

Académie d'Orléans –Tours
Université François-Rabelais

FACULTÉ DE MÉDECINE DE TOURS

Année 2014

N°

Thèse

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

Par

BEZZA BENKAOUHA Imane

Née le 04 juillet 1984 à Batna en ALGÉRIE

Présentée et soutenue publiquement le 30 septembre 2014

La flore conjonctivale palpébrale dans les blépharites ; place des corynébactéries

JURY

Président de Jury : Monsieur le Professeur Pierre-Jean PISELLA

**Membres du jury : Monsieur le Professeur Jacques CHANDENIER
Monsieur le Professeur Christophe DESTRIEUX
Monsieur Le Docteur Philippe LANOTTE
Monsieur Le Docteur Samuel MAJZOUB**

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Professeur Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Professeur Henri MARRET

ASSESSEURS

Professeur Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Professeur Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Professeur Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*
Professeur Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*
Professeur François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Professeur Philippe ROINGEARD, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE

Madame Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Professeur Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Professeur Georges DESBUQUOIS (†) - 1966-1972
Professeur André GOUAZÉ - 1972-1994
Professeur Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Professeur Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Professeur Alain AUTRET
Professeur Jean-Claude BESNARD
Professeur Patrick CHOUTET
Professeur Guy GINIES
Professeur Olivier LE FLOCH
Professeur Etienne LEMARIE
Professeur Chantal MAURAGE
Professeur Léandre POURCELOT
Professeur Michel ROBERT
Professeur Jean-Claude ROLLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Ph. ANTHONIOZ - A. AUDURIER – Ph. BAGROS - G. BALLON – P. BARDOS
J. BARSOTTI- A. BENATRE - Ch. BERGER –J. BRIZON - Mme M. BROCHIER - Ph. BURDIN
L. CASTELLANI - J.P. FAUCHIER - B. GRENIER – A. GOUAZE – M. JAN –P. JOBARD
J.-P. LAMAGNERE - F. LAMISSE – J. LANSAC – J. LAUGIER - G. LELORD - G. LEROY
Y. LHUINTRE – M. MAILLET - Mlle C. MERCIER - E/H. METMAN – J. MOLINE
Cl. MORAINÉ - H. MOURAY - J.P. MUH - J. MURAT - Mme T. PLANIOL – Ph. RAYNAUD
JC. ROLLAND – Ch. ROSSAZZA - Ph. ROULEAU - A. SAINDELLE - J.J. SANTINI
D. SAUVAGE - M.J. THARANNE - J. THOUVENOT - B. TOUMIEUX - J. WEILL.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM.	ALISON Daniel	Radiologie et Imagerie médicale
	ANDRES Christian	Biochimie et Biologie moléculaire
	ANGOULVANT Denis	Cardiologie
	ARBEILLE Philippe	Biophysique et Médecine nucléaire
	AUPART Michel .	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	BABUTY Dominique	Cardiologie
Mme	BARILLOT Isabelle .	Cancérologie ; Radiothérapie
M.	BARON Christophe	Immunologie
Mme	BARTHELEMY Catherine	Pédopsychiatrie
MM.	BAULIEU Jean-Louis	Biophysique et Médecine nucléaire
	BERNARD Louis	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
	BEUTTER Patrice	Oto-Rhino-Laryngologie
	BINET Christian	Hématologie ; Transfusion
	BODY Gilles	Gynécologie et Obstétrique
	BONNARD Christian	Chirurgie infantile
	BONNET Pierre	Physiologie
Mme	BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
MM.	BOUGNOUX Philippe	Cancérologie ; Radiothérapie
	BRILHAULT Jean	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	BRUNEREAU Laurent	Radiologie et Imagerie médicale
	BRUYERE Franck	Urologie
	BUCHLER Matthias	Néphrologie
	CALAIS Gilles	Cancérologie ; Radiothérapie
	CAMUS Vincent	Psychiatrie d'adultes
	CHANDENIER Jacques	Parasitologie et Mycologie
	CHANTEPIE Alain	Pédiatrie
	COLOMBAT Philippe	Hématologie ; Transfusion
	CONSTANS Thierry	Médecine interne ; Gériatrie et Biologie du vieillissement
	CORCIA Philippe	Neurologie
	COSNAY Pierre	Cardiologie
	COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et Imagerie médicale
	COUET Charles	Nutrition
	DANQUECHIN DORVAL Etienne	Gastroentérologie ; Hépatologie
	DE LA LANDE DE CALAN Loïc	Chirurgie digestive
	DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
	DEQUIN Pierre-François	Thérapeutique ; médecine d'urgence
	DESTRIEUX Christophe	Anatomie
	DIOT Patrice	Pneumologie
	DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & Cytologie pathologiques
	DUMONT Pascal	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	EL HAGE Wissam	Psychiatrie adultes
	FAUCHIER Laurent	Cardiologie
	FAVARD Luc	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	FOUQUET Bernard	Médecine physique et de Réadaptation
	FRANCOIS Patrick	Neurochirurgie
	FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & Cytologie pathologiques
	FUSCIARDI Jacques	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	GAILLARD Philippe	Psychiatrie d'Adultes
	GOGA Dominique	Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie
	GOUDEAU Alain	Bactériologie -Virologie ; Hygiène hospitalière
	GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
	GRUEL Yves	Hématologie ; Transfusion
	GUERIF Fabrice	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction
	GUILMOT Jean-Louis	Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
	GUYETANT Serge	Anatomie et Cytologie pathologiques
	HAILLOT Olivier	Urologie

	HALIMI Jean-Michel	Thérapeutique ; médecine d'urgence (Néphrologie et Immunologie clinique)
	HANKARD Regis	Pédiatrie
	HERAULT Olivier	Hématologie ; transfusion
	HERBRETEAU Denis	Radiologie et Imagerie médicale
Mme	HOMMET Caroline	Médecine interne, Gériatrie et Biologie du vieillissement
MM.	HUTEN Noël	Chirurgie générale
	LABARTHE François	Pédiatrie
	LAFFON Marc	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	LARDY Hubert	Chirurgie infantile
	LASFARGUES Gérard	Médecine et Santé au Travail
	LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
	LEBRANCHU Yvon	Immunologie
	LECOMTE Thierry	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
	LESCANNE Emmanuel	Oto-Rhino-Laryngologie
	LINASSIER Claude	Cancérologie ; Radiothérapie
	LORETTE Gérard.....	Dermato-Vénéréologie
	MACHET Laurent	Dermato-Vénéréologie
	MAILLOT François	Médecine Interne
	MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
	MARRET Henri	Gynécologie et Obstétrique
	MARUANI Annabel	Dermatologie
	MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
	MORINIERE Sylvain	O.R.L.
	MULLEMAN Denis.....	Rhumatologie
	PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
	PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique
	PATAT Frédéric	Biophysique et Médecine nucléaire
	PERROTIN Dominique	Réanimation médicale ; médecine d'urgence
	PERROTIN Franck	Gynécologie et Obstétrique
	PISELLA Pierre-Jean	Ophthalmologie
	QUENTIN Roland	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
	ROBIER Alain	Oto-Rhino-Laryngologie
	ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
	ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	ROYERE Dominique	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
	RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
	SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
	SALIBA Elie	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
Mme	SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et Médecine Nucléaire
MM.	SIRINELLI Dominique	Radiologie et Imagerie médicale
	THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
Mme	TOUTAIN Annick	Génétique
MM.	VAILLANT Loïc	Dermato-Vénéréologie
	VELUT Stéphane	Anatomie
	WATIER Hervé	Immunologie.

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

Mme LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES

MM. HUAS Dominique Médecine Générale
LEBEAU Jean-Pierre Médecine Générale
MALLET Donatien Soins palliatifs
POTIER Alain Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ANGOULVANT Theodora	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique : addictologie
M.	BAKHOS David	Physiologie
Mme	BAULIEU Françoise.....	Biophysique et Médecine nucléaire
M.	BERTRAND Philippe	Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
Mme	BLANCHARD Emmanuelle	Biologie cellulaire
	BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
MM.	BOISSINOT Eric	Physiologie
	DESOUTBEAUX Guillaume	Parasitologie et mycologie
Mme	DUFOUR Diane	Biophysique et Médecine nucléaire
M.	EHRMANN Stephan	Réanimation médicale
Mme	FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et Cytologie pathologiques
M.	GATAULT Philippe	Néphrologie
Mmes	GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
	GOUILLEUX Valérie	Immunologie
MM.	GYAN Emmanuel	Hématologie, transfusion
	HOARAU Cyrille.....	Immunologie
	HOURIOUX Christophe	Biologie cellulaire
	LANOTTE Philippe	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
Mmes	LARTIGUE Marie-Frédérique.....	Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
	LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale ; Pharmacologie clinique
	MACHET Marie-Christine	Anatomie et Cytologie pathologiques
MM.	PIVER Eric	Biochimie et biologie moléculaire
	ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire in vitro
Mme	SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et Droit de la santé
MM.	SAMIMI Mahtab	Dermatologie
	TERNANT David	Pharmacologie – toxicologie
Mme	VALENTIN-DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière
M.	VOURC'H Patrick	Biochimie et Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFERENCES

Mmes	BOIRON Michèle	Sciences du Médicament
	ESNARD Annick	Biologie cellulaire
M.	LEMOINE Maël	Philosophie
Mme	MONJAUZE Cécile	Sciences du langage - Orthophonie
M.	PATIENT Romuald	Biologie cellulaire

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Mmes	HUAS Caroline	Médecine Générale
	RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale
M.	ROBERT Jean.....	Médecine Générale

CHERCHEURS C.N.R.S. – INSERM

M.	BOUAKAZ Ayache	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
Mmes	BRUNEAU Nicole	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
	CHALON Sylvie	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
MM.	COURTY Yves	Chargé de Recherche CNRS – U 618
	GAUDRAY Patrick	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	GOUILLEUX Fabrice.....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
Mmes	GOMOT Marie	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
	HEUZE-VOURCH Nathalie	Chargée de Recherche INSERM – U 618
MM.	LAUMONNIER Frédéric	Chargé de Recherche INSERM - UMR CNRS-INSERM 930

	LE PAPE Alain	Directeur de Recherche CNRS – U 618
Mmes	MARTINEAU Joëlle	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
	POULIN Ghislaine	Chargée de Recherche CNRS – UMR CNRS-INSERM 930

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour la Faculté de Médecine

Mme	BIRMELE Béatrice	Praticien Hospitalier (<i>éthique médicale</i>)
M.	BOULAIN Thierry	Praticien Hospitalier (<i>CSCT</i>)
Mme	CRINIERE Lise	Praticien Hospitalier (<i>endocrinologie</i>)
M.	GAROT Denis	Praticien Hospitalier (<i>sémiologie</i>)
Mmes	MAGNAN Julie	Praticien Hospitalier (<i>sémiologie</i>)
	MERCIER Emmanuelle	Praticien Hospitalier (<i>CSCT</i>)

Pour l'Ecole d'Orthophonie

Mme	DELORE Claire	Orthophoniste
MM.	GOUIN Jean-Marie	Praticien Hospitalier
	MONDON Karl	Praticien Hospitalier
Mme	PERRIER Danièle	Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

Mme	LALA Emmanuelle	Praticien Hospitalier
M.	MAJZOUB Samuel	Praticien Hospitalier

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira
pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur PISELLA,

Vous me faites l'honneur de présider ma thèse et je vous en remercie.

Je vous remercie pour ces années de formation médicochirurgicale au sein de votre service, pour votre disponibilité malgré toutes vos responsabilités autant que Professeur et Chef De Service.

J'ai eu l'honneur de passer en binôme avec vous en stage, je tiens à vous exprimer toute mon admiration de votre grand savoir faire chirurgical et de votre dévouement envers vos patients.

Je vous remercie pour vos qualités humaines envers vos internes et le reste de l'équipe de votre service.

Enfin je vous suis personnellement reconnaissante pour m'avoir accordé et aidée à valider mon semestre pendant ma grossesse.

A Monsieur le Professeur CHANDENIER,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et d'apporter un regard critique sur ce travail.

Recevez l'expression de ma profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur DESTRIEUX,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je ne suis pas passée dans votre service mais ayant été externe à Tours, j'ai pu bénéficier de la qualité de vos cours d'anatomie. J'admire en vous vos qualités professionnelles et humaines à la fois.

A Monsieur le Docteur MAJZOUB,

Je te remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Durant ces années d'internat passées à l'hôpital, j'ai pu bénéficier de ton immense savoir médical. Je te remercie pour ton enseignement de la chirurgie oculo-palpébrale et du glaucome ainsi pour toutes tes explications sur l'électrophysiologie.

Je te remercie également pour ta gentillesse et toutes tes qualités humaines.

A Monsieur le Docteur LANOTTE,

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon Directeur de thèse. Je te remercie de m'avoir encadrée, orientée, aidée et conseillée.

Enfin Je te remercie pour ta disponibilité et pour toutes tes qualités humaines envers ton équipe et moi-même, de m'avoir toujours remonté le moral à chaque fois que je commençais à désespérer.

A Madame Le Docteur LE BRUN,

Je te remercie pour ton aide précieuse dans la réalisation de cette étude, pour ta rigueur et pour toutes ces heures de travail d'analyses au laboratoire de bactériologie afin de me faire bénéficier des résultats les plus fiables.

A Monsieur le Docteur BAUDET

Je suis passée dans votre service lors de mon premier semestre, et au bout d'une semaine de stage je me retrouve avec le bistouri à la main. Je n'oublierais jamais ces poses post-bloc où vous me réexpliquait l'art du rhexis et du cracking...jusqu'à la réalisation de ma première cataracte.

Je tiens à vous exprimer mon admiration pour vos qualités professionnelles de grand chirurgien, votre dévouement envers vos patients et toutes vos qualités humaines.

A Madame le Docteur ARSENE,

Je te remercie pour ces quelques mois passés en binôme avec toi et pendant lesquelles mon admiration n'a pas cessé d'accroître, pour ta rigueur, tes qualités humaines, ta disponibilité pour tes patients et ta grande maîtrise médicochirurgicale en rétinie et en strabologie.

Enfin je tiens à te remercier pour m'avoir initiée à cette grande chirurgie de la rétinie, pour toutes tes explications au bloc et pendant la consultation, je t'en suis reconnaissante.

A Madame le Docteur LE LEZ,

Je te remercie pour toutes ces heures de travail que tu passes pour gérer les emplois de temps des internes et à préparer tes cours et tes power-points dont nous bénéficions aux staffs hebdomadaires du mardi. Je te remercie pour toutes tes explications sur les uvéites et la rétinie médicale notamment à l'angiographie. Je tiens à t'exprimer également mon respect pour toutes tes qualités humaines.

A Madame le Docteur LALA,

Je tiens à te remercier pour toutes ces explications en ophtalmologie pédiatrique, pour ta gentillesse et ton sourire constant.

A Monsieur le Docteur RATEAU,

Merci pour ta disponibilité et tes conseils pour les problèmes de surface oculaire et pour toutes les explications chirurgicales, ta joie de vivre constante et pour ta bonne humeur.

A Madame le Docteur GEORGET, Monsieur le Docteur LEMEE et Monsieur le Docteur HABAY,

Je vous remercie pour avoir participé à ma formation médico-chirurgicale en ophtalmologie et pour votre disponibilité malgré la grande sollicitation par les différents internes.

Aux anciens Chefs de clinique Madame le Docteur FAVARD et Monsieur le Docteur NOCHEZ,

Je vous remercie pour toute l'aide et les conseils que vous m'avez donnés durant ces mois de stages à vos cotés.

A toute l'équipe de la consultation, *merci pour votre aide au quotidien, votre accompagnement malgré le grand nombre de médecins, d'internes et surtout de patients.*

A toute l'équipe du bloc opératoire, *merci pour votre organisation exemplaire et votre maîtrise des appareils et des instruments.*

A toute l'équipe d'hospitalisation complète et ambulatoire, *merci pour votre dynamisme et la qualité de vos soins au service de nos patients.*

A toute l'équipe d'orthoptie et des explorations fonctionnelles, *merci pour votre disponibilité et votre aide précieuse à la consultation, merci pour vos bilans orthoptiques, vos champs visuels et toutes les autres explorations indispensables pour les cas les plus difficiles.*

A tous mes co-internes sans exception, *merci à Florie pour tous les bons moments passés depuis le début de notre internat, merci à Hameed, Marie, Arnaud, Axel, Sawsen, Mathilde, Guillaume et Naoual pour leurs précieux conseils. Mais aussi à Flavien, Léa,*

Sarah, Etienne, Ammar, Sonia, Marie et Tiphanie. *Je tiens à remercier également Pierre Lhommet pour son aide en chirurgie thoracique.*

A toute l'équipe du laboratoire d'analyse bactériologique et de parasitologie, merci pour votre aide précieuse à la réalisation de cette étude.

A mes chers parents Abdenacer et Rachida,

Je ne sais pas par où commencer, avec mon frère et ma sœur, nous vous sommes très reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour nous depuis notre tendre enfance jusqu'à ce jour. Par cette soutenance de thèse, je souhaite vous exprimer mon profond respect pour ce que vous êtes, pour tous vos sacrifices pour vos enfants. Recevez le témoignage de ma gratitude et toute mon admiration.

A mon grand frère Riadh,

Je te remercie pour tous tes conseils, pour ta conduite irréprochable dont j'en suis très fière. Tu as été pour moi le grand frère protecteur et mon exemple dans la vie que j'ai suivi et que je suis toujours. Un grand merci.

A ma petite sœur Asma,

Merci pour tous ces moments de joie et de bonne humeur que tu nous apporte. Tu es non seulement ma petite sœur chérie mais aussi ma meilleure amie et ma confidente. Reste comme tu es et ne change surtout pas.

A ma belle sœur Widad,

Avoir une belle sœur adorable et en ophtalmologie est un luxe, c'est une grande chance pour nous de t'avoir au sein de notre famille.

A mon beau frère Mohamed Yazid,

Malgré le fait que tu sois le dernier arrivé dans notre famille, tu as pu nous conquérir tous par ton intelligence, ta culture et surtout ta bonne humeur constante.

A mon mari Abderaouf,

Je te remercie pour ces moments de joie et de bonheur que tu m'apportes chaque jour. Je te remercie pour ton aide et ton soutien et je tiens à t'exprimer tout mon respect.

A mon neveu Rayane, à mes nièces Sirine et Aline,

Qui nous apportent à nous tous comme à leur parents respectifs plein de joie et de bonheur.

Et enfin à mon fils Anas,

Depuis ta naissance, je suis devenue la maman la plus heureuse au monde. Je te remercie pour tes sourires rayonnants quand je rentre le soir et qui me font oublier toutes les difficultés que j'ai pu rencontrer dans ma journée.

Résumé

Introduction : Les blépharites correspondent à une inflammation du revêtement conjonctival et cutané du bord libre palpébral. Elles ont des origines mal définies et peuvent être multiples. L'objectif de cette étude a été d'étudier la flore bactérienne présente chez les patients atteints de blépharite par rapport à des sujets sains dans la perspective d'apprécier la place des étiologies bactériennes dans les blépharites.

Matériel et méthodes : Cinquante quatre patients ayant une blépharite et 50 témoins ont participé à cette étude. Ils ont bénéficié d'un prélèvement à l'écouvillon. L'analyse qualitative a été réalisée par spectrométrie de masse selon la méthode MALDI-TOF +/- complétée par PCR suivie d'un séquençage ADN. Une analyse quantitative a permis d'énumérer le nombre de colonies/cas (col/cas) chez les positifs des deux groupes. Un sous groupe de 16 personnes (9 blépharites et 7 témoins) a bénéficié en même temps d'une recherche du Demodex.

Résultats : Les pourcentages des positifs ainsi que le nombre de col/cas ont été nettement supérieurs chez les blépharites par rapport aux témoins : les prélèvements sont revenus positifs chez 81.5% vs 38% avec 39 vs 4.4 col/cas. Les corynébactéries sont les espèces les plus isolées : 53.7% vs 18%, $p < 0.01$ avec 37.4 vs 2.6 col/cas. *C. macginleyi* : 33% vs 6%, $p < 0.01$ avec 40.4 vs 1.6 col/cas. Le *S. epidermidis* : 35.1% vs 16%, $p : 0.02$ avec 11.3 vs 1.6 col/cas. *S. aureus* : 13% vs 0%, $p : 0.01$ avec 24.7 col/cas vs 0. Nous n'avons pas trouvé de différence pour *Propionibacterium acnes* : 14.8 vs 14% avec 4.7 vs 5.1 col/cas et pour Demodex avec 22.2 % vs 28.6 %.

Conclusion: Le rôle des bactéries dans les blépharites est à retenir. Les corynébactéries et surtout *C. macginleyi* semblent participer activement dans la physiopathologie des blépharites. *S. epidermidis* et *aureus* restent également associés à cette pathologie.

Mots clés : blépharites; flore bactérienne; Corynébactéries; *C. macginleyi*

Abstract

Introduction: Blepharitis consists of inflammation of the conjunctival and cutaneous cover of the free edge of the eyelid. They have badly defined and multiple origins. The aim of this study was to investigate the bacterial flora present at the patient's affected by blepharitis, to compare him with healthy subjects and to appreciate the place of the bacterial causes in blepharitis.

Material and methods: Fifty four patients having a blepharitis and 50 healthy controls participated in this study. The qualitative analysis is realized by MALDI-TOF mass spectrometry +/- completed by PCR and sequencing of the DNA. A quantitative analysis allowed enumeration of bacteria. Sixteen people (9 humans with blépharitis and 7 normal subjects) benefited at the same time from a research for Demodex.

Results: The percentages of the positive cultures and the number of colonies / case were clearly higher for patients with blepharitis in comparison with healthy controls. At least one bacteria was isolated for 81 % of the cases vs 38 % for control patients. *Corynebacterium sp.* were the most common microorganisms isolated from patients with blepharitis (53.7% vs 18%, $p<0.01$) and the bacterial load was 15 x higher (37.4 vs 2.6 col/case). *C. macginleyi* was the most common Corynebacteria (33% vs 6%, $p<0.01$). We did not find significant difference for *Propionibacterium acnes* and for Demodex.

Conclusion: The role of bacteria in blepharitis is to be retained. *Corynebacterium. sp* and especially *C. macginleyi* seem to participate in the physiopathology of blepharitis. *S. epidermidis* and *S.aureus* remain also associated to this pathology.

Key words: blepharitis; bacterial flora; *Corynebacterium. sp*; *C. macginleyi*

Table des matières

INTRODUCTION	17
1. Généralités	19
1.1. Définition des blépharites	19
1.2. Physiopathologie	19
2. Aspect clinique	21
2.1. Signes fonctionnels	21
2.2. Signes physiques	22
3. Pathologies et terrains associés aux blépharites	24
3.1. La rosacée	24
3.2. La dermatite séborrhéique	27
3.3. Les blépharites secondaires à une inflammation conjonctivale chronique	28
3.4. Les blépharites par anomalies congénitales	28
3.5. Le vieillissement	29
3.6. Rôle du Demodex	29
3.7. Rôle des bactéries	31
4. La flore bactérienne conjonctivale normale	31
5. Les corynébactéries	32
6. Objectifs de l'étude	32
MATERIELS ET METHODES	34
RESULTATS	37
1. Populations étudiées	38
1.1. Population des cas de blépharite	38
1.2. Population des témoins	38
2. Analyses bactériologiques	38
2.1. Patients ayant une blépharite	38
a. Analyse qualitative	38
b. Analyse quantitative	42
2.2. Chez les témoins	44
a. Analyse qualitative	44
b. Analyse quantitative	47
3. La recherche du Demodex	48

4.	Comparaison des cas de blépharite et des témoins.....	48
4.1	Analyse bactériologique.....	48
a.	Analyse qualitative	48
b.	Analyse quantitative	51
4.2	Recherche du Demodex.....	54
	DISCUSSION.....	55
	CONCLUSION.....	61
	BIBLIOGRAPHIE	62
	ANNEXES.....	65

INTRODUCTION

Les blépharites correspondent à une inflammation du revêtement conjonctival et cutané du bord libre palpébral.

Elles sont bénignes, très fréquentes et représentent une cause majeure d'irritation, de sensations de brûlure ou de corps étrangers, larmoiement et débris crouteux autour des cils à l'origine d'un grand nombre de consultation en ophtalmologie.

Les origines des blépharites sont mal définies et peuvent être multiples; pathologies cutanées comme la rosacée, la dermatite séborrhéique et le psoriasis ; secondaire à une inflammation conjonctivale chronique comme la kérato-conjonctivite allergique sévère ou bien infectieuses parasitaire ou bactérienne.

L'objectif principal de notre travail a été d'étudier la flore bactérienne présente chez les patients atteints de blépharite par rapport à des sujets sains dans la perspective d'apprécier la place des étiologies bactériennes dans les blépharites et de proposer une prise en charge adaptée.

1. Généralités

1.1. Définition des blépharites

Les blépharites correspondent à une inflammation du bord libre palpébral. Elles sont très fréquentes et représentent une cause majeure d'irritation et de sécheresses oculaires à l'origine d'un grand nombre de consultation en ophtalmologie.

On distingue :

-les *blépharites antérieures*, siégeant en avant de la ligne grise et atteignant les cils ou la peau. Elles sont liées à une hyper séborrhée (comme dans la dermatite séborrhéique, la rosacée ou le psoriasis) ou à une infection à staphylocoque.

-les *blépharites postérieures* touchant les glandes de Meibomius et le bord libre conjonctival. Elles sont secondaires à un dysfonctionnement meibomien avec ou sans inflammation (meibomiite).

-et les *blépharites mixtes* lorsque les deux parties sont atteintes [Hoang et al 2001; Doan S, 2012].

1.2. Physiopathologie

a. Glandes de Meibomius et Meibum

Le tarse palpébral contient 20 à 25 glandes de Meibomius. Celles-ci sont des glandes sébacées holocrines ramifiées avec, chaque fois, de nombreuses extrémités sécrétrices (alvéoles) et un conduit excréteur central. Les conduits s'ouvrent, en une rangée, à la jonction

muco-cutanée du bord libre de la paupière (**fig. 1**) et n'ont aucun rapport avec les cils [Ulrich Welsch, 2002].

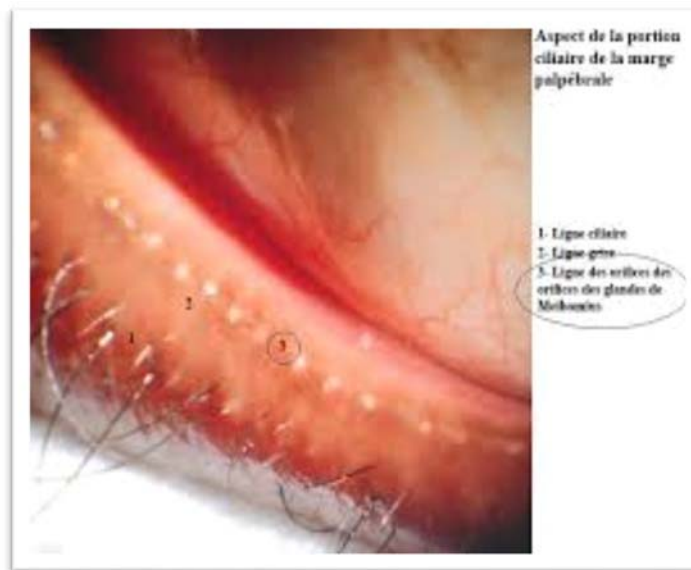


Figure 1 : localisation des glandes de Meibomius (3) en arrière de la ligne grise et des cils. (Image de : un-oeil-deux-yeux.com).

Le Meibum est produit par les glandes de Meibomius. Il a l'aspect d'une huile, il est composé essentiellement de cires et stérols estérifiés qui forment la couche hydrophobe du film lacrymal et de Triglycérides (TG), phospholipides et cébrosides composant la couche d'interface entre la première couche et la couche aqueuse lacrymale.

Le Meibum prévient l'évaporation des larmes, favorise l'étalement régulier des larmes et réalise une barrière physicochimique à la contamination des larmes par le sébum, la sueur, les particules et agents infectieux [Doan S.2012].

b. Mécanismes des blépharites

- Dysfonctionnement meibomien :

L'obstruction meibomienne se voit suite à l'augmentation de la viscosité et la stagnation du meibum en rapport avec une augmentation de sa température de fusion, passant de 32 à 35° C [McCulley ; 2003].

La diminution du taux de lipides polaires et de TG qui sont essentiels au bon étalement de la couche superficielle de lipides hydrophobes sur la couche aqueuse est responsable de l'instabilité du film lacrymal.

La kératinisation des méats meibomiens est très fréquente et aggrave le dysfonctionnement meibomien.

L'inflammation au cours des dysfonctionnements meibomiens est médiée par les lymphocytes T. Les études effectuées sur biopsie conjonctivale dans la rosacée objectivent un infiltrat de lymphocytes avec un ratio CD4/CD8 anormalement élevé et de macrophages [Abu el Asrar ; 1987].

Les métalloprotéases qui sont des enzymes de la dégradation tissulaire et de l'inflammation semblent jouer un rôle important dans la rosacée, leurs taux sont élevés dans les larmes et corrélés à la sévérité clinique [Hoang Xuan ; 1990].

-Agents infectieux :

- *Demodex folliculorum*.

- Bactéries.

Ces principaux agents étiologiques seront développés plus loin.

2. Aspect cliniques

2.1. Signes fonctionnels

-*Syndrome sec* : les patients décrivent des sensations de brûlure et de picotement oculaires, de corps étrangers (grains de sable), photophobie, rougeur, larmoiement paradoxal et vision fluctuante secondaire à l'instabilité du film lacrymal.

-*Atteinte palpébrale* : dominée par un prurit variable, rougeur chronique du bord libre et possibilité de chalazions.

Les symptômes décrits par les patients sont souvent cycliques avec des crises séparées de périodes d'accalmie.

2.2. Signes physiques

a. Atteinte des paupières

L'aspect physique des blépharites regroupe plusieurs signes (**fig. 2, 3 et 4**);

-Les télangiectasies du bord libre.

-L'œdème conjonctival et l'hyperhémie autour des méats des glandes de Meibomius sont secondaires à l'inflammation de celles-ci.

-Les bouchons kératinisés à l'abouchement des glandes de Meibomius, les chalazions et les voussures du bord libre sont secondaires au dysfonctionnement meibomien.

-L'atrophie meibomienne se manifeste par une irrégularité du bord libre palpébral avec la formation de dépression en forme de cratère à l'emplacement des méats meibomiens avec l'absence totale de meibum à la meibo-pression.

-La meiborrhée correspond à l'aspect mousseux et bulleux des larmes au niveau du bord libre.

-Les croutes grasses au niveau des cils sont caractéristiques de la blépharite antérieure staphylococcique ou d'origine séborrhéique. Elles fragilisent les cils qui peuvent tomber spontanément avec madarose.

-Une surinfection staphylococcique du bord libre se manifeste par une inflammation à la base des cils, ulcères du bord libre, sécrétions purulentes, orgelets ou perte de cils.

-Une anomalie de positionnement des cils comme un trichiasis est possible. Elle se voit en cas de fibrose conjonctivale.



Figure 2 et 3 : blépharites ; on voit bien les télangiectasies du bord libre, l'œdème inflammatoire. Les croutes grasses au niveau des cils et les bouchons kératinisés à l'abouchement des glandes de Meibomius sont bien visibles dans la figure 3 qui représente une blépharite mixte (Image D. TOUBOUL)



Figure 4 : chute de cils et madarose localisée lors d'une blépharite (image d'ophtazone.no-ip.com)

b. Atteinte du film lacrymal

Une hyper évaporation, secondaire aux anomalies du meibum, entraîne une instabilité lacrymale. Le temps de rupture du film lacrymal (Break Up Time) est diminué et devient inférieur à 10 secondes.

c. L'atteinte conjonctivale

L'hyperhémie conjonctivale est souvent constatée. Des papilles conjonctivales en pré-tarsal sont souvent présentes.

La fibrose conjonctivale est possible dans les formes anciennes. Elle est souvent modérée et peut parfois entraîner un symblépharon (adhérence cicatricielle entre la conjonctive palpébrale et bulbaire) et un comblement du cul-de-sac conjonctival.

d. L'atteinte cornéenne

-La kératite ponctuée superficielle inférieure est de loin l'atteinte cornéenne la plus fréquente et témoigne d'une atteinte du bord libre. Un pannus (infiltration vasculaire de la cornée) peut lui être associé.

-Les ulcères et les infiltrats catarrhaux limbiques sont d'origine inflammatoire. Ils peuvent évoluer rarement en abcès ou vers la perforation en l'absence de traitement. Ils font place à des cicatrices cornéennes juxta limbiques inférieures sous forme de taies stromales associées à un amincissement et à une néo vascularisation en regard [Doan S, 2012].

3. Pathologies et terrains associés aux blépharites

3.1. La rosacée

La rosacée est une dermatose très fréquente, elle touche environ 10% de la population en France. Sont atteints le plus souvent des sujets à peau claire, aux yeux clairs et aux cheveux clairs.

Elle prédomine chez la femme (ratio femme-homme environ égal à 2) et le pic de fréquence se situe entre 40 et 50 ans [Wolff Klaus, 2007].

La physiopathologie est complexe et multifactorielle. Une anomalie vasculaire primitive du visage est suspectée et serait responsable d'un mauvais drainage des veines du visage se traduisant par les bouffées vasomotrices et l'érythème permanent.

Il en résulte un œdème permanent du derme, qui pourrait favoriser une colonisation accrue par *Demodex folliculorum*. Ce parasite pourrait déclencher des phénomènes inflammatoires se traduisant par des papules et des pustules.

L'alcool, souvent incriminé dans la genèse de la rosacée, ne semble pas être en cause mais simplement un cofacteur de vasodilatation des vaisseaux, la rendant plus apparente [Collège des enseignants en dermatologie de France, 2011].

La rosacée est la cause la plus fréquente de dysfonctionnement meibomien et de blépharite. Elle se caractérise par une forme oculaire et cutanée.

a. L'atteinte oculaire

L'atteinte oculaire peut être associée à l'atteinte cutanée, par rapport à celle-ci les deux sexes sont touchés de manière identique et elle peut apparaître à tout âge y compris chez l'enfant.

Les signes oculaires ne sont pas spécifiques et peuvent atteindre tous les degrés de gravité. L'hyperémie conjonctivale simple est la plus fréquente et la plus bénigne des manifestations oculaires de la rosacée. Elle est souvent associée à une atteinte palpébrale ; on parle alors de blépharo-conjonctivite. Un antécédent de chalazions doit toujours être recherché. Le syndrome sec avec la kératite ponctuée superficielle inférieure représentent l'atteinte cornéenne la plus fréquente, mais pouvant se compliquer d'ulcère cornéen avec un risque d'abcès et de perforation du globe ou bien d'une cicatrisation avec la persistance d'une taie et d'une néo vascularisation cornéenne (**fig. 5**) .

La sévérité est indépendante de celle de l'atteinte cutanée et tout patient atteint de rosacée présenterait un certain degré d'atteinte oculaire (symptomatique dans 85 % des cas).

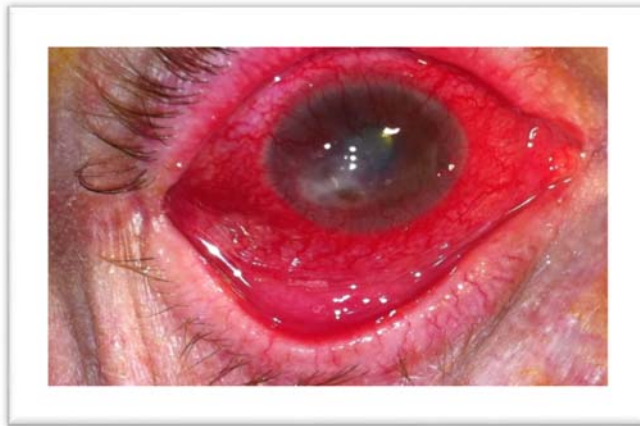


Figure 5 : Patient atteint de rosacée oculaire sévère. En plus de la blépharite, de l'hyperhémie conjonctivale intense, on constate un abcès cornéen pré perforant avec une néo-vascularisation cornéenne périphérique sur 360°, (image du service d'ophtalmologie du Pr PISELLA).

La rosacée oculaire semble être sous estimée pour plusieurs raisons :

- L'ophtalmologiste n'examine pas toujours l'état cutané de ses patients ;
- 20 % des patients développent leur atteinte oculaire en premier (ce qui en retarde d'autant plus le diagnostic de rosacée) ;
- Il n'existe pas de critères spécifiques aidant au diagnostic de rosacée, même histologiques [Michel J-L, 2010].

b. L'atteinte cutanée

Concerne le visage et comporte quatre stades évolutifs :

-Stade 1: Phénomènes vasculaires paroxystiques : bouffées vasomotrices ou « flushes », déclenchés par les changements de température, l'absorption de boissons chaudes, d'alcool ou d'aliments épicés.

-Stade 2: Phénomènes vasculaires permanents : la rosacée est érythémato-télangiectasique avec une érythrose permanente.

-Stade 3 : Poussées papulo-pustuleuse, la plus caractéristique de la rosacée.

-Stade 4 : Forme hypertrophique : le rhinophyma touche principalement les hommes dans 95% des cas, en général après 50 ans [Collège des enseignants en dermatologie de France, 2011].

3.2. Dermatite séborrhéique

La dermatite séborrhéique (DS) est une dermatose très fréquente qui touche le plus souvent l'homme adulte (18 à 40 ans). Elle s'aggrave par le stress et pendant l'hiver et s'améliore l'été.

Elle se présente sous forme de plaques érythémateuses recouvertes de petites squames grasses dans les zones où prédomine la séborrhée. Le rôle de *Malassezia furfur* a été suspecté en raison de la localisation préférentielle de la DS dans les régions plus riches en séborrhée et où la levure atteint sa plus grande densité. L'efficacité du traitement antifongique dans la DS constitue un argument en plus en faveur de ce rôle [Chabasse D et al ; 2010].

La DS touche préférentiellement le visage au niveau du front, les sourcils, les bords ciliaires des paupières (blépharite séborrhéique) les ailes du nez, les oreilles ainsi que le cuir chevelu, la région sternale et le dos.

La DS est plus une exagération d'un phénomène physiologique qu'une véritable maladie et on ne peut donc pas la guérir, mais l'améliorer au coup par coup en obtenant des rémissions.

L'atteinte oculaire est polymorphe ; l'hyperhémie conjonctivale et la blépharite restent les manifestations les plus fréquentes [Collège des enseignants en dermatologie de France, 2011].

Le psoriasis est également associé à une blépharite très semblable à l'atteinte de la DS.

3.3. Les blépharites secondaires à une inflammation conjonctivale chronique

Toute inflammation conjonctivale chronique peut s'accompagner d'une blépharite souvent postérieure. La fibrose conjonctivale aggrave le dysfonctionnement meibomien.

- La pemphigoïde cicatricielle : est une maladie rare du sujet âgé, entraînant des bulles qui se rampent facilement et des érosions muqueuses liées à une fragilité épithéliale.

L'atteinte oculaire se traduit initialement par une conjonctivite uni ou bilatérale accompagnée de symptômes de sécheresse oculaire. Les lésions chroniques évoluent vers des cicatrices, un symblépharon voire une fusion entre la conjonctive palpébrale et bulbaire. Des atteintes cornéennes peuvent être déclenchées par un ectropion ou un trichiasis sous forme de kératite ponctuée superficielle, un ulcère, une taie cornéenne, une néo vascularisation ou même une cécité [Wolff Klaus, 2007].

- Le syndrome de Lyell et Stevens-Johnson : sont des toxidermies très rares mais extrêmement graves avec une mortalité non négligeable. L'atteinte oculaire est semblable à celle des pemphigoïdes.

- Les kératoconjunctivites allergiques sévères : (atopique, vernale ou de contact) peuvent s'accompagner de blépharites [Doan S, 2012]

3.4. Les blépharites par anomalies congénitales

Les dysplasies ectodermiques aboutissent au niveau cutané à une hypotrophie ou à une atrophie des glandes de Méibomius avec anomalies de pousse des cils et des sécrétions sébacées annexées [Doan S, 2012].

3.5. Le vieillissement

Les blépharites sont plus fréquentes chez la personne âgée. Un dysfonctionnement meibomien survient de façon quasi physiologique lors du vieillissement en rapport avec la baisse de production d'androgènes [Tamer C, 2006].

La colonisation des follicules pileux des cils par Demodex est plus importante avec l'âge [Rusiecka Ziolkowska ; 2014].

3.6. Rôle du Demodex

a. Description du parasite

Demodex appartient au super ordre des Actinotrichida ; Ordre des Prostigmata (Actinedida) ; Famille des Demodecidae.

Il s'agit d'un petit acarien cosmopolite, vermiforme, à métamérie apparente, ce qui lui donne un aspect annelé; ses pattes sont atrophiées (**fig. 6**).

Il vit chez l'homme et de nombreux mammifères dans les follicules pileux et les glandes de Meibomius.

Chez l'homme, deux espèces sont décrites : *Demodex folliculorum* et *D. brevis*.

Les imagos (adultes) vivent enchâssés tête vers le bas dans les follicules pileux, les glandes sébacées de la peau et les glandes de Meibomius. Ils se nourrissent de sébum et de sucres cellulaires après lyse locale des tissus.

Les zones cutanées parasitées préférentiellement sont les ailes du nez, les joues à proximité du nez et les paupières.

Après fécondation, les femelles émettent localement des œufs. L'œuf libère après éclosion une larve qui mue en une protonympe toujours située dans le même site que l'adulte.

La deutéronymphe issue de la protonymphe mue en un imago femelle ou male qui parasite un nouveau follicule ou une nouvelle glande sébacée [C.Moulinier, 2003]



Figure 6 : *Demodex folliculorum* isolé au laboratoire de parasitologie du CHRU de Tours chez un patient atteint de blépharite (le numéro 53 de notre étude).

b. Rôle du Démodex dans la blépharite

Ce parasite saprophyte des cils fait l'objet d'une controverse encore non résolue. Il est fréquemment retrouvé dans les cils des patients atteints de rosacée qui représente la première cause de blépharite [Doan S2012]. L'œdème du derme secondaire aux anomalies vasculaires lors de la rosacée favoriserait la colonisation par *Demodex folliculorum* qui pourrait engendrer les phénomènes inflammatoires locaux [Collège des enseignants en dermatologie de France 1, 2011].

Ce parasite est présent également chez les sujets sains sans pour autant déclencher la moindre inflammation ; on pense que cette dernière est présente en cas de colonisation quantitativement importante par *Demodex* [Glavis-Ramirez, 2011].

3.7. Rôle des bactéries

Les prélèvements bactériologiques réalisés en cas de blépharite reviennent souvent positifs.

Les staphylocoques (*S. aureus* et *S. epidermidis*) et *Propionibacterium acnes* et les corynébactéries sont les bactéries les plus isolées dans les blépharites [Grodén LR et al, 1991].

Au cours des dysfonctionnements meibomiens et des blépharites, on observe une augmentation de la flore bactérienne meibomienne (les Staphylocoques (*S. aureus* et *S. epidermidis*) et *Propionibacterium acnes*) qui aboutit à une production accrue d'acides gras et de cholestérol libres et à une diminution de triglycérides et d'esters de cire et de cholestérol. Ceci grâce à l'activité lipasique naturelle de ces bactéries. Ces modifications accentuent le dysfonctionnement meibomien [Dougherty JM, 1984 et 1986]. Le cholestérol libre favorise la prolifération bactérienne [Shine WE, 1993].

Les bactéries « meibomiennes » sont également responsables d'une inflammation locale. La libération de toxines et d'antigènes pariétaux au niveau de la surface oculaire induit des réactions d'hypersensibilité qui expliquent la kérato-conjonctivite phlycténulaire, les infiltrats catarrhaux et probablement les inflammations conjonctivales [Doan S, 2012].

A noter que le terme de « blépharite staphylococcique » est souvent utilisé en ophtalmologie courante pour désigner la forme antérieure de la blépharite. Il s'agit d'une blépharite très inflammatoire, avec orgelets, perte des cils, ulcères du bord libre se couvrant de croûtes et croûtes à la base des cils.

Il ne faut pas la confondre avec la blépharite séborrhéique où l'inflammation est moins marquée et où les orgelets et les ulcères du bord libre sont absents.

4. La flore bactérienne conjonctivale normale

La flore bactérienne conjonctivale commensale chez la personne saine non porteuse de lentilles de contact est composée principalement par des bacilles Gram positif, en premier lieu par des staphylocoques à coagulase négative. Pour définir les recommandations, pour l'usage

des collyres et autres antibiotiques topiques dans les infections oculaires superficielles de 2004, l'agence nationale de sécurité sanitaire des produits de santé (l'afssaps) a pris l'étude de Herde J et al de 1996 comme référence pour décrire la flore normale commensale au niveau conjonctival. L'analyse de 126 frottis conjonctivaux positifs lors de cette étude au moment d'une chirurgie de cataracte ou de glaucome a trouvé par ordre de fréquence : surtout *S. epidermidis* 86.5%, *S. aureus* : 5.5 %, les corynébactéries n'ont représenté que 0.8% [Herde J et al, 1996, afssaps, 2004].

5. Les corynébactéries

Les corynébactéries sont des bacilles à Gram positif de forme irrégulière, non sporulés, non filamenteux et de type respiratoire aérobie ou anaérobie facultatif. La diversité de ce groupe bactérien est très importante. Ces corynébactéries sont pour la plupart des saprophytes stricts de l'homme ou des animaux. Elles sont en majorité peu pathogènes pour l'homme (sauf *Corynebacterium diphtheriae*) mais la responsabilité d'espèces commensales dans différentes infections a été démontrée.

La présence de corynébactéries dans la flore cutanée normale est quantitativement aussi importante que celle des staphylocoques. Les corynébactéries regroupent des espèces lipophiles et non lipophiles.

C. macginleyi est une corynébactérie lipophile récemment décrite. Elle a été isolée exclusivement de prélèvements oculaires principalement dans un contexte de surinfection d'une conjonctivite virale [Funk et al, 1998, Riegel et al, 2007].

6. Objectifs de l'étude

Les blépharites antérieures, postérieures ou mixtes, par leur fréquence et par leur retentissement avec l'inconfort qu'elles engendrent, constituent l'un des motifs les plus courants de consultation en ophtalmologie.

L'objectif principal de notre travail a été d'étudier de façon qualitative et quantitative la flore bactérienne présente chez les patients atteints de blépharite par rapport à des sujets sains dans la perspective d'apprécier la place des étiologies bactériennes dans les blépharites et de proposer une prise en charge adaptée.

L'objectif secondaire a été de rechercher une colonisation par *Demodex* chez un sous groupe de patients et de vérifier la présence ou non de lien entre ce parasite et nos blépharites.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude prospective, analytique cas-témoin, mono centrique, réalisée au Centre Hospitalier Universitaire de Tours en collaboration entre les services d'ophtalmologie, de bactériologie et de parasitologie.

L'étude a eu lieu entre octobre 2013 et août 2014. Les cas inclus sont des personnes qui souffrent de blépharite (antérieure, postérieure ou mixte), venant consulter en urgence ou suivies en ophtalmologie pour divers motifs (DMLA, diabète, contrôles postopératoires,...). Les témoins admis dans notre étude ont été sélectionnés parmi le personnel et les personnes consultant au service d'ophtalmologie. Une information orale ainsi qu'une fiche écrite a été donnée pour chaque personne et un consentement écrit a été ainsi récupéré (**Annexes 1 et 2**). Les critères d'exclusions sont : le port de lentilles de contact, l'instillation de collyres mouillants ou autres courant les sept jours précédant la consultation, et toute surinfection locale. Au total 54 patients atteints de blépharite et 50 témoins ont été inclus dans notre travail.

Les prélèvements bactériologiques ont été réalisés au niveau du cul-de-sac conjonctival de la paupière inférieure avant l'instillation de la goutte de fluorescéine et sans anesthésie locale afin de préserver la flore locale. Ils ont été réalisés par la même personne (sauf un sur les 104 prélèvements (numéro 48)) garantissant ainsi leur uniformité. Des écouvillons stériles *eswab* adaptés aux prélèvements oculaires ont été utilisés (*eswab* collection & preservation of Aerobic, Anaerobic & Fastidious Bacteria ; COPAN). Leur milieu de transport liquide assure la conservation des bactéries aérobies et anaérobies prélevées dans une température ambiante de 5° à 25° en attendant l'ensemencement au laboratoire de bactériologie.

Pour chaque prélèvement 50µl du milieu de transport du système *eswab* ont été ensemencés pour culture par étalement selon la technique « du râteau » sur trois milieux de culture en boîtes de Petri :

- Gélose columbia avec 5% de sang de mouton incubée en anaérobiose.
- Gélose trypticase soja avec 5% de sang de cheval incubée en aérobiose.
- Gélose chocolat au sang cuit pour les germes exigeants incubée sous 5% de CO₂ permettant notamment la croissance des *Haemophilus*.

La lecture des boîtes ensemencées est réalisée chaque matin jusqu'au cinquième jour. En dehors de l'identification, une numération a été effectuée et exprimée en Unité Formant Colonie par millilitre (UFC/ml). Une colonie isolée correspond au départ à une bactérie.

Comme nous avonsensemencé 50 µl dans chaque boîte de Petri ; une colonie isolée correspond ainsi en réalité à 20 bactéries/ml.

L'identification des espèces bactériennes retrouvées a été basée sur les résultats obtenus par spectrométrie de masse selon la méthode MALDI-TOF (appareil Vitek-MS, bioMérieux). Lorsque cette méthode ne permettait pas d'obtenir d'identification ou lorsque le résultat manquait de précision, l'identification a été obtenue ou confirmée par PCR ciblant l'ADN codant pour l'ARN ribosomal 16S suivie d'un séquençage.

La méthode MALDI-TOF combine une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI= Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation) et un analyseur à temps de vol (TOF = Time Of Flight). Une source laser est dirigée sur la cible (échantillon+matrice) afin d'ioniser les molécules de l'échantillon. Les ions sont ensuite détectés en mesurant le temps que mettent les différentes particules à atteindre le détecteur. Les molécules les plus petites et les plus chargées arriveront plus vite. Les données sont ensuite exprimées en forme de spectres et la détermination de l'espèce bactérienne est réalisée par comparaison à une banque de données.

Contrairement aux méthodes classiques, la spectrométrie de masse analyse directement les macromolécules des différents germes notamment les protéines permettant d'obtenir des résultats beaucoup plus rapides avec un gain de temps et une fiabilité non négligeables.

En ce qui concerne la recherche de *Demodex*, 16 personnes ont été concernées, 9 ayant une blépharite et 7 témoins (en plus de leur prélèvement bactériologique), A chaque fois quatre cils avec leurs follicules ont été prélevés à la pince. Les échantillons ont été analysés au microscope au laboratoire de parasitologie de l'hôpital.

Analyses statistiques :

Les résultats ont été présentés en moyenne et en pourcentage.

Les comparaisons entre les résultats de nos deux groupes ont été réalisées à l'aide du test de Chi2. Le test exact de Fisher a été utilisé pour les petits effectifs.

Une valeur $p < 0.05$ a été considérée comme statistiquement significative.

RÉSULTATS

1. Populations étudiées

1.1 Population des cas de blépharite

Cinquante quatre patients atteints de blépharite antérieure, postérieure ou mixte ont été prélevés. Ils avaient au moment du prélèvement une moyenne d'âge de 81.3 ans (de 59 à 98 ans). Notre groupe de cas se composait de 28 hommes (51.8%) et de 26 femmes (48.1%). L'œil droit a été prélevé chez 33 patients et le gauche chez 21 autres cas.

1.2 Population des témoins

Cinquante témoins ont été inclus dans notre étude. Dix personnes faisant partie du personnel du service d'ophtalmologie (un interne, une infirmière, 2 externes et 6 orthoptistes ou élèves). Les 40 autres témoins ont été inclus parmi les personnes venant consulter pour divers motifs en ophtalmologie. La moyenne d'âge des témoins était de 61.4 ans (de 20 à 89 ans). Il y avait dans le groupe témoin : 19 hommes (38%) et 31 femmes (62%). L'œil droit a été prélevé chez 29 témoins et le gauche chez 21 autres.

2. Analyses bactériologiques (Annexe 3 et tableau 5)

2.1. Patients ayant une blépharite

a. Analyse qualitative

Parmi les 54 patients ayant une blépharite, 44 prélèvements ont donné lieu à une culture positive (44/54, 81.5%) avec au moins une bactérie et 10 étaient négatifs (10/54, 18.5%).

♦ Description globale des espèces bactériennes retrouvées

La description globale des différentes espèces bactériennes retrouvées est récapitulée dans le **tableau 1** ci-dessous.

Pour les 44 patients avec une culture positive, au moins une espèce de corynébactérie a été isolée chez 29 patients soit (29/54, 53.7 %) de l'ensemble des blépharites dont *C. macginleyi* (n : 18 soit 18/54, 33.3%), *C. bovis* (n : 8 soit 14.8%), *C. tuberculostearicum* (n : 5 soit 9.2 %), *C. pseudodiphtheriticum* (n : 3 soit 5.5%), *C. accolens* (n : 2 soit 3.7%) *C. kroppenstedtii* (n : 1 soit 1.8%).

Les staphylocoques ont été retrouvés chez 27 cas soit (27/54, 50%) des blépharites. En majorité arrive *S. epidermidis* (n : 19 cas soit 35.1%), puis *S. aureus* (n : 7 soit 12.9%). *S. haemolyticus* (n : 3), *S. capitis* (n : 3) *S. hominis* (n : 2), *S. pasteurii* (n : 1), *S. warneri* (n : 1), *S. lugdunensis* (n : 1).

Propionibacterium acnes a été détecté chez 8 cas soit 14.8% de nos blépharites.

D'autres espèces beaucoup plus rares ont été retrouvées : *Dolosigranulum pigrum* (n : 2), *Trueperella bernardiae* (n : 1), *M. luteus* (n : 1), *Acinetobacter lwoffii* (n : 1), *Aerococcus viridans* (n : 1) et *Paenibacillus durus* (n : 1).

Tableau 1 : Distribution qualitative globale des différentes espèces bactériennes isolées chez les cas atteints de blépharites. (N : nombre de positifs chez les blépharites).

Corynébactéries (N=29)					
	<i>C. macginleyi</i>	<i>C. bovis</i>	<i>C. tuberculostearicum</i>	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	autres
N :	18	8	5	3	3
Staphylocoques (N=27)					
	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. capitis</i>	autres
N :	19	7	3	3	5
<i>Propionibacterium acnes</i>					
N :	8				
Autres espèces plus rares					
N :	7				

♦ Les deux sous groupes de résultats positifs

Dans le groupe positif de blépharites (44 cas), nous avons pu distinguer deux catégories : la première où une seule espèce bactérienne a été isolée et la seconde où deux ou plusieurs espèces bactériennes ont été retrouvées chez le même patient. **Les figures 7 et 8** reprennent cette répartition.

1- Une seule espèce bactérienne est isolée :

Ceci a concerné 18 patients soit (18/54, 33.3%).

Les corynébactéries ont été isolées chez 10 cas. Il s'agit en majorité (8/10) de *C. macginleyi*. *C. bovis* et *C. tuberculostrictum* concerne chacune 1 cas sur 10 de l'ensemble des corynébactéries identifiées.

Staphylocoque. epidermidis, *S. aureus* et *S. warneri* ont été isolés respectivement chez 4, 2 et 1 cas.

Et en ce qui concerne *Propionibacterium acnes*, il a été retrouvé une fois seulement.

2- Deux ou plusieurs espèces bactériennes différentes sont isolées chez le même patient:

Ceci a concerné 26 cas soit (26/54, 48,1%).

Les corynébactéries ont été retrouvées chez 19 cas :

- 2 associations de corynébactéries seules et 17 fois en association avec d'autres espèces.
- Nous avons retrouvé chez 12 cas une seule espèce de corynébactérie et chez les 5 autres cas un mélange d'au moins deux espèces de corynébactéries chez le même patient à chaque fois.
- Comme chez le sous-groupe précédent (une seule espèce bactérienne isolée), *C. macginleyi* arrive en tête des espèces les plus isolées, elle a été retrouvée chez 10 cas, contre 7 cas pour *C. bovis*, 4 cas pour *C. tuberculostrictum* et 3 cas pour *C. pseudodiphtheriticum*. Les autres corynebactéries ont concerné 2 cas d'associations.

Les staphylocoques ont été isolés chez 20 cas :

- Nous avons retrouvé 4 cas d'association de plusieurs espèces de staphylocoques seules, 16 cas où celles-ci été associées à d'autres espèces avec la présence d'au moins une corynébactérie chez 14 cas.

- Comme dans le premier sous-groupe (une seule espèce bactérienne isolée), *S. epidermidis* arrive en tête des staphylocoques les plus isolés (n : 15), *S. aureus* concerne 4 cas. *S. haemolyticus* 3 cas et les autres espèces staphylococciques ont concerné 8 cas d'associations.

Propionibacterium acnes a été retrouvé dans 7 cas d'associations bactériennes.

Les autres espèces beaucoup plus rares décrites plus haut comme *Dolosigranulum pigrum*, *Trueperella bernardiae* ...ont été toutes isolées associées aux autres espèces plus fréquentes comme les corynébactéries et les staphylocoques et elles ont concerné ainsi 5 cas d'associations.

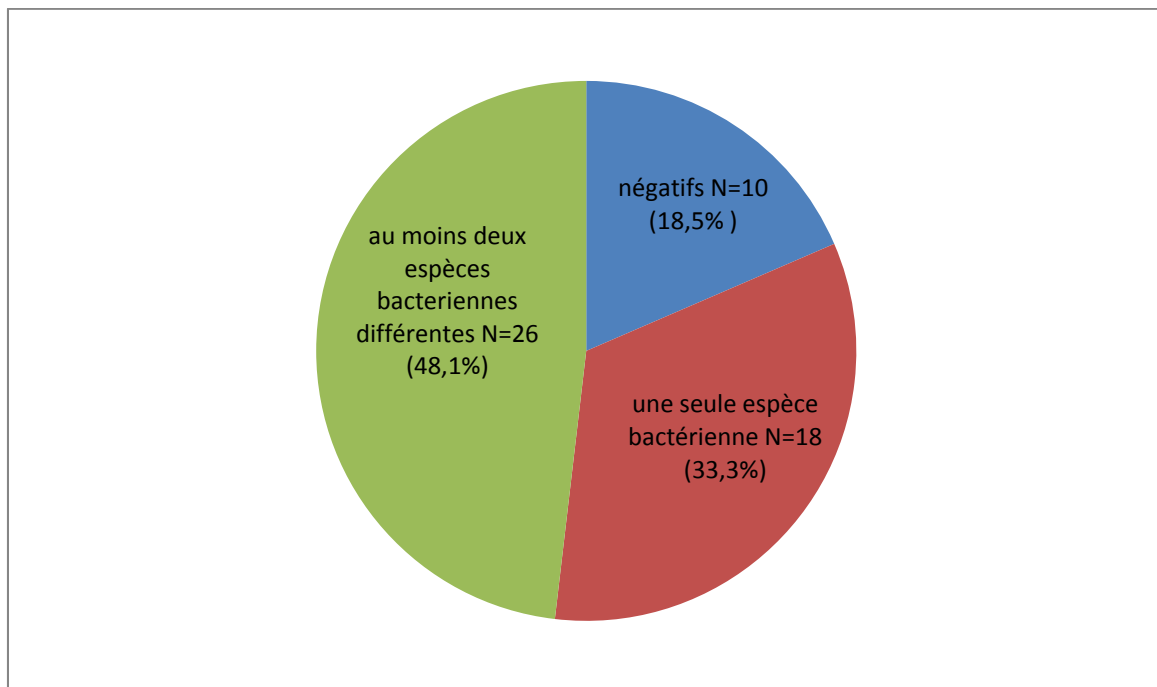


Figure 7 : analyse qualitative globale de l'ensemble des blépharites (54 cas).

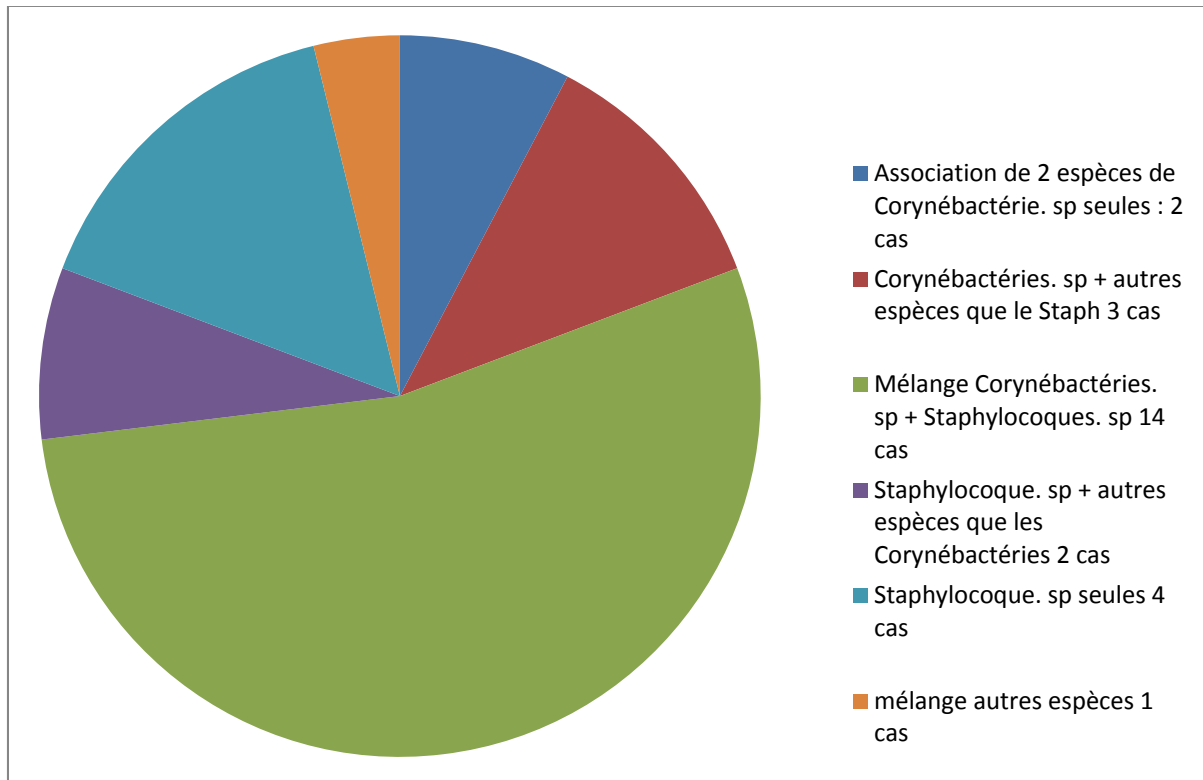


Figure 8 : représentation des différentes associations bactériennes chez le second sous-groupe positif des blépharites.

b. Analyse quantitative

En dehors de l'identification, une numération a été effectuée et exprimée en nombre de colonies pour chacune des boîtes de Petri.

Comme déjà mentionné plus haut, une colonie isolée correspond au départ à une bactérie. Nous avons ensemencé 50 µl dans chaque boîte de Petri ; une colonie isolée correspond ainsi en réalité à 20 bactéries/ml.

Nous avons préféré exprimer nos résultats quantitatifs en nombre de colonies par 50µl (par boîte de Petri) pour plus de simplicité.

Le nombre de colonies a été quantifié chez tous nos prélèvements blépharites positifs à l'exception de deux cas pour des raisons techniques (il s'agit de deux cas positifs à une seule espèce bactérienne de *C. macginleyi*). Au total 42 cas positifs ont été ainsi quantifiés.

-Le nombre moyen global de colonies isolées chez les 42 blépharites était de 39 col/cas (min 1, max 294 col/ cas). **Le tableau 4** plus bas récapitule l'ensemble de l'analyse quantitative.

♦ Les Corynébactéries

En moyenne nous avons isolé 37.4 col/cas (min 1, max 275 col/cas) chez les 27 cas positifs aux corynébactéries et quantifiables.

Nous avons isolé chez les 16 cas positifs à *C. macginleyi* et quantifiables 40.4 col/cas en moyenne (min 1, max 150 col/cas).

En ce qui concerne le *C. bovis* des 8 cas positifs, le nombre moyen de colonies était de 13 col/cas (min 3, max 50 col/cas).

C. tuberculostearicum des 5 cas a donné en moyenne 16.8 col/cas (min 2, max 100 col/cas).

C. pseudodiphtheriticum, des 3 cas a donné un nombre moyen de 42.6 col/cas (min 10, max 100 col/cas).

Pour les autres espèces de corynébactérie présentes chez les 2 cas : le nombre de colonies était en moyenne de 24 col/cas (min 15, max 33).

♦ Les Staphylocoques

En moyenne nous avons isolé chez les 27 cas positifs 17.5 colonies de staphylocoques/cas (min 1, max 127 col/cas).

S. epidermidis des 19 cas a donné en moyenne 11.3 col/cas (min 1, max 70 col/cas).

Le nombre moyen de colonies isolées de *S. aureus* des 7 cas était de 24.7 col/cas (min 1, max 117 col/cas).

Nous avons isolé en moyenne 7.5 col/cas (min 1, max 20 col/cas) pour les 11 cas positifs aux autres espèces staphylococciques

♦ Propionibacterium acnes :

Le nombre moyen de colonies isolées chez les 8 cas a été de 4.7 col/cas (min 1, max 22 col/cas).

♦ Autres espèces bactériennes :

Présentes chez 6 cas, elles ont permis d'isoler en moyenne 19.3 col/cas (min 1, max 100 col/cas).

Cette analyse quantitative descriptive sera reprise plus bas dans le chapitre « 4 » où elle sera comparée avec le groupe de témoins. Le **tableau 4** récapitule l'ensemble de l'analyse quantitative.

2.2. Chez les témoins

a. Analyse qualitative

Parmi les 50 témoins, 19 prélèvements ont donné lieu à une culture positive (19/50, 38%) avec au moins une bactérie et 31 étaient négatifs (31/50, 62%).

♦ Description globale des espèces bactériennes retrouvées

La description globale des différentes espèces bactériennes est récapitulée dans le **tableau 2**.

Pour les 19 témoins avec une culture positive, les corynébactéries ont été isolées chez 9 personnes soit (9/50, 18%) dont *C. macginleyi* (n : 3 soit 6%), *C. bovis* (n : 2 soit 4%), *C. tuberculoearicum* (n : 1 soit 2%), *C. pseudotuberculosis* (n : 1 soit 2%), *C. coyla* (n : 1 soit 2%), *C. kroppenstedtii* (n : 1 soit 2%), *C. mucifaciens* (n : 1 soit 2%).

Les staphylocoques ont été retrouvés chez 10 témoins soit (10/50, 20%). En majorité arrive *S. epidermidis* (n : 8 soit 16%), *S. capitis* (n : 1 soit 2%), *S. lugdunensis* (n : 1 soit 2%), *S. pasteurii* (n : 1 soit 2%), *S. mitis* (n : 1 soit 2%). *S. aureus* n'a pas été isolé chez nos témoins.

Propionibacterium acnes a été détecté chez 7 cas soit (7/50, 14 %) de nos témoins.

Autres espèces beaucoup plus rares ont été retrouvées : *Actinomyces viscosus* (n : 1), *Neisseria mucosa* (n : 1), *Dermabacter hominis* (n : 1), *Citrobacter koseri* (n : 1).

Tableau 2 : Distribution qualitative globale des différentes espèces bactériennes isolées chez la population de témoins (N : nombre de positifs chez les témoins).

Corynébactéries (N=9)					
	<i>C. macginleyi</i>	<i>C. bovis</i>	<i>C. tuberculo</i> <i>stearicum</i>	<i>C. pseudodiphteriticum</i>	autres
N :	3	2	1	0	4
Staphylocoques (N=10)					
	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. capitis</i>	autres
N :	8	0	0	1	3
<i>Propionibacterium acnes</i>					
N :	7				
Autres espèces plus rares					
N :	4				

♦ Les deux sous groupes de résultats positifs

Dans le groupe positif des témoins (19 cas), nous avons pu distinguer deux catégories de résultats (**figures 9 et 10**).

1- Une seule espèce bactérienne est isolée :

Ceci a concerné 11 témoins soit (11/50, 22%).

Les corynébactéries ont été isolées chez 3 témoins. Il s'agit de *C. macginleyi* dans 2 cas et *C. bovis* dans le troisième cas.

S. epidermidis a été le seul staphylocoque isolé. On l'a retrouvé chez 4 témoins.

Et en ce qui concerne *Propionibacterium acnes*, il a été retrouvé 4 fois.

2- Deux ou plusieurs espèces bactériennes différentes sont isolées chez le même patient:

Ceci a concerné 8 témoins soit (8/50, 16%).

Les corynébactéries ont été retrouvées chez 6 témoins :

- 1 association de corynébactéries seules et 5 fois en association avec d'autres espèces.
- Parmi nos 6 témoins, nous avons qu'une fois *C. macginleyi*, *C. bovis* et *C. tuberculostearicum*, les trois autres témoins sont positifs à d'autres espèces de corynébactérie.
- Nous avons retrouvé qu'un cas de mélange de deux espèces de corynébactéries et chez les 5 autres témoins il y avait qu'une seule espèce de corynébactérie.

Les staphylocoques ont été isolés chez 6 témoins ;

- Chez nos 6 témoins les staphylocoques étaient à chaque fois associés à d'autres espèces d'autres genres avec la présence d'au moins une corynébactérie chez 4 cas.
- Comme dans le premier groupe (une seule espèce bactérienne isolée), *S. epidermidis* arrive en tête des staphylocoques les plus isolés en associations bactériennes et concernant ainsi 4 témoins, les autres espèces de staphylocoques cités plus haut ont été toutes retrouvées en associations chez 3 témoins.

Propionibacterium acnes a été retrouvé dans 3 associations bactériennes.

Les autres espèces beaucoup plus rares décrites plus haut comme *Actinomyces viscosus*, *Dermabacter hominis*...ont été toutes isolées associées aux autres espèces plus fréquentes comme les corynébactéries et les staphylocoques et elles ont concerné ainsi 3 associations bactériennes.

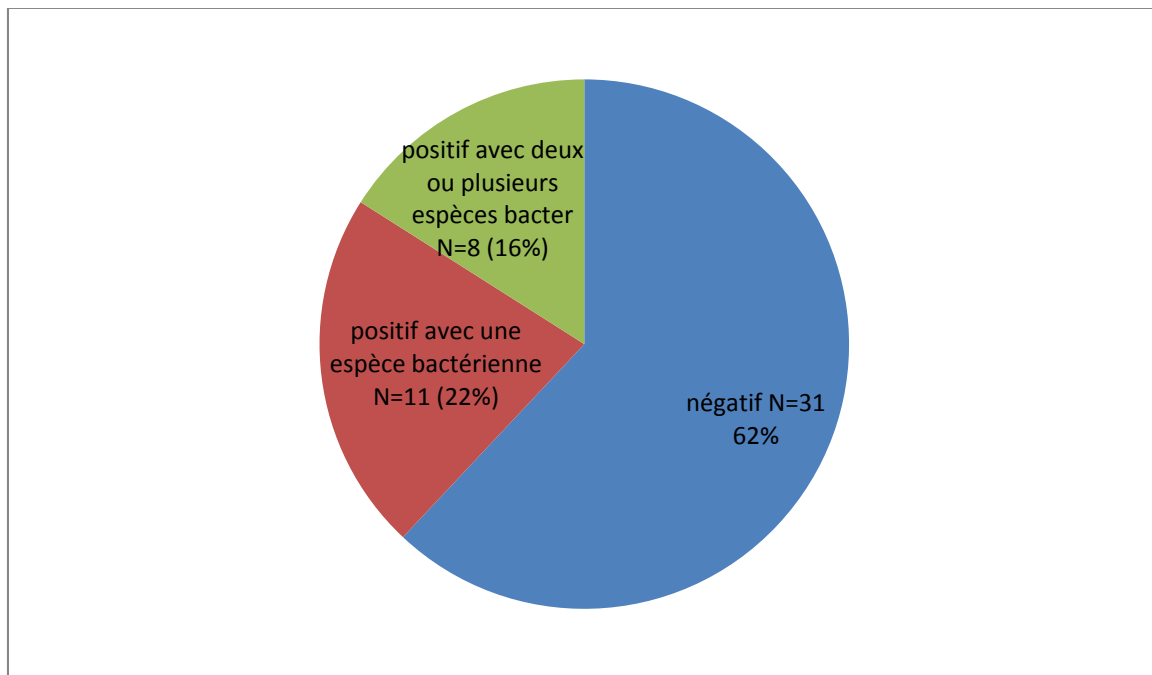


Figure 9 : analyse qualitative globale de l'ensemble des 50 témoins.

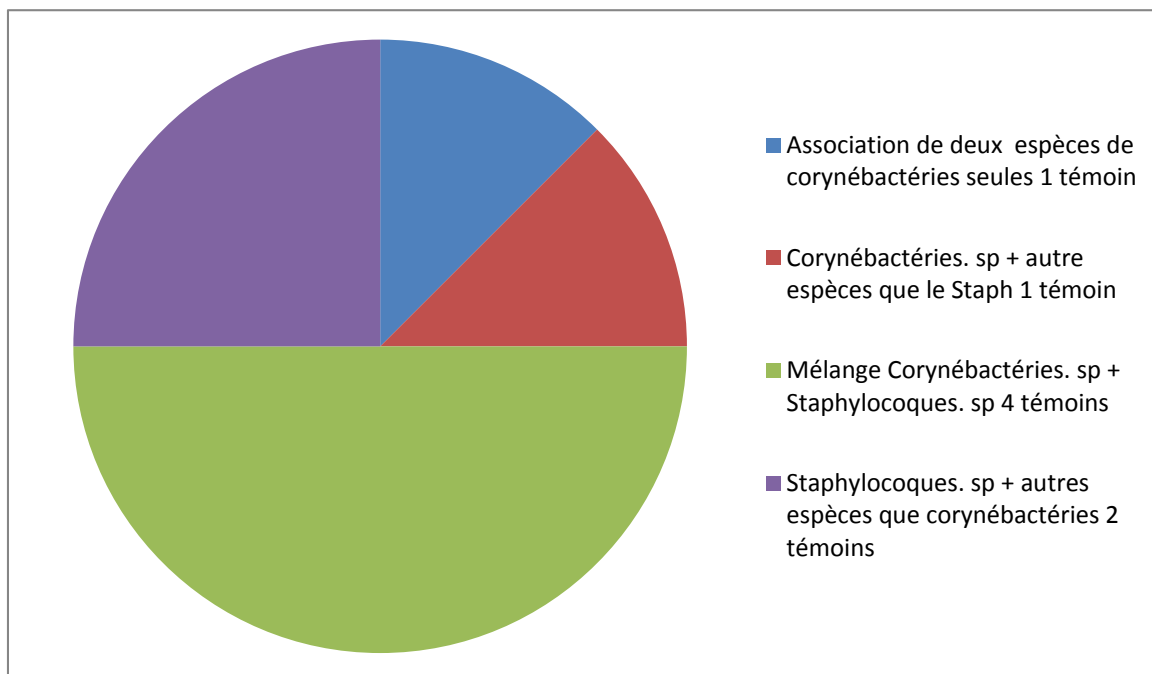


Figure 10 : représentation des différentes associations bactériennes chez le second sous-groupe positif des témoins.

b. Analyse quantitative

Tous les prélèvements des témoins positifs, soit 19 au total, ont été quantifiés.

Le nombre global moyen de colonies isolées toute espèce confondue était de 4.4 col/cas (min 1, max 23 col/cas). Le **tableau 4** plus bas récapitule l'ensemble de l'analyse quantitative.

♦ Les Corynébactéries

En moyenne les corynébactéries des 9 témoins ont donné 2.6 col/cas (min 1, max 8 col/cas).

Nous avons isolé 1.6 col/cas (min 1, max 2 col/cas) de *C. macginleyi* chez les 3 témoins positifs à cette dernière.

C. bovis des 2 témoins a donné en moyenne 2 col/cas (min 1, max 5 col/cas).

C. tuberculostearicum a donné une colonie chez un témoin.

Les autres corynébactéries ont donné chez 2 témoins en moyenne 6 col/cas (min 3, max 8 col/cas).

♦ Les staphylocoques

Le nombre moyen de colonies des 10 témoins positifs était de 1.9 col/cas (min 1, max 8 col/cas).

S. epidermidis des 8 témoins a donné en moyenne 1.6 col/cas (min 1, max 5 col/cas).

S. aureus n'a pas été isolé.

Nous avons isolé en moyenne des autres espèces staphylococciques chez les 3 témoins concernés, 2 col/cas (min 1, max 3 col/cas).

♦ Propionibacterium acnes

Le nombre moyen de colonies isolées chez 7 témoins a été de 5.1 col/cas (min 1, max 15 col/cas).

♦ Autres espèces bactériennes

Présentes chez 3 témoins, elles ont permis d'isoler en moyenne 2 col/cas (min=max=2 col/cas).

Cette analyse quantitative descriptive sera reprise dans le chapitre « 4 » où elle sera comparée avec le groupe précédent de blépharites. Le **tableau 4** du même chapitre récapitule l'ensemble de l'analyse quantitative.

3. La recherche du Demodex

3.1. Patients ayant une blépharite

Neuf cas de blépharites ont bénéficié d'une recherche de Demodex en plus de leur prélèvement bactériologique. Nous n'avons obtenu que 2 positifs soit 22.2%.

3.2. Témoins

Sept témoins ont bénéficié d'une recherche de Demodex en plus de leur prélèvement bactériologique. Nous avons obtenu 2 positifs soit 28.6%.

4. Comparaison des cas de blépharite et des témoins

4.1. Analyses bactériologiques

a. Analyse qualitative

Le pourcentage global des prélèvements revenus positifs est nettement supérieur chez la population de blépharite (81.5%) par rapport à celui des témoins (38 %).

En ce qui concerne les espèces bactériennes les plus isolées dans ce travail, on remarque que leur répartition est différente chez nos deux populations. Ceci concerne plus les corynébactéries et les staphylocoques qui sont bien plus fréquents chez le groupe de blépharites (**fig 11**). *Propionibacterium acnes* a été isolé de façon quasi identique dans les deux groupes.

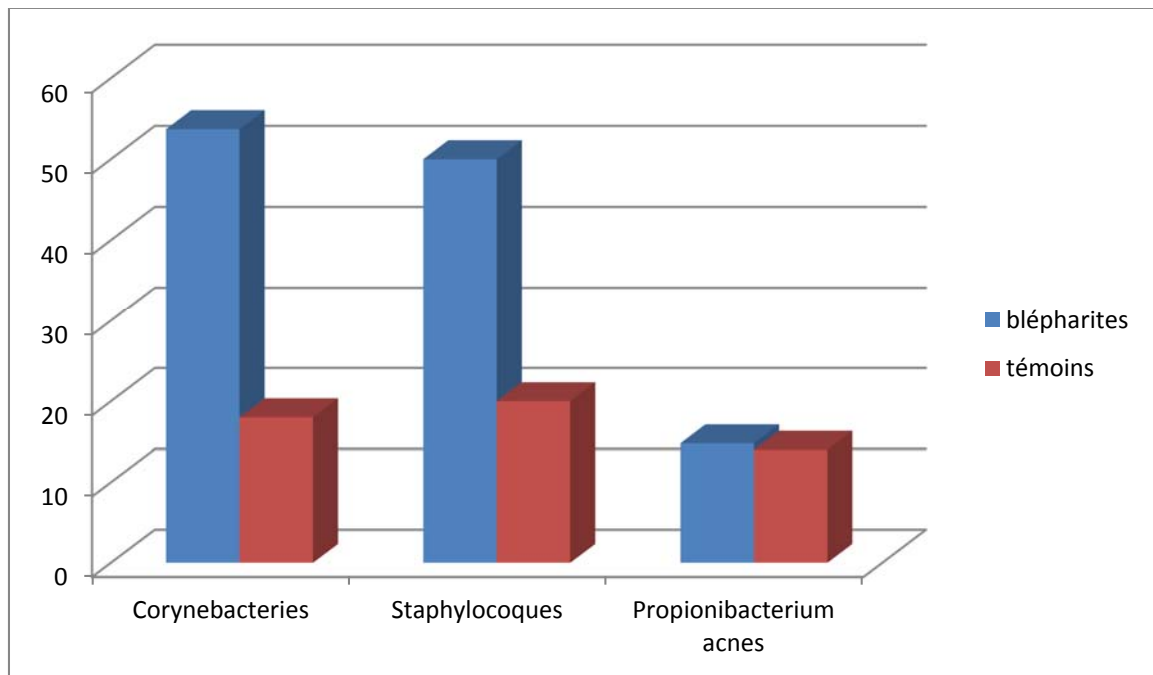


Figure 11 : Comparaison des pourcentages des positifs pour les trois principaux genres bactériens isolés chez les deux populations étudiées.

♦ Les Corynébactéries

Les corynébactéries sont les bactéries les plus isolées chez les cas de blépharite de cette étude. Elles ont été retrouvées chez 53.7% de ces derniers contre 18% seulement des témoins. L'association des corynébactéries aux blépharites s'est révélée statistiquement significative avec un $p < 0.01$.

Le **tableau 3** récapitule la distribution des corynébactéries au sein des deux populations. Il montre la grande différence du nombre de positifs à *C. macginleyi* : 33.3% des blépharites contre seulement 6% des témoins. Comme pour les corynébactéries, l'association de *C. macginleyi* aux blépharites est statistiquement significative ($p < 0.01$).

♦ Les staphylocoques

Les staphylocoques ont été retrouvés chez 50% des blépharites contre 20% des témoins. *S. epidermidis* a été isolée chez 35.1% de blépharites contre 16% des témoins. Au test Chi2 on trouve un p à 0.02. Ainsi *S. epidermidis* est significativement associé aux blépharites.

S. aureus a concerné 13% des blépharites et n'a pas été isolé chez aucun témoin. Il n'a concerné que 7 cas de blépharites. Devant ce petit effectif, le Chi2 n'est pas approprié, le test

exact de Fisher montre que *S. aureus* reste significativement associé aux blépharites (p=0.01).

♦ *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes a été isolé de façon quasi identique dans les deux groupes 14.8% chez les blépharites contre 14% chez nos témoins (p=0.9).

Tableau 3 : La distribution qualitative globale des différentes espèces bactériennes isolées chez les deux populations étudiées (n1 : nombre de positifs chez les blépharites et n2 chez les témoins).

Corynébactéries					
	<i>C. macginleyi</i>	<i>C. bovis</i>	<i>C. tuberculostearicum</i>	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	autres
n1 :	18	8	5	3	3
n2:	3	2	1	0	4
Staphylocoques					
	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. capitis</i>	autres
n1 :	19	7	3	3	5
n2 :	8	0	0	1	3
<i>Propionibacterium acnes</i>					
n1 :	8				
n2 :	7				
Autres espèces plus rares					
n1 :	7				
n2 :	4				

♦ Associations bactériennes

Parmi les prélèvements positifs des deux populations, nous avons remarqué qu'il y avait plus d'associations bactériennes (chez la même personne) parmi la population de blépharites (26/54, 48,1%) contre (8/50, 16%). seulement des témoins.

Ainsi chez les patients ayant une blépharite, on retrouve plus de résultats positifs et ces derniers associent deux ou plusieurs espèces bactériennes 3 fois plus que chez les témoins.

b. Analyse quantitative

La numération des colonies isolées dans notre étude a permis de constater que le nombre moyen de colonies isolées/cas de façon globale puis par espèces a toujours été supérieur chez le groupe de blépharite (**tableau 4**).

Tableau 4 : comparaison quantitative (nombre de colonies / cas) des deux populations étudiées (* : Absence de quantification de 2 cas positifs à *C. macginleyi* pour des raisons techniques chez le groupe des blépharites).

	Blépharites positifs (N=42)				Témoin positifs (N=19)			
	N	Moyenne Col/cas	min	max	N	Moyenne Col/cas	min	max
Toutes espèces		39	1	294		4.4	1	23
Corynébactéries	27	37.4	1	275	9	2.6	1	2
<i>C. macginleyi</i>	16*	40.4	1	150	3	1.6	1	2
<i>C. bovis</i>	8	13	3	50	2	2	1	5
<i>C. tuberculostearicum</i>	5	16.8	2	100	1	1	1	1
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	3	42.6	10	100	0	0		
Autres Corynebacteries	2	24	15	33	2	6	3	8
Staphylocoques	27	17.5	1	127	10	1.9	1	8
<i>S. epidermidis</i>	19	11.3	1	70	8	1.6	1	5
<i>S. aureus</i>	7	24.7	1	117	0	0		
Autres staphylocoques	11	7.5	1	20	3	2	1	3
<i>Propionibacterium acnes</i>	8	4.7	1	22	7	5.1	1	15
Espèces rares	6	19.3	1	100	3	2	2	2

♦ Corynébactéries

L'analyse quantitative comparative montre que ces bactéries représentent celles qui donnent le plus de colonies/cas positif au sein du groupe de blépharites avec 37.4 col/cas mais également nettement plus par rapport au groupe de témoins où elles donnent en moyenne 2.6 col/cas.

C. macginleyi s'est révélée associée significativement aux blépharites ($p < 0.01$). Lors de l'analyse quantitative on trouve que cette bactérie donne beaucoup plus de colonies/cas chez ce groupe par rapport aux témoins. Elle donne en moyenne 40.4 col/cas chez les blépharites contre 1.6 col/cas chez les témoins. Ce qui veut dire que *C. macginleyi* a été isolée que rarement chez nos témoins et que lorsqu'elle est isolée, celle-ci ne donne que très peu de colonies.

La figure 12 qui suit montre cette nette différence entre nos deux groupes concernant cette bactérie.

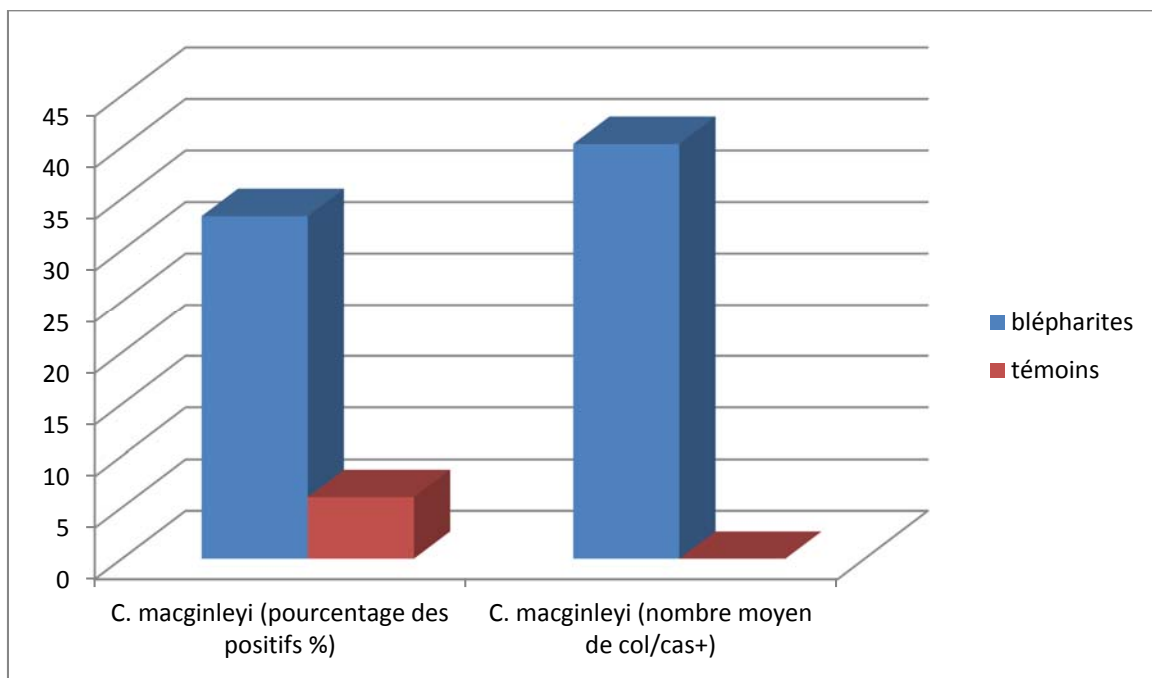


Figure 12 : Comparaisons des pourcentages des positifs à *C. macginleyi* et le nombre moyen de colonies/cas chez les positifs à cette bactérie chez les deux populations étudiées.

♦ Les staphylocoques

La figure 13 qui suit compare les deux principaux staphylocoques chez nos deux groupes

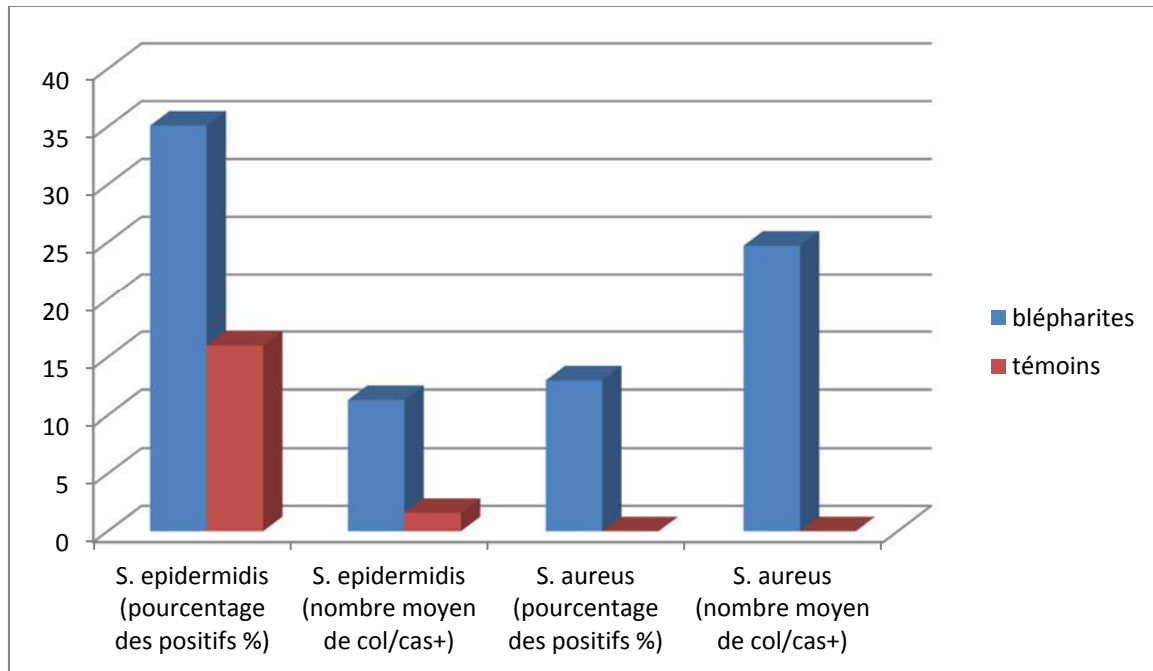


Figure 13 : Comparaisons des pourcentages des positifs à *S. epidermidis* et *S.aureus* et le nombre moyen de colonies/cas chez les positifs à ces bactéries chez les deux populations étudiées.

♦ *Propionibacterium acnes* :

Propionibacterium acnes a été isolé de façon quasi identique dans les deux groupes comme nous avons vu plus haut. En analyse quantitative on retrouve la même conclusion avec un nombre moyen de colonies de 4.7 col/cas chez les blépharites contre 5.1 col/cas chez les témoins.

4.2. Recherche du Demodex

En ce qui concerne ce parasite, nous n'avons pas trouvé de différence entre les deux proportions de positifs qui a été quasi-similaire chez les deux groupes (22.2 et 28.6%).



Figure 14 : *Demodex folliculorum* isolé chez un témoin de notre étude (le numéro 50), on voit bien sa tête vers le follicule pileux (image du laboratoire de parasitologie du CHRU de Tours).

DISCUSSION

Les blépharites représentent une pathologie fréquente, bénigne mais très désagréable. Leurs origines sont multiples et surtout mal définies. Cette étude cas-témoin avait comme objectif d'étudier de façon qualitative et quantitative la flore bactérienne des personnes ayant une blépharite par rapport aux témoins sains, afin d'apprécier la place des étiologies bactériennes dans les blépharites. *Demodex* qui est un parasite déjà décrit dans les blépharites a été également recherché chez un sous groupe de personnes incluses dans cette étude.

Par rapport au *Demodex*, on trouve de nombreux travaux dans la littérature qui ont pu démontrer le lien entre ce parasite et les blépharites malgré la retenue des uns. Zhao YE et al ont repris lors d'une méta-analyse qu'ils ont publiée en 2012, 13 études et travaux, publiés de 1950 à 2010, sur l'association de *Demodex* aux blépharites [Zhao YE et al, 2012]. Au total ces études ont concerné 4741 participants (2098 blépharites et 2643 témoins sains) et l'association de la présence du parasite dans les blépharites s'est révélée statistiquement significative. On pense que ce parasite est présent chez les porteurs de blépharites comme chez les sujets sains mais avec une colonisation plus importante comme ce qui a été constaté lors de l'étude de Glavis-Ramirez et al, [Glavis-Ramirez et al, 2011]. En effet lors de cette étude, 128 personnes, sélectionnées de manière aléatoire parmi les individus qui consultaient au centre ophtalmologique de Virgilio Galvis (en Colombie), ont bénéficié d'une recherche de *Demodex folliculorum*. Ce parasite a été retrouvé chez 63% des patients porteurs de blépharite contre 29% des sujets sains inclus. La charge parasitaire moyenne a été également supérieure chez les blépharites (13 vs 5). Ces deux constatations se sont révélées significatives ($p < 0.01$). La recherche de ce parasite dans notre étude n'a pas permis de montrer de différence entre les deux proportions de positifs dans les deux groupes (22 et 28%). Néanmoins le faible effectif des patients ayant eu une recherche limite la portée des résultats.

En ce qui concerne les analyses bactériologiques de notre étude, le pourcentage global des prélèvements revenus positifs, pour toutes les espèces bactériennes, est nettement supérieur chez la population de blépharite (81%) par rapport à celui des témoins (38 %). Ce qui veut dire que quand on réalise un prélèvement bactériologique chez des personnes ayant une blépharite, dans plus de 4 cas sur 5 ce prélèvement reviendra positif alors que cela concernera moins de 2 témoins sur 5. Deux ou plusieurs espèces bactériennes ont été isolées dans le même prélèvement chez 48% des cas de blépharites contre 16% pour les témoins. Ainsi il existe une association bactérienne chez un patient sur deux ayant une blépharite. Chez les 54 patients avec une blépharite, 44 cas ont été positifs à au moins une espèce

bactérienne: (27/44, 61%) de staphylocoques avec 43% de *S. epidermidis*, et 16% de *S. aureus*, 18% de *Propionibacterium acnes* mais surtout 66% de corynébactéries avec 41% de *C. macginleyi*.

L'analyse quantitative que nous avons réalisée a montré que *S. epidermidis* et *S. aureus* sont quantitativement plus nombreux chez les patients atteints de blépharite. Il y avait respectivement pour ces bactéries et en moyenne 11 et 25 colonies par prélèvement positif chez les blépharites contre moins de 2 colonies pour *S. epidermidis* chez les sujets sains (*S. aureus* absent chez les témoins). L'implication de ces bactéries dans les blépharites est possible du fait d'une association statistiquement significative entre ces deux espèces et les blépharites ($p=0.02$ pour *S. epidermidis* et 0.01 pour *S. aureus*).

En ce qui concerne *Propionibacterium acnes*, son identification a été aussi fréquente dans les deux populations. Il a été isolé chez 15% des blépharites contre 14% des témoins ($p=0.9$). Ainsi cette bactérie ne s'est pas révélée associée aux blépharites dans notre étude avec en plus une quantité quasi-similaire de colonies présentes dans les prélèvements positifs des deux groupes (en moyenne 5 colonies/cas).

Les corynébactéries ont été les bactéries les plus isolées. Elles ont concerné 54% des blépharites contre 18% seulement des témoins. L'association de ces bactéries aux blépharites s'est révélée statistiquement significative. Avec leur 37 colonies/cas en moyenne, elles ont été également celles que nous avons isolées en plus grande quantité chez les positifs au sein du groupe de blépharites mais également nettement plus par rapport au groupe de témoins où elles ont donné moins de 3 colonies par prélèvement. Parmi les corynébactéries, *C. macginleyi* a été l'espèce la plus souvent retrouvée chez le groupe de blépharites. Elle a concerné 33% contre 6% seulement des témoins. L'association de cette bactérie s'est révélée également statistiquement significative ($p<0.01$). L'analyse quantitative comparative montre également que *C. macginleyi* est non seulement plus fréquente en cas de blépharites mais également que la présence de cette bactérie est beaucoup plus importante chez ce groupe par rapport aux témoins. Quarante colonies en moyenne sont observées par prélèvement chez les patients atteints de blépharites contre moins de 2 colonies chez les témoins. Lorsque *C. macginleyi* est isolée chez les témoins, la quantité de bactéries est très faible.

Dans la littérature, les prélèvements bactériologiques réalisés en cas de blépharite reviennent souvent positifs. Groden et al ont comparé la flore bactérienne isolée chez 332 personnes atteintes de blépharites à celle de 160 témoins sains [Groden et al, 1991]. Les espèces bactériennes qu'ils ont le plus isolées chez les blépharites ont été les staphylocoques, avec en

grande majorité *S. epidermidis* à 96% ($p < 0.01$) contre 10% pour *S. aureus*. *Propionibacterium acnes* a été retrouvé dans 93% ($p < 0.02$), les corynébactéries dans 77% (< 0.01) et enfin *Acinetobacter. sp* dans 11.4% des cas.

Dans l'étude de Kulaçoğlu D N et al, la flore bactérienne de 117 cas de blépharite antérieure a été comparée à celle de 52 témoins sains [Kulaçoğlu D Net al, 2000] Les patients porteurs de blépharite postérieure ont été exclus de cette étude. Les espèces bactériennes les plus souvent isolées ont été *S. epidermidis* (27%), *S. aureus* (15%) et *Propionibacterium acnes* (10%). Les corynébactéries, contrairement à l'étude précédente, n'ont pas été isolées.

Dans notre travail, et par rapport aux deux études citées, on constate des différences dans la nature et la répartition des différentes espèces bactériennes isolées. En effet chez nos 44 cas de blépharites positifs, les corynébactéries ont été majoritaires à 66% avec 41% de *C. macginleyi*. *S. epidermidis* représentait 43%, et *S. aureus* 16%. Toutes ces espèces ont été significativement associées aux blépharites mais ceci n'était pas le cas du *Propionibacterium acnes* isolé dans 18% des cas. Dans les deux études précédentes qui remontent aux années 1990 et 2000, l'identification des bactéries était réalisée selon les méthodes classiques moins performantes et sans spectrométrie de masse ni séquençage à l'inverse de notre travail. La deuxième étude un peu plus récente, n'a inclut que des cas de blépharites antérieures, en effet les formes postérieures de cette pathologie ont été exclues et ceci contrairement à notre travail qui a concerné toutes les formes. L'absence de corynébactéries lors de cette étude pourrait être liée à cette différence, surtout que la blépharite postérieure est secondaire au dysfonctionnement des glandes de Meibomius productrice de meibum.

Les particularités de notre étude sont multiples. La majorité des prélèvements (sauf un seul) ont été réalisés par la même personne, ce qui garantit leur uniformité. Tous nos résultats positifs ont été analysés par un spectromètre de masse selon la méthode MALDI-TOF (appareil Vitek-MS, bioMérieux) dont la fiabilité est très importante. Lorsque cette méthode ne permettait pas d'obtenir d'identification ou lorsque le résultat manquait de précision, l'identification a été obtenue ou confirmée par PCR, ciblant l'ADN codant l'ARN ribosomal 16S, ce qui renforce encore plus la fiabilité de nos résultats. En plus de l'analyse qualitative, une numération des colonies présentes a été effectuée. Nous n'avons pas pu trouver dans la littérature de travaux comparant de façon quantitative le nombre de colonies isolée par prélèvement. Il est probable que ce paramètre soit très intéressant à mesurer car il a permis de montrer que le nombre moyen de colonies isolées par cas de façon globale puis par espèce a toujours été supérieur chez le groupe de blépharite.

Il est à noter qu'au sein même du groupe de blépharite, nous avons trouvé lors de notre analyse quantitative une dispersion dans le nombre de colonies/cas, même si celle-ci reste en moyenne très supérieure à celle des témoins. On pense que le caractère cyclique des blépharites, rapporté par nos patients en général, a sans doute un lien avec cette quantité de bactéries isolées/cas. En effet les patients décrivent souvent des périodes où ils sont très symptomatiques séparées par des phases d'accalmie. Dans ce travail, nous avons effectué tous nos prélèvements à un instant T0. Un deuxième prélèvement pourrait trouver un nombre supérieur de colonies/cas chez le même patient s'il passe en poussée de sa blépharite. Seule une cinétique de la flore bactérienne des mêmes personnes ayant une blépharite pourrait confirmer ou infirmer cette hypothèse.

L'origine infectieuse bactériologique des blépharites a été évoquée par de nombreux travaux. De multiples formes et familles d'antibiotiques ont été ainsi testées. Les blépharites se sont améliorées après l'instillation de tobramycine, ciprofloxacine et azithromycine... [Torkildsen GL et al, 2011, Bloom PA et al, 1994, Luchs J, 2008]. Ce dernier antibiotique revient régulièrement dans les études. Il a amélioré les blépharites pour chacune des études réalisées. Ceci est sans doute grâce à son effet anti-infectieux mais également anti-inflammatoire [Luchs J, 2010]. Quand on reprend les antibiogrammes des différentes corynébactéries et surtout celui de *C. macginleyi*, on trouve que celle-ci est sensible aux différents antibiotiques habituellement actifs sur les corynébactéries. Elle est en effet sensible aux aminosides, à l'azithromycine, à la ciprofloxacine,... Un rôle de *C. macginleyi* dans la physiopathologie des blépharites est possible. Le mécanisme n'est cependant pas connu. Il s'agit d'une bactérie décrite récemment dans la littérature (années 1990). Elle a toujours été isolée qu'au niveau oculaire sauf dans très peu de publications où elle a été retrouvée dans des cas de septicémie, d'endocardite [Mosele M, 2012] ou au niveau urinaire chez un patient de 82 ans porteur d'un cathéter vésical permanent [Villanueva JL, 2002]. Au niveau oculaire, cette bactérie a été retrouvée chez des cas isolés de conjonctivite ou de kératite comme dans la série décrite par Funke G et al où quinze prélèvements conjonctivaux réalisés lors d'une conjonctivite ou d'un ulcère cornéen à l'aide d'écouvillons sont revenus positifs à cette espèce bactérienne très peu isolée auparavant [Funke G et al, 1998]. Un cas d'endophtalmie à *C. macginleyi* a été décrit par Ferrer C et al [Ferrer C et al, 2004]. Il s'agissait d'une endophtalmie chronique chez une personne de 72 ans apparue dans les suites d'une chirurgie de cataracte. Les différents prélèvements standards sont tous revenus négatifs. Seule la PCR avec séquençage a permis d'identifier cette bactérie. Le patient a bénéficié d'un traitement par vancomycine avec

succès. *C. macginleyi* est une corynébactérie lipophile [Riegel P, 2007]. Elle peut coloniser les glandes de Meibomius pour leur meibum qu'elles produisent. En effet ce dernier comme nous avons cité plus haut a l'aspect d'une huile et il est composé essentiellement de cires, de stérols estérifiés, de Triglycérides (TG), phospholipides et cérebrosides [Doan S.2012]. *C. macginleyi* pourrait ainsi trouver un milieu nourricier permettant sa croissance et favoriser la colonisation des glandes de Meibomius et participer ainsi à leur inflammation et leur dysfonctionnement dans les blépharites. Le caractère pathogène de cette bactérie n'est pas encore élucidé. On ne sait pas s'il s'agit d'une infection ou d'une simple colonisation meibomienne favorisée par des conditions particulières.

A l'analyse des résultats de cette étude, nous avons eu plusieurs interrogations. En effet le but final de toute étude de recherche médicale est d'aboutir à une thérapeutique. Pour cela le pouvoir pathogène de ces bactéries doit être confirmé. Le traitement proposé actuellement par les ophtalmologues en général aux patients ayant une blépharite se résume souvent aux soins de massage des paupières à l'aide de compresses imbibées d'eau chaude. Avant de passer à la doxycycline par voie orale, les cures de collyres d'azithromycine dihydrate 15mg/g prennent de plus en plus de place dans la thérapeutique qu'on propose pour ces patients depuis que son efficacité et sa supériorité aux massages aux compresses seuls a été démontrée. Ceci est sans doute grâce à son effet anti-infectieux mais également anti-inflammatoire [Luchs J, 2008 et 2010]. L'azithromycine est un antibiotique actif sur les corynébactéries en général mais aussi sur *C. macginleyi* comme nous avons vu plus haut. Afin de confirmer ou d'infirmer le pouvoir pathogène de cette bactérie dans la physiopathologie des blépharites, une étude prospective, comparant la flore bactérienne et la colonisation par *C. macginleyi* avant et après cure d'azithromycine dihydrate 15mg/g ou autre collyre antibiotique actif comme la tobramycine pourrait être intéressante.

CONCLUSION

Notre étude a montré une présence significativement augmentée de bactéries dans les blépharites. Ceci a été sur le plan quantitatif et qualitatif.

Lors de l'identification par spectrométrie de masse +/- complétée par séquençage moléculaire, les deux genres bactériens prédominant chez les patients atteints de blépharites ont été les staphylocoques (*S. epidermidis* et *S. aureus*) et les corynébactéries. Parmi celles-ci *C. macginleyi* apparaît jouer un rôle prépondérant. Néanmoins, la présence dans les blépharites de ces bactéries et de *C. macginleyi* en particulier ne permet pas d'affirmer qu'elles soient les responsables des blépharites, car la présence de ces bactéries en quantité importante pourrait être secondaire aux conditions locales qui lui sont favorables. Dans ce cas il s'agirait plus d'une colonisation. En effet il s'agit d'une bactérie récemment décrite et isolée le plus souvent qu'au niveau oculaire où elle a été retrouvée chez des cas isolés de conjonctivites, de kératites, ou lors d'une endophtalmie.

Au total, notre étude met en avant le fait que *C. macginleyi* a été isolée chez un tiers des patients avec une blépharite contre 6% seulement des témoins. Le rôle de cette bactérie dans la physiopathologie reste à établir. Seule une étude prospective pourrait confirmer ou infirmer ce rôle. Elle doit comparer la colonisation par *C. macginleyi* au niveau palpébral lors des blépharites, ceci avant et après instillation de collyres antibiotiques actifs sur cette bactérie comme l'azithromycine ou la tobramycine.

BIBLIOGRAPHIE

- Abu el Asrar AM, Geboes K, Maudgal PC. Immunocytological study of phlyctenular eye disease. Int Ophtalmol. 1987; 10: 33-39.
- Agence nationale de sécurité sanitaire des produits de santé (afssaps). Collyres et autres antibiotiques topiques dans les infections oculaires superficielles. 2004.
- Bloom PA, Leeming JP, Power W, Laidlaw DA, Collum LM, Easty DL. Topical ciprofloxacin in the treatment of blepharitis and blepharoconjunctivitis. Eur J Ophthalmol. 1994; 4: 6-12.
- Chabasse D, Martin Danis, Claude Guiguen et al. *Malassezia furfur*. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. 2010; 30: 272.
- Collège des enseignants en dermatologie de France. La dermatite séborrhéique. Dermatologie. 2011 ; 32: 361-364.
- Collège des enseignants en dermatologie de France. La rosacée. Dermatologie. 2011; 31: 355-360.
- Doan S, Blépharites, EMC Ophtalmologie 2012; 9: 1-9. [Article 21-100-C-25].
- Dugherry JM, Mc Culley JP. Bacterial lipase and chronic blepharitis. Invest Ophtalmol Vis Sci. 1986; 27: 486-491.
- Dugherry JM, Mc Culley JP. Comparative bacteriology of chronic blepharitis. Br J Ophtalmol 1984, 68: 524-528.
- Ferrer C, Ruiz-Moreno JM, Rodríguez A, Montero J, Alió JL. Postoperative *Corynebacterium macginleyi* endophthalmitis. J Cataract Refract Surg. 2004; 30: 2441-2444.
- Funke G, M Pagano-Niederer, W. Bernauer. *Corynebacterium macginleyi* has to date been isolated exclusively from conjunctival swabs. J. Clin. Microbiol. 1998; 36: 3670-3673.
- Glavis-Ramirez V, Tello-Hernandez A, Alvarez-Osorio L, Rez-Serrano JJ. The prevalence of Demodex follicularum infection in patients attending a général ophtalmologic consultation Rev Salud Publica (Bogota). 2011; 13: 990-997.
- Groden LR1, Murphy B, Rodnite J, Genvert GI. Lid flora in blepharitis. 1991, 10: 50-53.
- Herde J, Tost M, Wilhems D, Hohne C, Thiele T, Untersuchungen der perioperativen conjunctival flora. Klin. Monatsbl Augenheilkd. 1996; 209: 13-20.
- Hoang-Xuan T, Rodriguez A, Zaltas MM. Ocular rosacea. A histologic and immunopathologic study. Ophthalmology. 1990; 97: 1468-1475.

- Hoang-Xuan T, Baudouin C, Creuzot-Garcher C, Ocular rosacea. Inflammatory diseases of the cononctiva. Stuttgart: Thieme. 2001; 97-108.
- Kulaçoğlu D N, Özbek A, Uslu H, et al. Comparative Lid Flora in Anterior Blepharitis. Turk J Med Sci. 2000; 31: 359-363.
- Luchs J. Azithromycin in DuraSite for treatment of blepharitis. Clin Ophthalmol. 2010; 4: 681- 688.
- Luchs J. Efficacy of topical azithromycin ophthalmic solution 1% in the treatment of posterior blepharitis. Adv Ther. 2008; 25: 858-870.
- McCulley JP, Shine WE. Meibomian glands function and the tear lipid layer. Ocul Surf 2003; 1: 97-106.
- Michel J-L. La rosacée oculaire. Journal International de médecine.fr. 2010.
- Mosele M, Veronese N, Bolzetta F, Manzato E, Sergi G. A rare case of sepsis due to *Corynebacterium macginleyi* from central venous catheter in an elderly woman. New Microbiol. 2012; 35: 89-91.
- Moulinier C. *Demodex*. Parasitologie et mycologie médicales éléments de morphologie et de biologie. 2003; 10: 665-668.
- Riegel P, Feney J, Ranaud F, Leclercq R. *Corynebacterium* et bactéries apparentes. Précis de Bactériologie Clinique. 2007; 71: 1228-1249.
- Rusiecka Ziolkowska, J Nokiel, M Fleischer et al, Demodex an old pathogen or a new one?. Adv Clin Exp Med. 2014; 23: 295-298.
- Shine WE, Silvany R, Mc Culley JP. Relation of cholesterol stimulated Staphylococcus aureus growth to chronic blepharitis. Invest Ophtalmol Vis Sci. 1993; 34: 2291-2296.
- Tamer C, Oksuz H, Sogut S. Androgen status of the nonautoimmune dry eye sbtypes. Ophthalmic Res. 2006; 38: 280-286.
- Torkildsen GL, Cockrum P, Meier E, Hammonds WM, Silverstein B, Silverstein S. Evaluation of clinical efficacy and safety of tobramycin/dexamethasone ophthalmic suspension 0.3%/0.05% compared to azithromycin ophthalmic solution 1% in the treatment of moderate to severe acute blepharitis/blepharoconjunctivitis. Curr Med Res Opin. 2011; 27: 171-178.
- Ulrich Welsch. Glandes de Meibomius. Précis d'histologie. 2002; 16-2 : 532-533.
- Villanueva JL, Dominguez A, Rios MJ, Iglesias C. *Corynebacterium macginleyi* isolated from urine in a patient with a permanent bladder catheter. Scand J Infect Dis. 2002; 34: 699-700.

- Wolff Klaus, Richard Allen Johnson, Dick Surmond. La rosacée. Atlas en couleurs de dermatologie Clinique. 2007; 1: 8.
- Wolff Klaus, Richard Allen Johnson, Dick Surmond. La pemphigoïde cicatricielle. Atlas en couleurs de dermatologie Clinique. 2007; 6: 109.
- Zhao YE, Wu LP, Hu L, Xu JR. Association of blepharitis with Demodex: a méta-analysis. Ophthalmic Epidemiol. 2012; 19: 95-102.

ANNEXES

FLORE BACTÉRIENNE CONJONCTIVALE OCULAIRE ET BLÉPHARITES NOTE D'INFORMATION

La **blépharite** est une affection bénigne mais inconfortable correspondant à une inflammation du revêtement conjonctival et cutané des paupières.

Elle se manifeste cliniquement par une rougeur palpébrale associée à des démangeaisons, sensations de brûlure ou de corps étrangers, larmoiement et débris croûteux autour des cils. Parfois la blépharite s'accompagne d'une rougeur de l'œil. Les blépharites sont fréquentes pouvant toucher 40% à 60% de la population. Leurs origines sont mal définies et multiples: microbienne (bactéries, parasites) et pathologies cutanées (rosacée)...

Afin de pouvoir déterminer **l'origine bactérienne exacte** de cette pathologie chronique pour guider son traitement et sa prise en charge, nous réalisons une étude en collaboration avec le service de bactériologie de l'hôpital. L'étude consiste à faire un prélèvement conjonctival non invasif à l'aide d'un écouvillon stérile adapté en vue d'une analyse bactériologique.

Il est important de noter que dans le cadre de cette étude il n'y a ni contrainte ni bénéfice personnel à attendre. Cette étude n'ayant aucune influence sur votre prise en charge.

Toutes les données recueillies seront traitées de façon anonyme et resteront strictement confidentielles et ne pourront être consultées que par les personnes qui collaborent à cette étude.

La loi Informatique et Libertés (article 40) du 6 janvier 1978 prévoit votre droit d'opposition à l'informatisation de ces données ainsi que votre droit d'accès à ces informations et de rectification de celles-ci auprès d'Imane BEZZA BENKAOUHA du service d'ophtalmologie du Pr PISELLA (02 47 47 47 33).

Après avoir lu cette note d'information, n'hésitez pas à poser les questions que vous désirez au médecin.

[Annexe 1](#) : Fiche d'information donnée aux personnes incluses dans l'étude.

Consentement Ecrit du Patient

FLORE BACTÉRIENNE CONJONCTIVALE OCULAIRE ET BLÉPHARITES

Je sous signé(e) : **Mr, Mme, Mlle:** _____, avoir été informé(e) ce jour par **BEZZA BENKAOUHA Imane** du service d'ophtalmologie qu'une étude portant sur la flore bactérienne conjonctivale avait lieu pour analyser les bactéries associées aux blépharites. L'étude consiste à faire un prélèvement conjonctival non invasif à l'aide d'un écouvillon stérile adapté en vue d'une analyse bactériologique.

Il m'a été expliqué que je suis libre d'accepter ou de refuser cette procédure supplémentaire, que je pourrai toujours revenir ultérieurement sur cette décision sans que je n'aie à le justifier, et que cela ne modifiera en rien nos relations et mon suivi habituel.

J'ai bien compris que les résultats de cette recherche ne modifieraient pas ma prise en charge et que mon anonymat sera respecté. Je pourrai à tout moment demander des renseignements complémentaires (02 47 47 47 33), et avoir accès aux résultats définitifs de cette recherche.

J'accepte donc de participer à cette recherche dans les conditions précisées ci-après :

Mon consentement ne décharge en rien les promoteurs de cette recherche de leurs responsabilités ;

Je conserve tous mes droits garantis par la loi ; et le droit d'accès prévu par la loi « *Informatique et Liberté* » (art. 40).

Les données recueillies demeureront confidentielles. Je n'autorise leur consultation que par les personnes impliquées dans ce travail, et aux représentants des Autorités de Santé le cas échéant. J'accepte que les données enregistrées au cours de ce projet puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte.

Fait à Tours, le _____ *2014*

Signature de l'investigateur

Signature du patient

Un exemplaire à remettre au patient et un exemplaire à conserver dans le dossier médical du patient

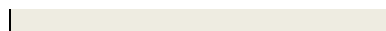
Annexe 2 : Consentement Ecrit des personnes incluses dans l'étude.

N°	Initiales	Sexe	Date prélèv	Age	Œil	Bactérie identifiée	méthode identif.	Quantification	Pathologie	Demodex
19	V. C	M	05/12/2013	74	Gauche	NEG			blépharite	
59	P. R	M	12/02/2014	83	Gauche	NEG			blépharite	Demodex négatif
1	G. E	F	08/10/2013	88	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS	non effectuée	blépharite	
9	R. N	F	07/01/2013	69	Droit	<i>C. bovis</i>	Vitek MS	5 colonies de <i>C. bovis</i>	blépharite	
10	C. O	F	07/11/2013	74	Gauche	<i>C. bovis</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. lugdunensis</i>	Vitek MS	6 colonies de <i>C. bovis</i> 10 colonies <i>S. epidermidis</i> 3 col <i>S. lugdunensis</i>	blépharite	
12	N. O	F	14/11/2013	71	Gauche	<i>C. bovis</i> <i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	7 col 3 col	blépharite	
13	C. B	F	18/11/2013	75	Droit	<i>S. aureus</i>	Vitek MS	5 col	blépharite	
15	D. A	F	03/12/2013	82	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS +seq	15 col	blépharite	
16	B. C	F	04/12/2013	84	Droit	<i>C. tuberculostearicum</i> <i>C. bovis</i>	Vitek MS +seq	40 col 20 col	blépharite	
17	A. G	F	04/12/2013	82	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS +seq	1 col	blépharite	
22	S. E	F	11/12/2013	82	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS	20 col	blépharite	
23	P. L	F	11/12/2013	91	Gauche	<i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	5 col	blépharite	
24	D. C	F	23/12/2013	83	Droit	<i>C. tuberculostearicum</i> <i>C. macginleyi</i> <i>S. aureus</i> <i>Trueperella bernardiae</i> (ex <i>Arcanobacterium</i>)	Vitek MS	12 col 6 col 6 col 3 col	blépharite	
26	B. G	F	08/01/2014	83	Droit	NEG			blépharite	
39	M. M	F	24/01/2014	84	Gauche	<i>S. haemolyticus</i> <i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	4 col 3 col	blépharite	
40	V. F	F	24/01/2014	79	Gauche	<i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	1 col	blépharite	
41	R. J	F	28/01/2014	87	Droit	<i>S. epidermidis</i> <i>C. pseudodiphtheriticum</i>	Vitek MS + séquençage OK	4 col 10 col	blépharite	
44	D. M	F	30/01/2013	72	Gauche	<i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	1 col	blépharite	
53	M. C	F	07/02/2014	79	Droit	NEG			blépharite	
55	B. M	F	10/02/2014	86	Droit	NEG			blépharite	Demodex négatif
57	C. Y	F	10/02/2014	86	Droit	NEG			blépharite	
67	G. L	F	07/04/2014	83	Droit	<i>C. tuberculostearicum</i>	vitek MS	2 col	blépharite	
68	L. J	F	07/04/2014	90	Droit	NEG			blépharite	

72	B. T	F	14/04/2014	80	Gauche	M. luteus S. pasteuri <i>C. bovis</i> P. acnes	vitek MS vitek MS vitek MS vitek MS	1 col 1 col 3 col 1 col	blépharite	
100	H. L	F	09/07/2014	89	Droit	S. epidermidis <i>C. macginleyi</i>	vitek MS vitek MS	1 col sur TSH, 2 col Choc 50 col env. sur TSH	blépharite	Demodex négatif
6	C. M	M	04/11/2013	64	Droit	S. aureus	Vitek MS	1 col	blépharite	
7	M. G	M	05/11/2013	95	Droit	<i>C. macginleyi</i> S. aureus	Vitek MS	50 colonies de C.m 6 colonies S. aureus	blépharite	
8	B. J	M	05/11/2013	89	Droit	<i>C. macginleyi</i> Propionibacterium acnes	Vitek MS	30 colonies de C.m 6 colonies P. acnes	blépharite	
14	N. Y	M	19/11/2013	88	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS	100 col	blépharite	
42	P. G	M	28/01/2014	80	Gauche	<i>C. macginleyi</i> P. acnes	Vitek MS	9 col 1 col ana, 1 col choc	blépharite	Demodex négatif
43	M. A	M	29/01/2014	92	Gauche	<i>C. bovis</i> Dolosigranulum pigrum	Vitek MS Séquençage	8 col 3 col choc	blépharite	
46	G. A	M	03/02/2014	85	Droit	S. capitis S. epidermidis	Vitek MS	1 col 1 col	blépharite	Demodex négatif
47	P. D	M	03/02/2014	67	Droit	NEG			blépharite	
50	C. M	M	04/02/2014	82	Droit	S. capitis S. epidermidis P. acnes <i>C. tuberculostearicum</i> <i>C. bovis</i>	Vitek MS	1 col 1 col 22 col 10 col 50 col	blépharite	
58	M. J	M	12/02/2014	83	Droit	NEG			blépharite	Demodex négatif
63	B. J	M	17/02/2014	90	Droit	<i>C. macginleyi</i> S. epidermidis	Vitek MS + séquençage OK	25 col 1 col choc	blépharite	
65	R. R	M	19/02/2014	75	Gauche	P. acnes	Vitek MS	1 col	blépharite	
66	B. M	M	12/03/2014	72	Droit	Acinetobacter lwoffii Aerococcus viridans S. capitis S. epidermidis	vitek MS vitek MS vitek MS vitek MS	7 col 1 col 2 col 1 col	blépharite	
73	LR	M	14/04/2014	90	Droit	P. acnes Paenibacillus durus?	vitek MS vitek MS	1 col 1 col	blépharite	
75	T. L	M	15/04/2014	81	Gauche	<i>C. macginleyi</i> <i>C. pseudodiphtheriticum</i> <i>C. bovis</i> <i>C. tuberculostearicum</i> S. auricularis S. epidermidis P. acnes	vitek MS vitek MS vitek MS vitek MS vitek MS vitek MS vitek MS	150 col (TSH) 100 col (choc) 5 col (TSH) 20 col en ana 7 col sur TSH, 3 sur choc, 2 en ana 2 col sur choc, 2 col ana 3 col ana	blépharite	

79	P. G	M	26/05/2014	85	Gauche	<i>C. macginleyi</i> <i>C. kroppenstedtii</i> <i>C. accolens</i>	vitek MS vitekMS + séquençage séquençage (Vitek MS C. tuberculo/aurimucosum/propionium)	100 col TSH 16 col en ana 7 col en ana, 10 sur TSH	blépharite	
85	M. A	M	02/06/2014	76	Droit	NEG			blépharite	
87	B. R	M	02/06/2014	91	Droit	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>C. pseudodiphtheriticum</i> <i>Dolosigranulum pigrum</i>	vitek MS vitekMS vitekMS séquençage	27 col TSH, 40 choc, 50 ana 10 col en ana 5 col TSH, 13 choc environ 100 col TSH et choc	blépharite	
88	R. R	M	16/06/2014	66	Gauche	<i>S. haemolyticus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. hominis</i>	vitek MS vitekMS vitekMS	env 20 col sur choc, tsh, ana env 35 col sur tsh et choc env 20 col en ana	blépharite	
98	D. R	M	09/07/2014	79	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS	1 col TSH	blépharite	Demodex positif
103	F. D	M	16/07/2014	59	Gauche	<i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>Propionibacterium acnes</i>	vitek MS vitek MS vitek MS	9 col sur choc 3 col sur TSH 2 petites colonies choc	blépharite	Demodex positif
105	F. E	M	21/07/2014	83	Gauche	<i>S. hominis</i> <i>C. accolens</i>	vitek MS séquençage	15 colonies TSH /ana/choc 15 col COS/TSH	blépharite	Demodex négatif
18	B. G	F	05/12/2013	81	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS	6 col	blépharite	
25a	A. P	F	07/01/2014	85	Gauche	<i>S. warneri</i>	Vitek MS	1 col	blépharite	
2	T. J	M	09/10/2013	83	Droit	<i>C. macginleyi</i> <i>S. aureus</i>	Vitek MS	40 colonies <i>C.m</i> 30 colonies <i>S. aureus</i>	blépharite	
20	C. J	M	06/12/2013	89	Gauche	<i>C. macginleyi</i> <i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	43 col 4 col	blépharite	
21	F. L	M	10/12/2013	88	Droit	<i>S. epidermidis</i> <i>S. aureus</i>	Vitek MS	70 col 8 col	blépharite	
28	D. B	F	09/01/2014	62	Gauche	<i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	50 col	blépharite	
3	D. A	M	09/10/2013	98	Gauche	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS	non effectuée	blépharite	
36	L. A	F	20/01/2014	21	Gauche	NEG			témoin	
37	M. M	F	23/01/2014	32	Droit	<i>S. epidermidis</i>	Vitek MS	1 col	témoin	
48	R. E	F	03/02/2014	79	Droit	<i>S. epidermidis</i> <i>S. capitis</i> <i>S. lugdunensis</i> <i>P. acnes</i>	Vitek MS	5 col 2 col 1 col 15 col	témoin	
49	H. M	F	04/02/2014	65	Gauche	NEG			témoin	

51	D. N	F	05/02/2014	74	Droit	NEG			témoin	
52	B. M	F	05/02/2014	78	Droit	NEG			témoin	
56	R. P	F	10/02/2014	75	Gauche	Actinomyces viscosus S. mitis/oralis Neisseria mucosa <i>C. bovis</i>	Vitek MS Vitek MS	1 col 1 col 1 col <i>5 col</i>	témoin	
61	P. J	F	12/02/2014	51	Gauche	<i>C. coylae</i> P. acnes	Vitek MS + séquençage Vitek MS	<i>1 col</i> 1 col	témoin	
62	F. M	F	17/02/2014	68	Droit	<i>C. macginleyi</i>	Vitek MS	<i>1 col</i>	témoin	Demodex négatif
35	L. V	M	20/01/2014	21	Gauche	<i>C. pseudotuberculosis</i> <i>C. mucifaciens?</i> (séquencée pilbarensis, maldi xerosis) Dermabacter hominis	Vitek MS+Séquençage Séquençage Vitek MS	<i>5 col</i> <i>3 col</i> 2 col	témoin	
38	N. P	M	23/01/2014	20	Droit	Propionibacterium acnes	Vitek MS	1 col	témoin	
45	E. A	M	03/02/2014	61	Droit	NEG			témoin	
60	C. D	M	12/02/2014	81	Droit	P. acnes	Vitek MS	6 col	témoin	
64	R. R	M	17/02/2014	89	Droit	Citrobacter koseri S. epidermidis	Vitek MS	2 col 1 col	témoin	
70	B. C	F	09/04/2014	72	Droit	NEG			témoin	
71	T. L	F	09/04/2014	78	Droit	S. epidermidis <i>C. tuberculostearicum</i>	vitek MS vitek MS	1 col <i>1 col</i>	témoin	
74	B. M	F	14/04/2014	67	Gauche	NEG			témoin	Demodex négatif
76	R. N	F	15/04/2014	57	Gauche	NEG			témoin	
77	T. H	F	28/04/2014	77	Droit	NEG			témoin	
78	C. G	F	28/04/2014	81	Droit	S. epidermidis	vitek MS	1 col en ana	témoin	
82	C. H	F	28/05/2014	67	Gauche	NEG			témoin	
84	L. L	F	30/05/2014	75	Droit	NEG			témoin	
86	B. Y	F	02/06/2014	88	Gauche	NEG			témoin	
89	J. N	F	23/06/2014	57	Droit	NEG			témoin	
91	L. R	F	30/06/2014	59	Gauche	NEG			témoin	



97	B. M	F	07/07/2014	65	Droit	S. epidermidis	vitek MS	1 col sur choc	témoin	
99	B. A	F	09/07/2014	80	Gauche	C. bovis	Vitek MS	1 col TSH	témoin	Demodex négatif
104	C. J	F	21/07/2014	68	Gauche	NEG			témoin	
108	B. C	F	04/08/2014	55	Gauche	NEG			témoin	
109	P. A	F	05/08/2014	66	Droit	NEG			témoin	
110	C. Y	F	05/08/2014	67	Droit	S. epidermidis Propionibacterium acnes C. kroppenstedtii	vitek MS vitek MS	2 col COS 7 col ana 1col choc 3 col ana	témoin	Demodex positif
69	S. M	M	09/04/2014	74	Gauche	NEG			témoin	
81	M. G	M	28/05/2014	68	Droit	NEG			témoin	
83	B. P	M	30/05/2014	65	Droit	C. macginleyi	vitekMS	2 col TSH	témoin	
90	F. I	M	30/06/2014	76	Droit	NEG			témoin	
92	T. J	M	02/07/2014	65	Gauche	NEG			témoin	
94	L. A	M	02/07/2014	62	Gauche	NEG			témoin	
95	B. A	M	02/07/2014	69	Droit	NEG			témoin	
96	C. G	M	07/07/2014	76	Droit	NEG			témoin	
102	A. S	M	16/07/2014	67	Droit	NEG			témoin	
106	M. C	M	21/07/2014	64	Gauche	C. macginleyi S. pasteurii	Vitek MS Vitek MS	2 col TSH 2 col ana	témoin	Demodex positif
107	P. C	M	04/08/2014	64	Droit	S. epidermidis	vitek MS	1 col sur TSH	témoin	Demodex négatif
80	P. E	F	26/05/2014	64	Droit	NEG			témoin	
27	C. R	F	08/01/2014	81	Gauche	NEG			témoin	Demodex négatif
31	M. V	F	16/01/2014	24	Gauche	NEG			témoin	
32	C. L	F	16/01/2014	21	Droit	NEG			témoin	
30	J. T	M	14/01/2014	22	Droit	NEG			témoin	
33	C. M	M	17/01/2014	21	Gauche	Propionibacterium acnes	Vitek MS	2 col	témoin	
34	V. G	M	17/01/2014	30	Gauche	NEG			témoin	
93	T. P	F	02/07/2014	65	Droit	P. acnes	vitek MS	3 col sur choc	témoin	

Annexe 3 : Tableau des deux populations avec les résultats des différents prélèvements.

Faculté de Médecine de TOURS

BEZZA BENKAOUHA Imane

Thèse n°

74 pages – 4 tableaux – 14 figures.

Résumé :

Introduction : Les blépharites correspondent à une inflammation du revêtement conjonctival et cutané du bord libre palpébral. Elles ont des origines mal définies et peuvent être multiples. L'objectif de cette étude a été d'étudier la flore bactérienne présente chez les patients atteints de blépharite par rapport à des sujets sains dans la perspective d'apprécier la place des étiologies bactériennes dans les blépharites.

Matériel et méthodes : Cinquante quatre patients ayant une blépharite et 50 témoins ont participé à cette étude. Ils ont bénéficié d'un prélèvement à l'écouvillon. L'analyse qualitative a été réalisée par spectrométrie de masse selon la méthode MALDI-TOF +/- complétée par PCR suivie d'un séquençage ADN. Une analyse quantitative a permis d'énumérer le nombre de colonies/cas (col/cas) chez les positifs des deux groupes. Un sous groupe de 16 personnes (9 blépharites et 7 témoins) a bénéficié en même temps d'une recherche du Demodex.

Résultats : Les pourcentages des positifs ainsi que le nombre de col/cas ont été nettement supérieurs chez les blépharites par rapport aux témoins : les prélèvements sont revenus positifs chez 81.5% vs 38% avec 39 vs 4.4 col/cas. Les corynébactéries sont les espèces les plus isolées : 53.7% vs 18%, $p < 0.01$ avec 37.4 vs 2.6 col/cas. *C. macginleyi* : 33% vs 6%, $p < 0.01$ avec 40.4 vs 1.6 col/cas. Le *S. epidermidis* : 35.1% vs 16%, $p : 0.02$ avec 11.3 vs 1.6 col/cas. *S. aureus* : 13% vs 0%, $p : 0.01$ avec 24.7 col/cas vs 0. Nous n'avons pas trouvé de différence pour *Propionibacterium acnes* : 14.8 vs 14% avec 4.7 vs 5.1 col/cas et pour le Demodex avec 22.2 % vs 28.6 %.

Conclusion: Le rôle des bactéries dans les blépharites est à retenir. Les corynébactéries et surtout *C. macginleyi* semblent participer activement dans la physiopathologie des blépharites. *S. epidermidis* et *aureus* restent également associés à cette pathologie.

Mots clés :

- blépharites
- flore bactérienne
- Corynébactéries
- *C. macginleyi*

Jury :

Président : **Monsieur le Professeur Pierre-Jean PISELLA**

Membres : **Monsieur le Professeur Jacques CHANDENIER**
Monsieur le Professeur Christophe DESTRIEUX
Monsieur Le Docteur Philippe LANOTTE
Monsieur Le Docteur Samuel MAJZOUB

Date de la soutenance : 30 septembre 2014

