Numéro Spécial # • Septembre 2016

réalités OPHTALMOLOGIQUES

Symposium SFO

Biomarqueurs de la surface oculaire : du laboratoire au patient

Compte rendu rédigé par
le Dr Arthur Ferrero
et le Dr Aurore Muselier-Mathieu

Ceci est un compte rendu et/ou résumé des communications de congrès, dont l'objectif est de fournir des informations sur l'état actuel de la recherche. Ainsi, les données présentées sont susceptibles de ne pas avoir été validées par les autorités françaises, et ne doivent pas être mises en pratique. Ce compte rendu a été réalisé sous la seule responsabilité de l'auteur et du directeur de la publication, qui sont garants de l'objectivité de cette publication.

Édition réalisée avec le soutien du laboratoire Horus

réalités
OPHTALMOLOGIQUES

Comité Scientifique

Pr J.P. Adenis, Pr J.L. Arné, Pr Ch. Baudouin, Pr T. Bourcier, Pr A. Brézin, Pr A. Bron, Pr E.A. Cabanis, Pr G. Chaîne, Pr B. Cochener, Pr J. Colin, Pr Ch. Corbe, Pr G. Coscas, Pr C. Creuzot-Garcher, Pr P. Denis, Pr J.L. Dufier, Pr A. Gaudric, Pr T. Hoang-Xuan, Pr J.F. Korobelnik, Pr P. Le Hoang, Dr S. Liotet, Pr F. Malecaze, Pr P. Massin, Dr S. Morax, Pr J.P. Nordmann, Pr J.P. Renard, Pr J.F. Rouland, Pr J.A. Sahel, Pr G. Soubrane, Pr E. Souied, Pr P. Turut, Pr M. Weber

Comité de Lecture

Dr M. Assouline, Dr C. Boureau, Dr S. Defoort-Dhelemmes, Dr L. Desjardins, Dr B. Fayet, Dr C. Albou-Ganem, Dr S. Leroux-les-Jardins, Dr G. Quentel, Dr B. Roussat, Dr E. Sellem, Dr M. Tazartes, Dr M. Ullern

Comité de rédaction

Dr F. Auclin, Pr S.Y. Cohen, Dr M.A. Espinasse-Berrod, Dr F. Fajnkuchen, Dr J.L. Febbraro, Dr M.N. George, Dr J.F. Girmens, Dr Y. Lachkar, Dr Y. Le Mer, Dr D.A. Lebuisson, Dr F. Malet, Pr M. Pâques, Dr C. Peyre, Dr J.J. Saragoussi, Pr R. Tadayoni, Dr F. Vayr

Rédacteurs en Chef

Dr T. Desmettre, Dr D. Gatinel

Conseiller de la rédaction

Dr T. Amzallag

Directeur de la Publication

Dr R. Niddam

Secrétariat de Rédaction

A. Le Fur, M. Meissel

Rédacteur graphiste

M. Perazzi

Maquette, PAO

J. Delorme

Publicité

D. Chargy

Réalités ophtalmologiques

est édité par Performances Médicales
91, avenue de la République
75540 Paris Cedex 11
Tél. 01 47 00 67 14, Fax : 01 47 00 69 99
info@performances-medicales.com

Imprimerie

Imprimerie Trulli – Vence
Commission paritaire : 0121 T 81115
ISSN : 1242–0018
Dépôt légal : 3e trimestre 2016

Sommaire

4 **Les biomarqueurs en ophtalmologie**
D'après la communication du Pr Christophe Baudouin, Paris.

6 **Les biomarqueurs : du fondamental à la clinique, un parcours passionnant**
D'après la communication du Dr Tatiana Suárez, Bilbao, Espagne.

7 **Et si nous avions des biomarqueurs ?**

7 **1. Œil sec sévère**
D'après la communication du Pr Marc Labetoulle, Le Kremlin-Bicêtre.

9 **2. Allergie ou sécheresse oculaire ?**
D'après la communication du Dr Serge Doan, Paris.

11 **3. Qualité de la vision : un biomarqueur de la sécheresse oculaire ?**
D'après la communication du Pr Pierre-Jean Pisella, Tours.

13 **4. La cicatrisation *ex vivo* (système EVEIT) : un indicateur de tolérance des traitements**
D'après la communication du Dr Michael Dutescu, Cologne, Allemagne.

Image de couverture : © Delpixel/ bluebay/shutterstock.com

Biomarqueurs de la surface oculaire : du laboratoire au patient

Dr Arthur FERRERO, Dr Aurore MUSELIER-MATHIEU

Service d'Ophtalmologie, CHU, DIJON

Les biomarqueurs sont le plus souvent des paramètres biologiques, utilisés comme des indicateurs d'un processus pathologique ou de réponse à un traitement. Ils peuvent être dosés dans les liquides ou les tissus humains, qu'ils soient dans un état normal ou pathologique. Certains biomarqueurs sont détectables dans la circulation sanguine.

Depuis le XIX^{e} siècle, la glycémie s'est imposée comme l'un des premiers biomarqueurs fiables. Les biomarqueurs sont aujourd'hui utilisés dans la plupart des disciplines médicales, et la recherche a permis de passer des biomarqueurs diagnostiques aux biomarqueurs pronostiques et prédictifs.

Ainsi, les biomarqueurs qui aidaient initialement les médecins à confirmer un diagnostic permettent de plus en plus d'orienter les choix thérapeutiques et de suivre l'efficacité des traitements, ouvrant la voie aux traitements individualisés. Dans le cancer du sein notamment, le récepteur HER2, présent à la surface de certaines cellules cancéreuses, constitue un biomarqueur essentiel. L'association d'un test diagnostique – compagnon d'une thérapie ciblée donnée – bénéficie aussi au cancer colorectal, au cancer bronchique non à petites cellules, au mélanome ou encore à différents cancers hématologiques.

Ces stratégies s'inscrivent dans le champ prometteur de la médecine personnalisée, qui permet de s'appuyer sur les caractéristiques du patient et les mécanismes à l'origine de sa maladie. Grâce aux biomarqueurs, il est possible de proposer au patient un traitement sur mesure plus efficace et plus sûr.

Nous rapportons dans les lignes qui suivent un compte rendu des communications présentées au cours du symposium Horus Pharma, organisé dans le cadre de la SFO.

Les biomarqueurs en ophtalmologie

D'après la communication du Pr Christophe Baudouin, Paris.

Un biomarqueur est un paramètre biologique ou non, indiquant un processus biologique, pathologique ou physiologique. Il doit être sensible, spécifique et accessible en routine clinique.

Le biomarqueur pourrait être utilisé comme un outil de prévention en mesurant un risque, pour diagnostiquer une maladie, comprendre un mécanisme ou évaluer la sévérité d'une maladie, et éventuellement guider les ophtalmologistes vers une indication thérapeutique.

Les pathologies de la surface oculaire sont nombreuses, volontiers intriquées, avec des mécanismes physiopathologiques parfois difficiles à mettre en évidence. Les mécanismes régissant par exemple la sécheresse oculaire, sont complexes et interviennent en cascade : hyperosmolarité, mort cellulaire, présence de cytokines proinflammatoires, modifications meibomiennes… qui représentent autant de biomarqueurs potentiels [1]. (***fig.1***)

À titre d'exemple, dans chacune des atteintes de la surface oculaire présentées dans la ***figure 2*** (sécheresse oculaire, allergie, auto-immunité, phénomène de toxicité, irritation…), une inflammation est présente. Celle-ci est un mécanisme ubiquitaire, souvent évident quel que soit le mécanisme causal sous-jacent. L'apport d'une aide diagnostique pour différencier ces situations pourrait-être intéressant pour le clinicien, et cela d'autant plus que les mécanismes inflammatoires ne sont pas toujours au premier plan, et sont volontiers difficiles à identifier dans plusieurs situations.

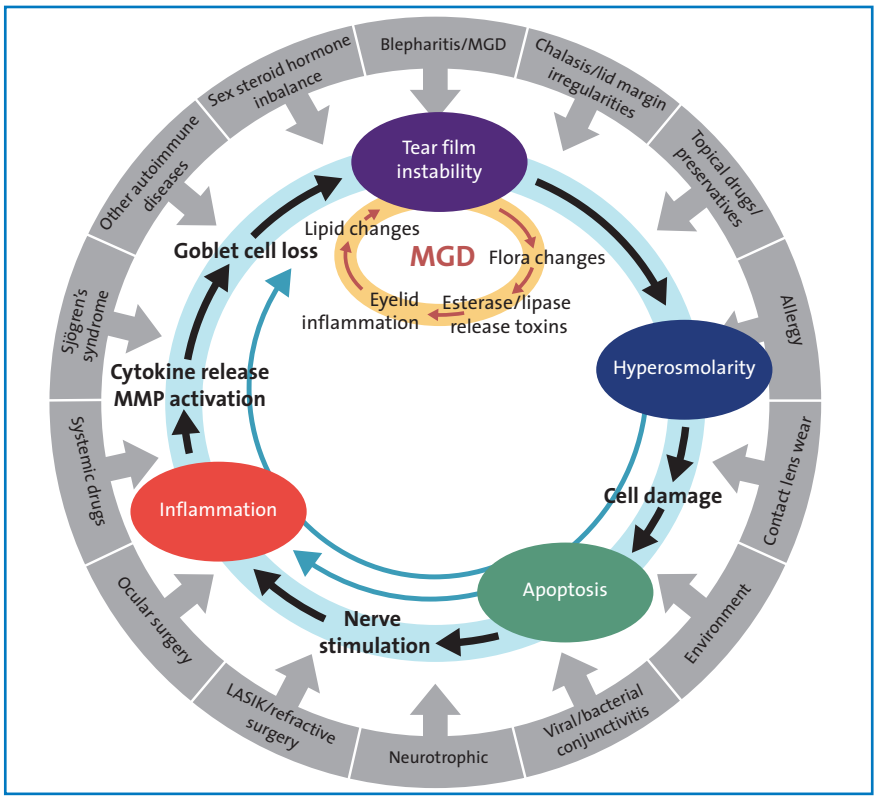

Fig. 1 : Schéma du cercle vicieux illustrant les pathologies de surface et de sécheresse oculaire. D'après [1].

Fig. 2 : Diverses atteintes de la surface oculaire.

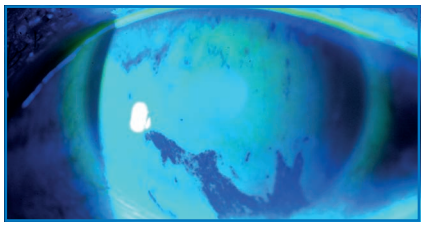

FIG. 3 : Instabilité du film lacrymal chez un patient présentant une conjonctivite perannuelle.

Un deuxième exemple est illustré par ce patient (***fig. 3***) souffrant d'une conjonctivite perannuelle, avec une allergie au pollen. Ses yeux restent très irrités une fois la saison des pollens terminée, avec une gêne à type de brûlure et une inflammation locale toujours présente. Il s'agit d'une instabilité lacrymale secondaire, d'origine inflammatoire. Il n'y a plus d'IgE, et les traitements locaux et généraux antihistaminiques sont inutiles. La limite entre allergie et conséquence de l'allergie est donc difficile à établir sémiologiquement. À quel moment le patient ne nécessite plus le recours à une thérapie antiallergique mais à un autre traitement ? Cet exemple démontre également l'intérêt des biomarqueurs en surface oculaire.

• *De quels biomarqueurs disposons nous aujourd'hui ?*

Plusieurs examens et techniques sont en effet déjà à notre disposition.

>>> **L'électrophorèse des larmes** permet une analyse des protéines lacrymales et d'orienter vers un processus d'inflammation locale, ou vers une déficience des glandes lacrymales principales. La présence en quantité diminuée de lactoferrine ou de lysozyme est un marqueur de dysfonctionnement de la glande lacrymale principale, alors que la présence d'immunoglobulines en grande quantité est un marqueur d'inflammation [2].

>>> **Les empreintes conjonctivales** apportent de multiples renseignements. Une diminution du nombre de mucocytes correspond à une sécheresse chronique, la modification de la chromatine des cellules est retrouvée en cas de stress mécanique et la présence d'éosinophiles signe l'allergie. Il est aussi possible de mettre en évidence des acariens emprisonnés dans la conjonctive chez des allergiques, la présence de *Demodex* ou d'autres corps étrangers.

>>> **Les techniques d'immunomarquage** permettent de quantifier le HLA-DR marqueur, lequel est bien corrélé à la sévérité de la sécheresse oculaire [3].

>>> **L'étude morphologique *in vivo*** est rendue possible grâce à la **microscopie confocale**. Toutes les cellules de la surface oculaire normale ou réactionnelle à une maladie (cellules inflammatoires) sont individualisables tout comme les nerfs cornéens, ou encore des agents pathogènes proinflammatoires comme le *Demodex* [4].

>>> **L'étude de l'osmolarité des larmes** par un osmolarimètre est plus facilement réalisable, puisqu'une technologie fonctionnant avec moins d'un microlitre d'échantillon biologique a été développée. Sa fiabilité peut être discutée mais, aujourd'hui, plus qu'une valeur seuil d'osmolarité (à l'instar de la PIO), c'est en fait la variabilité de cette dernière qui représente la maladie de l'œil sec.

>>> Le test recherchant la présence de MMP9 (métalloprotéinases 9) fonctionne comme un test de grossesse à partir d'un prélèvement simple de larmes par bandelettes. Il permet de confirmer ou d'infirmer la présence de MMP9, qui est associée à la sévérité de la sécheresse mais non de donner une valeur précise, n'apportant donc qu'une aide diagnostique partielle.

• *Les voies de recherche actuelles*

La recherche sur les biomarqueurs est aujourd'hui particulièrement active, et se tourne en priorité vers l'analyse des larmes. Or, la pathologie des larmes la plus fréquente étant la sécheresse oculaire, leur étude est rendue plus difficile par la faible quantité de larmes disponible. L'analyse pourrait s'intéresser directement aux cellules ou aux tissus, mais elle se révèle moins facile à mettre en place en pratique clinique courante (empreintes, grattages, techniques cytologiques, immunocytologiques ou de biologie moléculaire).

Une fois les échantillons recueillis, ceux-ci sont analysés par des méthodes dites de "x-omiques". Cette discipline a un vaste champ d'application, comme la lipidomique, la génomique, la protéomique. Elle permet d'analyser la totalité des gènes ou des protéines impliqués dans une situation donnée [5].

La tendance actuelle est d'essayer d'établir une combinaison de marqueurs plutôt que d'en sélectionner un seul. En effet, pris isolément, ils ne sont pas forcément spécifiques d'une maladie, alors que leur apparition simultanée permet d'orienter vers une pathologie particulière. Par exemple, si on met en évidence que certains marqueurs sont fortement liés à la sécheresse oculaire, il serait intéressant de former des combinaisons de marqueurs spécifiques d'une forme de la maladie : dysfonctionnement des glandes de Meibomius (sécheresse oculaire par hyperévaporation) *versus* sécheresse oculaire par hyposécrétion.

En conclusion, les biomarqueurs représentent une perspective d'avenir en tant qu'aide diagnostique dans les situations difficiles. Seront-ils capables de nous aider à discerner, au sein des processus infectieux, le mécanisme bactérien *vs* parasitaire, une auto-immunité *vs* une inflammation non auto-immune, une allergie *vs* une irritation, un dysfonctionnement des glandes de Meibomius *vs* une sécheresse oculaire hyposécrétoire ? Il faut espérer que, dans les prochaines années, ces questions n'en seront plus, car des réponses auront été apportées.

Les biomarqueurs : du fondamental à la clinique, un parcours passionnant

D'après la communication du Dr Tatiana Suárez, Espagne.

Le Dr Tatiana Suárez dirige un laboratoire privé de biotechnologie BIOFTALMIK, filiale d'Horus PHARMA, spécialisé en ophtalmologie et notamment en biologie moléculaire, biologie cellulaire, en protéomique. Le laboratoire est implanté à Bilbao.

Le laboratoire BIOFTALMIK collabore avec des ophtalmologistes pour la clinique et la récupération d'échantillons (essentiellement des larmes). Ceux-ci sont ensuite analysés grâce à une étude biochimique détaillée pour identifier les biomarqueurs, et des candidats potentiels sont isolés. Une analyse clinique, réalisée par les ophtalmologistes partenaires, est alors nécessaire pour valider les biomarqueurs candidats. La dernière étape du processus correspond au développement de dispositifs médicaux censés détecter les biomarqueurs. L'ophtalmologiste est alors de nouveau sollicité pour valider l'utilisation en clinique du dispositif (***fig.4***).

Les larmes peuvent être utilisées comme sources de biomarqueurs dans les pathologies de surface oculaire. Elles n'ont qu'un faible volume, et c'est leur partie aqueuse qui intéresse les chercheurs puisqu'elle contient les protéines, les sels organiques et le glucose impliqué dans la nutrition de l'épithélium cornéen et sa protection immunologique. Elles ont aussi une fonction réfractive, de lavage et d'élimination des déchets.

FIG. 4 : Schéma du processus de la mise au point de biomarqueurs.

Plus de 1 100 protéines sont aujourd'hui identifiées dans les larmes. Grâce à une approche moderne, dite des "x-omiques", il est possible de les rechercher "toutes à la fois" en réalisant un *screening* des biomolécules (protéomique, génomique, métabolomique, toxicogénomique et pharmacologique) [5].

Les "x-omiques" sont des sciences qui étudient un ensemble de protéines, gènes et molécules d'une cellule ou d'un organe, à un temps déterminé et sous des conditions données. Elles peuvent quantifier les modifications de leur niveau d'expression dans les états physiologiques ou pathologiques.

À l'heure actuelle, le laboratoire BIOFTALMIK, filiale d'Horus PHARMA dispose d'un panel de biomarqueurs validés et développe un dispositif de détection. L'objectif est d'obtenir un dispositif utilisable en consultation, permettant le prélèvement de larmes en vue d'une analyse et d'un diagnostic final.

L'évaluation clinique est envisagée au travers d'une étude européenne multicentrique (obtention du marquage CE).

Cependant, un biomarqueur ne peut expliquer, à lui seul, l'ensemble d'une pathologie. Un tel dispositif serait donc une valeur ajoutée au plan clinique dans l'œil sec dans un premier temps, mais potentiellement dans d'autres pathologies, au regard des perspectives nombreuses qu'il offre.

Et si nous avions des biomarqueurs ?

1. Œil sec sévère

D'après la communication du Pr Marc Labetoulle, Le Kremlin-Bicêtre.

La fréquence de la sécheresse oculaire varie entre 5 et 35 % dans la population générale, soit 2 à 3 millions de personnes atteintes en France. Cette grande variation de prévalence illustre les problèmes du dépistage de cette pathologie [6]. Pour la forme sévère, il existe très peu de données claires dans la littérature. On considère que 30000 à 90000 patients souffrent de sécheresse oculaire sévère en France.

La classification établie par le DEWS (Dry Eye WorkShop) en 2007 a certes défini quatre groupes de sévérité, mais elle ne permet pas – en pratique clinique – de "classer" tous les patients du fait d'un manque de parallélisme entre les signes subjectifs et les signes objectifs. En effet, l'ensemble des critères définissant un stade de sévérité est rarement présent chez tous les patients, avec donc un flou diagnostique chez nombre d'entre eux [7].

Quels sont donc les signes les plus significatifs : la gêne subjective, les signes objectifs, les deux ?

Le travail Odyssey, coordonné par le Pr. Baudouin, a permis de définir clairement la sécheresse sévère comme un OSDI > 33 associé à une kératite gradée Oxford 3. Trois autres scénarios de sévérité suspectée sont proposés, prenant en compte les signes objectifs et subjectifs :
– le scénario A correspond à une KCS (kératoconjonctivite sèche) importante associée à peu de symptômes ;
– le scénario B à la présence de symptômes majeurs avec une KCS modérée ;
– le scénario C à des symptômes majeurs associés à une KCS minime.

Cas clinique 1

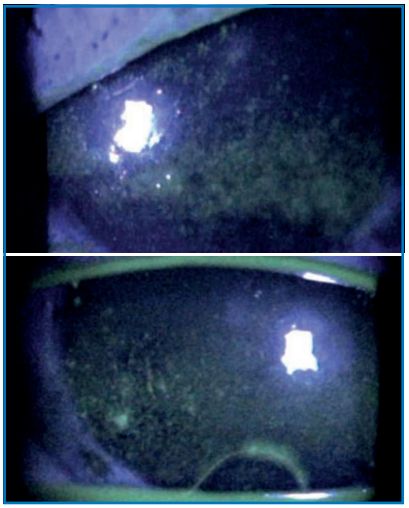

FIG. A : Coloration fluorescéine avec filtre bleu cobalt, montrant une kératite sèche.

Mme M., 46 ans, est adressée par son hématologue pour une gêne importante au niveau des deux yeux à type de brûlures oculaires majeures très invalidantes.

Elle a présenté une leucémie myéloblastique en 2003 traitée par une allogreffe et une irradiation totale en 2004. L'acuité visuelle est de 10/10 P2 à droite et 6/10 P2 à gauche.

L'examen retrouve une kératite sévère gradée Oxford 3 à droite et 4 à gauche (***fig. A***). Son traitement comprend déjà : acide hyaluronique, vitamine B12, acide borique, en plus de collyres mouillants classiques (carbomères, povidone).

Devant la gravité des signes objectifs et la souffrance de la patiente, un traitement par ciclosporine 0,05 % disponible en ATU a été mis en place. Dans un premier temps, les essais de ciclosporine de différentes pharmacies hospitalières n'ont pas été tolérés. Finalement, un traitement à base de ciclosporine 0,05 % a permis d'obtenir de bons résultats sur les symptômes, sans améliorer la kératite (***fig. B***).

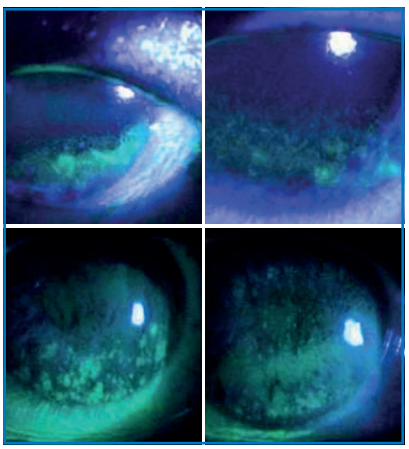

FIG. B : Même patiente 2 mois (**en haut**) et 8 mois (**en bas**) après mise en route du traitement.

La principale question qui se pose alors est la suivante : s'agit-il donc d'une réelle amélioration ou d'une aggravation de l'hypoesthésie cornéenne ?

Ce que les biomarqueurs pourraient apporter comme précisions chez cette patiente :

– Quel est le niveau d'inflammation de base ?

– Quelle est l'efficacité biologique de la ciclosporine ?

– Existe-t-il d'autres facteurs à traiter ?

– S'agit-il d'une simple aggravation de l'hypoesthésie cornéenne ?

Cas clinique 2

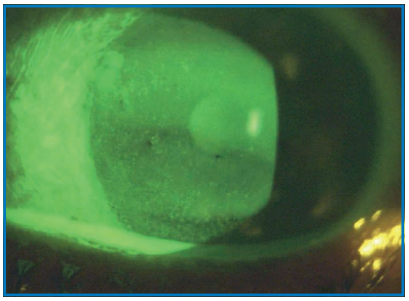

FIG. A : Coloration cornéenne à la fluorescéine en dehors des phases inflammatoires.

Mme S. est une patiente de 55 ans, infectée par le virus de l'hépatite C depuis 15 ans et traitée par ribavirine et interféron. Elle se plaint de sécheresse oculaire (***fig. A***).

Elle présente des épisodes d'activation pour lesquels il est difficile de définir s'il s'agit uniquement de poussées inflammatoires, ou si le VHC joue un rôle (***fig. B***).

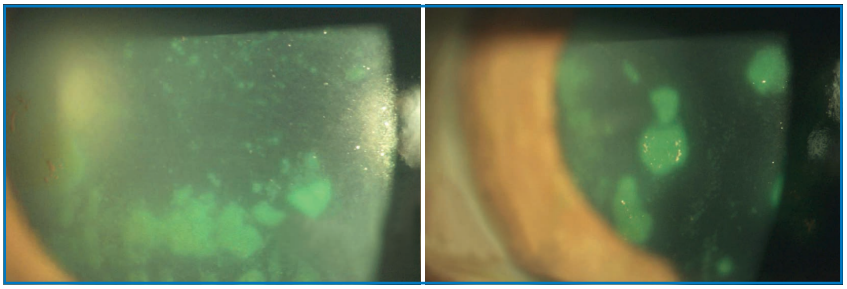

FIG. B : Coloration cornéenne à la fluorescéine pendant les phases aiguës.

Pour contrôler ses épisodes aigus, un traitement par ciclosporine a été mis en route depuis des années. Au bout de 5 ans de suivi, on retrouve toujours un test de Schirmer à 2 mm, une KPS (kératite ponctuée superficielle) persistante, mais peu de plaintes fonctionnelles.

La ciclosporine est-elle toujours utile ? L'inflammation joue-t-elle encore un rôle dans ce tableau clinique, ou s'il s'agit d'un stade avancé d'insuffisance sécrétoire ?

Un biomarqueur pourrait nous aider pour savoir ce qui se passe durant les phases d'acutisation.

Rappel : Hépatite C et surface oculaire

- 50 % de diminution de production lacrymale,
- 16 % d'œil sec,
- 10 % de larmes positives pour VHC,
- une concentration virale lacrymale 50 fois inférieure à celle du sang.

Dans le scénario A, la sévérité de la sécheresse est possible en cas de problème de sensibilité cornéenne expliquant la symptomatologie mineure, ou s'il existe des critères associés soit cliniques, soit biologiques dont des biomarqueurs (osmolarité, cytologie) [8].

Il est important de détecter tôt les formes sévères, car on sait que les traitements de première intention ne seront pas efficaces. En cas de traitement non adapté à la sévérité de la sécheresse oculaire, le patient présentera une atteinte majeure avec une perte de confort, une altération de sa qualité de vie, une diminution potentielle d'acuité visuelle et une perte de confiance vis-à-vis du médecin [9].

Ainsi, le diagnostic de sécheresse oculaire n'est pas toujours évident, sans parler de choisir à bon escient les traitements adéquats et de les prescrire au moment opportun.

De plus, d'autres points non résolus par la clinique viennent encore compliquer les choses : qu'est-ce qu'une réponse insuffisante au traitement ? Comment être certain qu'un anti-inflammatoire va être utile, efficace, indispensable ? À quel moment décider de son arrêt, soit parce qu'il ne réduit pas l'inflammation, soit parce que celle-ci a disparu ?

Les marqueurs biologiques dans la sécheresse oculaire sévère pourraient être de bons alliés pour reconnaître une participation inflammatoire ou une forme sévère, pour confirmer l'indication des anti-inflammatoires, vérifier l'efficacité d'un traitement ou suggérer son arrêt, vérifier l'absence de rechute. Ils pourraient aussi être utiles pour reconnaître et détecter des mécanismes associés : MGD, allergie ou autres…

Il existe une place indiscutable pour les marqueurs biologiques dans la sécheresse oculaire sévère, pour aider le clinicien à suivre le patient et pour la prise de décision thérapeutique. Les trois cas cliniques présentés ici en sont une bonne illustration.

Des marqueurs comme le HLA-DR existent déjà. Ils ont ainsi permis de démontrer l'efficacité de la ciclosporine ou de la supplémentation en oméga-3 *per os*. Les marqueurs biologiques de demain devront avoir un niveau démontré de robustesse clinique, et ne devront pas faire oublier que l'on traite des patients et non des données biologiques.

Cas clinique 3

M. B, 52 ans, est adressé pour opacités cornéennes chroniques bilatérales nummulaires périphériques, dans un contexte d'œil sec bilatéral. L'examen clinique retrouve une blépharite postérieure majeure. ***La figure ci-dessous*** montre des infiltrats cornéens bilatéraux.

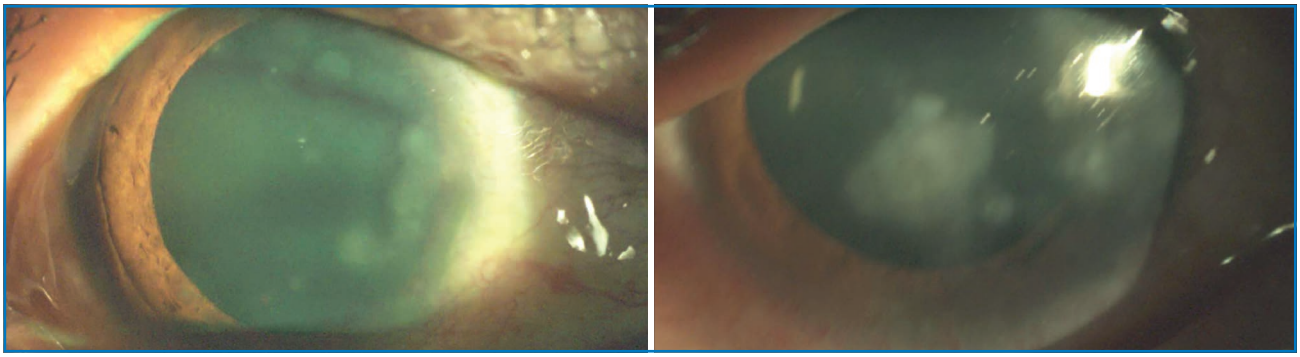

Fig. : Infiltrats cornéens bilatéraux.

Il peut s'agir d'infiltrats catarrhaux ou d'infiltrats staphylococciques stériles.

Si le diagnostic de blépharite avec dysfonctionnement meibomien avait été fait précocement avec l'aide de biomarqueurs, conduisant à une prise en charge adaptée, la baisse de vue secondaire aux opacités centrales aurait probablement pu être évitée.

2. Allergie ou sécheresse oculaire ?

D'après la communication du Dr Serge Doan, Paris.

Le cas clinique suivant permet d'illustrer des situations cliniques non rares de patients présentant des symptômes cliniques difficilement étiquetables allergie ou sécheresse oculaire. Ces deux entités peuvent être classiquement associées.

Il s'agit d'une patiente de 20 ans, adressée pour des brûlures oculaires évoluant depuis 2 ans et associées à un larmoiement au vent. Elle est peu soulagée par les collyres mouillants. Ses antécédents ne retrouvent pas de troubles hormonaux ni de prise médicamenteuse générale. Elle rapporte des éternuements en salve le matin et une obstruction nasale nocturne. La présence de signes extra-oculaires orientent vers une rhinite allergique ou de nature vasomotrice.

En cas d'atteinte de la surface oculaire, un des points clés de l'interrogatoire est la recherche d'une rhinite, qui orientera systématiquement le bilan vers une pathologie allergique.

L'examen clinique de notre patiente retrouve :
– un lac lacrymal subnormal ;
– un BUT (*Break-up time*) diminué à 5 secondes ODG ;
– un test de Schirmer I normal : 25 mm à 5 minutes ;
– une cornée et une conjonctive fluo négatives ;
– une conjonctivite papillaire œdémateuse pseudo-pétéchiale (***fig. 5***) ;
– une blépharite postérieure (***fig. 5***).

Les hypothèses diagnostiques les plus probables devant ce tableau clinique sont donc une allergie perannuelle (pourvoyeuse d'instabilité du film lacrymal), ou une sécheresse hyperévaporative. Cependant, la blépharite pourrait être secondaire à une allergie.

Étant donné que la symptomatologie évolue depuis 2 ans, avant de conclure à une allergie oculaire, un bilan allergologique est entrepris.

Chez notre patiente, les résultats de ce bilan montrent :
– *prick test* positif à l'acarien le plus répandu : *Dermatophagoides pteronyssinus* (DER P1) + ;
– IgE spécifiques : DER P1 +.

Un diagnostic de rhinoconjonctivite allergique perannuelle aux acariens est alors posé. En dehors des conseils

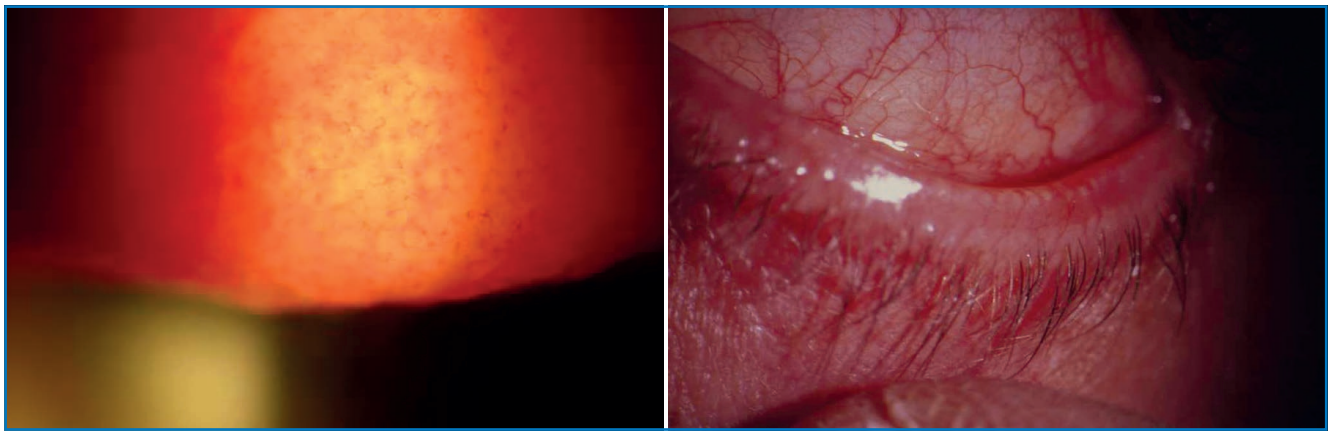

Fig. 5 : Conjonctivite papillaire œdémateuse pseudopétéchiale et blépharite postérieure.

Quel bilan allergologique demander ?

- Orienter le bilan en fonction du contexte et de la forme clinique.
- Consultation allergologique.
- Tests cutanés (*prick test*) : aéroallergènes, HS1.
- Recherche des IgE sériques totales et des IgE sériques spécifiques (RAST) : Phadiatop (acariens, moisissures, phanères d'animaux…).
- *Patch test* cutanés si allergie aux collyres (HS IV).

À noter : Les tests généraux sont toujours inférieurs aux tests locaux.

classiques d'aération, de lavage des literies, de la préconisation de housses antiacariens, etc., l'allergologue recommande une désensibilisation, un traitement à base de lavage oculaire, de larmes artificielles sans conservateur, de collyres antiallergiques double action, d'antihistaminiques par voie orale (rhinite associée).

L'évolution sous antihistaminiques par voie générale et locale entraîne la guérison de la rhinite et de la conjonctivite, qui va malheureusement s'aggraver dans un deuxième temps. La patiente est persuadée que les traitements prescrits sont inadaptés.

Avant de procéder à une désensibilisation, des tests sont réalisés, notamment avec des biomarqueurs connus. Chez notre patiente, les dosages des éosinophiles des larmes et la mesure des IgE totales des larmes sont tous deux négatifs. Les empreintes conjonctivales montrent une souffrance cellulaire avec une inflammation prédominante à lymphocytes. Enfin, l'électrophorèse des protéines lacrymales révèle un profil inflammatoire simple et la recherche de Chlamydiæ est négative.

- ***Comment prouver l'absence d'allergie dans ce cas ?***

Le test de provocation conjonctival (instillation d'extraits antigéniques dans un cul-de-sac conjonctival et d'un placebo du côté controlatéral) est le *gold standard* pour affirmer ou infirmer l'allergie. Il est ici négatif, permettant d'affirmer que l'atteinte ophtalmique n'est pas en lien avec une allergie aux acariens.

Devant la blépharite associée à la conjonctivite pétéchiale, le diagnostic définitif est une rosacée oculaire. Les rosacées oculaires pouvant en effet fluctuer et évoluer par poussées inflammatoires, il ne faut donc pas hésiter à revoir les patients qui peuvent être très peu symptomatiques lors de leur première consultation.

À savoir : une conjonctivite allergique qui s'aggrave sous un traitement antiallergique bien conduit n'est pas qu'une conjonctivite allergique, et doit faire poser la question d'un autre mécanisme sous-jacent.

Un traitement adapté (soins de paupières, cyclines orales 1 mois sur 2 et larmes artificielles) est mis en route, et la patiente est soulagée.

Ce cas clinique montre que la disponibilité de biomarqueurs aurait pu être d'une aide diagnostique primordiale pour différencier très rapidement une allergie perannuelle d'une rosacée oculaire, dans un contexte de rhinite chez une patiente atopique. Dans les pathologies de la surface oculaire, les signes sont souvent peu spécifiques, et les diagnostics reposent sur un faisceau d'arguments.

Le bilan allergologique nous aide, mais l'atteinte systémique n'est pas forcément le reflet de l'atteinte oculaire, puisque des cloisonnements immunologiques peuvent être présents entre œil et nez.

3. Qualité de la vision : un biomarqueur de la sécheresse oculaire ?

D'après la communication du Pr Pierre-Jean Pisella, Tours.

Un biomarqueur n'est pas obligatoirement un paramètre biologique. Dans l'œil, la fonction visuelle est importante. Ce cas clinique va exposer une situation clinique fréquente.

M. R., 68 ans, a été opéré avec succès d'une cataracte au niveau des deux yeux il y a 1 mois. L'acuité visuelle est mesurée à 10/10 P2 addition +3D. Et pourtant, lors de sa visite postopératoire, le patient exprime son mécontentement. En effet, il se plaint de flou visuel lorsqu'il regarde la télévision ou en conduite longue (surtout la nuit…), et décrit une gêne oculaire à type de brûlures intermittentes depuis l'intervention. Devant la plainte exprimée, le contrôle de la réfraction postopératoire est systématique. L'examen révèle la présence d'une instabilité du film lacrymal. Il faut rappeler ici que la chirurgie de la cataracte est une des portes d'entrée dans le cercle vicieux de la sécheresse oculaire, décrit initialement par le Pr. Christophe Baudouin [1].

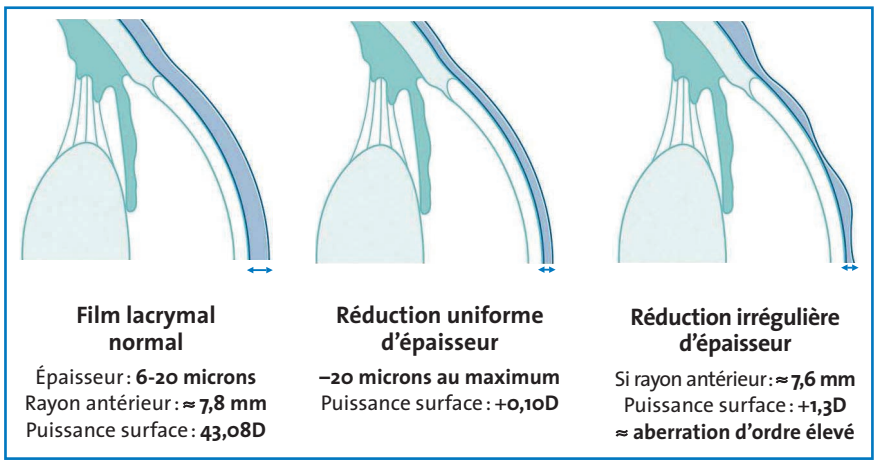

FIG. 6 : Film lacrymal et index de réfraction.

Pourquoi un patient ayant une instabilité du film lacrymal présenterait-il une altération de sa fonction visuelle ? (***fig. 6***). Le film lacrymal est le premier dioptre de l'œil. Une modification de la régularité d'épaisseur du film sur la face antérieure de la cornée peut entraîner jusqu'à 1.50D de modification de puissance. Dans les yeux sains, il existe une évolution dynamique des aberrations en fonction du film lacrymal. Dans l'œil sec, ces modifications s'accélèrent et les aberrations optiques de haut degré augmentent [10, 11]. Le film lacrymal est irrégulier, et il modifie l'acuité visuelle.

Trouver un biomarqueur prend donc tout son sens chez ces patients opérés.

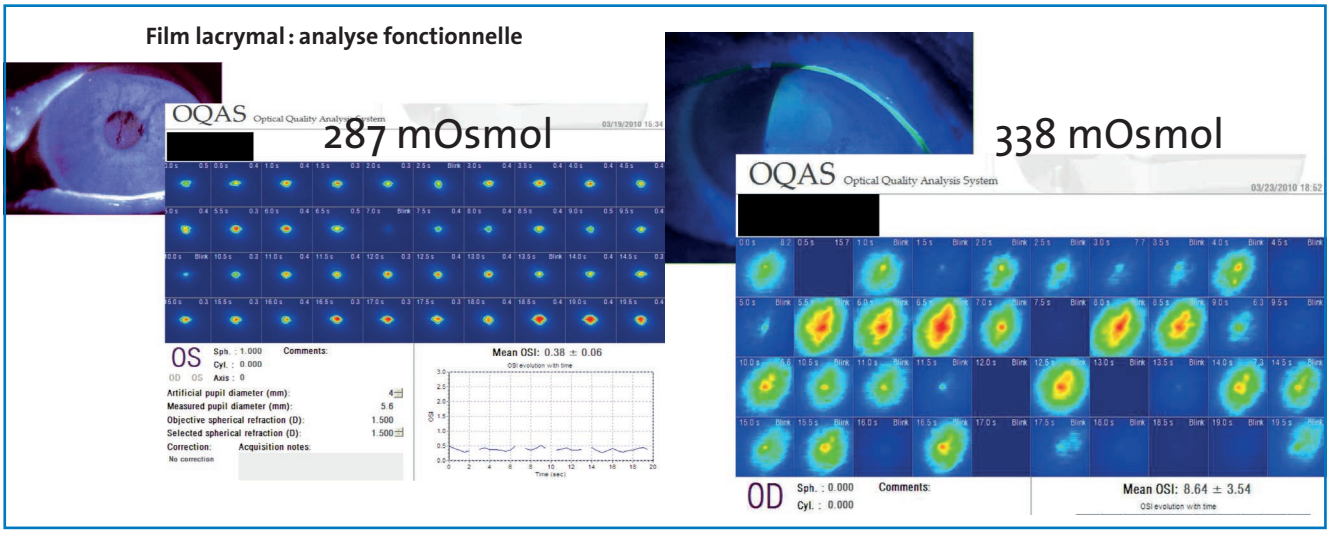

FIG. 7 : Analyse fonctionnelle de la stabilité du film lacrymal grâce à la mesure de l'OSI. **À gauche**, chez un patient sain. **À droite**, chez un patient souffrant de sécheresse oculaire.

• ***Quels sont ceux qui sont disponibles pour évaluer la fonction visuelle en cas d'œil sec ?***

>>> Le RMS : un biomarqueur de l'œil sec

Le RMS (*Root mean square*) représente la moyenne des aberrations optiques. Plus le HOA (*High order aberration*) est élevé, plus on retrouve des aberrations optiques de haut degré. Il existe une variation physiologique du RMS entre deux clignements. Le RMS permet une quantification de la qualité de vision peut être utilisé comme biomarqueur de la stabilité de la vision dans le syndrome sec.

>>> L'OSI : un biomarqueur de l'œil sec

L'OQAS (*Optical quality analysis system*) permet d'évaluer un indice de diffusion de la lumière appelé l'OSI (*Ocular scattering index*), qui mesure la lumière diffusante par rapport à un point focal. Lorsqu'on mesure l'OSI pendant 10 secondes consécutives, on observe une augmentation de la zone de diffusion. Cela est d'autant plus vrai dans l'œil sec, lorsque le film lacrymal est instable. La modification du film lacrymal modifie l'OSI (***fig. 7***). La qualité optique dépend non seulement des aberrations optiques mais aussi de la diffusion de la lumière. Le film lacrymal, agissant sur la qualité de vision par augmentation des aberrations, elles-mêmes associées à l'augmentation de la diffusion, joue un rôle majeur (***fig. 8***). Les deux biomarqueurs précédemment cités nécessitent néanmoins des appareils spécifiques, dont le praticien ne dispose pas toujours en pratique clinique courante.

>>> La fréquence de clignement : un biomarqueur de l'œil sec plus accessible

En cas d'instabilité du film lacrymal, le patient augmente sa fréquence de clignement afin d'améliorer son confort et sa qualité de vision. Une fréquence de clignement augmentée est donc un biomarqueur d'instabilité du film lacrymal, elle témoigne d'une souffrance fonctionnelle en cas de sécheresse oculaire. L'analyse de la fréquence de clignement permet donc d'évaluer la sévérité de la sécheresse oculaire (***fig. 9***).

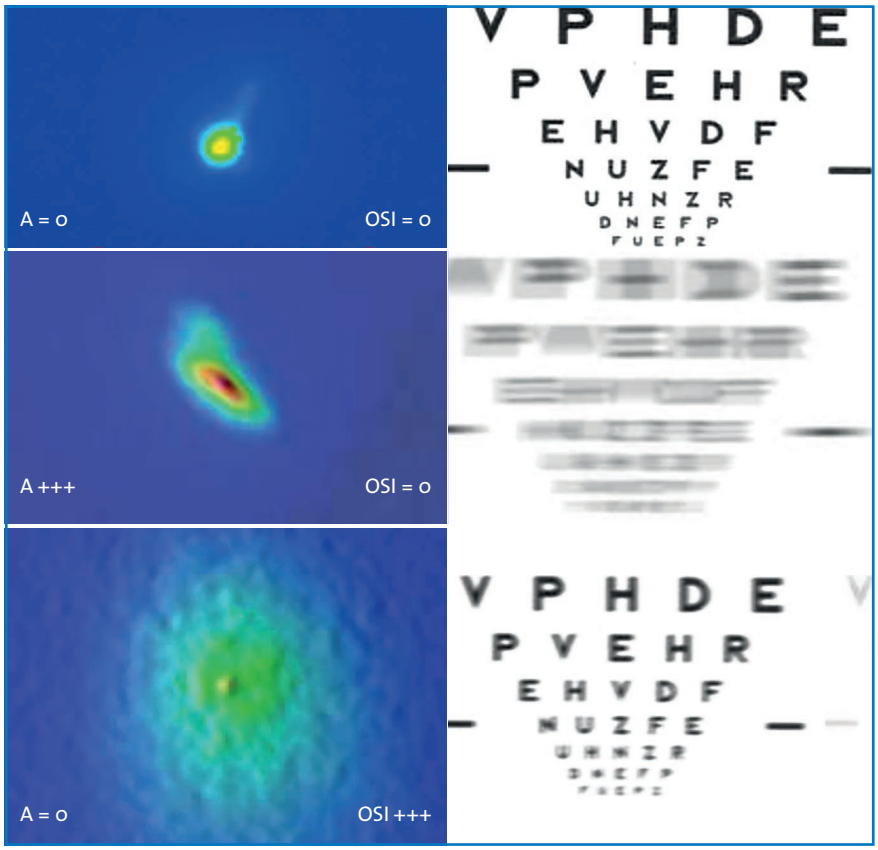

Fig. 8 : Analyse fonctionnelle du film lacrymal dans trois situations différentes en fonction du HOA RMS et de l'OSI. A : aberrations optiques et OSI : indice de diffusion..

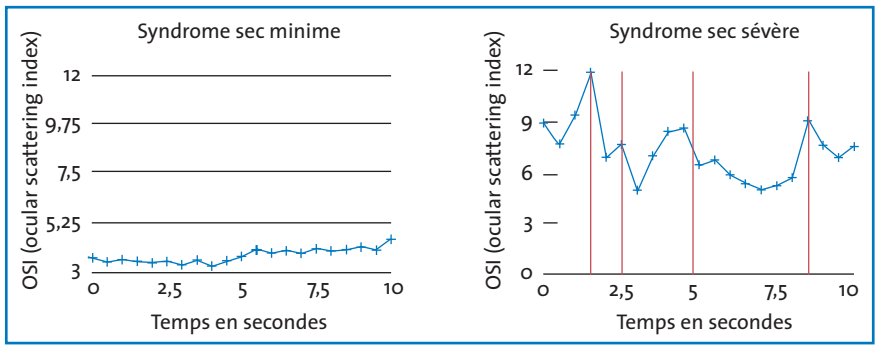

Fig. 9 : La variation de l'index OSI en fonction du temps, établi par l'OQAS, permet d'approcher la sévérité du syndrome sec, positivement correlée à la fréquence du clignement.

En conclusion, il serait intéressant de disposer de biomarqueurs avant d'envisager une chirurgie afin de prévenir l'éventuelle insatisfaction des patients qui peuvent présenter une instabilité lacrymale postopératoire.

4. La cicatrisation ex vivo (système EVEIT) : un indicateur de tolérance des traitements

D'après la communication du Dr Michael Dutescu (Cologne).

Les résultats de travaux, menés sur la comparaison de l'efficacité de différents lubrifiants sur la cicatrisation cornéenne dans un modèle de cornée *ex vivo,* ont été présentés [12]. L'EVEIT (*Ex Vivo Eye Irritation Test*) est un système composé d'une chambre antérieure artificielle, montée avec une cornée de lapin et mimant les conditions physiologiques d'un œil. Ce système permet d'évaluer tous types de traitements et de mesurer en continu les paramètres de cicatrisation, d'absorption, d'élimination, etc., tout en évitant l'utilisation de cobayes animaux [13].

• *Méthodes*

Des érosions cornéennes calibrées ont été réalisées, et le processus de cicatrisation (évalué grâce à la coloration à la fluorescéine) a été observé jusqu'à 6 jours en fonction de chaque traitement utilisé. Différents lubrifiants ont été appliqués : carmellose + purite®, solution à base d'HP-Guar®+ Polyquad®, émulsion cationique + chlorure de cétalkonium, acide hyaluronique 0,18 % sans conservateur, et chlorure de benzalkonium (à raison d'une goutte administrée par heure tout au long de la durée d'étude). Les éventuels ulcères ont été suivis et mesurés pendant 3 jours avec analyse histologique. Le métabolisme cornéen a été étudié en mesurant les taux de glucose et de lactates dans la chambre antérieure, pour évaluer le stress cornéen induit.

• *Résultats (fig. 10 et 11)*

Après 48 heures, les cornées traitées par acide hyaluronique et carmellose + purite® sont cicatrisées. De nouvelles érosions ont pu être retrouvées avec le traitement par carmellose + purite® à 72 heures.

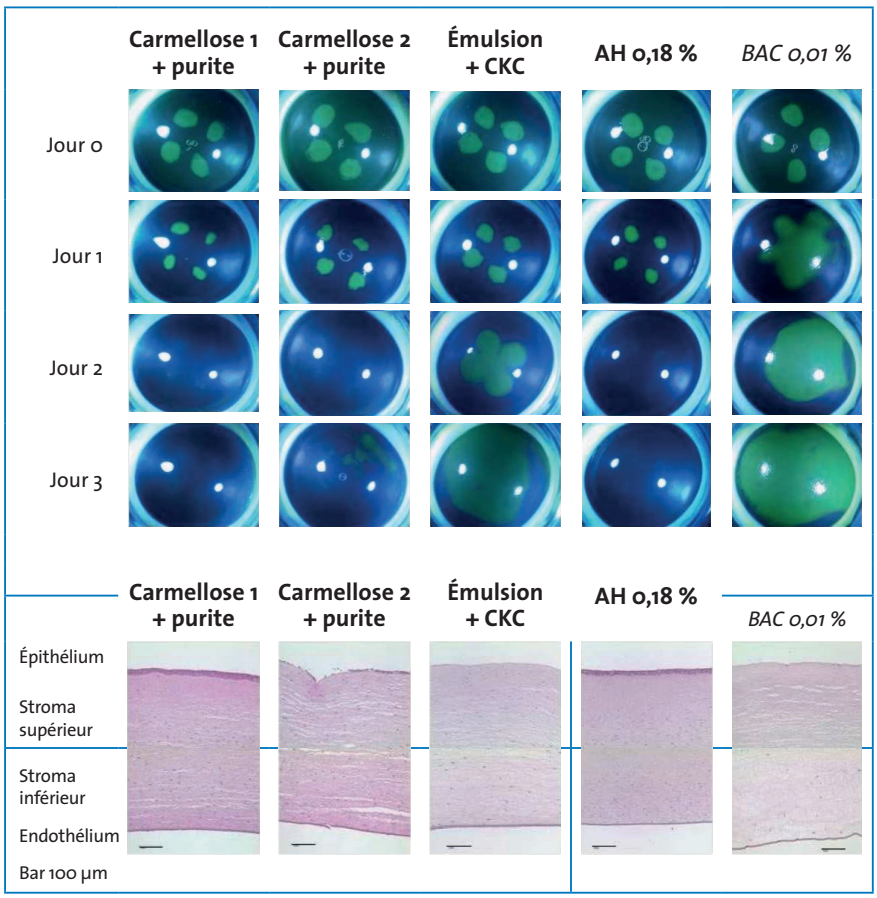

FIG. 10 : Images des cornées de lapin du système EVEIT avec coloration à la fluorescéine en fonction du temps et du traitement.

On peut observer que les ulcères s'agrandissent avec l'émulsion cationique conservée et le chlorure de benzalkonium. Les résultats à 6 jours montrent une ulcération importante des cornées de lapin pour les solutions contenant carmellose + purite® d'une part ***(fig. 11A)*** et HP-guar + polyquad® d'autre part ***(fig 11B)***.

Les cornées traitées par l'AH 0,18 % sans conservateur sont quant à elle préservées et ne montrent aucune ulcération à 6 jours ***(fig. 11C)***.

Cette étude *ex vivo* étudie la tolérance de différents traitements de l'œil sec. Elle confirme les effets des conservateurs et notamment du BAK sur la cornée et montre que les conservateurs alternatifs au BAK (cétalkonium, purite® et polyquad) peuvent induire une toxicité cornéenne. Des données cliniques sont donc nécessaires pour clarifier la fréquence d'instillation à laquelle surviendrait la toxicité épithéliale.

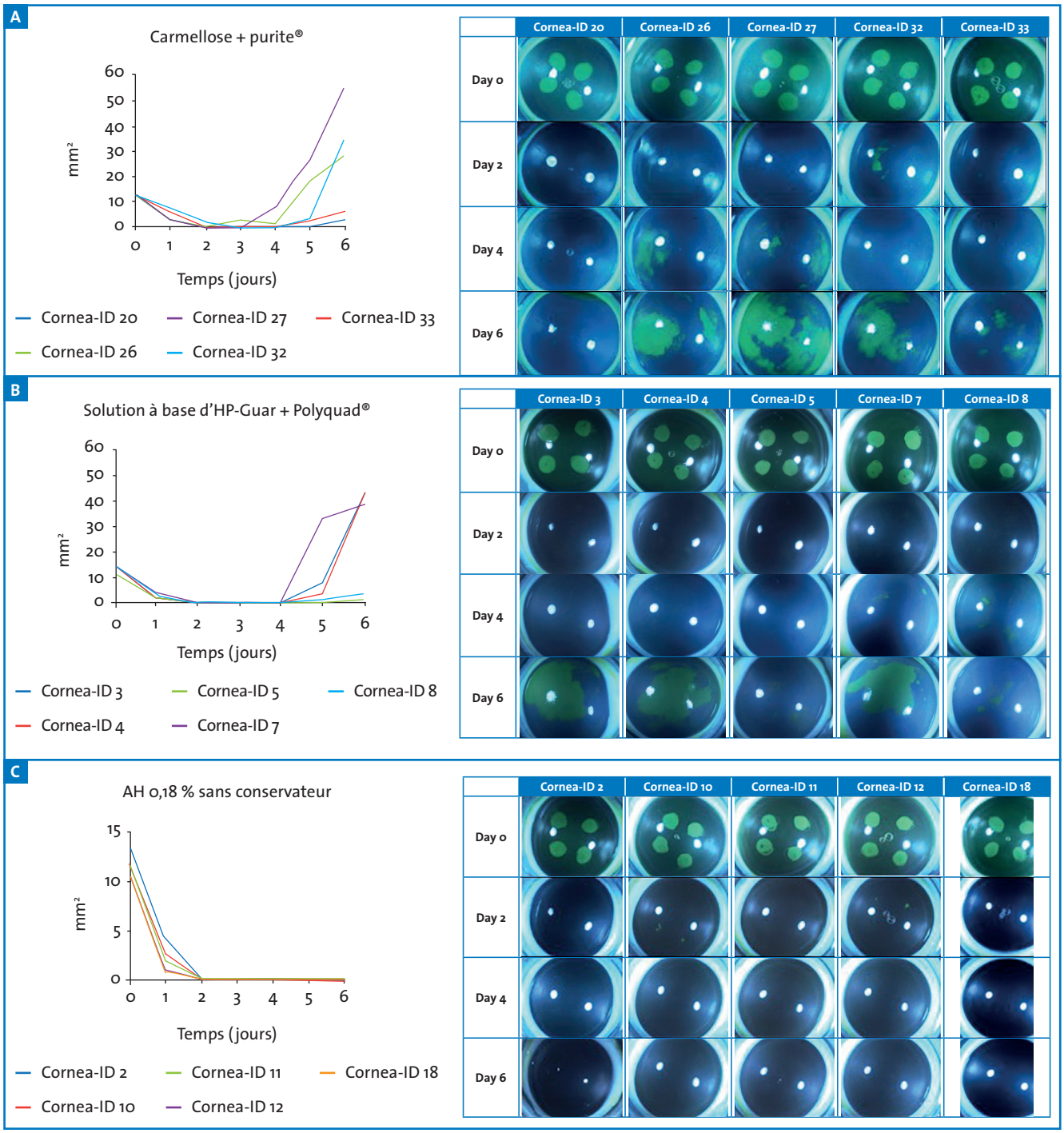

FIG. 11 : Images des cornées de lapin du système EVEIT avec coloration à la fluorescéine pour les solutions contenant carmelose + purite® (**A**); HP-guar + polyquad® (**B**); AH 0,18 % sans conservateur (**C**). D'après le poster présenté à l'ESCRS WINTER 26-28 février 2106, "Comparison of the lubricant eye drops on the corneal healing process in an ex vivo model", par Dutescu RM, Pinheiro R, Panfil C, Schrage N, Aachen Centre of Technology Transfer in Ophtalmology (ACTO), Aachen, Germany, RWTH affiliated institute.

Bibliographie

1. Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 2007;30:239-246.
2. Baudouin C *et al.* Correlation between tear IgE levels and HLA-DR expression by conjunctival cells in allergic and nonallergic chronic conjunctivitis. Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle. *Ophthalmologie*, 2000;238:900-904.
3. Galatoire O *et al.* Flow cytometry in impression cytology during keratoconjunctivitis sicca : effects of topical cyclosporin A on HLA DR expression. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 2003;26: 337-343.
4. Randon M *et al.* In vivo confocal microscopy as a novel and reliable tool for the diagnosis of Demodex eyelid infesttion. *The British Journal of Ophthalmology*, 2015;99:336-341.
5. Soria J *et al.* Tear proteome and protein network analyses reveal a novel pentamarker panel for tear film characterization in dry eye and meibomian gland dysfunction. *Journal of Proteomics*, 2013;78:94-112.
6. The epidemiology of dry eye disease : report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. *The Ocular Surface*, 2007;5:93-107.
7. The definition and classification of dry eye disease : report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. *The Ocular Surface*, 2007;5:75-92.
8. Baudouin C *et al.* Diagnosing the severity of dry eye : a clear and practical algorithm. *The British Journal of Ophthalmology*, 2014;98:1168-1176.
9. Management and therapy of dry eye disease : report of the Management and Therapy Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. *The Ocular Surface*, 2007;5: 163-178.
10. Habay T *et al.* Objective assessment of the functional impact of dry eye severity on the quality of vision by double-pass aberrometry. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 2014;37:188-194.
11. Montes-Mico R. Role of the tear film in the optical quality of the human eye. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 2007;33: 1631-1635.
12. Pinheiro R, *et al.* Comparison of the lubricant eyedrops Optive (R), Vismed Multi (R), and Cationorm (R) on the corneal healing process in an ex vivo model. *European Journal of Ophthalmology*, 2015;25:379-384.
13. Frentz M *et al.* Repeated exposure to benzalkonium chloride in the Ex Vivo Eye Irritation Test (EVEIT) : observation of isolated corneal damage and healing. Alternatives to laboratory animals : *ATLA*, 2008;36:25-32.

P/INS291-07/16