
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Institut des Sciences
Département des Science de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Science Biologie
Option : microbiologie appliquée

Présenté par :

M. Atek Mohamed M. Si Bouazza Miloud

Caractérisation et détermination des origines de la colonisation bactérienne de lentille de contact chez les sujets atteints de kératite infectieuse

Encadrant :

Mme. M'hamedi Imene

Maître-conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en 2019

Devant le jury composé de :

Président : Mme. Moghtit Fatima	(M.C.B)	C.U.B.B.A.T.
Examineurs : Mme. Ouadah Amina	(M.C.B)	C.U.B.B.A.T.
Encadrant : Mme. M'hamedi Imene	(M.C.B)	C.U.B.B.A.T.



*Je tiens tout d'abord à remercier le Bon **Dieu** tout puissant de m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.*

*La première personne que nous tenons à remercier chaleureusement est notre encadrant Madame **M'hamedi Imene**, pour la qualité de son enseignement, ses conseils et son intérêt incontestable qu'elle porte à tous les étudiants, sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.*

*Nous sommes conscients de l'honneur que nous a fait Madame **Moghtit Fatima** maître de conférences B au centre universitaire belhadj bouchaib ain temouchent, en étant président du jury.*

*Mes remerciements s'adressent également à Madame **Ouadah Amina** maître de conférences B au centre universitaire belhadj bouchaib ain temouchent, d'avoir accepté de juger ce mémoire.*

*De même, je remercie monsieur **Benyagoub Abdelhafid** Docteur et directeur de laboratoire **AL AZIZA**, où ce travail a été réalisé. Mes très spéciaux remerciements reviennent à toute l'équipe du laboratoire **Benyoucef. F, Zitouni. R, Kadri. A**, pour leurs soutiens, leurs mots encourageants et leurs multiples aides et conseils.*

Enfin, nous adressons nos vifs remerciements à tous les enseignants et les étudiants de mon promo de la microbiologie.

Dédicaces

Atek Mohamed

*A la bougie de ma vie, la fleur de mes jours, A ma chère
maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que
j'atteigne ce niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas
Empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de
l'avenir de ses enfants.*

*A ma chère sœur : Samia pour sa disponibilité, ces
encouragements. Aucun hommage ne pourrait être à la
hauteur, de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que
Dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

A mon cher frère : Nesreddine

Toute ma grande famille : ATEK.

A mes oncles et mes tantes.

*Et plus particulièrement à mon binôme Miloud qui m'a
accompagné durant ce projet.*

A tous mes camarades de la promo Microbiologie

A tous ceux qui m'aiment.

Dédicaces

Sí Bouazza Miloud

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans le soutien indéfectible et sans relâche de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le courage l'abnégation et la volonté pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur et vous faire honneur.

Je dédie aussi ce travail également : A Mes grands-parents.

Le destin ne nous a pas laissé le temps pour jouir ce bonheur ensemble et de vous exprimer tout mon respect. Puisse Dieu tout puissant vous accorder sa clémence, sa miséricorde et vous accueillir dans son sain paradis.

A mes sœurs qui m'ont toujours soutenu dans le meilleur et le pire, merci ...

A Mes oncles, mes tantes. Tous mes cousins et cousines. Tous mes amis, mes collègues et tous ceux qui m'estiment et m'encourage.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

I. Synthèse bibliographique

1. La surface oculaire.....	3
1.1 Anatomie et physiologie de la surface de cornée	3
1.2 Les propriétés défensives de la cornée.....	4
1.3 Microbiologie de la surface oculaire.....	5
2. Les kératites infectieuses.....	6
2.1 La survenue de la kératite.....	6
2.2 Les différents types de kératites microbiennes.....	7
2.2.1 La kératite bactérienne.....	7
2.2.2 Les kératites amibiennes.....	9
2.2.3 Les Kératites fongiques.....	10
2.2.4 Les Kératites virales.....	10
3. Les facteurs de risque des kératites infectieuse.....	10
3.1 Les facteurs intrinsèques.....	10
3.2 Les facteurs extrinsèques : Le port de lentille de contact.....	11
3.2.1 Action des lentilles sur la surface oculaire.....	12
3.2.2 Contamination des lentilles de contact par adhésion Bactériennes.....	12
4. Traitements des kératites bactériennes.....	13
4.1 Traitement médical.....	14
4.2 Traitements adjuvants.....	14
4.3 Autres mesures.....	14

II. Matériel et méthodes.....15

1. Lieu d'étude.....	15
2. Prélèvement.....	15

3. Ensemencement des prélèvements.....	15
4. L'identification bactérienne.....	15
5. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	17
6. Evaluation de la formation de biofilm ; Méthode de plaque de culture de tissus (TCP).....	18
III. Résultats et discussions.....	20
1. Prélèvement.....	20
2. Isolement et Identification.....	21
3. Etude de la résistance aux antibiotiques.....	26
4. Résultats de l'évaluation de la formation du biofilm par la méthode TCP.....	26
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30
Annexes	

Liste des abréviations

AB : *Acinetobacter baumannii*.

BHIB : Bouillon infusion cœur cervelle

BT : Boitier.

CAZ : Ceftazidime.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

CIP : Ciprofloxacine

CN : Gentamicine (Aminosides).

CZ : Céfazoline.

D : Droit.

DO : Densité optique

E. coli: *Escherichia coli*

G: Gauche

G-: Gram –

G+ : Gram +

h : Heure.

HTA : L'hypertension artérielle.

HSV : Virus Herpes simplex

IgA : Immunoglobulines A.

K : Kératite.

KB : Kératite bactérienne.

KI : Kératite infectieuse.

KM : Kératite microbienne.

LC : Lentille de contact.

MMP : Métalloprotéinases matricielles.

NaCl : Chlorure de sodium.

NV : Novobiocin.

PA : *Pseudomonas aeruginosa*.

PF : *Pseudomonas fluorescens*.

PL : *Pseudomonas luottella*.

S : *Staphylococcus*.

TCP : Plaque de Culture de tissus.

TOB : Tobramycine.

UFC : Unité formant colonie.

V : Volontaire.

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie de la cornée	4
Figure 2 : Différentes étapes pathogéniques de l'infection cornéenne bactérienne	7
Figure 3 : Aspect phénotypique	22
Figure 4 : Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100)...	22
Figure 5 : Identification des staphylocoques.....	23
Figure 6 : Répartition de germes isolés des lentilles de contact.....	25
Figure 7 : Répartition de germes isolés des boitiers des patients atteints de kératite et des volontaires.....	25
Figure 8 : Profil de résistances aux antibiotiques des isolats de lentilles des patients atteints de kératite et des volontaires.....	26
Figure 9 : Profil de résistances aux antibiotiques des isolats des boitiers des patients atteints de kératite et des volontaires.....	26
Figure 10 : Quantification de la formation de biofilm chez les isolats des lentilles de contact en microplaques à 37°C.....	27
Figure 11 : Quantification de la formation de biofilm chez les isolats des boitiers en microplaques à 37°C	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Origine , composition et rôle du film lacrymal	5
Tableau 2 : Principales bactéries isolées dans les kératites	9
Tableau 3 : Facteurs prédisposants à la kératite microbienne	11
Tableau 4 : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme	18
Tableau 5 : Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP selon Mathur <i>et al.</i>	19
Tableau 6 : Dépistage de la formation de biofilm selon les critères d'Hassan <i>et al.</i>	19
Tableau 7 : Caractéristique de lentille	20
Tableau 8 : Résultat d'identification par la galerie Api 20 E des espèces isolées.....	23

Introduction

Plus de 80 % des informations provenant du monde extérieur sont obtenus grâce à la fonction visuelle de l'œil (Buil *et al.*, 2002), qui est un organe très fragile susceptible d'imperfection dans sa constitution, et peut être sujet à des affections et des infections plus ou moins graves (Adoson,1999).

Ces infections oculaires sont liées à de nombreux agents pathogènes tels que les bactéries, les champignons, les parasites ou les virus, responsables d'une forte pathogénicité allant d'une simple conjonctivite ou kératite faciles à traiter, à une atteinte sérieuse ou une cécité définitive (El Belhadji *et al.*,2000 ; Rais *et al.*, 2005). Cette sévérité de l'atteinte cornéenne dépend à la fois du germe et de l'état sous-jacent de la cornée (Bourcier *et al.*,2007).

La kératite microbienne est une infection sérieuse qui doit être traitée à temps, afin d'éviter des lésions visuelles permanentes de la cornée. De ce fait, les modalités de prise en charge varient en fonction de la sévérité de la présentation clinique. Un traitement ambulatoire peut être envisagé en absence de signe de gravité associant une antibiothérapie locale probabiliste et un suivi ambulatoire rapproché. Dans le cas contraire, des prélèvements à visée microbiologique sont indispensables avant l'introduction d'un traitement anti-infectieux renforcé dans le cadre d'une prise en charge hospitalière (Bourcier et Labetoulle,2015).

L'implication des biofilms dans l'infection bactérienne chez l'homme est estimée à un taux de 65% incluant, les kératites infectieuses qui constituent, une préoccupation majeure de santé pour les millions de porteurs de lentilles de contact (LC), ainsi que pour leurs ophtalmologistes. En effet, souvent délivrées sans contrôle ophtalmologique chez des patients mal informés, le port de LC pose un risque important d'infection cornéenne (Bourcier *et al.*, 2003), et cela bien évidemment, est dû au non-respect des mesures d'hygiène, lors de la pose et du retrait des lentilles de contact, l'ensemble des critères d'hygiène se sont avérés être des facteurs protecteurs de KI (Loretta *et al.*, 2010 ; Becmeur *et al.*, 2016), puisque ces dispositifs médicaux offrent une surface sur laquelle les bactéries peuvent se fixer et former des biofilms (Zegans *et al.*,2002), et par conséquent assurer la présence ou le transfert de microorganismes de la lentille à la surface oculaire. Par le biais de cette fixation, les bactéries échappent aux mécanismes de défiance de l'œil, et peuvent provoquer d'autres complications comme la kératopathie infectieuse cristalline, une forme rare de kératite microbienne (Garcia *et al.*,2000).

Dans ce sens, l'objectif de notre travail est :

- ✓ L'isolement et identification des bactéries responsable de la kératite infectieuse à partir des lentilles de contact et leurs boîtiers.

- ✓ L'étude du profil de résistance aux antibiotiques des germes identifiés et leur capacité de former un biofilm.

Synthèse

Bibliographique

1. La surface oculaire

L'œil est un organe complexe doté d'une structure tissulaire hautement spécialisée (Li *et al.*, 2019), avec une surface présentant une composante extraordinaire et vitale de la vision. En effet, la surface lisse de la cornée est la principale surface de réfraction du système visuel qui, associée à la transparence, permet à la lumière de passer à travers la lentille et sur la rétine pour l'activation des photorécepteurs (Gipson, 2007). Ce système de surface oculaire comprend des tissus dont la cornée, le limbe cornéen, la conjonctive, les vaisseaux sanguins conjonctivaux, et les paupières, ainsi que la machinerie sécrétant des larmes englobant les glandes lacrymales principales et accessoires, les glandes de Meibomius, le gobelet conjonctival et les cellules épithéliales (Beuerman *et al.*, 2004).

1.1 Anatomie et physiologie de la surface de cornée

Le film lacrymal pré-cornéen et la cornée fournissent le premier élément réfractif de l'œil. Le film lacrymal est par conséquent, l'interface entre l'œil et le monde extérieur (Creuzot *et al.*, 2006). Constitué d'un volume de 7 à 9 μL , et d'une épaisseur de 30 à 40 μm (Labbe, 2007 ; Prydal *et al.*, 1992), il est composé de 3 couches dont la couche mucinique, la couche aqueuse, et la couche lipidique, possédants chacune des fonctions bien définies (Hoang-Xuan *et al.*, 2001).

La cornée est quant à elle, un tissu transparent situé à la face antérieure du globe oculaire constituée de 5 couches différentes : l'épithélium qui est la première barrière à l'environnement extérieur (Allouch *et al.*, 2011 ; Farjo *et al.*, 2008), la couche de Bowman qui aide la cornée à maintenir sa forme, le stroma constituant la majeure partie de la cornée réduisant la lumière et contribuant à la transparence et à la résistance mécanique de la cornée, (Boote *et al.*, 2010), et la membrane de Descemet qui est la lame basale de l'endothélium cornéen, empêchent la pénétration de l'eau dans le stroma (Gipson et Joyce, 2008 ; Beebe et Coats, 2000).

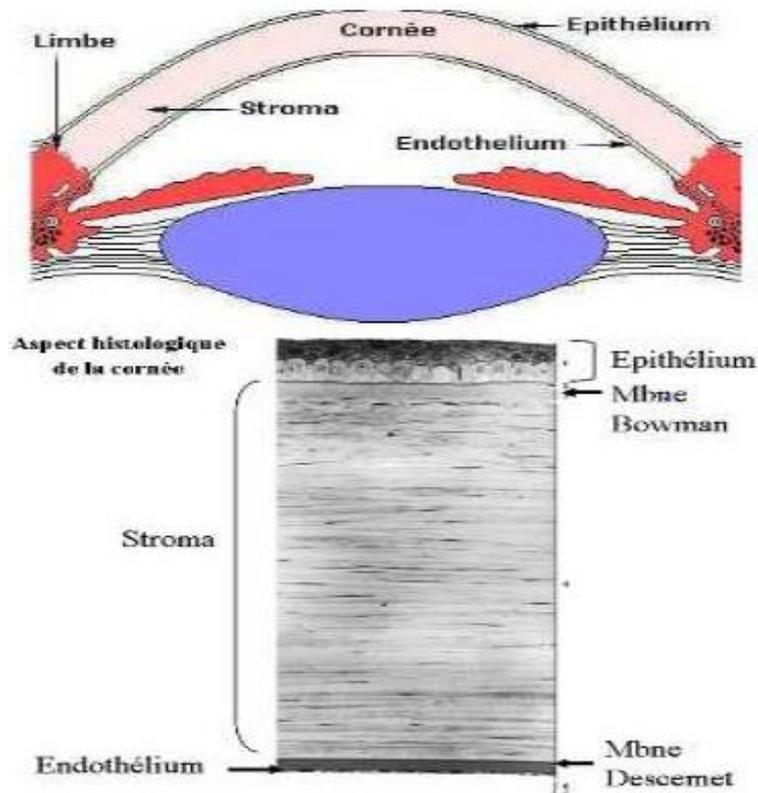


Figure 1 : Anatomie de la cornée (Boro, 2014).

1.2 Les propriétés défensives de la cornée

Les propriétés défensives de la cornée sont attribuées à son film lacrymal. En effet, le film lacrymal permet d'humidifier la surface oculaire, de la nettoyer et d'apporter une protection contre les blessures et les infections (Philippe *et al.*, 2018). Cette propriété est due à la concentration des protéines antimicrobiennes tel que les lactoferrines et les lysozymes qui réagissant à la paroi des bactéries à Gram positif (Zhou *et al.*, 2012). Des glycoprotéines notamment les immunoglobulines comme les IgA qui assurent la capture et la destruction des bactéries et des virus par agglutination, neutralisation et lyse, sont également impliquées (Negar *et al.*, 2015 ; Brooks et Ollivier, 2004). Les deux couches muqueuse et lipidique participent aussi à la stabilité du film lacrymal (Montés *et al.*, 2005). En effet, la couche lipidique superficielle retarde l'évaporation des larmes, afin de maintenir l'équilibre du film lacrymal permettant sa stabilité face à la contamination par des corps étrangers et des micro-organismes (Knop *et al.*, 2011 ; Renier, 2008). Quant à la couche muqueuse, celle-ci rend les membranes des cellules épithéliales hydrophiles (Gipson et Argüeso, 2003), alors que les mucines qui consistent en un squelette protéique riche en sérines et en thréonines, ont une propriété antifongique et un rôle probable de barrière face aux pathogènes (Tableau 1) (Knop, 2010 ; Niv et Boltin, 2012 ; Labbé *et al.*, 2007).

Tableau 1 : Origine , composition et rôle du film lacrymal (Goldschmit *et al.*,2011).

Film lacrymal	Origine	Composition	Fonction
Couche liquide	Glandes de meibomius Glandes de Zeiss	Cholestérol	Lubrification Prévention de l'évaporation
Couche aqueuse	Glandes de meibomius Glandes de Zeiss	Eau,électrolytes. Protéines. Cytokines. Facteur de croissance Glucose et vitamine.	Lubrification . Antimicrobien. Bactériostatique . Supplémentation en oxygène en nutriments . Nettoyage mécanique. Régulation des fonctions cellulaires.
Couche mucineuse	Cellules caliciformes conjonctivales, cellules épithéliales cornéennes	Sulfomucine Cyalomucine	Diminution de la tension de surface . Stabilisation de la couche aqueuse .

1.3 Microbiologie de la surface oculaire

L'œil héberge des bactéries depuis la naissance jusqu'à la fin de la vie (Karthika et Neelima,2014). La surface oculaire est un tissu muqueux qui se trouve à l'interface entre l'environnement et le système immunitaire de l'hôte. Elle est donc continuellement exposée à des microbes tels que des champignons, des virus et des bactéries, (Leger *et al.*, 2017), qui sont l'origine de la flore bactérienne commensale de la surface cornéo-conjonctivale. Elle ne pénètre pas l'épithélium cornéen sain, mais empêche l'implantation d'autres bactéries pathogènes.

Comme dans d'autres sites corporels, le microbiote oculaire devrait jouer un rôle défensif contre la colonisation des agents pathogènes dans l'œil (Bonini *et al.*, 2005). Ce microbiote est constitué de coques et de bâtonnets Gram positif telles que des *Staphylocoques*, des *Streptocoques*, des *Corynébactéries*, des *Bacilles*, des *Streptomyces*... et éventuellement, de quelques Gram négatif, comme les *Pseudomonas spp*, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Acinetobacter sp*, ou encore *Enterobacter spp*. Ces dernières bactéries sont beaucoup moins fréquemment retrouvées sur des cornées saines (Lily et Madhavan,2004).

Les fungi ne sont pas rares non plus, citons par exemple *Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, *Cladosporidium spp.*, *Alternaria spp.*, ou *Absidia spp*.

Cette gamme de microorganismes peut cependant varier selon les individus en ce qui concerne la constitution génétique, la nutrition, l'âge, le sexe, la race, l'immunosuppression, l'inflammation et la sécheresse oculaire, le port de lentilles cornéennes, l'utilisation d'antibiotiques, la chirurgie, et la géographie (Sthapit et Tuladhar, 2014), en plus de l'exposition environnementale et des comportements sensibles d'affecter le microbiome de la surface oculaire. (Cope *et al.*, 2014). De ce fait, ces microorganismes peuvent devenir des bactéries pathogènes opportunistes, Comme pour les *staphylocoques* à coagulase négative qui sont les bactéries les plus couramment isolées de la conjonctive et du bord de la paupière (Upadhyay *et al.*, 2001 ; Ratnumnoi *et al.*, 2017).

2. Les kératites infectieuses

Les kératites représentent l'atteinte de l'épithélium cornéenne, qui peut être le siège d'une inflammation (kératite) avec ou sans composante infectieuse (Shah *et al.*, 2011 ; Flamant, 2002). Elles restent une cause importante de cécité dans le monde et représentent un problème de santé publique difficile. À cet égard, la kératite microbienne due à une infection fongique, bactérienne ou virale peut entraîner une perte de vision importante due à une cicatrisation cornéenne ou à une irrégularité de surface. Il peut en résulter une perforation de la cornée (Hazlett *et al.*, 2017).

Une kératite est une urgence diagnostique et thérapeutique, les signes fonctionnels sont variables. Les plus fréquemment rencontrés sont : Un œil rouge douloureux avec baisse de l'acuité visuelle, larmoiements, photophobie, et blépharospasme (Rais *et al.*, 2005 ; Turut et Blin, 2001).

2.1 La survenue de la kératite

La survenue d'une kératite bactérienne implique l'altération d'un ou de plusieurs système(s) de défense de la cornée (barrière épithéliale, film lacrymal) ou de la conjonctive (Boro, 2014).

Une effraction de l'épithélium cornéen affaiblie la propriété défensive cornéenne. En effet, les bactéries occasionnent la fragilité des barrières anatomiques cornéennes (Wong *et al.*, 2012), ce qui constitue l'un des facteurs de l'adhésion bactérienne à la surface celle-ci, l'épithélium cornéen intact peut être traverser directement par certaines bactéries particulièrement virulentes et disposant d'enzymes spécialisées, produisent au cours la multiplication bactérienne (Moufaddal, 2019), ce qui rend possible sa migration progressive

vers les cellules profondes. Cette invasion bactérienne induit une réponse inflammatoire de l'hôte à la fois cellulaire (cellules de Langerhans, lymphocytes, polynucléaires) conduisant à une destruction tissulaire (figure 2) (Seal et Pleyer, 2007).

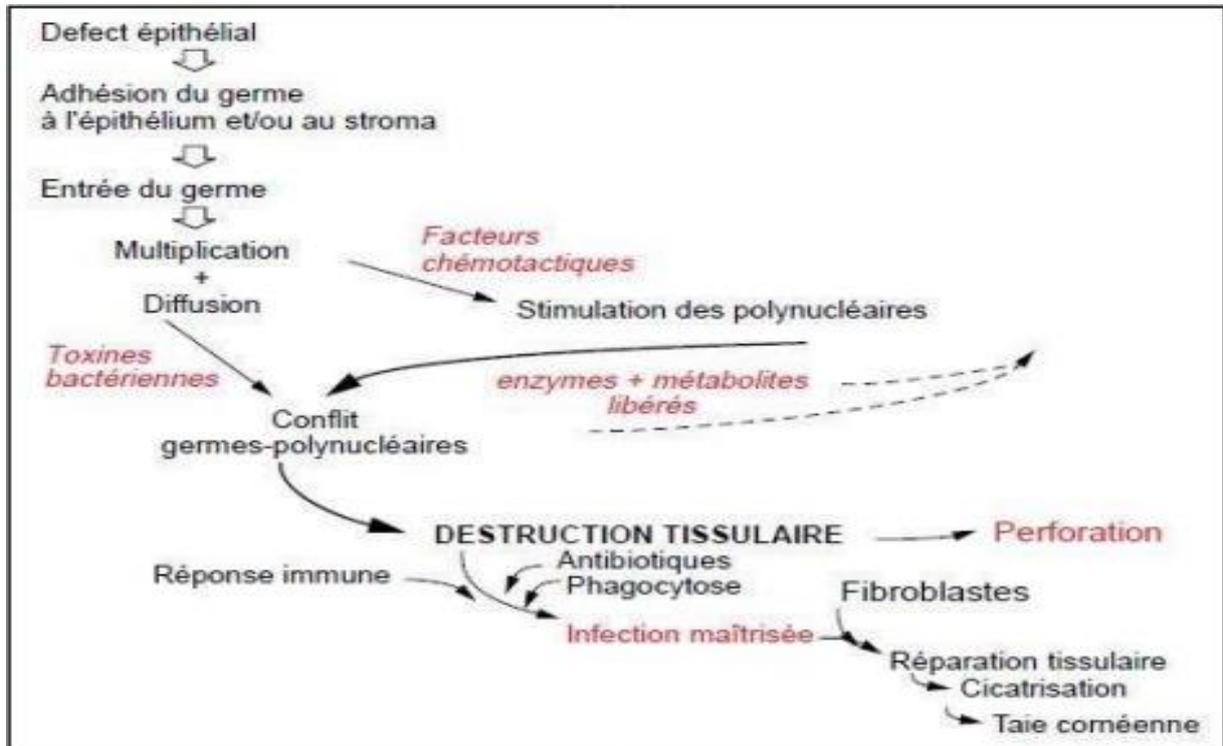


Figure 2 : Différentes étapes pathogéniques de l'infection cornéenne bactérienne (moufaddal, 2019).

2.2 Les différents types de kératites microbiennes

2.2.1 La kératite bactérienne

La kératite bactérienne est le type le plus courant de kératite infectieuse et représente environ 65% à 90% de toutes les kératites microbiennes (Shah *et al.*, 2011 ; Keay *et al.*, 2006). La kératite bactérienne est une infection cornéenne agressive qui, sans traitement rapide et efficace, peut entraîner des complications dévastatrices, tel qu'une perforation de la cornée et la cécité (Karsten *et al.*, 2016 ; Clemens *et al.*, 2017). La kératite bactérienne peut conduire à un amincissement du stroma secondaire, à la destruction de la matrice extracellulaire par l'élaboration de protéases dégradables, comme les métalloprotéinases matricielles (MMP), les collagénases, les gélatinases et les stromélysines. L'inhibition des MMP peut de ce fait être utile dans la prévention de la destruction du stroma (Dakhil *et al.*, 2017).

Les bactéries responsables de kératite bactérienne peuvent être divisées en deux grands groupes :

- Les bactéries pénétrant dans l'épithélium intact qui regroupent :

Les diplocoques intracellulaires à Gram négatif *Neisseria gonorrhoeae*, qui peut provoquer une kératite ulcéreuse rapide et grave, pouvant entraîner une perforation de la cornée et une perte de vision (Kawashima *et al.*, 2009), en causant un infiltrat sous-épithélial et / ou stromaux et un œdème discret de l'ensemble de la cornée (Takashi *et al.*, 2013) ; l'espèce *Haemophilus influenzae*, un coccobacille fastidieux à Gram négatif, qui est aussi une cause d'ulcération de la cornée mais rare (Yoder *et al.*, 2004), puisque sont principaux facteurs de risque est le port de lentilles cornéennes (Armstrong *et al.*, 1984). Le genre *Corynebacterium spp* et *listiria monocytogenes* sont également associés aux infections oculaires tels que les conjonctivites (Giammanco *et al.*, 2002), les endophtalmies (Ferrer *et al.*, 2004 ; Nouri *et al.*, 2001), ou encore la kératite (Suzuki *et al.*, 2007 ; Schaefer *et al.*, 2001).

- Les bactéries opportunistes qui regroupent principalement :

Les bactéries commensales faisant partie de la microbiologie oculaire, et qui ont la particularité d'être responsables de la kératite dans le cas d'un traumatisme oculaire. Les espèces du genre *Pseudomonas* font partie de ces agents pathogènes opportunistes (Traidej *et al.*, 2003), dont *P. aeruginosa*, l'agents le plus destructeur des yeux et l'une des principales causes de kératite bactérienne chez les porteurs des lentilles cornéennes et les personnes souffrant de lésions oculaires (Thibodeaux *et al.*, 2007). L'espèce *Streptococcus pneumoniae* est aussi considérée comme l'un des principaux agents pathogènes oculaires susceptibles de provoquer une kératite (Han *et al.*, 1996). Enfin, des infections oculaires mycobactériennes non tuberculeuses ou atypiques, ont été signalées pour la première fois dans un cas de kératite   *Mycobacteria fortuitum* par Turner et Stinson en 1965 (Kheir *et al.*, 2015). Un traumatisme oculaire pénétrant ou une intervention chirurgicale peut introduire à ce type d'infection, la coexistence d'un corps étranger ou d'un biomatériau, ainsi que l'exposition à de l'eau contaminée et l'immunosuppression locale ou systémique de l'hôte, d'une intervention chirurgicale, ou aussi la coexistence d'un corps étranger (Tableau 2) (Hsiao-sang *et al.*, 2015).

Tableau 2 : Principales bactéries isolées dans les kératites (Bourcier *et al.*, 2013).

Bactéries	Aérobies	Anaérobies
Cocci à Gram positif	<i>Staphylococcus</i> : - <i>aureus</i> . - <i>epidermidis</i> et a coagulase négative. <i>Micrococcus</i>. <i>Streptococcus</i> : - <i>streptococcus</i> . -autres <i>streptococcus</i> oraux <i>enterococcus</i>	<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>
Cocci à Gram négatif	<i>Branhamella</i> <i>Neisseria</i> : - <i>gonorrhoeae</i> - <i>meningitidis</i>	<i>Veillonella</i>
Bacilles à Gram positif	<i>Bacillus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Listeria</i>	Propionibacterium Actinomyces Clostridium
Bacilles à Gram négatif	<i>Pseudomonas</i> : - <i>aeruginosa</i> - <i>Stenotrophomonas</i> <i>Burckholderia</i> <i>Enterobacteriaceae</i> - <i>Klebsiella</i> - <i>Enterobacter</i> - <i>Serratia</i> - <i>Proteus</i> - <i>Escherichia</i> - <i>Citrobacter</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Haemophilus</i>	Fusobacterium Bacteroides Capnocytophage

2.2.2 Les kératites amibiennes

Les kératites amibiennes sont dues à de petits protozoaires omniprésents dans l'environnement (sol, air, eau des réseaux de distribution, eau des piscines, eau de mer...) précisément les *Acanthamoeba*. Les kératites amibiennes ont été décrites pour la première fois par Jones en 1973 au Sud du Texas (Chaumeil et Malet, 2009 ; Dyavaiah *et al.*, 2015). Elles représentent une cause rare d'infection cornéenne même si son incidence en croissance depuis les années 1980-1990, allant de pair avec l'utilisation des lentilles de contact, principal facteur

de risque dans les pays développés. La kératite amibienne peut entraîner de très lourdes séquelles visuelles, ce qui rend impératif, comme pour toutes les kératites infectieuses, un diagnostic précoce et un traitement adapté (Bouheraoua *et al.*, 2014).

2.2.3 Les Kératites fongiques

Les kératites fongiques ou kératomycoses sont des infections cornéennes dues à des champignons filamenteux ou à des levures (Benadada, 2017). Elles représentent environ 1 à 44% de tous les cas de kératite microbienne (Gower *et al.*, 2010). Les genres qui causent généralement une infection de la cornée comprennent *Fusarium*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Bipolaris* et *Candida* (Revankar et Sutton, 2010). On retrouve ces germes essentiellement dans l'environnement extérieur (sol, terre, plantes, nourriture,) mais certains comme les *Candida* sont saprophytes du tube digestif (Zhong *et al.*, 2009).

2.2.4 Les Kératites virales

La kératite virale est une autre forme de kératite provoquée par un virus tel que l'adénovirus, qui constitue un virus endémique, très contagieux, provoquant le plus souvent une kératite très grave (Ezzahraoui, 2013). Cependant, les kératites virales sont plus souvent dues au virus de l'herpès simplex (Bourcier *et al.*, 2004), HSV qui est un membre de la famille des *Herpesviridae*.

3. Les facteurs de risque des kératites infectieuses

La kératite infectieuse peut toucher toutes les classes d'âges, y compris les adultes jeunes. Il est en effet reconnu que le principal facteur est le port de lentilles de contact, alors qu'il s'agit des traumatismes oculaires dans les zones rurales et les pays en voie de développement (Fong *et al.*, 2004). Mouvement actif de la tête peut augmenter l'exposition des cornées aux microbes (Takaaki *et al.*, 2016).

3.1 Les facteurs intrinsèques

La kératite qui est une inflammation de la cornée peut avoir différentes origines. Elle peut être fréquemment due à un traumatisme physique ou par un agent chimique (acides ou de bases) provoquant ainsi des blessures, des ulcères et des infections de la cornée (Zech et Trepsat, 2001). Cet incident survient dans le cadre d'un accident de travail, de bricolage, de jeu, de rixe, de sport, ou de violence (Florian et Philippe, 2008). Autres différents terrains peuvent favoriser les kératites comme une baisse de l'immunité de l'hôte comme chez les patients diabétiques par exemple qui présente un épithélium cornéen fragile avec des érosions

cornéennes ou des ulcérations (Tavakoli *et al.*, 2007), ou encore une sécheresse de la surface oculaire qui constitue un facteur de risque d'infection de la surface oculaire (Narayanan *et al.*, 2014). Enfin, un usage inapproprié des collyres antibiotiques ou à base de corticoïdes, et la chirurgie ou la greffe oculaire constituent également d'autres facteurs de risque (Tableau 3) (He *et al.*, 2011).

Tableau 3 : Facteurs prédisposants à la kératite microbienne 426 patients (Tzu-Yu *et al.*, 2015).

Facteurs prédisposants	2003-2007 n%	2008-2012 n%
<u>Lentille de contact :</u>	70	64
LC souple	64	60
Orthokératologie	06	04
<u>Traumatisme :</u>	52	48
Le fer	07	09
Plante	11	13
Bois	00	03
Sable / boue	02	03
Chimique	01	03
Source non identifiée	31	17
<u>Maladie oculaire et systémique :</u>	80	32
Erosion cornéenne récurrente	11	05
Glaucome	07	04
Le trichiasis	07	04
Brun chimique	02	02
Œil sec	16	04
Lagophtalmie	12	04
La kératite herpétique	08	03
Kératoplastie bulleuse	00	01
Diabète	10	02
	07	03
<u>Chirurgie oculaire précédente :</u>	35	19
<u>Plusieurs facteurs :</u>	8	18

3.2 Les facteurs extrinsèques : Le port de lentille de contact

On estime à 140 millions le nombre de personnes dans le monde qui portent des lentilles de contact (Stapleton *et al.*, 2007). Ce sont des dispositifs médicaux optiques qui, posés à la surface de l'œil, améliorent la qualité de vue non seulement en corrigeant les défauts visuels ou

les anomalies de l'œil, mais également en améliorant l'apparence, leurs avantages esthétiques par rapport aux lunettes (Berthélémy, 2015 ; Porisch, 2007).

Malgré ces avantages, leur utilisation pose un risque important d'infection cornéenne (Killpartrick, 2016 ; Willcox, 2013). À mesure que les lentilles de contact sont placées sur la surface oculaire, elles accumulent les composants lacrymaux, y compris les protéines, les lipides et les mucines (Berry *et al.*, 2008) ce qui est vu de manière négative puisque ces dépôts délétères, les lentilles de contact (Brennan et Coles, 2000).

3.2.1 Action des lentilles sur la surface oculaire

La lentille de contact est un vecteur de transfert des germes à la surface oculaire, sachant précisément que les micro-organismes pathogènes présents chez les porteurs de lentilles sont différents de ceux présents chez les non-porteurs (Szczołka *et al.*, 2010).

De plus les lentilles de contact ont un impact direct sur la surface oculaire favorisant également la survenue de kératite, puisque ces derniers peuvent entraîner de l'hypoxie chronique ce qui provoque des modifications de l'épithélium cornéen, tel que l'amincissement (Roth *et al.*, 2005). Toutes les lentilles cornéennes ralentissent également le cycle de renouvellement des cellules épithéliales de la cornée, en ralentissant la prolifération des cellules épithéliales, en provoquant une migration et une diminution du taux d'exfoliation (Ladage *et al.*, 2003).

3.2.2 Contamination des lentilles de contact par adhésion bactériennes

Les lentilles de contact sont plus susceptibles aux infections (Fleiszig et Evans, 2010), en neutralisant le mécanisme de défense de la cornée et en augmentant la vitesse à laquelle les agents pathogènes adhèrent à la surface oculaire, permettant la progression vers la kératite microbienne (Chawla *et al.*, 2010). La kératite microbienne et l'inflammation sont précédées par la présence de micro-organismes à la fois de la lentille et des étuis à la surface oculaire, qu'il soit pathogène ou non pathogène (Liaqat *et al.*, 2018).

La contamination généralisée des LC et des cas de stockage ouvre de ce fait la voie aux conséquences potentiellement dévastatrices de la kératite microbienne et inflammatoire.

Ainsi, la prévention de la contamination microbienne des lentilles et des boîtiers est souhaitable même pour les patients conformes qui utilisent des systèmes de soins modernes (Behlau et Gilmore, 2008).

Le biomatériau de lentille agit comme un vecteur d'adhérence microbienne et de transfert ultérieur à la surface oculaire (Pens *et al.*, 2008 ; Chaudhry *et al.*, 2011). En effet,

l'utilisation prolongée des lentilles de contact est le facteur du développement de biofilms à la surface de ces dernières (Willcox, 2013).

P. aeruginosa et de nombreuses autres espèces bactériennes tel que *Staphylococcus epidermidis* peuvent former des biofilms sur les lentilles de contact ou dans les étuis de lentilles (Garcia-Saenz *et al.*, 2002 ; Robertson *et al.*, 2011). Ces bactéries peuvent provoquer des infections oculaires telles que la blépharite chronique, la conjonctivite, l'endophtalmie et la kératite (Nayak *et al.*, 2011).

Les biofilms sont des agrégats de microbes associés à la surface qui sont très tolérants aux antimicrobiens et au système immunitaire, et qui sont souvent intégrés dans une matrice extracellulaire composée d'exopolysaccharide (un polysaccharide collant excrété par les bactéries) (Zegans *et al.*, 2005 ; Vuong *et al.*, 2004).

Les biofilms offrirait non seulement un avantage de survie, mais aussi une opportunité pour les bactéries d'adapter l'expression de leurs gènes afin d'exprimer des phénotypes plus adaptés à l'environnement oculaire dominant. En effet, les biofilms transférés à partir des yeux de rongeurs infectés induisent une kératite plus rapidement que les bactéries initialement inoculées (Tam *et al.*, 2010).

Les biofilms oculaires sont responsables d'une forme de kératite appelée kératite cristalline infectieuse, qui consiste en une infection cornéenne à progression lente caractérisée par des opacités ramifiées, blanc grisâtre, en forme d'aiguille dans le stroma cornéen, accompagnées du segment antérieur. Elle est caractérisée par une infiltration en forme d'aiguille à tous les niveaux du stroma cornéen (Sharma *et al.*, 2000). Les dépôts cristallins sont composés de bactéries s'agglomérant et s'étalant au sein des lamelles du stroma cornéen, leurs enveloppements dans un biofilm les isolent du système immunitaire (Masselos *et al.*, 2009).

4. Traitements des kératites bactériennes

La kératite microbienne est une maladie potentiellement aveugle qui doit être traitée de façon urgente pour préserver la vue. Bien que reconnu depuis longtemps comme une cause importante de cécité cornéenne (Ung *et al.*, 2018). Un diagnostic correct de la kératite est essentiel pour déterminer le traitement et la résolution de l'infection. (Chang et Chodosh, 2011). En plus, le contrôle des infections bactériennes est essentiel pour réduire le coût des soins de santé associés à une incidence et à une prévalence élevée de la KB dans le monde.

4.1 Traitement médical

• Collyres antibiotiques

Les collyres fortifiés antibiotiques sont des collyres fabriqués à partir d'antibiotique commercialisé en poudre, en lyophilisat ou sous forme de solution injectable (Chiquet et Romanet, 2007).

Collyres et pommades antibiotiques à usage ophtalmologique disponibles en France en officine, en 2014, sont les Macrolides, l'Azythromycine (Azyter 15mg/g), la Fluoroquinolones, la Norfloxacin (Chibroxine 0,3 % collyre), la Ciprofloxacine (Ciloxan 0,3 % collyre / pommade), l'Ofloxacine (Exocine 0,3 % collyre, la Monoox 1,5 % mg/0,5 ml, Quinofree 1,5 % mg/0,5 ml), la Moxifloxacine (Vigamox 0,5), l'Aminoside, la Gentamicine (Gentalline 0,3 % collyre), la Tobramycine (Tobrabact 0,3 %, la Tobrex 0,3 % collyre / pommade) (Debellemanière et Saleh, 2015).

4.2 Traitements adjuvants

Ce sont des nanoparticules d'argent coiffées à la gélatine est préparé par simple mélange de nitrate d'argent, de maltose et de gélatine (Luo *et al.*, 2018), elle peut être utile dans les infections évolutives ou en cas de mauvaise observance des collyres (Bourcier *et al.*, 2013).

En effet, ces adjuvant sont utilisés lorsque l'efficacité des traitements est très limitée en raison de la faible pénétration intravitréenne des antibiotiques à travers les barrières oculaires à partir de la surface de l'œil, ou en cas de la kératopathie cristalline infectieuse (Porter *et al.*, 2018) où le biofilm protecteur aurait nécessité l'application de traitements antibiotiques prolongés (Al-Amry *et al.*, 2017).

En cas de sécrétion des enzymes, telles que les collagénases et les métalloprotéinases matricielles, qui interviennent dans la dégradation des protéines et la kératolyse, pour réduire l'incidence des complications par pénétration thérapeutique. Les tétracyclines inhibent la collagénase et ont une activité anti-métalloprotéinase (Dursun *et al.*, 2001).

Autre option thérapeutique Corticoïdes est cependant controversée en raison de l'immunosuppression qu'elle induit mais améliorent les résultats en diminuant l'inflammation, réduisant ainsi les cicatrices, la néovascularisation et la fusion stromale (Hindman *et al.*, 2009).

Matériel
ET
Méthodes

1. Lieu d'étude

Cette étude a été réalisée au laboratoire privé d'analyse médicale L'AZIZA. Un laboratoire constitué de 5 unités (Bactériologie, Biochimie, Hématologie, Parasitologie, Sérologie)

2. Prélèvement

Durant une période de 1 mois du 01 février 2019 au 01 mars 2019, six patients atteints de kératite infectieuse ont pu être diagnostiqués au sein de la clinique ophtalmologique « LAZOUNI » de Tlemcen.

Les lentilles caractéristiques de l'œil infectée ont été récupérées de façon aseptique dans leurs étuis appropriés puis acheminés au laboratoire pour être analysés. Parallèlement, d'autres prélèvements de LC ont été effectués chez 3 personnes volontaires ne présentant aucune infection oculaire, l'analyse bactériologique a concerné les lentilles de contact ainsi que les boîtiers de conservation.

3. Ensemencement des prélèvements

Les lentilles de contact récupérées, sont introduites dans des tubes contenant 5 mL de bouillon nutritif (Annex 1), les étuis sont également remplis avec 3mL de bouillon nutritif, bien scellés puis incubés pendant 24h à 37 C°.

Après un temps d'enrichissement de 24 heures, 0,1 mL de chaque prélèvement sont ensemencés sur différents milieux sélectifs ; le premier milieu étant le Mac-Conkey, sélectif pour les bactéries Gram négatif, grâce à l'action inhibitrice des sels biliaires et du cristal violet qui inhibe la croissance des bactéries Gram positif. Le second milieu étant le milieu Chapman-mannitol, qui permet la croissance des germes halophiles, parmi lesquels figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, grâce à la présence du mannitol et d'une concentration élevée de NaCl et le troisième milieu étant gélose au sang, permettent de libérer des facteurs de croissance supplémentaires, et de détecter les réactions hémolytiques de nombreuses espèces pathogènes (Annexe 2).

4. L'identification bactérienne

Après incubation des milieux sélectifs ensemencés, Les colonies sont repérées selon leurs aspects morphologiques puis elles sont isolées et purifiées sur les mêmes milieux jusqu'à l'obtention de colonies pures qui seront identifiées par les méthodes conventionnelles de microbiologie :

- **Etude macroscopique**

Cette étude est basée essentiellement sur l'observation macroscopique des colonies directe à l'œil nu ou par une loupe binoculaire. Elle permet de décrire la taille, l'aspect, la couleur, la consistance, le contour, l'opacité, et la forme des colonies obtenues (Denis *et al.*,2007) (Annexe 3).

- **Etude microscopique par coloration de Gram**

Etude microscopique constitue la coloration de base en bactériologie, puisqu'elle permet une classification des bactéries selon leur structure, leur forme, leur regroupement et leur Gram (Berrada, 2016).

Un frotti bactérien est réalisé en étalant quelques colonies pures à la surface d'une lame au contact d'une goutte d'eau distillée stérile. Les lames sont ensuite fixées à la chaleur et soumises à une coloration par le violet de gentiane pendant 30 secondes, puis à une fixation de la coloration par lugol pendant une minute. Enfin une décoloration par l'alcool suivie d'une nouvelle coloration par la fushine est appliquée pendant une minute chacune.

L'observation microscopique laisse apparaitre des bactéries Gram (+) colorées en violet et des bactéries Gram (-) colorées en rose.

- **Identification par la galerie API 20E**

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif, elle comprend 20 tests biochimiques miniaturisés contenant un milieu réactionnel déshydraté. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif.

La préparation de la galerie se fait en incubation. Une petite quantité d'eau est répartie dans les alvéoles du fond afin de créer une atmosphère humide, la galerie est ensuite déposée de façon stérile dans la boîte d'incubation.

Parallèlement, une suspension bactérienne est préparée en dissociant 2 à 3 colonies dans 5 ml d'eau physiologique. Après ensemencement des 20 tests, la galerie est couverte puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 h. L'interprétation des résultats s'effectue en se référant au tableau de lecture (Annexe 4).

- **Test de catalase**

Ce test est appliqué pour les cocci Gram positif, il permet de différencier entre les *Streptococcus*, les *Micrococcus* et les *Staphylococcus* (Jaouhar, 2017).

Sur lame et à partir de la culture de cocci Gram positif purifiée, une ou deux colonies sont mises au contact d'une goutte d'eau oxygénée à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Une réaction positive se traduit par un dégagement gazeux d'oxygène suite à l'élimination du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



- **Test de coagulase :**

Le plasma de lapin est un milieu idéal pour la recherche de la coagulase libre de *Staphylococcus aureus*, sa production permet de différencier les souches de *Staphylococcus aureus* des autres souches Staphylococciques (*epidermis...*), puisqu'elles provoquent une coagulation du plasma (Joffin et Leyral, 2001) le plus souvent au cours des 3 premières heures.

La détection de coagulase s'effectue en mélangeant dans un tube à hémolyse 0.5 mL de plasma humain et 0.5 mL d'une culture de 24 h en bouillon, le mélange est placé à l'étuve à 37°C, et est incubé pendant 24 heures. Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum (Afissa, 2014).

- **Conservation des souches**

Les isolats purs sont conservés à 4 °C dans des tubes de gélose nutritive inclinés afin de placer les bactéries dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue.

5. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

Une suspension bactérienne préalablement préparée et incubée à 37°C pendant 24h, est ajustée à une DO 625 nm comprise entre 0.08 et 0,1 ce qui correspond à une charge bactérienne de 10⁸ UFC/mL. Après une dilution au 1/100 gram négatif et 1/10 pour les gram positif (≈10⁶ UFC/mL), l'ensemencement des boîtes de pétries contenant de la gélose Mueller Hinton est accompli par écouvillonnage.

L'interprétation des résultats est effectuée selon les normes et les recommandations du comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2018). Les disques antibiotiques testés (Bioanalyse) sont illustrés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.

N°	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Famille
1	Ciprofloxacine	CIP	05	Quinolones
2	Ceftazidime	CAZ	30	<u>bêta-lactamines</u>
3	Gentamicine	CN	10	<u>Aminoglycosides</u>
4	Tobramycine	TOB	10	Aminosides
5	Céfazoline	CZ	30	<u>bêta-lactamines</u>
6	Novobiocin	NV	30	Non classé

6. Evaluation de la formation de biofilm ; Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

La détermination quantitative de la formation de biofilm dans les microplaques à 96 puits est basée sur la mesure colorimétrique du cristal violet incorporé par cellules sessiles (Chavant *et al.*, 2006).

Les isolats ont été cultivées en milieu BHIB (Bouillon infusion cœur cerveau) (Annexe 2) et incubées 24h à 37°C. A partir de chaque culture jeune les puits d'une microplaque de 96 puits ont été inoculés avec 50 µl, chaque puits a été supplémenté de 150 µl de BHIB.

Un puit non inoculé est utilisé comme témoin négatif et le reste des puits sont inoculés horizontalement pour chaque isolat. Les microplaques sont recouvertes stérilement et incubées pendant 24h à 37°C.

Après l'incubation, la microplaque a été vidée délicatement, rincée 3 fois avec de l'eau distillée stérile séchées en position inversée. Le biofilm formé est ensuite coloré avec du cristal violet pendant 30 min d'incubation. L'excès du colorant a été éliminé par 5 lavages successifs. Le colorant incorporé par les cellules adhérentes a été solubilisé avec l'éthanol à 95%. La quantité de cristal violet solubilisé après 5 min a été mesuré par lecture de la densité optique à 630nm dans un lecteur de plaque ELISA. L'interprétation des résultats pour les Staphylocoques a été réalisées selon la classification de Mathur *et al.*, (2006) (Tableau 5), et selon Hassan *et al.*, (2011) (Tableau 6) pour les autres isolats.

Tableau 5 : Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP selon Mathur *et al.*, (2006).

Valeur DO	Formation de biofilm
<0,120	Faible
0,120-0,240	Modéré
>0,240	Forte

Tableau 6 : Dépistage de la formation de biofilm selon les critères d'Hassan *et al.*, (2011).

Valeur DO	Formation de biofilm
DO Témoin	Faible
2x DO > Témoin	Modéré
4x DO > Témoin	Forte

RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

1. Prélèvement

Un total de 12 lentilles de contact et 12 côtes d'étuis ont été prélevés durant notre étude. 6 lentilles de contact sont récoltées de volontaires sans aucun critère particulier, alors que les 6 autres lentilles sont récoltées de patient atteint de kératite avec un âge compris entre 14 et 59 ans et présentant des pathologies tels que le diabète, l'allergie, et l'hypertension artérielle (HTA) (Tableau 1).

Tableau 7 : Caractéristiques des patients et des volontaires.

Identifiant	Age	Sexe	Pathologie	Durée	Culture des LC	Culture des Boitiers
K1	14	Fille	Allergie	10 mois	+	-
K2	56	Homme	Diabète	06 mois	+	+
K3	27	Femme	Aucun	09 mois	+	+
K4	33	Homme	Aucun	12 mois	+	+
K5	42	Homme	Diabète	06 mois	+	-
K6	59	Femme	HTA	03 mois	+	+
V1G	34	Femme	Aucun	12 mois	+	+
V1D					+	+
V2 D	34	Femme	Aucun	6 mois	+	+
V2G					+	+
V3D	47	Homme	Aucun	6 mois	+	+
V3G					+	+

Selon Wang *et al* (2018), la cornée du diabétique présente des manifestations cliniques particulières, avec une sensibilité cornéenne réduite. En effet, les études d'Ancele (2008), confirment que l'immunodépression, tel que le diabète et la trisomie 21 sont des facteurs de risque généraux retrouvés avec un taux de 16 % des complications infectieuses, après le port de lentille de contact (48 %), et les traumatismes cornéen (17 %). De plus Becmeur en 2017 a retrouvé aussi que l'allergie constituait un facteur qui favorisait la survenu des kératites infectieuses et que le tabagisme actif ou passif, le travail sur écran, la climatisation, le

maquillage et la sensibilité à la pollution atmosphérique, est relié au risque de développement de KI sous lentilles de contact.

Le tableau 7 résume, les principales caractéristiques de nos patients, l'âge moyen était de 38,5 ans avec des extrêmes d'âge allant de 14 à 59 ans.

Une étude française étalée sur une période d'un an de 2007 à 2008, sur 86 abcès de cornée associés au port de LC a montré un âge moyen de 29,7 ans (Abry *et al.*, 2009). De même, des études similaires réalisées au Maroc ; l'une au CHU Casablanca en 2013 par Ben Hmidoune *et al.*, sur 51 patients hospitalisés entre 2009 et 2012, et l'autre au service d'Ophthalmologie B du CHU Rabat par Harchali *et al.* (2013) entre 2007 et 2012 sur 33 patients présentaient un âge moyen de 22 ans.

Dans notre étude 100% (N=12) des lentilles de contact prélevées présentent une culture positive, qu'ils soient prélevés de patients atteints de kératites ou non. Cependant, 10/ 12 des cotes d'étuis présentent une culture positive, contre 2 boîtiers présentant une culture négative (Tableau 2).

D'après Feys (2004), chacune des lentilles de contact présentant une culture positive est considérée comme un risque d'infection oculaire menaçant la fonction visuelle, et que les kératites bactériennes, surtout à germes à Gram négatif, sont favorisées par une mauvaise hygiène, une contamination des solutions d'entretien ou un port permanent. De plus, d'après Becmeur (2017), les patients qui ne renouvellent jamais leurs boîtiers sont aussi à risque d'avoir une KI sous lentilles. En effet, d'après une revue de Wu et Stapleton en 2015, la fréquence d'entretien du boîtier joue également un rôle dans l'apparition d'une pathologie infectieuse sous LC, puisqu'il suffira de seulement 15 jours d'utilisation du boîtier pour le contaminer de façon importante.

Nos résultats appuient ces propos puisque nos patients ont utilisé leurs LC plus d'une durée de 3 mois où ils n'ont jamais changé leurs boîtiers, à l'exception des patients K1 et K5 d'où les boîtiers étaient nouvellement changés, ce qui explique le résultat négatif.

2. Isolement et Identification

Sur les trois milieux sélectifs, les colonies ont été isolées et purifiées pour une éventuelle identification. Cette dernière est basée essentiellement sur des examens macroscopiques et microscopiques ainsi que l'identification biochimique.

Aucune colonie n'est apparue sur la gélose au sang, excluant l'existence de Streptocoque sur l'ensemble des prélèvements. Cependant, les colonies isolées sur le milieu Chapman

présentaient un aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus* de couleur blanche sans fermentation du mannitol (Figure 3 A).

L'examen microscopique par coloration de Gram a permis l'observation de cocci en grappe de raisin avec une paroi gram positif de couleur violette (Figure 4 A). Le teste de catalase vient confirmer cette identification avec un résultat positif. Cependant tous les isolats étaient négatifs pour le teste de coagulase, confirmant ainsi qu'aucune d'entre eux est l'espèce *Staphylococcus aureus* (Figure 5).

La colonie isolée sur milieu MacConkey spécifique pour les entérobactéries et les non entérobactéries suite à la présence de sels biliaire, sont d'aspect microscopique différents, (Figure 3 B). La galerie biochimique API 20^E a permis de mettre en évidence l'espèce *Pseudomonas fluorescens* (biotype 2200000), *Pseudomonas luteola* (biotype 3206002), et une *Acinetobacter baumannii* (biotype 0004042) (Tableau 8).

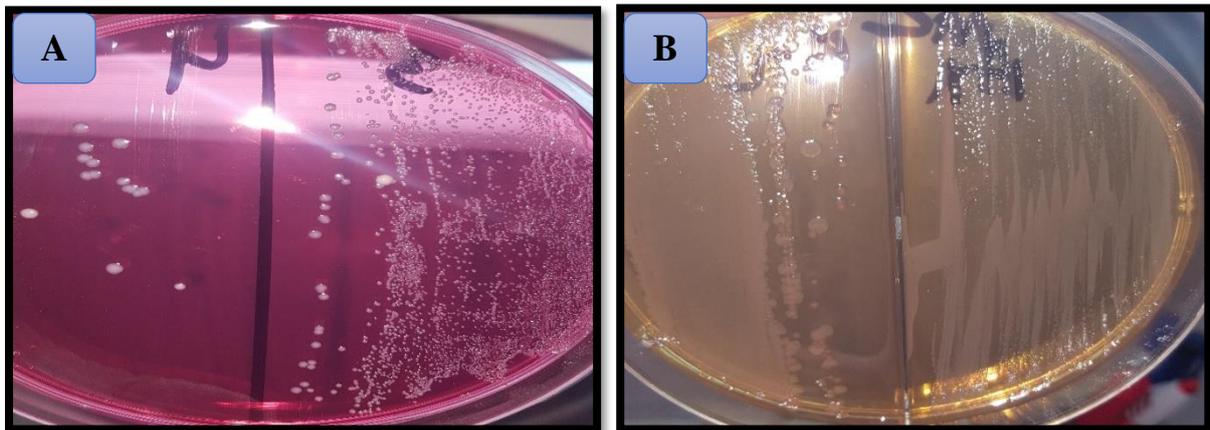


Figure 3 : Aspect phénotypique

A : Des *Staphylococcus* sur Chapman. **B** : Des Entérobactéries sur la gélose Mac Conkey

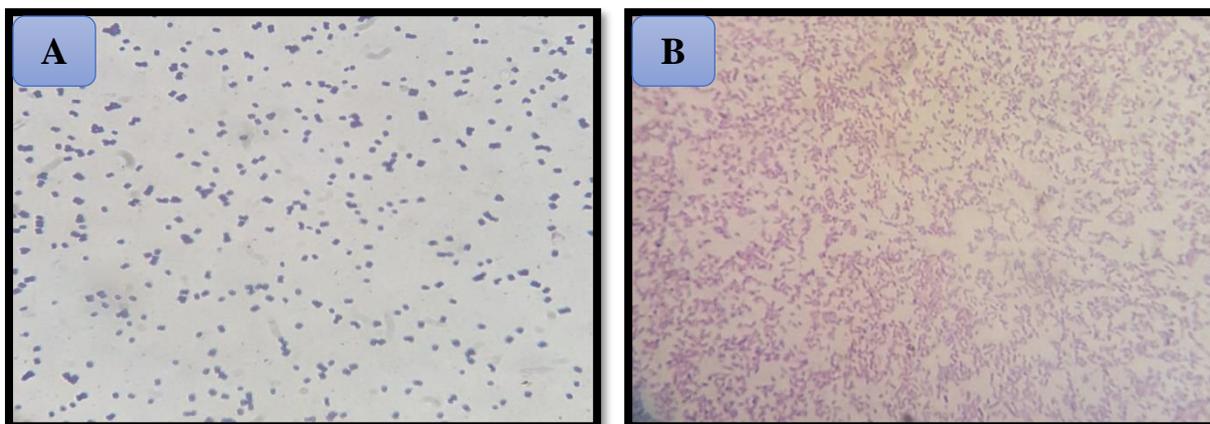


Figure 4 : Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100)

A : Les cocci Gram (+), **B** : Les bacilles Gram (-).

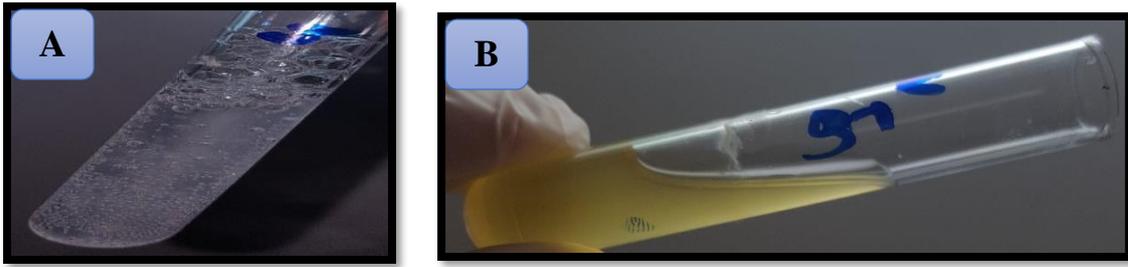


Figure 5 : Identification des Staphylocoques.

A : Résultat de test catalase, B : Résultat de test coagulase.

Tableau 8 : Résultat d'identification par la galerie Api 20 E des espèces isolées.

La souche	Identification par la galerie API 20	Biotype
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		2200000
<i>Pseudomonas luteola</i>		3206002
<i>Acinetobacter baumannii</i>		0004042

Sur l'ensemble des prélèvements un total de 28 isolats bactériens a été obtenu. Selon la figure 6, *Acinetobacter baumannii* est l'agent principal de la kératite infectieuse isolé de lentilles de nos patients (N =4 /9), suivi de près par les *Staphylocoques blanc* (N =3/9), les *Pseudomonas fluorescens* et *P. luteola* viennent en dernière position avec un seul isolat (N =1/9) (Annex 5).

Par ailleurs, les *Pseudomonas fluorescens* a marqué sa prédominance aux contaminations des lentilles de nos volontaires (N =5/6) suivit de *P.luteola* (N =1/6). Cependant aucun isolat d'*Acinetobacter baumannii* ou de *Staphylocoques*, n'a été obtenu.

La prédominance d'*Acinetobacter baumannii* sur les lentilles des patients atteints de kératite peut-être expliquée par le fait que cette espèce est présente sur les surfaces oculaires et peut-être capable de produire des réponses indésirables chez les porteurs de lentilles de contact à port prolongé, elle pourra avoir été transférée à l'œil par lentilles contaminer

probablement par les mains puisque ces espèces sont considérées comme un microbiote normal de la peau (Corrigan *et al.*,2001). De même, les Staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires, présent dans la flore résidente de la peau de l'homme, et est responsable des infections suppuratives très diverses superficielles ou profondes tels que les infections oculaires (Bergon, 2017). En effet, le taux de Staphylocoque isolée des prélèvements réalisés lors de kératite bactérienne en Europe sur 263 cas en Angleterre, 15 cas en France et 48 cas en Suède été en Portugal, a été de 14%, 26%, et 37%, et 14% respectivement, il vient aussi en dominance par rapport au *Pseudomonas* où le taux d'isolement était de 10% et 6% pour le reste des pays (Ezzahraoui, 2013).

Ce résultat concorde parfaitement avec notre étude cependant, les études de Fong *et al.*, réalisée au cours d'une période de 10 ans (1992–2001) au niveau de l'hôpital universitaire à Taiwan sur 467 patients atteints de kératite infectieuse, montre un taux d'isolement important des *Pseudomonas aeruginosa* avec un taux de 33.7 % et un faible taux d'isolement d'*Acinetobacter baumannii* avec 1.2% (Fong *et al.*,2004). En effet, les *Pseudomonas* peuvent survivre dans les microgouttelettes et peut demeurer longtemps en suspension dans des aérosols, d'où le risque de transmission par voie aérienne. Une des principales voies de transmission est le contact avec de l'eau contaminée, mais comme la dose orale infectieuse est très élevée, les voies de transmission qui présentent les plus grands risques pour la santé sont l'exposition cutanée (Clifton et Peckham, 2010). Probablement le contact des lentilles avec le lavabo lors de la manipulation qui a été fortement relié au risque de KI. Le risque est plus important si les patients ne renouvelant jamais leur boîtier (Becmeur *et al.*,2016).

Selon nos résultats, les germes à gram négatif marquent leurs dominances (N=22) face aux germes de Gram positif avec (N=6), que ce soit sur les lentilles isolées de patients atteints de kératite ou de volontaires. D'après L'étude de l'Al-Zahrani en 2012, celle-ci à montrer une prédominance des organismes à Gram négatif en tant qu'agents infectieux pour la kératite infectieuse, avec un taux de 56,17 % (100 cas sur 178).

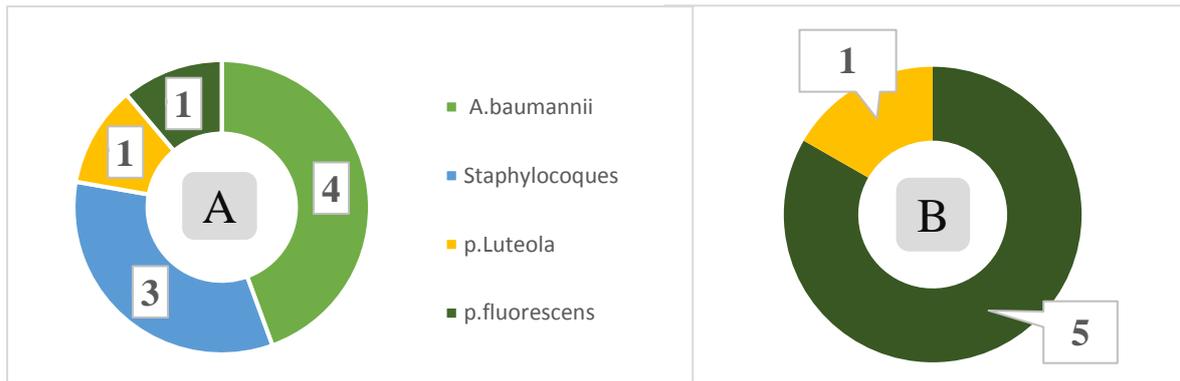


Figure 6 : Répartition de germes isolés des lentilles de contact.
A : LC des patients atteints de kératite. **B :** LC des volontaires.

Nos patients utilisent des boîtiers des lentilles afin de les conserver le soir, mais ces boîtiers peuvent être contaminés, notre étude montre une prédominance des *Pseudomonas fluorescens* (N=3/6), suivit de *Staphylocoques blanc* (N=2/6), et *Acinetobacter baumannii* (N=1/6).

Par ailleurs, les germes de *Pseudomonas fluorescens* et *P.luteola* ont marqué une prédominance de la contamination des boîtiers de lentille des volontaires (N=3/7), et une seule souche de *Staphylocoques blanc*.

Les résultats obtenus sont presque similaires entre les isolats des boîtiers puisqu'on a marqué une prédominance des *Pseudomonas fluorescens* pour les deux groupes.

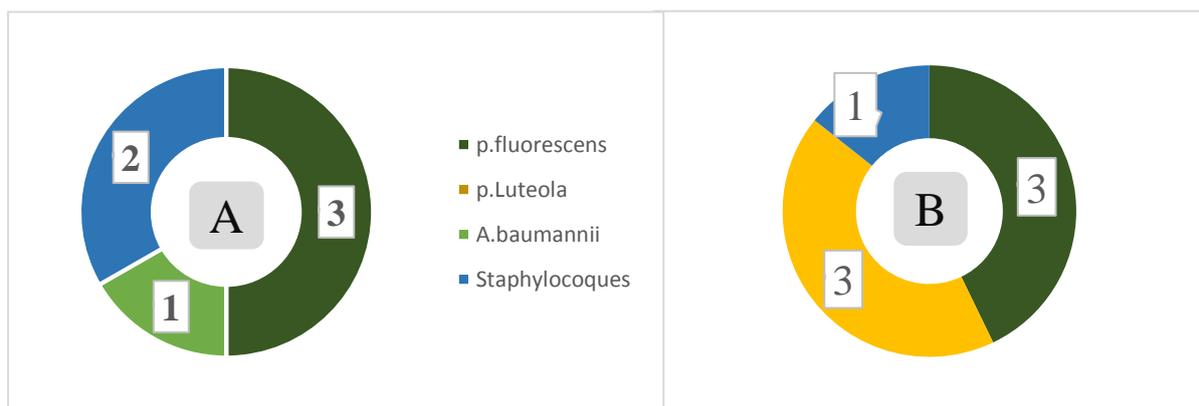


Figure 7 : Répartition de germes isolés des boîtiers des patients atteints de kératite et des volontaires.

A : Boîtiers des patients atteints de kératite. **B :** Boîtiers des volontaires.

3. Etude de la résistance aux antibiotiques

Selon la figure 8, l'ensemble des germes isolés des lentilles des patients atteints de kératite, étaient résistants aux Ceftazidime et aux Céfazoline, nous remarquons une résistance moins importante vis-à-vis de la Tobramycine et la Gentamicine avec 4/6 et 3/6 souches résistantes, pour les germes isolés de lentilles de volontaire, et 3/ 9 ainsi que 2/9 pour les germes isolés de lentille des patients atteints de kératite, cette résistance a été plutôt marquer par les espèces *Pseudomonas fluorescens* (V2g, V3d, V3g, K6), et d'*Acinetobacter baumannii* (V1d, K3, K4).

La Ciprofloxacine et la Novobiocin restent active avec un seul isolat résistant à la Ciprofloxacine (*P.fluorescens* k 6) et à la Novobiocin (*Staphylococcus blanc* K5) (Annexe 1).

Selon la figure 9, l'ensemble des germes isolés des boitiers des patients atteints de kératite, ont présenté un profil de résistance presque similaire à ceux des isolats des lentilles de contact, où l'ensemble des isolats étaient résistants aux Ceftazidime et aux Céfazoline. Cependant la Tobramycine, la Ciprofloxacine, la Novobiocin restent active avec quelques souches résistantes (Annexe 5).

Nos résultats sont similaires à ceux retrouvé par Deepa *et al* (2014), où *Acinetobacter* isolés de la surface oculaire ont marqué une bonne sensibilité aux Ciprofloxacine, Tobramycine, et aux Gentamicine avec un taux de 91,7%. De même l'étude hajoui *et al*, (2012) sur la sensibilité des germes oculaires aux différents antibiotiques a montré que les Staphylocoques à coagulase négative étaient sensibles vis-à-vis de la Ciprofloxacine et la Gentamicine avec un taux de 61,4%, et à la Tobramycine avec un taux de 59,6%. Une autre étude de Salha et Al-Zahrani en 2012 sur 24 souches de *P. aeruginosa* isolés de lentille de contact marque quant à elle une sensibilité de 100% aux Ceftazidimes, Ciprofloxacine, et aux Gentamicines.

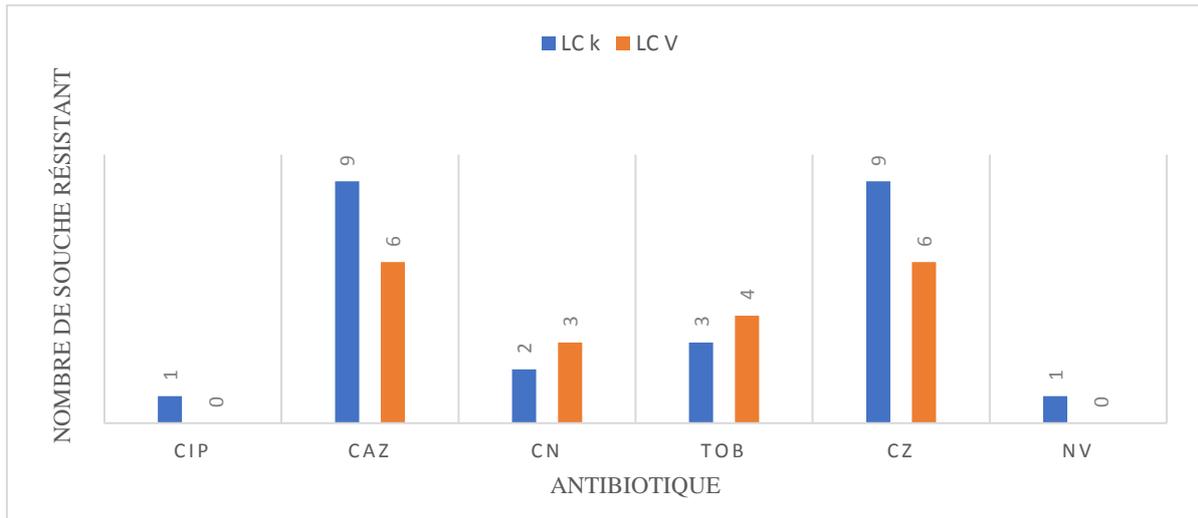


Figure 8 : Profil de résistances aux antibiotiques des isolats de lentilles des patients atteints de kératite et des volontaires.

CIP : Ciprofloxacine, **CAZ :** Ceftazidime, **CZ :** Cefazolin, **CN :** Gentamicin, **TOB :** Tobramycin, **NV :** Novobiocin,

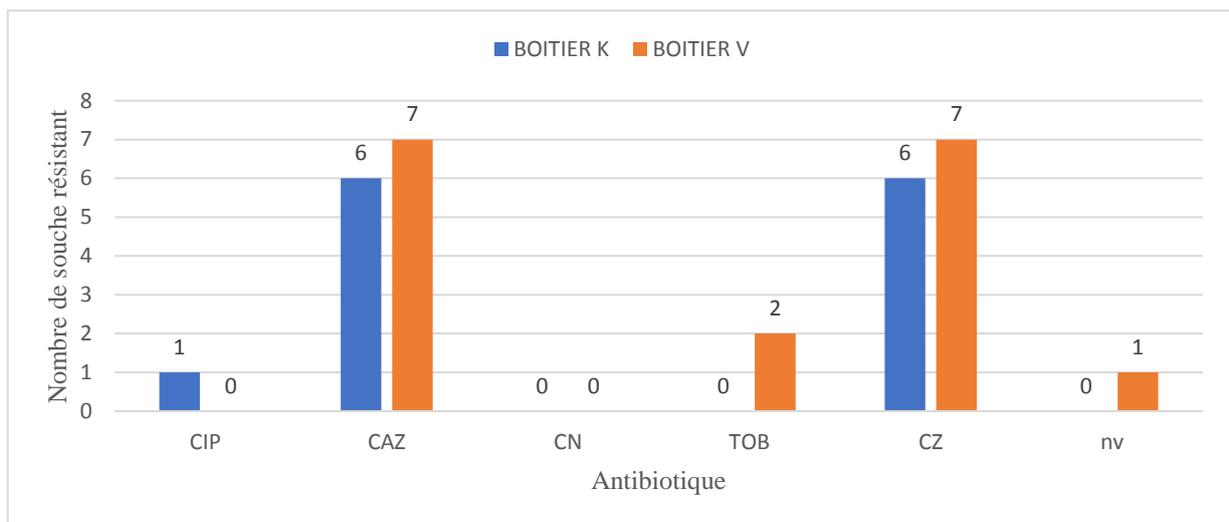


Figure 9 : Profil de résistances aux antibiotiques des isolats des boitiers des patients atteints de kératite et des volontaires.

CIP : Ciprofloxacine, **CAZ :** Ceftazidime, **CZ :** Cefazolin, **CN :** Gentamicin, **TOB :** Tobramycin, **NV :** Novobiocin.

4. Résultats de l'évaluation de la formation du biofilm par la méthode TCP

Selon la figure 10, l'ensemble des germes isolés étaient capables de former un biofilm qu'ils proviennent de lentille de patient atteint de kératite ou non avec valeurs de DO 630 comprise entre 0,196 et 0,427.

Sur les 9 isolats testées de lentille de contact des patients atteints de kératite, un seul isolat *Staphylococcus blanc* (K4), formait un biofilm de forte intensité, 7/9 isolats étaient de formation modérée, dont (PFk6), (PL K1), (AB K2, K3, K4, K5), (SK3).et 1 seule isolat (S K5) était faiblement formateur de biofilm.

Par ailleurs, les germes isolés de volontaires sont moins performants dans la formation de biofilm avec 3/6 isolats faiblement formatrice, (PF G V1, G V2, G V3), 3/6 isolats modérée, (AB DV1), (PF D V2, D V3) (Annexe 5).

Selon la figure 11, l'ensemble des germes étaient capables de former un biofilm qu'ils proviennent de boitier des patients atteints de kératite ou non avec des valeurs de DO 630 comprise entre 0,21 et 0,404.

Sur les 6 isolats testées isolés des boitiers des patients atteints de kératite, un seul isolat (S B2) présentait une forte capacité à former un biofilm, 3/6 isolats étaient modérée, les (PFB2), (ABB3), (SB6), et 2/6 souches était faiblement formatrice (PF BT4, BT6).

Par ailleurs, sur les boitiers des volontaires un seul isolat S (V3g) formait un fort biofilm, 5/7 souches étaient modérée, (PF BTV1d et BTV1g), (PL BTV2d, BTV3d, BTV3g), et un seul isolat de (PF BTV2 g) avait une faible capacité à forme un biofilm.

Selon Klein (2011), les biofilms ont une importance particulière car ils sont impliqués dans un large éventail d'infections chez l'homme, puisqu'ils ont pu être observés sur les supports de stockage des lentilles de contact. En effet, d'après les études de McLaughlin-Borlace *et al.*, en 1998 le biofilm bactérien était présent plus fréquemment sur les surfaces des boitiers (N=17/20) par rapport aux surfaces de lentille de contact (N=11/20) des patients atteints de kératite.

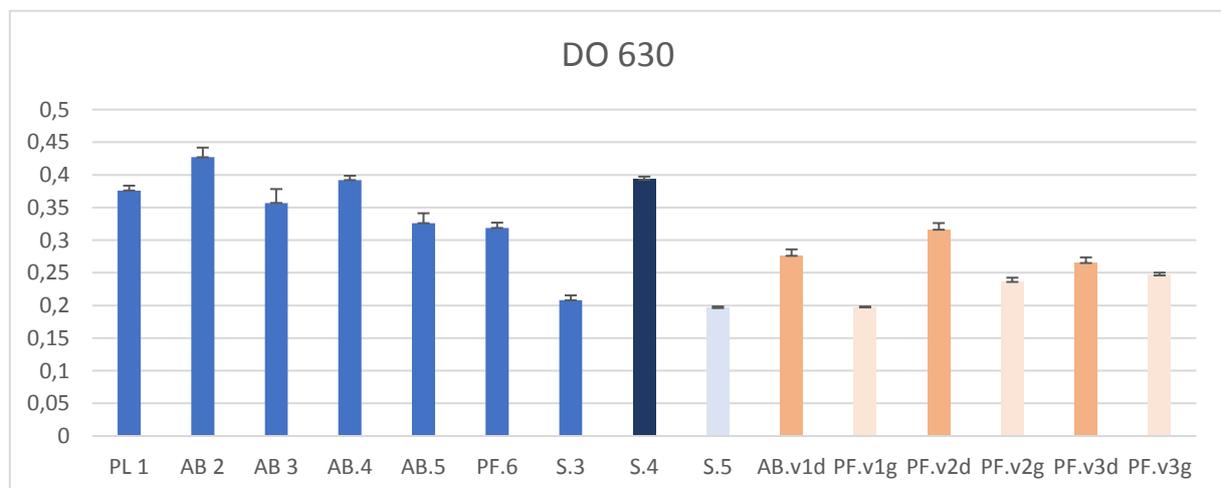


Figure 10 : Quantification de la formation de biofilm chez les isolats des lentilles de contact en microplaques à 37°C.

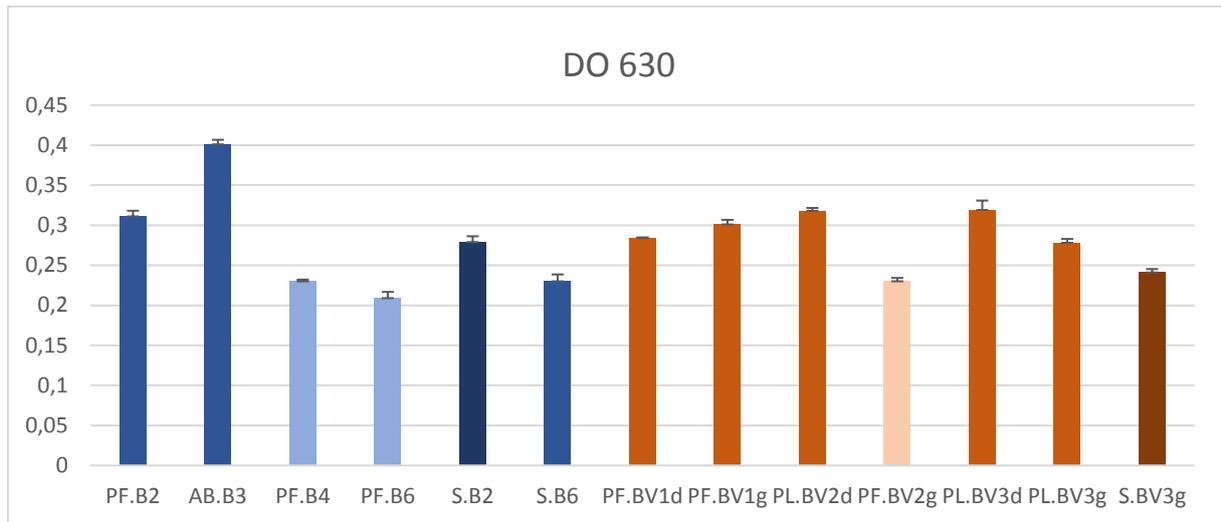


Figure 11 : Quantification de la formation de biofilm chez les isolats des boitiers en microplaques à 37°C.

Conclusion

L'ophtalmologue met au patients malvoyants le choix de porter des lentilles de contact au lieu des lunettes, un dispositif médicale utile pour améliorer la vision de ses derniers, sauf que des préventions doivent être prises et des mesures d'utilisation et d'entretien afin d'éviter la contamination de ce dispositif, qui peut conduire aux complications oculaires traduit en kératite infectieuse.

Dans le cadre de notre étude, notre rôle était de déterminer la colonisation ou l'ineffectivité des lentilles de contact des patients atteints de kératite infectieuse, d'identifier les germes infectants, leurs pouvoir de formation de biofilm ainsi que leurs antibiorésistances.

Ainsi, il a été permis grâce à cette étude de montrer la prédominance d'*Acinetobacter baumannii*, suivi de près par les *Staphylocoques blanc*, les *Pseudomonas fluorescens* et *P. luteola* viennent en dernière position avec un seul isolat.

La comparaison avec des lentilles de volontaires ne présentant aucune infection a pu confirmer que les lentilles contaminées est un facteur de survenu de la kératite infectieuse.

L'étude de profil d'antibiorésistances des germes isolés ont montré une résistance impertinente aux bêta-lactamines, cette résistance peut-être justifie par la capacité de ces isolats a formé un biofilm sur la surface des lentilles de contact. En effet, l'adhésion des microorganismes aux surfaces des lentilles de contact serait un facteur non négligeable dans la résistance bactérienne aux antibiotiques ce qui rend très difficile et impossible de détruire les bactéries sous forme sessile. Cela pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints de kératite se révèlent le plus souvent inefficaces.

Références bibliographiques

A

Abry, F. Sauer, A. Brisard, M. Vabres, B. Beynat, J. et Garcher, C. (2009). Abcès cornéens sous lentilles de contact : Caractéristiques épidémiologiques des patients et étude des facteurs de risque environnementaux, du profil des porteurs et de leurs habitudes en matière de contactologie. *J. Fr. Ophtalmol.*; 32(S1) : 60.

Adoson. (1999). L'œil et la vision Compagne d'information réalisée avec le soutien de la fédération des automnes de solidarité.

Afissa, H, S. (2014). Etude de l'antibiorésistance des souches de staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf Ouargla. (Memoire de master, Université Kasdi Merbah-Ouargla).

Allouch-Nahmias, C. Goldschmit, P. Borderie, V. Touzeau, O. Gaujoux, T. Laroche, L., ... Rault, J. (2011). Anatomie de la cornée. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale – Ophtalmologie*, 21- 003-A-10, 1-16. Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.

Al-Amry, M. Mudhaiyan, T. Al-Huthail, R. et Al-Ghadeer, H. (2017). Infectious crystalline keratopathy after corneal cross-linking. *Middle East Afr J Ophthalmol* ;24:100–2.

Al-Zahrani Salha. (2012). Bacteria isolated from contact and non-contact lens and antibiotic susceptibility patterns of isolated *Pseudomonas aeruginosa*; DOI: 10.5897/AJMR12.1134.

Ancele, E., Lequeux, L., Fournie, P., Mahieu Durringer, L., Defreyn, A., et Arne, J. L. (2008). 271 *Kératites bactériennes sévères : à propos de 56 cas. Étude rétrospective épidémiologique, clinique et microbiologique. Journal Français d'Ophtalmologie*, 31, 93. doi :10.1016/s0181-5512(08)70868-4.

Armstrong, JR. Cohen, KL. et McCarthy, LR. (1984). Haemophilus influenzae corneal ulcer in a therapeutic contact lens wearer. *Br J Ophthalmol*. 68:188–91.

B

Becmeur, F. Abry , T. Bourciera, N. Meyera, A. et Sauera. (2016). Facteurs de risque de kératites infectieuses chez les porteurs de lentilles de contact, une étude cas-témoins Doi : 10.1016/j.jfo.2016.10.008

Becmeur, P. H., Abry, F., Bourcier, T., Meyer, N., et Sauer, A. (2017). Facteurs de risque de kératites infectieuses chez les porteurs de lentilles de contact, une étude cas-témoins. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 40(3), 224–231. doi: 10.1016/j.jfo.2016.10.008.

- Beebe, D. et Coats, J. (2000).** The lens organizes the anterior segment: specification of neural crest cell differentiation in the avian eye. *Dev Biol*; 220:424–431.
- Behlau, I. et Gilmore, MS. (2008).** Microbial biofilms in ophthalmology and infectious disease. *Arch Ophthalmol*. 126:1572–1581.
- Benadada, Saad. (2017).** Les keratites fongiques : Aspects Cliniques et Thérapeutiques à propos de 30 cas au Service d’Ophtalmologie.
- Benhmidoune L, Bensemlali A, Bouazza M, Karami R, El Mansouri H, et El Belhadji M. (2013).** Abscès de cornée sur port de lentilles de contact : aspects cliniques, microbiologiques et thérapeutiques. *Journal Français d’Ophtalmologie* ;36(7) : 594-599.
- BERGON Ludovic. (2016).** *S. capitis, S. caprae* et *S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques.
- Berthélémy, S. (2015).** Le port des lentilles de contact. *Actualités Pharmaceutiques*.
- Berrada, S. (2016)** Gestion du risque infectieux en hémodialyse par la mise en place d’une démarche qualité : cas du centre d’hémodialyse de l’hôpital EL GHASSANI Thèse de doctorat . Faculté des sciences Dhar EL Mehrez Fes.
- Berry, M. Pult, H. Purslow, C. et Murphy, PJ. (2008).** Mucins and ocular signs in symptomatic and asymptomatic contact lens wear. *Optom Vis Sci* ; 85: 930– 8.
- Beuerman, R. Mircheff, A. Pflugfelder, SC. Et Stern, M. (2004).** The lacrimal functional unit. In: Pflugfelder SC, Beuerman RW, Stern ME, editors. *Dry Eye and Ocular Surface Disorders*. Marchel Dekker; New York. pp. 11–39.
- Bonini, S. Micera, A. Iovieno, A. Lambiase, A. et Bonini, S. (2005).** Expression of Toll-like receptors in healthy and allergic conjunctiva. *Ophthalmology* 112:1528. e1–1528.e8. doi:10.1016/j.opthta .2005.04.009.
- Boote, C. Dennis, S. Newton, RH. Puri, H. et Meek, KM. (2010).** Collagen fibrils appear more closely packed in the prepupillary cornea: optical and biomechanical implications. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003 ; 44:2941–2948.
- Booth, MC. Atkuri, RV. Nanda, SK. Iandola, JJ. et Gilmore, MS. (1995).** Accessory gene regulator controls *Staphylococcus aureus* virulence in endophthalmitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 36:1828–1836.
- Boro, A. (2014).** Aspects épidémiocliniques des kératites au CSRéf de la commune V du district de Bamako.

- Bouheraoua, N., Labbe, A., Chaumeil, C., Liang, Q., Laroche, L., et Borderie, V. (2014).** Kératites amibiennes. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 37(8), 640-652. Doi : 10.1016/j.jfo.2014.05.004
- Bourcier, T. Chatel, M.A. Chaumeil, C. Borderie, V. et Laroche, L. (2007).** Kératites bactériennes. *Encycl Med Chir*.
- Bourcier, T., Chaumeil, C., Borderie, V., et Laroche, L. (2004).** Infections cornéennes. *Diagnostic et traitement. Edition Elsevier*.
- Bourcier, T. Sauer, A. Saleh, M. Dory, A. Prévost, G. et Labetoulle, M. (2013).** Kératites bactériennes. *EMC, Ophtalmologie* ; 10(4) : 1-9. Doi : 10.1016/S0246-0343(13)63295-5.
- Bourcier, T., Sauer, A., Saleh, M., Dory, A., Prévost, G., et Labetoulle, M. (2013).** Kératites bactériennes. *Ophtalmologie*, 9(7), 0-1. Doi : 10.1016/S0246-0343(13)63295-5.
- Bourcier, T. et Labetoulle, M. (2015).** Infections de la surface oculaire. In : Surface Oculaire -Rapport SFO 2015. Elsevier Masson.
- Bourcier, T. Thomas, F. Borderie, V. Chaumeil, C. et Laroche, L. (2003).** Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br J Ophthalmol* ;87:834-8.
- Brennan, NA. et Coles, MLC. (2000).** Deposits and symptomatology with soft contact lens wear. *Int Contact Lens Clin*. 27: 75– 100.
- Brooks, D. et Ollivier, F. (2004).** Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration. *Vet Clin of North Am Small anim pract.* ;34 :611-622.
- Buil, O., Bourcier, T., Borderie, V., et Laroche, L. (2002).** Diagnostic et traitement des kératites *Le concours médical*, tome 124, N° 38, pp : 2497-2501.

C

- Callegan, MC. Engel, LS. Hill, JM. Et O'Callaghan, RJ. (1994).** Corneal virulence of *Staphylococcus aureus*: roles of alpha-toxin and protein A in pathogenesis. *Infect Immun*. 62:2478–2482.
- Cerqueira, GM. et Peleg, AY. (2011).** Insights into *Acinetobacter baumannii* Pathogenicity. *IUBMB Life* 2011; 63:1055–1060.
- Clemens, L.E., Jaynes, J., Edward Lim, Kolar, S.S., Reins, R.Y., et Baidouri, H. (2017).** Designed Host Defense Peptides for the Treatment of Bacterial Keratitis, doi: 10.1167/iovs.17-22243.

Clifton, I. J., et Peckham, D. G. (2010). Defining routes of airborne transmission of *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 4(4), 519-529. doi : 10.1586/ers.10.42.

Chang, HY. Et Chodosh, J. (2011). Diagnostic and therapeutic considerations in fungal keratitis. *Int Ophthalmol Clin*. 51:33-42.

Chaudhry, S. Sarfraz, Q. et Khan, K. Ahmad. (2011). Contact lens-related visual loss - a case series from Karachi, *J Pak Med Assoc* 61 1246–1248.

Chaumeil C. et Malet F., 2009. Complications infectieuses. In *Les lentilles de contact*, 873-932. Mallet F., George M.-N., Vayr F. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.

Chiquet, C. et Romanet, J. (2007). Prescrire les collyres fortifiés, Service d'Ophtalmologie, CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble. *Journal Français d'Ophtalmologie* Vol 30, N° 4 - avril 2007 pp. 423-430 Doi : JFO-04-2007-30-4-0181-5512-101019-200701961

Chavant Patrick., Brigitte Gaillard-Martinie., Régine Talon., Michel Hébraud., et Thierry Bernardi. (2007). A new device for rapid evaluation of biofilm formation potential by bacteria. *Journal of Microbiological Methods*. 2627: 1-8.

Chawla, B. Agarwal, P. et Tandon, R. (2010). In vitro susceptibility of bacterial keratitis isolates to fourth-generation fluoroquinolones. *Eur J Ophthalmol*. 20:300–305.

Cope JR, Collier SA, Rao MM, Chalmers, R. Mitchell, L. et Richdale, k. (2015). Contact lens wearer demographics and risk behaviors for contact lens-related eye infections: United States, 2014. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64:865–870.

Corrigan KM, Harmis NY, et Willcox MD. (2011). Association of acinetobacter species with contact lens-induced adverse responses. *Cornea*. DOI :10.1097/00003226-200107000-00004.

Creuzot-Garcher,C. (2006). Influence des anomalies du film lacrymal sur la surface oculaire, *J Fr. Ophtalmol. dijon*; 29, 9, 1053-1059.

D

Dakhil TAB, Stone DU, et Gritz DC. (2017). Adjunctive Therapies for Bacterial Keratitis. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 24(1):11–17. doi: 10.4103/meajo.MEAJO_264_16

Debellemanière, G. et Saleh, M. (2015). L'épithélium cornéen. Rapport SFO. Elsevier Masson SAS, 62, rue Camille-Desmoulins, 92442 Issy-les-Moulineaux cedex

Deepa Talreja, Chithra Muraleedharan, Gayathri Gunathilaka, Yifan Zhang, Keith S. Kaye, Satish K. Walia, et Ashok Kumar. (2014). Virulence Properties of Multidrug Resistant Ocular Isolates of *Acinetobacter baumannii*, DOI: 10.3109/02713683.2013.873055.

Denis F., Ploy M-C., Martin C., et al. 2007. Bactériologie médicale. 2ème Edition. Ellipses. Paris. 573p.

Dursun, D. Kim, MC. Solomon, A. et Pflugfelder, SC. (2001) Treatment of recalcitrant recurrent corneal erosions with inhibitors of matrix metalloproteinase-9, doxycycline and corticosteroids. *Am J Ophthalmol.* 132:8-13.

Dyavaiah M., Phaniendra A., et Sudharshan S.-J., (2015). Microbial Keratitis in Contact Lens Wearers. *JSM Ophthalmology*, 3 (3), 1036, 1-12.

E

El Belhadji, Chkib, A., Hamdani, M., Zaghoul, M., et Amraoui, K. (2000). L'œil rouge Les cahiers du Médecin, année 2000, tome : IV, N° 36. pp : 7-11

Ezzahraoui, MR. (2013). Prise en charge d'une kératite bactérienne De L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire – Rabat

F

Farjo, A. McDermott, M. et Soong, HK. (2008). Corneal anatomy, physiology, and wound healing. In: Yanoff M, Duker JS, eds, *Ophthalmology*, 3rd ed. St. Louis, MO, Mosby; 203–208

Ferrer, C. Ruiz-Moreno, JM. et Rodríguez, A. (2004). Postoperative *Corynebacterium macginleyi* endophthalmitis. *J Cataract Refract Surg.* 30:2441–4.

Feys J. (2004). Lentilles de contact et risques infectieux, aspects réglementaires. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 27(4) : 420-423.

Flamant, J. (2002). Ophtalmologie, Pathologie du système visuel. Masson, P. 99-124.

Fleiszig, S.M., et Evans, D.J. (2010). Pathogenesis of contact lens-associated microbial keratitis. *Optom Vis Sci.* 87 :225–232

Florian, T. et Philippe, G. (2008). Traumatologie et ophtalmologie Faculté de médecine de Saint-Etienne Université Jean Monnet Document électronique : www.univ-st-etienne.fr

Fong, C.-F., Tseng, C.-H., Hu, F.-R., Wang, I.-J., Chen, W.-L., et Hou, Y.-C. (2004). Clinical characteristics of microbial keratitis in a university hospital in Taiwan. *American Journal of Ophthalmology*, 137(2), 329–336. Doi :10.1016 /j.ajo. 2003.09.001

G

Garcia- Saenz, MC. Arias-Puente, A. Fresnadillo- Martinez, MJ. et Matilla- Rodriguez, A. (2000). In vitro adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 26 : 1673- 1679.

Garcia-Saenz, MC. Arias-Puente, A. Fresnadillo-Martinez, MJ. et Paredes-Garcia, B. (2002). Adherence of two strains of *Staphylococcus epidermidis* to contact lenses. *Cornea.* 21:511–515.

Giammanco, GM. Di Marco, V. et Priolo, I. (2002). *Corynebacterium macginleyi* isolation from conjunctival swab in Italy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 44:205–7.

Gipson IK. (2007). The ocular surface: the challenge to enable and protect vision: the Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48(10):4390–4398. doi:10.1167/iovs.07-0770

Gipson, IK. et Argueso, P. (2003). Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *Int Rev Cytol;* 231: 1-49.

Gipson, IK. et Joyce, NC. (2008). Anatomy and cell biology of the cornea, superficial limbus, and conjunctiva. In: Albert DM, Jakobiec FA, eds, *Principles and Practice of Ophthalmology*, 3rd ed. Philadelphia, PA, Saunders ; 423–420.

Goldschmit P, Borderie V, Touzeau O, Gaujoux T, Laroche L, Goemaere I, et Rault J. (2011). Anatomie de la cornée. *Ophtalmologie*, 8(3): 1-16.

Gower EW, Keay LJ, Oechsler RA, Iovieno A, Alfonso EC, et Jones DB. (2010). Trends in fungal keratitis in the United States, 2001 to 2007. *Ophthalmology.* 117:2263–7.

H

Hajoui FZ, Daoudi N, Kabbaj H, Alaoui A, et Seffar M. (2012). Étude bactériologique des souches isolées à partir d’infections oculaires. *Ann Biol Clin;* 70(6) : 689-94 doi:10.1684/abc.2012.0748

Han DP, Wisniewski SR, et Wilson LA. (1996). Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Am J Ophthalmol.* 122:1–17.

Harchali S. (2013). Abcès de cornée chez les porteurs de lentilles de contact. [Thèse de Doctorat]. Rabat : Université Mohammed V Faculté de Médecine.

Harshman, S. Boquet, P. Duflot, E. Alouf, JE. Montecucco, C. et Papini, E. (1989). Staphylococcal alpha-toxin: a study of membrane penetration and pore formation. *J Biol Chem.* 264:14978–14984

Hassan Afreenish., Javaid Usman., Fatima Kaleem1., Maria Omair., Ali Khalid., et Muhammad Iqba. (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in

the clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 15(4): 305-311.

Hazlett, L., Susmit Suvas, Sharon McClellan, et Sandamali Ekanayaka. (2017). Challenges of corneal infections doi: 10.1080/17469899.2016.1203254.

He, D. Hao, J. Zhang, B. Yang, Y. Song, W. Zhang, Y. (2011). Pathogenic Spectrum of Fungal Keratitis and Specific Identification of *Fusarium solani*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 27 janv 2011;52(5):2804-2808.

Hindman, HB. Patel, SB. et Jun, AS. (2009). Rationale for adjunctive topical corticosteroids in bacterial keratitis. *Arch Ophthalmol*. 127:97-102.

Hoang-Xuan, T. Baudouin et Creuzot-Garcher. (2001). *Inflammatory Diseases of the Conjunctivae*. Thieme.

Hsiao-Sang, Chu. Shan-Chwen, Chang. Elizabeth, P. Shen. et Fung-Rong, Hu. (2015). Nontuberculous Mycobacterial Ocular Infections—Comparing the Clinical and Microbiological Characteristics between *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium massiliense*.

I

J

Jaouhar M. (2017). Validation d'un protocole de désinfection des surfaces d'un service hospitalier. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques. Mémoire DE Master.74p.

Joffin JN., et Leyral G. (2001). *Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques*. Bordeaux: CRDP d'Aquitaine, 320p.

K

Karsten, E. Watson, SL. et Foster, LJ. (2012). Diversity of microbial species implicated in keratitis: A review. *Open Ophthalmol J*. 6:110–24. doi: 10.2174/1874364101206010110.

Kawashima, M. Kawakita, T. Den, S. Tomita, M. et Shimazaki, J. (2009). *Eye (Lond)*. Feb; 23(2):339-44.).

Karthika, N. et Neelima, A. (2014). A study of normal bacterial flora of the conjunctiva in patients undergoing cataract surgery in a rural teaching hospital in R. R. district; 3 (2): 164-167.

Keay, L. Edwards, K. et Naduvilath, T. (2006). Microbial keratitis predisposing factors and morbidity. *Ophthalmology*. 113:109–16. DOI:10.1016/j.ophtha.2005.08.013.

Kheir, WJ. Sheheitli, H. Abdul Fattah, M. et Hamam, RN. (2015). Nontuberculous Mycobacterial Ocular Infections: A Systematic Review of the Literature. *Biomed Res Int* ;2015:164989. doi:10.1155/2015/164989.

Killpartrick, M.R. (2016). Disposable lens risk factors and posterior lens surface contamination. *Cont. Lens Anterior Eye* 39, 400.

Klein Géraldine. (2011). Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines.

Knop, E. Knop, N. Millar, T. Obata, H. et Sullivan, D. (2011). The International workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci*; 52:1938—78

Knop, N. et Knop, E. (2010). Regulation of the inflammatory component in chronic dry eye disease by the eye-associated lymphoid tissue (EALT). *Dev. Ophthalmol.* 45,23e39.

L

Labbé, A. Brignole-Baudouin, F. et Baudouin, C. (2007). *Méthodes d'évaluation de la surface oculaire dans les syndromes secs. Journal Français d'Ophthalmologie, 30(1), 76–97.* Doi :10.1016/s0181-5512(07)89557-x.

Ladage, P.M. Ren, D.H. Petroll, W.M. Jester, J.V. Bergmanson, J.P. et Cavanagh, H.D. (2003). Effects of eyelid closure and disposable and silicone hydrogel extended contact lens wear on rabbit corneal epithelial proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44, 1843-1849.

Leger, AJ. Desai, JV. Drummond, RA. Kugadas, A. Almaghrabi, F. Silver, P., ... Caspi, RR. (2017). An Ocular Commensal Protects against Corneal Infection by Driving an Interleukin-17 Response from Mucosal $\gamma\delta$ T Cells. *Immunity.* 2017 Jul 18;47(1):148-158.e5. Doi: 10.1016/j.immuni.2017.06.014.

Liaqat, I. Saleem, Q. Tahir, H. Arshad, M. et Arshad, N. (2018). *Identification of virulence factors in contact lens associated bacteria: A physiological approach. Contact Lens and Anterior Eye.* Doi: 10.1016/j.clae.2018.10.002.

Lily Therese, k. et Madhavan, L. (2004). microbiology research centre vision research foundation 18, college road, chennai - 600 006.2004.

Loretta, Szcotka-Flynn. Eric, Pearlman. et Mahmoud Ghannoum. (2010). Microbial Contamination of Contact Lenses, Lens Care Solutions, and Their Accessories: A Literature Review.

Luo, L. Lin, T. Yao, C. Kuo, P. Matsusaki, M. Harroun, S. et Lai, J. (2018). Dual-functional gelatin-capped silver nanoparticles for antibacterial and antiangiogenic treatment of bacterial keratitis. *Journal of Colloid and Interface Science*. Doi: 10.1016/j.jcis.2018.10.041.

M

Masselos, K. Tsang, HH. Ooi, JL. Harma, NS. et Coroneo, MT. (2009). Laser corneal biofilm disruption for infectious crystalline keratopathy. *Clin Experiment Ophthalmol*. 37:177–180. doi: 10.1111/j.1442-9071.2008.01912.x

Makdoui, K. Mortensen, J. Sorkhabi, O. Malmvall, B-E. et Crafoord, S. (2012) UVA-riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* ; 250:95–102

Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D-J., Fatma T., et Rattan A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 24 (1): 9-25.

McLaughlin-Borlace, Stapleton, Matheson, et Dart. (1998). *Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis. Journal of Applied Microbiology*, 84(5), 827–838. doi:10.1046/j.1365-2672.1998.00418.x

Montes-Mico, R. Alio, J. et Charman, W. (2005). Dynamic changes in the tear film in dry eyes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 46, 1615-1619.

MOUFADDAL, M. H. (2019). *Diagnostic et Prise en charge d'une kératite bactérienne* (Doctoral dissertation).

N

Narayanan, S. Redfern, RL. Miller, WL. Nichols, KK. McDermott, AM. (2014). Dry Eye Disease and Microbial Keratitis: Is There a Connection? doi: 10.1016/j.jtos.2012.12.002.

Nayak, N. Satpathy, G. Nag, HL. Venkatesh, P. Ramakrishnan, S. Nag, TC. et Prasad, S. (2011). Slime production is essential for the adherence of *Staphylococcus epidermidis* in implant-related infections. *J Hosp Infect*. 77:153–156. Doi: 10.1016/j.jhin.2010.09.023.

Negar Babaei Omali. Lakshman, N. Subbaraman. Chantal Coles-Brennan. Zohra Fadli. et Lyndon W . (2015). Biological and Clinical Implications of Lysozyme Deposition on Soft Contact Lenses.

Niv, Y. et Boltin, D. (2012). Secreted and membrane-bound mucins and idiopathic peptic ulcer disease. *Digestion* 86, 258e263.

Nouri, M. Terada, H. et Alfonso, EC. (2001). Endophthalmitis after keratoprosthesis: incidence, bacterial causes, and risk factors. *Arch Ophthalmol* ;119: 484–9.

Q

O’Callaghan, RJ. Callegan, MC. et Moreau, JM. (1997). Specific roles of alpha-toxin and beta-toxin during *Staphylococcus aureus* corneal infection. *Infect Immun.*65:1571–1578.

Otri, AM. Fares, U. Al-Aqaba, MA. Miri, A. et Faraj, LA. (2012). Profile of sight-threatening infectious keratitis: a prospective study. *Acta Ophthalmol.*(in press).

P

Pens, Md. Costa, C. Fadanelli, K.C.M. et Rott. (2008). Acanthamoeba spp. and bacterial contamination in contact lens storage cases and the relationship to user profiles, *Parasitol Res* 103 1241–1245.

Philippe ,Laurent,. Jérôme, Berger,. et Pascal Furrer. (2018). Prise en charge et triage à l’officine.

Porisch, E. (2007). Football players' contrast sensitivity comparison when wearing amber sport-tinted or clear contact lenses. *Optometry.* 78:232–235.

Porter, AJ. Lee, GA. et Jun, AS. (2018). Infectious crystalline keratopathy. *Surv Ophthalmol* ;63:480–99.

Prydal, JI. Artal, P. Woon, H. et Campbell, F. (1992). Study of human precorneal tear film thickness and structure using laser interferometry and confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* ;33:2006-11.

Q

R

Rais, L., Souldi, L., et Zaghoul, K. (2005). Œil rouge chez l’enfant. Orientation diagnostic et thérapeutique *Rev Mar Mal Enf* ; 6 : 54-57.

Ratnumnoi, Ravee., Keorochana N. et Sontisombat, C. (2017). Normal flora of conjunctiva and lid margin, as well as its antibiotic sensitivity, in patients undergoing cataract surgery at Phramongkutkloao Hospital; 11: 237–241. doi: 10.2147/OPHTH.S109247.

Renier G. (2008). Immunologie de l’oeil. *Rev Fr Allergol*, 48, 303-313.

Revankar SG, et Sutton DA. (2010). Melanized fungi in human disease. *Clin Microbiol Rev.* 23:884–928.

Robertson, DM. Parks, QM. Young, RL. Kret, J. Poch, R. et Malcolm. (2011). Disruption of contact lens-associated *Pseudomonas aeruginosa* biofilms formed in the presence of neutrophils. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 52 :2844–50. Doi : 10.1167/iovs.10-6469.

Roth HW, Malet F, et Cavanagh H. (2005). *Complications des lentilles de contact*. Paris: Elsevier Masson. 214 p.

S

Schaefer, F. Bruttin, O. et Zografos, L. (2001). Bacterial keratitis: a prospective clinical and microbiological study. *Br J Ophthalmol.* 85:842–7.

Seal, DV. et Pleyer, U. (2007). *Ocular Infection: Investigation and Treatment in Practice*. CRC Press. 402 p.

Selan, L. Palma, S. Scoarughi, GL. Papa, R. Veeh, R. Di, Clemente D. et Artini M. (2008). Phosphorylcholine impairs susceptibility to biofilm formation of hydrogel contact lenses. doi: 10.1016/j.ajo.2008.07.032.

Shah, A. Sachdev, A. et Coggon, D. (2011). Geographic variations in microbial keratitis: An analysis of the peer-reviewed literature. *Br J Ophthalmol.*; 95:7627.
doi: 10.1136/bjo.2009.169607.

Sharma, N. Vajpayee, RB. Pushker, N. et Vajpayee, M. (2000). Infectious crystalline keratopathy. *CLAO J.* 26:40–43.

Stapleton, F. Keay, L. Jalbert, I. et Cole, N. (2007). The epidemiology of contact lens related infiltrates. *Optom Vis Sci.* 84(4): 257–272.

Sthapit, PR. et Tuladhar, NR. (2014). Conjunctival Flora of Normal Human Eye. *JSM Ophthalmol* 2(2): 1021.

Suzuki, T. Iihara, H. et Uno, T. (2007). Suture-related keratitis caused by *Corynebacterium macginleyi*. *J Clin Microbiol* ;45:3833–6.

Szczotka-Flynn, LB. Pearlman, E. et Ghannoum, M. (2010). Microbial contamination of contact lenses, lens care solutions and their accessories: a literature review. *Eye Contact Lens.* 36:116—29.

T

Takaaki, Furusawa. Hidetomo, Iwano. Yutaro, Hiyashimizu. Kazuki, Matsubara. Hidetoshi, Higuchi. Hajime, Nagahata. et Yutaka, Tamura. (2016). Phage Therapy Is Effective in a Mouse Model of Bacterial Equine Keratitis. doi: 10.1128/AEM.01166-16

Takashi, S., Yutaka, K., Yosuke, M., Satoshi, Y., Yuri, S., Hitoshi, M., et Yuichi, O .J. (2013). Clin Microbiol Conjunctivitis Caused by *Neisseria gonorrhoeae* Isolates with Reduced Cephalosporin Susceptibility and Multidrug Resistance.

Tam, C. Mun, JJ. Evans, DJ. et Fleiszig, SM. (2010). The impact of inoculation parameters on the pathogenesis of contact lens-related infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 51(6):3100–6.

Tavakoli, M. Kallinikos, PA. Efron, N. Andrew, J.M. Boulton, MD. et Rayaz, A.M. (2007). Corneal sensitivity is reduced and relates to the severity of neuropathy in patients with diabetes. *Diabetes Care* 30:1895-1897.

Thibodeaux, BA. Caballero, AR. Marquart, ME. Tommassen, J. et O'Callaghan, RJ. (2007). Corneal virulence of *Pseudomonas aeruginosa* elastase B and alkaline protease produced by *Pseudomonas putida*. *Curr Eye Res.* 32(4):373–386. doi: 10.1080/02713680701244181.

Traidej, M. Caballero, AR. Marquart, ME. Thibodeaux, BA. et O'Callaghan, RJ. (2003). Molecular analysis of *Pseudomonas aeruginosa* protease IV expressed in *Pseudomonas putida*. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(1):190–196. doi: 10.1167/iovs.02-0458.

Turut, P., et Blin, H. (2001). OEil rouge et douloureux. Orientation diagnostic *Revue de praticien* tome 51, N° 3, pp : 329-335.

Tzu-Yu, Lin. Lung-Kun, Yeh. David, HK Ma. Phil, YF Chen. Hsin-Chiung, Lin. Chi-Chin, Sun. et Ching-Hsi, Hsiao. (2015). Risk Factors and Microbiological Features of Patients Hospitalized for Microbial Keratitis, A 10-Year Study in a Referral Center in Taiwan, *Medicine (Baltimore)*. ;94(43): e1905. Doi:10.1097/MD.0000000000001905.

U

Ung, L. Bispo, PJ. Shanbhag, SS. Gilmore, MS. et Chodosh, J. (2018). The Persistent Dilemma of Microbial Keratitis: Global Burden, Diagnosis, and Antimicrobial Resistance. *Surv Ophthalmol.* :255-271. doi: 10.1016/j.survophthal.2018.12.003.

Upadhyay, M. Karmacharya, P. Koirala, S. Shah, D. Shakya, S. Shrestha, J. et Witcher, J. (2001). The Bhaktapur Eye Study: Ocular trauma and antibiotic prophylaxis for the prevention of corneal ulceration in Nepal. *British Journal of Ophthalmology.* doi: 10.1136/bjo.85.4.388.

V

Vuong, C. Kocianova, S. Voyich, JM, Yao, Y. Fischer, ER. DeLeo, FR. et Otto, M. (2004). A crucial role for exopolysaccharide modification in bacterial biofilm formation. *J Biol Chem.* 279:54881-6.

W

Wang, B. Yang, S. Zhai, HL. Zhang, YY. Cui, CX. Wang, JY. et Xie, LX . (2018). A comparative study of risk factors for corneal infection in diabetic and non-diabetic patients. doi: 10.18240/ijo.

Willcox, M.D. (2013). Microbial adhesion to silicone hydrogel lenses: a review. *Eye Contact Lens* 39, 61-66.

Willcox, MD. (2013). Microbial adhesion to silicone hydrogel lenses: a review. *Eye Contact Lens*. 39:61–66.

Wollensak, G. Spoerl, E. et Seiler, T. (2003). Riboflavin/ultraviolet- A–induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*; 135:620–627.

Wong, RL. Gangwani, RA. Yu, LW. et Lai, JS. (2012). New treatments for bacterial keratitis. *J Ophthalmol* ID:831502.

Wu, YT. Willcox, M. Zhu, H. et Stapleton, F. (2015). Contact lens hygiene compliance and lens case contamination: a review. *Cont Lens Anterior Eye*.

X

Y

Yoder, DM. Scott, IU. Flynn, HW. et Miller, D. (2004). Endophthalmitis caused by *Haemophilus Influenzae*. *Ophthalmology*. 111(11):2023–2026.

Z

Zech, JC. et Trepsat, C. (2001). Urgences traumatiques oculaires. Etiologie, diagnostic, principes du traitement. *Rev prat* ;51:911-6.

Zegans, ME. Becker, HI. Budzik, J. et O'Toole, G. (2002). The role of bacterial biofilms in ocular infections. *DNA and Cell Biology*, 21: 415-420.

Zegans, ME. Shanks, RM. et O'Toole, GA. (2005). Bacterial biofilms and ocular infections. *Ocul Surf*. 3:73–80.

Zhong, W. Yin, H. et Xie, L. (2009). Expression and potential role of major inflammatory cytokines in experimental keratomycosis. *Mol Vis*. 15:1303- 11 .

Zhou, L. Zhao, S. Koh, S. Chen, L. Vaz, C. Tanavde, V. Li, X. et Beuerman, R. (2012). In-depth analysis of the human tear proteome. *J Proteomics*; 75: 3

Annexes

Annexe 1 : Résultats de l'antibiogramme, et la capacité de former un biofilm des souches isolées des lentilles et boitiers des volontaire non atteints de kératite.

Prélèvement	Les souches /	Les antibiotiques testés						Biofilm	
		CIP	CAZ	CZ	CN	TOB	NV	DO	Formation
LC, D, V1	<i>A.baumannii</i>	S	R	R	R	R	/	0,276	Modéré
LC ,G V1	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	S	S	/	0,197	Négatif
LC D V2	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	S	S	/	0,316	Modéré
LC G V2	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	S	R	/	0,236	Négatif
LC D V3	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	R	R	/	0,265	Modéré
LC G V3	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	R	R	/	0,246	Négatif
BT d V1	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	S	R	/	0,285	Modéré
BT g V1	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	S	S	/	0,308	Modéré
BT d V2	<i>p.Luteolus</i>	S	R	R	S	S	/	0,316	Modéré
BT g V2	<i>p.fluorescens</i>	S	R	R	S	S	/	0,236	Négatif
BT d V3	<i>p.Luteolus</i>	S	R	R	S	R	/	0,304	Modéré
BT g V3	<i>p.Luteolus</i>	S	R	R	S	S	/	0,284	Modéré
BT g V3	<i>staphylococcus</i>	S	R	R	S	S	R	0,243	Forte

S : sensible, **R** : résistant. **DO** : densité optique. **CIP** : Ciprofloxacine, **CAZ** : ceftazidime,

CZ : cefazolin, **CN** : Gentamicin, **TOB** : tobramycin, **NV** : Novobiocin. **BT** : boitier.

LC : lentille de contact. **D** : droit **G** : gauche.

Annexe 2 : composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée, en g/L)

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de boeuf	3g
Hydrolysate de caséine.....	17, 5g
Amidon.....	1,5g
Agar.....	17g

Gélose Chapman :

Extrait de viande.....	1g
Chlorure de sodium.....	75g
Peptone.....	10g
Gélose.....	15g
Mannitol.....	10g
Rouge de phénol.....	0,025g

Gélose Mac Conkey :

Peptone de caséine.....	17g
Peptone de viande.....	03g
Sels biliaires.....	1.5g
Cristal violet.....	0,001g
Lactose.....	10g
Rouge neutre.....	0,03g
Chlorure de sodium.....	05g
Ag.....	13g
ZnSO4.....	0,07g

GÉLOSE AU SANG 5% (g /l)

Peptone de viande	10
Peptone de caséine	5
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Agar	18
Sang de mouton.....	80 mL

Bouillon nutritif :

Peptone.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Extrait de viande.....	5g

Gélose nutritive :

Extrait de viande.....	5g
Peptone.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	20g

- **Composition des réactifs utilisés**

Réactif de Kovacs :

p-diméthylaminebenzaldéhyde	10ml
Acide chloridrique.....	50ml
Alcool amylique.....	150ml

Réactif de TDA

Chlorure de fer.....	80g/l
----------------------	-------

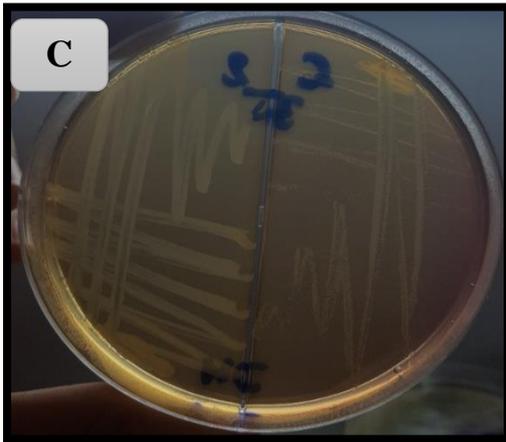
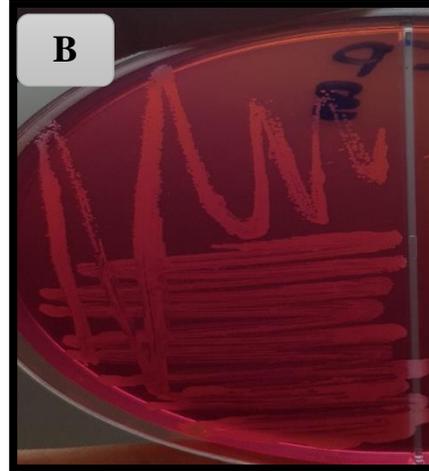
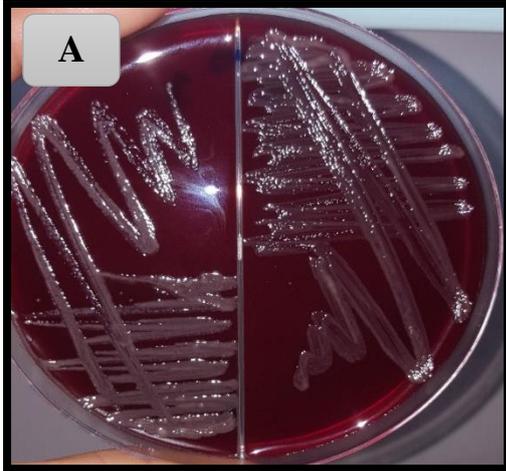
Bouillon cœur-cerveille BHIB

protéose-peptone.....	10,0 g
infusion de cervelle de veau.....	12,5 g
infusion de cœur de bœuf.....	5,0 g
glucose.....	2,0 g
chlorure de sodium.....	5,0 g
hydrogénophosphate de sodium.....	2,5 g
pH = 7,4	

Annexe 3 : observation macroscopique des différents isolats sur milieux Mac-Conkey, Chapman mannitol, et Gélose au sang

A : *staphylocoques à coagulase négatif*. **B** : *Acinetobacter baumannii*

C : *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas luotella*



Tbleau de lecture des résultats de galerie API 20E (bioMérieux SA,20

Tests	Composants Actifs	QTE	Réaction /Enzyme	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β D-galactopyranoside	0,223	β -galactosidase (Ortho NitroPhényl- β D -galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
ADH	L-arginie	1,9	Arginie Dihydrolase	Jaune	Rouge-orangé
LDC	L-lysine	1,9	Lysine-DiCarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
ODC	L-Ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
CIT	Trisodium citrate	0,756	Utilisation de CITrate	Vert pâle-jaune	Bleu-Vert-bleu
H2S	Sodium thiosulfate	0,075	Production d'H2S	Incolore-grisâtre	Dépôt noir-fin liseré
URE	Urée	0,76	UREase	Jaune	Rouge-orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane Désaminase	TDA-immédiat	
				Jaune	Marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	Production d'indole	JAMES-immédiate	
				Incolore Vert pâle-jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1,9	Production d'acétoine	VP1+VP2 /10min	
				Incolore-Rose pâle	Rose-rouge

GEL	Gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation-oxydation (GLUcose)	Bleu-bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol	1,9	Fermentation-oxydation (MANnitol)	Bleu-bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1,9	Fermentation-oxydation (INOsitol)	Bleu-bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	1,9	Fermentation-oxydation (SOR-bitol)	Bleu-bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	Fermentation-oxydation (RHAmnose)	Bleu-bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1,9	Fermentation-oxydation (SACcharose)	Bleu-bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1,9	Fermentation-oxydation (MELibiose)	Bleu-bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	1,57	Fermentation-oxydation (AMYgdaline)	Bleu-bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1,9	Fermentation-oxydation (ARABinose)	Bleu-bleu-vert	Jaune

Annexe 5 : Résultats de l'antibiogramme, et la capacité de former un biofilm des souches isolées des lentilles et boitiers des patients atteints de kératite.

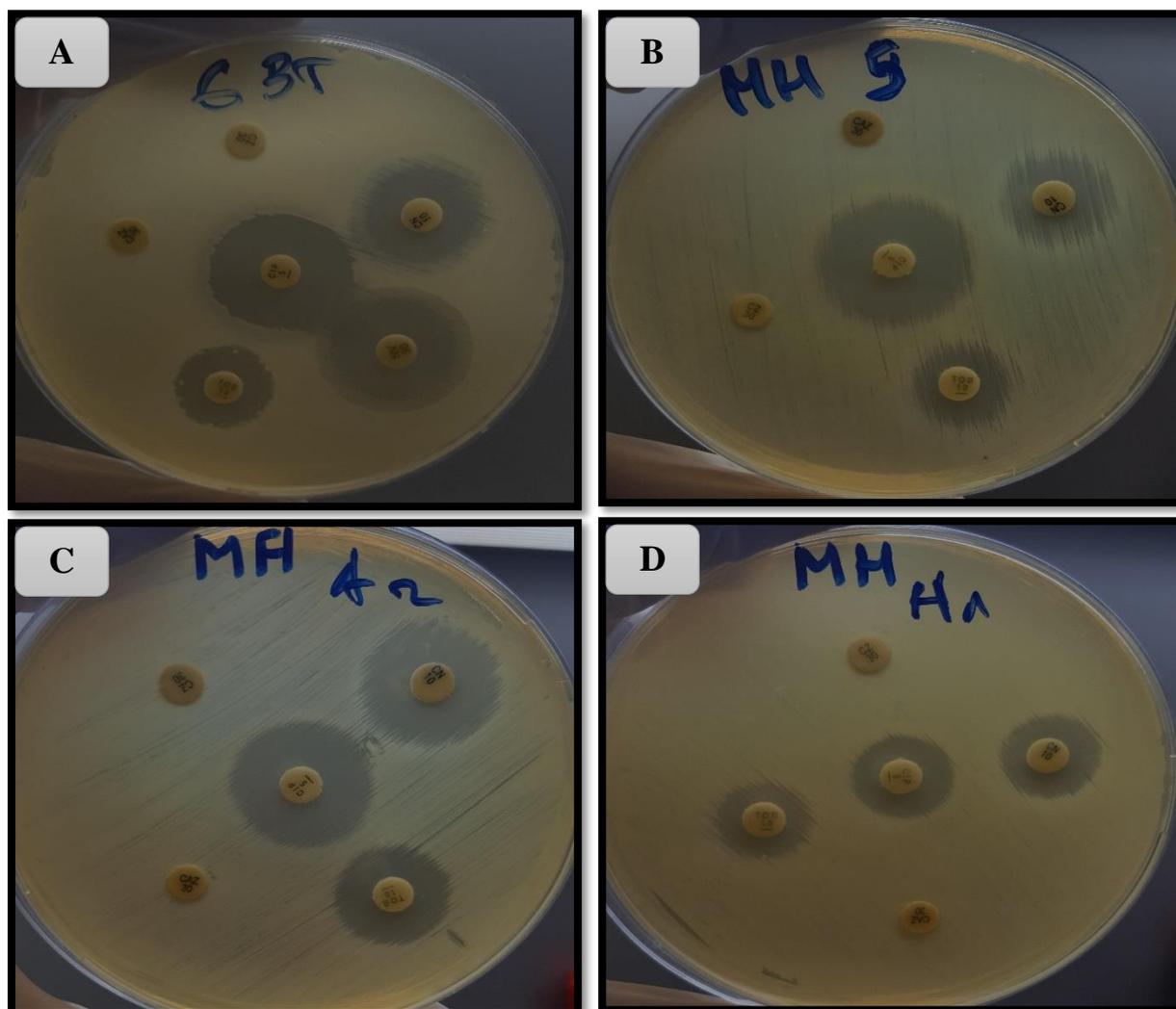
Prélèvement	Les souches	Les antibiotiques testés						biofilm	
	Gram -	CIP	CAZ	CZ	CN	TOB	NV	DO	Formation
LC K1	<i>p.Luteolus</i>	S	R	R	S	S	/	0,375	Modéré
LC K2	<i>A.baumannii</i>	S	R	R	S	S	/	0,427	Modéré
LC K3	<i>A.baumannii</i>	S	R	R	R	R	/	0,357	Modéré
LC K4	<i>A.baumannii</i>	S	R	R	R	R	/	0,393	Modéré
LC K5	<i>A.baumannii</i>	S	R	R	S	S	/	0,326	Modéré
LC K6	<i>p.fluorescens</i>	R	R	R	S	R	/	0,318	Modéré
LC K3	staphylococcus	S	R	R	S	S	S	0,208	Modéré
LC K4	staphylococcus	S	R	R	S	S	S	0,393	Forte
LC K5	staphylococcus	S	R	R	S	S	R	0,196	Négatif
Boitier 2	p.fluorescens	S	R	R	S	S	/	0,316	Modéré
Boitier 3	A.baumannii	S	R	R	S	S	/	0,404	Modéré
Boitier 4	p.fluorescens	R	R	R	S	S	/	0,231	Négatif
Boitier 6	p.fluorescens	S	R	R	S	S	/	0,21	Négatif
BT2	staphylococcus	S	R	R	S	S	S	0,282	Forte
BT6	staphylococcus	S	R	R	S	S	S	0,229	Modère

S : sensible, **R** : résistant. **DO** : densité optique. **CIP** : Ciprofloxacine, **CAZ** : ceftazidime, **CZ** : cefazolin, **CN** : Gentamicin, **TOB** : tobramycin, **NV** : Novobiocin. **BT** : boitier.
LC : lentille de contact. **D** : droit **G** : gauche.

Annexe 6 : Culture des lentilles de contact en bouillon nutritif.



Annexe 7 : résultat de l'antibiogramme.



A : staphylococcus , **B** *A.baumannii*, **C** :*Pseudomonas.fluorescens* .

D : *Pseudomonas luotella* .

