

Profil microbiologique des abcès mycosiques dans un centre de référence en Tunisie.

Microbiologic profil of the mycosic abscess on a reference center in Tunisia.

Olfa Fekih¹, Omar Haj Said¹, Hsouna Mehdi Zgolli¹, Sonya Mabrouk², Kais Bakir¹, Leila Nacef¹

1-IHORT/ Service A/ Université Tunis El Manar/ Faculté de Médecine de Tunis

2- IHORT/ Service A/ Université du centre/ Faculté de Médecine de Sousse

RÉSUMÉ

Objectif : Vu l'augmentation des cas de kératite fongique au cours des dernières années du fait de l'usage intempestif d'antibiotiques à large spectre et de corticoïdes d'une part et de l'émergence de la contactologie d'autre part, cette étude a été réalisée dans le but de mieux comprendre le profil microbiologique des kératites fongiques notamment en fonction des facteurs de risque dans un centre de référence en Tunisie.

Méthodes : Nous rapportons une étude rétrospective portant sur 43 patients (45yeux) hospitalisés pour abcès cornéen d'origine mycosique entre Janvier 2007 et décembre 2017. Tous les patients ont bénéficié d'un prélèvement cornéen par grattage avec examen direct et culture.

Résultats : 482 patients atteints d'abcès cornéens étaient pris en charge au service d'Ophtalmologie de l'institut Hédi Raies A de Tunis. 45 yeux de 43 patients consécutifs étaient atteints de kératomycose, soit 9,3%. L'examen direct était positif dans 71.1% des cas et la culture dans 73.3% des cas isolant dans 78.8% des cas des filaments : le fusarium étant l'espèce la plus retrouvée soit chez 39.4% des patients. Les levures étaient plus fréquemment retrouvées en cas de pathologie de surface associée ou d'immudépression locale ou générale.

Conclusion : Il est important d'orienter le diagnostic microbiologique d'une kératite mycosique en fonction du contexte clinique notamment en cas de négativité des prélèvements à fin d'instaurer un traitement adapté pour améliorer le pronostic de cette pathologie ; une des formes des kératites infectieuses les plus difficiles à gérer.

Mots-clés

Kératite fongique, cornée, microbiologie, prélèvement

SUMMARY

Aim: Given the increase in cases of fungal keratitis in recent years due to the inadvertent use of large -spectrum antibiotics and corticosteroids on the one hand and the emergence of contactology on the other hand, this study has been carried out in order to better understand the microbiological profile of fungal keratitis, particularly as a function of risk factors in a referral center in Tunisia.

Methods: We report a retrospective study of 43 patients (45eyes) hospitalized for fungal corneal abscess between January 2007 and December 2017. All patients benefited from corneal sampling by scraping the cornea with direct examination and culture.

Results: During the study period, 482 patients with corneal abscess were treated at the Ophthalmology Department of the Hédi Raies A Institute in Tunis. 45 eyes of 43 consecutive patients had keratomycosis (9.3%). The direct examination was positive in 71.1% of the cases and the culture in 73.3%. In 78.8% of the cases filaments were isolated: the fusarium being the most found species is in 39.4% of the patients particularly in cases of ocular trauma. Yeast species were more frequently found in surface pathology or local or general deficiency.

Conclusion: It is important to guide the microbiological diagnosis of mycotic keratitis according to the clinical context, particularly in the case of negativity of the samples in order to establish a suitable treatment to improve the prognosis of this pathology, which represents one of the most difficult forms of infectious keratitis to manage.

Key-words

Fungal keratitis, Cornea, Microbiology, Sample

INTRODUCTION

La kératite fongique ou kératomycose est une pathologie peu fréquente dans les pays tempérés mais grave engageant le pronostic visuel.

En Tunisie, l'incidence de cette pathologie n'est pas connue de façon précise, cependant nous avons observé ces dernières années une recrudescence de cette affection du fait de l'usage intempestif d'antibiotiques à large spectre et de corticoïdes d'une part et de l'émergence de la contactologie d'autre part.

Le but de notre travail était d'étudier le profil microbiologique des kératites fongiques notamment en fonction des facteurs de risque et de la présentation clinique dans un centre de référence en Tunisie.

MÉTHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 43 patients (45yeux) hospitalisés pour abcès cornéen d'origine fongique au service A du Pr Leila Nacef de l'institut Hédi Raies d'ophtalmologie de Tunis, sur une période de 11 ans allant du mois de Janvier 2007 au mois de Décembre 2017.

Ont été inclus dans notre travail les patients présentant :

Un abcès de cornée dont l'origine mycosique a été :

- Soit confirmée par culture.
- Soit présumé d'origine mycosique devant : les circonstances de survenue, la nature de l'agent vulnérant, l'aspect de l'ulcération, les lésions satellites, la négativité des prélèvements mycologiques et bactériologiques avec bonne réponse au traitement antifongique).

· Premier épisode ou récurrence

Ont été éliminés de notre travail les patients présentant :

- Les abcès avec un prélèvement bactériologique positif et ayant bien répondu au traitement antibiotique
- Les abcès avec un prélèvement cornéen négatif et dont les aspects cliniques évoquaient une cause bactérienne, parasitaire ou virale surinfectée.

Tous les patients ont bénéficié d'un examen ophtalmologique complet et au terme de cet examen nous avons classé les abcès cornéens en 3 grades selon le degré de gravité comme suit :

Grade1 :

- Diamètre de l'ulcère inférieur à 3 mm.
- Profondeur de l'ulcère inférieure à 20% de l'épaisseur cornéenne.
- Absence d'inflammation de la chambre antérieure.

Grade2 :

- Diamètre de l'ulcère entre 3 et 5 mm.
- Profondeur de l'ulcère comprise entre 20 et 50% de l'épaisseur cornéenne.
- Absence d'inflammation de la chambre antérieure.

Grade 3 :

- Diamètre de l'ulcère supérieur à 5 mm.
- Profondeur de l'ulcère supérieure à 50% de l'épaisseur cornéenne.
- Inflammation endo oculaire.

Tous les patients ont bénéficié d'un prélèvement cornéen : grattage cornéen profond au niveau de la base et des berges de l'infiltrat cornéen si possible avant tout traitement anti-infectieux, et après rinçage de la surface oculaire au NaCl 0,9 % stérile.

Un examen mycologique direct à la potasse à 30 % et un ensemencement sur un milieu de Sabouraud Chloramphénicol est nécessaire.

Les cultures étaient incubées à 30° et à 37° et régulièrement surveillées. Un examen bactériologique sur gélose chocolat est systématiquement pratiqué à la recherche d'une co- infection bactérienne.

Pour les porteurs de lentilles de contact, un examen microbiologique a été effectué par la mise en culture des lentilles, du liquide de conservation et du boîtier. Les facteurs de risque suivants ont été enregistrés pour chaque cas : traumatisme, port de lentilles de contact, chirurgie antérieure de la cornée, diabète, pathologie de la surface oculaire , corticoïdes .

- Nous avons classé comme étant de mauvais pronostic les patients dont l'AV finale était inférieure à 1/10, la survenue d'une complication oculaire et ou la cicatrisation dans un délai supérieure à 8 semaines.

Nous avons également conduit une étude analytique, en comparant des effectifs et des moyennes.

Les tests statistiques suivants ont été utilisés :

- Pour les comparaisons d'effectifs nous avons utilisé le test exact bilatéral de Fisher et le tau-b de Kendall (tests adaptés aux faibles effectifs).

Ø Pour les comparaisons des moyennes nous avons utilisé le test t de student pour les échantillons indépendants.

- Pour les variables qui ne suivaient pas la loi normale nous avons utilisé le test de u Mann-Whitney.

Pour l'analyse multivariée nous avons utilisé l'analyse par la régression ordinale technique employée pour les variables ordinales.

Dans tous les tests le seuil de signification a été fixé à 0,05.

RÉSULTATS

L'examen direct était positif dans 32 yeux (71,1%) et négatif dans 13 yeux (28, 9%). Il a permis d'isoler des filaments mycéliens dans 60% (27 yeux) et des levures dans 11,1% cas. Les cultures étaient positives dans 33 yeux (73,3%) et négatives dans 12 yeux (26,7%). Le fusarium a été l'espèce la plus fréquemment isolée dans 39,4% (13 yeux) (tableau 1). Une co-infection bactérienne a été retrouvée dans 33% des cas (15yeux). Les germes isolés étaient le pseudomonas aeruginosa dans 2 yeux (4,4%), le staphylococcus epidermidis dans 10 yeux (22,2%) et le streptococcus miti S dans 3 yeux (6,6%). Nous avons tout d'abord étudié le lien entre le taux de positivité des prélèvements et l'aspect clinique de l'ulcère (tableau 2). Nous avons également étudié la répartition microbiologique de ces kératites fongiques en fonction de la gravité de l'abcès ce qui a permis de mettre en évidence que le fusarium était incriminé dans 60% des cas (9 patients) dans les abcès grade 3 (15 patients), le candida dans 4 cas, l'aspergillus dans 1cas et l'acremonium dans 1 cas. Quant aux abcès grade 2 on retrouve que l'aspergillus était incriminé dans 43,7% des cas suivi du fusairum dans 25% des cas.

Tableau 1: Profil mycosique des patients.

Mycoses	Nombre d'yeux	Pourcentage %
Filamenteux	26	78,8
Fusariumsolani	13	39,4
Aspergillus flavus	6	18,2
Aspergillus fumigatus	2	6
Aspergillus niger	1	3
Acremoniumsp	2	6
Cladosporium	1	3
Alternaria	1	3
Levures	7	21,2
Candida albians	6	18,2
Candida krusei	1	3

Tableau 2: Relation entre les aspects cliniques des ulcères et la positivité des prélèvements

	Cultures Positives (n =33)	Négatives (n=12)	P
Aspects cliniques			
Taille ulcère			
<3mm	2 (66%)	1 (34%)	0,616*
>3mm	31 (72%)	11 (28%)	
Localisation ulcère			
Centrale	23 (76,6%)	7 (23,4%)	0,267*
Paracentrale	7 (85,3%)	5 (14,7%)	
Périphérique	3 (100%)	0	
Infiltrat stromale			
<50%	10 (83%)	2 (17%)	0,466*
>50%	23 (70%)	10 (30%)	

Nous avons également étudié la répartition microbiologique en fonctions des facteurs de risque associés ce qui a permis de mettre en évidence tout d'abord que le facteur de risque le plus fréquemment retrouvé était le traumatisme oculaire (13 yeux), notamment végétal (6 yeux) et que le fusarium était le germe le plus isolé dans les abcès mycosiques compliquant les traumatismes, le reste de la répartition en fonction des facteurs de risque est résumé dans le (tableau 3).

L'étude du mode évolutif en fonction du champignon a révélé que parmi les 13 yeux qui avaient une kératite à Fusarium, 69,2% ont évolué vers la guérison, 3 yeux (23%) vers la perforation, et 1 œil (7,7%) vers l'endophtalmie. Nous avons également étudié l'association entre le type de champignon et l'évolution vers la perforation : Le champignon responsable était le Fusariumsolani dans 3 yeux (42,9%), le candida dans 2 yeux (28,6%), l'Acromonium dans 1 œil (14,3%) et la culture était négative dans un œil. Quant aux résultats fonctionnels, nous avons noté le plus grand taux de dégradation de l'acuité visuelle après prise en charge thérapeutique dans le groupe fusarium : 11.1% des cas.

Nous avons par la suite procédé à l'analyse univariée pour étudier la corrélation entre la nature du champignon et le pronostic ce qui a permis de retrouver que le Fusarium était corrélé à un mauvais pronostic (P=0.009) (tableau 4).

Tableau 3: Analyse des genres des champignons en fonction des facteurs de risque

Mycoses	Fusarium	Aspergillus	Candida	Acremonium	Cladosporium	Alternaria
Facteurs de risques						
Traumatisme	7 (46,6%)	5 (33,3%)	2 (13,3%)	0	1 (6,6%)	0
Lentille de contact	3 (50%)	1 (16,6%)	1 (16,6%)	0	0	1 (16,6%)
Facteurs locaux	0	0	6 (100%)	0	0	0
Corticoïdes locaux	3 (33,3%)	5 (55,5%)	0	1 (11,1%)	0	0
Chirurgie oculaire	0	1 (25%)	3 (75%)	0	0	0
Facteurs généraux	3 (25%)	3 (25%)	6 (50%)	0	0	0

Tableau 4 : Corrélation entre la nature du champignon et les critères pronostiques.

Pronostic	Bon	Mauvais	P
Classification			
Fusarium	3(6,7%)	10 (22,2%)	0,009**
Candida	3(6,7%)	4(8,9%)	-
Aspergillus	7(15,6%)	2(4,4%)	0,185*

L'analyse multivariée, suite à l'introduction des facteurs significatifs dans l'analyse univariée a permis également de retrouver le genre *Fusarium* comme facteur de mauvais pronostic indépendant (coefficient -2.69, $p=0.016$, intervalle de confiance (IC) [-4.873,-0.506])

DISCUSSION

La kératite mycosique est une pathologie grave qui engage le pronostic visuel. Sa prise en charge se heurte à plusieurs difficultés. Le diagnostic microbiologique est indispensable devant toute suspicion de kératomycose. En effet les caractéristiques cliniques chevauchantes des agents étiologiques des kératites rendent difficile leurs distinctions sur l'aspect clinique seul.

En raison de la prédilection des champignons à pénétrer dans les couches les plus profondes de la

cornée, le prélèvement cornéen doit reposer sur un grattage cornéen profond, réalisé par l'ophtalmologiste à la lampe à fente. La mise en culture du prélèvement cornéen reste le gold standard pour le diagnostic positif des kératomycoses même si actuellement il est possible de recourir aux techniques moléculaires notamment l'amplification génique par PCR qui présente l'avantage de réduire significativement le temps nécessaire pour établir le diagnostic. Cependant, la main d'œuvre qualifiée et le facteur coût sont la cause de la restriction de cette technique dans plusieurs pays notamment en Tunisie.

La microscopie confocale représente une technique permettant l'étude in vivo de la cornée : les champignons filamenteux sont identifiables sous la forme de filaments intrastromaux de 6 μm de diamètre et de 60 à 400 μm de longueur, les levures apparaissent comme des structures rondes hyper réfléchives mais la microscopie confocale reste un test de diagnostic subjectif car opérateur dépendant avec une spécificité de 93% et une sensibilité de 89% (1).

Dans notre série, la culture était positive dans 73,3% des yeux, les champignons filamenteux étaient prédominants (57,7%) comparativement aux levures (15,6%). Parmi les champignons filamenteux, le *Fusarium* était l'agent le plus retrouvé.

Concernant les levures, les candidas étaient isolés dans 100% des cas.

Nos résultats étaient similaires à la plupart des séries tunisiennes (2,3,4a healing time of less than 3 weeks from

presentation was considered a good result. Mean follow up was 10.4 months.
RESULTS: Risk factors for fungal keratitis included ocular trauma in 13 patients (43.3%) , dans les pays en voie de développement (5,6a healing time of less than 3 weeks from presentation was considered a good result. Mean follow up was 10.4 months.
RESULTS: Risk factors for fungal keratitis included ocular trauma in 13 patients (43.3%) et dans les climats tropicaux (7,8a healing time of less than 3 weeks from presentation was considered a good result. Mean follow up was 10.4 months.
RESULTS: Risk factors for fungal keratitis included ocular trauma in 13 patients (43.3%) contrairement au pays développés et dans les pays à climat tempéré ou la kératite mycosique à Candida est la plus fréquente (9a healing time of less than 3 weeks from presentation was considered a good result. Mean follow up was 10.4 months.
RESULTS: Risk factors for fungal keratitis included ocular trauma in 13 patients (43.3%) .

Nous avons retrouvé également dans notre série que le facteur de risque de survenue de kératomycose le plus incriminé est le traumatisme oculaire notamment par un agent végétal. Quant au port de lentilles de contact, facteur fréquemment retrouvé dans les pays développés (10a healing time of less than 3 weeks from presentation was considered a good result. Mean follow up was 10.4 months.
RESULTS: Risk factors for fungal keratitis included ocular trauma in 13 patients (43.3%) il n'a été noté que dans 6 yeux (13,3%) dans notre série.

Dans les deux cas, nous avons noté une prédominance des filaments notamment le fusarium qui était l'espèce la plus fréquemment isolé en cas de traumatisme ou de port de lentille de contact. Ceci est du au fait que ces champignons ne pénètrent pas un épithélium cornéen intact et l'invasion est généralement secondaire à une effraction cornéenne.

Par opposition aux levures qui n'exercent leur pouvoir pathogène qu'en présence d'un facteur d'immunodépression locale (acte chirurgical, lésion cornéenne, antibiothérapie, pathologie de surface, corticothérapie locale) ou un terrain d'immunodépression tel que le diabète (11a healing time of less than 3 weeks from presentation was considered a good result. Mean follow up was 10.4 months.
RESULTS: Risk factors for fungal keratitis included ocular trauma in 13 patients (43.3%) ce qui concorde avec les résultats de notre étude. Concernant le pronostic, nous avons retrouvé dans notre série que le genre Fusarium était corrélé à un mauvais

pronostic ($p=0,009$). Des résultats similaires ont été trouvés dans la série de Vumiganti (12) ou le Fusarium était identifié comme facteur de risque de perforation cornéenne. Xie et al, dans leur étude ont montré que parmi les 28 yeux ayant évolué vers la phtyose, 24 (85,7%) étaient atteints par le genre Fusarium (13). Cependant, Prajna et al ont identifié l'Aspergillus comme agent corrélé à un mauvais pronostic (14).

Les points forts de notre étude sont essentiellement le nombre plus élevée de patients en comparaison avec les autres séries tunisiennes, la positivité des prélèvements dans un bon nombre de cas grâce à un laboratoire expérimenté dans l'examen microbiologique des prélèvements oculaires ainsi qu'un recul suffisant et un suivi régulier des patients.

Ses limites majeures proviennent de sa nature rétrospective : toutes les données ont été collectées à partir de dossiers médicaux.

CONCLUSION

Les kératomycoses représentent une entité clinique rare mais grave. Le diagnostic de certitude est mycologique, cependant il parfois nécessaire de se baser sur des arguments de présomption en cas de négativité des prélèvements permettant d'orienter le praticien vers le type de champignon le plus probablement incriminé à fin d'instaurer rapidement un traitement adéquat. D'où l'importance de bien connaître les spécificités du profil microbiologique de cette affection en fonction des données cliniques, des facteurs de risque et de la localisation géographique.

Aucun conflit d'intérêt n'est déclaré ni par les auteurs ni par les participants.

REFERENCES

1. Vaddavalli PK, Garg P, Sharma S, Sangwan VS, Rao GN, Thomas R. Role of confocal microscopy in the diagnosis of fungal and acanthamoeba keratitis. *Ophthalmology*.2011;118(1):29-35.
2. Cheikhrouhou F, Makni F, Neji S, Trigui A, Sellami H, Trabelsi H, et al .Epidemiological profile of fungal keratitis in Sfax (Tunisia). *J Mycol Médicale*.2014; 24(4):308-12.
3. Zbiba W, Baba A, Bouayed E, Abdesslem N, Daldoul A. A 5-year retrospective review of fungal keratitis in the region of Cap Bon. *J Fr Ophtalmol*.2016;39(10):843-8.
4. Anane S, Ayed NB, Malek I, Chebbi A, Lejri S, Bouguila H

- et al. Les kératites fongiques dans la région de Tunis: caractéristiques épidémiologiques, modalités diagnostiques et thérapeutiques. *Annales de Biologie Clinique* 2010 Jul 1 (Vol. 68, No. 4, pp. 441-447).
5. Saha S, Banerjee D, Khetan A, Sengupta J. Epidemiological profile of fungal keratitis in urban population of West Bengal, India. *Oman J Ophthalmol.*2009;2(3):114-8.
 - 6 .Wang L, Sun S, Jing Y, Han L, Zhang H, Yue J. Spectrum of fungal keratitis in central China. *Clin Experiment Ophthalmol.*2009;37(8):763-71.
 - 7 .Ibrahim MM, Vanini R, Ibrahim FM, Fioriti LS, Furlan EMR, Provinzano LMA, et al. Epidemiologic aspects and clinical outcome of fungal keratitis in southeastern Brazil. *Eur J Ophthalmol.*2009;19(3):355-61.
 - 8.Vanzzini Zago V, Manzano-Gayosso P, Hernández-Hernández F, Méndez-Tovar LJ, Gómez-Leal A, LópezMartínez R. Mycotic keratitis in an eye care hospital in Mexico City. *RevIberoam Micol.*2010;27(2):57-61.
 - 9.Rondeau N, Bourcier T, Chaumeil C, Borderie V, Touzeau O, Scat Y, et al. Les kératomycooses au Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des quinze-vingts: Etude rétrospective, à propos de dix-neuf cas .*J Fr Ophtalmol.*2002;25(9):890-6.
 - 10 .Ni N, Nam EM, Hammersmith KM, Nagra PK, Azari AA, Leiby BE, et al. Seasonal, geographic, and antimicrobial resistance patterns in microbial keratitis: 4-year experience in eastern Pennsylvania. *Cornea.*2015;34(3):296-302.
 - 11 .Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Vasu S, Meenakshi R, Palaniappan R. Epidemiological characteristics and laboratory diagnosis of fungal keratitis. A three-year study. *Indian J Ophthalmol.*2003;51(4):315-21.
 - 12.Vemuganti GK, Garg P, Gopinathan U, Naduvilath TJ, John RK, Buddi R, et al. Evaluation of agent and host factors in progression of mycotic keratitis: A histologic and microbiologic study of 167 corneal buttons. *Ophthalmology.*2002;109(8):1538-46.
 - 13 .Xie L, Zhong W, Shi W, Sun S. Spectrum of fungal keratitis in north China. *Ophthalmology.*2006;113(11):1943-8.
 - 14 .Lalitha P, Prajna NV, Kabra A, Mahadevan K, Srinivasan M. Risk factors for treatment outcome in fungal keratitis. *Ophthalmology.*2006;113(4):526-30.