

Les kératites à *Acanthamoeba* sp: A propos de 3 cas diagnostiqués au centre tunisien.

Akila Fathallah*, Narjess Ben Rayana **, Leila Knani **, Sondos Gaied Meksi *, Fatma Saghrouni *, Mohamed Ghorbel **, FafaniBen Hadj Hamida **, Moncef Ben Said *

*. Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, **. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie.

A. Fathallah, N. Ben Rayana, L. Knani, S. Gaied Meksi, F. Saghrouni, M. Ghorbel, F. Ben Hadj Hamida, M. Ben Said

A. Fathallah, N. Ben Rayana, L. Knani, S. Gaied Meksi, F. Saghrouni, M. Ghorbel, F. Ben Hadj Hamida, M. Ben Said

Les kératites à *Acanthamoeba* sp. A propos de 3 cas diagnostiqués au centre tunisien.

Acanthamoeba keratitis. Report of 3 cases diagnosed in central Tunisia.

LA TUNISIE MEDICALE - 2010 ; Vol 88 (n°02) : 102 - 106

LA TUNISIE MEDICALE - 2010 ; Vol 88 (n°02) : 102 - 106

R É S U M É

Pré-requis : Les amibes du genre *Acanthamoeba* sont des protozoaires ubiquitaires qui vivent à l'état libre dans l'eau et le sol. Elles sont fréquemment incriminées dans les kératites amibiennes, mais leur isolement à partir des lésions cornéennes est souvent difficile.

But : Rapporter les trois premiers cas de kératite à *Acanthamoeba* sp. diagnostiqués au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'EPS Farhat Hached de Sousse (Tunisie), chez des patientes originaires du centre tunisien.

Observation : Notre étude a concerné 3 jeunes filles âgées de 17, 20 et 29 ans, porteuses de lentilles de contact et ayant présenté une kératite unilatérale (2cas) ou bilatérale (1cas). Le diagnostic a été porté sur la découverte de formes végétatives et/ou de kystes d'*Acanthamoeba* sp. à l'examen direct et/ou la culture des lentilles et du liquide de conservation. L'examen direct des écouvillonnages cornéens a été négatif dans les 3 cas et la culture positive dans un cas. Les 3 patientes ont été traitées par hexamidine et néomycine collyres durant 3mois. L'évolution a été marquée par la cicatrisation des lésions au prix cependant d'opacités séquellaires minimales (1cas), plus importantes (1cas), et d'un leucome central (1cas).

Conclusion : L'intérêt de la recherche systématique des amibes libres chez les porteurs de lentilles atteints de kératites est souligné.

S U M M A R Y

Background: Amoeba of the genus *Acanthamoeba* are ubiquitous free-living protozoa encountered in water and soil. They frequently cause sight-threatening keratitis.

Aim: report of the three first cases diagnosed at the laboratory of Parasitology of Sousse Hospital, (Tunisia).

Case report: Our study concern three lens-wearing female patients, aged 17, 20 and 29 years respectively. The patients originate from central Tunisia and presented with unilateral (2 cases) or bilateral (one case) keratitis. Diagnosis was made by demonstrating *Acanthamoeba* trophozoites and/or cysts on direct examination and/or culture (in agar - *Escherichia coli* medium) of contact lenses and/or lenses' solution. Direct examination of corneal swabs was negative in three cases but culture was positive in one. The three patients were treated with hexamidine and neomycine eye-drops for three months. Treatment led to scarring of lesions with however sequellar opacities that was minor to moderate in two cases and consisted of a central leucoma with a poor visual outcome in the last case.

Conclusion: The need for systematic research of amoeba in lenses wearing patients with keratitis is emphasized.

Mots - clés

Acanthamoeba - Kératite - Lentille - Sousse - Tunisie

Key - words

Acanthamoeba - Keratitis - Lenses - Sousse - Tunisia.

Les kératites amibiennes sont dues à l'infestation de la cornée par des amibes du genre *Acanthamoeba*, protozoaires ubiquitaires qui vivent à l'état libre dans l'eau (égouts, eaux de piscines, eau de mer) et le sol mais qui peuvent dans certaines conditions exprimer un pouvoir pathogène chez l'Homme [1,2]. Les kératites amibiennes sont rares mais graves, potentiellement cécitantes [3] car leur diagnostic est souvent tardif. Elles sont intimement associées au port de lentilles de contact (dans plus de 80 % des cas) [4]. Mais d'autres facteurs de risque sont incriminés, notamment le traumatisme par un agent végétal [5,6].

Nous rapportons les trois premiers cas de kératite à *Acanthamoeba* sp diagnostiqués au laboratoire de Parasitologie Mycologie de l'EPS Farhat Hached de Sousse chez des patientes originaires du centre tunisien.

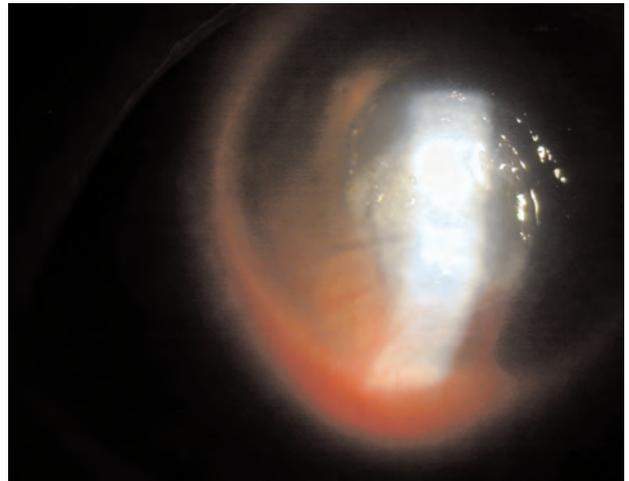
OBSERVATION N°1

Mademoiselle B. R., âgée de 29 ans, sans antécédents particuliers, a été hospitalisée dans le service d'ophtalmologie de l'EPS Farhat Hached de Sousse en Juin 2006, pour rougeur et douleur de l'œil droit en rapport avec un abcès cornéen droit. Le premier interrogatoire n'a pas relevé la notion de traumatisme ou de port de lentilles de contact. L'examen ophtalmologique initial a montré, du côté droit, une acuité visuelle réduite au comptage des doigts à 30 cm avec une bonne perception lumineuse, et a révélé un abcès cornéen central, arrondi, de 8 mm/6mm. Du côté gauche, l'acuité visuelle était de 10/10 et l'examen sans particularités. Devant l'allure bactérienne de l'abcès, un traitement topique par collyre antibiotique fortifié, à base de vacomycine (Vancocine®) et de gentamycine (Gentalline®), a été institué, à raison d'une goutte toutes les heures pendant 48 heures puis une goutte, 8 fois par jour pendant 15 jours. L'évolution a été marquée par une augmentation de la taille de l'abcès et l'apparition d'un hypopion (Fig.1 et 2).

Figure 1 : Observation no1- œil droit rouge avec cercle périkeratique, en rapport avec une kératite amibienne.

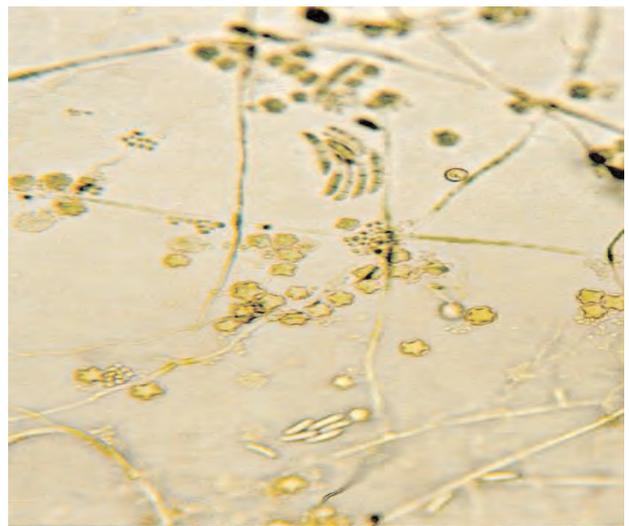


Figure 2 : Observation no1-Aspect à la lampe à fente : Abcès cornéen en voie de cicatrisation avec appel vasculaire inférieur.



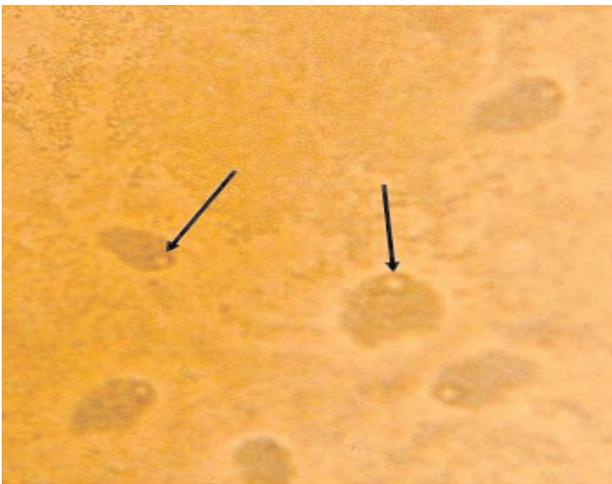
Deux semaines plus tard, la malade a reconnu et rapporté la notion de port de lentilles de contact colorées esthétiques appartenant à une amie, quelques jours avant le début de la symptomatologie. Devant la forte suspicion de l'origine amibienne de la kératite, un écouvillonnage cornéen a été pratiqué. L'examen direct était négatif mais après ensemencement sur gélose agar à 2 % (Bacto agar) recouverte d'une suspension d'*Escherichia coli*, l'examen microscopique a retrouvé après 5 jours d'incubation à 30° C, quelques trophozoïtes et kystes d'*Acanthamoeba* sp. L'examen parasitologique des lentilles utilisées par la malade, ainsi que du liquide de l'étui, a montré dès l'examen direct de nombreux kystes d'*Acanthamoeba* sp, ainsi que des filaments mycéliens avec des macroconidies en fuseau d'un *Fusarium* sp (Fig.3).

Figure 3 : Examen direct du liquide de conservation des lentilles de la patiente no1 : nombreux kystes d'*Acanthamoeba* sp, filaments mycéliens et macroconidies en fuseau de *Fusarium* sp.(x 400).



Les cultures sur milieu agar des lentilles et du liquide de l'étui ont montré, dès le lendemain, de très nombreuses formes végétatives d'*Acanthamoeba* sp. (Fig. 4). Un traitement à visée anti-amibienne et antimycosique a été alors institué : hexamidine (Désomédine®) collyre à raison d'une goutte toutes les heures pendant 30 jours puis 8 gouttes par jour pendant 3 mois, néomycine collyre à raison d'une goutte 6 fois par jour pendant 30 jours, et fluconazole (Triflucan®) intraveineux (200 mg/jour) pendant 15 jours. L'évolution a été marquée par la disparition de l'hypopion et de l'abcès et la cicatrisation cornéenne au prix d'un leucome central pour lequel une kératoplastie transfixiante (greffe de cornée) est envisagée.

Figure 4 : Culture à J5 des lentilles de la patiente n°1 : formes végétatives d'*Acanthamoeba* sp. Noter les vacuoles pulsatiles (flèches) (x 400).



OBSERVATION N° 2

Mademoiselle G.I., âgée de 20 ans, myope forte corrigée par lentilles de contact, a été hospitalisée en urgence, en Juillet 2006, pour douleur et rougeur oculaire bilatérales évoluant depuis 2 jours. L'examen ophtalmologique a noté une acuité visuelle à 5/10 des deux côtés, une rougeur périkeratique bilatérale, une kératite ponctuée superficielle périphérique, annulaire, plus marquée du côté droit et associée à un œdème cornéen épithélial. Le reste de l'examen a été sans particularités. L'origine amibienne de la kératite est suspectée devant la bilatéralité de l'atteinte, l'aspect clinique de la kératite et la notion de port de lentilles de contact.

L'écouvillonnage conjonctival a été négatif à l'examen direct et à la culture sur milieu agar. En revanche, l'examen parasitologique direct des lentilles et de leur liquide de conservation ainsi que leur culture, ont révélé de nombreuses formes végétatives et kystiques d'*Acanthamoeba* sp (Fig. 5 et 6). Un traitement topique par hexamidine et néomycine collyres (une goutte toutes les heures) a été institué pendant 1 mois puis par hexamidine seule (8 fois par jour) pendant 3 mois. Une

amélioration nette de la symptomatologie fonctionnelle et de l'état cornéen a été constatée. L'examen un mois plus tard a noté la présence de quelques petites opacités séquellaires superficielles au niveau de l'œil gauche sans altération fonctionnelle visuelle.

Figure 5 : Examen direct des lentilles de contact de la patiente n° 2 montrant un trophozoite d'*Acanthamoeba* sp avec sa vacuole pulsatile bien visible (Giemsa x 400).

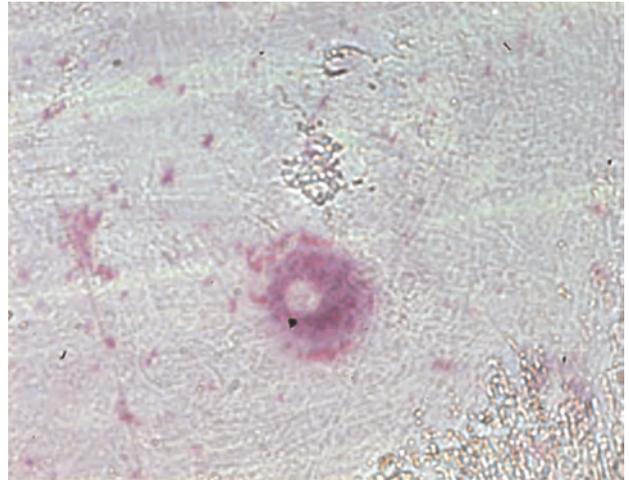


Figure 6 : Culture des lentilles de la patiente n° 2 montrant de nombreux kystes arrondis d'*Acanthamoeba* sp. (x 400).

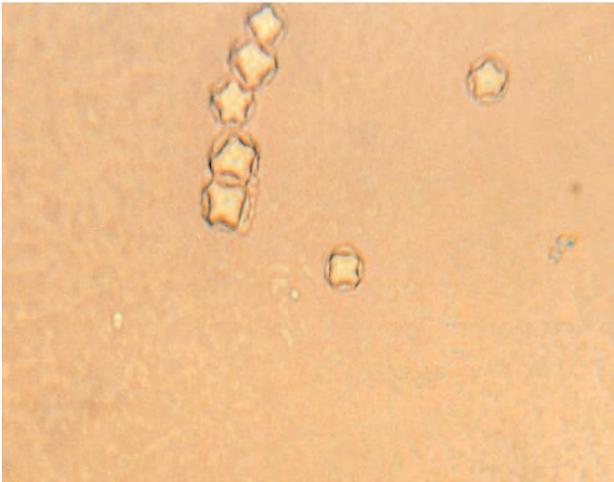


OBSERVATION N° 3

Mademoiselle A. N., âgée de 17 ans, sans antécédents pathologiques notables, a consulté en septembre 2006 pour rougeur et douleurs oculaires gauches évoluant depuis une dizaine de jours. Elle était myope et portait des lentilles de contact. L'examen ophtalmologique initial a révélé la présence

de deux abcès cornéens gauches, centraux, de 3 mm et 5 mm de diamètre et d'un œdème cornéen épithélial diffus. L'acuité visuelle était réduite à la perception lumineuse. L'examen de l'œil controlatéral a été sans particularités. L'origine amibienne des abcès a été fortement suspectée avec surinfection bactérienne probable. L'examen parasitologique direct et la culture des lentilles de contact ainsi que leur liquide de conservation, ont révélé la présence de kystes et de trophozoites d' *Acanthamoeba* sp. (Fig. 7).

Figure 7 : Culture des lentilles de contact de la patiente n  3 : nombreux kystes polygonaux et étoilés d' *Acanthamoeba* sp.(x 400).



La malade a été hospitalisée et un traitement associant antiseptiques et antibiotiques par voie locale et générale a été mis en route : hexamidine et néomycine collyres, collyre fortifié (vacomycine + gentamycine) toutes les heures pendant 1 mois et céfotaxime – fosfomycine en intraveineux pendant 15 j. Le traitement d'entretien par hexamidine collyre a été maintenu pendant 3 mois (8 fois par jour).

L'évolution a été marquée par un nettoyage des deux abcès et la cicatrisation de la cornée au prix d'opacités séquellaires réduisant l'acuité visuelle à 2/10.

DISCUSSION

Depuis le premier cas de kératite amibienne secondaire à un traumatisme oculaire et diagnostiqué en 1973 au Sud Texas [7], le nombre de cas n'a cessé de croître dans le monde. Cette augmentation a été nette après 1981, probablement en rapport avec la popularisation des lentilles souples, surtout dans les pays industrialisés, qui a généré des pratiques d'entretien inadaptées [5,8]. Dans la majorité des cas, la kératite est due aux microtraumatismes cornéens liés au port de lentilles de contact comme cela a été le cas pour nos trois malades. Ce facteur de risque serait responsable de plus de 85 % des cas [1,5,9]. Pour le reste des cas, il s'agit d'un traumatisme oculaire, le plus souvent par un agent végétal [10].

- Les amibes libres du genre *Acanthamoeba*, sont très répandues dans la nature. Ce sont des protozoaires pour lesquels on décrit deux stades : le trophozoite mobile, qui est la forme de multiplication et le kyste, qui est la forme de résistance et de dissémination [1]. Ces deux formes peuvent contaminer les lentilles de contact mal entretenues ainsi que les liquides d'entretien. Toutefois les infections cornéennes patentes restent rares, nos trois cas constituent avec les deux cas diagnostiqués récemment à Sfax (sud de la Tunisie)[11], les 5 premiers cas de kératites amibiennes prouvées parasitologiquement dans notre pays. La contamination des lentilles de contact par les amibes semble beaucoup plus fréquente que ne le laisse supposer le nombre de kératites amibiennes avérées [12]. En effet, 5 % des boîtiers de patients asymptomatiques porteurs de lentilles de contact seraient contaminés par des amibes [12]. L'adhérence de l'amibe à la surface des cellules épithéliales jouerait un rôle important [13,14] et serait favorisée par une lésion traumatique de l'épithélium cornéen ; dans un second temps il y a invasion du stroma cornéen avec développement d'une réaction inflammatoire, suivie de nécrose stromale [13,15].

- Sur le plan clinique, les kératites amibiennes se manifestent par des signes fonctionnels bruyants : douleur oculaire intense, photophobie, larmoiement, sensation de corps étranger et baisse de la vision. A l'examen, différents aspects peuvent être rencontrés : lésions dendritiques ou ponctuées superficielles (observation n 2) , kératite disciforme, pouvant faire penser à une kératite herpétique [5,16], ou atteinte épithéliale superficielle sous la forme de dépôts granuleux intra-épithéliaux. Ces formes non spécifiques sont trompeuses et retardent le diagnostic. D'autres aspects sont beaucoup plus évocateurs de l'origine amibienne comme la kérato-névrite radiaire qui se présente sous la forme d'infiltrats sur le trajet des nerfs sous-épithéliaux et s'étendent vers le limbe de façon radiaire ; ainsi que l'aspect annulaire des infiltrats [16].

- Le diagnostic repose sur l'isolement des amibes qui sont recherchées au niveau des prélèvements par grattage cornéen ou biopsie cornéenne et au niveau des boîtiers des lentilles de contact [5]. La qualité du prélèvement est essentielle car les *Acanthamoeba* se trouvent en périphérie et en profondeur de la lésion, et le simple écouvillonnage est rarement suffisant et peu adapté au diagnostic ; en effet, deux parmi nos 3 malades ont subi un écouvillonnage et un seul s'été révélé positif. Le grattage cornéen ou mieux la biopsie cornéenne sont plus fiables mais plus invasifs [4]. Aussi, la culture sur gélose agar recouverte d'*Escherichia coli* qui représente le substratum nutritif des trophozoites est-elle nécessaire. Elle a été positive chez nos 3 patientes où elle a mis en évidence les deux stades de l'amibe : les trophozoites de 15 – 40  m reconnaissables à leurs acanthopodes, pseudopodes hyalins très minces et très caractéristiques du genre *Acanthamoeba* [10] et les kystes de 11 à 20  m, à double paroi dont la forme peut être polygonale et  toil e (fig.3 et 7) ou plus ou moins ronde (fig.6). Toutefois, avec une culture positive à partir de lentilles ou de liquide du boîtier avec un prélèvement oculaire négatif ne permet pas nécessairement d'affirmer l'origine amibienne de la kératite. En effet, vu le caractère ubiquitaire de ces amibes, cette situation peut correspondre à une simple contamination exogène des lentilles,

d'où l'intérêt des techniques de biologie moléculaire et notamment la PCR qui sont plus spécifiques et plus sensibles [17,18] et qui permettent un diagnostic plus précis en identifiant l'espèce responsable. La microscopie confocale qui permet de mettre en évidence les amibes dans le stroma cornéen et de mieux localiser les sites de prélèvement ne peut être proposée en routine [17]. Le *Fusarium* découvert dans les prélèvements de la première patiente, s'il peut correspondre à une contamination exogène, il peut tout aussi bien être impliqué dans le processus pathogène ayant abouti à une aggravation des lésions comme en témoigne la persistance du leucome séquellaire.

• En l'absence de traitement, l'évolution des kératites amibiennes est chronique s'étendant sur plusieurs mois avec des périodes de rémissions temporaires. Cette évolution est émaillée de complications : surinfection (observations n°1 et n°3), descemetocèle, perforation cornéenne et endophtalmie amibienne. Le traitement doit être précoce pour éviter les séquelles cicatricielles majeures qui empêchent une bonne récupération visuelle, situation bien illustrée par le cas de notre patiente n°1 qui a gardé un leucome central. Le traitement associe en général un antiseptique cationique tel que le PHMB (polyhexaméthylène biguanide) à un dérivé des diamines tel que l'isethionate de propamidine (Brolène 0,1 %R) ou l'hexamidine di-isethionate (Désomédine®) et le rythme des instillations est de une goutte par heure les premiers jours, à diminuer progressivement. La durée totale est de 3 à 6 mois en moyenne [5]. Un collyre antibiotique peut être associé pour éviter les surinfections bactériennes. Le traitement par voie

générale est indiqué s'il y a un risque d'endophtalmie. Il repose sur les imidazolés [5]. Nos 3 patientes ont été traitées par hexamidine et néomycine collyres ; chez la première patiente un traitement antimycosique a été associé après la découverte d'un *Fusarium* sp au sein des lentilles et de leur boîtier.

En cas de séquelles majeures, la réhabilitation visuelle ne peut être obtenue que par kératoplastie transfixiante (greffe de cornée), qui est envisagée pour la première patiente. Le devenir du greffon est, cependant, très menacé par le risque de rejet et le risque de récurrence d'autant plus que la greffe est réalisée sur un œil encore inflammatoire [5,16].

CONCLUSION

La kératite à *Acanthamoeba* sp. est une affection rare mais grave dont le pronostic dépend essentiellement de la précocité du traitement. A cause du caractère ubiquitaire des amibes libres, il est difficile de définir les facteurs prédisposants à cette affection ; cependant il est démontré que le port de lentilles de contact est un facteur de risque majeur (présent dans 85% des cas) qu'il est impératif de toujours rechercher à l'interrogatoire. Le diagnostic de la kératite amibienne ; basé sur l'isolement des amibes. L'intérêt de la recherche systématique des amibes libres chez les porteurs de lentilles atteints de kératites est souligné, mais leur isolement à partir des lésions cornéennes est souvent difficile. Les techniques de biologie moléculaire (PCR) et d'imagerie devraient permettre un diagnostic et une prise en charge plus précoces.

RÉFÉRENCES

1. Debbach C, Chaumeil C, Battelier L, Scat Y. Etude rétrospective sur deux ans de 344 patients ayant consulté pour une lésion cornéenne et chez lesquels une recherche d'amibes libres a été effectuée. *J Fr Ophtalmol* 1999; 22: 848-852.
2. Marciano-Cabral F, Puffenbarger R, Cabral G. The increasing importance of *Acanthamoeba* infections. *J Eukaryot Microbiol* 2000; 47: 29-36.
3. Alisadeh H, Neelman S, Hurt M, Niederkorn JY. Role of contact lens wear, bacterial flora, and mannose-induced pathogenic protease in the pathogenesis of amoebic keratitis. *Infect Immun* 2005; 73:1061-1068.
4. Cabral FM, Cabral G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev*, 2003; 16 : 273-307.
5. Cardine S, Bourcier T, Chaumeil C, et al. Pris en charge clinique et pronostic des kératites amibiennes : Etude rétrospective à propos de 25 cas. *J Fr Ophtalmol* 2002 ; 25 :1007-1013.
6. Chynn EW, Lopez MA, Pavan-Langston D, Talamo JH. *Acanthamoeba* keratitis. Contact lens and noncontact lens characteristics. *Ophthalmology* 1995 ; 102 :1369-1373.
7. Jons DB, Visvesvara GS, Robinson NM. *Acanthamoeba polyphaga* keratitis and *Acanthamoeba* uveitis associated with fatal meningoencephalitis. *Trans Ophtalmol Soc UK* 1975; 95 : 221-232.
8. Illingworth CD, Cook SD, Karabatsas CH, Easty DL. *Acanthamoeba* keratitis: risk factor and outcome. *Br J Ophtalmol* 1995; 79: 1078-1082.
9. Stehr-Green JK, Bailey TM, Vivesvara GS. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *Am J Ophtalmol* 1989; 107: 331-336.
10. Lakomy D, Soulie M, Bador J, et al. Une kératite à amibes libres chez un non porteur de lentilles de contact. *Ann Biol Clin* 2005 ; 63: 531-534.
11. Ben Salah S, Makni F, Cheikrouhou f, et al. Les kératites amibiennes: à propos des deux premiers cas tunisiens. *Bull Soc Pathol Exot* 2007 ;100 : 1, 41- 42.
12. Leluan P, Liotet S, Batellier L, Chaumeil C. Contamination amibienne et bactérienne des étuis de lentilles de contact en France (étude de 32 cas de kératites et de 63 porteurs sains). *Contactologia* 1991; 13: 137-141.
13. Clarke DW, Niederkorn JY. the pathophysiology of *Acanthamoeba* keratitis. *Trends Parasitol* 2006; 22: 175-180.
14. Larkin DFP, Easty DL. Experimental *Acanthamoeba* keratitis: I Preliminary findings. *Br J Ophtalmol* 1990; 74: 551-555.
15. Garnier A. Pathogenesis of *Acanthamoeba* keratitis: hypothesis based on a histological analysis of 30 cases. *Br J Ophtalmol* 1993; 77: 366-370.
16. Illingworth CD, Cook SD. *Acanthamoeba* keratitis. *Surv Ophtalmol* 1998; 42 :493-508.
17. Naacke H, Bourcier T, Chaumeil C, et al. Nouveaux outils diagnostiques dans la kératite amibienne : PCR et microscopie confocale. *J Fr Ophtalmol* 2002 ; 25(5) : 111-112.
18. Pasricha G, Sharma S, Garg P, Aggawal RK - Use of 18S rRNA gene-based PCR assay for diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis in non-contact lens wearers in India. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3206-3211.