcès sur une cornée saine (Bourcier 2016). Dans ce cas, il faut rechercher plus spécifiquement certains germes qui possèdent des protéases assurant une pénétration intracellulaire (*Neisseria, Corynebacterium dipteriae, Haemophilus influenzae, Shigella, Listeria*).

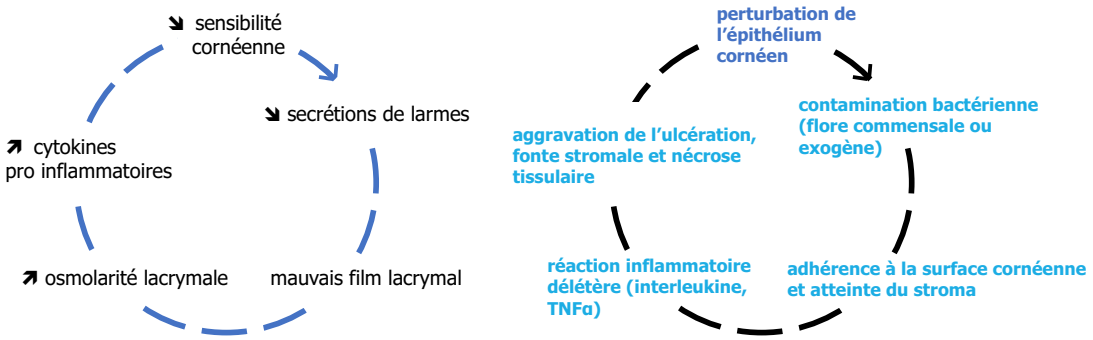


FIGURE 9. Physiopathologie de la cornée en cas d'agression, conduisant à un AC.

4.1. Evaluation diagnostique

Le diagnostic d'un AC est clinique. Tout d'abord, le contexte permet d'orienter l'ophtalmologiste : patient porteur de lentille, notion de traumatisme vegétal ou tellurique récent, baignade récente. Le patient se plaint généralement d'une douleur avec photophobie, larmoiement et sensation de baisse d'acuité visuelle rapide de son œil atteint. A l'examen ophtalmologique, on met en évidence un œil rouge avec un cercle périkératique. L'AC prend généralement l'aspect d'une collection blanche au niveau de la cornée, de profondeur variable, associée à une ulcération de l'épithélium cornéen en regard. Des signes associés peuvent être présents tels une endothélite, un hypopion de chambre antérieure ou un desmetocèle.

Il convient ensuite de déterminer si l'AC est sévère ou non sévère (Figure 10), selon des paramètres locaux et généraux. Les critères locaux les plus utilisés renvoient à la règle des « 1-2-3 » (Vital et al. 2007) avec un AC considéré comme sévère en cas d'inflammation de chambre antérieure supérieure à une croix et/ou une localisation à moins de 2 mm de l'axe optique et/ou une taille de l'abcès supérieure à 3 mm. Les autres critères locaux et généraux de sévérité sont indiqués dans le tableau 6. La présence d'un seul de ces critères permet de classer un AC comme sévère. Si aucun de ces facteurs ne sont présents, l'AC est non sévère.

Critères locaux	Critères généraux
Tyndall > 1+	Monophtalmie
Diamètre > 2 mm	Enfant
Situé à moins de 3 mm de l'axe optique	Immunodépression
Sclérite associée	Mauvaise observance du traitement
Endophtalmie associée	
Perforation imminente ou avérée	
Suspicion de *Pseudomonas, Neisseria*	
Aggravation malgré un traitement antibiotique de 24h	
Atteintes bilatérales	
Greffe de cornée	
Post opératoire de chirurgie réfractive	

TABLEAU 6. Critères de gravité d'un AC (Source : T. Bourcier et al, rapport SFO Surface oculaire kératites bactériennes 2015)**.**



http://www.snof.org/encyclopedie/traumatismes-de-loeil *T. Bourcier et al., rapport SFO Surface oculaire Kératites bactériennes 2015*

FIGURE 10. Différences entre un AC non sévère (image de gauche) et un AC sévère (image de droite).

4.2. Stratégie thérapeutique

Actuellement, tout AC est traité par antibiothérapie, cependant on distingue deux stratégies thérapeutiques différentes en fonction de la sévérité de l'AC (Figure 11) :

- Traitement ambulatoire avec collyres commerciaux en cas d'AC non sévère
- Hospitalisation et collyres fortifiés en cas d'AC sévère

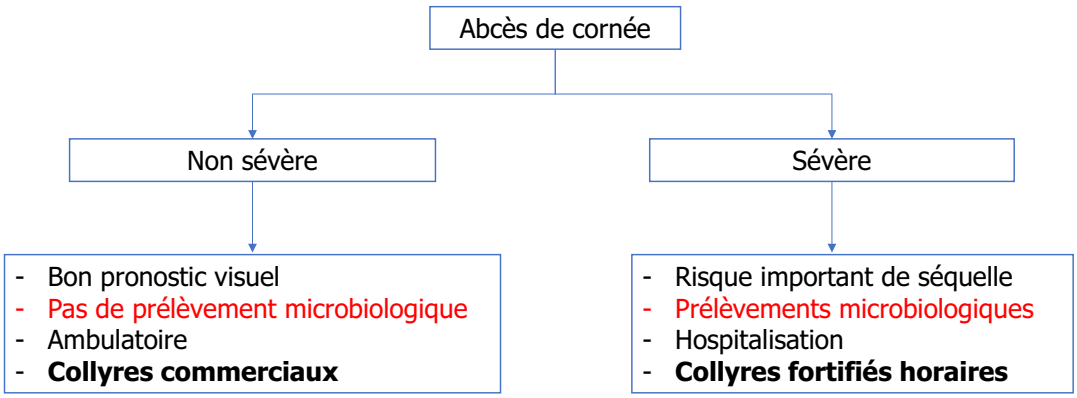


FIGURE 11. Prise en charge des AC selon la gravité clinique (Source : T. Bourcier et al, rapport SFO Surface oculaire kératites bactériennes 2015).

Ces recommandations sont issues d'un consensus de professionnels réalisé dans les années 2000 et toujours suivis à ce jour (Bennett et al. 1998; Morlet et al. 1999; Ai et al. 1999; Bourcier et al. 2003).

4.2.1. Traitement ambulatoire

Il n'y a à ce jour aucun consensus international concernant la prise en charge des AC non sévères. Plusieurs stratégies thérapeutiques sont habituellement retrouvées (Hanet, Jamart, and Chaves 2012; Bourcier 2016) :

- Monothérapie par fluoroquinolone
- Bi ou trithérapie antibiotiques

Une surveillance rapprochée des patients est indispensable pour plusieurs raisons :

- Surveillance de la toxicité locale des antibiotiques.
- Surveillance de l'efficacité et de l'absence de résistance au traitement local instauré.

En effet, depuis quelques années, plusieurs auteurs rapportent l'émergence de résistance de certains germes aux antibiotiques (fluoroquinolones notamment) (Graham et al. 1990). Cette résistance entraine un retard de prise en charge, l'administration d'un traitement inefficace et toxique pour la cornée et donc un retard de cicatrisation cornéenne. C'est pourquoi de plus en plus d'ophtalmologistes optent d'emblée pour une bithérapie locale, même en cas d'AC non sévère.

On comprend ici l'intérêt d'une identification rapide du germe afin de réévaluer précocémment l'antibiothérapie.

4.2.2. Hospitalisation

Les AC sévères sont une indication à une hospitalisation pour mise en place de collyres fortifiés en association (bi ou trithérapie) avec instillation initiale horaire (jour et nuit). Trois antibiotiques locaux fortifiés sont utilisés à ce jour au CHU de Caen :

- Amikacine 2.5 % (aminoside)
- Ceftazidime 2.5 % (céphalosporine de troisième génération (C3G))
- Vancomycine 5 % (glycopeptide)

Ces trois collyres présentent une toxicité locale cornéenne importante. De plus, ils nécessitent d'être conservés au réfrigérateur (4°C), et doivent être renouvelés au bout de quatre jours d'utilisation (Chiquet and Romanet 2007).

Dans les deux cas (ambulatoire comme hospitalier), des mesures adjuvantes sont indispensables pour assurer une prise en charge efficace de l'AC :

- Mesures d'éviction afin d'éviter la transmission à d'autres personnes (chambre seule, lavage des mains avec de la solution hydro alcoolique, arrêt de travail…).
- Hygiène locale renforcée avec lavages oculaires pluri quotidiens pour éviter toutes dissémination du ou des germes.
- Soins de paupières (lavages et massages) en cas de blépharite.
- Ajout systématique d'agents mouillants pour diminuer la toxicité locale des antibiotiques.
- Contre-indication formelle au port de lentilles de contact (y compris sur l'œil adelphe).
- Antalgiques oraux ou locaux (collyres cycloplégiques).
- Prescription prudente de collyres corticoïdes à visée anti-inflammatoire, après couverture antibiotique efficace et sous surveillance rapprochée.

OBJECTIFS DE LA THÈSE

La prise en charge des abcès de cornée dépend de la sévérité clinique de l'infection.

Nous venons de souligner la grande diversité de germes qu'il existe au niveau oculaire, à la fois issus de la flore commensale, mais aussi pathogènes stricts. En cas d'AC, il convient de mettre en évidence le germe responsable afin d'adapter précocement le traitement. Il a également été rappelé que les recommandations actuellement suivies par la SFO sont issues d'études datant des années 2000.

Suite à ces constats, plusieurs questions se posent donc :

- Les indications actuelles de réalisation d'un prélèvement microbiologique lors d'AC sont-elles toujours applicables ?
- Observe t-on de nouvelles résistances des germes responsables d'AC aux antibiotiques ?

Les objectifs de ce travail de thèse ont donc été :

- D'évaluer la microbiologie actuelle des AC (non sévères et sévères)
- De rechercher s'il existe de nouvelles résistances des germes responsables d'AC aux principaux antibiotiques utilisés.

2ème partie : 1ère ÉTUDE

Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases

Differential microbiology of severe *vs.* non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases

T. Bouche [1], J-C. Quintyn, MD, PhD [1,6], R. Morello, MD [2, 6], L. Bouche, PharmD, PhD, J. Bonhomme MD, PhD [3,5,6], A. Vabret, MD, PhD [4,5,6], O. Join-Lambert, MD, PhD [3,5,6 †], A-L. Lux, MD[1, 6 †]

[1] *Department of Ophthalmology, CHU de Caen Normandie, Caen, France*

[2] *Department of Biostatistics, CHU de Caen Normandie, Caen, France, Caen, France*

[3] *Microbiology Laboratory, CHU de Caen Normandie, Caen, France*

[4] *Virology Laboratory, CHU de Caen Normandie, Caen, France*

[5] *Groupe de Recherche sur l'Adaptation Microbienne, GRAM 2.0, EA2656, Caen, France*

[6] *Université de Caen Normandie*

[†] These authors contributed equally to this work

Corresponding author : Thibaud Bouche
Service d'Ophtalmologie, CHU de Caen Normandie
Avenue de la Côte de Nacre, 14000 Caen, France
Phone: + 33 (0)231064630
Fax: + 33 (0)231065785
E-mail: bouchethibaud@gmail.com

Conflict of interest: none

Keywords: infectious keratitis, bacterial keratitis, microbiology, epidemiology, antimicrobial, resistance

Abstract (302 words)

Background: infectious keratitis (iK) is an ophthalmologic emergency with a high risk of sequelae. Microbiological diagnosis procedures in cases of severe iK could optimize the treatment.

Purpose. To describe the current microbiology and outcome of infectious keratitis (iKs) according to their clinical severity.

Methods. In our hospital, all patients consulting for infectious keratitis are subject to bacteriological and mycological and eventually virological investigations. The microbiology and medical files of all patients consulting for iK in 2016 was reviewed.

Results. 92 patients were identified, 54 with severe and 38 with non-severe iKs. Except for baseline and post treatment visual acuity, patients' characteristics were similar in both groups, including 23% of contact lenses wearers. Bacterial cultures were positive in 55 % of cases. Low pathogenic coagulase-negative *Staphylococci* (*S. epidermidis* in 75% of cases), predominated in non-severe iKs (76% of bacterial isolates *vs*. 33% in severe iKs, $p = 0.025$). More pathogenic bacteria and particularly Gram-negative rods were associated with severe iKs (25% *vs*. 0% in non-severe iKs, $p = 0.02$, respectively). 3/6 *P. aeruginosa* isolates were cultured from contact lenses wearers. All tested bacterial isolates were susceptible to at least one fortified eye drops antibiotic used in our hospital (ceftazidime, amikacin and vancomycin). Fungi identified in 6 cases, including 4 cases of severe iKs, whom 3 were treated (amphotericin B eye drops and systemic voriconazole). Nine viral infections (8 HSV1 and 1 VZV) were diagnosed. All HSV1 infections corresponded to severe iKs and were associated with positive bacterial results in 5 cases, which required a surgical act in 4 cases (2/7 all amniotic membrane grafts and 2/3 of all enucleations).

Conclusion: This study demonstrates the differential and complex microbiology of severe *vs*. non-severe iKs. HSV1 keratitis were particularly severe, often associated with bacterial infections and required a rescue surgical acts in 50% of cases.

Introduction

Infectious keratitis (iKs) constitute a public health problem due to their frequency and potential severity (Ancele 2009, Darugar et al., 2011). The cost associated with severe iKs makes it a major economic issue: prolonged hospital stays, multiple follow-up consultations, limited functional recovery (Lim, Lim, and Ray 2013).

The management of iKs is based on the clinical severity of iKs as well as ophthalmological and general conditions (Bourcier 2016). In case of non-severe iK, a microbiological diagnosis is not recommended and patients are treated at home with commercial antibiotic eye drops, usually a fluoroquinolone and/or an aminoglycoside (Dahlgren, Lingappan, and Wilhelmus 2008). Severe iKs require hospitalization for hourly wide spectrum probabilistic antibiotics treatments with fortified eye drops (FED) (amikacin 2.5% + ceftazidime 2.5% + vancomycin 5%), after microbiological sampling by corneal scraping with the aid of a slit lamp.

European recommendations for the management of iKs established in the 2000s (Morlet et al. 1999; Bennett et al. 1998; Bourcier et al. 2003) are still applied and endorsed by the French Society of Ophthalmology (SFO) (Bourcier 2016). However, the microbiological context and iKs risk factors changed since then: emergence of multidrug resistant bacteria (Malet 2009), generalization of contact lenses adoption (Bourcier et al., 2003, Malet 2009) and optimization of diagnostic techniques in microbiology (Lu and Liu 2016). These developments could lead to a modified microbiology of iKs.

To solve this issue, we assessed the current microbial epidemiology of iKs according to their clinical severity. The secondary objective was to update the antimicrobial resistance profile of bacteria associated with bacterial keratitis, and to describe the outcome of iKs in our center.

Material and method

Patients, data collection and classification of iKs. We retrospectively identified all patients consulting for iKs between January and December 2016 in our center, by reviewing the medical files of patients who consulted at the emergency room and were subject to diagnosis microbiological procedures.

The following data were extracted from the microbiological and clinical files of patients: diagnosis of infectious keratitis, defined as a suppurative corneal infiltrate and overlying epithelial defect associated with presence of bacteria/virus or fungi on corneal scraping and/or that was cured with antibiotic therapy, presence of clinical severity signs (see below), past medical and ophthalmological history, management type (outpatient or hospital), contact lenses use, initial and final visual acuity, treatment prescribed, results of microbiological analysis including antimicrobial susceptibility tests.

Following the current classification iKs were classified into two groups by physicians, "severe" and "non-severe" (Bourcier 2016). iKs were considered as severe when severity factors were noticed at physical examination: anterior chamber reaction, stromal infiltrate of at least 2 mm, distance of less than 3 mm to the optical axis (Vital et al., 2007), or according to patients' conditions: monophthalmic patient, children, immunosuppression, poor commitment to treatment (Bourcier 2016).

This study received the agreement of the CEREES (Expert Committee for Research, Studies and Evaluations in the field of Health) on October 5th, 2017.

Bacteriological analysis. Sampling was performed after scraping the iK with a sterile scalpel blade No. 15, by swabbing the back and periphery of the iK. Samples were sent to the laboratory for direct examination and Gram staining. Bacterial cultures were performed on aerobic and anaerobic atmospheres, on blood and chocolate agar plates and in enrichment broth (Schaedler). Bacterial cultures were set in an incubator at 35 ± 2 ° C, and analyzed at 24h, 48h, 72h for agar plates and at 24h, 48h, 72h and eight days for the enrichment broth.

Bacterial identification was performed by MALDI-TOF mass spectrometry using the Brucker system (Brucker Daltonik Inc, Bremen, Germany). Antimicrobial study testing was performed using the disk diffusion method according to the guidelines of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Bacterial isolates were classified as sensitive, intermediate or resistant to antibiotics using EUCAST clinical breakpoints for systemic infections. Some ATBs were not tested because of known natural resistance for the identified germ(s).

Mycology and parasitology. Direct examination was performed from the No. 15 sterile scalpel blade. Seeding was performed on Sabouraud agar tube and incubated for 48 hours at 35 ± 2 °C and then stored at room temperature for one month. Culture analysis was performed daily for 48 hours and then every 72 hours. Yeasts were identified by MALDI-TOF mass spectrometry and filamentous fungi by their macroscopic appearance and microscopic examination after staining with blue myceblue®. In case of *Acanthamoeba* infection suspicion, the clinician asked for specifically analysis, which consisted in culture and direct examination of trophozoïtes.

Virology. The diagnosis of herpes simplex virus (HSV) 1 and 2 and of varicella zoster virus (VZV) infection was carried out by multiplex real-time PCR when requested by the clinician according to the clinical context (interstitial keratitis, corneal anesthesia, history of ocular herpes simplex infection, immunosuppression). Samples were sent to the Virology Laboratory using specific transport media.

Statistical analysis. Quantitative and qualitative - or categorical - data were respectively expressed as mean ± standard deviation (m ± SD) and percentage (%). Quantitative data were analyzed by a Student t test. Qualitative and categorical data were analyzed using the Chi-square test. In case of non-normal distribution, a Student or Mann Whitney test was used. A Chi-square test or a Fisher's exact test was performed if the validity conditions were not met. All analyses were conducted bilaterally using the IBM®-SPSS® 22.0 software (Chicago, USA). A p value lower than 5% was considered significant.

Results

Patients. In 2016, 235 ophthalmological samples were sent to the microbiology laboratory (Figure 1). 92 samples corresponded to patients consulting for iKs, including 38 non-severe (41.3%) and 54 severe cases (58.7%). Bacteriological and mycological analysis were performed on all samples, virological analysis in 28 cases.

Patients were predominantly males (sex ratio 1.5), with a mean age of 50 (Table 1). 22% of them had a past medical history of ocular surface disease, 8.7% of past iK, and 23% were contact lenses users. There was no significant statistical difference between the severe and non-severe iKs patients' groups according to general demography, past medical history and wearing of contact lenses, except for initial visual acuity (logMAR) (0.54 ± 0.46 *vs*. 0.13 ± 0.46, respectively $p<0.001$).

Microbiology of iKs. Overall, microbiological investigations were positive in 63% of cases, 68% in severe iKs and 53% in non-severe iKs ($p = 0.13$). Mixed positive results, mainly bacterial and fungal or bacterial and viral pathogens, were found in 9.8% of cases.

Bacteriology of iKs. Altogether, bacterial cultures were positive in 55.4% of iKs (Table 2), 50% in non-severe iKs and 59% in severe iKs ($p= 0.35$).

The bacteriology of non-severe iKs consisted in a large majority of coagulase negative staphylococci (76% of bacterial isolates), predominantly *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus aureus* was identified in one case, and Gram-negative cocci (*Moxarella* spp) in three cases (5 and 14% of isolates, respectively).

In severe iKs, coagulase negative staphylococci only represented 38% of bacterial isolates, contrasting with a high proportion of more pathogenic bacteria (Sup Table 1, $p = 0.002$). *Moxarella* spp were identified in two cases, *S. aureus* and *Streptococcus pneumoniae* both in 4 cases, and *Staphylococcus lugdunensis*, a highly virulent coagulase negative staphylococcus in two cases. *Corynebacterium macginleyi,* a well-known agent of bacterial keratitis was isolated once. A major characteristic of severe iKs was the frequency of Gram-negative rods (n = 9 - 25% of bacterial isolates - *vs*. 0 in non-severe iKs, $p = 0.02$), including six *Pseudomonas aeruginosa* and 3 enterobacteriaceae.

20 patients (23% of all patients) were contact lens users. In this subgroup of patients, bacterial cultures were positive in 37.5% of non-severe iKs (n = 3/8) and in 50% of severe iKs (n = 6/12). 50% of *Pseudomonas aeruginosa* isolates (3/6) were recovered from these patients, all from severe iKs (Table 2 and Sup Table 2).

Antimicrobial resistance. Antibiotic susceptibility tests results were not always available probably because some isolates were considered as contaminants in the laboratory (Table 3 and Sup table 3). In Gram positive bacteria, resistance to fusidic acid was the most frequently reported (33%). In Gram negative bacteria, only 40% of isolates were susceptible to rifampicin (intrinsic resistance) and 36% of bacterial isolates were resistant to ofloxacin (intrinsic resistance in *P. aeruginosa*). No resistance to ciprofloxacin was reported. Finally, all tested isolates were susceptible to fortified eye drops antibiotics.

Fungal and parasite detections. Mycological results were positive in 6 patients (6.5% of iKs) (Table 2), corresponding to severe keratitis in 4 cases. 4 of these patients also had a positive bacterial culture (2 *S. epidermidis*, 1 *S. pneumoniae*, 1 *M. lacunata*). Patients with severe keratitis were all treated with amphotericin B 0.5% fortified eye drops and oral administration of voriconazole. During the study period, no diagnosis procedure for *Acanthamoeba* infections was prescribed.

Viral infections. Virological diagnosis procedures were performed in 28 cases, 71% (20/28) in patients with severe keratitis. 9 viral infections were diagnosed including 8 HSV1 infections and 1 VZV infection (Table 2). The VZV keratitis was a non-severe iK, diagnosed in a patient with a past medical history of ophthalmic zoster. HSV infections were all diagnosed in patients with severe iKs, and were associated with positive bacterial cultures in 5/8 cases (2 *S. pneumoniae*, 1 *S. mitis*, 1 *P. mirabilis*, 1 *P. aeruginosa*).
Among the 6 contact lenses users who were tested for viral infections, none had positive results.

Treatments and ophthalmological outcome of patients

Antibacterial treatments. 74% of non-severe iK patients were treated with tobramycin (3 g/L) and ciprofloxacin (3g/L) commercial eye drops. Other non-severe iK patients received dual therapy with azithromycin (15 g/L), ofloxacin (3g/L) and/or rifampicin (3g/L) eye drops. All patients hospitalized for severe iK received a tri-therapy of fortified eye drops including amikacin (25 g/L), ceftazidime (25 g/L) and vancomycin (50 g/L).
Antiviral treatments. All patients with HSV1 infection were treated with antiseptic eye drops (picloxydine 0.5g/L) and oral administration of valaciclovir. The patient with the non-severe VZV keratitis was successfully treated with antiseptic eye drops (picloxydine 0.5g/L), ganciclovir gel (1.5g/L) and oral administration of valaciclovir.
Antifungal treatments. Antifungal therapy was given in four cases, only corresponding to severe patients. It consisted in amphotericin B 0.5% fortified eye drops and oral administration of voriconazole. In non-severe patients (one patient was a contact lenses user), the positive culture result was not taken into account, and the patient improved under antibiotic eye drops.
Surgical acts. Severe iKs required amniotic membrane graft in 7 cases (13%) and enucleation in 3 cases (5.6%). The microbiology of the three patients who required enucleation was *Streptococcus pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, and *Streptococcus mitis*. In two cases, these bacteria superinfected a herpetic (HSV1) keratitis.
Ophthalomological outcome. 8,7% of patients were lost to follow-up before the end of the treatment. Except for patients who required enucleation, all patients improved under treatments. The final visual acuity was lower in patients with severe iKs (Table 1, $p < 0.001$).

Discussion

The antibiotic treatment of iKs is empirical and based on the clinical severity and epidemiology of these infections. Characterizing the bacterial epidemiology of iKs is an uneasy task i) because of a lack of sensitivity due to the small amount of material which is sent to the laboratory, and ii) because of a potential lack of specificity of bacterial culture results (Austin, Lietman, and Rose-nussbaumer 2018). Indeed, bacteria associated with severe iKs can be occasionally found in the normal ocular surface or the surrounding skin and mucosal surfaces or in the direct environment (Barría, Chabouty, and Moreno 2016; Grzybowski, Brona, and Kim 2017; Zhang et al. 2017; Ohtani et al. 2017). A satisfactory outcome is usually obtained in non-severe iKs treating patients at home with commercial antibiotic eye drops. Therefore, microbiological investigations are not usually performed in case of non-severe iK, and their microbiology is not well documented. Contrarily, in case of severe iK, current guidelines recommend scraping both at the center of the abscess and over the periphery for therapeutic purposes and to increase the sensitivity of microbiological analysis. The bacteriology of severe iKs is therefore better characterized (Dethorey et al. 2011; Caliot et al. 2016; Rahman et al. 2013; Teweldemedhin et al. 2017).

In this study, we took advantage of the systematic sampling of iKs in our center to describe their current microbiology according to their clinical severity.

The global positivity rate of bacterial culture was 55.4%, in the range of published reports (21 to 81%) (Abu Eleinen et al., 2012, Matri 2004, Ancele 2009, Darugar et al., 2011). The clinical severity of iKs did not increase significantly the rate of positive bacterial cultures, although a trend was observed. This low sensitivity may be due, as stated above, to the small amount of material which is sent to the laboratory, or to first line of antibiotherapy prescribed by an ophthalmologist outside of the hospital. This prior administration of ATBs may negatively impact the specimen although studies are discordant on this topic (Dethorey et al., 2011; Malet 2009).

However, the microbiology of severe iKs strikingly differed from that of non-severe iKs, although the two patients' groups were similar in terms of demography, comorbidities, contact lenses use and past medical history.

Coagulase-negative *staphylococci* are a major component of the normal surface eye microbiota (Wen et al. 2017). They predominated in non-severe iKs, representing 76% of bacterial isolates. True eye pathogens were only identified in 4 cases: 1 *S. aureus* and 3 *Moraxella* spp. isolates. Conversely, coagulase-negative *staphylococci* only represented 39% of bacterial isolates in severe iKs. Severe iKs were associated with a high prevalence of pathogenic bacteria including both Gram-positive established pathogens: *S. aureus*, *S. lugdunensis*, *Streptococcus pneumoniae Corynebacterium macginleyi*; and Gram-negative rods, *P. aeruginosa* being the most represented, followed by enterobacteriaceae. In agreement with the described association of *Pseudomonas* infections keratitis and contact lenses, 50% of *P. aeruginosa* isolates were recovered in patients wearing contact lenses, although they only represented 23% of patients in this study (Stapleton, Eye, 2012).

The bacterial epidemiology of severe iKs observed in this study is similar to that previously reported in European countries (Caliot et al. 2016; Ferreira et al. 2016; Matri 2004; Dethorey et al. 2011; Ancele 2009). In the study of Bourcier et al, the most frequently found germs were *S. epidermidis* (12%), *Pseudomonas aeruginosa* (10.3%), *S. aureus* (6.9%) and *Streptococcus pneumoniae* (6.9%) (Bourcier et al., 2003). In other continents, especially in Asia and Africa, the proportion of Gram-negative rods is often higher, accounting for 40 to 60% of positive cultures (Bamdad et al., 2015, Chidambaram et al., 2018, Rahman et al., 2013, Haas et al., 2005 and Teweldemedhin et al., 2017).

The differential bacterial epidemiology we observed between non-severe and severe iKs suggests that bacterial pathogens identified in severe iKs play a role in their pathophysiology and should not be considered as eye surface contaminants. Contrarily, the association between non-pathogenic coagulase negative staphylococci and non-severe iKs is challenging to interpret.

Although performed on a limited number of bacterial isolates, our study provided an important insight in the current antimicrobial susceptibility rate of bacteria associated with iKs. 36% of Gram-positive bacteria were resistant to fusidic acid, an emerging resistance in coagulase negative staphylococci (Castanheira et al. 2010). In Gram-negative bacteria, 26% of isolates were resistant to ofloxacin, corresponding to *P. aeruginosa* isolates which are naturally resistant and only diagnosed in patients with severe iK. Contrarily, all tested bacteria were susceptible to fortified eye drops antibiotics (ceftazidime, amikacin and vancomycin). This low level of resistance may be due to the fact that iKs are usually community acquired infections.

Interestingly, HSV1 infections were frequently associated with typical bacterial eye pathogens (2 *S. pneumoniae*, 1 *S. mitis*, 1 *P. mirabilis*, 1 *P. aeruginosa*) and frequently required surgical acts. It has been reported that delay in the diagnosis of iK can aggravate corneal lesions and compromise the final efficacy of the treatment (Ai et al. 1999). In that view, the clinical severity of HSV1 keratitis may be secondary to a delayed diagnosis due to post-herpetic corneal anesthesia, complicated by bacterial infections.

Fungal keratitis is difficult to diagnose, and the diagnosis is often delayed because of a lack of suspicion and of laboratory issues, particularly the time of growth of yeasts and fungi (Ross, Editor, and Roy 2018). In this study, four fungal infections were associated with severe iKs and were treated with antifungal treatments. However, two fungal positive cultures were associated with non-severe iKs and were successfully treated with antibiotic eye drops.

Due to its retrospective design, this study suffers from biases and short-comings. However, the medical and ophthalmological past as well as the presence or not of gravity factors and the treatment undertaken were systematically reported in the medical files of our patients.

To conclude, this study illustrates the difficulty to obtain a precise diagnosis of iK and highlights the differential and complex microbiology of severe iKs. The extremely variable bacterial epidemiology of bacterial keratitis supports the use of a wide spectrum antimicrobial coverage including both Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Declaration of personal interest

None of the authors have reported a conflict of interest.

References

Ai, Miedziak, Rapuano Cj, Laibson Pr, and Cohen Ej. 1999. "Risk Factors in Microbial Keratitis Leading to Penetrating" 106 (6): 5–6. doi:10.1016/S0161-6420(99)90250-6.

Ancele, E. 2009. "Kératites Bactériennes Sévères . Étude Épidémiologique , Clinique et Microbiologique Severe Bacterial Keratitis . A Clinical , Epidemiologic , and Microbiologic Résumé." *Journal Français d'ophtalmologie*.

Austin, Ariana, Tom Lietman, and Jennifer Rose-nussbaumer. 2018. "Update on the Management of Infectious Keratitis" 124 (11): 1678–89. doi:10.1016/j.ophtha.2017.05.012.Update.

Barría, Fernando, Henriette Chabouty, and René Moreno. 2016. "Revista Chilena de Infectología Pacientes Que Se Someterán a Cirugía de Cataratas Microbial Flora Isolated From."

Bennett, H G B, J Hay, C M Kirkness, D V Seal, and Penny Devonshire. 1998. "Antimicrobial Management of Presumed Microbial Keratitis : Guidelines for Treatment of Central and Peripheral Ulcers," 137–45.

Bourcier, T, F Thomas, V Borderie, C Chaumeil, and L Laroche. 2003. "Bacterial Keratitis : Predisposing Factors , Clinical and Microbiological Review of 300 Cases" 87 (7): 834–38.

Caliot, J, D Guindolet, A Ducasse, L Andreoletti, and C Arndt. 2016. "Apport Diagnostique et Thérapeutique Des Prélèvements Microbiologiques Des Abcès de Cornées Avec Critères de Gravité Au CHU de Reims Entre 2012 et 2014." *Journal Francais d'Ophtalmologie*. Elsevier Masson SAS. doi:10.1016/j.jfo.2016.09.010.

Castanheira, Mariana, Amy A Watters, Rodrigo E Mendes, David J Farrell, and Ronald N Jones. 2010. "Occurrence and Molecular Characterization of Fusidic Acid Resistance Mechanisms among Staphylococcus Spp . from European Countries (2008)." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, no. 2008.

Dethorey, G, A Daruich, A Hay, and G Renard. 2011. "Kératites Bactériennes Sévères Reçues Aux Urgences Résumé" 2.

Ferreira, Carla Sofia, Luis Figueira, Nuno Moreira-Gonçalves, Raúl Moreira, Luis Torrão, and Fernando Falcão-Reis. 2016. "Clinical and Microbiological Profile of Bacterial Microbial Keratitis in a Portuguese Tertiary Referral Center—Where Are We in 2015?" *Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice* 0 (0): 1. doi:10.1097/ICL.0000000000000298.

Grzybowski, Andrzej, Piotr Brona, and Stephen Jae Kim. 2017. "Microbial Flora and Resistance in Ophthalmology: A Review." *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 255 (5): 851–62. doi:10.1007/s00417-017-3608-y.

Matri, L El. 2004. "Les Abcès Graves de La Cornée : À Propos de 100 Cas."

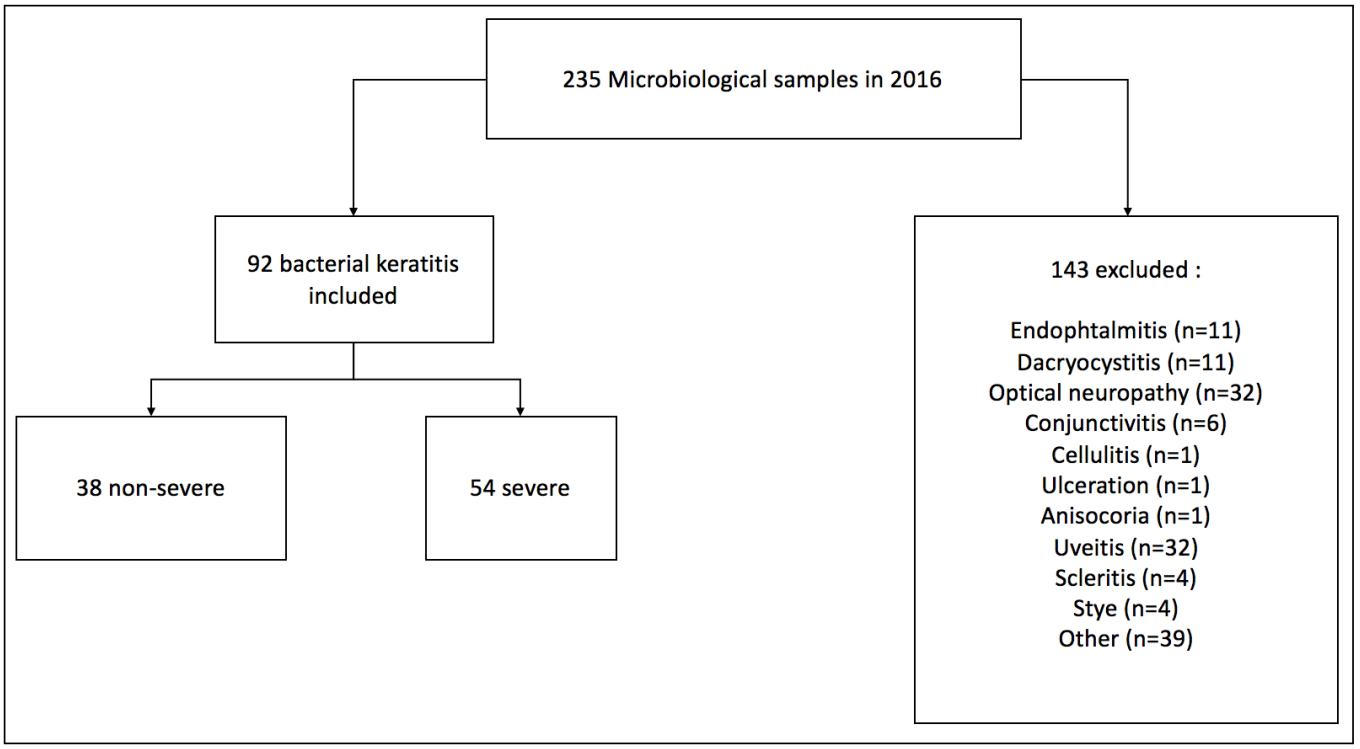
Morlet, Nigel, Darwin Minassian, Jeremy Butcher, and Study Group. 1999. "Risk Factors for Treatment Outcome of Suspected Microbial Keratitis," 1027–31.

Ohtani, Shinichiro, Kimiya Shimizu, Ryohei Nejima, Fumie Kagaya, Makoto Aihara, Takuya Iwasaki, Nobuyuki Shoji, and Kazunori Miyata. 2017. "Conjunctival Bacteria Flora of Glaucoma Patients during Long-Term Administration of Prostaglandin Analog Drops." *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 58 (10): 3991–96. doi:10.1167/iovs.16-20853.

Rahman, Zaidah A., Azian Harun, Habsah Hasan, Zeehaida Mohamed, Siti S.Md Noor, Zakuan Z. Deris, Nabilah Ismail, Asma S. Hassan, Fadzhilah Ahmad, and Azhany Yaakub. 2013. "Ocular Surface Infections in Northeastern State of Malaysia: A 10-Year Review of Bacterial Isolates and Antimicrobial Susceptibility." *Eye and Contact Lens* 39 (5): 355–60. doi:10.1097/ICL.0b013e3182a3026b.

352 Ross, Michael, Chief Editor, and Hampton Roy. 2018. “Fungal Keratitis,” 1–22.
353 Teweldemedhin, M., H. Gebreyesus, A.H. Atsbaha, S.W. Asgedom, and M. Saravanan. 2017.
354 “Bacterial Profile of Ocular Infections: A Systematic Review.” *BMC Ophthalmology* 17
355 (1). doi:10.1186/s12886-017-0612-2.
356 Wen, X, L Miao, Y Deng, Bible Pw, X Hu, Y Zou, Y Liu, et al. 2017. “The Influence of Age
357 and Sex on Ocular Surface Microbiota in Healthy Adults .” 58 (14). doi:10.1167/iovs.17-
358 22957.
359 Zhang, Shao Dan, Jing Na He, Tong Tong Niu, Chiu Yeung Chan, Chun Yang Ren, Shan
360 Shan Liu, Yang Qu, et al. 2017. “Bacteriological Profile of Ocular Surface Flora in
361 Meibomian Gland Dysfunction.” *Ocular Surface* 15 (2): 242–47.
362 doi:10.1016/j.jtos.2016.12.003.
363

364 Figure 1. Flowchart



365

Table 1. Patients characteristics.

	Infectious keratitis patients' groups			
	Non-severe iKs (n = 38)	Severe iKs (n = 54)	All (n = 92)	*p*
Sex ratio (male/female)	1.4	1.6	1.5	0.77
Age (mean ± SD)	49.0 ± 18.5	53.4 ± 21.5	51.6	0.31
Age < 30 years old (%)	21.0	11.0	20.6	0.19
Affected eye side				
Right (%)	50	44.4	46.7	0.60
Left (%)	50	55.6	53.3	
Ophthalmologic history				
Ocular surface diseases (%)	21.0	22.2	21.7	0.89
Infectious keratitis (%)	7.9	9.3	8.7	1.00
Palpebral surgery (%)	7.9	9.3	8.7	1.00
Contact lenses (%)	21.0	22.2	22.8	0.89
Comorbidities				
Diabetes (%)	5.3	5.6	5.4	1.00
Arterial hypertension (%)	18.4	7.4	11.9	0.11
Immunosuppression (%)	2.6	3.7	3.2	1.00
Atopy (%)	2.6	3.7	3.2	1.00
Autoimmune diseases (%)	5.3	3.7	4.3	1.00
Visual acuity				
Initial (logMAR)[1]	0.13 ± 0.46	0.54 ± 0.46	na	<0.001
Post treatment (logMAR)[1]	0.06 ± 0.6	0.32 ± 0.36	na	<0.001
Treatments				
Commercial atb eye drops (%)	100	0	na	na
Fortified atb eye drops (%)	0	54	na	na
Amniotic membrane graft	0	13.0	7.6	na
Enucleation (%)	0	5.6	3.3	na

na: not applicable
iKs: Infectious keratitis
atb: antibiotics
[1] mean ± standard deviation

Table 2. Microbiology of infectious keratitis

Genus or Group	Species	Infectious keratitis		*p*
		Non-severe (n=38)	Severe (n=54)	
Positive cultures (n, % of iKs)		19 (50)	34 (63)	0.35
N° of bacterial isolates		21	36	
Gram-positive cocci (n, % of iKs) [1]		18 (47)	24 (44)	0.35
Staphylococcus	*S. aureus*	1 (3)	4 (7)	
	S. epidermidis	12 (32)	7 (13)	
	S. lugdunensis	0 (0)	2 (4)	
	S. warneri	1 (3)	2 (4)	
	S. caprae	1 (3)	0 (0)	
	S. capitis	1 (3)	1 (2)	
	S. schleiferi	1 (3)	0 (0)	
	S. haemolyticus	0 (0)	1 (2)	
	Staphylococcus spp	0 (0)	1 (2)	
Streptococcus	*S. pneumoniae*	0 (0)	4 (7)	
	S. mitis	1 (3)	2 (4)	
Gram-positive rods (n, % of iKs)		0 (0)	1 (2)	nd
Corynebacterium	*C. macginleyi*	0 (0)	1 (2)	
Gram-negative cocci (n, % of iKs)		3 (8)	2 (4)	nd
Moraxella	*M. nonliquefaciens*	1 (3)	1 (2)	
	M. lacunata	1 (3)	1 (2)	
	M. catarrhalis	1 (3)	0 (0)	
Gram-negative rods (n, % of iKs)		0 (0)	9 (17)	0.02
Pseudomonas	*P. aeruginosa*	0 (0)	6 (11)	
Enterobacteriaceae	*S. marcescens*	0 (0)	1 (2)	
	R. ornithinolytica	0 (0)	1 (2)	
	P. mirabilis	0 (0)	1 (2)	
Fungi (n, % of iKs)		2 (5)	4 (7)	nd
	Acremonium spp	0 (0)	1 (2)	
	Mycelial filaments [2]	0 (0)	1 (2)	
	Aspergillus fumigatus	0 (0)	2 (4)	
	Candida albicans	1 (3)	0 (0)	
	Candida guilliermondii [3]	1 (3)	0 (0)	
	Candida parapsilosis [3]	1 (3)	0 (0)	
	Fusarium spp [3]	1 (3)	0 (0)	
Virus (n, % of iKs)[4]		1 (3)	8 (15)	nd
	HSV1	0 (0)	8 (15)	
	HSV2	0 (0)	0 (0)	
	VZV	1 (3)	0 (0)	

[1] due to co-infection, the total number of bacteria identified is greater than 92.
[2] negative culture
[3] polymicrobial infection, contact lenses user
[4] 28 patients were tested for HSV or VZV infections
nd: statistical analysis was bot performed due to the low number of patients.
iKs: Infectious keratitis

Table 3. Antimicrobial susceptibility rates of infectious keratitis bacterial isolates according to Gram staining

	Gram + bacteria (n = 43)		Gram – bacteria (n = 14)	
Eye drops antibiotics tested	% tested	% S[1]	% tested	% S[1]
Commercial eye drops				
Tobramycin	49%	81%	57%	91%
Rifampicin	58%	92%	71%	40%
Ofloxacin	56%	83%	79%	64%
Ciprofloxacin	nt		36%	100%
Fusidic acid	56%	67%	nt	nt
Fortified eye drops				
Amikacin	nt	nt	64%	100%
Ceftazidime	nt	nt	64%	100%
Vancomycin	49%	100%	nt	nt

[1] % of susceptible isolates according to EUCAST breakpoints

nt: not tested (not in the panel of routinely tested antibiotics in the laboratory or intrinsic resistance)

Supplementary table 1. Bacterial pathogenicity[1] and clinical severity of iKs.

Genus or Group	Species	Bacterial keratitis[1]		*p*
		Non-severe	Severe	
Low pathogenic CoNS [2], n (% of isolates)		16 (76%)	12 (33%)	0.002
	S. epidermidis	12	7	
	S. warneri	1	2	
	S. caprae	1	0	
	S. capitis	1	1	
	S. schleiferi	1	0	
	S. haemolyticus	0	1	
	Staphylococcus spp	0	1	
Pathogenic species, n (% of isolates)		5 (24%)	24 (67%)	
Staphylococcus	*S. aureus*	1	4	
	S. lugdunensis	0	2	
Streptococcus	*S. pneumoniae*	0	4	
Streptococcus	*S. mitis*	1	2	
Corynebacterium	*C. macginleyi*	0	1	
Moraxella	*M. nonliquefaciens*	1	1	
	M. lacunata	1	1	
	M. catarrhalis	1	0	
Pseudomonas	*P. aeruginosa*	0	6	
Enterobacteriaceae	*S. marcescens*	0	1	
	R. ornithinolytica	0	1	
	P. mirabilis	0	1	
Total number of isolates		21 (100%)	36 (100%)	

[1] number of isolates
[2] CoNS: coagulase negative staphylococci

Supplementary table 2. Microbiological results in contact-lenses wearers

Genus or Group Species		Severity of infectious keratitis	
		Non-severe (n = 7)	Severe (n = 12)
Positive bacterial cultures (n, % of CL-iKs)		3 (43)	6 (46)
Gram-positive cocci (n, % of CL-iKs)		3 (43)	2 (15)
Staphylococcus	*S. epidermidis*	2 (29)	1 (8)
	S. warneri	1 (14)	0 (0)
	S. haemolyticus	0 (0)	1 (8)
Gram-positive rods (n, % of CL-iKs)		0 (0)	1 (8)
Corynebacterium	*C. macginleyi*	0 (0)	1 (8)
Gram-negative rods (n, % of CL- iKs)		0 (0)	3 (23)
Pseudomonas	*P. aeruginosa*	0 (0)	3 (23)
Fungi (n, % of CL- iKs)		1 (14)	0 (0)
Candida guilliermondii [1]		1 (14)	0 (0)
Candida parapsilosis [1]		1 (14)	0 (0)
Fusarium spp [1]		1 (14)	0 (0)
Viral infections		none	none

CL-iKs: contact-lenses associated infectious keratitis

[1] this patient was not given antifungal therapy and had a good outcome with commercial antibiotic eye drops.

Supplementary table 3. Antimicrobial susceptibility rates of main bacterial species associated with infectious keratitis using EUCAST breakpoints

	Gram	TM	RIF	OFL	CIP	FUS	**VA**	**CAZ**	**AK**
S. epidermidis (n =19)	+	79%	95%	95%	nt	63%	100%	nt	nt
S. aureus (n=5)	+	100%	100%	100%	nt	100%	100%	100%	nt
S. lugdunensis (n=2)	+	100%	100%	100%	nt	100%	100%	nt	nt
S. pneumoniae (n=4)	+	100%	100%	25%	100%	100%	100%	100%	100%
C. macginleyi (n=1)	+	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
P. aeruginosa (n=6)	-	83%	16%[1]	33%	100%	nt	nt	100%	100%
Enterobacteriaceae (n=3)	-	100%	67%[1]	100%	100%	nt	nt	100%	100%
Moraxella spp (n=5)	-	100%	100%	100%	100%	nt	nt	100%	100%

nt: not tested (intrinsic resistance or not in the routine panel of tested antibiotics)
[1] intrinsic resistance
TM: tobramycin; RIF: rifampicin; OFL: ofloxacin; CIP: ciprofloxacin; FUS: fusidic acid: VA: vancomycin
Antibiotics in bold type: fortified eye drops.

L'étude précédente a permis de conforter les recommandations de réalisation d'un prélèvement microbiologique. Ainsi, seuls les AC sévères nécessitent d'être prélevés.

En cas de positivité de la culture bactériologique, une réévaluation de l'antibiothérapie peut être effectuée afin d'optimiser la prise en charge du patient. Cependant, il existe une discordance entre les antibiogrammes rendus par les biologistes et les antibiotiques disponibles sous forme de collyre. De plus, les critères de sensibilité S/I/R (sensibles/intermédiaires/résistants) se basent sur une concentration plasmatique de l'antibiotique. La concentration cornéenne des collyres antibiotiques est différente, avec des concentrations initiales plus élevées d'ATB, mais probablement une dilution plus rapide via la sécrétion lacrymale permanente. Les questions suivantes se posent donc :

- Peux-t-on optimiser la prise en charge des patients atteints d'abcès de cornée ?
- Avec quels moyens ?

Les objectifs secondaires de ce travail de thèse ont consisté à :

- Rechercher si une approche pharmacocinétique de l'efficacité des collyres ATB peut aboutir à une optimisation de la prise en charge des AC.
- Mettre en place un antibiogramme ciblé aux AC.

3ème partie : 2ème ÉTUDE

Concentration au niveau cornéen des antibiotiques utilisés dans la prise en charge des abcès de cornée

Concentration au niveau cornéen des antibiotiques utilisés dans la prise en charge des abcès de cornée

Thibaud Bouche[1, 2], Claire Daurel[1, 3], Gilles Quemener[4], Anne-Laure Lux[1, 2], Olivier Join-Lambert[1, 3, 5], Jean-Claude Quintyn[1, 2], François Guérin[1, 3]

[1]CHU de Caen, Caen, France

[2]CHU de Caen, Service d'Ophtalmologie, Caen, France

[3]CHU de Caen, Service de Microbiologie, Caen, France

[4]Normandie Univ, ENSICAEN, UNICAEN, CNRS/IN2P3, LPC Caen, 14000 Caen, France

[5]Groupe de Recherche sur l'Adaptation Microbienne GRAM 2.0; EA2656 UFR santé, Université de Caen Normandie, France

Résumé

Introduction. Les abcès de cornée (AC) sévères constituent une urgence ophtalmologique. Ils imposent la réalisation de prélèvements microbiologiques et l'administration prolongée de collyres antibiotiques fortifiés (CF) horaires. La détection de l'agent infectieux permet de réévaluer la prise en charge thérapeutique et de diminuer la toxicité cornéenne d'une administration empirique de collyres antibiotiques (C-ATB). Ceci étant, cette réévaluation est difficilement applicable en pratique clinique avec des résultats d'antibiogrammes rendus dont l'interprétation repose sur des administrations systémiques et non topiques.

Objet de l'étude*.* Evaluer la pharmacocinétique cornéenne des C-ATB à l'aide d'une approche mathématique et la comparer aux CMI_{90} des germes responsables d'AC.

Matériel et méthodes*.* À partir des paramètres physiologiques de la dynamique palpébrale et du renouvellement lacrymal (20% par min), la concentration d'ATB présente à la surface cornéenne au cours du temps (C(t)) a été estimée à partir de la concentration initiale (Ci).

Les C-ATB les plus utilisés ont été testés : amikacine (AKN), tobramycine (TOB), azithromycine (AZT), rifampicine (RIF), ciprofloxacine (CIP), ceftazidime (CAZ), et vancomycine (VAN). Ces concentrations ont été comparées aux CMI_{90} (EUCAST 2018) des principaux germes impliqués dans les AC (*S. aureus, S. epidermidis, S. pneumoniae, H. influenzae, P. aeruginosa*, *M. catarrhalis*).

***Résultats*.** Les Ci des C-ATB étaient très supérieures aux CMI_{90}, allant de 2.25 g/L (TOB, CIP, OFL) à 37.50 g/L (VAN). Les C(t) étaient strictement supérieures aux CMI_{90} des germes impliqués pendant une durée allant de 28 min (couple *H. influenzae*/TOB) jusqu'à 55 min (couple *S. epidermidis*/RIF), avec une moyenne de

43 min. Dans tous les cas, la concentration d'ATB à 60 min était inférieure aux CMI_{90} des germes étudiés.

Conclusion. Pour tous les couples germe/C-ATB étudiés, l'approche mathématique utilisée démontre une clairance très rapide des ATB à la surface cornéenne, confortant leur administration horaire dans la prise en charge de l'AC. La réalisation de CMI ciblées du ou des germes impliqués avec un calcul du temps d'action efficace permettrait de répondre sur la pertinence des CF utilisés.

Mots-clés

Abcès de cornée ; kératite bactérienne ; antibiogramme ; concentrations minimales inhibitrices (CMI_{90}) ; collyres fortifiés.

Introduction

Les abcès de cornée (AC) sévères constituent un véritable problème de santé publique, de par leurs fréquences et leurs gravités (Ancele 2009; Darugar et al. 2011). Le coût associé à cette pathologie en fait un enjeu économique majeur : collyres fortifiés onéreux, hospitalisations prolongées, consultations multiples suivi d'une récupération fonctionnelle limitée dans la grande majorité des cas (Lim, Lim, and Ray 2013). Leur prise en charge relève d'une hospitalisation urgente pour réalisation de prélèvements à visée microbiologique et mise en place de collyres antibiotiques fortifiés (CF) horaires (Bourcier 2016; Malet 2009). Les CF ont l'avantage d'étendre l'arsenal thérapeutique en proposant au clinicien des collyres ATB non disponibles dans le commerce, avec des concentrations très élevées de principe actif. Une association (bi ou tri-thérapie) de ces CF permet de couvrir la très grande majorité des germes impliqués dans les AC (bactéries à Gram positif et négatif). Cependant ils nécessitent une préparation hospitalière rigoureuse et présentent une toxicité cornéenne importante. Le protocole standard du CHU de Caen consiste en une administration empirique probabiliste horaire d'une trithérapie de CF (amikacine (AKN), ceftazidime (CAZ) et vancomycine (VAN)) pendant 48 heures, suivie d'une décroissance selon l'évolution clinique du patient, puis un relais par des collyres ATB (C-ATB) commerciaux (Figure 1). La mise en évidence de l'agent infectieux responsable permet une réévaluation précoce de la prise en charge thérapeutique afin d'éviter une administration inadaptée de C-ATB, responsable d'une toxicité cornéenne (ulcération, perforation, retard de cicatrisation) (Chiquet and Romanet 2007).

Les antibiogrammes rendus à visée systémique ne sont pas adaptés aux AC du fait du traitement exclusivement local de ces derniers. En effet, l'interprétation de la

sensibilité ou de la résistance définie par les sociétés savantes de bactériologie (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française, (CASFM) et « *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* » (EUCAST)) est basée sur la concentration plasmatique de l'ATB et non sur la concentration cornéenne. On parle de concentrations minimales inhibitrices (CMI_{90}) pour évaluer l'efficacité d'un ATB vis-à-vis d'un germe. La CMI_{90} est définie comme la plus faible concentration d'ATB (en mg/L) inhibant en 18 à 24 heures toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée (CMIT 2016).

De plus, le nombre d'ATB disponibles en ophtalmologie est assez limité du fait de la galénique topique (Robert and Denes 2012) (Tableau 1). La plupart des résultats d'antibiogramme rendus ne sont pas adaptés au modèle de l'AC avec des « *breakpoints »* sous évalués par rapport à la dynamique palpébrale. La conséquence de ces interprétations à titre systémique peut être un arrêt d'un traitement topique efficace. Par ailleurs, une majorité des ATB testés ne sont pas utilisés en pratique courante.

Peu d'études se sont intéressées à la notion de pharmacocinétique cornéenne des antibiotiques, considérant de manière empirique que les concentrations locales administrées étaient tellement élevées qu'elles étaient supérieures aux CMI_{90} des germes concernés (Barry, Cordov, and Gardner 2013). Les paramètres de la dynamique palpébrale ont par contre déjà été étudiés. Ainsi, le volume moyen du film lacrymal est compris entre 7 et 9 µL, réparti entre le canthus interne, le canthus externe et la rivière lacrymale (Bernard et al. 2008). Le volume d'une goutte de collyre a été mesuré et correspond à une valeur moyenne de 50 µL (Shell 1982). Après administration d'une goutte au niveau oculaire, une élimination immédiate de 20 µL de collyre en dehors du cul de sac lacrymal via le clignement palpébral réflexe

a été estimée, associée à une première dilution des 30 µL restants avec le film lacrymal déjà présent (Shell 1982; Mishima 1981). La pompe lacrymale va ensuite rapidement éliminer l'excèdent de liquide dans les conduits lacrymaux, afin de restaurer un volume physiologique à la surface cornéenne de 7 à 9 µL (Creuzot-Garcher 2006; Shell 1982). Cette élimination continue est compensée par la sécrétion de larmes par la glande lacrymale, évaluée entre 0.7 et 2 µL par minute (Mishima 1981; Baudouin and Labbé 2006). Cette dynamique palpébrale a pour conséquence une dilution continue de la concentration d'ATB restante au cours du temps.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la pharmacocinétique cornéenne à l'aide d'une approche mathématique des ATB et de la comparer aux CMI_{90} des principaux germes responsables d'AC en prenant comme modèle la dynamique palpébrale avec une incertitude de mesure maximale.

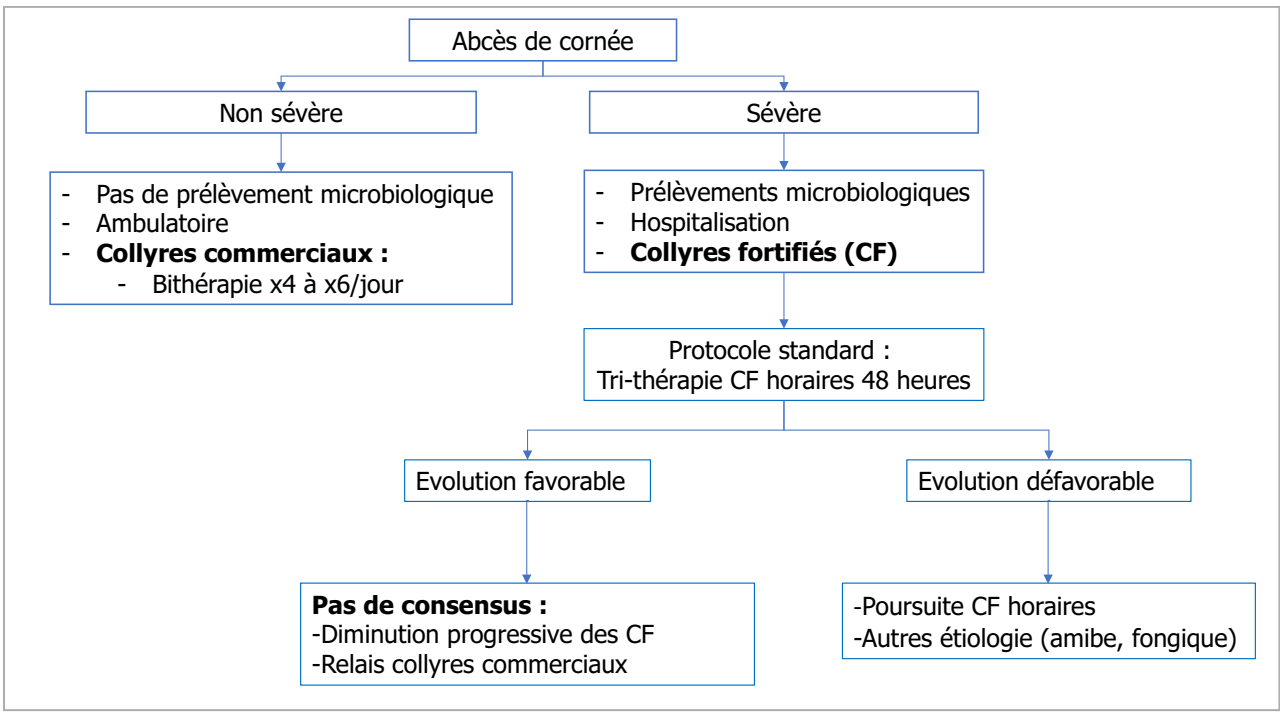


***Figure 1**. Arbre décisionnel utilisé pour la prise en charge thérapeutique d'un AC selon sa sévérité clinique. Un AC non sévère autorise une prise en charge ambulatoire, sans réalisation de prélèvement microbiologique et avec mise en place de collyres commerciaux. Un AC sévère impose une hospitalisation pour prélèvement microbiologique et mise en place de CF horaires. Selon l'évolution clinique, une poursuite des CF ou une décroissance par des collyres commerciaux est possible.*

Matériel et méthodes

Approche mathématique du modèle cornéen

Afin d'évaluer la pharmacocinétique des ATB, il a été nécessaire de prendre en compte l'évolution de leur concentration C(t) au cours du temps au niveau de la surface cornéenne. Pour permettre cette évaluation, ont été obtenues à partir des données de la littérature les valeurs moyennes concernant le volume d'une goutte de collyre ATB et celui du film lacrymal ainsi que la dilution continue du collyre dans les larmes sécrétées par la glande lacrymale. Nous avons pris les valeurs avec l'incertitude de mesure la plus élevée afin de réaliser notre modèle dans les conditions les plus défavorables, ainsi qu'une dilution initiale (Ci) du C-ATB de 3/4 (30 µl de CF + 10 µl de volume physiologique cornéen).

A partir de ces données, une approche mathématique a été proposée permettant d'obtenir les concentrations cornéennes d'ATB au cours du temps. Une analyse complémentaire a été réalisée concernant les CF, dans la mesure où les recommandations officielles conseillent une administration successive de trois CF, à cinq minutes d'intervalle, générant ainsi une dilution supplémentaire des CF.

Comparaison de la concentration d'ATB au cours du temps par rapport aux CMI_{90} des principaux germes responsables d'AC.

Les principaux germes responsables d'AC ainsi que les ATB utilisés ont été recueillis à partir des résultats de l'étude *« Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases »* (Bouche et al. 2018) (Tableaux 1 et 2), complétés par les autres données de la littérature (Malet 2009; Bourcier 2016).

La concentration au cours du temps obtenue pour chacun des couples a été comparée aux CMI_{90} systémiques du même couple à partir du référentiel de l'EUCAST 2018. En parallèle, nous avons recueilli les CMI maximales (CMI max) pour chaque couple afin d'évaluer l'activité éventuelle des ATB en présence de germes exprimant une résistance haut niveau.

L'étude des différentes cinétiques d'ATB a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft® Excel pour Mac version 15.33.

Tableau 1. *Liste des collyres ATB disponible sous forme commerciale et fortifiée (CHU de Caen) en septembre 2018.*

Pour chaque collyre, la famille de l'ATB, la DCI (Dénomination Commune Internationale), le mécanisme d'action et la concentration initiale ont été précisés.

Famille	DCI	Mécanisme d'action	Concentration collyre (mg/L)
Collyres commerciaux			
Fluoroquinolone	Ofloxacine	Bactéricide, concentration-dépendant	3000
	Ciprofloxacine	Bactéricide, concentration-dépendant	3000
	Norfloxacine	Bactéricide, concentration-dépendant	3000
	Moxifloxacine	Bactéricide, concentration-dépendant	5000
Aminoside	Tobramycine	Bactéricide, concentration-dépendant	3000
Acide fusidique	Acide fusidique	Bactériostatique	10000
Rifamycine	Rifamycine	Bactériostatique	3000
Macrolide	Azithromycine	Bactériostatique	15000
Tétracycline	Chlortétracycline	Bactériostatique	10000
Collyres fortifiés			
Aminoside	Amikacine CF	Bactéricide, temps-dépendant	25000
Céphalosporine 3ieme génération	Ceftazidime CF	Bactéricide, temps-dépendant	25000
Glycopeptides	Vancomycine CF	Bactéricide, temps-dépendant	50000

DCI : Dénomination commune internationale, CF : Collyres fortifiés

Tableau 2. Prévalence des différents germes retrouvés dans les AC de l'étude *« Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases »*, (Bouche et al. 2018) au CHU de Caen en 2016.

Les principaux germes observés étaient le S. epidermidis, le S. aureus, le S. pneumoniae et le P. aeruginosa.

			AC sévères
Nature	**Famille**	Germes	n (%)
Cocci à Gram positif	***Staphylococcus coagulase +***	*S. aureus*	4 (6.9)
	Staphylococcus coagulase -	*S. epidermidis*	7 (12)
		Staphylococcus spp	7 (12)
	Streptococcus	*Streptococcus pneumoniae*	4 (6.9)
		Streptococcus mitis	2 (3.4)
Bacille à Gram positif		*Corynebacterium macginleyi*	1 (1.7)
Cocci à Gram négatif		*Moraxella* sp	2 (3.4)
Bacille à Gram négatif	***Pseudomonas* spp**	*Pseudomonas aeruginosa*	6 (10.3)
	Entérobactéries	*Serratia marcescens*	1 (1.7)
		Raoultella ornithinolytica	1 (1.7)
		Proteus mirabilis	1 (1.7)
Examen direct et/ou culture négatifs			22 (37.9)
Total			58(100)

AC : Abcès de cornée

Résultats

Approche mathématique évaluant la pharmacocinétique cornéenne des antibiotiques

A partir des éléments de physiologie et de dynamique palpébrale décrits en introduction, une approche mathématique de la concentration de collyre présente à la surface cornéenne au cours du temps t a été proposée. En tenant compte d'une incertitude maximale (film lacrymal de 10 µl et un renouvellement de 2 µl par minute lié à la sécrétion lacrymale), la concentration initiale d'antibiotique (Ci) en mg/L varie au cours du temps t (en minutes) selon l'approche suivante :

$$C(t)=Ci \times e^{-0.2t}$$

Preuve de concept

Nous avons mis en application la formule pour les germes responsables d'AC associés aux ATB les plus utilisés en pratique clinique (Tableau 2). Les principaux germes impliqués dans des AC étaient *S. aureus, S. epidermidis, S. pneumoniae, H. influenzae, P. aeruginosa* et *M. catarrhalis*. Les principaux ATB utilisés étaient l'amikacine (AKN), la ceftazidime (CAZ) et la vancomycine (VAN), tous trois utilisés sous forme de CF à hautes concentrations, et la tobramycine (TOB), l'azithromycine (AZT), la rifampicine (RIF) et la ciprofloxacine (CIP) disponibles sous formes commerciales (Tableau 1). Des couples *germes*/ATB ont ainsi été analysés (Tableau 5).

Les concentrations initiales d'ATB variaient de 2250 mg/L (TOB, CIP, OFL, RIF) jusqu'à 37500 mg/L (VAN) (Tableau 3). Pour l'ensemble des couples *germe*/ATB, une décroissance exponentielle de la concentration d'ATB était observée au cours

du temps (Figure 2), avec une concentration inférieure à la CMI_{90} pour la majorité des germes à 60 minutes (<1 mg/L) (Tableau 3).

Les concentrations d'ATB (Ct) étaient strictement supérieures aux CMI_{90} des germes étudiés pendant une durée allant de 28 minutes (couple *H. influenzae*/TOB) jusqu'à 55 minutes (couple *S. epidermidis*/RIF), avec une moyenne de 43 minutes (Tableau 5).

Concernant les cocci à Gram positif, des concentrations élevées et prolongées étaient observées pour la RIF (55 min pour le *S. aureus*, 52 min pour le *S. epidermidis*) tandis que la TOB et la CIP présentaient des temps d'action plus courts (35 min pour le couple *S. aureus*/TOB, 38 min *S. epidermidis*/CIP et 35 min pour *S. pneumoniae*/CIP).

Concernant les bacilles à Gram négatif, les ATB les plus efficaces étaient la CAZ et la CIP (42 min pour le couple *P. aeruginosa*/CIP et 52 min pour *H. influenzae*/CAZ ou CIP). Au contraire, les ATB les moins efficaces étaient la TOB et l'AKN (35 min pour le couple *P. aeruginosa*/TOB ou AKN, 28 min pour *H. influenzae*/TOB et 35 min pour *H. influenzae*/AKN). Dans tous les cas, la concentration d'ATB à 60 minutes était inférieure aux CMI_{90} des germes étudiés (Tableau 3).

Certains couples n'ont pas pu être évalués du fait de l'absence de CMI_{90} disponible sur le référentiel de l'EUCAST 2018 (association non adaptée car résistance naturelle du germe pour l'ATB connue ou trop peu de données disponibles pour établir une CMI_{90}). Ainsi, les couples incluant un bacille à Gram négatif avec la vancomycine n'étaient pas évalués (résistance naturelle des bacilles à Gram négatif vis-à-vis des glycopeptides), tout comme les couples *staphylocoques*/CAZ. Les CMI max élevées ne concernaient qu'une proportion très faible de germes, témoin d'une bonne sensibilité à l'ATB testé (*Tableau 5).*

Tableau 3. *Concentration des collyres antibiotiques.*

Les principaux collyres ATB utilisés en ophtalmologie sous forme commerciale (TOB, AZT, CIP, RIF) ou fortifiée (CAZ, AKN, VAN) ont été testés. Les concentrations indiquées sur le flacon ont été recueillies (en mg/L). Un calcul de la concentration initiale et à 60 minutes d'ATB (en mg/L) présente à la surface cornéenne a été effectué.

Antibiotique	Concentration flacon (mg/L)	Concentration initiale (mg/L) = Ci	Concentration à 60 min (mg/L)
Ceftazidime	25000	18750	0.115
Tobramycine	3000	2250	0.014
Amikacine	25000	18750	0.014
Azithromycine	15000	11250	0.069
Ciprofloxacine	3000	2250	0.014
Rifampicine	3000	2250	0.06
Vancomycine	50000	37500	0.23

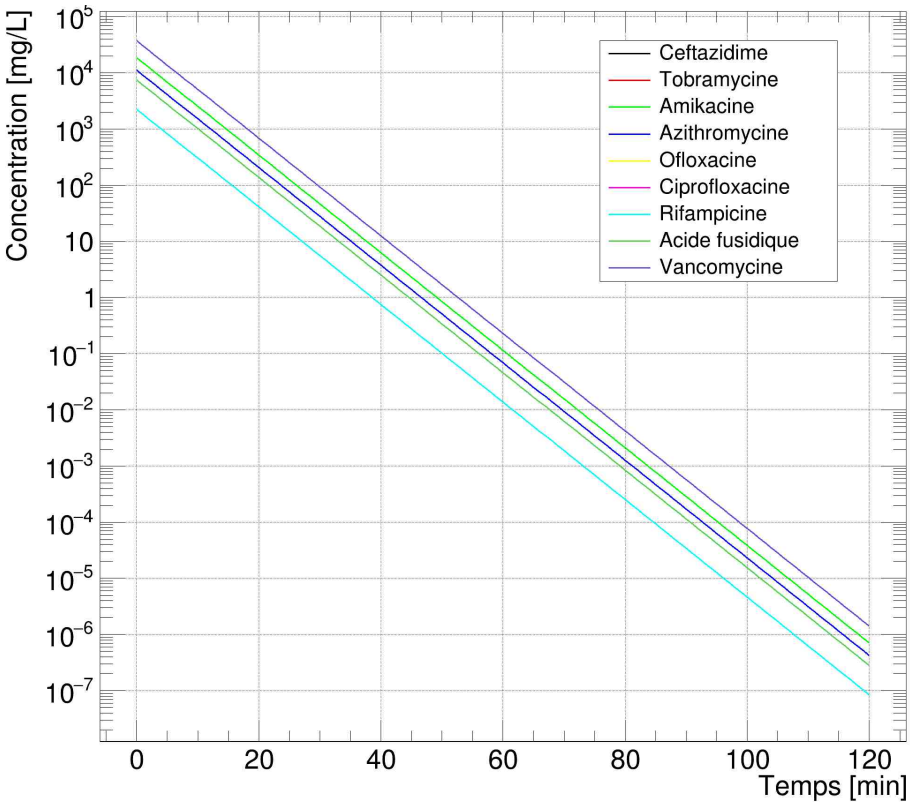


Figure 2. Evolution de la concentration des collyres ATB au cours du temps au niveau cornéen (Log10).

On note une décroissance exponentielle de la concentration d'ATB avec une concentration inférieure à la CMI de la majorité des germes à 60 minutes (<1 mg/L). A noter que les courbes de concentrations de la CAZ et de l'AMK étaient confondues, tout comme celles de la TOB, de l'OFL, de la CIP et de la RIF, du fait d'une concentration initiale identique entre ces différents collyres.

Evaluation de la concentration de l'administration successive des trois CF au cours du temps.

L'ordre d'administration des CF n'est pas standardisé. Au CHU de Caen, elle débute par l'AKN, puis la CAZ et enfin la VAN avec un temps d'attente entre deux administrations de cinq minutes. Cela entraine une dilution supplémentaire de l'AKN par les administrations de CAZ et de VAN, ainsi qu'une dilution de la CAZ par la VAN. La formule mathématique a donc été modifiée pour prendre en compte cette dilution supplémentaire de l'AKN et de la CAZ (Tableau 4).

Tableau 4. *Evolution de la concentration de CF au cours du temps suivant le schéma d'administration séquentiel AKN puis CAZ puis VAN.*

La formule mathématique initiale a été modifiée afin de prendre en compte la dilution de chaque collyre au cours du temps.

	AKN	CAZ	VAN
t ≤5min	$C_{(t\leq 5min)} = Ci \times e^{(-0.2t)}$		
5min< t ≤10min	$C_{(5min\leq t\leq 10min)} = 1/4Ci \times e^{(-0.2x(t-5)\ -1)}$	$C_{(5min\leq t\leq 10min)} = Ci \times e^{(-0.2x(t-5))}$	
t >10min	$C_{(t>10min)} = 1/16Ci \times e^{(-0.2x(t-10)\ -1)}$	$C_{(t>10min)} = 1/4Ci \times e^{(-0.2x(t-10)\ -1)}$	$C_{(t>10min)} = Ci \times e^{(-0.2x(t-10))}$

La figure 3 met en évidence la dilution de l'AKN lors de l'administration de la CAZ et la dilution de la CAZ lors de l'administration de la VAN.

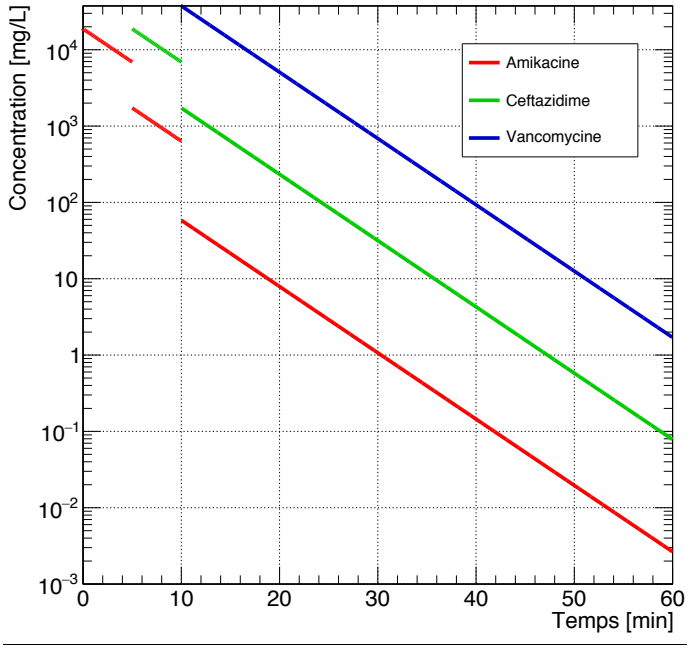


Figure 3. *Evolution de la concentration des CF (AKN, CAZ et VAN) au cours du temps (Log10) (administration de l'AKN puis de la CAZ a t=5min puis de la VAN à t=10min).*

Une décroissance exponentielle est mise en évidence, avec des paliers de dilution supplémentaires pour l'AKN et la CAZ en lien avec l'administration des autres CF.

Tableau 5. *Evaluation des CMI systémiques maximales et du temps où la concentration d'ATB est supérieure à la CMI du couple germe/ATB (en minutes).*

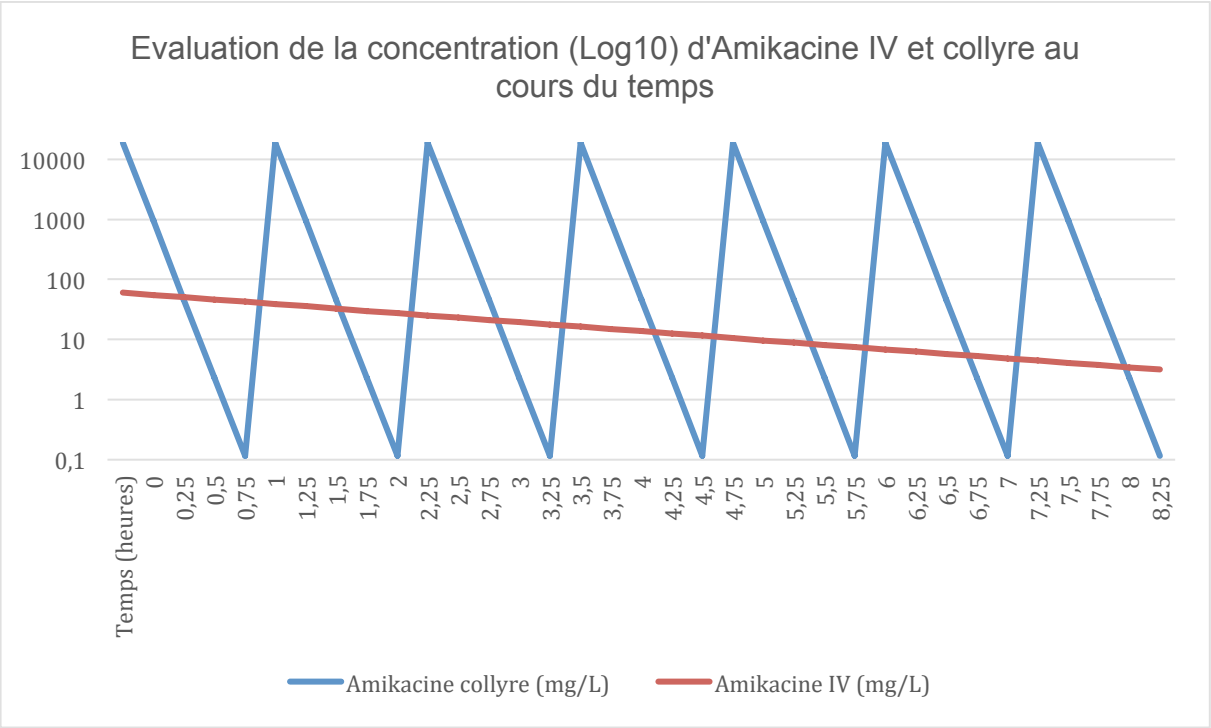
La distribution des CMI de chaque couple (CMI_{90} et CMI Max) a été recueillie à partir de référentiel de l'EUCAST 2018. La formule mathématique appliquée à chaque couple germe/ATB donne un temps théorique pendant lequel la concentration d'ATB présente à la surface de la cornée est supérieure à la CMI du couple concerné (TC(t)>CMI_{90}(min)).

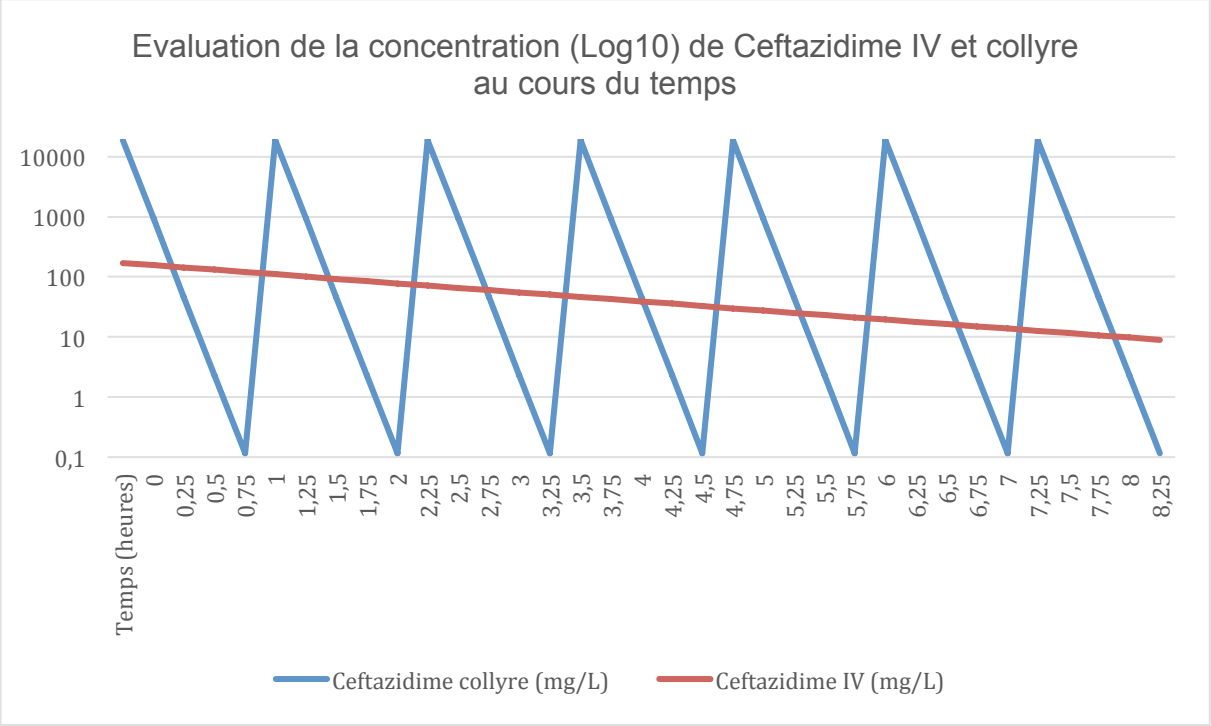
	CMI	Germe						
		S. aureus	*S. epidermidis*	*S. pneumoniae*	*M. catarrhalis*	*P. aeruginosa*	*H. influenzae*	*E. coli*
Ceftazidime	CMI_{90}	ND	ND	0.5	ND	8	0.5	0.5
	Max	ND	ND	32 (0.57%)	1 (1.25%)	≥512 (0.03%)	16 (0.42%)	≥512 (0.03%)
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	ND	ND	52 / 31	ND / 49	38 / ND	52 / 35	52 / ND
Tobramycine	CMI_{90}	2	ND	ND	ND	2	8	2
	Max	256 (0.09%)	256 (10.15%)	256 (0.9%)	ND	≥512 (0.46%)	8 (1.94%)	≥512 (0.23%)
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	35 / 10	ND /10	ND / 10	ND	35 / ND	28 / 28	35 / ND
Amikacine	CMI_{90}	8	ND	ND	ND	16	16	8
	Max	256 (0.03%)	256 (0.05%)	ND	ND	256 (0.03%)	32 (0.28%)	≥512 (0.16%)
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	38 / 21	ND / 21	ND	ND	35 / 21	35 / 31	38 / ND
Azithromycine	CMI_{90}	2	ND	0.25	ND	ND	4	ND
	Max	128 (22.8%)	ND	256 (5.97%)	ND	ND	≥512 (0.028%)	32 (0.04%)
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	43 / 22	ND	53 / 18	ND	ND	39 / ND	ND / 29
Ofloxacine	CMI_{90}	1	1	4	0.25	2	0.125	0.25
	Max	64 (1.3%)	8 (49.47%)	32 (0.13)	0.25 (1.50%)	64 (4.7%)	2 (0.026%)	64 (0.08%)
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	38 / 19	38 / 29	31 / 23	45 / 45	35 / 19	48 / 37	45 / 19
Ciprofloxacine	CMI_{90}	1	1	2	0.125	0.5	0.064	0.064
	Max	≥512 (0.09%)	256 (0.17%)	≥512 (0.001%)	4 (0.03%)	≥512 (0.37%)	32 (0.04%)	≥512 (0.04%)
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	38 / ND	38 / 12	35 / ND	48 / 33	42 / ND	52 / 21	52 / ND
Rifampicine	CMI_{90}	0.032	0.064	0.125	ND	ND	1	ND
	Max	≥512 (0.17%)	≥512 (9.57%)	8 (0.27%)	ND	ND	1 (1.44%)	ND
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	55 / ND	52 / ND	38 / 28	ND	ND	38 / 38	
Acide fusidique	CMI_{90}	0.5	0.5	ND	ND	RN	ND	RN
	Max	≥512 (0.25%)	≥512 (1.41%)	64 (1.26%)	ND	RN	64 (1.43%)	RN
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	48 / ND	48 / ND	ND / 23	ND	RN	ND	RN
Vancomycine	CMI_{90}	2	4	ND	RN	RN	RN	RN
	Max	128 (0.001%)	8 (0.013%)	64 (1.26%)	RN	RN	RN	RN
	TC(t)> CMI_{90}(min)/ TC(t)> max (min)	49 / 28	45 / 42	ND / 31	RN	RN	RN	RN

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
ND : Non Disponible (du fait d'un échantillon trop faible de germes)
RN : Résistance naturelle connue
TC(t)>CMI90 : Temps pendant lequel la concentration de collyre ATB est supérieure à la CMI90 du germe concerné
min : minutes.

Comparaison des deux modèles : évaluation des concentrations plasmatiques (systémique) et cornéennes (topique) au cours du temps

Afin d'évaluer le modèle mathématique proposé, nous l'avons comparé au modèle systémique. Pour ce faire, la concentration de C-ATB au niveau cornéen a été comparée à la concentration plasmatique du même ATB. Les concentrations plasmatiques d'ATB au cours du temps ont été obtenues à partir de la dose initiale d'ATB, de sa demi-vie et du volume de distribution spécifique à cet ATB. Les ATB utilisés sous forme de CF (AKN, CAZ et VAN) ont été comparés (Figure 4). Pour ces trois ATB, une décroissance progressive de la concentration plasmatique au cours du temps a été estimée, supérieure à la CMI_{90} de la majorité des germes pendant un temps minimal de 8h pour l'AKN et la CAZ et jusqu'à 24 heures pour la VAN. Les concentrations cornéennes de CF présentaient une Ci très supérieure à la concentration du même ATB au niveau plasmatique, mais diminuaient de manière exponentielle, pour être inférieure à la CMI_{90} de la plupart des germes 45 minutes après l'administration (Figure 4).


Evaluation de la concentration (Log10) d'Amikacine IV et collyre au cours du temps
10000
1000
100
10
1
0,1
Temps (heures)
0
0,25
0,5
0,75
1
1,25
1,5
1,75
2
2,25
2,5
2,75
3
3,25
3,5
3,75
4
4,25
4,5
4,75
5
5,25
5,5
5,75
6
6,25
6,5
6,75
7
7,25
7,5
7,75
8
8,25
Amikacine collyre (mg/L)
Amikacine IV (mg/L)


Evaluation de la concentration (Log10) de Ceftazidime IV et collyre au cours du temps
10000
1000
100
10
1
0,1
Temps (heures)
0
0,25
0,5
0,75
1
1,25
1,5
1,75
2
2,25
2,5
2,75
3
3,25
3,5
3,75
4
4,25
4,5
4,75
5
5,25
5,5
5,75
6
6,25
6,5
6,75
7
7,25
7,5
7,75
8
8,25
Ceftazidime collyre (mg/L)
Ceftazidime IV (mg/L)

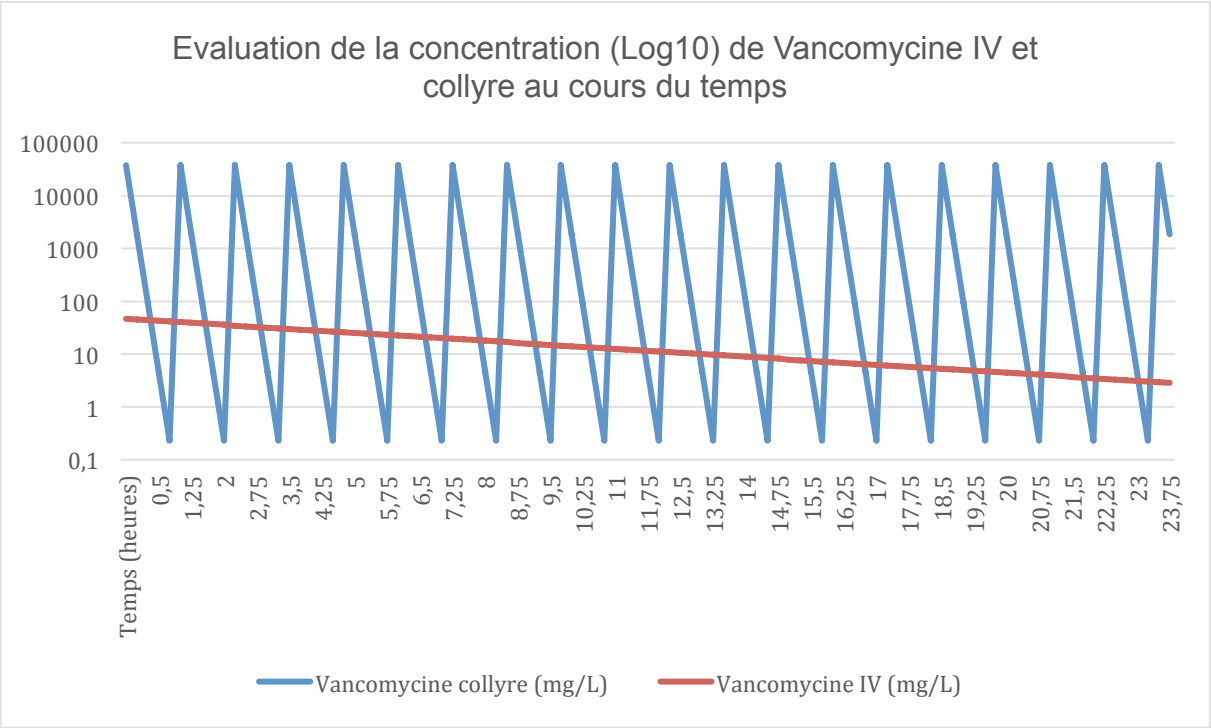


Figure 4. *Evaluation de la concentration (Log10) d'AKN, de CAZ et de VAN au cours du temps au niveau cornéen et plasmatiques. 3a AKN, 3b CAZ et 3c VAN.*

Discussion

L'application de ce modèle a montré que les Ci d'ATB à la surface cornéenne étaient très supérieures aux CMI_{90} des germes impliqués, avec une décroissance exponentielle de cette concentration au cours du temps. Les couples *germes*/ATB pour lesquels la cible de l'ATB est adaptée au germe, présentaient une C(t) supérieure à la CMI_{90} pendant une durée moyenne de 43 minutes (minimum 28 min et maximum 55 min). L'ensemble des couples testés présentait une concentration à 60 minutes inférieure à la CMI_{90} du même couple. A noter que pour l'ensemble des couples exploitables, le taux de résistance haut niveau connu (CMI max) des ATB était faible voire négligeable (Tableau 5).

La mise en place d'un modèle mathématique a permis d'estimer la concentration des C-ATB présents à la surface cornéenne au cours du temps. Ceci étant, ce modèle

présente quelques biais, à commencer par la capacité du patient à bien s'administrer son traitement (Barry, Cordov, and Gardner 2013). Même si 20 µL sont éliminés immédiatement, encore faut-il que le patient ait réussi à s'instiller correctement son collyre (Shell 1982; Mishima 1981). Ensuite, l'état fonctionnel de l'appareil lacrymal et palpébral peut interférer. En effet, un patient présentant une obstruction du canal lacrymo-nasal ou un ectropion sénile, aura un moins bon drainage de son film lacrymal (Bernard et al. 2008) avec pour conséquence un temps d'application prolongé de collyre à la surface cornéenne. Au contraire, en cas d'hypersécrétion lacrymale, la dilution de l'ATB va être augmentée et l'efficacité sera moindre.

La présence de pathologies générales peut également influer sur le bon fonctionnement de l'appareil lacrymal, notamment en cas de maladies de système (maladie de Basedow, maladie de Gougerot-Sjögren) avec une conformation oculaire anormale (exophtalmie) ou une sécrétion lacrymale altérée (syndrome sec) (Bourcier 2016). D'autres paramètres comme l'évaporation dans l'air du collyre, la taille de l'ulcération, la quantité d'inoculum bactérien ou encore la réaction immunitaire de l'hôte peuvent modifier la formule de calcul mise en place pour cette étude (Barry, Cordov, and Gardner 2013). Afin de minimiser le risque d'erreur, il a été décidé de prendre en compte un renouvellement de larmes de l'ordre de 2 µL par minute (Baudouin and Labbé 2006) et un volume de film lacrymal de 10 µL, pour une normale entre 7 et 9 µL. Ainsi, la formule proposée avec une incertitude maximale permet d'obtenir les concentrations théoriques les plus diluées par rapport aux conditions réelles.

L'administration classique des CF au CHU de Caen démarre par l'AKN, puis la CAZ et enfin la VAN, pour une question de tolérance clinique. En effet, l'AKN est le CF qui irrite le moins l'œil du patient tandis que la VAN est celui qui irrite le plus. Un

temps d'attente de cinq minutes est recommandé entre l'administration de deux collyres. Cette administration provoque une dilution supplémentaire des différents CF. La prise en compte de cette dilution appliquée à la formule mathématique met en évidence une nette diminution des concentrations d'AKN et de CAZ au cours du temps (Tableau 4 et Figure 3). Par exemple, la concentration estimée d'AKN à 30 minutes en cas d'administration seule est de 46.5mg/L alors qu'elle est estimée à 7.9mg/L en cas de dilution ultérieure par la CAZ et la VAN, soit une concentration divisée par six. Cette diminution de la concentration est d'autant plus préoccupante que l'efficacité clinique de l'AKN est directement liée à la concentration initialement élevée de l'ATB (effet bactéricide). De plus, en pratique clinique, il est parfois compliqué pour le personnel soignant de pouvoir respecter un temps d'attente minimal de cinq minutes entre chaque goutte. Il est fréquent que ce temps soit réduit à une minute voire moins, avec pour conséquence une dilution supplémentaire des premiers ATB administrés.

Dans la mesure ou la VAN est le CF le plus concentré, on pourrait s'interroger sur l'intérêt de débuter les administrations de CF par celui-ci et de finir par l'AKN, afin d'augmenter les concentrations de CF au cours du temps.

Très peu d'études ont été publiées sur la pharmacocinétique des ATB à la surface cornéenne. Dans la majorité des cas, il est admis que les Ci d'ATB sont tellement élevées par rapport au CMI_{90}, que l'efficacité de l'ATB sera systématiquement observée (Barry, Cordov, and Gardner 2013; Bourcier 2016; Malet 2009). Cependant, les « *breakpoints »* (caractère sensible, intermédiaire ou résistant d'un ATB pour un germe) définis par les sociétés savantes (CA-SFM, EUCAST) se basent sur les concentrations des ATB mesurées dans le plasma des patients (CMIT 2016). Cette interprétation n'est pas adaptée aux infections oculaires comme les AC du fait

de l'administration topique et du passage systémique négligeable d'ATB dans l'organisme (Frank 1992). C'est pourquoi, l'interprétation des résultats d'antibiogrammes via les « *breakpoints* » des couples *germe*/ATB en cas d'AC n'est pas pertinente et peut conduire à une réévaluation erronée de l'antibiothérapie. L'utilisation des CMI_{90}, qui est définie comme la plus faible concentration d'ATB (en mg/L) inhibant en 18 à 24 heures toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée (CMIT 2016) permet de pallier à ce défaut d'interprétation dans un modèle probabiliste.

En revanche, la détermination des CMI des différents ATB utilisés dans les CF permet d'évaluer la sensibilité de celui-ci pour un germe donné afin de calculer son temps d'action théorique. Cette démarche a pour but d'améliorer la réévaluation en cas de résistance de haut niveau à un ou plusieurs ATB. En effet, l'objectif est d'assurer au cours du temps une concentration d'ATB toujours supérieure à la CMI_{90} du germe, d'autant plus que certaines équipes telles que Callegan et ses collaborateurs ont observé qu'un temps d'application d'au moins une heure d'ATB était nécessaire pour assurer une activité bactéricide. Ces résultats confirment la nécessité de répéter les administrations de collyres de manière rapprochées (Callegan et al. 2009).

Afin de vérifier le modèle mathématique de dynamique palpébral que nous proposons, nous l'avons comparé au modèle plasmatique déjà bien étudié. L'étude de l'évolution des concentrations cornéennes et plasmatiques d'un même ATB a permis de montrer qu'une administration cornéenne initiale horaire est indispensable afin d'assurer une concentration locale supérieure à la CMI_{90} de la plupart des germes, contrairement à l'administration systémique qui décroit progressivement au

cours du temps, en restant supérieure à la CMI_{90} pendant plusieurs heures (8h pour l'AKN et la CAZ et jusqu'à 24 heures pour la VAN).

L'utilisation de couple *germe*/ATB à partir de la formule mathématique proposée permet une administration adaptée. Il est ainsi possible de sélectionner un couple pour lequel la concentration est supérieure à la CMI_{90} pendant un temps le plus long possible (exemple : *S. aureus*/RIF (55 min)), en évitant les couples où ce temps est trop court (exemple : *S. aureus*/TOB (35 min)). De plus, l'analyse des données de l'EUCAST permet d'éviter les couples naturellement non adaptés, pour lesquels des résistances naturelles connues ont déjà été mise en évidence (EUCAST 2016).

Une connaissance rigoureuse du mode d'action des ATB (bactéricide ou bactériostatique) a également une importance sur la prise en charge des AC. En effet, les ATB temps-dépendant comme la RIF nécessitent d'être constamment au-dessus de la CMI_{90} pour être efficaces, d'où une administration théoriquement modulable en fonction des valeurs obtenues par le modèle mathématique. Une administration initiale plus importante pourrait être nécessaire par rapport aux recommandations actuelles et irait peut-être de pair avec une guérison plus rapide et donc un réel bénéfice clinique, économique et épidémiologique. D'un point de vue systémique, les ATB concentration-dépendant tels que les aminosides sont administrés en dose unique, avec des Ci très élevées qui permettent d'éradiquer en une seule prise par jour la quasi-totalité de l'inoculum. Ce processus, s'il s'appliquait à l'œil permettrait de diminuer drastiquement le nombre de gouttes administrées et donc la toxicité cornéenne associée. Cependant, le manque de données ne permet pas de modifier nos processus thérapeutiques à ce jour.

De plus, il existe au niveau plasmatique un effet « post-ATB » bien décrit pour les aminosides (CMIT 2016), qui montre qu'une efficacité prolongée de l'ATB à distance

de l'administration est constatée, probablement par un phénomène de saturation initial des récepteurs du germe par l'ATB. Cependant, l'existence de cet effet post ATB au niveau cornéen n'a pas à ce jour été évalué. Enfin, la présence d'un AC entraine une perturbation du film lacrymal avec une augmentation importante de l'osmolarité cornéenne et sécrétion de facteurs pro inflammatoires susceptibles d'interagir avec l'ATB et de diminuer son action. En effet, le taux protéique mesuré au niveau cornéen à l'état physiologique est compris entre 5 et 8 g/L (Creuzot-Garcher 2006). Ce taux est faible par rapport au taux plasmatique (entre 60 et 80g/L), permettant une bonne fixation des ATB sur leur cible. Cependant, en cas d'inflammation secondaire à une infection cornéenne, ce taux protéique est très probablement augmenté et diminue l'efficacité des ATB par une fixation d'une partie de ceux-ci sur les protéines inflammatoires et non sur les cibles protéiques des germes visés.

Les études concernant la pharmacocinétique des collyres ATB sont plutôt anciennes et présentent un biais majeur : les sujets sélectionnés étaient systématiquement des sujets sains. La différence réside essentiellement dans le renouvellement du film lacrymal, qui physiologiquement est de l'ordre de 0.7 à 1 µL par minute (Mishima 1981), tandis qu'en cas d'atteinte de la surface oculaire, une hypersécrétion lacrymale autour de 2 µL par minute est observée (Baudouin and Labbé 2006). La conséquence est une dilution moindre de l'ATB chez les sujets sains, d'où une rémanence meilleure du collyre ATB. Ainsi, l'équipe de Raizman (Raizman et al. 2002) a mesuré la concentration de lévofloxacine dans les larmes chez des sujets sains au cours du temps et a mis en évidence que cette concentration était supérieure à la CMI_{90} de la plupart des micro-organismes pendant une durée moyenne de six heures. De même, Akkan et al. (Akkan et al. 1997) ont évalué la

concentration de CIP et d'OFL dans les larmes au cours du temps chez des sujets sains. Les auteurs ont observé une concentration d'ATB supérieure aux principales CMI_{90} des micro-organismes pendant environ deux heures. A noter qu'en ajustant le paramètre de renouvellement des larmes à 0.7 µL par minute dans notre formule mathématique et en considérant une CMI_{90} moyenne à 2 µg/ml, nous observons un résultat similaire à celui obtenu dans l'étude précédente pour l'OFL et la CIP (100 min dans notre modèle versus 120 min pour Akkan et Al.). Du fait de la variabilité inter individuelle de sécrétion lacrymale, les résultats obtenus sont variables d'une étude à l'autre. Ainsi Limberg et ses collaborateurs ont mesuré une concentration de CIP supérieure aux CMI_{90} des principaux micro-organismes (2 µg/ml) pendant une durée moyenne de quatre heures chez des sujets sains (Limberg and Bugge 1994), alors que selon notre modèle mathématique, chez des sujets ayant une atteinte de la surface cornéenne, ce temps se situe à 35 minutes.

Enfin, afin de démontrer l'innocuité systémique de l'administration de collyre ATB, et donc la non applicabilité des paramètres de sensibilité ou de résistance, certains auteurs ont évalué la concentration systémique de CIP (taux sanguin et urinaire) après dix jours d'administration locale (quatre gouttes par jour) chez des femmes saines. Ils ont mis en évidence une augmentation des taux sanguins et urinaires de CIP entre J0 et J10, mais ces taux étaient trop faibles pour entrainer des effets systémiques indésirables (Frank 1992). De même, ces taux plasmatiques ne pouvaient à eux seuls entrainer une action ATB au niveau cornéen ($C(t)<CMI_{90}$).

Conclusion

La mise en place d'un modèle mathématique évaluant la concentration d'ATB présente à la surface cornéenne au cours du temps permet d'évaluer le temps d'efficacité des couples *germe*/ATB, afin de sélectionner les couples les plus adaptés et de moduler le nombre d'administration. Des mesures de la concentration d'ATB chez des sujets atteints d'AC permettraient d'affiner la formule de calcul pour une meilleure applicabilité clinique.

Déclaration de liens d'intérêts

L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts

Références

Adam, Mehmet, Mehmet Balcı, Hasan Ali Bayhan, Ahmet Çağkan İnkaya, Mehmet Uyar, and Canan Gürdal. 2015. “Conjunctival Flora in Diabetic and Nondiabetic Individuals.” *Turk Oftalmoloiji Dergisi* 45 (5): 193–96. doi:10.4274/tjo.33230.

AFFSAPS. 2004. “Collyres Et Autres Topiques Antibiotiques Dans Les Infections Oculaires Superficielles Recommandations Collyres Et Autres Topiques Antibiotiques Dans Les Infections Oculaires Superficielles” 10: 6. http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/_documents/consensus/2004-atb-locale-OPH-recos-afssaps.pdf.

Ai, Miedziak, Rapuano Cj, Laibson Pr, and Cohen Ej. 1999. “Risk Factors in Microbial Keratitis Leading to Penetrating” 106 (6): 5–6. doi:10.1016/S0161-6420(99)90250-6.

Akkan, a G, I Mutlu, S Ozyazgan, a Gök, U Yigit, Z Ozüner, V Senses, and H Pekel. 1997. “Comparative Tear Concentrations of Topically Applied Ciprofloxacin, Ofloxacin, and Norfloxacin in Human Eyes.” *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 35 (5): 214–17.

Allouch-Nahmias, C, P Goldschmit, V Borderie, O Touzeau, T Gaujoux, L Laroche, I Goemaere, and J Rault. 2011. “Anatomie de La Cornée.” *Ophtalmologie* 8 (3): 1–16. doi:10.1016/S0246-0343(11)44155-1.

Ancele, E. 2009. “Kératites Bactériennes Sévères . Étude Épidémiologique , Clinique et Microbiologique Severe Bacterial Keratitis . A Clinical , Epidemiologic , and Microbiologic Résumé.” *Journal Français d’ophtalmologie*.

Barría, Fernando, Henriette Chabouty, and René Moreno. 2016. “Revista Chilena de Infectología Pacientes Que Se Someterán a Cirugía de Cataratas Microbial Flora Isolated From.”

Barry, Peter, Luis Cordov, and Susanne Gardner. 2013. “Endophtalmie.”

Baudouin, C, and A Labbé. 2006. “Le Film Lacrymal.”

Bennett, H G B, J Hay, C M Kirkness, D V Seal, and Penny Devonshire. 1998. “Antimicrobial Management of Presumed Microbial Keratitis : Guidelines for Treatment of Central and Peripheral Ulcers,” 137–45.

Bernard, J.-A., P. Ritleng, A. Ducasse, V. Ameline, and F. Mann. 2008. “Physiologie de l’excrétion Des Larmes : Les Voies Lacrymales.” *EMC - Ophtalmologie* 5 (2): 1–12. doi:10.1016/S0246-0343(08)44159-X.

Bourcier, T. 2016. *Rapport SFo Surface Oculaire*.

Bourcier, T, F Thomas, V Borderie, C Chaumeil, and L Laroche. 2003. “Bacterial Keratitis : Predisposing Factors , Clinical and Microbiological Review of 300 Cases” 87 (7): 834–38.

Callegan, Michelle C., Billy D. Novosad, Raniyah T. Ramadan, Brandt Wiskur, and Andrea L. Moyer. 2009. “Rate of Bacterial Eradication by Ophthalmic Solutions of Fourth-Generation Fluoroquinolones.” *Advances in Therapy* 26 (4): 447–54. doi:10.1007/s12325-009-0018-5.

Chiquet, C, and J Romanet. 2007. “Prescrire Les Collyres Fortifiés.” *Journal Francais d’Ophtalmologie*.

CMIT. 2016. *Maladies Infectieuses Tropicales, EPILLY Trop*.

Creuzot-Garcher, C. 2006. “Influence Des Anomalies Du Film Lacrymal Sur La Surface Oculaire.” *Journal Francais d’Ophtalmologie* 29.

Dahlgren, Matthew A, Ahila Lingappan, and Kirk R Wilhelmus. 2008. “The Clinical Diagnosis of Microbial Keratitis” 143 (6): 940–44. doi:10.1016/j.ajo.2007.02.030.

Darugar, A., T. Gaujoux, P. Goldschmidt, C. Chaumeil, L. Laroche, and V. Borderie. 2011. “Caractéristiques Cliniques, Microbiologiques et Thérapeutiques d’une

Série de 111 Kératites Bactériennes Sévères." *Journal Français d'Ophtalmologie* 34 (6): 362–68. doi:10.1016/j.jfo.2010.12.003.

Davison, C. R., S. J. Tuft, and J. K.G. Dart. 1991. "Conjunctival Necrosis after Administration of Topical Fortified Aminoglycosides." *American Journal of Ophthalmology* 111 (6): 690–93. doi:10.1016/S0002-9394(14)76771-6.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2016. "Antimicrobial Wild Type Distributions of Microorganisms." *Antimicrobial Wild Type Distributions of Microorganisms*, 50. http://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=init.

Frank, J. 1992. "Ofloxacin in Human Serum , Urine , and Tear Film after Topical" 11 (3).

Graham, Donald R., Jeffrey D. Band, Clyde Thornsberry, Dannie G. Hollis, Robert E. Weaver, Kathryn J. Ray, Lalitha Prajna, et al. 1990. "Fluoroquinolone Treatment and Susceptibility of Isolates from Bacterial Keratitis." *Clinical Infectious Diseases* 131 (3): 310–13. doi:10.1001/jamaophthalmol.2013.1718.

Group., The Ofloxacin Study. 1997. "Ofloxacin Monotherapy for the Primary Treatment of Microbial Keratitis: A Double-Masked, Randomized, Controlled Trial with Conventional Dual Therapy." *Ophthalmology* 104 (11): 1902–9. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9373124.

Grzybowski, Andrzej, Piotr Brona, and Stephen Jae Kim. 2017. "Microbial Flora and Resistance in Ophthalmology: A Review." *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 255 (5): 851–62. doi:10.1007/s00417-017-3608-y.

Gunduz, Goksel, Abuzer Gunduz, Nihat Polat, Birgul Elbozan Cumurcu, and Yusuf Yakupogullart. 2016. "The Effect of Chronic Alcoholism on the Conjunctival Flora The Effect of Chronic Alcoholism on the Conjunctival Flora, Current," no. May:

734–39. http://www.tandfo.

Hanet, Marie Sophie, Jacques Jamart, and Alessandra Pinheiro Chaves. 2012. "Fluoroquinolones or Fortified Antibiotics for Treating Bacterial Keratitis: Systematic Review and Meta-Analysis of Comparative Studies." *Canadian Journal of Ophthalmology* 47 (6): 493–99. doi:10.1016/j.jcjo.2012.09.001.

Lim, Nigel C.S., Dawn K.A. Lim, and Manotosh Ray. 2013. "Polymicrobial versus Monomicrobial Keratitis: A Retrospective Comparative Study." *Eye and Contact Lens* 39 (5): 348–54. doi:10.1097/ICL.0b013e3182a3024e.

Limberg, M., and C. Bugge. 1994. "Tear Concentrations of Topically Applied Ciprofloxacin." *Cornea* 13 (6): 496–99.

Lu, Louise J., and Ji Liu. 2016. "Human Microbiota and Ophthalmic Disease." *Yale Journal of Biology and Medicine* 89 (3): 325–30. doi:10.110/wrong.161017.001.

Ly, Cameron N., Jeanette N. Pham, Paul R. Badenoch, Sydney M. Bell, Glenn Hawkins, Dianne L. Rafferty, and Kathleen A. McClellan. 2006. "Bacteria Commonly Isolated from Keratitis Specimens Retain Antibiotic Susceptibility to Fluoroquinolones and Gentamicin plus Cephalothin." *Clinical and Experimental Ophthalmology* 34 (1): 44–50. doi:10.1111/j.1442-9071.2006.01143.x.

Malet, F. 2009. *Rapport de Contactologie SFO*. Edited by Masson. Issy-les-moulineaux.

McLeod, S D, L D LaBree, R Tayyanipour, C W Flowers, P P Lee, and P J McDonnell. 1995. "The Importance of Initial Management in the Treatment of Severe Infectious Corneal Ulcers." *Ophthalmology* 102 (12): 1943–48. doi:10.1016/S0161-6420(95)30771-3.

Mishima, S. 1981. "Clinical Pharmacokinetics of the Eye." *Clinical Pharmacokinetics* 21: 504–41. doi:10.2165/00003088-198106010-00002.

Morlet, Nigel, Darwin Minassian, Jeremy Butcher, and Study Group. 1999. “Risk Factors for Treatment Outcome of Suspected Microbial Keratitis,” 1027–31.

Ohtani, Shinichiro, Kimiya Shimizu, Ryohei Nejima, Fumie Kagaya, Makoto Aihara, Takuya Iwasaki, Nobuyuki Shoji, and Kazunori Miyata. 2017. “Conjunctival Bacteria Flora of Glaucoma Patients during Long-Term Administration of Prostaglandin Analog Drops.” *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 58 (10): 3991–96. doi:10.1167/iovs.16-20853.

Osborn, E, J L Baum, C Ernst, and P Koch. 1976. “The Stability of Ten Antibiotics in Artificial Tear Solutions.” *American Journal of Ophthalmology* 82 (5): 775–80.

Raizman, Mikhael B, Jay M Rabin, Adrienne L Graves, and Michael Rinehart. 2002. “Tear Concentrations of Levofloxacin Following Topical Administration of a Single Dose of 0 . 5 % Levofloxacin Ophthalmic Solution in Healthy Volunteers” 24 (9): 1439–50.

Robert, P, and E Denes. 2012. “Antibiothérapie Locale En Ophtalmologie.” *Ophtalmologie* 5 (14200): 1–17. doi:10.1016/S0246-0343(08)44080-7.

Shell, John W. 1982. “Therapeutic Review : Pharmacokinetics of Topically Applied Ophtalmic Drugs.” *Survey of Ophtalmology* 26 (4). doi:10.1053/j.jepm.2012.02.007.

Stern, G A, G B Schemmer, R D Farber, and M S Gorovoy. 1983. “Effect of Topical Antibiotic Solutions on Corneal Epithelial Wound Healing.” *Archives of Ophthalmology* 101 (4): 644–47. doi:10.1001/archopht.1983.01040010644025.

Thorn, P., and S. Johansen. 1997. “Pharmacokinetic Investigation of Fusidic Acid 1% Viscous Eye Drops in Healthy Volunteers.” *European Journal of Ophthalmology* 7 (1): 9–12.

Vital, Mark C., Marcel Belloso, Thomas C. Prager, and Jeffrey D. Lanier. 2007.

"Classifying the Severity of Corneal Ulcers by Using the '1, 2, 3' Rule." *Cornea* 26 (1): 16–20. doi:10.1097/ICO.0b013e31802b2e47.

Weston, B. C., and J. W. Loveless. 2000. "Canalicular Stenosis Due to Topical Use of Fortified Antibiotics." *Canadian Journal of Ophthalmology* 35 (6): 334–35. doi:10.1016/S0008-4182(00)80062-9.

Zhang, Shao Dan, Jing Na He, Tong Tong Niu, Chiu Yeung Chan, Chun Yang Ren, Shan Shan Liu, Yang Qu, et al. 2017. "Bacteriological Profile of Ocular Surface Flora in Meibomian Gland Dysfunction." *Ocular Surface* 15 (2): 242–47. doi:10.1016/j.jtos.2016.12.003.

Zhang, Shao Dan, Jing Na He, Tong Tong Niu, Shan Shan Liu, Chiu Yeung Chan, Chun Yang Ren, Chi Liu, et al. 2017. "Effectiveness of Meibomian Gland Massage Combined with Topical Levofloxacin against Ocular Surface Flora in Patients before Penetrating Ocular Surgery." *The Ocular Surface*. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.jtos.2017.09.001.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Mon travail de thèse s'est intéressé aux abcès de cornée, à la fois d'un point de vue diagnostique (étude de la microbiologie actuelle des AC) et thérapeutique (évaluation de la pharmacocinétique cornéenne des collyres ATB).

Concernant la microbiologie actuelle des AC, l'étude *« Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases »* a mis en évidence une différence statistiquement significative dans la microbiologie des AC non sévères et sévères, avec la présence de bacilles dans le groupe sévère. Cette microbiologie est similaire à la microbiologie mise en évidence par les études ayant permis la création des recommandations de prélèvement. Ainsi peut-on conclure à une stabilité de la microbiologie des AC entre les années 2000 et aujourd'hui. L'étude du profil de résistance des germes aux ATB est également stable. L'étude de la microbiologie des AC non sévères a révélé un taux faible (10%) de germes pathogènes, avec une évolution favorable de l'ensemble des patients traités par collyre ATB probabiliste.

On peut donc conclure à une poursuite des recommandations actuelles de prélèvement concernant seulement les AC sévères.

L'étude de la pharmacocinétique des collyres ATB a mis en évidence plusieurs éléments. Tout d'abord les concentrations de collyres ATB commerciaux ou fortifiés au niveau cornéen sont bien supérieures à celles observées au niveau plasmatique. Cependant, du fait de la dilution rapide du collyre par les larmes, cette concentration initialement très élevée présente une décroissance exponentielle. Celle-ci rend compte de la nécessité d'une administration fréquente et parfois horaire des collyres ATB. Le raisonnement de l'efficacité d'un collyre ATB basé sur les « *breakpoints* » ne parait par conséquent pas judicieux dans la mesure où la

pharmacocinétique cornéenne est très différente de celle observée au niveau systémique.

Une modification des protocoles au sein du CHU de Caen a été réalisée, permettant la mise en place d'un antibiogramme ciblé au AC, basé sur les CMI des principaux ATB prescrits en ophtalmologie (Annexe 1). Ainsi, après les 48 premières heures d'administration horaire de collyres fortifiés en cas d'AC sévère, une modification thérapeutique peut être réalisée, se basant sur les CMI des antibiotiques rendus, en privilégiant les CMI les plus basses, afin de lutter contre la toxicité cornéenne des collyres antibiotiques.

Au-delà des résultats pratiques, ce travail de thèse a permis la mise en place d'une collaboration entre le service d'ophtalmologie et de microbiologie, assurant une meilleure prise en charge de nos patients atteints d'abcès de cornée. Elle ouvre des perspectives et projets nouveaux qui pourraient permettre d'optimiser la prise en charge des patients. Une évaluation prospective de l'applicabilité des antibiogrammes ciblés est nécessaire, afin d'espérer diminuer le nombre d'administration quotidienne de collyres ATB et minimiser ainsi leur effet toxique. La mise en place d'une gélose anaérobie systématique permettrait la détection de germes non mis en évidence dans l'étude *« Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases »* (comme *P. acnes*), et pourrait accroitre le taux de résultats positifs de prélèvements. Enfin, une évaluation de la concentration d'ATB (comme la doxycycline) au niveau des larmes suite à une administration systémique pourrait permettre d'accroitre l'arsenal thérapeutique.

BIBLIOGRAPHIE

Adam, Mehmet, Mehmet Balcı, Hasan Ali Bayhan, Ahmet Çağkan İnkaya, Mehmet Uyar, and Canan Gürdal. 2015. “Conjunctival Flora in Diabetic and Nondiabetic Individuals.” *Turk Oftalmoloiji Dergisi* 45 (5): 193–96. doi:10.4274/tjo.33230.

AFFSAPS. 2004. “Collyres Et Autres Topiques Antibiotiques Dans Les Infections Oculaires Superficielles Recommandations Collyres Et Autres Topiques Antibiotiques Dans Les Infections Oculaires Superficielles” 10: 6. http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/_documents/consensus/2004-atb-locale-OPH-recos-afssaps.pdf.

Ai, Miedziak, Rapuano Cj, Laibson Pr, and Cohen Ej. 1999. “Risk Factors in Microbial Keratitis Leading to Penetrating” 106 (6): 5–6. doi:10.1016/S0161-6420(99)90250-6.

Allouch-Nahmias, C, P Goldschmit, V Borderie, O Touzeau, T Gaujoux, L Laroche, I Goemaere, and J Rault. 2011. “Anatomie de La Cornée.” *Ophtalmologie* 8 (3): 1–16. doi:10.1016/S0246-0343(11)44155-1.

Ancele, E. 2009. “Kératites Bactériennes Sévères . Étude Épidémiologique , Clinique et Microbiologique Severe Bacterial Keratitis . A Clinical , Epidemiologic , and Microbiologic Résumé.” *Journal Français d’ophtalmologie*.

Barría, Fernando, Henriette Chabouty, and René Moreno. 2016. “Revista Chilena de Infectología Pacientes Que Se Someterán a Cirugía de Cataratas Microbial Flora Isolated From.”

Baudouin, C, and A Labbé. 2006. “Le Film Lacrymal.”

Bennett, H G B, J Hay, C M Kirkness, D V Seal, and Penny Devonshire. 1998. “Antimicrobial Management of Presumed Microbial Keratitis : Guidelines for Treatment of Central and Peripheral Ulcers,” 137–45.

Bernard, J.-A., P. Ritleng, A. Ducasse, V. Ameline, and F. Mann. 2008. “Physiologie de l’excrétion Des Larmes : Les Voies Lacrymales.” *EMC - Ophtalmologie* 5 (2): 1–12. doi:10.1016/S0246-0343(08)44159-X.

Bourcier, T. 2016. *Rapport SFo Surface Oculaire*.

Bourcier, T, F Thomas, V Borderie, C Chaumeil, and L Laroche. 2003. “Bacterial Keratitis : Predisposing Factors , Clinical and Microbiological Review of 300 Cases” 87 (7): 834–38.

Chiquet, C, and J Romanet. 2007. “Prescrire Les Collyres Fortifiés.” *Journal Francais d’Ophtalmologie*.

CMIT. 2016. *Maladies Infectieuses Tropicales, EPILLY Trop*.

Dahlgren, Matthew A, Ahila Lingappan, and Kirk R Wilhelmus. 2008. “The Clinical Diagnosis of Microbial Keratitis” 143 (6): 940–44. doi:10.1016/j.ajo.2007.02.030.

Darugar, A., T. Gaujoux, P. Goldschmidt, C. Chaumeil, L. Laroche, and V. Borderie. 2011. “Caractéristiques Cliniques, Microbiologiques et Thérapeutiques d’une Série de 111 Kératites Bactériennes Sévères.” *Journal Français d’Ophtalmologie* 34 (6): 362–68. doi:10.1016/j.jfo.2010.12.003.

Davison, C. R., S. J. Tuft, and J. K.G. Dart. 1991. “Conjunctival Necrosis after Administration of Topical Fortified Aminoglycosides.” *American Journal of Ophthalmology* 111 (6): 690–93. doi:10.1016/S0002-9394(14)76771-6.

Graham, Donald R., Jeffrey D. Band, Clyde Thornsberry, Dannie G. Hollis, Robert E. Weaver, Kathryn J. Ray, Lalitha Prajna, et al. 1990. “Fluoroquinolone Treatment and Susceptibility of Isolates from Bacterial Keratitis.” *Clinical Infectious Diseases* 131 (3): 310–13. doi:10.1001/jamaophthalmol.2013.1718.

Group., The Ofloxacin Study. 1997. “Ofloxacin Monotherapy for the Primary Treatment of Microbial Keratitis: A Double-Masked, Randomized, Controlled Trial with Conventional Dual Therapy.” *Ophthalmology* 104 (11): 1902–9. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9373124.

Grzybowski, Andrzej, Piotr Brona, and Stephen Jae Kim. 2017. “Microbial Flora and Resistance in Ophthalmology: A Review.” *Graefe’s Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 255 (5): 851–62. doi:10.1007/s00417-017-3608-y.

Gunduz, Goksel, Abuzer Gunduz, Nihat Polat, Birgul Elbozan Cumurcu, and Yusuf Yakupogullart. 2016. “The Effect of Chronic Alcoholism on the Conjunctival Flora The Effect of Chronic Alcoholism on the Conjunctival Flora, Current,” no. May: 734–39. http://www.tandfo.

Hanet, Marie Sophie, Jacques Jamart, and Alessandra Pinheiro Chaves. 2012. “Fluoroquinolones or Fortified Antibiotics for Treating Bacterial Keratitis: Systematic Review and Meta-Analysis of Comparative Studies.” *Canadian Journal of Ophthalmology* 47 (6): 493–99. doi:10.1016/j.jcjo.2012.09.001.

Lim, Nigel C.S., Dawn K.A. Lim, and Manotosh Ray. 2013. “Polymicrobial versus Monomicrobial Keratitis: A Retrospective Comparative Study.” *Eye and Contact Lens* 39 (5): 348–54. doi:10.1097/ICL.0b013e3182a3024e.

Lu, Louise J., and Ji Liu. 2016. “Human Microbiota and Ophthalmic Disease.” *Yale*

Journal of Biology and Medicine 89 (3): 325–30. doi:10.110/wrong.161017.001.

Ly, Cameron N., Jeanette N. Pham, Paul R. Badenoch, Sydney M. Bell, Glenn Hawkins, Dianne L. Rafferty, and Kathleen A. McClellan. 2006. “Bacteria Commonly Isolated from Keratitis Specimens Retain Antibiotic Susceptibility to Fluoroquinolones and Gentamicin plus Cephalothin.” *Clinical and Experimental Ophthalmology* 34 (1): 44–50. doi:10.1111/j.1442-9071.2006.01143.x.

Malet, F. 2009. *Rapport de Contactologie SFO*. Edited by Masson. Issy-les-moulineaux.

McLeod, S D, L D LaBree, R Tayyanipour, C W Flowers, P P Lee, and P J McDonnell. 1995. “The Importance of Initial Management in the Treatment of Severe Infectious Corneal Ulcers.” *Ophthalmology* 102 (12): 1943–48. doi:10.1016/S0161-6420(95)30771-3.

Mishima, S. 1981. “Clinical Pharmacokinetics of the Eye.” *Clinical Pharmacokinetics* 21: 504–41. doi:10.2165/00003088-198106010-00002.

Morlet, Nigel, Darwin Minassian, Jeremy Butcher, and Study Group. 1999. “Risk Factors for Treatment Outcome of Suspected Microbial Keratitis,” 1027–31.

Ohtani, Shinichiro, Kimiya Shimizu, Ryohei Nejima, Fumie Kagaya, Makoto Aihara, Takuya Iwasaki, Nobuyuki Shoji, and Kazunori Miyata. 2017. “Conjunctival Bacteria Flora of Glaucoma Patients during Long-Term Administration of Prostaglandin Analog Drops.” *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 58 (10): 3991–96. doi:10.1167/iovs.16-20853.

Osborn, E, J L Baum, C Ernst, and P Koch. 1976. “The Stability of Ten Antibiotics in Artificial Tear Solutions.” *American Journal of Ophthalmology* 82 (5): 775–80.

Robert, P, and E Denes. 2012. “Antibiothérapie Locale En Ophtalmologie.” *Ophtalmologie* 5 (14200): 1–17. doi:10.1016/S0246-0343(08)44080-7.

Stern, G A, G B Schemmer, R D Farber, and M S Gorovoy. 1983. “Effect of Topical Antibiotic Solutions on Corneal Epithelial Wound Healing.” *Archives of Ophthalmology* 101 (4): 644–47. doi:10.1001/archopht.1983.01040010644025.

Thorn, P., and S. Johansen. 1997. “Pharmacokinetic Investigation of Fusidic Acid 1% Viscous Eye Drops in Healthy Volunteers.” *European Journal of Ophthalmology* 7 (1): 9–12.

Vital, Mark C., Marcel Belloso, Thomas C. Prager, and Jeffrey D. Lanier. 2007. “Classifying the Severity of Corneal Ulcers by Using the ‘1, 2, 3’ Rule.” *Cornea*

26 (1): 16–20. doi:10.1097/ICO.0b013e31802b2e47.

Weston, B. C., and J. W. Loveless. 2000. “Canalicular Stenosis Due to Topical Use of Fortified Antibiotics.” *Canadian Journal of Ophthalmology* 35 (6): 334–35. doi:10.1016/S0008-4182(00)80062-9.

Zhang, Shao Dan, Jing Na He, Tong Tong Niu, Chiu Yeung Chan, Chun Yang Ren, Shan Shan Liu, Yang Qu, et al. 2017. “Bacteriological Profile of Ocular Surface Flora in Meibomian Gland Dysfunction.” *Ocular Surface* 15 (2): 242–47. doi:10.1016/j.jtos.2016.12.003.

Zhang, Shao Dan, Jing Na He, Tong Tong Niu, Shan Shan Liu, Chiu Yeung Chan, Chun Yang Ren, Chi Liu, et al. 2017. “Effectiveness of Meibomian Gland Massage Combined with Topical Levofloxacin against Ocular Surface Flora in Patients before Penetrating Ocular Surgery.” *The Ocular Surface*. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.jtos.2017.09.001.

ANNEXE 1

Conditions :

- **Milieu** : sur Muller Hinton Boite carré X2 (MHE ou MHF en fonction du germe), un isolement sur gélose TSH ou TSA en fonction du germe afin de garantir la pureté de l'isolat étudié et conserver la souche.
  A adapter en fonction du germe mis en évidence (suivre la fiche Armure correspondant à chaque germe)
- **Suspension : Mac Farland 0,5** sans dilution/**Solution saline (0,9% de NaCl)**
- **Atmosphère :** aérobie ou CO2 (en fonction du germe)
- **Température d'incubation** : 35 ± 2 °C
- **Temps d'incubation** : 16 – 24H (indiquer l'heure d'ensemencement sur la boîte) – prolonger l'incubation si souche déficiente

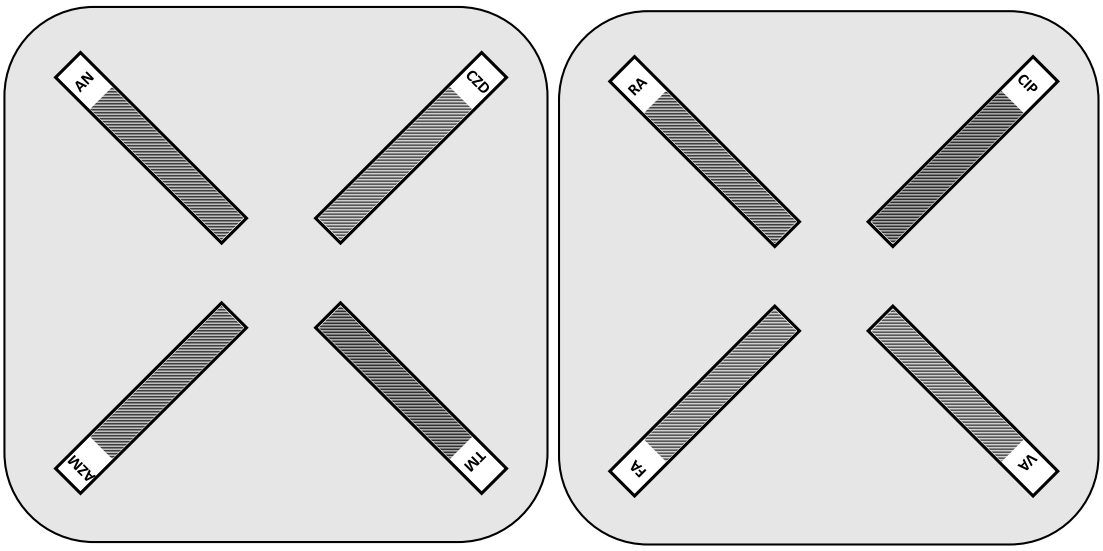
Pour TOUT prélèvement d'œil (cornée, humeur aqueuse, vitré, conjonctive) :

➔ Faire un **antibiogramme standard du germe** concerné (à visée épidémiologique).

Si Abcès de cornée, faire en + :

➔ **CMI Etest** (x8) sur gélose adapté au germe :

-Ceftazidime (CZD)
-Tobramycine (TM)
-Amikacine (AN)
-Azithromycine (AZM)
-Ciprofloxacine (CIP)
-Rifampicine (RA)
-Vancomycine (VA)
-Acide fusidique (FA)



CYCLE DE VALIDATION		
Rédaction	**Validation**	**Approbation**
Nom(s): DAUREL CLAIRE	*Nom(s), Date(s):*	*Nom(s), Date(s):*

Ce document est propriété du CHU de Caen – Toute utilisation, reproduction, modification est soumise à accord du propriétaire.

Libellé produit	Référence fournisseur E test	Ref
CZD	Ceftazidime	412293
TM	Tobramycine	412479
AN	Amikacine	412219
AZM	Azithromycine	412256
CIP	Ciprofloxacine	412311
RA	Rifampicine	412450
VA	Vancomycine	412488
FA	Acide fusidique	

CYCLE DE VALIDATION		
Rédaction	**Validation**	**Approbation**
Nom(s): DAUREL CLAIRE	*Nom(s), Date(s):*	*Nom(s), Date(s):*

Ce document est propriété du CHU de Caen – Toute utilisation, reproduction, modification est soumise à accord du propriétaire.

« Par délibération de son Conseil en date du 10 Novembre 1972, l'Université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ou mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs ».

VU, le Président de Thèse

VU, le Doyen de la Faculté

VU et permis d'imprimer
en référence à la délibération
du Conseil d'Université
en date du 14 Décembre 1973

Pour le Président
de l'Université de CAEN et P.O

Le Doyen

ANNEE DE SOUTENANCE : 2018

NOM ET PRENOM DE L'AUTEUR : BOUCHE THIBAUD

« Les abcès de cornée : de la microbiologie à la thérapeutique »

Les abcès de cornée (AC) constituent un motif fréquent de consultation en ophtalmologie.
Les recommandations de prise en charge des AC ont été établies depuis près de 20 ans. Cependant des évolutions microbiologiques sont à noter depuis la mise en place de ces recommandations. Les méthodes de diagnostic ont été optimisées et de nombreux mécanismes de résistances ont été mis en évidence suite à la prescription massive d'antibiotiques (ATB).
On peut donc s'interroger sur une éventuelle évolution de la microbiologie des AC. Si telle est le cas, les recommandations actuelles de prise en charge concernant l'indication d'un prélèvement microbiologique pourraient être actualisées. C'est pourquoi la première partie de ce travail concerne l'étude *« Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases ».*
L'identification d'un germe devant un AC permet une réévaluation de l'antibiothérapie par la réalisation d'un antibiogramme. En pratique, on constate une discordance entre les antibiogrammes rendus et les collyres ATB disponibles. De plus, la notion de sensibilité d'un germe vis-à-vis d'un ATB se base sur des concentrations plasmatiques de celui-ci et n'est donc pas applicable aux AC.
C'est pourquoi la deuxième partie de ce travail concerne l'étude « Concentration au niveau cornéen des antibiotiques utilisés dans la prise en charge des abcès de cornée ». Cette étude propose une évaluation mathématique de la cinétique des collyres ATB au niveau cornéen, afin de proposer des schémas d'administrations adaptés à chaque patient selon la sensibilité du germe responsable de l'AC.

MOTS CLES : Kératite infectieuse, Abcès de cornée, Microbiologie, Antibiogramme, Résistance bactérienne

"Corneal abscess: from microbiology to treatment"

Corneal abscess is a frequent and serious ophthalmologic disease. Therapeutics recommendations have been established since 20 years ago and are still used. However, some evolutions can be noticed such as the optimization of diagnostic method and the emergency of resistance because of massive antibiotics prescriptions.
Because of these, an evolution in the microbiology of corneal abscess could appeared and change the indication of sample. That's why the first study called *« Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases »* was done.
Then, the identification of a pathogen allows a re-evaluation of antibiotic treatment thanks to the realization of an antibiogram. However, there is a mismatch between the antibiogram and the eye-drops antibiotic available in clinic. Furthermore, the notion of antibiotic sensitivity refers to a plasmatic concentration of antibiotic and cannot be used for corneal abscess.
That's why the second part of this work is related to a study called "Evaluation of eye-drops antibiotic concentration in corneal abscess". This study is based on a mathematic model which evaluate pharmacological kinetic of eye-drops antibiotic. It aims to purpose an individual antibiotic administration based on personal germ sensibility and the study of antibiotic concentration on cornea.

KEY WORDS: corneal abscess, bacterial keratisis, antibiogram, bacterial resistance