

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique



Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences
de la Terre et de l'Univers
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
l'environnement « LAMAABE »

Mémoire Présenté par

BENZINEB Hadjer

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en biologie

Option : Microbiologie Fondamentale

Thème

**La formation du biofilm à la surface des
lentilles de contact**

Soutenu le /07/2021, Devant le jury composé de :

- | | | | |
|----------------|-----------------|-------------------------|--------------------|
| - Présidente | HASSAINE Hafida | Professeur | Université Tlemcen |
| - Promoteur | BELLIFA Samia | Maître de conférences B | Université Tlemcen |
| - Examinatrice | MKEDDER Ilham | Maître de conférences B | Université Tlemcen |

Année Universitaire : 2020-2021

Je dédie ce travail

A mon cher père, Pour m'avoir inculqué de vraies valeurs qui m'ont permis d'être où j'en suis aujourd'hui. Ce travail est pour moi la consécration de tous les efforts que tu as entrepris à mon égard, il te prouve ma reconnaissance et mon amour.

A ma chère mère, Ce travail est le fruit de tes efforts, de tes prières et de tes encouragements, et ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.

A vous mes frères Ilyes, Younes, et ma sœur Rayen. Votre présence et vos encouragements m'ont été d'une grande aide.

A la mémoire de ma chère grand-mère Zahra et mon oncle Kebir, Que dieu le tout puissant vous accueille dans son éternel paradis et vous accorde sa clémence et sa miséricorde.

A mon grand-père moussa et ma grand-mère Fatiha, je vous souhaite une bonne santé.

A mes tantes KARIMA et Rabia, à mes oncles Azzedine, Abd Elwahed, Belkacem, Djamel, Boucif, Abd Elwaheb. En particulier ma tante Rabia qui m'a aider et supporter.

A mes cousins et cousines.

A tous mes amis pour leur soutien moral.

Table des matières

Liste des abréviations	
Table des figures	
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	2
I. Les lentilles de contact	2
I.1. Définition	2
I.2. Classification des lentilles de contact	2
I.2.1. Les lentilles rigides	2
I.2.2. Les lentilles souples	2
I.2.3. Les lentilles hybrides	3
I.2.4. Les lentilles cosmétiques	3
I.3. Les différents environnements des lentilles	3
I.3.1. Le film lacrymal	3
I.3.2. La flore saprophyte	3
I.3.3. Les micro-organismes sous lentilles	4
I.4. Complication liées au port de lentilles de contact.....	4
I.4.1. Les infections bactériennes.....	5
I.4.2. Les infections fongiques	6
I.4.3. Les infections amibiennes	6
I.4.4. Les infections virales	6
I.5. Surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact.....	7
I.5.1. Bonnes pratiques d'utilisation des lentilles de contact.....	8
I.6. Biofilm et prothèse oculaire	8
II. Description des biofilms.....	9
II.1. Historique.....	9
II.2. Qu'est-ce qu'un biofilm	10

II.3.	Formation et écologie du biofilm.....	11
II.3.1.	Les étapes de formation de biofilm	11
II.3.1.1.	Mise en place d'un film conditionnant	11
II.3.1.2.	Transfert des cellules bactériennes vers la surface	12
II.3.1.3.	Adhésion réversible et irréversible	12
II.3.1.4.	Maturation.....	12
II.3.1.5.	Dispersion et détachement cellulaire	13
II.3.2.	Facteurs favorisant la formation du biofilm	13
II.3.2.1.	Caractéristiques de la surface.....	13
II.3.2.2.	Caractéristiques de milieu.....	14
II.3.2.3.	Propriétés des cellules.....	14
II.3.3.	Facteurs favorisant la dispersion du biofilm.....	15
II.3.4.	Mécanismes de régulation de la formation du biofilm.....	16
II.3.4.1.	Quorum sensing	16
II.3.4.2.	Régulation génétique par les cellules fixées	16
II.3.4.3.	Régulation de la formation des biofilms par le GMP-c	17
II.3.4.4.	Régulation de la formation des biofilms par l'acétyl phosphate et l'alarmone.....	17
II.3.4.5.	Autres mécanismes régulateurs de la formation de biofilms.....	17
	Deuxième partie : Matériel et méthodes	19
I.	Prélèvement.....	19
II.	Mise en culture	20
III.	Identification des souches.....	20
III.1.	Identification par VITEK 2	20
III.2.	Identification par des galeries API.....	21
IV.	Les souches de références utilisées pour les modèles de biofilm.....	21
V.	La détection du biofilm sur les lentilles de contact.....	21

V.1. La méthode RCA	21
V.2. La méthode tube (TM)	22
V.3. Réaction en chaîne par polymérase (PCR)	22
VI. Essais de la formation de biofilm <i>in vitro</i>	23
Troisième partie : Résultats et discussion	25
I. Les souches bactériennes	25
II. La formation de biofilm	26
II.1. Confirmation de la formation de biofilm bactérien chez les porteurs de LC par PCR 31	
Conclusion.....	33
Références bibliographiques	34

Liste des abréviations

BSA : Albumine du serum bovin

C trachomatis : *Chlamydia trachomatis*

C. albicans : *Candida albicans*

C. freundii : *Citrobacter freundii*

C. koseri : *Citrobacter koseri*

CLARE : les yeux rouges aigus liés aux lentilles de contact.

CONS : staphylocoques à coagulase négative

DO : Densité optique

E. coli : *Escherichia coli*

EPS : Exopolysaccharide.

FDA : l'administration des aliments et des médicaments.

GMPc : guanosyl-monophosphate cyclique.

H influenzae : *Haemophilus influenzae*

IDK17 : la kératopathie infectieuse cristalline.

LC : lentilles de contact.

MPS : solutions de désinfection polyvalentes.

NFGNB : Les bacilles à Gram négatif non fermentaires

P aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

P. mirabilis : *Proteus mirabilis*

P. vulgaris : *Proteus vulgaris*

PBS : tampon phosphate salin

PCR : Polymerase Chain Reaction

PGA : polymère de β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine.

PIA : Polysaccharide Intercellular Adhesion

QS : Quorum Sensing.

RCA : Rouge Congo Agar

RPMI : le milieu Roswell Park Memorial Institute

S aureus : *Staphylococcus aureus*

S epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*

S marcescens : *Serratia marcescens*

S pneumoniae : *Streptococcus pneumoniae*

SDA : dextrose de Sabouraud.

TCP : plaque de culture de tissus

TM : méthode tube

TSB : bouillon trypticase soja

Table des figures

Figure 1: Différentes maladies oculaires résultant de la contamination des lentilles de contact et étuis à lentilles	7
Figure 2: Cycle de développement d'un biofilm bactérien.	13
Figure 3: Fréquence des isolats bactériens obtenus à partir de LC (lentilles de contact souples) et des étuis de stockage de lentilles en contact.	25
Figure 4: Comparaison des biofilms formés sur différents types de LC à 24 h pour <i>S. aureus</i> (barres bleues) et <i>P. aeruginosa</i> (barres rouges) et 48 h pour les souches standards de <i>C. albicans</i> (barres jaunes). Les axes X et Y représentent les types des LC et la survie logarithmique des micro-organismes dans le biofilm, respectivement. Les astérisques indiquent la signification statistique de la densité des biofilms de micro-organismes sur les LC.	28
Figure 5: Comparaison des biofilms de <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>C. albicans</i> formés dans une solution lacrymale artificielle : avec ou sans agitation (A), à 24 h ou 48 h (B).....	29
Figure 6: Comparaison de certaines conditions de formation de biofilm sur les LC, dans différents milieux et conditions de température à 24 h pour <i>S. aureus</i> (A) et <i>P. aeruginosa</i> (B) et 48 h pour les souches standards <i>C. albicans</i> (C).....	30
Figure 7: Image en microscopie électronique à balayage d'un biofilm produit par <i>S. aureus</i> (A), <i>P. aeruginosa</i> (B), <i>C. albicans</i> (C) sur une lentille souple.....	31

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition typique d'un biofilm bactérien.....	11
Tableau 2: Caractéristiques des lentilles de contact.....	19
Tableau 3: Analyse des résultats de l'étude de Raksha <i>et al.</i> , (2020) obtenus en méthode tube et méthode de la gélose rouge du Congo.	26
Tableau 4: Détection de la production de biofilm par bactéries obtenues à partir de porteurs de lentilles de contact.	27
Tableau 5: comparaison entre les résultats phénotypiques et moléculaires de Raksha <i>et al.</i> ,2020.	32

Introduction

Furent inventées en 1888 par Eugen Fick, Les lentilles de contact sont devenues un mode de correction des défauts visuels de plus en plus populaire, Plus de 230 millions de personnes dans le monde portent des lentilles de contact.

Bien que les lentilles de contact aient apporté une certaine commodité médicale et esthétique à nos vies, elles fournissent également une nouvelle surface pour les micro-organismes pathogènes formant un biofilm dans les yeux (**Robertson, 2013 ; Ong et Corbett, 2015**).

La formation de biofilm sur les LC est un facteur de risque majeur des infections oculaires (**Hume *et al.*, 2007**). Le port de LC pose donc un risque important d'infection. Malheureusement, de nombreux utilisateurs ne sont pas informés de ces risques et ne prêtent pas une grande attention à leur entretien. La plus sévère des complications est la kératite infectieuse. La kératite associée aux bactéries peut provoquer des infections de la cornée menaçant la vision (**O'Callaghan, 2018**).

Il est donc important de déterminer et comparer la formation et la croissance de biofilm de diverses souches bactériennes et fongiques sur les différents types de LC et étuis de stockage de lentilles.

Suite aux situations difficiles de cette année 2021 et de la pandémie du Covid-19, notre sujet de master et objectif d'origine restent irréalisables, en raison de la fermeture des laboratoires de recherche et des universités. En conséquence, nous avons orienté notre travail sur la réalisation d'une synthèse des trois articles portant sur le thème de départ et sur la formation de biofilm sur les lentilles de contact.

Première partie : Synthèse bibliographique

I. Les lentilles de contact

I.1. Définition

Les lentilles de contact sont des dispositifs biomédicaux optiques transparents en forme de disques, destinée à être placée à la surface de l'œil, au contact de la cornée, pour corriger la plupart des défauts visuels (**Bohnert et al., 2000**), Leur diamètre est compris entre 12,5 et 15 mm (**Berthélémy, 2015**).

I.2. Classification des lentilles de contact

Les lentilles de contact ont été classées en fonction du matériau de construction, de la conception, du calendrier d'usure et de la fréquence d'élimination (**Donlan et Costerton, 2002**), Ils peuvent également différer dans leur sensibilité aux infections microbiennes (**Kackar et al., 2017**).

On dénombre quatre groupes principaux de lentilles

I.2.1. Les lentilles rigides

Appelait autrefois « lentilles dures », « semi-rigides », « semi-flexibles » ou encore « lentilles rigides perméables à l'oxygène » (**BÂRTSCHI, 2009**). Elles sont utilisées principalement chez les personnes ayant une petite sécheresse oculaire, ou vivant dans une atmosphère sèche (air conditionné) et qui ne peuvent donc pas utiliser de lentilles souples. L'oxygénation de la cornée est bien respectée car les matériaux sont perméables aux gaz. Les infections et les allergies sont beaucoup moins fréquentes en lentilles rigides qu'en lentilles souples (**FOUCAUD, 2012**).

I.2.2. Les lentilles souples

Les lentilles souples traditionnelles sont en plastique souple hydrophile contenant 38 à 72 % d'eau, Ce type de lentille est de moins en moins utilisé au profit des lentilles souples en silicone hydrogel. Sont des lentilles à renouvellement fréquent, Elles sont posées le matin et retirées le soir et sont remplacées tous les mois (**FOUCAUD, 2012**). Du fait que les lentilles souples sont souvent indiquée lors d'une intolérance aux lentilles rigides, d'une myopie ou hypermétropie forte, dans les milieux poussiéreux, le bord de la lentille est plaqué contre la surface oculaire et où les particules se glissent difficilement en dessous. Néanmoins les lentilles souples peuvent être contre indiquée pour les maladies auto immunes et le diabète car ces pathologies présentent un terrain fragile est plus propice aux infections (**Fontegnes et**

Chemia, 2000). L'administration des aliments et des médicaments (FDA) classe les lentilles souples, en fonction de leur degré d'hydrophilie et d'ionicité, en quatre groupes : (Groupe I : faible hydrophilie ($H_2O < 50\%$), non ionique ; Groupe II : forte hydrophilie ($H_2O > 50\%$), non ionique ; Groupe III : faible hydrophilie ($H_2O < 50\%$), ionique ; Groupe IV : forte hydrophilie ($H_2O > 50\%$), ionique) (**Schalk, 2017**).

I.2.3. Les lentilles hybrides

Ce sont des lentilles qui associent une partie rigide centrale entourée d'une jupe souple périphérique (**Pagot, 2009**).

I.2.4. Les lentilles cosmétiques

Des lentilles cosmétiques sont purement à visée esthétique, pour modifier la couleur des yeux (**Malet et Peyre, 2004**). Les lentilles colorées demandent le même entretien que les lentilles correctrices, Il est tout à fait évident qu'elles exposent, comme toutes lentilles, à la survenue de complications infectieuses (**Colin et al., 2006**).

I.3. Les différents environnements des lentilles

I.3.1. Le film lacrymal

Les lentilles baignent dans le film lacrymal constitué d'un gel complexe contenant des protéines, des mucines, des lipides, des saccharides, des sels et de l'eau. Ses composants, essentiellement les protéines et les lipides, ont tendance à se déposer à la surface de la lentille, formant des dépôts dont la quantité et la composition dépendent du matériau des lentilles (**Bloise, 2017**).

I.3.2. La flore saprophyte

La flore saprophyte est l'ensemble des micro-organismes présents à la surface oculaire ne provoquant pas d'infection car éliminés par les mécanismes de défenses oculaires (les composants des larmes, le flux lacrymal qui permet un lavage des débris et microorganismes non fixés à la surface, une surface épithéliale cornéo-conjonctivale intègre créant une barrière physique à un grand nombre de germes pathogènes, le clignement qui est une action mécanique provoque l'évacuation des germes vers les lacs lacrymaux et la baisse de la température locale défavorable à la prolifération des germes) (**Bloise, 2017**).

Des facteurs variés permettent à une souche particulière de rester un habitant non pathogène de la surface oculaire, y compris les produits finaux métaboliques microbiens, les composants du film lacrymal et les bactériocines. Les bactériocines sont des toxines protéiques sécrétées

par un organisme spécifique, qui sont nocives pour d'autres espèces bactériennes compétitives (Szczotka-Flynn *et al.*, 2010).

Dans les conditions normales. Cette flore est peu abondante et variable selon les conditions environnementales, l'âge et le climat. Il est intéressant de noter également que le port de LC modifie la flore du sujet sain par la contamination manuportée liée aux manipulations des lentilles en favorisant la présence de germes pathogènes (Heitz et Bourcier, 2013).

I.3.3. Les micro-organismes sous lentilles

Ce sont le plus souvent des champignons ou des levures d'aspect filamenteux et les amibes. Ils proviennent de l'environnement oculaire ou d'origine externe (étuis, mains, poussières) (Bloise, 2017).

La lentille de contact est un vecteur de transfert des germes à la surface oculaire (Szczotka-Flynn *et al.*, 2010), La formation d'un biofilm bactérien sur les lentilles entraîne une augmentation du nombre d'organismes et une exposition prolongée à la cornée. Le biofilm bactérien rend le micro-organisme plus résistant aux effets antimicrobiens des systèmes d'entretien et permet à l'organisme de persister sur la surface de la lentille avec un risque d'atteinte des tissus soit directement, soit par l'intermédiaire de la production des toxines (Bloise, 2017).

I.4. Complication liées au port de lentilles de contact

Plus de 230 millions de personnes dans le monde utilisent les lentilles de contact pour résoudre les problèmes oculaires fonctionnels ou optiques, ou pour changer l'apparence des yeux (Dosler *et al.*, 2020). Pourtant, de nombreuses infections oculaires surviennent lorsque de telles prothèses entrent en contact avec l'œil. Le port de lentilles de contact pose un risque important des complications oculaires y compris les yeux rouges aigus liés aux lentilles de contact (CLARE), l'ulcère périphérique des lentilles de contact et la kératite infectieuse (Kackar *et al.*, 2017 ; Wu *et al.*, 2017).

Les kératites infectieuses peuvent être d'origine bactérienne, fongique, parasitaire ou virale (figure 1). Une kératite infectieuse correspond à un infiltrat cornéen auquel fait suite un ulcère épithélial où des microorganismes sont présents (Bourcier *et al.*, 2013), elle peut entraîner une perte de vision à la suite de cicatrices cornéennes. Selon quelques études, le port de lentilles de contact représente environ 12% à 66% de tous les événements de kératite bactérienne (Wu *et al.*, 2017).

I.4.1. Les infections bactériennes

90 % des kératites chez les porteurs de lentilles de contact sont d'origine bactérienne **(Dyavaiah et al., 2015)**. La présence d'une prothèse modifie la flore commensale du cul-de-sac conjonctival. Le port de lentilles de contact est ainsi la première cause de kératites infectieuses. Ces kératites peuvent être graves avec au maximum abcès de cornée qui peut mettre en jeu le pronostic visuel **(Feys, 2004)**.

Les germes les plus souvent responsables sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, l'*Haemophilus influenzae*, plus rarement *Bacillus*. Les germes Gram positif, le *Staphylococcus aureus*, le *Staphylococcus epidermidis*, le *Streptococcus pneumoniae* et les pyogènes **(Bloise, 2017)**.

P. aeruginosa sont des bâtonnets à Gram négatif avec des flagelles polaires, largement répandus dans la nature, des contaminants courants de nombreuses solutions aqueuses et des agents pathogènes opportunistes. *P. aeruginosa* possède de nombreux facteurs de virulence contribuant à sa pathogénicité. Les structures associées aux cellules, y compris les flagelles, les pilis, les fimbriaes et l'endotoxine, ainsi que les produits extracellulaires, tels que les protéases, l'exotoxine A et le biofilm, sont associées à la virulence, au caractère invasif et à la colonisation. Les isolats de *Pseudomonas* présentent souvent une résistance multiple aux antibiotiques. Ce sont l'un des contaminants les plus courants rétabli des cas de lentilles de contact et l'un des agents étiologiques les plus fréquents des ulcères de la cornée associés au port de lentilles de contact **(Pinna et al., 2008)**.

S. marcescens est un bâtonnet Gram négatif qui est longtemps considéré comme un saprophyte inoffensif. Cependant, la technologie médicale et l'utilisation d'agents antibactériens ont créé des niches écologiques pour cette bactérie, qui pose un problème médical. La bactérie est rencontrée en relation avec la kératite des lentilles de contact, souvent associée à des solutions de lentilles de contact contaminées **(Parment, 2009)**. *S. marcescens* a été impliquée dans une gamme d'événements indésirables oculaires, notamment l'endophtalmie, la kératoconjunctivite, la kératite liée aux lentilles de contact, et le CLARE **(Hume et al., 2007)**.

S. aureus est l'une des causes les plus fréquentes d'infections oculaires, notamment la blépharite, la dacryocystite, la conjunctivite, la kératite et l'endophtalmie. Sa capacité de sécrétion de toxines, la résistance au système immunitaire, et de former des biofilms, lui permettant de devenir un pathogène opportuniste.

S. epidermidis est un agent pathogène. En particulier en termes d'infections oculaires. La production d'exoenzymes et de modules phénol-solubles ainsi que les biofilms peuvent être des facteurs actifs dans les infections oculaires. Une telle infection implique souvent la glande lacrymale et peut se propager à la cornée, entraînant potentiellement une ulcération cornéenne, la kératite et d'endophtalmie.

Les biofilms de *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. pneumoniae* sont des causes importantes de conjonctivite. La conjonctivite peut résulter d'une propagation de l'infection à partir de la paupière ou de la cornée et peut survenir à la suite d'un traumatisme oculaire dû à l'utilisation de lentilles de contact (O'Callaghan, 2018).

Les bactéries Gram-négatives, par exemple *Chlamydia trachomatis*, *H. influenzae* et certaines bactéries Gram-positives provoquent le CLARE, dont les symptômes comprennent le larmoiement, la photophobie (sensibilité à la lumière), les démangeaisons, la rougeur des yeux (hyperémie conjonctivale), l'inconfort et la douleur (Khan et Lee, 2020).

I.4.2. Les infections fongiques

Elles sont très rares, surtout liées à une mauvaise hygiène ; les champignons mycéliens peuvent se fixer sur les lentilles souples. L'encrassement des lentilles ainsi que la contamination des étuis favorise la prolifération des champignons (*Acremonium*), plus rarement des levures (*Candida*) (Feys, 2004).

I.4.3. Les infections amibiennes

Acanthamoeba est une amibe ubiquitaire, responsable de ulcère de cornée, et les kératites assez rares mais graves avec. Survenant le plus souvent chez un porteur de lentilles souples, l'infection est favorisée par la contamination microbienne des boîtiers ainsi que par le rinçage des lentilles à l'eau du robinet, ou la baignade avec les lentilles (Cardine et al., 2002) (Radford et al., 2002).

I.4.4. Les infections virales

Certains virus, adénovirus, herpès, HIV, sont susceptibles d'être transmis d'un patient à un autre par l'intermédiaire de lentilles d'essais multipatients. Par ailleurs, le port de lentille est un facteur aggravant d'une infection virale évolutive (Feys, 2004).

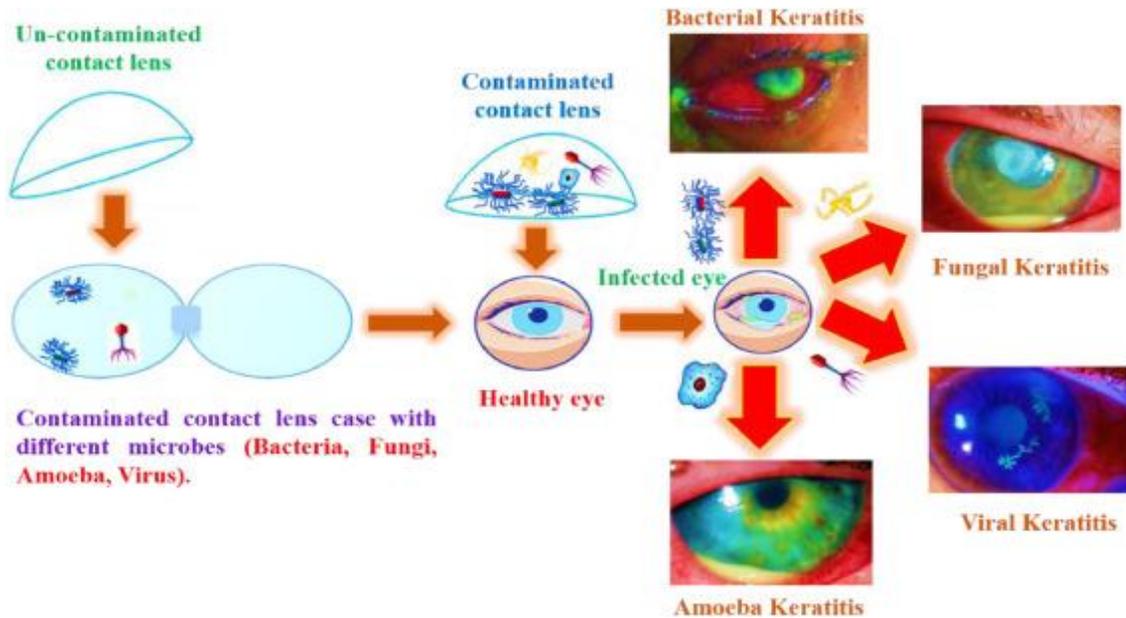


Figure 1: Différentes maladies oculaires résultant de la contamination des lentilles de contact et étuis à lentilles (Khan et Lee, 2020)

I.5. Surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact

La formation de biofilm peut être associée à une contamination microbienne persistante, il est donc important que les porteurs de LC adoptent des pratiques d'hygiène efficaces (Wu *et al.*, 2010).

Des études ont identifié plusieurs facteurs de risque associés aux complications du port de lentilles dans le but d'encourager le bon port de lentilles et pour minimiser le fardeau des maladies. Parmi les facteurs de risque identifiés, certains sont non modifiables, comme le sexe ou l'âge, D'autres facteurs de risque sont modifiables, par exemple, un mauvais nettoyage des mains et une mauvaise hygiène des lentilles et de l'étui à lentilles (Wu *et al.*, 2010).

Les solutions d'entretien ont pour rôle essentiel de nettoyer, de décontaminer, de conserver les lentilles pour prévenir les problèmes infectieux et améliorer le confort de port (Bloise, 2017). La FDA recommande l'utilisation d'une solution polyvalente (MPS) pour rincer l'étui de la lentille et inverser l'étui sur du papier de soie pour sécher à l'air pendant au moins six heures (Wu *et al.*, 2015).

Le nettoyage a pour but d'éliminer les dépôts (protéines, lipides, mucines, débris divers) présents à la surface de la lentille et préparer à la décontamination. Le nettoyage est chimique par les agents présents dans les solutions et mécanique par le massage et le rinçage pratiqués à la pose et à la dépose des lentilles (Bloise, 2017).

I.5.1. Bonnes pratiques d'utilisation des lentilles de contact

Pour éviter les complications liées au port des lentilles de contact, le patient doit être attentif à l'entretien de ses lentilles.

À chaque étape de leur utilisation, les lentilles peuvent être souillées et contaminées. La contamination des lentilles de contact provient essentiellement des mains, des solutions d'entretien, des étuis, et de l'environnement (**Bloise, 2017**).

L'entretien en général doit se faire tous les soirs en suivant quelques étapes

- Avant toute manipulation, Il est conseillé de manipuler ses lentilles dans un endroit propre et sec. Il est important de se laver soigneusement les mains. Il est conseillé d'utiliser un savon neutre puis de bien se sécher les mains ou de les essuyer avec une serviette propre et non pelucheuse (**Alcon, 2016**), Il est préférable de poser ses lentilles avant de se maquiller et de les retirer avant de se démaquiller (**Barthélemy et al., 2012**).
- Après avoir délicatement sorti les lentilles de leur étui, ou Une fois la lentille retirée, il faut la placer dans le creux de la main, y verser quelques gouttes de la solution d'entretien et masser délicatement ses deux faces avec un doigt pendant quelques secondes.
- Après le massage, il faut rincer la lentille avec une MPS, Déposer chaque lentille dans le compartiment de l'étui qui lui correspond après l'avoir préalablement rempli de solution fraîche en quantité suffisante pour une bonne immersion de la lentille (**Schalk, 2017**).
- L'entretien des étuis se fait par un nettoyage avec la solution d'entretien, sans oublier le couvercle, et doivent être sécher et rester ouvert pendant le port des lentilles (**Bloise, 2017**).
- Lorsque la phase de décontamination est achevée, il est possible de remettre ses lentilles ou de les conserver dans leur solution pendant une durée variable selon le fabricant (se reporter à la notice) jusqu'à la prochaine utilisation (**Schalk, 2017**).

I.6. Biofilm et prothèse oculaire

Même en suivant des pratiques d'hygiène et de désinfection raisonnables, les porteurs de lentilles de contact peuvent encore être affectés par une infection microbienne (**Dart, 1997**), les populations bactériennes peuvent se développer en biofilms avec une densité bactérienne généralement élevée (**Khan et Lee, 2020**).

Les lentilles de contact offrent une surface sur laquelle les bactéries peuvent se fixer et former des biofilms (**Zegans *et al.*, 2002**).

La formation de biofilm microbien sur les LC et les étuis de stockage de lentilles peut être un facteur de risque d'infections cornéennes associées aux LC (**Kackar *et al.*, 2017**).

Aussi, les biofilms sont responsables d'autres complications comme la kératopathie infectieuse cristalline, appelée aussi IDK17. C'est une forme rare de kératite microbienne caractérisée par la présence de structures cornéennes en forme de cristaux, associée à la présence d'un œdème cornéen (**Liebert *et al.*, 2002**).

Les biofilms sont plus fréquents sur les étuis à lentilles que sur les lentilles de contact, car les étuis à lentilles ne sont souvent pas manipulés avec autant de soin que les lentilles elles-mêmes (**Dart, 1997**).

Des études démontrent que la contamination des boîtiers de lentilles de contact est le résultat du développement de biofilm. Les bactéries planctoniques pénétrant dans l'étui à lentilles de contact peuvent adhérer à sa surface et peuvent rapidement coloniser l'étui à lentilles sous forme de bactéries sessiles. Dans cet état, ils résistent à la plupart des désinfectants pour lentilles de contact disponibles. La lentille de contact, une fois retirée de cet environnement, peut être colonisée par des bactéries sessiles ou peut servir de véhicule pour des amas de bactéries sessiles (**Dart, 1997**).

L'antibiothérapie est peu efficace dans le traitement des infections liées à la formation du biofilm, pour cela, comprendre le rôle des biofilms bactériens dans les infections oculaires pourrait guider les recherches et le développement de nouvelles stratégies antimicrobiennes spécifiques à l'ophtalmologie (**Liebert *et al.*, 2002**).

II. Description des biofilms

II.1.Historique

En 1674, Antonie van Leeuwenhoek a utilisé le premier microscope de son invention pour décrire des agrégats d'animalcules qu'il avait grattés sur les surfaces de ses propres dents.

Claude E. Zobell (1904-1989), considéré comme le père de la microbiologie marine, démontra que ces bactéries sont attirées par les surfaces auxquelles elles adhèrent parfois, pour former des populations sessiles.

En 1964, Ralph Mitchell et Kevin Marshall ont examiné les premières étapes de la formation de biofilm par bactéries dans des cultures pures, et ont fait la distinction entre l'adsorption réversible des bactéries sur les surfaces et l'attachement irréversible qui constituent une étape de la formation du biofilm (**Costerton, 1999 ; Donlan et Costerton, 2002**).

En 1969 Ivan L. Roth, de l'Université de Géorgie, a fait la démonstration de fibres glucidiques entourant les bactéries dans un système aquatique (**Costerton et al, 1978**).

Plus récemment, dans les années 1970 des observations microscopiques quantitatives et les cultures microbiologiques ont démontré l'existence des bactéries en mode biofilm. Les bactéries agrégées (sessiles), constituent une composante majeure de la biomasse bactérienne dans de nombreux environnements (**Costerton, 1999**). C'est à cette même époque que le lien entre la chronicité des infections bactériennes et la formation de biofilm est fait (**Romain et al., 2012**).

Dès 1973, Characklis mit en évidence des slimes microbiens provenant de circuits d'eaux industrielles (**Thierry, 2008**), Et, dans les années 1980, William Costerton démontra que l'essentiel de la biomasse microbienne est fixé sur des surfaces et constitue des populations hétérogènes englobées dans une matrice extracellulaire (**Agnès et Jean-Marc, 2006**).

En 2006, Allwood et al, ont annoncé que les stromatolithes qui ont été à l'origine de la création de structures de pierre depuis des milliards d'années, se résultent de l'activité biologique de cyanobactéries, et sont une forme de biofilm composés de micro-organismes (**Allwood et al., 2006**)

II.2. Qu'est-ce qu'un biofilm

Les bactéries attachées à la surface peuvent représenter une forme de vie distincte par rapport aux cellules planctoniques (**Flemming et Wuertz, 2019**), cette capacité d'adhérer à différents types de surfaces permet aux micro-organismes de former un biofilm. Le biofilm consiste en une communauté de micro-organismes immergés dans une matrice extracellulaire attachés à une surface biotiques ou abiotiques (**Cavalheiro et Teixeira, 2018**) ; **Galié et al., 2018**). La microcolonie est l'unité structurale du biofilm, c'est un petit amas de cellules bactériennes. La matrice polymérique est composée essentiellement des polysaccharides complexes macromoléculaires, des protéines, d'autres hydrates de carbone comme l'acide uronique, ainsi que les lipides et les acides nucléiques (**BRANDA et al., 2005**), plus l'eau qui est le principal composant du biofilm (tableau 1) (**Costerton, 1999**).

Tableau 1: Composition typique d'un biofilm bactérien (Flemming et Wingender, 2018).

Composés		Fraction	
Eau		87 à 99%	
Bactéries		1 à 2%	
	Polysaccharides		40 à 95%
EPS	Protéines	2 à 5%	<1 à 60%
	Acides nucléiques		<1 à 10%
	Lipides		<1 à 40%

La présence de plus d'une espèce bactérienne dans un biofilm présente un avantage écologique important car elle peut faciliter la fixation du biofilm (Galié *et al.*, 2018). Les micro-organismes de ce type de communauté présentent des taux de croissance plus faibles et une plus grande résistance aux traitements antimicrobiens. Le biofilm est considéré comme le mode de vie microbien le plus prédominant (Yin *et al.*, 2019). Et en raison de sa capacité de coloniser les surfaces des dispositifs médicaux hydratés (lentilles de contact, cathéter veineux, sondes endotrachéales, dispositifs intra-utérins, valves cardiaques artificielles, cathéters de dialyse péritonéale, sondes urinaires, ...), le biofilm est souvent responsable des infections liées aux soins (Hassaine *et al.*, 2019) dont les infections oculaires chez les patients porteurs des lentilles de contact (Malek, 2020).

II.3. Formation et écologie du biofilm

Les biofilms bactériens peuvent se former sur les surfaces abiotiques ainsi que sur les surfaces biotiques. Les modèles *in vitro* de formation de biofilm ne représentent pas nécessairement le résultat dans les modèles *in vivo* en raison de la différence dans l'environnement de l'hôte où les défis sont différents en termes de disponibilité des nutriments, stress immunitaire... Les cellules microbiennes du biofilm évoluent multiples mécanismes pour passer les cinq étapes de formation de biofilm (Figure 2) (Kumar *et al.*, 2017).

II.3.1. Les étapes de formation de biofilm

II.3.1.1. Mise en place d'un film conditionnant

Un mélange complexe, composé de protéines, de glycoprotéines, les lipides, les polysaccharides et de nutriments organiques, forme un film de conditionnement sur la surface quelques minutes après l'exposition et continuaient à croître pendant plusieurs heures. Un

exemple peut être le film de conditionnement produit par l'hôte est les larmes, Cette zone riche en nutriments favorise la l'attachement et la croissance bactérienne (**Donlan, 2002 ; Thierry, 2008**).

II.3.1.2. Transfert des cellules bactériennes vers la surface

Les cellules microbiennes planctoniques proviennent le plus souvent de la dissémination d'un biofilm voisin, suspendu dans un fluide (le film) (**Romain et al., 2012**), elles adhèrent à la surface soit par des forces physiques, soit par des appendices bactériens tels que les Pilis ou les flagelles (**Gupta et al., 2015**). L'adsorption initiale des macromolécules sur les surfaces déclenche l'ensemble du processus de formation du biofilm et crée les conditions pour la colonisation des cellules bactériennes sur les surfaces (**Huang et al., 2018**).

II.3.1.3. Adhésion réversible et irréversible

L'étape d'adhésion microbienne comprend deux circonstances: l'adhésion réversible, lorsque les bactéries sont au voisinage d'une surface, des forces d'attraction physico-chimiques interviennent et conduisent à une interaction réversible avec la surface où les bactéries peuvent se dissocier et revenir à des formes planctoniques (**Kumar et al., 2017**), les interactions typiques qui peuvent avoir lieu incluent les interactions de Van der Waals (se sont des interactions dipolaires non covalentes entre molécules) , les interactions électrostatiques répulsives ou attractives et les interactions hydrophobes (**Romain et al., 2012**).

À mesure que les cellules se multiplient, le nombre de bactéries associées à la surface augmente conduisant à la formation de colonies et l'adhésion devient irréversible. Ce passage à un biofilm attaché de manière irréversible correspond à la synthèse de structures à la surface de la bactérie, et des modifications du profil d'expression des gènes (**Agnès et Jean-Marc, 2006**).

II.3.1.4. Maturation

Dans cette phase, les cellules microbiennes produisent des signaux d'auto inducteur qui aboutit à l'expression de gènes spécifiques du biofilm et permet aux cellules de communiquer entre elles (**Gupta et al., 2015**), ce processus est habituellement le résultat d'un type de communication bactérienne appelée « quorum sensing » (**Phillips et al., 2010**). À ce stade, le micro-organisme sécrète une matrice de substances extracellulaires polysaccharidique (EPS) pour stabiliser le réseau de biofilm (**Gupta et al., 2015**). Cette phase se caractérise par une augmentation de la taille du biofilm (**Thierry, 2008**).

II.3.1.5. Dispersion et détachement cellulaire

Lorsque l'épaisseur maximale du biofilm est atteinte, le stade final de développement du biofilm peut avoir lieu. Il s'agit du stade de dispersion (**Clutterbuck et al., 2007**). Dans cette étape, les cellules s'échappent de la matrice du biofilm sous forme de bactéries planctoniques libres. Des enzymes spécifiques sont impliquées dans la dégradation et la reconfiguration du biofilm, ce qui entraîne une dégradation partielle de la matrice, la dispersion du biofilm (**Yin et al., 2019**), et la colonisation de nouvelles niches écologiques et par conséquent la formation d'autres biofilms (**Clutterbuck et al., 2007**).

Les bactéries planctoniques essaimant d'un biofilm sont à l'origine des infections à cause de leurs résistances aux défenses immunitaires d'un hôte (**Donlan et Costerton, 2002**).

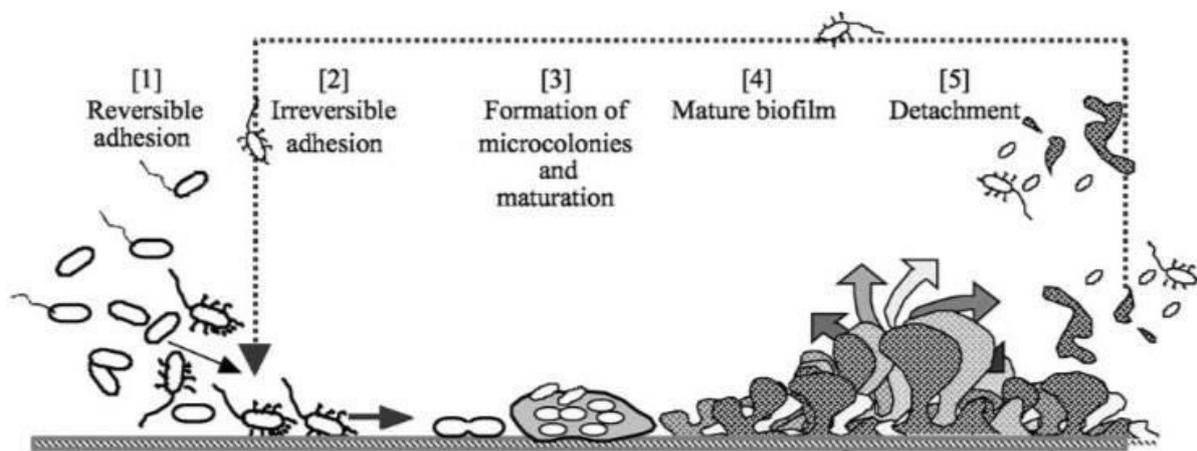


Figure 2: Cycle de développement d'un biofilm bactérien (**Ghigo, 2003**).

II.3.2. Facteurs favorisant la formation du biofilm

L'attachement des cellules bactériennes et la formation des biofilm sur les lentilles de contact dépendent d'un certain nombre de facteurs, y compris la nature du substrat, le pH, la concentration d'électrolyte, la charge ionique du polymère et la souche bactérienne elle-même (**Donlan et Costerton, 2002**).

II.3.2.1. Caractéristiques de la surface

La surface peut être de nature très variée, biotique ou abiotique (**Paolozzi et Liébart, 2015**), et peut avoir plusieurs caractéristiques importantes dans le processus de fixation.

La colonisation microbienne augmente à mesure que la rugosité de surface augmente (**Characklis et Marshall, 1990**), les surfaces rugueuses sont colonisées de façon préférentielle car les forces répulsives sont moindres et la surface de fixation est augmentée,

grâce à la présence d'aspérités (**Donlan, 2002**). Certaines souches sauvages de bactéries colonisent aussi des surfaces lisses (**Donlan et Costerton, 2002**).

Les propriétés physico-chimiques de la surface peuvent également exercer une forte influence sur la vitesse et l'étendue de l'attachement. Les micro-organismes se fixent facilement aux surfaces hydrophobes et non polaires telles que le téflon et le plastique qu'aux matériaux hydrophiles tels que le verre ou les métaux (**Bendinger et al., 1993**).

La présence de polymères comme le sang, les larmes, l'urine, la salive, le liquide interstitiel et les sécrétions respiratoires sur un matériau modifie les propriétés physico-chimiques de sa surface, influence l'attachement de bactéries à sa surface, et favorise la formation de biofilms. Alors ce film organique masque en partie ou totalement les propriétés initiales de la surface et augmente l'adhésion ou au contraire la diminue (**Mittelman, 1996 ; Bradshaw, 1997**).

Les lentilles de contact offrent une surface sur laquelle les bactéries peuvent se fixer et former des biofilms (**Liebert et al., 2002**).

II.3.2.2. Caractéristiques de milieu

La formation d'un biofilm nécessite des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clefs (**Fletcher, 1988 ; Martinez et Casadevall, 2007**). On peut citer les facteurs suivants : température, pH, concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques, sources de carbone disponibles, concentrations en nutriments, concentrations en certains cations, hydrodynamique du fluide (**Fletcher, 1988 ; Donlan, 2002 ; Spormann, 2008**).

Certaines bactéries peuvent s'adapter à des milieux par des modifications génétiques (**Clutterbuck et al., 2007**).

II.3.2.3. Propriétés des cellules

L'adhésion cellulaire est influencée par l'hydrophobicité de la surface cellulaire, une sorte d'interaction hydrophobe semble se produire entre la surface cellulaire et le substrat, car les interactions hydrophobes ont tendance à augmenter avec une nature non polaire croissante d'une ou des deux surfaces impliquées (c'est-à-dire la surface des cellules microbiennes et la surface du substrat). La plupart des bactéries sont chargées négativement mais contiennent toujours des composants de surface hydrophobes, les pellicules ou des capsules

polysaccharidique, des lipopolysaccharides, des couches protéiques, des flagelles, des pili (**Donlan, 2002 ; Romain *et al.*, 2012**).

L'aptitude des cellules bactériennes à former des biofilm est liée à la synthèse d'exopolysaccharides, et met en jeu les deux appendices extracellulaire, flagelles et pili de type 3 qui interviennent dans leur attachement à une surface.

D'autres cellules possédant le facteur F qui intervient dans le maintien de la structure du biofilm par stimulation de la synthèse des structures de la paroi (**Paolozzi et Liébart, 2015**).

II.3.3. Facteurs favorisant la dispersion du biofilm

Lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, Le détachement de cellules du biofilm intervient, certain bactéries peuvent se retrouver isolées de la colonie mère et être amenées à explorer l'environnement voisin pour chercher de nouvelles surfaces vierges (**Spormann, 2008 ; Romain *et al.*, 2012**).

La dispersion du biofilm peut être induite par des changements environnementaux tels que modification du pH ou présence de certains composés spécifiques (**Gjermansen *et al.*, 2005**), la limitation de l'oxygène et la diminution de la concentration ou modification de la nature des nutriments (**Sauer *et al.*, 2004**).

L'attachement et le détachement sont deux processus liés mécaniquement. Pour conduire au détachement, les facteurs moléculaires qui interviennent dans l'attachement doivent être désactivés (ou rompus). Par conséquent, les mécanismes moléculaires de l'attachement cellulaire sont essentiels pour rationaliser le détachement.

La limitation de l'oxygène conduit à une faible activité respiratoire et, par conséquent, à un état de basse énergie de la cellule en forme de biofilm, déclenchent la dissolution du biofilm et le détachement des cellules, ce type de détachement dépend de l'âge et / ou l'épaisseur d'un biofilm (**Spormann, 2008**).

Parfois, une dispersion du biofilm s'enclenche quand les ressources nutritives viennent à manquer ou lorsque le biofilm est agressé (**Romain *et al.*, 2012**), Par exemple, La mort des cellules du biofilm induite par des phages.

Autres facteurs peuvent induire le détachement du biofilm tel que l'action mécanique exercée par un flux de liquide, l'arrêt de la synthèse de matériaux constitutifs du biofilm : polysaccharides de la matrice par exemple (**Spormann, 2008**).

II.3.4. Mécanismes de régulation de la formation du biofilm

La mise en place des biofilms révèle une chronologie constante, avec bien sûr des variantes plus ou moins notable suivant les espèces microbiennes concernées. Dans tous les cas où elle a été abordée, l'analyse génétique a révélé l'implication de certains mécanismes tels que le guanosyl-monophosphate cyclique et le Quorum Sensing, selon une chronologie d'intervention bien définie. La formation du biofilm semble donc répondre à un programme rigoureux, suivant des étapes fixées et des points de contrôle (**Paolozzi et Liébart, 2015**).

II.3.4.1. Quorum sensing

Le Quorum Sensing (QS) est un système moléculaire de régulation de l'expression de certains gènes permet aux bactéries de communiquer afin d'adapter collectivement leur comportement à la densité cellulaire et à l'environnement et de mettre en œuvre des processus utiles pour l'ensemble de la communauté cellulaire comme la synthèse de facteurs de virulence, la production des antimicrobiens, la formation de biofilm, et la production des EPS (utilisés dans les biofilms) (**Heilmann et al., 2015**).

Le mécanisme de ce « langage » repose sur la production de petites molécules diffusibles appelées auto-inducteurs, à partir d'un seuil critique de ces messagers, et donc une concentration seuil en bactéries, ces molécules interagissent avec un régulateur transcriptionnel, permettant l'expression de certains gènes. Le QS intervient durant tout le processus de la formation du biofilm (**Romain et al., 2012 ; Malek, 2020**).

II.3.4.2. Régulation génétique par les cellules fixées

Après fixation sur un substrat, l'expression d'un certain nombre de gènes est régulée par les cellules fixées. Cette régulation peut être de type inhibiteur ou stimulateur. Elle va entraîner une modification phénotypique des bactéries et avoir pour conséquence la formation d'un biofilm (**Donlan, 2002**). Au cours de la formation d'un biofilm, 22% des gènes sont stimulés et l'expression de 16% des gènes est inhibée (**Prigent-combaret et al., 1999**). Des cellules de *Pseudomonas aeruginosa* présentes sur une surface depuis moins de 24h peuvent montrer jusqu'à 25% de différence dans l'expression de leurs gènes par rapport à leurs homologues planctoniques (**Romain et al., 2012**). Lors de la formation de biofilms de *Staphylococcus aureus*, des gènes codant pour des enzymes intervenant dans la fermentation et la glycolyse sont stimulés. Ceci peut être relié au fait que la concentration d'oxygène dans le biofilm diminue au fur et à mesure de son développement (**Becker et al., 2001**).

II.3.4.3. Régulation de la formation des biofilms par le GMP-c

Le di-guanosyl-monophosphate cyclique (di-GMPc) intervient dans la régulation de la synthèse des composants EPS tels que les polysaccharides, les flagelles, les pili, les adhésines et l'ADNe contribuent à la formation de biofilm via des récepteurs spécifiques (**Yin et al., 2019**).

Le di-GMPc est un second messenger, intervenant dans des cascades de phosphorylations et agit comme signal intracellulaire (**Paolozzi et Liébart, 2015**), une concentration accrue de di-GMPc intracellulaire favorise l'attachement à la surface et la formation de biofilm, tandis qu'une diminution de la concentration intracellulaire de di-GMPc induit une dispersion du biofilm, Il peut toutefois se comporter comme un inhibiteur de la formation de biofilm lorsqu'il est ajouté dans le milieu au lieu d'être produit naturellement (**Yin et al., 2019**).

II.3.4.4. Régulation de la formation des biofilms par l'acétyl phosphate et l'alarmone

De petites molécules intervenant dans la régulation de la formation d'un biofilm selon les conditions nutritionnelles du milieu ont été identifiées. Il s'agit de l'acétyl phosphate et de l'alarmone. L'acétyl phosphate s'accumule dans le milieu intracellulaire lorsque la concentration en source carbonée augmente et/ou lorsque la concentration en oxygène est basse. Il influence la formation du biofilm en agissant comme un phosphodonneur pour les régulateurs de réponse qui contrôlent certains gènes associés au biofilm (**Wolfe et al., 2003**).

Les alarmones sont des molécules signal intracellulaires, produites par les cellules dans des conditions défavorables. L'alarmone s'accumule lorsque les concentrations en nutriments sont très basses elle induit une cascade enzymatique aboutissant à la régulation de l'expression de gènes, jouent un rôle important dans la régulation des processus de formation du biofilm (**Beloin et al., 2008 ; Markova et al., 2018**).

II.3.4.5. Autres mécanismes régulateurs de la formation de biofilms

Les polysaccharides présents à la surface des cellules jouent un rôle important dans les interactions entre bactéries et leur environnement immédiat, Les lipopolysaccharides, appelés aussi endotoxines, font partie de la paroi des bactéries Gram-négatifs. Ils peuvent inhiber ou stimuler la formation de biofilms selon les cas (**Flemming et Wingender, 2018**).

Trois exopolysaccharides, le polymère de β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine, l'acide colanique et la cellulose, faisant partie de la matrice des bactéries du biofilm ont un rôle important dans la

formation d'un biofilm (**Beloin et al., 2008**). La synthèse d'acide colanique peut être induite par des concentrations d'antibiotiques de la famille des β -lactamines, proches des concentrations létales ; l'acide colanique forme une capsule. Il en résulte une exacerbation de la formation et de la persistance d'un biofilm face à des agents anti- microbiens (**Sailer et al., 2003**).

Deuxième partie : Matériel et méthodes

I. Prélèvement

Après lecture des trois articles, nous constatons que dans l'étude de **Raksha et al., 2020** des échantillons ont été prélevés par écouvillonnage des sacs conjonctivaux inférieurs, des étuis de stockage de lentilles à l'aide d'un écouvillon stérile d'une manière aseptique.

Un total de six échantillons, chacun a été collecté auprès de 40 porteurs de LC volontaires dont le groupe d'âge varie entre 18-35 ans, avec aucune atteintes d'infections oculaires ni de maladies oculaires, ni d'utilisation d'antibiotiques dans un délai d'un mois.

Les lentilles de contacts utilisés dans cette étude étaient en silicone.

Alors que **Dosler et al., 2020** et **Kackar et al., 2017** ont utilisés des LC neufs pour développer des modèles de biofilm *in vitro*. Dans l'étude de **Dosler et al., 2020** deux LC systématiquement portées par les auteurs selon leurs recommandations ophtalmologiques jusqu'à la date de péremption ont également été incluses à des fins de comparaison.

Pure Vision, Softens 38, Softens Toric et Acuve 2 sont les quatre types de LC utilisés dans l'étude de **Dosler et al., 2020**. Les informations détaillées sur ces CL ont été présentées dans le tableau 2.

Tableau 2: Caractéristiques des lentilles de contact. (FDA Groupe I : non ionique, faible teneur en eau (< 50 % H₂O) ; Groupe 2 : non ionique, eau élevée (> 50 % H₂O) ; et FDA Groupe 4 : ionique, eau élevée (> 50 % H₂O))

Type de LC	groupe FAD	Charge ionique	Teneur en eau (%)	Diamètre (mm)	Courbe de base (mm)	Fabricant
Pure Vision	I	Non-ionic	24	14.0	8.6	Bausch&Lomb
Softens 38	I	Non-ionic	38	14.0	8.7	Bausch&Lomb
Softens Toric	II	Non-ionic	64	14.5	8.5	Bausch&Lomb
Acuve 2	IV	Ionic	58	14.0	8.7	Johnson&Johnson

La taille de l'échantillon dans l'étude de **Kackar et al., 2017**, se composait de 18 LC dure RGP et de 24 LC souples (Lentille en silicone hydrogel, lentille pHEMA).

Dans l'étude de **Kackar et al., 2017**, Les prélèvements à partir des étuis de lentilles de contact ont été réalisés par écouvillonnage pour détecter les biofilms produits sur ces dernier.

II. Mise en culture

Tous les échantillons de **Raksha et al., 2020** ont été incubés pendant 24 heures à 37°C dans le bouillon Cœur-Cerveille (BHIB) puis repiqués sur gélose au sang, gélose Mac Conkey et gélose au dextrose de Sabouraud (SDA). La gélose au sang et la gélose Mac Conkey ont été incubées à 37°C tandis que le SDA a été incubé à 25°C.

Dans l'étude de **Dosler et al., 2020**, Le bouillon trypticase soja (TSB) et le milieu Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) additionné de 1% de glucose ont été utilisés pour les cultures bactériennes et fongiques, respectivement, pendant 24 h à 37 °C avec rotation de 360°.

III. Identification des souches

Dans l'ensemble des articles l'identification des isolats est basée sur l'étude des caractères macroscopique et microscopique, ensuite l'étude des caractères biochimique par la galerie API et le système VITEK.

III.1. Identification par VITEK 2

Le VITEK 2 est un automate de microbiologie qui permet d'obtenir, rapidement, des résultats de l'identification bactérienne, par des tests de sensibilité biochimique et antibiotique (**Wibisono et al.,2020**).

L'étape d'identification nécessite l'utilisation des cartes réactives. Celles-ci permettent de mesurer diverses activités métaboliques comme l'acidification, l'alcalinisation, l'hydrolyse enzymatique (**Eddayab, 2012**).

- Une carte GN pour bacilles à Gram négatif fermentatifs et non fermentatifs : 47 tests biochimiques, 19 tests enzymatiques dont les identifications sont disponibles après 10 h d'incubation (**Funke et Funke-Kissling., 2004**)
- Une carte GP pour cocci à Gram positif : 43 tests biochimiques, 17 tests enzymatiques dont les identifications sont disponibles après 8h d'incubation (**Funke et Funke-Kissling., 2005**).

III.2. Identification par des galeries API

Des galeries API ont été utilisées dans l'ensemble de ces articles. La galerie API 20 Et API Staph est un système pour l'identification des bactéries comporte 20 microbes contenant des substrats sous forme déshydratée, elles sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

L'API 20E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif, et l'Api staph est un système standardisé pour l'identification des genres *staphylococcus* et *Micrococcus*.

IV. Les souches de références utilisées pour les modèles de biofilm

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 60193 et *Candida albicans* ATCC 10231 étaient les souches de référence utilisées dans l'étude de **Dosler et al., 2020** et **Kackar et al., 2017** pour la formation des modèles de biofilm in vitro.

V. La détection du biofilm sur les lentilles de contact

Dans ces articles les auteurs ont essayé d'étudier la capacité des souches isolées à former un biofilm.

V.1. La méthode RCA

La gélose Rouge Congo Agar est un milieu très convenable pour la détection des souches productrices de slime. Sur ce milieu les souches exprimant le Polysaccharide Intercellular Adhesion (PIA) donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatives (**Ziebuhr et al., 2001**).

Technique

La production de slime a été recherchée sur le milieu Rouge Congo Agar (RCA). Selon **Freeman et al., (1989)**, le milieu a été préparé avec 37 g/L BHIB, 50 g/L de saccharose, 10 g/L d'agar et 0,8 g/L du Rouge Congo Agar, puis autoclavé à 121°C pendant 15 minutes (**Nasr et al., 2012**). Le milieu estensemencé avec une anse d'une suspension de notre souche. La lecture à été faite après 24 heures à 37°C et (**Jain et Agarwal, 2009**).

Lecture

Les souches productrices de slime donnaient des colonies noires à surface rugueuse contre des colonies rouges à surface lisse pour les souches non productrices. Les souches de phénotype variables donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir (Nasr *et al.*, 2012).

V.2. La méthode tube (TM)

C'est une technique qui permet une évaluation qualitative de la formation du biofilm décrite par Christensen *et al.*, (1982). 8.2.1 Technique A partir d'une boîte de culture 18-24 heures, ensemencer une colonie dans 10 mL de BHIB supplémenté de 2% de saccharose puis incubé à 37°C pendant 24 h. Les tubes ont été lavés avec du PBS (pH=7,3) puis séchés. Chaque tube a été ensuite coloré par le cristal violet (0,1%) pendant 15 minutes. L'excès de colorant a été enlevé et les tubes ont été lavés avec de l'eau distillée, puis séchés en position renversée (Mathur *et al.*, 2006).

Lecture

La formation du biofilm est considérée comme positive quand un film visible double et recouvre le mur et le bas du tube. La formation d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la formation du biofilm. La formation de biofilms est notée comme de 0 pour absent, + pour modéré et +++ pour fort (Stepanovic *et al.*, 2000).

V.3. Réaction en chaîne par polymérase (PCR)

Raksha *et al.*, 2020 ont utilisé la méthode PCR afin de détecter les gènes liés à la formation de biofilm chez les espèces *Staphylococcus* et *P. aeruginosa*.

Les cultures bactériennes ont été lysées, l'ADN extrait et des amorces spécifiques aux gènes ont été utilisées pour amplifier des fragments d'ADN par PCR. La matrice d'ADN a été obtenue en utilisant la méthode brute (Arciola *et al.*, 2002).

Mélange réactionnel

Le mélange réactionnel de PCR est préparé en fonction du nombre d'extraits à amplifier. Un tube témoin négatif et un tube témoin positif doivent être inclus dans la technique pour valider la série.

Le mélange réactionnel est composé par la suspension de matrice (2 µL), Amorce sens (1 µL), Amorce anti-sens (1 µL), d'eau sans nucléase (6 µL) et 10 µL du mélange réactionnel composé de : Taq ADN polymérase, dNTP, Chlorure de magnésium et tampons de réaction à des concentrations optimales.

Les amorces utilisées pour le gène *icaA* de *Staphylococcus* et le gène *pslA* de *P. aeruginosa* :

IcaA F: 5'-TCTCTTGCAGGAGCAATCAA-3' 188 pb

R: 5'-TCAGGCACTAACATCCAGCA-3'

PslA F: 5'-CACTGGACGTCTACTCCGACGATAT-3' 1119 pb

R: 5'-GTTTCTTGATCTTGTGCAGGGTGTC-3'

Condition de réaction PCR

Un programme des étapes thermiques a été utilisé, incluant les paramètres suivants :

- Incubation à 95°C pendant 5 minutes
- 30 cycles à 95°C pendant 45 secondes (dénaturation)
- 55°C pendant 30 secondes (annelage),
- 72°C pour 20 secondes pour *icaA* et 1 minute 20 secondes pour *pslA* (élongation)
- 72°C pendant 10 minutes après la fin des 30 cycles.

Les produits d'amplification ont été analysés en utilisant 2% d'agarose par électrophorèse pour le gène *icaA* et 1% d'agarose pour le gène *pslA*.

VI. Essais de la formation de biofilm *in vitro*

Dans l'article de **Dosler *et al.*, 2020**, le biofilm a été formé sur les quatre types de LC neufs (Pure Vision, Softens 38, Softens Toric et Acuve 2) sous différentes conditions (les milieux, le temps d'incubation, la température et l'agitation).

La méthode :

La formation de biofilm sur les LC dans l'étude de a été réalisée par la méthode modifiée d'**O'Toole et Kolter, (1998)**.

Les cultures d'une nuit de *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *C. albicans* ont été diluées au 1/10 dans un milieu TSB/RPMI 1640 supplémenté en glucose ou dans un mélange de BSA et de

lysozyme dans du PBS pour jouer le rôle de larmes, un volume de 200 µL de la suspension a été ajouté à chaque type de CL dans des plaques de micro-titration à 24 puits. Les plaques ont été incubées à une température de 37 °C ou 25°C, avec ou sans agitation, pendant 24 h ou 48 h (Kackar *et al.*, 2017).

Troisième partie : Résultats et discussion

I. Les souches bactériennes

Les résultats des identifications (macroscopique, microscopique, biochimique, galerie API et le système VITEK) des isolats bactériens obtenus dans l'étude de **Raksha et al., (2020)** étaient : *S. aureus*, staphylocoques à coagulase négative (CONS), *Pseudomonas*, Les bacilles à Gram négatif non fermentaires (NFGNB), *Bacillus spp*, *diphthéroïdes*, *microcoques*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* et *Moraxella*. La distribution des isolats bactériens obtenus est représentée sur la figure 3.

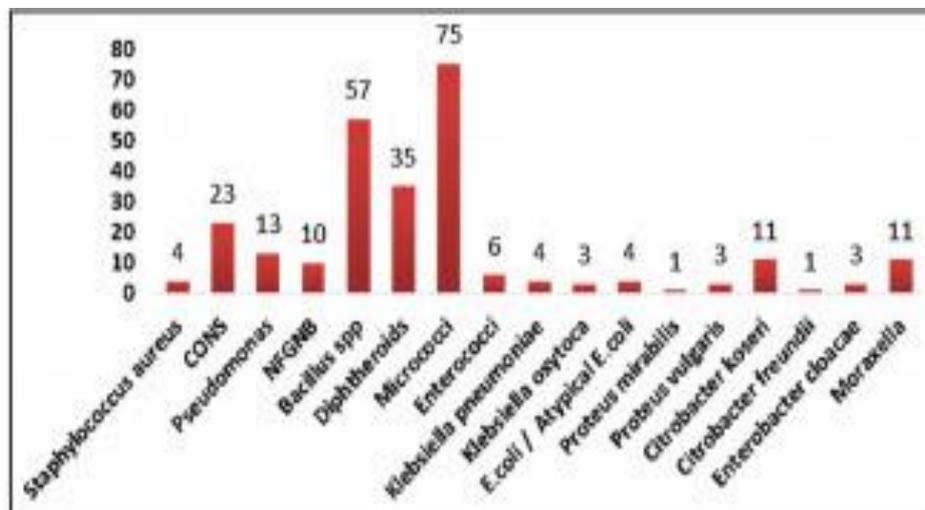


Figure 3: Fréquence des isolats bactériens obtenus à partir de LC (lentilles de contact souples) et des étuis de stockage de lentilles e contact (**Raksha et al., 2020**).

Le résultat de cette étude est similaire au résultat de l'étude menée par **Bourcier et al., 2003** qui explique et démontre la contamination des lentilles.

Le microbiote normal des paupières et des conjonctives est constitué principalement de bactéries aérobies comprennent généralement les CONS (principalement *Staphylococcus epidermidis*), les diphtéroïdes (*Corynebacterium sp*), *Micrococcus sp* et *Bacillus sp*. Cette flore normale peut submerger les mécanismes de défense de l'hôte et provoquer une infection oculaire externe et une inflammation en présence d'une résistance tissulaire réduite. La résistance peut être affectée par le port des LC (**Szczotka-Flynn et al., 2010**).

P. aeruginosa colonise mal l'épithélium cornéen sain. Cependant, cette adhérence est nettement augmentée lorsque la couche épithéliale est endommagée, ces dommages peuvent être provoquer par les LC (**Zegans et al., 2002**).

Les souches de *staphylocoques* sont des causes majeurs des infections oculaires car elles possédants une meilleur capacité d'adhésion, ce qui explique leur fréquence élevée qui peut conduire à des kératites infectieuses (**Bourcier et al., 2004**).

II. La formation de biofilm

Dans l'étude de **Raksha et al., (2020)**, la capacité de la formation de biofilm des 265 isolats a été détecter par deux méthodes comme suit, 53,5% étaient modérément positifs, 33,2% fortement positifs et 13,2% négatifs par la méthode du tube. 36,6 % étaient modérément positifs, 40 % fortement positifs et 23,3 % négatifs par la méthode CRA qui permet l'analyse directe des colonies, ce qui est plus élevé que les études menées par **Mathur et al., 2006 ; Hassan et al., 2011** et **Juárez-Verdayes et al., 2006** où le pourcentage de formateurs de biofilm est respectivement de 41,4 %, 63,6 % et 66 %. Par conséquent, les auteurs suggèrent que les méthodes phénotypiques (méthode du tube et méthode CRA) peuvent être utilisées comme un moyen pratique de détecter les infections liées au biofilm.

La cohérence entre la méthode CRA et la méthode du tube était de 75,8 %. Les résultats sont illustrés dans le tableau 3.

Tableau 3: Analyse des résultats de l'étude de **Raksha et al., (2020)** obtenus en méthode tube et méthode de la gélose rouge du Congo.

Méthode de Rouge Congo Agar		Méthode de tube	
Positive	Négative	Positive	Négative
207	58	233	32

La fréquence de la formation du biofilm des bactéries isolées de lentilles de contact est résumée dans le tableau ci-dessous

Tableau 4: Détection de la production de biofilm par bactéries obtenues à partir de porteurs de lentilles de contact.

Les organismes	La fréquence	Positive par méthode de tube	Positive par méthode CRA
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	4
CONS	24	22	20
<i>Pseudomonas</i>	13	13	12
<i>NFGNB</i>	10	9	11
<i>Bacillus sp</i>	57	44	36
<i>Diphtheroids</i>	35	22	21
<i>Micrococci</i>	75	63	58
<i>Enterococci</i>	6	5	4
<i>Klebsiella pneumonia</i>	5	7	7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	3	3
<i>E. coli/Atypical E. coli</i>	4	4	4
<i>P.mirabilis</i>	1	0	0
<i>P. vulgaris</i>	3	3	3
<i>C. koseri</i>	11	10	5
<i>C. freundii</i>	1	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	3	3
<i>Moraxella</i>	11	10	8

Dosler et al., 2020 dans son étude a comparé la présence du biofilm sur les quatre LC neuves et usagées (figure 4), dans des mêmes et différents conditions comme le montre la figure 5 et 6.

Les différences entre les capacités de former le biofilm des agents pathogènes oculaires les plus fréquents sur les LC ont également été démontrés dans cette étude.

La formation du biofilm des bactéries isolées de LC dans les mêmes conditions (le milieu, le temps d'incubation, la température et l'agitation) a montré que les biofilms les plus résistants en fonction de leurs densité cellulaire se sont formés sur Pure Vision \geq Softens 38 > Acuve 2 ~ Softens Toric.

Les souches standard et cliniques de *P. aeruginosa* étaient les plus formatrices du biofilm sur les LC, De même les souches de *S. aureus* étaient des bonnes formatrices du biofilm sur certains types de LC, en particulier sur les Acuve 2 et Pure Vision utilisés et inutilisés.

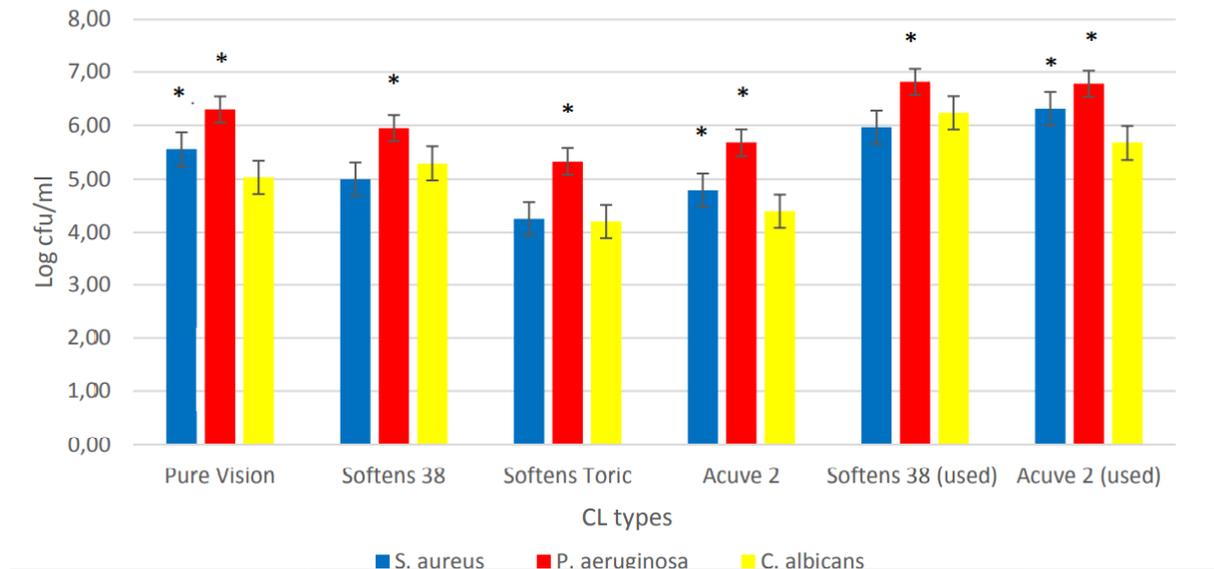


Figure 4: Comparaison des biofilms formés sur différents types de LC à 24 h pour *S. aureus* (barres bleues) et *P. aeruginosa* (barres rouges) et 48 h pour les souches standards de *C. albicans* (barres jaunes) (Dosler *et al.*, 2020)..

Les axes X et Y représentent les types des LC et la survie logarithmique des microorganismes dans le biofilm, respectivement. Les astérisques indiquent la signification statistique de la densité des biofilms de micro-organismes sur les LC.

L'adhérence des bactéries aux lentilles de contacts souple en hydrogel à port prolongé est considérée comme un facteur de risque dans la kératite microbienne, liée au genre entérobactéries (Cheng, 1999). La lentille sert de vecteur qui amène la bactérie en contact avec des tissus de la cornée qui provoque des infections oculaires (Latkovic *et al.*, 1997). Le risque de kératites infectieuses peut se lier au type de port qui est environ 21 fois plus grand avec les lentilles souples qu'avec les lentilles rigides (Kramer *et al.*, 2002), car les lentilles rigides bougeant moins sur l'œil du faite que leur diamètre et plus important (Taburet, 1986).

Dosler *et al.*, 2020 ont créé les différents modèles de biofilm sur différents types de LC, comme le montre la figure 5 et 6, le facteur le plus important était le milieu de culture, puis la température. Le temps d'incubation (24 ou 48h) était partiellement important pour la levure mais pas pour les bactéries. Les souches standard et cliniques de *P. aeruginosa* étaient les plus

formatrices du biofilm dans toutes les conditions. Bien que la capacité de formation du biofilm de *S. aureus* et *C. albicans* était similaires dans le sens général.

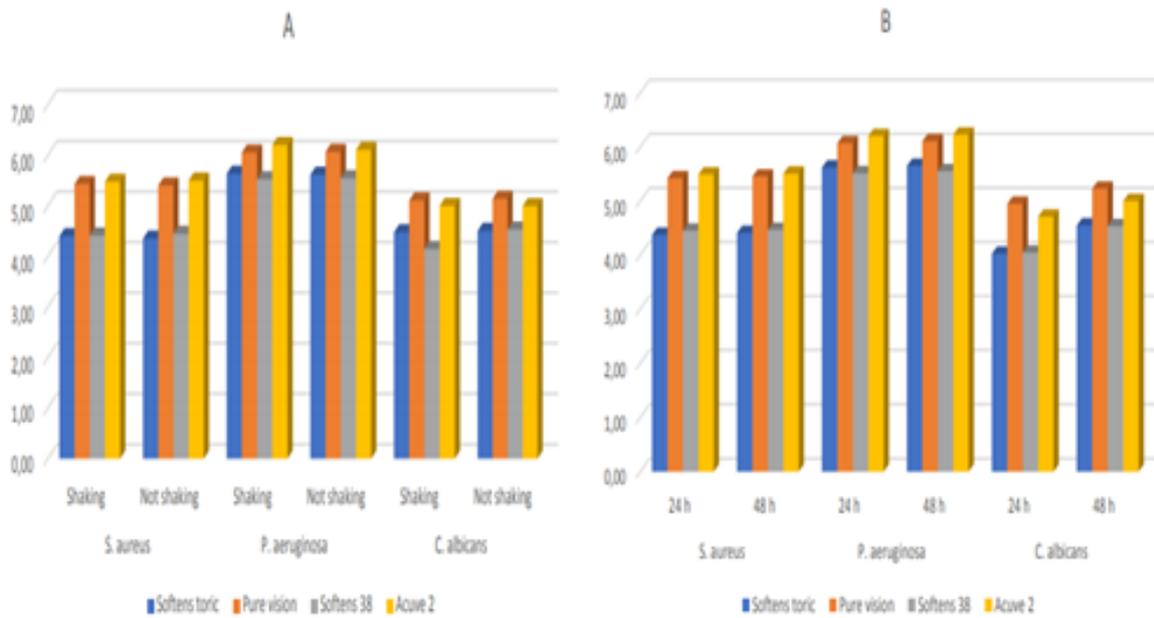


Figure 5: Comparaison des biofilms de *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* formés dans une solution lacrymale artificielle : avec ou sans agitation (A), à 24 h ou 48 h (B) (Dosler *et al.*, 2020).

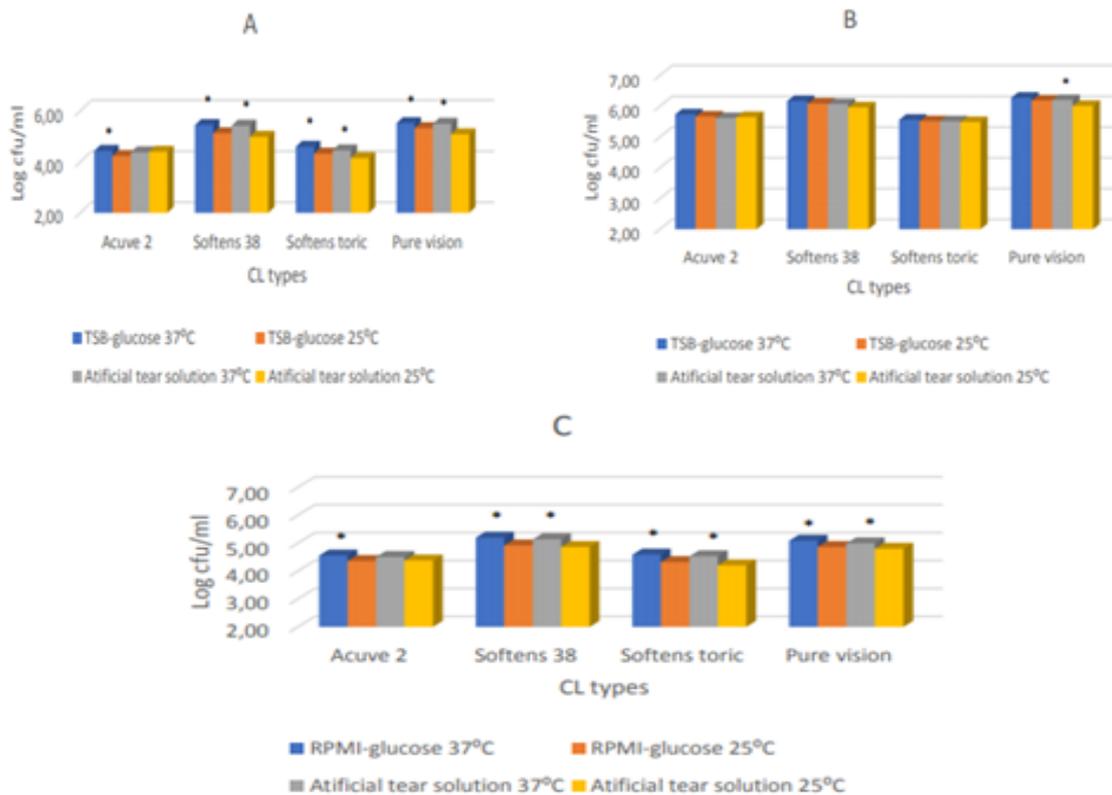


Figure 6: Comparaison de certaines conditions de formation de biofilm sur les LC, dans différents milieux et conditions de température à 24 h pour *S. aureus* (A) et *P. aeruginosa* (B) et 48 h pour les souches standards *C. albicans* (C) (Dosler *et al.*, 2020).

Dans la même étude ils ont aussi comparé la capacité de la formation de biofilm sur les LC utilisées et neuves, ils ont observé une augmentation remarquable de la densité des biofilms sur les CL usagés. Bien qu'il n'y ait pas eu de différence significative entre les deux types de LC utilisés, Softens 38 était la surface la plus favorable à la formation du biofilm (tableau 2). Ce résultat a démontré que la corrosion se produisait à la surface des CL usagés, ce qui les rendait plus sensibles à l'adhésion des micro-organismes conduisant à la formation de biofilm.

Les résultats de Dosler *et al.*, 2020 ont montré que les biofilms optimaux se produisaient dans un mélange d'albumine de sérum bovin (BSA) et de lysozyme dans du PBS à 37 °C. Ce sont les conditions les plus similaires à la physiologie normale des porteurs de LC, et par conséquent, le modèle de biofilm créé par les auteurs était très précis et réaliste pour les infections oculaires liées au port de LC.

Dans l'étude rapportée par Kackar *et al.*, 2017, une formation abondante de biofilm par les Micro-organismes d'essai sur les deux types de LC (souple et dure), par mesure de la densité

optique à une longueur d'onde de 570nm a été détecté. Le biofilm produit était plus important sur les lentilles souples de type 1 que dans les lentilles souples de type 2 et les lentilles dures.

Les images en microscopie électronique à balayage ont également révélé une formation abondante de biofilm par les micro-organismes d'essai sur les surfaces des lentilles et les étuis à LC dans l'étude de **Kackar et al., 2017**. Cependant, la différence dans la quantité de biofilm produit sur différents types de lentilles n'a pas été significativement observée (figure 7).

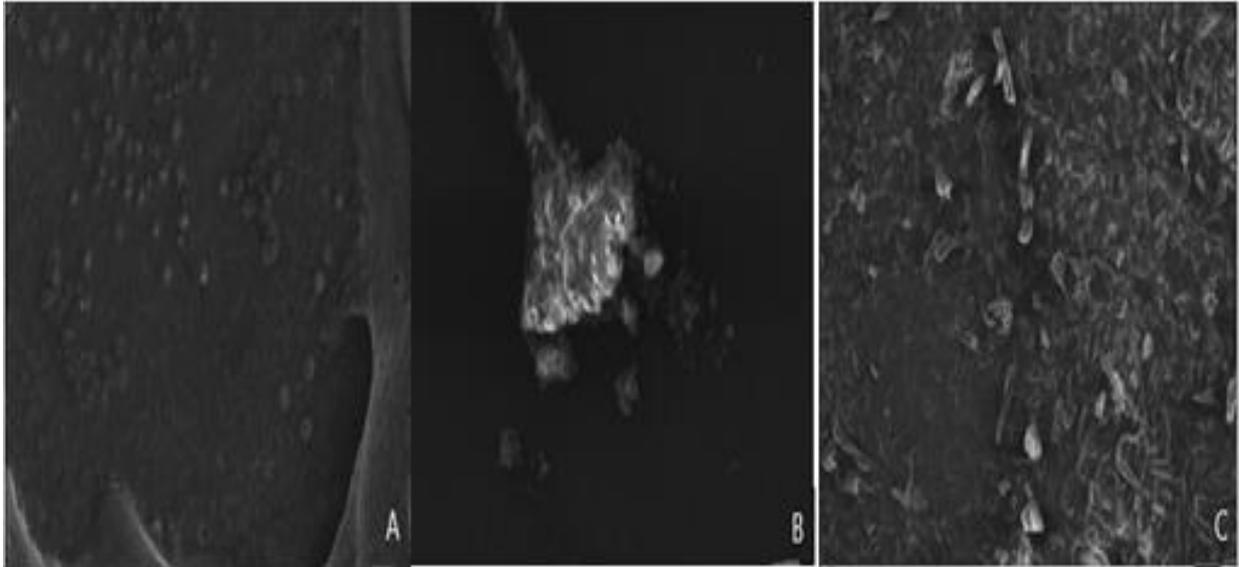


Figure 7: Image en microscopie électronique à balayage d'un biofilm produit par *S. aureus* (A), *P. aeruginosa* (B), *C. albicans* (C) sur une lentille souple (**Kackar et al., 2017**).

L'étude de **Kackar et al., 2017** a démontré que diverses bactéries ainsi que des champignons comme *Candida spp* ont la capacité de former des biofilms sur les lentilles de contact quelle que soit la nature des lentilles de contact. L'étude a également révélé qu'en plus des lentilles de contact, les étuis à lentilles peuvent également faciliter la formation de biofilms par les micro-organismes ce qui peut être la cause de la kératite microbienne chez les utilisateurs de lentilles de contact. Ainsi, La nature de la lentille ne semble pas avoir d'effet sur la formation de biofilm dans cette étude.

II.1. Confirmation de la formation de biofilm bactérien chez les porteurs de LC par PCR

Le résultat de l'étude de **Raksha et al., 2020** a montré que sur les quatre isolats de *S. aureus*, deux (50 %) ont révélé la présence du gène *icaA*, et parmi les 23 isolats de CONS, trois (13 %) ont montré la présence du gène *icaA* (tableau 5).

L'opéron *ica* code pour des produits géniques connus pour jouer un rôle dans l'adhérence de *S. epidermidis* (Zegans *et al.*, 2002).

Les isolats qui ont montré la présence du gène *icaA* étaient phénotypiquement positifs pour la formation de biofilm par les deux méthodes (méthode du tube et méthode CRA).

Les isolats qui étaient phénotypiquement négatifs pour la formation de biofilm n'ont pas montré la présence du gène *icaA*.

Tous les isolats de *Pseudomonas* étaient négatifs pour la présence du gène *pslA*, bien que la plupart d'entre eux étaient phénotypiquement positifs pour la formation de biofilm (tableau 5).

La plupart des isolats bactériens obtenus à partir des LC étaient suffisamment potentiels pour produire des biofilms. L'absence de gène formant un biofilm n'exclut pas la possibilité d'une production de biofilm phénotypique par les bactéries.

La formation de biofilm est modulée par plusieurs facteurs, la production des polysaccharides qui détermine la stabilité de la structure du biofilm, le système QS qui est impliqué dans la production de multiples facteurs de virulence ainsi que dans la formation de biofilm. Par conséquent, il est nécessaire de détecter génotypiquement la production de biofilm, car le processus de formation de biofilm est déterminé par l'interaction de nombreux groupes de gènes, dont certains n'ont pas été identifiés (Parkins *et al.*, 2001) ; (Ryder *et al.*, 2007)

Tableau 5: comparaison entre les résultats phénotypiques et moléculaires de Raksha *et al.*, 2020.

Positive par MT et CRA	<i>S. aureus</i>	CONS	<i>Pseudomonas</i>
PCR (<i>icaA</i> , <i>pslA</i>)	50% +	13% +	-

Conclusion

La synthèse des trois articles a confirmé la formation des biofilm sur les LC. La plupart des isolats bactériens et fongiques obtenus par **Raksha et al.,2020** à partir des LC et les étuis à lentilles et utilisé par **Dosler et al., 2020** et **Kackar et al., 2017** étaient formatrices des biofilms.

Les modèles de biofilm *in vitro* développé par **Dosler et al., 2020** et **Kackar et al., 2017** présentent un outil pour mieux comprendre la formation, la résistance des biofilms, les facteurs influençant la formation des biofilms et leurs rôle dans les infections liées aux lentilles de contact. **Dosler et al., 2020** ont prouvé que plusieurs facteurs jouent un rôle important dans les études de biofilm sur le LC. Les résultats obtenus par **Kackar et al., 2017** ont montré que le biofilm peut se former sur les LC de différent type, leur nature ne semble pas avoir un effet sur la formation de biofilm.

Ces résultats ont montré que les futures recherches sur les revêtements de surface anti-biofilm sur les lentilles de contact ainsi que les nouvelles stratégies anti-biofilm deviennent nécessaire pour pouvoir aider à réduire la contamination et l'adhésion microbienne sur les LC, et par conséquence limiter le risque d'infections associées au biofilm liées au port des lentilles de contact.

Références bibliographiques

- Alcon.** 2016. Mon guide – Lentilles de contact. Laboratoires Alcon SAS, Rueil-Malmaison.
- Allwood A. C., Walter M. R., Kamber B. S., Marshall C. P., Burch I. W.** 2006. Stromatolite reef from the Early Archaean era of Australia. *Nature*, 441(7094), 714–718.
- Arciola CR., Campoccia D., Gamberini S., Cervellati M., Agnès R., Jean-Marc G.** 2006. Les biofilms bactériens. Académie vétérinaire de France, Paris.
- Barthélemy B., Thiébaud T., Guillou M.** 2012. Manipulations. In *Contactologie* 2ème édition. Tec & doc, Lavoisier, Paris, 905 – 920.
- BÂRTSCHI M.** 2009. Lentilles de contact : indications et contraintes. *Forum Med Suisse*, 9(11), 228–232
- Becker P., Hufnagle W., Peters G., Herrmann M.** 2001. Detection of Differential Gene Expression in Biofilm-Forming versus Planktonic Populations of *Staphylococcus aureus* Using Micro-Representational-Difference Analysis, 67(7), 2958–65.
- Beloin C., Roux A., Ghigo J.M.** 2008. *Escherichia coli* biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol*, 322, 249- 289
- Bendinger B., Rijnaarts H.H.M., Altendorf K., Zehnder A.J.** 1993. Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Applied and environmental microbiology*, 59(11), 3973-3977
- Berthélémy S.** 2015. Le port des lentilles de contact. *Actualités Pharmaceutiques*, 54(547), 37–40.
- Bloise L.** 2017. Surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact. *Journal Français d’Ophtalmologie*, 40(4), 329–337.
- Bohnert J., Horbett T., Ratner B., Royce F.** 2000. Adsorption of proteins from artificial tear solutions to contact lens materials. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 29, 362- 373.

Bourcier T., Chameil C. 2004. Kératites bactérienne In: infection cornéennes. Diagnostic et traitement. Paris : Elsevier 39-63.

Bourcier T., Sauer A., Saleh M., Dory A., Prévost G., Labetoulle M. 2013. Kératites bactériennes. Encyclopédie Médico-Chirurgicale – Ophtalmologie, 21-200-D-22, 1-9.

Bourcier T., Thomas F., Borderie V., Chaumeil C., Laroche L. 2003. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Brj ophthalmol*; 87: 834-8.

Bradshaw D.J. 1997. Effect of Conditioning Films on Oral Microbial Biofilm Development. *Biofouling*. 11(3), 217-226.

BRANDA S., VIK A., FRIEDMAN L., KOLTER R. 2005. – Biofilms : The matrix revisited. *Trends in Microbiology*, 13, 20-6.

Cardine S., Bourcier T., Chaumeil C., Zamfir O., Borderie V., Laroche L. 2002. Prise en charge clinique et pronostic des kératites amibiennes. *J Fr Ophtalmol*, 10, 1007-13.

Cavalheiro M., Teixeira M. C. 2018. Candida Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Frontiers in Medicine*, 5.

Characklis W.G., Marshall K.C. 1990. Biofilms. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y.

Cheng Kil., Leung SL., Lloekman 11W., Beekhuis WH., Mulder PG., Geerards AJ et aL. 1999. Incidence of contact lens-associated microbial keratitis and related morbidity. *Lancet*, 354: 181-5.

Christensen GD., Simpson WA., Bisno AL., Beachy EH. 1982. Adherence of biofilm producing strains of Staphylococci epidermidis to smooth surfaces. *Infection and Immunity* 37: 318-326.

Clutterbuck A.L., Woods E.J., Knottenbelt D.C., Clegg P.D., Cochrane C.A., Percival S.L. 2007. Biofilms and their relevance to veterinary medicine, 121, 1–17.

Colin J., Aitali F., Malet F., Touboul D., Feki J. 2006. Kératite infectieuse bilatérale chez une patiente porteuse de lentilles souples cosmétiques. *Journal Français d’Ophtalmologie*, 29(6), 665–667.

- Costerton J.** 1999. Introduction to biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11(3-4), 217–221.
- Costerton J. W.** 1999. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science*, 284(5418), 1318–1322.
- Costerton J. W., Geesey G. G., Cheng K.J.** 1978. How Bacteria Stick. *Scientific American*, 238(1), 86–95.
- Dart J.** 1997. The inside story: why contact lens cases become contaminated. *Contact Lens and Anterior Eye*, 20(4), 113–118.
- Donati E., Montanaro L.** 2002. Detection of slime production by means of an optimized Congo red agar plate test based on a colourimetric scale in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates genotyped for *ica* locus, 23:4233-9.
- Donlan R. M., Costerton J. W.** 2002. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167–193.
- Donlan R.M.** 2002. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Disease journal*, 8 (9), 881-890
- Dosler S., Hacıoglu M., Yilmaz F. N., Oyardi, O.** 2020. Biofilm modelling on the contact lenses and comparison of the in vitro activities of multipurpose lens solutions and antibiotics. *PeerJ*, 8, e9419.
- Dyavaiah M., Phaniendra A., Sudharshan S.** 2015. Microbial Keratitis in Contact Lens Wearers. *JSM Ophthalmology*, 3 (3), 1036, 1-12.
- Feys J.** 2004. Lentilles de contact et risques infectieux, aspects réglementaires. *Journal Français d’Ophtalmologie*, 27(4), 420–423.
- Flemming H., Wingender J.** 2018. Relevance of microbial extracellular polymeric substances 78 (EPSs) – Part I: Structural and ecological aspects, (August), 1–8.
- Flemming H.C., Wuertz S.** 2019. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*.
- Fletcher M.** 1988. Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium- substratum separation distance. *J. Bacteriol*, 170, 2027-2030

- Fontegnes S., Chemia M.** 2000. Le guide des défauts visuels et leur correction, 34-36.
- FOUCAUD A.** 2012. Lentilles cornéennes : choix, contaminations fongiques et amibiennes et conseils à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de moges.
- Freeman D.J., Falkiner FR., Keane CT.** 1989. New method of detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*. 42: 87-84.
- Galié S., García-Gutiérrez C., Miguélez E. M., Villar C. J., Lombó F.** 2018. Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. *Frontiers in Microbiology*, p. 9.
- Ghigo J.** 2003. Are there biofilm-specific physiological pathways beyond a reasonable doubt?, 154:1
- Gjermansen M., Ragas P., Sternberg C et al.** 2005. Characterization of starvation-induced dispersion in *Pseudomonas putida* biofilms. *Environ. Microbiol*, 7, 894- 906
- Gupta P., Sarkar S., Das B., Bhattacharjee S., Tribedi P.** 2015. Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: a review. *Archives of Microbiology*, 198(1), 1–15.
- Hassaine H., Ghellai L., Bellifa S., Gaouar S., Didi W.** 2019. Effect of essential oil on a biofilm of *Staphylococcus aureus* isolated from medical devices - in the university hospital of Tlemcen. *Journal of Infection and Public Health*, 12(1), 122.
- Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M.** 2011. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis [Internet]*, 15:305-11.
- Heilmann S., Krishna S., Kerr B.** 2015. Why do bacteria regulate public goods by quorum sensing?-How the shapes of cost and benefit functions determine the form of optimal regulation. *Frontiers in Microbiology*, 6.
- Heitz A., Bourcier T.** 2013. Les antibiotiques dans le traitement des infections bactériennes de la surface oculaire. *Les Cahiers d'Ophtalmologie*, 37-41.

- Huang H., Peng C., Peng P., Lin Y., Zhang X., Ren H.** 2018. Towards the biofilm characterization and regulation in biological wastewater treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Hume E. B. H., Zhu H., Cole N., Huynh C., Lam S., Willcox M. D. P.** 2007. Efficacy of Contact Lens Multipurpose Solutions Against *Serratia Marcescens*. *Optometry and Vision Science*, 84(4), 316–320.
- Jain A, Agarwal A.** 2009. Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *Journal of Microbiology and Methods*. 76: 88–92.
- Juárez-Verdayes MA, Reyes-López MA, Cancino-Díaz ME.** 2006. Isolation, vancomycin resistance and biofilm production of *Staphylococcus epidermidis* from patients with conjunctivitis, corneal ulcers, and endophthalmitis. *Rev Latinoam Microbiol*, 48:238-46.
- Kackar S., Suman E., Kotian M.S.** 2017. Bacterial and fungal biofilm formation on contact lenses and their susceptibility to lens care solutions. *Indian journal of medical microbiology*, 35(1), 80–84
- Khan S.A., Lee C.S.** 2020. Recent Progress and Strategies to Develop Antimicrobial Contact Lenses and Lens Cases for Different Types of Microbial Keratitis. *Acta Biomaterialia*.
- Kramer A., Rudolph P., Werner HP.** 2002. Antimicrobial efficacy of contact lens care products and critical comment on ISO/FDIS 14729, *optical*, 33: 343-36 1.
- Kumar A., Alam A., Rani M., Ehtesham N. Z., Hasnain S. E.** 2017. Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. *International Journal of Medical Microbiology*, 307(8), 481– 489.
- Latkovic S, Niisson SE.** 1997. The effect of high and low DKIL soft contact lenses on the glycocalyx layer of the corneal epithelium and on the membrane-associated receptors for lectins. *CLAOJ*; 23:185-7.
- Malek F.** 2020. Interactions microbiennes. KONOUZ. Algerie.

- Malet F., Peyre C.** 2004. Correction des amétropies par lentilles de contact. EMC - Ophtalmologie, 1(1), 1–24.
- Markova J.A., Anganova E.V., Turskaya A.L., Bybin V.A., Savilov E.D.** 2018. Regulation of Escherichia coli Biofilm Formation (Review). Applied Biochemistry and Microbiology, 54(1), 1–11.
- Martinez L.R., Casadevall A.** 2007. Cryptococcus neoformans biofilm formation depends on surface support and carbone source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and UV light. Appl. Environ. Microbiol, 4592- 4601.
- Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A.** 2006. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: An evaluation of three different screening methods. Indian J Med Microbiol, 24:25-9
- Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay DJ., Fatma T., Rattan A.** 2006. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. Indian Journal of Medical Microbiology. 24: 25-29
- Mittelman M.W.** 1996. Adhesion to biomaterials. Bacterial adhesion. Molecular and ecological diversity, 89- 127.
- Nasr SA., AbuShady H M., Hussein HS.** 2012. Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. The Egyptian Journal of Medical Human Genetics 1110-8630.
- O’Callaghan R.** 2018. The Pathogenesis of Staphylococcus aureus Eye Infections. Pathogens, 7(1), 9.
- Ong HS., Corbett MC.** 2015. Corneal infections in the 21st century. Postgraduate Medical Journal 91:565–571
- Pagot R.** 2009. Types de lentilles – Types de port. In Les lentilles de contact, Mallet F., George M.-N., Vayr, F. Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux. 191-199.
- Paolozzi L., Liébart J.C.** 2015. Microbiologie: biologie des procaryotes et de leurs virus. Dunod. Paris, 512.

Parkins MD., Ceri H., Storey DG. 2001. *Pseudomonas aeruginosa* GacA, a factorin multihost virulence, is also essential for biofilm formation. *Mol Microbiol*, 40:1215-26.

Parment P. A. 2009. The role of *Serratia marcescens* in soft contact lens associated ocular infections. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 75(1), 67–71.

phillips P.I., Wolcott RD., Fletcher J., Schultz G.S. 2010. Biofilms made easy. *Wounds international*, 1(3).

Pinna A., Usai D., Sechi L. A., Mollicotti P., Zanetti S., Carta A. 2008. Detection of Virulence Factors in *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated From Contact Lens-Associated Corneal Ulcers. *Cornea*, 27(3), 320–326.

Prigent-combaret C., Vidal O., Dorel C., Lejeune P. 1999. Abiotic Surface Sensing and Biofilm-Dependent Regulation of Gene Expression in *Escherichia coli*, 181(19), 5993–6002.

Radford C.F., Minassian D.C., Dart J.K. 2002. *Acanthamoeba* keratitis in England and Wales : incidence, outcome, and risk factors. *Br J Ophthalmol*, 86, 536- 42.

Raksha L., Gangashettappa N., Shantala G. B., Nandan B. R., Sinha D. 2020. Study of biofilm formation in bacterial isolates from contact lens wearers. *Indian journal of ophthalmology*, 68(1), 23–28

Robertson DM. 2013. The effects of silicone hydrogel lens wear on the corneal epithelium and risk for microbial keratitis. *Eye Contact Lens* 39:67–72.

Romain B., Lise F., Murielle N., Catherine D. 2012. Biofilms, quand les microbes s'organisent. Quae. France.

Ryder C, Byrd M, Wozniak DJ. 2007. Role of polysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Curr Opin Microbiol*, 10:644-8.

Sailer F.C., Meberg B.M., Young K.D. 2003. Beta-lactam induction of colanic acid gene expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol*, 226, 245- 249.

Sauer K., Cullen M.C., Rickard A.H., Zeef L.A.H., Davies D.G., Gilbert P. 2004. Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm. *Journal of Bacteriology*, 7312–7326.

- Schalk O.** 2017. La contactologie à l'officine : complications liées au port des lentilles de contact et modalités d'entretien. Sciences pharmaceutiques. hal-01932339
- Spormann A. M.** 2008. Physiology of Microbes in Biofilms. *Bacterial Biofilms*, 17–36.
- Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B.S., Vabic-Vlahovic M.** 2000. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*. 40: 175–179.
- Szczotka-Flynn L.B., Pearlman E., Ghannoum M.** 2010. Microbial contamination of contact lenses, lens care solutions and their accessories: a literature review. *Eye Contact Lens*, 36, 116—29.
- Taburet Y, Colin J.** 1986. Etude Clinique de 30 observations de complication en contactologie- contactologia, 8F: 17 1-176.
- Thierry J.** 2008. Biofilms bactériens. *Techniques de l'Ingénieur*, 3.
- Wolfe A.J., Chang D., Walker J.D., Seitz-partridge J.E., Vidaurri M.D., Lange C.F., et al.** 2003. Evidence that acetyl phosphate functions as a global signal during biofilm development, 48, 977–88.
- Wu Y. T., Tam C., Zhu L. S., Evans D. J., Fleiszig S. M. J.** 2017. Human Tear Fluid Reduces Culturability of Contact Lens-Associated *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms but Induces Expression of the Virulence-Associated Type III Secretion System. *The Ocular Surface*, 15(1), 88–96.
- Wu Y. T., Zhu H., Willcox M., Stapleton F.** 2010. Removal of Biofilm from Contact Lens Storage Cases. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51(12).
- Wu Y. T.-Y., Willcox M., Zhu H., Stapleton F.** 2015. Contact lens hygiene compliance and lens case contamination: A review. *Contact Lens and Anterior Eye*, 38(5), 307–316.
- Wu Y., Carnt N., Stapleton F.** 2010. Contact lens user profile, attitudes and level of compliance to lens care. *Contact Lens and Anterior Eye*, 33(4), 183–188.
- Yin W., Wang Y., Liu L., He J.** 2019. Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 3423.

Zegans M. E., Becker H. I., Budzik J., O'Toole G. 2002. The Role of Bacterial Biofilms in Ocular Infections. *DNA and Cell Biology*, 21(5-6), 415–420.

Résumé

Un biofilm est une communauté de microorganismes fixée à une surface et maintenue par une matrice adhésive et protectrice. La formation des biofilms à la surface des lentilles de contact peut être un facteur de risque des infections oculaires. Les trois articles traités visent à détecter la formation du biofilm sur les lentilles de contact par la méthode de tube, la méthode RCA, ou par création des modèles de biofilm in vitro sous différentes conditions, et Les gènes liés à la formation de biofilm ont été détectés par PCR. Les résultats des trois articles étudiés confirment que les souches formatrices des biofilm sont des germes qui représentent une cause importante des infections oculaires sévères dont : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Diphtheroids*, *Bacillus spp*, *Micrococci*, CONS, *Klebsiella pneumonia* et autres.

Mots clé : Biofilm- lentilles de contact- Modélisation du biofilm

Abstract

A biofilm is a community of microorganisms attached to a surface and maintained by an adhesive and protective matrix. Biofilm formation on the surface of contact lenses can be a risk factor for ocular infections. The three articles treated aimed to detect biofilm formation on contact lenses by the tube method, the RCA method, or by creating biofilm models in vitro under different conditions, and the genes related to biofilm formation were detected by PCR. The results of the three articles studied confirm that the biofilm-forming strains are germs that represent an important cause of severe ocular infections including: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Diphtheroids*, *Bacillus spp*, *Micrococci*, CONS, *Klebsiella pneumonia* and others.

Key words: Biofilm- contact lenses- Biofilm modeling

ملخص

الشريط الحيوي هو عبارة عن مجمع من الكائنات الحية الدقيقة المرتبطة بسطح ويتم الحفاظ عليها بواسطة مادة لاصقة ومصنوفة واقية. يمكن أن يكون تكوين الأشربة الحيوية على سطح العدسات اللاصقة عامل خطر للإصابة بالتهابات العين. تهدف المقالات الثلاثة التي تمت تغطيتها إلى اكتشاف تكوين الأشربة الحيوية على العدسات اللاصقة عن طريق أو عن طريق إنشاء نماذج الأشربة الحيوية في المختبر في ظل ظروف مختلفة، وقد تم RCA طريقة الأنبوب أو طريقة اكتشاف الجينات المرتبطة بتكوين الأشربة الحيوية بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل. تؤكد نتائج المقالات الثلاثة التي تمت دراستها أن السلالات المكونة للشريط الحيوي هي جراثيم تمثل سبباً مهماً لعدوى العين الشديدة بما في ذلك

Staphylococcus aureus، *Pseudomonas aeruginosa*، *Candida albicans*، *Diphtheroids* ، *Bacillus spp* ، *Micrococci* ، CONS ، *Klebsiella pneumonia* وغيرها.

الكلمات المفتاحية: الشريط الحيوي - عدسات لاصقة - نمذجة بيوفيلم