



HAL
open science

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

Année Universitaire 2018/2019**Doyen**

Professeur Emmanuel GOUZÉ

Assesseurs

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOUY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3^{ème} cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMOB

**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. BÉNAÛEAU 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. BUSGANU Pierre	Pharmacologie
Mme CHAPON Françoise	Histologie, Embryologie
Mme CLIN-GODARD Bénédicte	Médecine et santé au travail
M. COQUÉREL Antoine	Pharmacologie
M. DAO Manh Thong	Hépatologie-Gastro-Entérologie
M. DAMAJ Ghandi Laurent	Hématologie
M. DÉFER Gilles	Neurologie

Ⓜ. DELAMILLIÈRE Pascal	Psychiatrie d'adultes
Ⓜ. DENISE Pierre	Physiologie
Ⓜ. DERLON Jean-Michel <i>Éméritat jusqu'au 31/08/2020</i>	Neurochirurgie
Ⓜme DOLLFUS Sonia	Psychiatrie d'adultes
Ⓜ. DREYFUS Michel	Gynécologie - Obstétrique
Ⓜ. DU CHÉYRON Damien	Réanimation médicale
Ⓜme ÉMERY Evelyne	Neurochirurgie
Ⓜ. ESMAIL-BEYGUI Farzin	Cardiologie
Ⓜme FAUVET Raffaèle	Gynécologie - Obstétrique
Ⓜ. FISCHER Marc-Olivier	Anesthésiologie - réanimation et médecine péri-opératoire
Ⓜ. GÉRARD Jean-Louis	Anesthésiologie - réanimation et médecine péri-opératoire
Ⓜ. GUILLOIS Bernard	Pédiatrie
Ⓜme GUIZOT-BAUD Lydia	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Ⓜ. HABRAND Jean-Louis	Cancérologie option Radiothérapie
Ⓜ. HADON Martial	Cardiologie
Ⓜme HADON Michèle	Radiologie et imagerie médicale
Ⓜ. HANOUIZ Jean-Luc	Anesthésiologie - réanimation et médecine péri-opératoire
Ⓜ. HULET Christophe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
Ⓜ. HURAULT de LIGNY Bruno <i>Éméritat jusqu'au 31/01/2020</i>	Néphrologie
Ⓜ. ICARD Philippe	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
Ⓜ. JOIN-LAMBERT Olivier	Bactériologie - Virologie
Ⓜme JOLY-LOBBEDEZ Florence	Cancérologie
Ⓜ. JOUBERT Michael	Endocrinologie
Ⓜme KOTLER Marie-Laure	Biochimie et biologie moléculaire
Ⓜ. LAUNOU Guy	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Ⓜ. LE COUÛOUR Xavier	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Ⓜ. LE HELLO Simon	Bactériologie-Virologie
Ⓜme LE MAUFF Brigitte	Immunologie
Ⓜ. LEPORRIER Michel <i>Éméritat jusqu'au 31/08/2020</i>	Hématologie
Ⓜ. LEROY François	Rééducation fonctionnelle

M. LOBBÉDÉZ Thierry	Néphrologie
M. MANRIQUE Alain	Biophysique et médecine nucléaire
M. MARCÉLLI Christian	Rhumatologie
M. MARGINAUD Olivier	Neurologie
M. MAUREL Jean	Chirurgie générale
M. MILLIÉZ Paul	Cardiologie
M. MOREAU Sylvain	Anatomie/Oto-Rhino-Laryngologie
M. DOUGÉL Grégoire	Médecine légale et droit de la santé
M. NORMAND Hervé	Physiologie
M. PARIENZI Jean-Jacques	Biostatistiques, info. médicale et tech. de communication
M. PELAGÉ Jean-Pierre	Radiologie et imagerie médicale
Mme PIQUÉ Marie-Astrid	Nutrition
M. QUINJON Jean-Claude	Ophthalmologie
M. RAVASSE Philippe	Chirurgie infantile
M. RÉZNIK Yves	Endocrinologie
M. ROD Julien	Chirurgie infantile
M. ROUPIÉ Eric	Médecine d'urgence
Mme THARIAZ Juliette	Radiothérapie
M. GILLOU Xavier	Urologie
M. TOUZÉ Emmanuel	Neurologie
M. TROUSSARD Xavier	Hématologie
Mme VABRÉ Astrid	Bactériologie - Virologie
M. VERDON Renaud	Maladies infectieuses
Mme VERNÉUIL Laurence	Dermatologie
M. VIADER Fausto	Neurologie
M. VIVIEN Denis	Biologie cellulaire

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

PROFESSEUR ASSOCIÉ DES UNIVERSITÉS A TEMPS PLEIN

M. VABRÉ François	Addictologie
-------------------	--------------

PROFESSEURS ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

M. de la SAUÉTTE Vincent	Neurologie
Mme DOMMARTIN-BLANCHÈRE Anne	Dermatologie
Mme LÉSCURE Pascale	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. SABATIER Rémi	Cardiologie

PRCE

Mme LÉLÉU Solveig

Anglais

Année Universitaire 2018 / 2019**Doyen**

Professeur Emmanuel GOUZÉ

Assesseurs

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3^{ème} cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS -
PRATICIENS HOSPITALIERS**

M. ALEXANDRE Joachim	Pharmacologie clinique
Mme BÉNHAIW Annie	Biologie cellulaire
M. BÉSNARD Stéphane	Physiologie
Mme BONHOUME 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 BOUSSON Hubert	Médecine interne
Mme DEBRUYNE Danièle <i>Éméritat jusqu'au 31/08/2019</i>	Pharmacologie fondamentale
Mme DERLON-BOREL Annie <i>Éméritat jusqu'au 31/08/2020</i>	Hématologie
Mme DINA Julia	Bactériologie - Virologie
Mme DUPONT Claire	Pédiatrie
M. ÉGARD Olivier	Physiologie
M. GABEREL Thomas	Neurochirurgie
M. GRUCHY Nicolas	Génétique
M. GUÉNOLE Fabian	Pédopsychiatrie
M. HIGIER Martin	Anatomie - ORL Chirurgie Cervico- faciale
M. ISNARD Christophe	Bactériologie Virologie
M. LÉGALLOIS Damien	Cardiologie
Mme LELONG-BOULOUARD Véronique	Pharmacologie fondamentale

Mme LÉPORRIER Nathalie <i>éméritat jusqu'au 31/10/2020</i>	Génétique
Mme LEVALLEË Guénaëlle	Cytologie et Histologie
M. LUBRANO Jean	Chirurgie générale
M. MITÈRE Hervé	Biologie cellulaire
M. REPÈSSÉ Johann	Hématologie
M. SÈSBOÛÉ Bruno	Physiologie
M. TOUTIRAIS Olivier	Immunologie
M. VEÛSSIERÉ Alexis	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

Mme ABBATÉ-LÉRAY Pascale	Médecine générale
M. COUËTÈ Pierre-André <i>(fin 31/08/19)</i>	Médecine générale
M. LE BAS François <i>(fin 31/08/19)</i>	Médecine générale
M. SAINMONË Nicolas <i>(fin 31/08/19)</i>	Médecine générale
Mme NOËL DE JAËGÈR Sophie <i>(fin 31/08/2021)</i>	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-MOUILHADE**,

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.

À 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 boîtes 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.

À 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.

À ma famille pour son soutien de tous les jours,

À Typhaine, pour m'avoir montré le chemin de la P1, et des 10 saisons de Friends qui ont suivi.

À ma mère, pour m'avoir amené là où j'en suis aujourd'hui.

À mon père, pour m'avoir fait découvrir dès le plus jeune âge l'ophtalmologie.

À mon oncle Guillaume pour ton énorme travail de traduction des articles.

À Frédéric, pour vos corrections finales.

À Léon, pour ton soutien inébranlable durant toutes ces années de travail.

À 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 messenger

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 3^{ème} 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

CMI₉₀ : Concentration minimale inhibitrice

CO₂ : Dioxyde de carbone

C(t) : Concentration au cours du temps

DCI : Dénomination commune internationale

EUCAST : *European committee on antimicrobial 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

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

<i>Differential microbiology of severe vs. non-severe infectious keratitis: a monocentric retrospective study of 92 consecutive cases</i>	33
---	-----------

PARTIE III : Étude n°2

<i>Concentration au niveau cornéen des antibiotiques utilisés dans la prise en charge des abcès de cornée</i>	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 entraîner 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.

1^{ère} 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 prolata (plus bombée au centre qu'à la périphérie) (Figure 1).

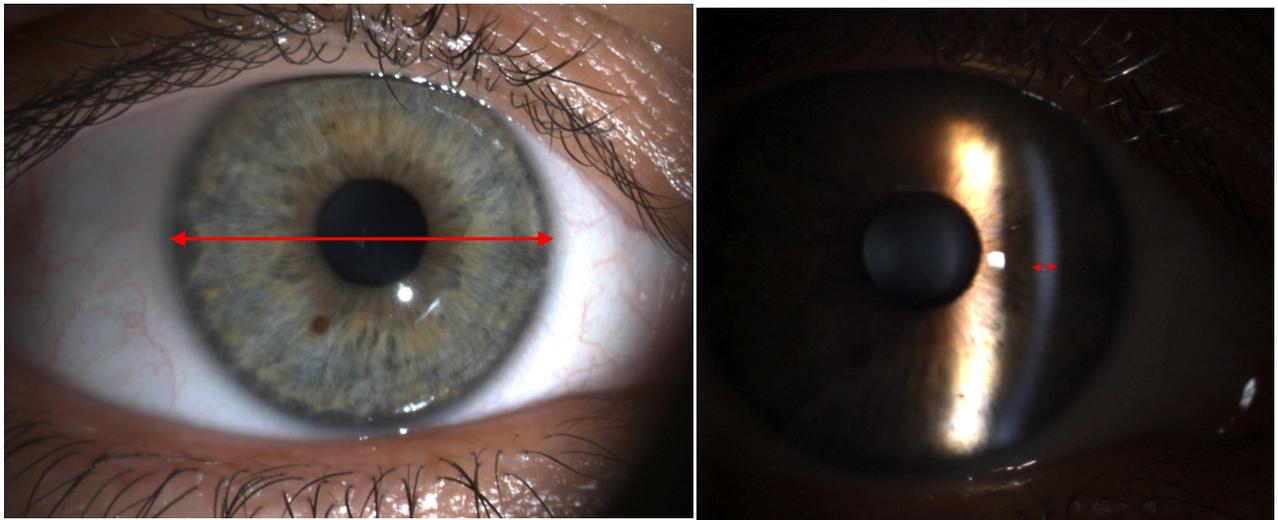


FIGURE 1. Présentation de la cornée (patiente de 30 ans, cornée saine ; Source : CHU de Caen)

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).

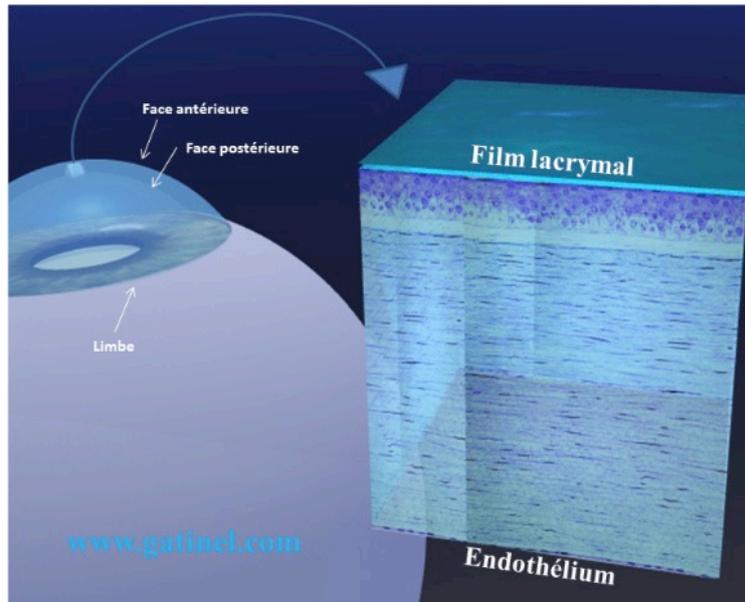


FIGURE 2. Limites physiques de la cornée (source : <https://www.gatinel.com>).

Le système optique de l'œil peut être assimilé à un ensemble de quatre dioptries 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 dioptrie 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 dioptrie cornéen antérieur de 49 dioptries et un dioptrie 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

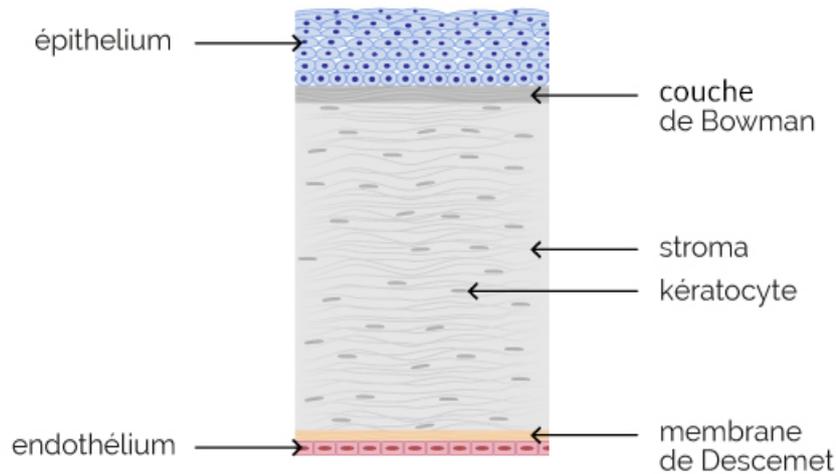


FIGURE 3. Schéma représentant les cinq couches constituant la cornée (source : www.mediris.com).

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

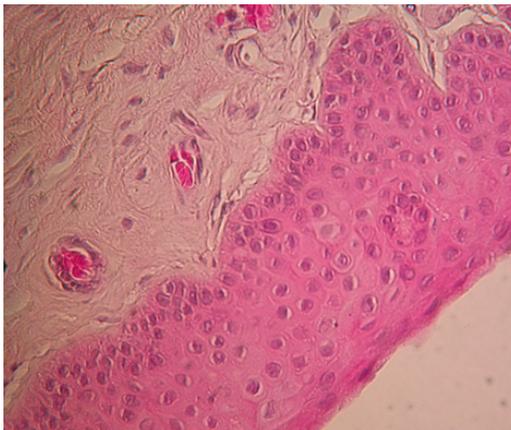


FIGURE 4. Photographie de l'épithélium cornéen prise en microscopie optique après coloration hématoxyline, éosine, safran (source : Allouch-Nahmias et al, 2011).

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).

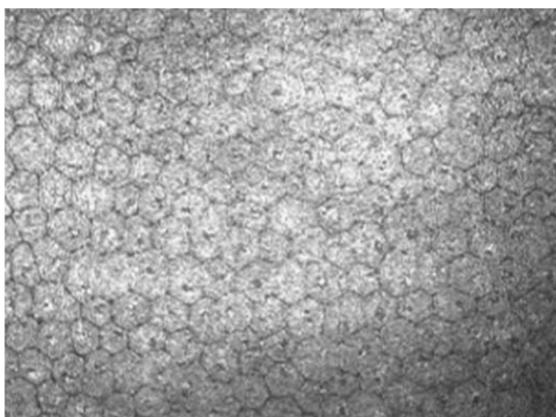


FIGURE 5. Photographie de l'endothélium cornéen prise par OCT. L'endothélium est formé d'une monocouche de cellules uniformes hexagonales plates, régulières d'où l'organisation en « nid d'abeilles » caractéristique. (source : (Allouch-Nahmias et al. 2011).

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 $\mu\text{L}/\text{min}$ (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 bêta-lysines, de lactoferrines, d'anticorps et d'immunoglobulines (A et G).

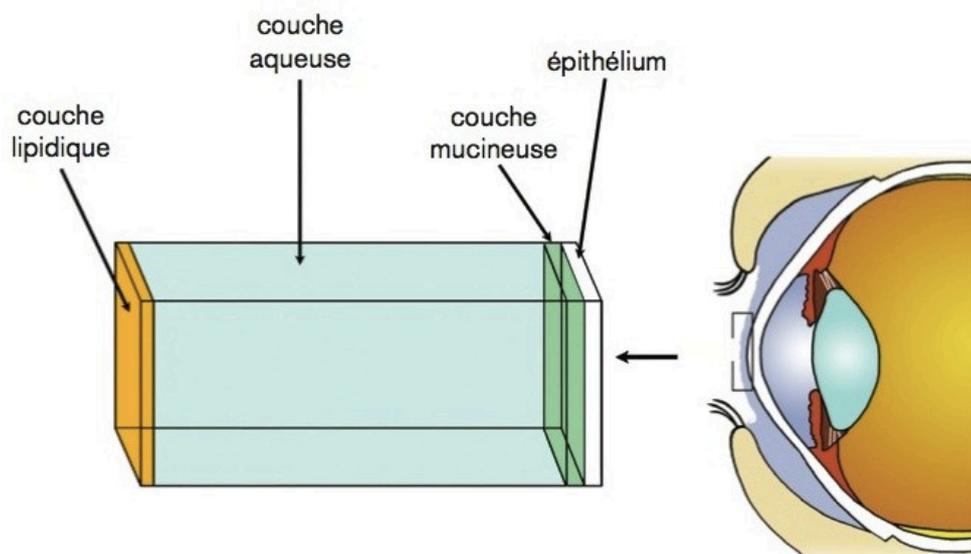


FIGURE 6. Schéma des différentes couches (lipidique, aqueuse et mucineuse) du film lacrymal (source : Matériaux de contactologie, M. Dion, 2010, édition Collège Edouard-Montpetit).

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 connaître 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).

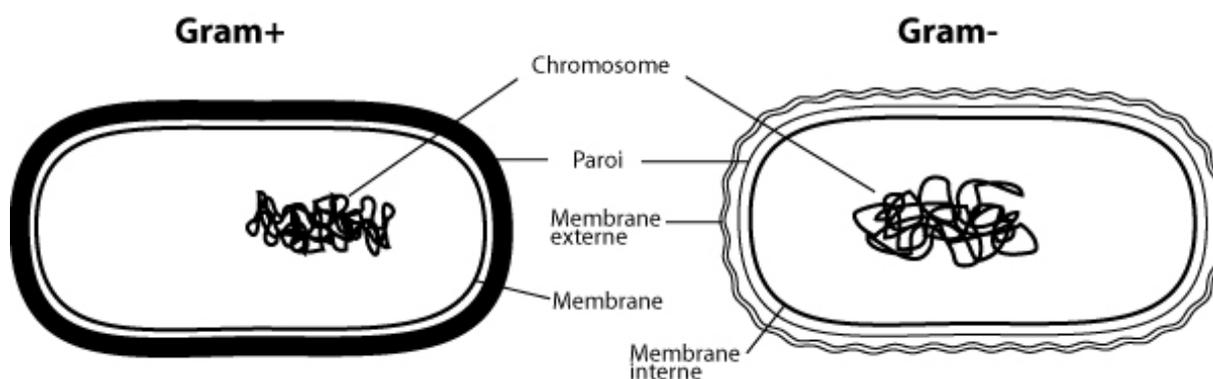


FIGURE 7. Bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Schéma différenciant une bactérie à Gram positif (à gauche) d'une bactérie à Gram négatif (à droite). (source : Université de Genève).

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.

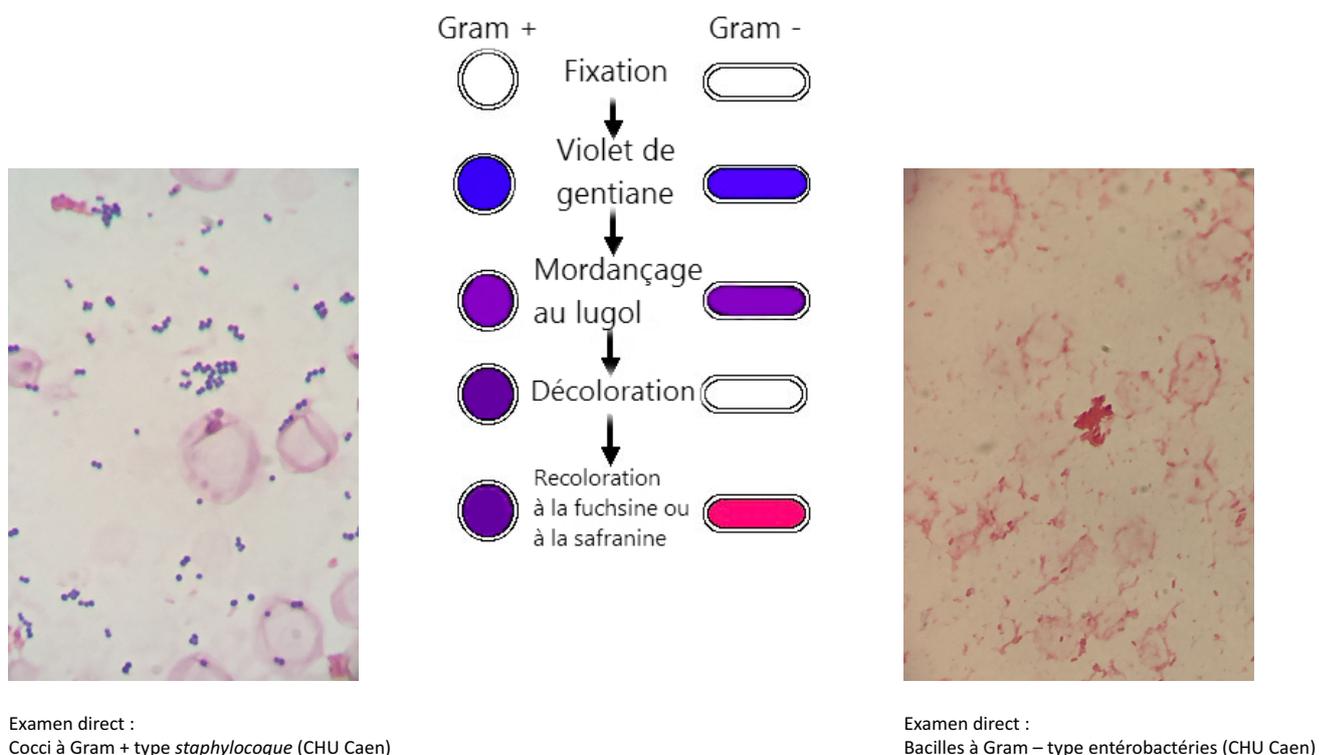


FIGURE 8. Les différentes étapes de la coloration de Gram. La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif (en rose, image de droite), des bactéries à Gram positif (en violet, image de gauche). (source : <http://www.antibiotique.eu/les-types-de-bacteacuteries.html>).

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
	<i>mitis</i>		coagulase négative				
S.	<i>pneumoniae</i>		<i>epidermidis</i>	coagulase positive	<i>E.</i>	<i>faecalis</i>	<i>gonorrhoeae</i>
	<i>salivarius</i>		<i>capitis</i>	<i>aureus</i>		<i>faecium</i>	<i>meningitidis</i>
	<i>gallolyticus</i>	S.	<i>caprae</i>				
			<i>haemolyticus</i>				
			<i>lugdunensis</i>				
			<i>schleiferi</i>				
			<i>warneri</i>				

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
<i>Corynebacterium</i>		<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>
<i>Listeria</i>		<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	<i>Acinobacter</i>	
<i>Bacillus</i>		<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>	<i>Bordetella</i>	
		<i>Raoultella</i>	<i>ornithinolytica</i>		
		<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>		
		<i>Salmonella</i>			

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
<i>Brucella</i>	
<i>Campylobacter</i>	
<i>Haemophilus</i>	
	<i>lacunata</i>
<i>Moraxella</i>	<i>nonliquefaciens</i>
	<i>catarrhalis</i>

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	
<i>Actinomyces</i>		<i>Bacteroides</i>
	<i>botulinum</i>	<i>Fusobacterium</i>
	<i>difficile</i>	<i>Porphyromonas</i>
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	<i>Prevotella</i>
	<i>tetani</i>	
<i>Propionibacterium</i>	<i>acnes</i>	

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 mycobactéries : *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 connaître 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 entraîne 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 2^{ème} et 3^{ème} génération. Il y a la norfloxacin, la ciprofloxacine, l'ofloxacine et la moxifloxacine. En pratique clinique, la ciprofloxacine et l'ofloxacine semblent être nettement plus prescrites que la norfloxacin 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 aeruginosa*.

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 messenger (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 moléculaire 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 inhibant 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 disparaître 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	Chibroxin [®]	Collyre	Commercialisé
	Ofloxacine	Quinofree [®] , Monoox [®] , Exocin [®]	Collyre	Commercialisé
	Ciprofloxacine	Ciloxan [®]	Collyre ou pommade	Commercialisé
	Moxifloxacine	Vigamo [®]	Collyre	Commercialisé
Aminoside	Tobramycine	Tobrex [®] , Tobrabact [®]	Collyre (Tobrex et Tobrabact) ou pommade (Tobrex)	Commercialisé
	Néomycine	Néomycine Diamarft	Collyre	Retiré du marché en 2010
	Gentamicine	Gentalline [®]	Collyre	Retiré du marché en 2013
Acide fusidique		Fucithalmic [®]	Gel	Commercialisé
Rifamycine		Rifamycine-Chibrêt	Collyre ou pommade	Commercialisé
Macrolide	Azithromycine	Azyter [®]	Collyre	Commercialisé
Tétracycline	Oxytétracycline	Posicyclin [®]	Collyre	Retiré du marché en 2008
	Chlortétracycline	Aureomycin [®]	Pommade	Commercialisé
Chloramphénicol	Chloramphénicol	Cebenicol [®]	Collyre	Retiré du marché en 2007
Aminoside+Polypeptide	Néomycine+Polymyxine b	Atebemyxin [®] , Cebemyxin [®]	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 paraît 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 diptheriae*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella*, *Listeria*).

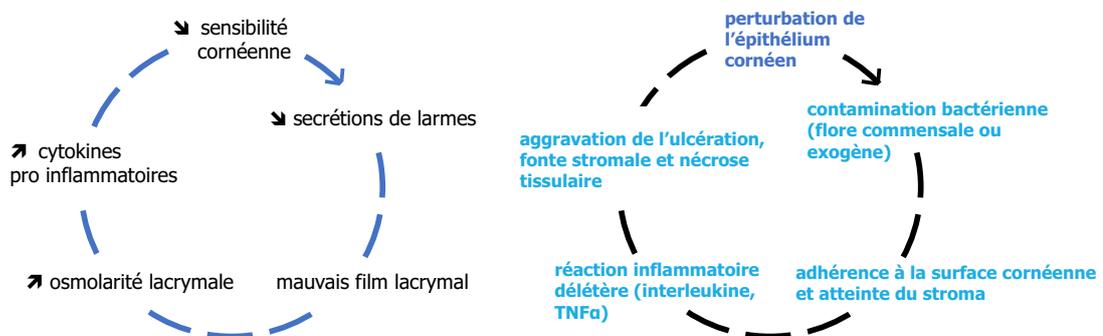


FIGURE 9. Physiopathologie de la cornée en cas d'agression, conduisant à un AC.

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 végétal 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 <i>Pseudomonas</i> , <i>Neisseria</i>	
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).



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

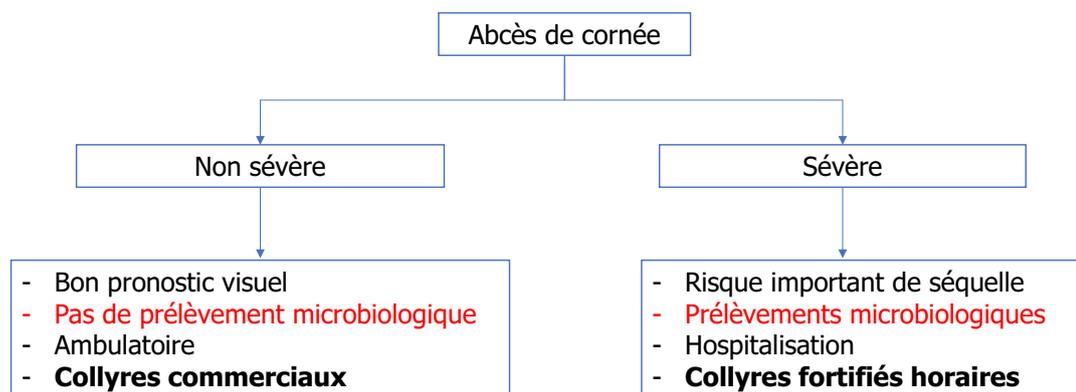


FIGURE 11. Prise en charge des AC selon la gravité clinique (Source : T. Bourcier et al, rapport SFO Surface oculaire kératites bactériennes 2015).

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 entraîne 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 précocément 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.

2^{ème} partie : 1^{ère} ÉTUDE

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

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

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

7 ¹*Department of Ophthalmology, CHU de Caen Normandie, Caen, France*

8 ²*Department of Biostatistics, CHU de Caen Normandie, Caen, France, Caen, France*

9 ³*Microbiology Laboratory, CHU de Caen Normandie, Caen, France*

10 ⁴*Virology Laboratory, CHU de Caen Normandie, Caen, France*

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

12 ⁶*Université de Caen Normandie*

13
14 † These authors contributed equally to this work

15
16 Corresponding author : Thibaud Bouche

17 Service d'Ophtalmologie, CHU de Caen Normandie

18 Avenue de la Côte de Nacre, 14000 Caen, France

19 Phone: + 33 (0)231064630

20 Fax: + 33 (0)231065785

21 E-mail: bouchethibaud@gmail.com

22
23 Conflict of interest: none

24
25 **Keywords:** infectious keratitis, bacterial keratitis, microbiology, epidemiology, antimicrobial,
26 resistance

27 **Abstract (302 words)**

28

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

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

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

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

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

54 **Introduction**

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

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

66 European recommendations for the management of iKs established in the 2000s (Morlet et al.
67 1999; Bennett et al. 1998; Bourcier et al. 2003) are still applied and endorsed by the French
68 Society of Ophthalmology (SFO) (Bourcier 2016). However, the microbiological context and
69 iKs risk factors changed since then: emergence of multidrug resistant bacteria (Malet 2009),
70 generalization of contact lenses adoption (Bourcier et al., 2003, Malet 2009) and optimization
71 of diagnostic techniques in microbiology (Lu and Liu 2016). These developments could lead to
72 a modified microbiology of iKs.

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

76 **Material and method**

77

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

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

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

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

97

98 **Bacteriological analysis.** Sampling was performed after scraping the iK with a sterile scalpel
99 blade No. 15, by swabbing the back and periphery of the iK. Samples were sent to the laboratory
100 for direct examination and Gram staining. Bacterial cultures were performed on aerobic and
101 anaerobic atmospheres, on blood and chocolate agar plates and in enrichment broth (Schaedler).
102 Bacterial cultures were set in an incubator at $35 \pm 2^\circ \text{C}$, and analyzed at 24h, 48h, 72h for agar
103 plates and at 24h, 48h, 72h and eight days for the enrichment broth.

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

111

112 **Mycology and parasitology.** Direct examination was performed from the No. 15 sterile scalpel
113 blade. Seeding was performed on Sabouraud agar tube and incubated for 48 hours at $35 \pm 2^\circ \text{C}$
114 and then stored at room temperature for one month. Culture analysis was performed daily for
115 48 hours and then every 72 hours. Yeasts were identified by MALDI-TOF mass spectrometry
116 and filamentous fungi by their macroscopic appearance and microscopic examination after
117 staining with blue myceblue®. In case of *Acanthamoeba* infection suspicion, the clinician asked
118 for specifically analysis, which consisted in culture and direct examination of trophozoites.

119

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

125

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

133 **Results**

134 **Patients.** In 2016, 235 ophthalmological samples were sent to the microbiology laboratory
135 (Figure 1). 92 samples corresponded to patients consulting for iKs, including 38 non-severe
136 (41.3%) and 54 severe cases (58.7%). Bacteriological and mycological analysis were performed
137 on all samples, virological analysis in 28 cases.

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

144
145 **Microbiology of iKs.** Overall, microbiological investigations were positive in 63% of cases,
146 68% in severe iKs and 53% in non-severe iKs ($p = 0.13$). Mixed positive results, mainly
147 bacterial and fungal or bacterial and viral pathogens, were found in 9.8% of cases.

148
149 **Bacteriology of iKs.** Altogether, bacterial cultures were positive in 55.4% of iKs (Table 2),
150 50% in non-severe iKs and 59% in severe iKs ($p = 0.35$).

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

155 In severe iKs, coagulase negative staphylococci only represented 38% of bacterial isolates,
156 contrasting with a high proportion of more pathogenic bacteria (Sup Table 1, $p = 0.002$).
157 *Moxarella* spp were identified in two cases, *S. aureus* and *Streptococcus pneumoniae* both in 4
158 cases, and *Staphylococcus lugdunensis*, a highly virulent coagulase negative staphylococcus in
159 two cases. *Corynebacterium macginleyi*, a well-known agent of bacterial keratitis was isolated
160 once. A major characteristic of severe iKs was the frequency of Gram-negative rods ($n = 9 -$
161 25% of bacterial isolates - vs. 0 in non-severe iKs, $p = 0.02$), including six *Pseudomonas*
162 *aeruginosa* and 3 enterobacteriaceae.

163 20 patients (23% of all patients) were contact lens users. In this subgroup of patients, bacterial
164 cultures were positive in 37.5% of non-severe iKs ($n = 3/8$) and in 50% of severe iKs ($n = 6/12$).
165 50% of *Pseudomonas aeruginosa* isolates (3/6) were recovered from these patients, all from
166 severe iKs (Table 2 and Sup Table 2).

167
168 **Antimicrobial resistance.** Antibiotic susceptibility tests results were not always available
169 probably because some isolates were considered as contaminants in the laboratory (Table 3 and
170 Sup table 3). In Gram positive bacteria, resistance to fusidic acid was the most frequently
171 reported (33%). In Gram negative bacteria, only 40% of isolates were susceptible to rifampicin
172 (intrinsic resistance) and 36% of bacterial isolates were resistant to ofloxacin (intrinsic
173 resistance in *P. aeruginosa*). No resistance to ciprofloxacin was reported. Finally, all tested
174 isolates were susceptible to fortified eye drops antibiotics.

175
176 **Fungal and parasite detections.** Mycological results were positive in 6 patients (6.5% of iKs)
177 (Table 2), corresponding to severe keratitis in 4 cases. 4 of these patients also had a positive
178 bacterial culture (2 *S. epidermidis*, 1 *S. pneumoniae*, 1 *M. lacunata*). Patients with severe
179 keratitis were all treated with amphotericin B 0.5% fortified eye drops and oral administration
180 of voriconazole. During the study period, no diagnosis procedure for *Acanthamoeba* infections
181 was prescribed.

182

183 **Viral infections.** Virological diagnosis procedures were performed in 28 cases, 71% (20/28) in
184 patients with severe keratitis. 9 viral infections were diagnosed including 8 HSV1 infections
185 and 1 VZV infection (Table 2). The VZV keratitis was a non-severe iK, diagnosed in a patient
186 with a past medical history of ophthalmic zoster. HSV infections were all diagnosed in patients
187 with severe iKs, and were associated with positive bacterial cultures in 5/8 cases (2 *S.*
188 *pneumoniae*, 1 *S. mitis*, 1 *P. mirabilis*, 1 *P. aeruginosa*).
189 Among the 6 contact lenses users who were tested for viral infections, none had positive results.
190

191 **Treatments and ophthalmological outcome of patients**

192 *Antibacterial treatments.* 74% of non-severe iK patients were treated with tobramycin (3 g/L)
193 and ciprofloxacin (3g/L) commercial eye drops. Other non-severe iK patients received dual
194 therapy with azithromycin (15 g/L), ofloxacin (3g/L) and/or rifampicin (3g/L) eye drops. All
195 patients hospitalized for severe iK received a tri-therapy of fortified eye drops including
196 amikacin (25 g/L), ceftazidime (25 g/L) and vancomycin (50 g/L).

197 *Antiviral treatments.* All patients with HSV1 infection were treated with antiseptic eye drops
198 (picloxydine 0.5g/L) and oral administration of valaciclovir. The patient with the non-severe
199 VZV keratitis was successfully treated with antiseptic eye drops (picloxydine 0.5g/L),
200 ganciclovir gel (1.5g/L) and oral administration of valaciclovir.

201 *Antifungal treatments.* Antifungal therapy was given in four cases, only corresponding to severe
202 patients. It consisted in amphotericin B 0.5% fortified eye drops and oral administration of
203 voriconazole. In non-severe patients (one patient was a contact lenses user), the positive culture
204 result was not taken into account, and the patient improved under antibiotic eye drops.

205 *Surgical acts.* Severe iKs required amniotic membrane graft in 7 cases (13%) and enucleation
206 in 3 cases (5.6%). The microbiology of the three patients who required enucleation was
207 *Streptococcus pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, and *Streptococcus mitis*. In two cases, these
208 bacteria superinfected a herpetic (HSV1) keratitis.

209 *Ophthalmological outcome.* 8,7% of patients were lost to follow-up before the end of the
210 treatment. Except for patients who required enucleation, all patients improved under treatments.
211 The final visual acuity was lower in patients with severe iKs (Table 1, $p < 0.001$).

212 Discussion

213

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

229

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

232 The global positivity rate of bacterial culture was 55.4%, in the range of published reports (21
233 to 81%) (Abu Eleinen et al., 2012, Matri 2004, Ancele 2009, Darugar et al., 2011). The clinical
234 severity of iKs did not increase significantly the rate of positive bacterial cultures, although a
235 trend was observed. This low sensitivity may be due, as stated above, to the small amount of
236 material which is sent to the laboratory, or to first line of antibiotherapy prescribed by an
237 ophthalmologist outside of the hospital. This prior administration of ATBs may negatively
238 impact the specimen although studies are discordant on this topic (Dethorey et al., 2011; Malet
239 2009).

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

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

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

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

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

275 Interestingly, HSV1 infections were frequently associated with typical bacterial eye pathogens
276 (2 *S. pneumoniae*, 1 *S. mitis*, 1 *P. mirabilis*, 1 *P. aeruginosa*) and frequently required surgical
277 acts. It has been reported that delay in the diagnosis of iK can aggravate corneal lesions and
278 compromise the final efficacy of the treatment (Ai et al. 1999). In that view, the clinical severity
279 of HSV1 keratitis may be secondary to a delayed diagnosis due to post-herpetic corneal
280 anesthesia, complicated by bacterial infections.

281
282 Fungal keratitis is difficult to diagnose, and the diagnosis is often delayed because of a lack of
283 suspicion and of laboratory issues, particularly the time of growth of yeasts and fungi (Ross,
284 Editor, and Roy 2018). In this study, four fungal infections were associated with severe iKs and
285 were treated with antifungal treatments. However, two fungal positive cultures were associated
286 with non-severe iKs and were successfully treated with antibiotic eye drops.

287
288 Due to its retrospective design, this study suffers from biases and short-comings. However, the
289 medical and ophthalmological past as well as the presence or not of gravity factors and the
290 treatment undertaken were systematically reported in the medical files of our patients.

291
292 To conclude, this study illustrates the difficulty to obtain a precise diagnosis of iK and
293 highlights the differential and complex microbiology of severe iKs. The extremely variable
294 bacterial epidemiology of bacterial keratitis supports the use of a wide spectrum antimicrobial
295 coverage including both Gram-positive and Gram-negative bacteria.

296

297

298

299

300 **Declaration of personal interest**

301 None of the authors have reported a conflict of interest.

302 **References**

303

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

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

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

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

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

318 Bourcier, T, F Thomas, V Borderie, C Chaumeil, and L Laroche. 2003. "Bacterial Keratitis :
319 Predisposing Factors , Clinical and Microbiological Review of 300 Cases" 87 (7): 834–
320 38.

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

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

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

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

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

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

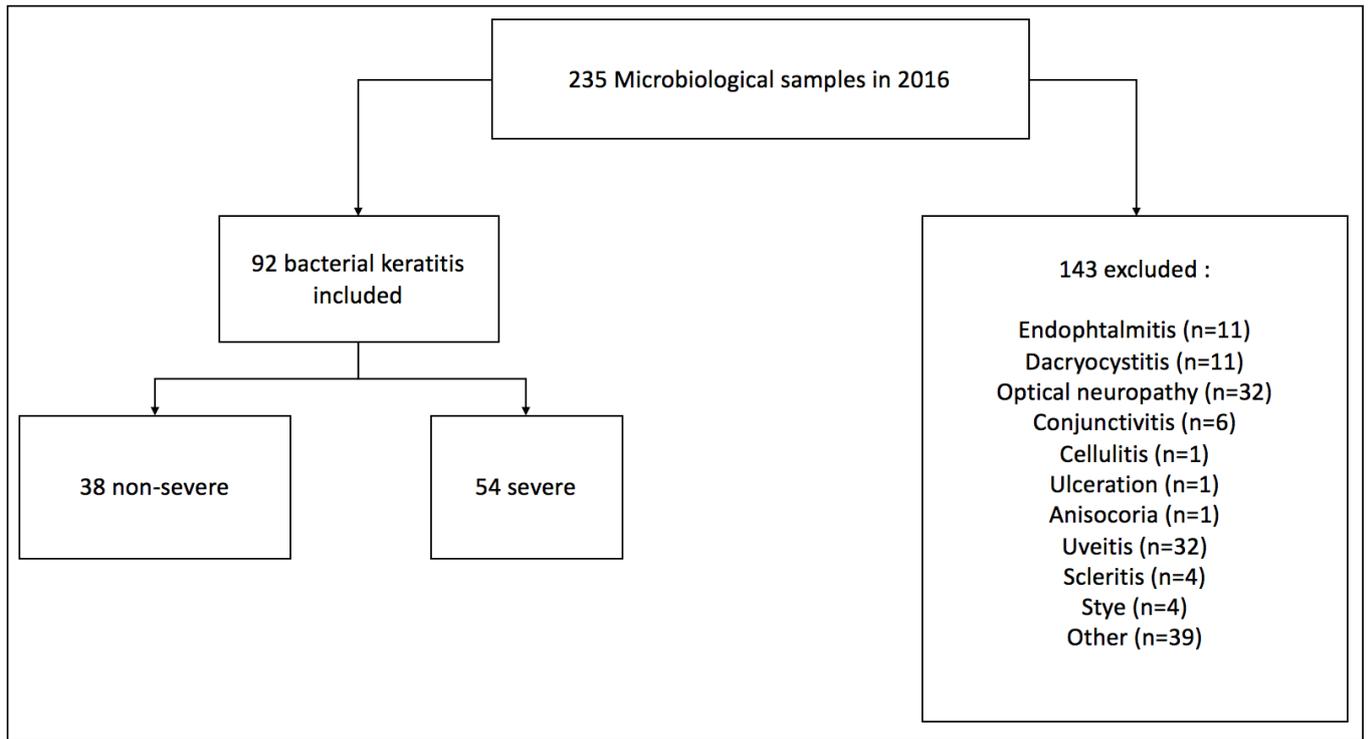
340 Morlet, Nigel, Darwin Minassian, Jeremy Butcher, and Study Group. 1999. "Risk Factors for
341 Treatment Outcome of Suspected Microbial Keratitis," 1027–31.

342 Ohtani, Shinichiro, Kimiya Shimizu, Ryohei Nejima, Fumie Kagaya, Makoto Aihara, Takuya
343 Iwasaki, Nobuyuki Shoji, and Kazunori Miyata. 2017. "Conjunctival Bacteria Flora of
344 Glaucoma Patients during Long-Term Administration of Prostaglandin Analog Drops."
345 *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 58 (10): 3991–96. doi:10.1167/iovs.16-
346 20853.

347 Rahman, Zaidah A., Azian Harun, Habsah Hasan, Zeehaida Mohamed, Siti S.Md Noor,
348 Zakuan Z. Deris, Nabilah Ismail, Asma S. Hassan, Fadzilah Ahmad, and Azhany
349 Yaakub. 2013. "Ocular Surface Infections in Northeastern State of Malaysia: A 10-Year
350 Review of Bacterial Isolates and Antimicrobial Susceptibility." *Eye and Contact Lens* 39
351 (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

366 Table 1. Patients characteristics.

367

368

	Infectious keratitis patients' groups				
	Non-severe iKs (n = 38)	Severe iKs (n = 54)	All (n = 92)	<i>p</i>	
369					
370					
371	Sex ratio (male/female)	1.4	1.6	1.5	0.77
372	Age (mean ± SD)	49.0 ± 18.5	53.4 ± 21.5	51.6	0.31
373	Age < 30 years old (%)	21.0	11.0	20.6	0.19
374	Affected eye side				
375	Right (%)	50	44.4	46.7	0.60
376	Left (%)	50	55.6	53.3	
377					
378	Ophthalmologic history				
379	Ocular surface diseases (%)	21.0	22.2	21.7	0.89
380	Infectious keratitis (%)	7.9	9.3	8.7	1.00
381	Palpebral surgery (%)	7.9	9.3	8.7	1.00
382	Contact lenses (%)	21.0	22.2	22.8	0.89
383					
384	Comorbidities				
385	Diabetes (%)	5.3	5.6	5.4	1.00
386	Arterial hypertension (%)	18.4	7.4	11.9	0.11
387	Immunosuppression (%)	2.6	3.7	3.2	1.00
388	Atopy (%)	2.6	3.7	3.2	1.00
389	Autoimmune diseases (%)	5.3	3.7	4.3	1.00
390					
391	Visual acuity				
392	Initial (logMAR) ¹	0.13 ± 0.46	0.54 ± 0.46	na	<0.001
393	Post treatment (logMAR) ¹	0.06 ± 0.6	0.32 ± 0.36	na	<0.001
394					
395	Treatments				
396	Commercial atb eye drops (%)	100	0	na	na
397	Fortified atb eye drops (%)	0	54	na	na
398	Amniotic membrane graft	0	13.0	7.6	na
399	Enucleation (%)	0	5.6	3.3	na

400

401

402 na: not applicable

403 iKs: Infectious keratitis

404 atb: antibiotics

405 ¹ mean ± standard deviation

406 Table 2. Microbiology of infectious keratitis

407	408 Genus or Group	409 Species	410 Infectious keratitis		411 <i>p</i>
			412 Non-severe (n=38)	413 Severe (n=54)	
411	Positive cultures (n, % of iKs)		19 (50)	34 (63)	0.35
412	N° of bacterial isolates		21	36	
413	Gram-positive cocci (n, % of iKs) ¹		18 (47)	24 (44)	0.35
414	415 <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i>	1 (3)	4 (7)	
416		<i>S. epidermidis</i>	12 (32)	7 (13)	
417		<i>S. lugdunensis</i>	0 (0)	2 (4)	
418		<i>S. warneri</i>	1 (3)	2 (4)	
419		<i>S. caprae</i>	1 (3)	0 (0)	
420		<i>S. capitis</i>	1 (3)	1 (2)	
421		<i>S. schleiferi</i>	1 (3)	0 (0)	
422		<i>S. haemolyticus</i>	0 (0)	1 (2)	
423		<i>Staphylococcus</i> spp	0 (0)	1 (2)	
424		425 <i>Streptococcus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	0 (0)	4 (7)
425	<i>S. mitis</i>		1 (3)	2 (4)	
426	Gram-positive rods (n, % of iKs)		0 (0)	1 (2)	nd
427	428 <i>Corynebacterium</i>	<i>C. macginleyi</i>	0 (0)	1 (2)	
429	Gram-negative cocci (n, % of iKs)		3 (8)	2 (4)	nd
430	431 <i>Moraxella</i>	<i>M. nonliquefaciens</i>	1 (3)	1 (2)	
431		<i>M. lacunata</i>	1 (3)	1 (2)	
432		<i>M. catarrhalis</i>	1 (3)	0 (0)	
433	Gram-negative rods (n, % of iKs)		0 (0)	9 (17)	0.02
434	435 <i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	0 (0)	6 (11)	
435	436 <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>S. marcescens</i>	0 (0)	1 (2)	
436		<i>R. ornithinolytica</i>	0 (0)	1 (2)	
437		<i>P. mirabilis</i>	0 (0)	1 (2)	
438	Fungi (n, % of iKs)		2 (5)	4 (7)	nd
439	<i>Acremonium</i> spp		0 (0)	1 (2)	
440	<i>Mycelial filaments</i> ²		0 (0)	1 (2)	
441	<i>Aspergillus fumigatus</i>		0 (0)	2 (4)	
442	<i>Candida albicans</i>		1 (3)	0 (0)	
443	<i>Candida guilliermondii</i> ³		1 (3)	0 (0)	
444	<i>Candida parapsilosis</i> ³		1 (3)	0 (0)	
445	<i>Fusarium</i> spp ³		1 (3)	0 (0)	
446	Virus (n, % of iKs) ⁴		1 (3)	8 (15)	nd
447	HSV1		0 (0)	8 (15)	
448	HSV2		0 (0)	0 (0)	
449	VZV		1 (3)	0 (0)	

452 ¹ due to co-infection, the total number of bacteria identified is greater than 92.

453 ² negative culture

454 ³ polymicrobial infection, contact lenses user

455 ⁴ 28 patients were tested for HSV or VZV infections

456 nd: statistical analysis was not performed due to the low number of patients.

457 iKs: Infectious keratitis

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

461	Gram + bacteria		Gram – bacteria		
462	(n = 43)		(n = 14)		
463	% tested	% S ¹	% tested	% S ¹	
464	Eye drops antibiotics tested				
465	Commercial eye drops				
466	Tobramycin	49%	81%	57%	91%
467	Rifampicin	58%	92%	71%	40%
468	Ofloxacin	56%	83%	79%	64%
469	Ciprofloxacin	nt		36%	100%
470	Fusidic acid	56%	67%	nt	nt
471	Fortified eye drops				
472	Amikacin	nt	nt	64%	100%
473	Ceftazidime	nt	nt	64%	100%
474	Vancomycin	49%	100%	nt	nt

475
 476
 477 ¹ % of susceptible isolates according to EUCAST breakpoints
 478 nt: not tested (not in the panel of routinely tested antibiotics in the laboratory or intrinsic resistance)
 479

480 Supplementary table 1. Bacterial pathogenicity¹ and clinical severity of iKs.

481

482 Genus or Group Species Bacterial keratitis¹ *p*

483 Non-severe Severe

484

485

486 Low pathogenic CoNS ², n (% of isolates) 16 (76%) 12 (33%) 0.002

487 *S. epidermidis* 12 7

488 *S. warneri* 1 2

489 *S. caprae* 1 0

490 *S. capitis* 1 1

491 *S. schleiferi* 1 0

492 *S. haemolyticus* 0 1

493 *Staphylococcus* spp 0 1

494

495 Pathogenic species, n (% of isolates) 5 (24%) 24 (67%)

496 *Staphylococcus* *S. aureus* 1 4

497 *S. lugdunensis* 0 2

498 *Streptococcus* *S. pneumoniae* 0 4

499 *Streptococcus* *S. mitis* 1 2

500 *Corynebacterium* *C. macginleyi* 0 1

501 *Moraxella* *M. nonliquefaciens* 1 1

502 *M. lacunata* 1 1

503 *M. catarrhalis* 1 0

504 *Pseudomonas* *P. aeruginosa* 0 6

505 *Enterobacteriaceae* *S. marcescens* 0 1

506 *R. ornithinolytica* 0 1

507 *P. mirabilis* 0 1

508

509 Total number of isolates 21 (100%) 36 (100%)

510

511

512 ¹ number of isolates

513 ²CoNS: coagulase negative staphylococci

514

515

516

517 Supplementary table 2. Microbiological results in contact-lenses wearers

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

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)
<i>Staphylococcus</i>		
<i>S. epidermidis</i>	2 (29)	1 (8)
<i>S. warneri</i>	1 (14)	0 (0)
<i>S. haemolyticus</i>	0 (0)	1 (8)
Gram-positive rods (n, % of CL-iKs)	0 (0)	1 (8)
<i>Corynebacterium</i>		
<i>C. macginleyi</i>	0 (0)	1 (8)
Gram-negative rods (n, % of CL- iKs)	0 (0)	3 (23)
<i>Pseudomonas</i>		
<i>P. aeruginosa</i>	0 (0)	3 (23)
Fungi (n, % of CL- iKs)	1 (14)	0 (0)
<i>Candida guilliermondii</i> ¹	1 (14)	0 (0)
<i>Candida parapsilosis</i> ¹	1 (14)	0 (0)
<i>Fusarium</i> 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.

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

547

548	Gram	TM	RIF	OFL	CIP	FUS	VA	CAZ	AK	
549	<i>S. epidermidis</i> (n=19)	+	79%	95%	95%	nt	63%	100%	nt	nt
550	<i>S. aureus</i> (n=5)	+	100%	100%	100%	nt	100%	100%	100%	nt
551	<i>S. lugdunensis</i> (n=2)	+	100%	100%	100%	nt	100%	100%	nt	nt
552	<i>S. pneumoniae</i> (n=4)	+	100%	100%	25%	100%	100%	100%	100%	100%
553	<i>C. macginleyi</i> (n=1)	+	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
554	<i>P. aeruginosa</i> (n=6)	-	83%	16% ¹	33%	100%	nt	nt	100%	100%
555	<i>Enterobacteriaceae</i> (n=3)	-	100%	67% ¹	100%	100%	nt	nt	100%	100%
556	<i>Moraxella</i> spp (n=5)	-	100%	100%	100%	100%	nt	nt	100%	100%

557

558

559 nt: not tested (intrinsic resistance or not in the routine panel of tested antibiotics)

560 ¹intrinsic resistance

561 TM: tobramycin; RIF: rifampicin; OFL: ofloxacin; CIP: ciprofloxacin; FUS: fusidic acid; VA: vancomycin

562 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.

3^{ème} partie : 2^{ème} 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 Quemener⁴, 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 CMI₉₀ 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 (C_i).

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 CMI₉₀ (EUCAST 2018) des principaux germes impliqués dans les AC (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *M. catarrhalis*).

Résultats. Les C_i des C-ATB étaient très supérieures aux CMI₉₀, allant de 2.25 g/L (TOB, CIP, OFL) à 37.50 g/L (VAN). Les C(t) étaient strictement supérieures aux CMI₉₀ 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 CMI₉₀ 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 (CMI₉₀) ; 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 (CMI₉₀) pour évaluer l'efficacité d'un ATB vis-à-vis d'un germe. La CMI₉₀ 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 CMI₉₀ 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'excédent 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.

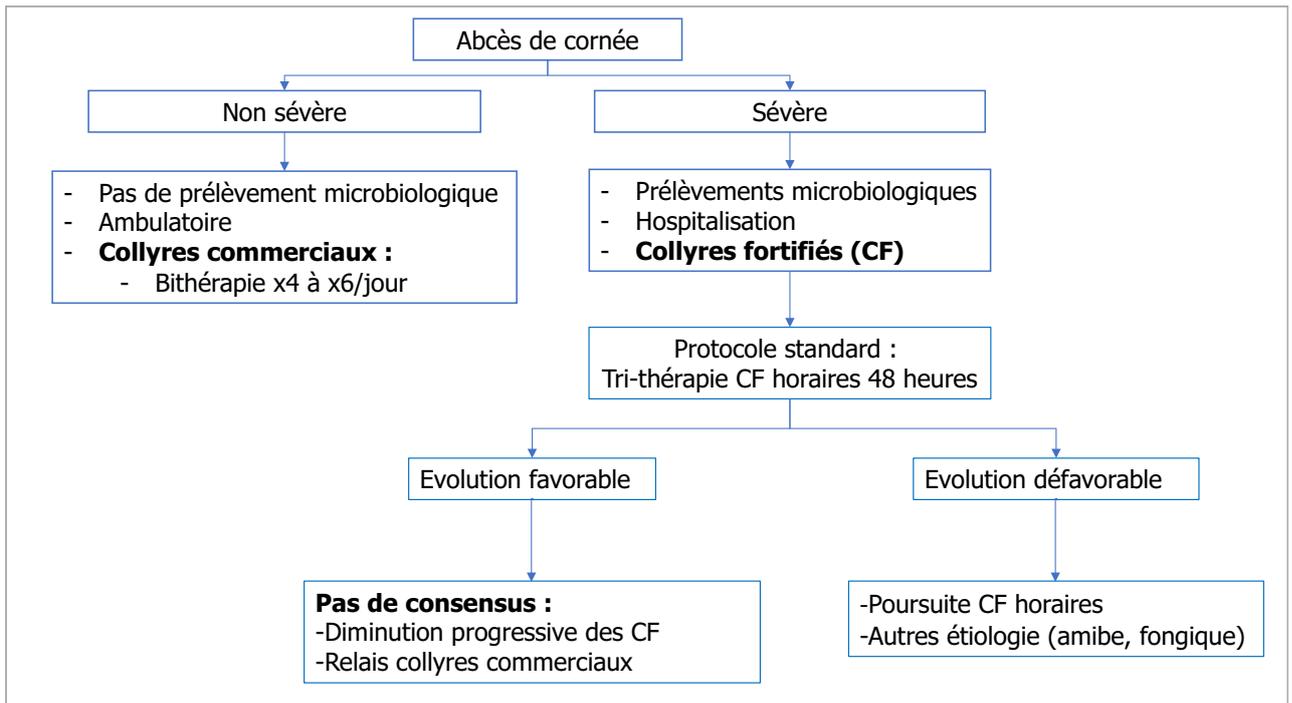


Figure 1. Arbre décisionnel utilisé pour la prise en charge thérapeutique d'un AC selon sa sévérité clinique. Un AC non sévère autorise une prise en charge ambulatoire, sans réalisation de prélèvement microbiologique et avec mise en place de collyres commerciaux. Un AC sévère impose une hospitalisation 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 (C_i) du C-ATB de 3/4 (30 μ l de CF + 10 μ l 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 CMI₉₀ 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 CMI₉₀ 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	Ofloxacin	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	<i>Staphylococcus coagulase +</i>	<i>S. aureus</i>	4 (6.9)
		<i>Staphylococcus coagulase -</i>	<i>S. epidermidis</i>
		<i>Staphylococcus spp</i>	7 (12)
	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4 (6.9)
		<i>Streptococcus mitis</i>	2 (3.4)
Bacille à Gram positif		<i>Corynebacterium macginleyi</i>	1 (1.7)
Cocci à Gram négatif		<i>Moraxella sp</i>	2 (3.4)
Bacille à Gram négatif	<i>Pseudomonas spp</i> <i>Entérobactéries</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 (10.3)
		<i>Serratia marcescens</i>	1 (1.7)
		<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1 (1.7)
		<i>Proteus mirabilis</i>	1 (1.7)
Examen direct et/ou culture négatifs			22 (37.9)
Total			58(100)

AC : Abscès 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 (C_i) en mg/L varie au cours du temps t (en minutes) selon l'approche suivante :

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

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 CMI₉₀ pour la majorité des germes à 60 minutes (<1 mg/L) (Tableau 3).

Les concentrations d'ATB (Ct) étaient strictement supérieures aux CMI₉₀ 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 présentait 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 CMI₉₀ des germes étudiés (Tableau 3).

Certains couples n'ont pas pu être évalués du fait de l'absence de CMI₉₀ 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 CMI₉₀). 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

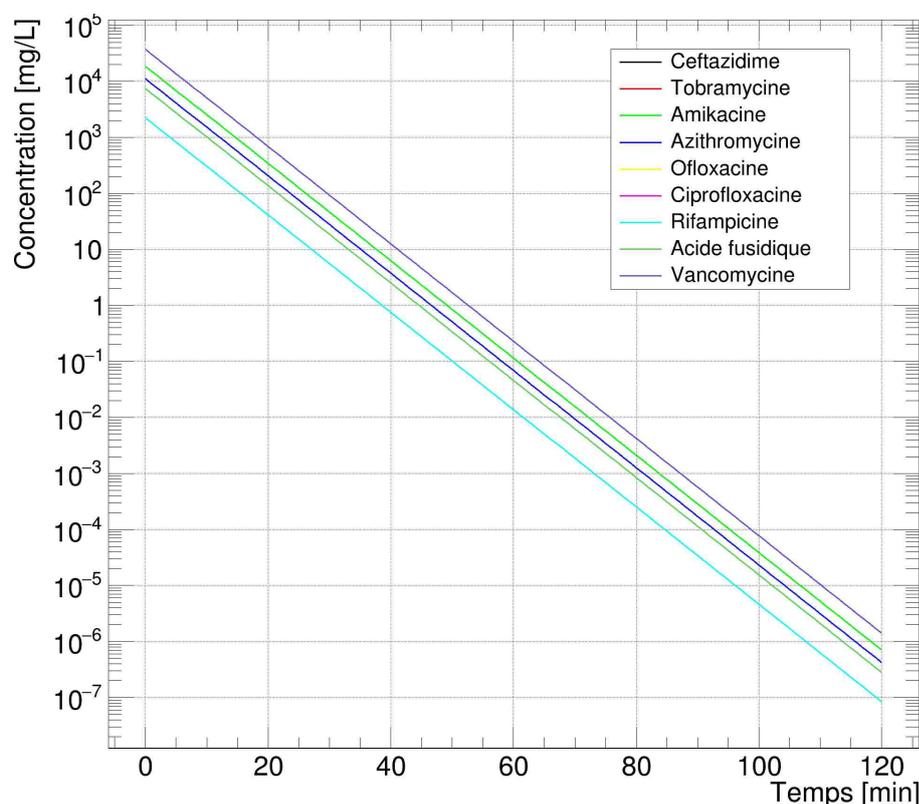


Figure 2. Evolution de la concentration des collyres ATB au cours du temps au niveau cornéen (Log10).

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 entraîne 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	$C_{(t \leq 5\text{min})} = C_i \times e^{(-0.2t)}$		
5min < t ≤ 10min	$C_{(5\text{min} < t \leq 10\text{min})} = 1/4 C_i \times e^{(-0.2 \times (t-5) - 1)}$	$C_{(5\text{min} < t \leq 10\text{min})} = C_i \times e^{(-0.2 \times (t-5))}$	
t > 10min	$C_{(t > 10\text{min})} = 1/16 C_i \times e^{(-0.2 \times (t-10) - 1)}$	$C_{(t > 10\text{min})} = 1/4 C_i \times e^{(-0.2 \times (t-10) - 1)}$	$C_{(t > 10\text{min})} = C_i \times e^{(-0.2 \times (t-10))}$

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.

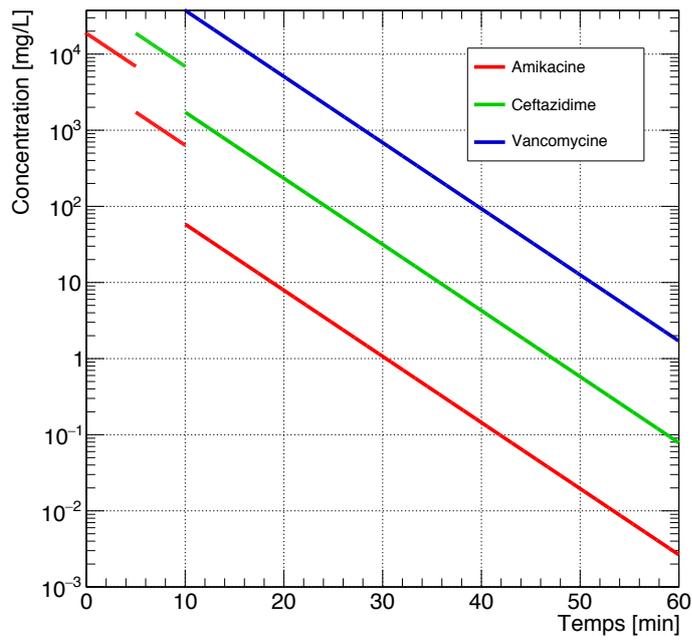


Figure 3. Evolution de la concentration des CF (AKN, CAZ et VAN) au cours du temps (Log10) (administration de l'AKN puis de la CAZ à t=5min puis de la VAN à t=10min).

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 (CMI₉₀ 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)>CMI₉₀(min)).

	CMI	Germe						
		<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>M. catarrhalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>E. coli</i>
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)

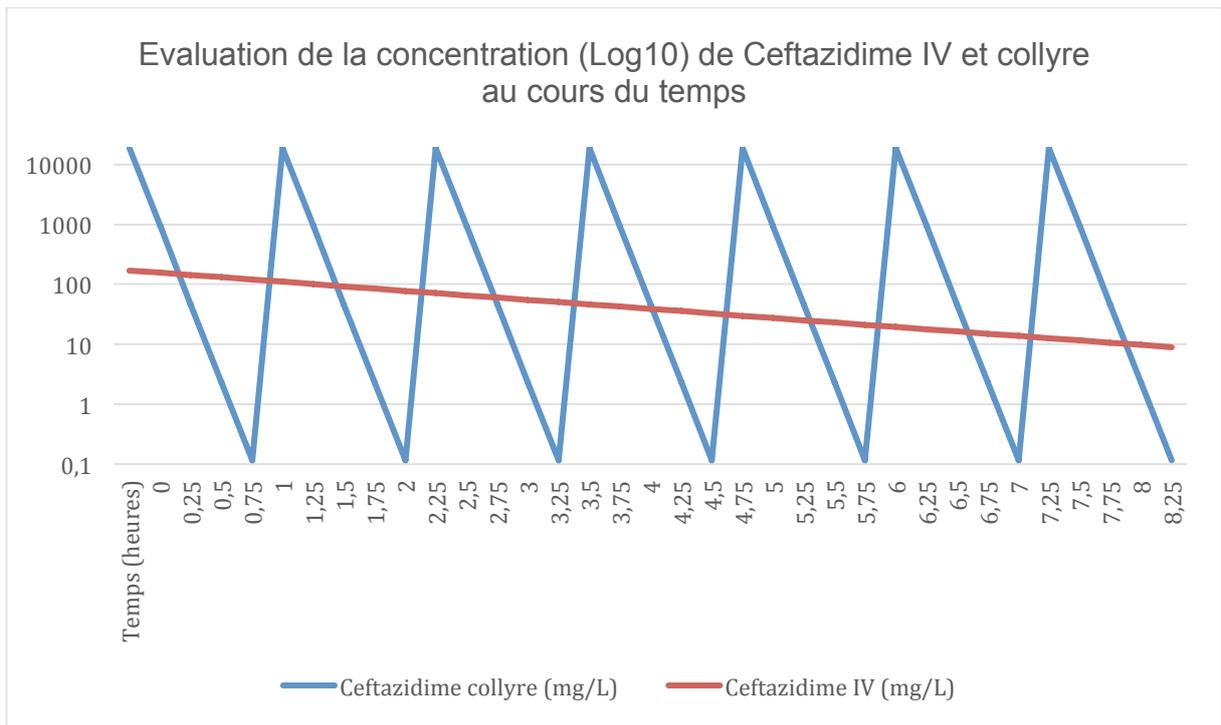
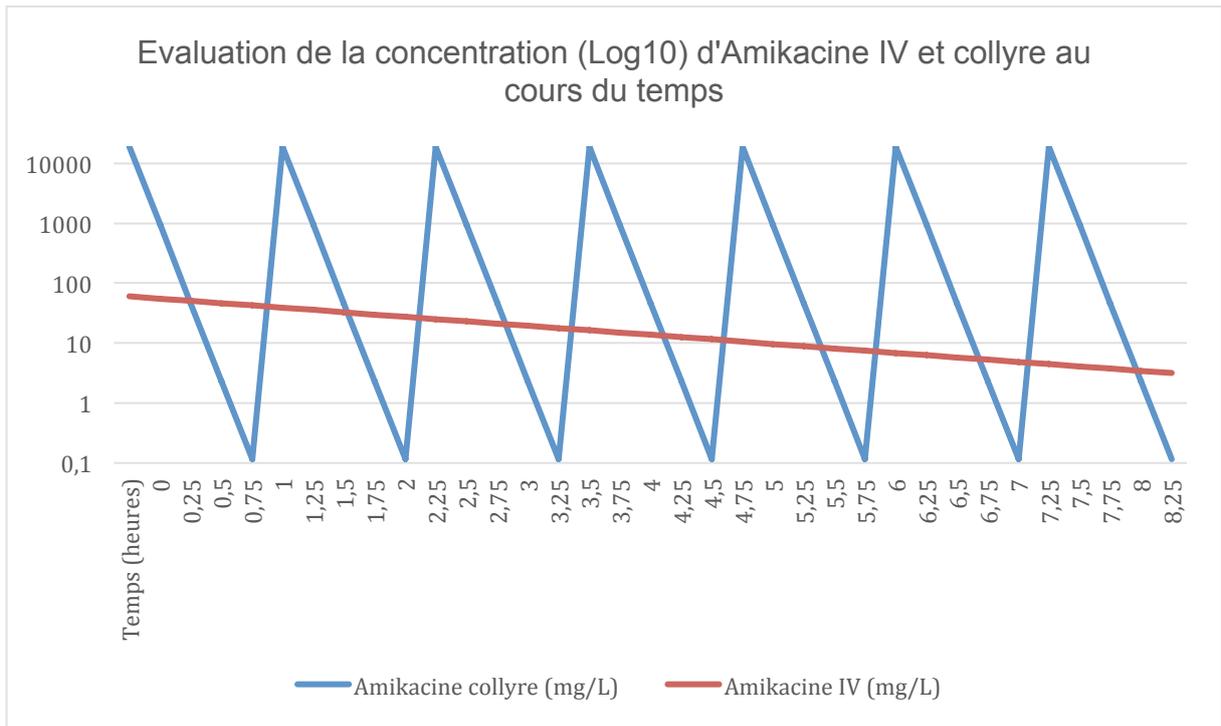
RN : Résistance naturelle connue

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 C_i 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).



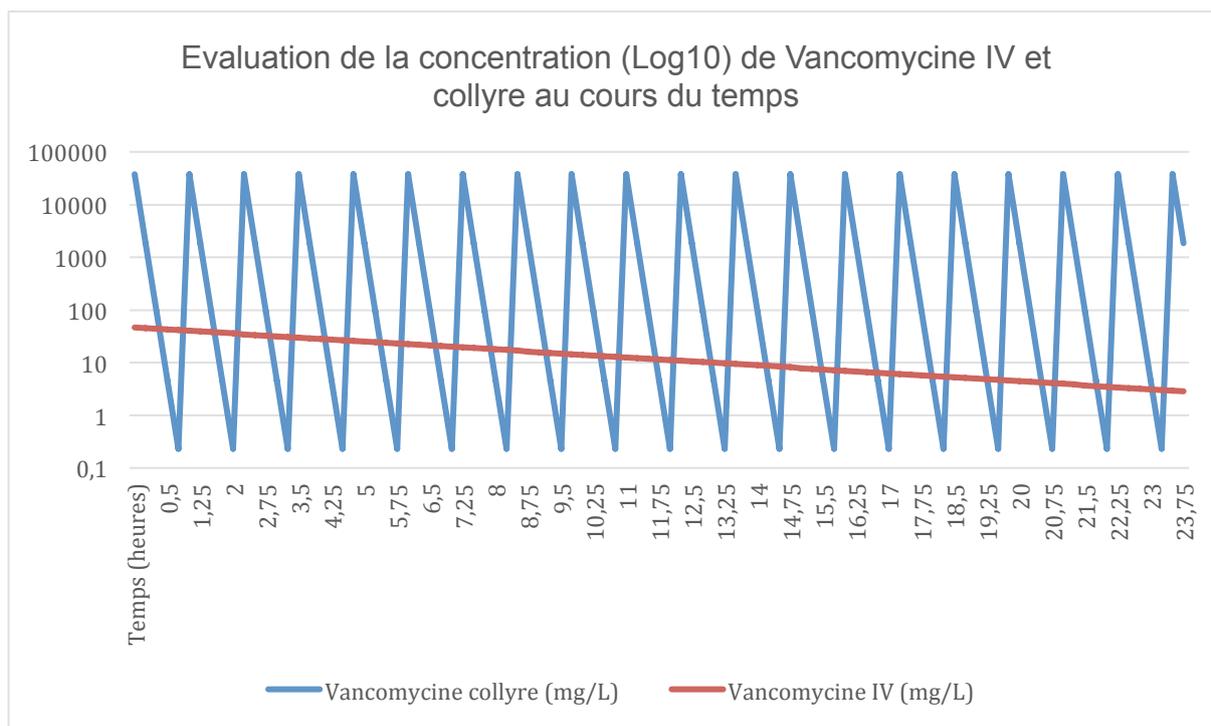


Figure 4. Evaluation de la concentration (Log10) d'AKN, de CAZ et de VAN au cours du temps au niveau cornéen et plasmatiques. 3a AKN, 3b CAZ et 3c VAN.

Discussion

L'application de ce modèle a montré que les Ci d'ATB à la surface cornéenne étaient très supérieures aux CMI₉₀ 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 CMI₉₀ 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 CMI₉₀ 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 influencer 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 où la VAN est le CF le plus concentré, on pourrait s'interroger sur l'intérêt de débiter 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 CMI₉₀, 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 CMI₉₀, 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 CMI₉₀ 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 CMI₉₀ de la plupart des germes, contrairement à l'administration systémique qui décroît progressivement au

cours du temps, en restant supérieure à la CMI₉₀ 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 CMI₉₀ 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 CMI₉₀ 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 entraîne 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 μ L par minute (Mishima 1981), tandis qu'en cas d'atteinte de la surface oculaire, une hypersécrétion lacrymale autour de 2 μ L 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 CMI₉₀ 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 μ L par minute dans notre formule mathématique et en considérant une CMI_{90} moyenne à 2 μ g/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 μ g/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 entraîner des effets systémiques indésirables (Frank 1992). De même, ces taux plasmatiques ne pouvaient à eux seuls entraîner 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 Balci, Hasan Ali Bayhan, Ahmet Çağkan İnkaya, Mehmet Uyar, and Canan Gürdal. 2015. "Conjunctival Flora in Diabetic and Nondiabetic Individuals." *Turk Oftalmoloji 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." *Ophthalmologie* 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 Ophthalmic 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 paraît 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 accroître 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'accroître l'arsenal thérapeutique.

BIBLIOGRAPHIE

- Adam, Mehmet, Mehmet Balci, Hasan Ali Bayhan, Ahmet Çağkan İnkaya, Mehmet Uyar, and Canan Gürdal. 2015. "Conjunctival Flora in Diabetic and Nondiabetic Individuals." *Turk Oftalmoloji 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/jamaophthamol.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.” *Ophthalmologie* 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/archoph.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

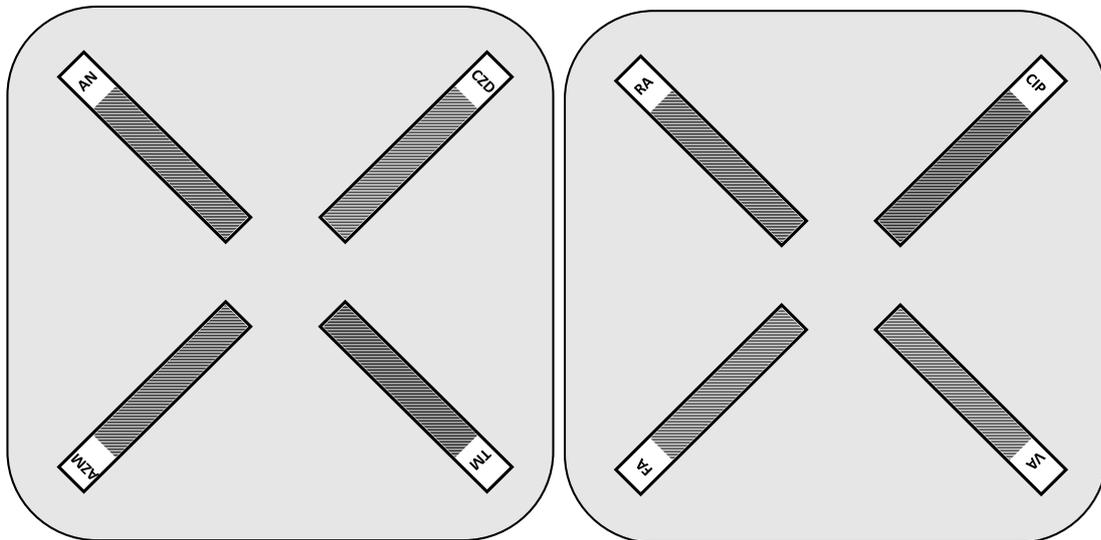
Pour TOUT prélèvement d'œil (cornée, humeur aqueuse, vitré, conjonctive) :

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

Si Abscès 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):

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 keratitis, antibiogram, bacterial resistance