



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

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de  
l'Univers



**Département de biologie**

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à  
l'environnement  
« LAMAABE »

**Mémoire du master**

**Présenté par**

*M<sup>lle</sup> Berrada Asma*  
*M<sup>lle</sup> Boudjema Merwa Latefa*

*En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie*

**Filière** : Sciences biologiques

**Option** : Microbiologie Fondamentale

**Intitulé du thème**

**Inhibition de la formation du biofilm sur les  
lentilles de contact**

Soutenu le **29/06/2022**. Devant le jury composé de :

<b>Présidente</b>	BENDIMERAD Nahida	Maître de conférences B	Université de Tlemcen
<b>Examinatrice</b>	CHERIF Antar Asma	Maître de conférences B	Université de Tlemcen
<b>Promotrice</b>	BELLIFA Samia	Maître de conférences A	Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2021/2022**

## **Remerciements**

*Avant tous nous remercions Dieu, Allah tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous sommes fiers d'exprimer nos vives remerciements et notre gratitude à nos parents qui, de par leur soutien, leur présence, leur prière, nous avons atteint ce niveau, que dieu vous protège et vous garde, vous accorde santé, bonheur et longue vie.*

*Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement, et exprimer nos sincères et hautes considérations et nos profonds respects à Madame Bellifa Samia pour son encadrement, son orientation, ses conseils et ses efforts très louables dans le suivi et la réalisation de ce travail.*

*Madame Bendimerad Nahida Maître de Conférences B, pour l'honneur qu'elle nous fait pour présider le jury de ce mémoire. Veuillez trouver ici nos sincères remerciements.*

*Melle Cherif Antar Asma Maître de Conférences B, Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Un grand merci pour tous les professeurs du département de biologie particulièrement, les microbiologistes, merci de nous avoir orientés et informés durant notre parcours universitaire.*

## DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail à*

*Mon cher papa, Ton rêve est enfin réalisé. Tes prières, tes conseils nuit et jour, ta rigueur dans notre éducation, ton amour du travail bien fait, ton honnêteté, ta discrétion, et tous les sacrifices consentis pour notre éducation m'ont guidé chaque jour de ma vie, Ton souci pour ma soutenance depuis tant d'années est devenu réalité. Merci pour ce que tu as fait et tous ce que tu feras encore pour moi. Que Dieu t'accorde santé et longévité et qu'il m'aide à ce que je puisse accomplir pleinement mes devoirs envers toi. Merci de m'avoir donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance Merci d'avoir toujours été là pour moi.*

*Ma chère maman, Ce travail est le fruit de tes efforts, de ton amour, de tes prières et de tes encouragements. Tu as consacré le meilleur de toi-même à notre éducation et à notre réussite. Puisse le Grand DIEU me permettre de te le rendre au centuple. Tes peines, tes sacrifices n'ont pas de mesure à mes yeux. Les mots ne me suffisent pour exprimer à sa juste valeur ce que je ressens pour toi. Aujourd'hui j'aimerais t'offrir la récompense de tes efforts en te disant toute la fierté et le bonheur que j'ai de t'avoir comme maman chérie... Que DIEU t'accorde longue vie auprès de nous.*

*A mon cher Frères Abderezzak, et A mes très chères Sœurs Zahra, Meriem, Narimene. Que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A la mémoire de ma chère grand-mère paternelle Zohra, et mon grand-père paternelle Abderezzak, Que dieu le tout puissant vous accueille dans son éternel paradis et vous accorde sa clémence et sa miséricorde.*

*À ma grand-mère maternelle Yamenna, et mon grand-père maternel Mohamed, je vous souhaite une bonne santé.*

*Sans oublier mon binôme Merwa pour sa compréhension tout au long de ce projet.*

*À mes cher ami(e)s, Ismahane, Meriem, pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*A Toute ma famille.*

*A tous mes collègues.*

*Asma*

*Ce modeste travail est dédié spécialement*

*A ma chère maman Rachida, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.*

*A la mémoire de mon père Nouredin, ce travail est dédié à mon père, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.*

*A mes frères, Mohamed et Nour el Islam Omar*

*A ma sœur, Fadia et ses enfants Kais et Yanis*

*A ma sœur, Nesrine*

*Pour son soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études*

*A ma chère binôme Berrada Asma, pour sa entente et sa sympathie*

*A mes chères amies Asma et Zakia, pour leur aides et supports dans les moments difficiles*

*A toute ma famille*

*A tous mes ami(e)s*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

***Merwa Latefa***

## Résumé

Dans le domaine des soins oculaires, les lentilles de contact (CL) ont un grand impact sur l'amélioration de la vision, néanmoins, la formation de biofilm sur ces derniers peut être un facteur de risques causant des infections oculaires, le but de l'analyse de ces articles est d'évaluer et de comparer l'efficacité des solutions CL-care avec certains composés naturels dans l'élimination et l'inhibition du biofilm bactérien formé sur le CL souple. Des isolats cliniques ont été récupérés chez des patients atteints de conjonctivite pour l'identification microbiologique, aussi la quantification du biofilm a été effectuée à l'aide d'un test sur plaque de microtitration. Trois solutions CL-care polyvalentes ont été examinées pour leur capacité à éliminer et à inhiber le biofilm. Les résultats d'article étudiés montre que les principaux isolats bactériens provenant d'infections oculaires étaient *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus spp.* Les solutions CL-care testées ont montré une capacité modérée à éliminer le biofilm préformé, alors que deux produits naturels, les extraits de *Calendula officinalis* et de *Buddleja salviifolia* ont une excellente efficacité dans l'inhibition du biofilm et également dans l'élimination du biofilm préformé.

## Mots clés

Biofilm, Lentilles de contact, *Calendula officinalis*, *Buddleja salviifolia*, les solutions CL-care.

## **Abstract**

In the field of eye care, contact lenses (CL) have a great impact on improving vision, however, the formation of biofilm on them can be a risk factor causing eye infections, the goal of the analysis of these articles is to evaluate and compare the effectiveness of CL-care solutions with certain natural compounds in the elimination and inhibition of the bacterial biofilm formed on the soft CL. Clinical isolates were recovered from patients with conjunctivitis for microbiological identification, also biofilm quantification was performed using a microtiter plate assay. Three versatile CL-care solutions were examined for their ability to eliminate and inhibit biofilm. The article results studied show that the main bacterial isolates from eye infections were *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus spp.* The CL-care solutions tested showed a moderate ability to eliminate preformed biofilm, while two natural products, *Calendula officinalis* and *Buddleja salviifolia* extracts have excellent efficacy in inhibiting biofilm and also in eliminating biofilm preformed.

## **Keywords**

Biofilm, Contact lenses, *Calendula officinalis*, *Buddleja salviifolia*, CL-care solutions.

## ملخص

في مجال العناية بالعيون ، العدسات اللاصقة لها تأثير كبير على تحسين الرؤية ، ومع ذلك ، فإن تكوين البيوفيلم عليها يمكن أن يكون عامل خطر يسبب التهابات العين ، والهدف من تحليل المقال هو تقييم ومقارنة فعالية محاليل CL-care مع بعض المركبات الطبيعية في القضاء على البيوفيلم البكتيري وتثبيطه على الطبقة اللينة CL. تم استعادة العزلات السريرية من المرضى الذين يعانون من التهاب الملتحمة لتحديد الميكروبيولوجي ، كما تم إجراء القياس الكمي للغشاء الحيوي باستخدام فحص لوحة ميكروتيتر. تم فحص ثلاثة محاليل CL-care متعددة الاستخدامات لمعرفة قدرتها على القضاء على الأغشية الحيوية وتثبيطها ، وأظهرت نتائج الدراسة أن العزلات البكتيرية الرئيسية من عدوى العين هي *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus spp*. أظهرت حلول CL-care التي تم اختبارها قدرة معتدلة على التخلص من الأغشية الحيوية سابقة التشكيل، في حين أن منتجين طبيعيين، وهما مستخلصات *Calendula officinalis* و *Buddleja salviifolia* لهما فعالية ممتازة في تثبيط الأغشية الحيوية وكذلك في القضاء على الغشاء الحيوي المُشكل مسبقًا.

## الكلمات المفتاحية

Biofilm ، العدسات اللاصقة ، *Calendula officinalis* ، *Buddleja salviifolia* ، حلول CL-care.



## Table des matières

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Introduction .....2

## Première partie : Synthèse bibliographique

### Chapitre 1 : les lentilles de contacts

1. Historique.....	5
2. Définition .....	5
3. Les différents types de lentilles de contact .....	5
3.1. Les lentilles de contact rigides .....	6
3.2. Les lentilles souples .....	6
3.3. Les lentilles thérapeutiques : (rigides/souples) .....	6
3.4. Les lentilles colorées (cosmétiques).....	6
3.5. Les lentilles de contact intelligentes .....	6
4. Les différents environnements des lentilles .....	7
4.1. Le film lacrymal .....	7
4.2. Microbiologie de la surface oculaire .....	8
5. Les risques liés aux porteurs des lentilles de contact .....	9
5.1. Les kératites infectieuses .....	9
5.1.1.Kératite bactérienne .....	9
5.1.2.Kératite fongique .....	10
5.1.3.Kératite virale.....	11
5.1.4. Kératite amibienne .....	11

### Chapitre 2 : Le biofilm bactérien

1.Historique .....	14
2.Définition .....	15
3.Organisation du biofilm .....	15
3.1. Constituants d'un biofilm .....	15
3.2. Cycle de vie d'un biofilm.....	16
3.2.1. Pré-conditionnement de la surface.....	17
3.2.2. Adhésion réversible.....	17
3.2.3. Adhésion irréversible.....	18

3.2.4. Formation de microcolonies.....	18
3.2.5. Maturation du biofilm.....	18
3.2.6. Dispersion du biofilm.....	18
4. Les facteurs influençant la formation du biofilm.....	19
4.1. La surface.....	19
4.2. Les caractéristiques du milieu .....	19
4.3. Propriété des cellules.....	19
5. Formation du biofilm sur les lentilles de contact.....	20

### **Chapitre 3 : l'entretien des lentilles de contact**

1. Historique de l'entretien des lentilles de contact .....	22
2. Les solutions d'entretien.....	22
3. Les types des solutions d'entretiens .....	23
3.1. Les solutions oxydantes.....	23
3.2. Les solutions multifonctions (SMF) .....	23
3.3. Les solutions uni-fonction.....	23
4. Les fonctions des solutions d'entretien .....	23
4.1. Le nettoyage .....	23
4.2. Le rinçage .....	24
4.3. La décontamination .....	24
4.4. La lubrification .....	25
4.5. La déprotéinisation .....	25
4.6. La conservation .....	25
5. Les complications des produits d'entretien des lentilles de contact .....	26

### **Matériel et méthodes**

1. Isolement et identification bactérienne .....	28
2. Composés criblés.....	29
2.1. L'utilisation des produits chimiquement synthésés pour l'élimination du biofilm sur les lentilles de contact .....	29
2.2. L'utilisation des produits naturels pour l'élimination de biofilm sur les lentilles de contact .....	29
3. Détection des souches formatrices du biofilm .....	30
4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés sélectionnés.....	31

4.1. Méthode de microdilution .....	31
5.Efficacité des composés criblés sur l'inhibition de la formation de biofilm .....	31
6.Efficacité des composés criblés sur l'élimination du biofilm préformé .....	32
7.Efficacité des composés criblés sur l'inhibition et l'éradication de la formation de biofilm.....	33

## **Résultats et discussion**

1. Identification des isolats bactériens .....	35
2. Evaluation de la formation de biofilm par méthode spectrophotométrique .....	36
3. Efficacité des solutions désinfectantes et composés naturels sur l'installation du biofilm .....	37
4. Efficacité des solutions désinfectantes et des composés naturels sur l'élimination du biofilm préformé... .....	40
5. Efficacité des extraits de <i>Calendula</i> et de <i>Buddleja</i> sur l'inhibition de l'installation du biofilm préformé sur CL .....	43
Conclusion .....	47
Références bibliographiques.....	49
Webographie.....	64
Annexes.....	66

## Liste des abréviations

**LC** : lentilles de contact.

**FK** : la fibrose kystique

**EPS** : Exopolysaccharide.

**QS** : Quorum Sensing.

**PH** : Potentiel hydrogène.

**Ca<sup>2+</sup>** : l'ion calcium

**Fe<sup>3+</sup>** : l'ion fer

**Na<sup>2+</sup>** : l'ion sodium

**MPS** : solutions de désinfection polyvalentes.

**PHMB** : Polymère d'HexaMéthylèneBiguanide.

**PQ-1** : le polyquaternium-1.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Le peroxyde d'hydrogènes.

**LRPG** : les lentilles rigides perméables aux gaz.

**TSB** : bouillon trypticase soja.

**TSA** : La gélose tryptone soja.

**PBS** : Phosphate buffered saline

**CV** : Cristal Violet.

**DO** : Densité optique.

**UV** : ultraviolet.

**CLSI** : Clinical and laboratory standards Institute.

**CL** : lentille de contact.

**PMMA** : polyméthacrylate de méthyle.

**LRPG** : lentilles rigides perméables aux gaz.

**HSV** : virus Herpès simplex de type.

**H<sub>2</sub>O** : eau.

**Glu** : glucose.

**UV** : ultraviolet.

**NO** : oxyde nitrique.

**MHB** : Bouillon Muller-Hinton.

**°C** : Degré Celsius.

**QS** : Quirion sensing.

**CBD** : l'extrait d'huile de cannabinoles.

**BGE** : l'extrait fermenté d'*Allium sativum*.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Les différentes couches du film lacrymal : lipidique, aqueuse et muqueuse.....	8
<b>Figure 2.</b> Kératite bactérienne, Kératite associée aux lentilles de contact ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ).....	10
<b>Figure 3.</b> Différentes maladies oculaires résultant de la contamination des lentilles de contact et étuis à lentilles.....	12
<b>Figure 4.</b> Représentation schématique des différences étapes de formation d'un biofilm.....	16
<b>Figure 5.</b> Allergie oculaire.....	26
<b>Figure 6.</b> Pourcentage d'inhibition du biofilm par des solutions CL-care sélectionnées et des composés naturels.....	38
<b>Figure 7.</b> Pourcentage d'élimination du biofilm par des solutions de soin filtrées et des composés naturels.....	41

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b> Groupe de champignons responsables de kératomycoses.....	11
<b>Tableau 2 :</b> Compositions de la matrice du biofilm.....	16
<b>Tableau 3.</b> Distribution des échantillons et type d'isolats bactériens.....	35
<b>Tableau 4</b> Répartition des isolats formant un biofilm.....	36
<b>Tableau 5.</b> Efficacité des solutions désinfectantes sur l'inhibition du biofilm. ....	38
<b>Tableau 6.</b> Efficacité des composés naturels sur l'inhibition du biofilm. ....	39
<b>Tableau 7.</b> Efficacité des solutions désinfectantes sur l'élimination du biofilm préformé. ....	41
<b>Tableau 8.</b> Efficacité des composés naturels sur l'élimination du biofilm préformé. ....	42
<b>Tableau 9.</b> Efficacité des extraits de Calendula et de Buddleja sur l'inhibition de la formation de biofilm sur CL.....	44
<b>Tableau 10.</b> Efficacité des extraits de Calendula et de Buddleja sur l'élimination du biofilm préformé sur CL.....	44

# Introduction



Les maladies liées à l'œil sont fréquemment observées en pratique clinique. Les lentilles de contact souples ont un grand impact sur l'amélioration de la vision, mais leur utilisation peut souvent être associée à un risque d'infections qui peuvent évoluer vers des pathologies menaçant la vue (**Steele et Szczotka-Flynn, 2017**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) on estime 37 millions, le nombre de personnes dans le monde qui ont perdu la vue à la suite d'une infection oculaire et 227 millions le nombre de personnes souffrant d'une déficience visuelle grave (**Kevin et Allen, 2003**).

Les agents pathogènes oculaires responsable du développement de l'infection sur les lentilles de contact sont : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et d'autres microorganismes (**Correa et al., 2018**).

L'utilisation des lentilles peut augmenter le risque de formation d'un film biologique et par conséquent la formation du biofilm sur ces dispositifs médicaux. La nécessité de prévenir, réduire ou éliminer le biofilm microbien devient une contrainte importante.

Les stratégies de lutes cote les biofilm, telles que les revêtements avec des substances anti-biofilm et le développement de thérapies antibiofilm, sont des voies prometteuses pour réduire le risque d'infection oculaire associée au biofilm (**Bispo et al., 2015**). Les solutions de soins des lentilles de contact doivent être capables d'inhiber la croissance des agents pathogènes pour protéger les utilisateurs des infections (**Laxmi et al., 2018+**

C'est dans ce sens et vue les circonstances actuelle Covid 19 que notre étude s'oriente vers la réalisation d'une synthèse des article portant sur l'évaluation de l'activité du miel, l'huile de jasmin, l'extrait de pétales de *Calendula Officinalis* et l'extrait de feuilles de *Buddleja salviifolia* sur l'inhibition et l'élimination du biofilm bactérien sur les lentilles de contact souples par rapport à trois solutions de soins polyvalentes trouvées dans le marché égyptien ,Solutions de soins Renu, Opti-free et Perfect (**El-Ganiny et al., 2017**).

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre 1 : les lentilles de contacts**

## 1. Historique

Les lentilles de contact ont été inventées en 1888 par l'ophtalmologiste zurichois Eugen Fick. Il a exploité les propriétés optiques et mécaniques des grandes coquilles de verre, qu'il appelait "lentilles de contact", compensait efficacement la faiblesse de sa vision. Depuis lors, ces étuis ont traversé de nombreuses étapes de développement pour atteindre des performances et un potentiel d'application assez importants (**Bärtschi, 2009**).

En 1949, les premières lentilles cornéennes en polyméthacrylate de méthyle (PMMA) ont été introduites, elles pouvaient être portées jusqu'à 16 heures par jour et ont été largement distribuées dans les années 1960. Au cours des années 1980 et 1990, de nombreuses études ont abouti à une amélioration de la perméabilité à l'oxygène de nos lentilles rigides perméables aux gaz d'aujourd'hui, en particulier l'utilisation de substrats à haute teneur en oxygène et/ou en silicone hydrogel pour rendre les lentilles dures plus confortables (**Joseph et al., 2006**).

En effet, en 1999, les premières lentilles en silicone hydrogel, comme le Balafilcon A, sont apparues, offrant une meilleure perméabilité à l'oxygène, augmentant la Confort et temps d'usure, mais entraîne toujours une mauvaise mouillabilité. Pour résoudre ce problème par ajout de molécules, la deuxième génération de lentilles en silicone hydrogel en Galyfilcon A a vu le jour, qui a finalement cédé la place en 2006 à la troisième génération de lentilles en silicone hydrogel en Comfilcon A (**Collonge, 2010**).

## 2. Définition

Une lentille de contact est un dispositif biomédical optique transparent maintenu en contact prolongé avec le tissu vivant de l'œil. Les lentilles de contact représentent une aide appréciable pour la vision de l'œil (**Roth, 2005**).

Elles se composent d'une face postérieure en contact avec le film lacrymal précornéen et d'une face antérieure ou optique qui détermine la puissance de la lentille (**Chaine, 2000**).

## 3. Les différents types de lentilles de contact

Il existe plusieurs types de lentilles de contact qui s'adaptent à des besoins différents. Elles conviennent à tous les âges y compris aux nouveaux nés (**Baratschi, 2009**).

### 3.1. Les lentilles de contact rigides

Lentille rigide appelle aussi « lentille dure », « semi-rigide », « semi-flexibles » ou « lentilles rigides perméables à l'oxygène » (**Barthélemy, 2016**).

Les infections et les allergies sont beaucoup moins fréquents en lentilles rigides qu'en lentilles souples (**Foucaud, 2012**). La durée de vie des lentilles rigides pourrait atteindre de 1 à 2ans parfois moins dans certaines situations particulières.

Les lentilles rigides sont moins confortables, ce qui nécessite un temp d'adaptation plus long (**Baratschi, 2009**).

### 3.2. Les lentilles souples

Sont en plastique souples hydrophile contenant 38 à 72% d'eau, ce type de lentilles est de moins en moins utilisé au profit des lentilles souples en silicone hydrogel. Sont des lentilles à renouvellement fréquent en port quotidien ou journalier dont le renouvellement est programmé, la fréquence allant de un jour, deux semaines à 12 mois (**Foucaud, 2012**). Les lentilles souples hydrophile ont l'avantage d'être très vite confortables nécessitent un temp d'adaptation très court (**Earith, 1996**). Les lentilles souples sont déconseillées pour les personnes qui ont une maladie auto immune, le diabète, pour éviter les infections (**Fontegne et al., 2000**).

### 3.3. Les lentilles thérapeutiques : (rigides/souples)

Les lentilles thérapeutiques n'ont pas pour but de corriger la vue, mais de guérir un problème physiologique où pathologiques oculaire, peuvent également utilisées comme pansements oculaire ou pour permettre une distribution médicamenteuse (**Lang, 2002**).

### 3.4. Les lentilles colorées (cosmétiques)

Sont apprécié, utilisées pour modifier la couleur esthétique de l'œil et changer l'apparence de yeux (**Malet et al., 2004**). Au cours des dernières années, l'utilisation des lentilles de contact colorées cosmétique s'est largement développée, el est tout à fait évident qu'elles exposent comme toutes lentille, à la survenue de complications infectieuses donc, les lentilles de contact colorées nécessitent le même entretien que les lentilles correctrice (**Coline et al., 2006**).

### 3.5. Les lentilles de contact intelligentes

Aujourd'hui, environ 253 millions de personnes sont touchées par une forme de déficience visuelle, et les cinq syndromes les plus courants sont : la cataracte, la rétinopathie diabétique, la

dégénérescence maculaire, le glaucome et le décollement de la rétine. Les lentilles de contact intelligentes pourraient traiter ces conditions mieux que n'importe quelle lentille conventionnelle.

Ne nécessitent aucune intervention chirurgicale et peuvent être posées et enlevées par l'utilisateur. Elles reposent sur le globe oculaire et embarquent des versions miniatures de technologie existant (Batterie, processeur, radio, Antenne, Bluetooth,...).

Les lentilles intelligentes avancées nécessitent une intervention chirurgicale pour remplacer les lentilles par des lentilles électroniques. Le fluide est injecté dans l'œil, qui fusionne avec la lentille à mesure qu'elle se solidifie. Même fonction, mais les lentilles de contact sont plus solides et surtout permanentes. Les lentilles intraoculaires améliorent la vision de manière flexible en ajustant la lumière transmise à la rétine pour se concentrer. Ils ont l'air aussi confortables que les verres traditionnels. Les lentilles intelligentes visent à récolte l'énergie (**anonyme, 2019**).

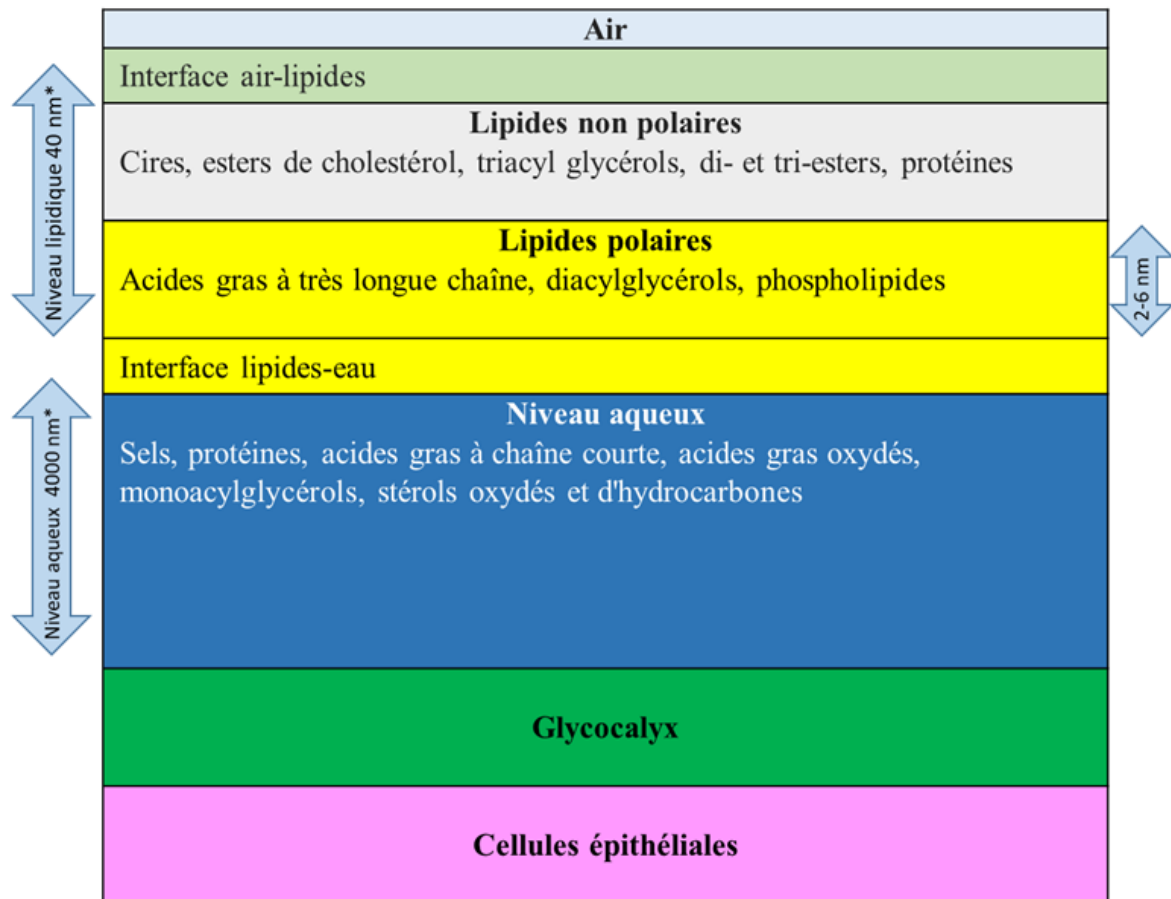
#### **4. Les différents environnements des lentilles**

##### **4.1. Le film lacrymal**

Se dévise en trois couches : la couche lipidique, la couche aqueuses et la couche muqueuse, qui sont étroitement intriquées les unes avec les autres (**Creuzot, 2006**).

Les lentilles baignent dans le film lacrymal, qui est constitué d'un gel complexe contenant des protéines, des mucines, des lipides, des glucides, des sels et de l'eau (**Figure 1**). Ses composants, principalement des protéines et des lipides, ont tendance à se déposer sur la surface de la lentille, formant des dépôts dont la quantité et la composition dépendent du matériau de la lentille (**Bloise, 2016**).

La présence de la lentille entraîne des modifications biophysiques et biochimiques du film lacrymal. Sur le plan biophysique, les principales modifications sont la diminution de la stabilité, de la couche lipidique et du volume du film lacrymal associées à une répartition des larmes en pré- et post-lentilles. Sur le plan biochimique, les principales modifications sont une diminution des phospholipides et une dégradation des mucines. A contrario, la surface des lentilles est modifiée par la présence de dépôts provenant essentiellement du film lacrymal (**Bloise, 2016**).



**Figure 1.** Les différentes couches du film lacrymal : lipidique, aqueuse et muqueuse. (Creuzot-Garcher, 2015).

#### 4.2. Microbiologie de la surface oculaire

La surface oculaire est un tissu muqueux qui est fréquemment exposé aux micro-organismes car il se situe entre l'environnement et le système immunitaire de l'hôte (Leger *et al.*, 2017). Cependant, il existe une flore bactérienne utile qui existe sur la surface conjonctivale cornéenne mais ne pénètre pas dans les cellules épithéliales et a pour effet d'empêcher l'implantation et la colonisation de l'œil par des micro-organismes nuisibles. Ce microbiote oculaire est si diversifié que l'on peut trouver des cocci à Gram positif comme *Staphylococcus* et *Streptococcus*, ainsi que des bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas* et *Escherichia coli*... (Lily *et al.*, 2004). on peut aussi trouver des champignons comme *Asparagillus* et *Penicillium*. Cependant, la diversité de ces bactéries dépend de l'âge, du sexe, la Race et de la constitution génétique (Staphit *et al.*, 2014), sans parler de l'exposition et de la sensibilité environnementales (Copeet *et al.*, 2014). A l'aide de ces facteurs, ces micro-organismes peuvent être transformés en bactéries pathogènes telles que les

staphylocoques à coagulase négative, qui sont le plus souvent isolés de la conjonctive et du bord de la paupière [(Upadhyay *et al.*, 2001);(Ratnumnoiet *et al.*, 2017)].

## 5. Les risques liés aux portes des lentilles de contact

Les lentilles de contact sont utilisées pour plus de 230 millions de personnes dans le monde pour résoudre les problèmes oculaires fonctionnels (Dosler *et al.*, 2020). Le porte de lentilles de contact est un facteur de risque connu pour le développement de la kératite microbienne et d'autres affections oculaires inflammatoires. Les complications infectieuses apparaissent en cas de mauvaise manipulation ou de mauvaise désinfection comme des conjonctivites, des abcès de cornée, hyposécrétion lacrymale (Berthélémy, 2015).

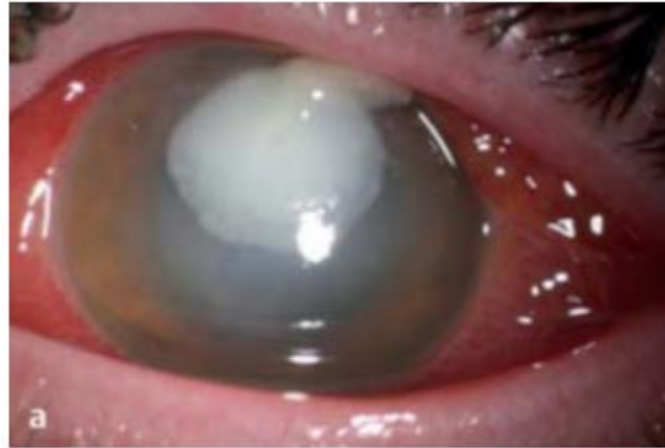
### 5.1. Les kératites infectieuses

La kératite est une inflammation de la cornée, la fine membrane transparente qui recouvre le globe oculaire. La maladie peut être bactérienne, virale ou fongique, amibiennes (Figure 3). Les porteurs de lentilles souples sont plus susceptibles de développer une kératite lors de leur manipulation. Ce sont généralement les couches superficielles de la cornée qui sont touchées, ce que l'on appelle la kératite superficielle. Bien que très douloureuse, cette condition guérit rapidement sans séquelles si elle est traitée rapidement (Anonyme, 2020).

#### 5.1.1. Kératite bactérienne

La kératite bactérienne est une infection de la cornée la plus fréquente des kératites infectieuses due à une ou plusieurs bactéries aérobies et anaérobies (Migraine, 2015). Cependant, les revues de littérature s'accordent à dire que quatre groupes prédominants sont impliqués dans 90% des infections bactériennes, les staphylocoques, les streptocoques, les pseudomonas et les entérobactéries (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Moraxella*, *Proteus*). Parmi celles-ci les principaux germes responsables sont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Moraxella*. La kératite bactérienne est considérée comme une maladie très grave et sévère qui touche la cornée et qui provoque généralement un amoindrissement durable de la vue (Burcier *et al.*, 2003). peut-être associée à d'autres micro-organismes tels que l'amibe, les champignons. Dans de rares cas 2 à 19% des co-infections bactériennes sont retrouvées (Migraine, 2015).





**Figure 2.** Kératite bactérienne associée aux lentilles de contact (*Pseudomonas aeruginosa*)  
(Rachwalik et Pleyer, 2015).

### 5.1.2. Kératite fongique

Appelée aussi kératomycoses (mycose cornéenne) est une infection grave de la cornée, généralement causée par des agents pathogènes opportunistes sur la cornée lésée. Elles sont principalement dues aux champignons filamenteux (organisme multicellulaires), aux levures (organismes unicellulaires), et surtout aux champignons dimorphes à composant mixte : levure et filaments (Bourcier *et al.*, 2017). Plus de 70 espèces de champignons ont été trouvées associée à la kératite. Les champignons filamenteux sont ubiquitaire dans l'environnement, présent sous forme de spores dans les plantes, le sol, l'eau, et l'air. Les levures sont également largement distribution dans l'environnement. Les infections causées par des champignons filamenteux se produisent principalement dans les climats tropicaux : Sud des Etats-Unis, Mexique, Amérique centrale, Amérique du sud, Afrique, moyen Orient, Chine, Inde, Asie du sud-Est (Ansari, 2013). Dans la grande majorité des cas, les kératomycos liée à des levures est causée par *Candida* ou *Cryptococcus*, elle est observées dans les pays à climats tempérés : Europe-Nord des Etats-Unis, Australie. l'immunodépression systématiques constitué le principal facteur de risque des infection à levures (Ong *et al.*, 2016). Et les infections causées par les champignons filamenteux surviennent sur cornée saines dans le cadre du port de lentilles de contact après chirurgie cornéennes ou traumatismes cornéens végétaux (Ansari *et al.*, 2013).

**Tableau 01** : Groupe de champignons responsables de kératomycoses (**Muraine et Gueudry, 2015**).

Champignons filamenteux		Levures	Champignons dysmorphiques
Non pigmentés	Pigmentés		
Fusarium*	Curvularia	Candida*	Blastomyces
Aspergillus*	Alternaria	Cryptococcus	Coccidioïdes
Acremonium	Phialophora		Histoplasma
Paecilomyces	Bipolaris		Sporothrix
Penicillium	Exserohilum		
Pseudallescheria	Cladosporium		
Scedosporium	Lasiodiplodia		
Beauveria			

\* Champignons les plus fréquemment isolés et rapportés dans la littérature.

### 5.1.3. Kératite virale

Sont majoritairement herpétiques, autrement dit provoquées par le virus Herpès simplex qui touche plus de 60000 personnes/ an en France (**Anonyme, 2020**).

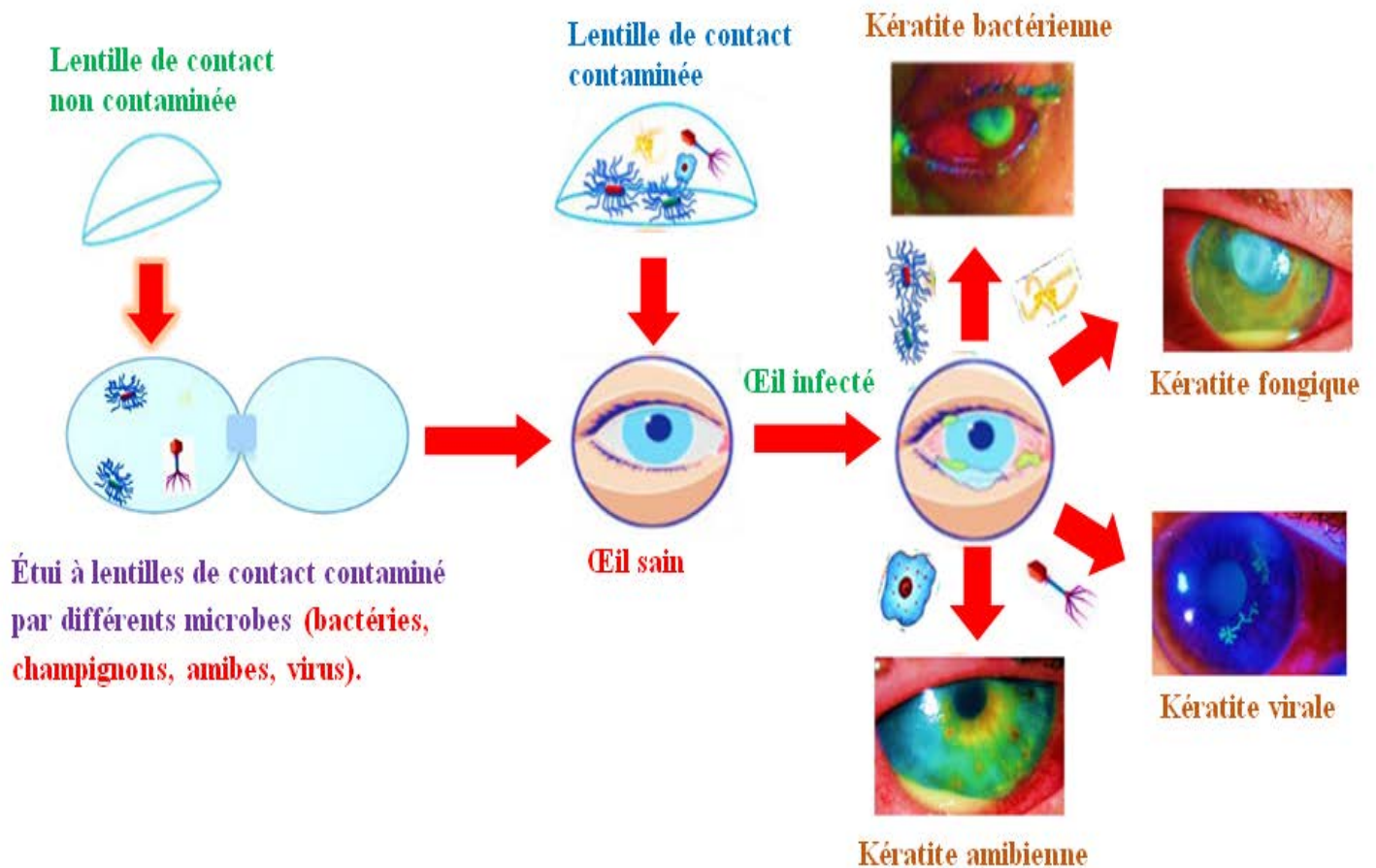
La kératite à virus *Herpès simplex* de type 1 (HSV) est principale cause d'excité infectieuse. La maladie clinique se produit dans tout la cornée, de l'épithélium à l'endothélium, et la kératite stimule récurrente à HSV est associée à des cicatrices cornéennes et à une néovascularisation.

La kératite à HSV peut être associée à des douleurs oculaires et à une kératite neutre subséquente. L'interaction des cellules hôtes avec le HSV initie une cascade inflammatoire de l'opacité cornéenne progressive due à l'infiltration de cellules inflammatoires, à l'angiogenèse et à la perte des nerfs cornéens (**Lobo et al., 2019**).

### 5.1.4. Kératite amibienne

Elles sont considérées comme une infection rare et grave augmentées avec l'utilisation croissante des lentilles de contact (**kerifa et al., 2010**). Les lentilles de contact souples sont responsables d'un risque plus élevé de kératites amibiennes que les lentilles de contact rigides (**Radford et al., 1998**), en partie pour des raisons liées à l'hygiène et au nettoyage quotidien (**Radford et al., 2002**) Cette maladie est de diagnostic relativement récent, puisque les premiers cas ont été rapportés au début des années 1970 (**Jones et al., 1975**). Les amibes retrouvées au cours des kératites amibienne sont

du genre *Acanthamoeba*. Les espèces les plus souvent incriminées sont *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba polyphaga* et *Acanthamoeba hatchetti*. Il s'agit de protozoaires libres ubiquitaires retrouvés dans l'air, le sol et l'eau. Les amibes existent sous deux formes : le trophozoïte et le kyste (**Dart et al., 2009**).



**Figure 3.** Différentes maladies oculaires résultant de la contamination des lentilles de contact et étuis à lentilles (**Khan et Lee, 2020**).

# **Chapitre 2 : le biofilm bactérien**

Les biofilms peuvent causer de graves problèmes dans de nombreux secteurs de l'activité humaine. Ils sont responsables de 65% des infections bactériennes rencontrées en milieu hospitalier (**Lewis, 2007**) et peuvent engendrer des dégâts importants dans les domaines industriels, agro-alimentaires et maritimes (**Costerton et al., 1995**). De nombreuses infections et maladies humaines sont associées au développement des biofilms comme les infections nosocomiales reliées aux implants médicaux comme les lentilles de contact (**Costerton, 1999**).

Lorsque les CL sont insérés dans les yeux, certaines substances telles que les protéines, les glycoprotéines et les lipides de la déchirure s'accumulent rapidement sur la surface des CL, créant ainsi un environnement propice aux micro-organismes.

Des lentilles négligées et/ou des lentilles portées plus longtemps que la période d'utilisation prévue augmentent le risque de formation d'un film biologique et d'infection oculaire grave (**McLaughlin-Borlace, 1998**).

## 1. Historique

La description des biofilm revient à Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723) de Delft, aux Pays-Bas (Dobell, 1960) qui utilisé son microscope primitif, il a observé des microbes agrégés dans la croûte de dents à partir de particules grattées de sa langue (**Høiby, 2014**).

Aussi Le scientifique français Louis Pasteur (1822-1895) a observé et schématisé des agrégats des bactéries comme cause de l'acétique du vin (vinaigre) (**Pasteur, 1864**).

Il fallait attendre jusqu' à 1933 et 1935 au le terme « film » qui fait référence à une adhésion à l'agrégation et la multiplication des bactéries sur des surface a été utilisé en microbiologie marine (**Høiby, 2017**).

Henrici à découvert que les bactéries se développent sur des surfaces submergées (**Henrici, 1933**). En 1943, ZoBell & Allen par leur étude sur l'adhérence et la croissance des bactéries sur des lames de verre immergées dans l'eau de mer, ont prouvé que Le film de bactérie peut favoriser la fixation d'organisme macroscopique de différentes manières (**Zobell et Allen, 1935**).

En médecine, l'observation entre l'étiologie d'une infection persistante (chronique) et des agrégats de bactéries de 1970 à 1972 par examen microscopique de frottis colorés de Gram d'expectorations de patients atteints de mucoviscidose (FK) par *P. aeruginosa* pulmonaire chronique et de 1974 à 1978 dans les autopsies des poumons de patients atteints de mucoviscidose décédés d'une infection pulmonaire chronique à *P. aeruginosa* (**Høiby, 2014**).

En 1977 publication de la première image d'un tel biofilm et a montré que des bactéries agrégées entourées de boue pouvaient être observées dans les crachats de patients atteints de mucoviscidose chronique [(Bjarnsholt *et al.*, 2009); (Høiby, 2017)].

Les travaux de William Costerton, avait publié d'importantes observations sur la structure de la paroi cellulaire à gram négative (Costerton *et al.*, 1974).

Grâce au microscope électronique et ils ont enquêtés sur le glycocalyx bactérien dans la nature et la maladie (Costerton *et al.*, 1981).

Plus tard il a remplacé le mot «glycocalyx» par « biofilm » (Costerton *et al.*, 1987).

## 2. Définition

Les biofilms microbiens sont définis comme des consortiums (Associations) des cellules microbiennes entourées d'une matrice polymère autoproduite (Hall-Stoodley *et al.*, 2012). Sont divisés en deux catégories *mono-espèce* "biofilms monospecies" (avec une seule espèce de microorganismes) et *multi-espèces* "biofilms polyspecies" (Burmølle, 2010). Ces derniers peuvent adhérer aux surfaces ou être situés dans les tissus ou les sécrétions.

Les substances polymériques (EPS) sont principalement des polysaccharides, des protéines, des lipides et des acides nucléiques, ils assurent la stabilité mécanique des biofilms (Flemming et Wingender, 2010).

Les biofilms sont dits ubiquitaires, car ils concernent le monde animal, végétal, minéral, et aquatique et il implique dans 80% des infections humaines (anonyme, 2011).

## 3. Organisation du biofilm

### 3.1. Constituants d'un biofilm

Les constituants essentiels d'un biofilm sont des micro-organismes agglomérés et la matrice qu'ils synthétisent. La présence de canaux permet l'établissement de flux d'eau, d'ions et de nutriments (Clutterbuck *et al.*, 2007). Ils composés de cellules microbiennes et d'EPS (Donlan, 2002).

La matrice du biofilm est principalement composée de polysaccharides. Certains de ces polysaccharides sont neutres ou polyanioniques, comme c'est le cas pour les EPS des bactéries gram-négatives. La présence d'acides uroniques (tels que les acides D-glucuronique, D-galacturonique et mannuronique) ou de pyruvates à liaison cétales confère la propriété anionique (Sutherland, 2001).

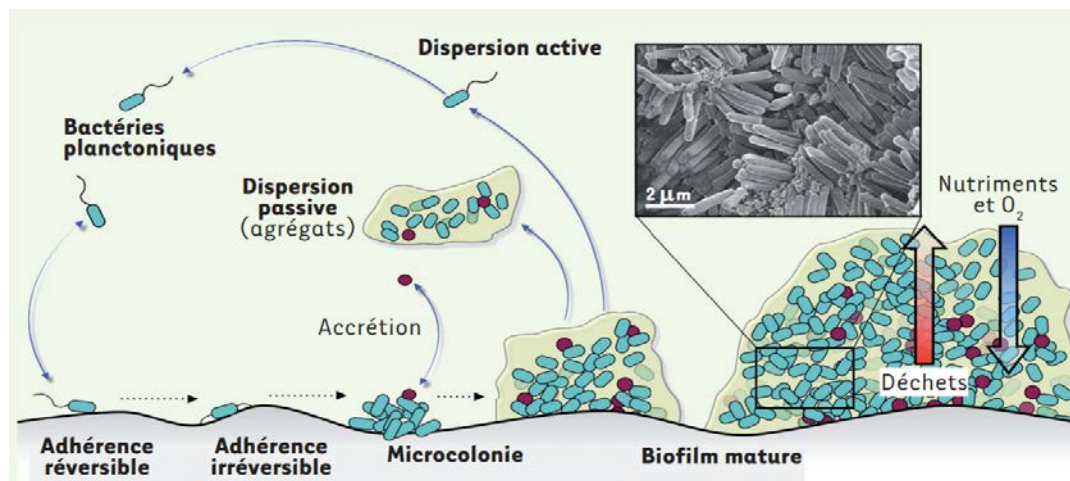
La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance (Yannick *et al.*, 2014). Cependant, comme elle est hautement hydratée, son composant majeur est l'eau (97%) (Tableau 02).

**Tableau 2:** Compositions de la matrice du biofilms (Banerjee *et al.*, 2019).

Composants	Pourcentage de composition dans la matrice
Cellules microbiennes	2-5%
ADN et ARN	<1-2%
Polysaccharides	1-2%
Protéines (y compris les enzymes)	<1-2%
L'eau	Jusqu'à 97%

### 3.2. Cycle de vie d'un biofilm

La formation du biofilm est un processus très complexe, dans lequel les cellules de micro-organismes se transforment du mode de croissance planctonique au mode sessile (figure 4) (Ghazay *et al.*, 2021). En effet, certaines souches bactériennes peuvent adhérer à une surface sans conditionnement préalable (Klein Geraldine, 2011).



**Figure 4.** Représentation schématique des différences étapes de formation d'un biofilm (Lebeaux *et al.*, 2012).

### 3.2.1. Pré-conditionnement de la surface

La formation d'un biofilm suit plusieurs phases, la première étape est l'établissement d'un film primaire conditionnant la surface et facilitant l'attachement des bactéries. C'est un phénomène rapide n'excédant pas quelques heures. Durant cette première phase, les molécules organiques et inorganiques présentes dans le milieu se déposent sur la surface. Cette accumulation de molécules à l'interface liquide/solide définit le film de conditionnement et apporte une plus grande concentration en nutriments sur la surface par rapport au milieu liquide. L'adsorption de ces molécules joue un rôle important dans l'attachement des bactéries à une surface par l'altération des propriétés physico-chimiques de la surface (énergie libre de surface, hydrophobicité, charges électrostatiques, etc.). Cependant, l'importance du conditionnement de surface dans l'adhésion bactérienne est encore à ce jour discuté (**Klein Geraldine, 2011**).

La couche de conditionnement favorise l'adhésion et la concentration des bactéries, entraînant la croissance du biofilm en raison de l'augmentation de la concentration en nutriments à la surface. (**Li et al., 2021**).

L'attachement du biofilm à une surface dépend fortement de sa capacité de motilité ou de la vitesse du fluide. Il a tendance à se déplacer à travers le liquide en vrac et les surfaces soit par le biais d'appendices mobiles (par exemple flagelles et pili) ou, s'il n'a pas d'appendices mobiles, par le mouvement brownien (mouvement aléatoire et incontrôlé des particules dans un fluide). Pour les premiers, il est capable d'adhérer à la surface quelles que soient les vitesses d'écoulement et les seconds ne peuvent adhérer qu'à des vitesses de fluide faibles et moyennes (**Yuanzhe et al., 2021**).

### 3.2.2. Adhésion réversible

C'est la fixation des cellules à une surface par des mécanismes comme le chimiotactisme et la mise en place d'appendices générateurs de mouvement tels que les flagelles et elle est facilitée par les adhésines qui sont des récepteurs membranaires (**Rambelomamonjy, 2017**).

Plusieurs facteurs jouent sur le processus d'attachement microbien aux surfaces

- Espèces de bactéries.
  - composition de la surface des cellules.
  - nature de la surface.
- Disponibilité des nutriments
  - conditions hydrodynamiques
  - communication du quorum sensing (**Donlan, 2002**).



### 3.2.3. Adhésion irréversible

Une fois l'attachement réversible et fait, les bactéries doivent maintenir le contact avec le substrat afin de développer un biofilm mature (Stoodley *et al.*, 2002).

L'adhésion devient irréversible en raison de la production d'exopolysaccharides (EPS) par les bactéries et surtout par des structures d'attachement variables selon les espèces bactériennes, Par exemple pour les bactéries à Gram négatives (-), il s'agit des pilis, des capsules et du glycocalix et pour les bactéries à Gram positives (+), c'est les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix. Pour certaine espèce telle (*Caulobacterou Hyphomicrobium*) utilisent des pédoncules ou de la gaine (Klein Geraldine, 2011).

### 3.2.4. Formation de microcolonies

Après la stabilité de la liaison bactérie surface physique/au tissu biologique elle entraîne la formation de micro-colonies (Costerton *et al.*, 1999).

Ces dernier seront suivies par l'élaboration d'un biofilm selon sa composition en microorganismes du milieu, les conditions hydrodynamiques et chimiques (Rambelomamonjy, 2017).

### 3.2.5. Maturation du biofilm

Après l'étape de formation de micro-colonies, l'expression de certains gènes liés au biofilm a lieu. Ils sont nécessaires pour l'EPS. Il est rapporté que l'attachement bactérien par lui-même peut déclencher la formation d'une matrice extracellulaire suivie par la formation de canaux remplis d'eau pour le transport des nutriments et éliminant les déchets des communautés dans le biofilm (Parsek et Singh, 2003).

Il est établi que les bactéries peuvent s'adapter aux changements environnementaux en détectant la densité cellulaire (quorum sensing (QS)) ou d'autres signaux environnementaux (Karatan et Watnick, 2009).

Ces signaux environnementaux sont : mécaniques (détection de surface), nutritionnelles et métaboliques (concentration de glucose, de fer et de phosphate) (Jacques *et al.*, 2010).

### 3.2.6. Dispersion du biofilm

Le détachement des cellules bactériennes planctoniques du biofilm est un détachement programmé, Parfois, en raison de certains stress mécaniques.

Mais dans la plupart des cas, certaines bactéries arrêtent de produire EPS et se détachent dans l'environnement, soit par la dispersion des agrégats du biofilm en raison des effets d'écoulement ou du quorum-sensing soit par une action enzymatique.

Les cellules dispersées peuvent conserver leur propriétés du biofilm (l'insensibilité aux antibiotiques) on retrouve leur phénotype planctonique normal (**Jamal et al., 2015**).

Cette dispersion peut être passive comme elle peut être une stratégie active leur permettant de coloniser d'autres surfaces et de survivre lorsque l'espace et les nutriments deviennent limités (**Kaplan, 2010**).

#### **4. Les facteurs influençant la formation du biofilm**

Les principaux facteurs influençant la formation des biofilms :

##### **4.1. La surface**

L'attachement cellulaire est important sur les surface rugueuse, et les propriétés physico-chimiques exercent une influence sur ce dernier, aussi les microorganismes se fixent plus facilement sur les surfaces hydrophobes et non polarisées (verre, métaux..), la présence préalable de films protéiques (sang, larme, l'urine...etc.) Influencent la fixation des bactéries et favorise la formation du biofilm (**Bezoui, 2016**).

##### **4.2 Les caractéristiques du milieu**

Le PH, la température, la vitesse du flux, la présence d'un flux laminaire ou non, le fer, les nutriments, les cations ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Na}^{2+}$ ,...), la source de carbone disponible, la disponibilité du milieu en oxygène et la présence d'agent antimicrobien, ce facteur jouent sur la formation du biofilm (**Donlan et Costerton, 2002**).

##### **4.3. Propriété des cellules**

L'hydrophobicité de la surface des cellules, la présence des fimbriaes et des flagelles, et la production d'EPS influencent l'adhésion des bactéries sur une telle surface (**Donlan, 2002**).

Dans la plupart des environnements les bactéries sont exposées à une variété de stress abiotiques, tels que l'osmolarité chez les bactéries telles que *Lactobacillus rhamnosus*, *Listeria monocytogenes* et *Shigella boydii*, la formation du biofilm s'est avérée associée à une osmolarité élevée. Pour d'autres microbes, une augmentation des concentrations de NaCl inhibe la formation

du biofilm, comme les espèces *Salmonella*, *Sinorhizobium meliloti*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* et *P. aeruginosa* (Ghazay, 2021).

### 5. Formation du biofilm sur les lentilles de contact

Lorsque les bactéries planctoniques rencontrent la surface CL, elles établissent d'abord les microcolonies qui constituent un stade précoce de la formation du biofilm. Les cellules microbiennes qui se développent dans un biofilm sont physiologiquement distinctes des cellules planctoniques du même organisme et sont plus résistantes aux antibiotiques, aux désinfectants ou aux mécanismes de défense de l'hôte. Le développement de biofilm matures sur les surfaces CL a été associé à la kératite chez les humains et les modèles animaux (Willcox, 2013).

*C. albicans* est l'espèce fongique la plus souvent associée à la formation des biofilms sur les lentilles de contact. La levure est capable de développer des biofilms sur presque tous les implants médicaux (des cathéters vasculaires et prothèses dentaires et lentilles de contact) (Douglas, 2003).

# **Chapitre 3 : l'entretien des lentilles de contact**

Les infections microbiennes associées à l'utilisation de CL peuvent être considérablement réduites en faisant attention aux facteurs de risque liés à la pratique des cas de stockage de CL [(**Dart et al., 1991**) ; (**Radford et al., 1995**)]. Il est essentiel que les solutions de soins CL soient capables de diminuer suffisamment la quantité d'agents pathogènes afin de diminuer le risque d'infections liées à la CL (**Hildebrandt, 2012**).

### **1. Historique de l'entretien des lentilles de contact**

Les premiers systèmes d'entretien des lentilles utilisaient la chaleur et des comprimés de sel ajoutés à de l'eau distillée, portée à chaud entre 80 et 90°C pendant 10 minutes(70), Par la suite l'eau distillée été remplacée par du sérum physiologique salé stérile, Ces systèmes chauffants étaient efficaces contre les microorganismes, mais présentaient l'inconvénient d'être encombrants et destructeur pour les lentilles de contact (**Szczotka-Flynn et al., 2013**).

Les premiers systèmes d'entretien des lentilles froides (chimiques) contenaient des conservateurs et plus tard du peroxyde d'hydrogène pour la désinfection et utilisaient des nettoyants et des lubrifiants séparés. Pour améliorer le confort et la commodité, d'abord des nettoyants ont été ajoutés aux solutions désinfectantes pour former des solutions polyvalentes (MPS), puis des tensioactifs et des lubrifiants ont été ajoutés pour développer ces solutions (**Szczotka-Flynn et al., 2013**).

Ver la fin des années 1970, des solutions de désinfection à froid ont été apparus. Par la suite plusieurs désinfectants ont été utilisés pour la désinfection des lentilles de contact souples, notamment le thimérosal, les dérivés chlorés de la chlorhexidine, l'iode, les complexes d'iode et le chlorure de benzalkonium, qui se sont tous avérés irritants. De nouveaux conservateurs, ont remplacé ces deniers le polyhexaméthylène biguanide (PHMB), le polyquaternium-1 (PQ-1), l'Aldox et l'Alexidine, aussi Le régime de nettoyage est également passé du frottement des lentilles avant le trempage nocturne à des formulations sans frottement rinçage (**Szczotka-Flynn et al., 2013**).

### **2. Les solutions d'entretien**

Les solutions d'entretien sont des agents chimiques qui permettent de nettoyer, rincer, décontaminer, conserver et lubrifier les lentilles. Leurs compositions sont complexes et elles contiennent différents agents, à des concentrations différentes selon le type de produit (**Bloise, 2016**).

### 3. Les types des solutions d'entretien

#### 3.1. Les solutions oxydantes

Les solutions oxydantes contiennent généralement une concentration de 3% de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) à des fins de décontamination. Ces dernières contiennent également des nettoyeurs ou des lubrifiants (Bloise, 2016).

Le peroxyde d'hydrogène est cytotoxique pour les yeux et doit être neutralisé avant l'utilisation sur les lentilles. Cette neutralisation consiste à transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène. La neutralisation se fait par disque de platine soit par comprimé de catalase. Neutralisation des disques en platine, il faut environ 6h pour que le disque entre en contact avec la solution  $H_2O$  et se complète. Neutralisation des comprimés de catalase commence 20 minutes après le contact du comprimé avec la solution, car il est enrobé d'hydroxypropyl méthylcellulose, crash lentement. C'est fait en 2-4 heures (Bloise, 2016).

#### 3.2. Les solutions multifonctions (SMF)

Comme leur nom l'indique, ces solutions sont conçues pour principale fonction requise pour l'entretien des lentilles. La première solution multifonction elle apparaît sur le marché pour permettre le nettoyage la décontamination et la protection des lentilles.

Aujourd'hui, les solutions modernes assurent également le rinçage, l'élimination des protéines et lubrifiants (Bloise *et al.*, 2009).

#### 3.3. Les solutions uni-fonction

Avant les solutions multifonctions, seules les solutions à fonction unique étaient disponibles. Cette complexité de l'entretien peut réduire la bonne observance de l'entretien par les porteurs de lentilles de contact cependant, ces solutions monofonctions sont encore utilisées pour l'entretien des lentilles classiques ou des lentilles rigides perméables aux gaz (LRPG), notamment pour des fonctions de nettoyage en profondeur ou de déprotéinisation (Bloise *et al.*, 2009).

### 4. Les fonctions des solutions d'entretien

#### 4.1. Le nettoyage

A pour but d'éliminer les dépôts et les contaminants présents sur les surfaces des lentilles. En effet, au contact du film lacrymal et de l'environnement, la lentille se chargent de nombreux éléments

indésirables (tels que lipides, protéines, mucines, micro-organismes, poussières...) Les agents utilisés pour assurer cette fonction sont des surfactants qui permet d'optimiser la décontamination ultérieure. Les agents de nettoyage sont essentiellement de nature amphotère (imidazoline) et non ionique (poloxamine) [(Berthélémy, 2015) ; (Bloise, 2016)].

#### 4.2. Le rinçage

Après le nettoyage il y a le rinçage s'effectue avec une solution multifonction mais on peut trouver sur le marché des solutions dites uni-fonction de rinçage qui sont à base de chlorure de sodium à 0,9 % [(Berthélémy, 2015) ; ( Bloise, 2016)].

#### 4.3. La décontamination

La décontamination a pour but de réduire le nombre de micro-organismes présents sur la lentille jusqu'à obtenir un niveau acceptable. Elle se différencie d'une stérilisation qui vise à détruire tous les micro-organismes. Les fabricants jouent sur la concentration des agents de décontamination et/ou l'association de plusieurs agents, pour posséder l'une ou plusieurs des propriétés suivantes :

- Bactéricide
- Bactériostatique
- Fongicide
- Fongistatique
- Amœbicide
- Virucide
- Antivirale

Le mode d'action des agents de décontamination peut être « sélectif » visant à détruire les germes sans être toxique pour les cellules cornéennes [(Berthélémy, 2015) ; ( Bloise, 2016)].

Le mode d'action peut être « non sélectif » c'est-à-dire agit sur les germes mais aussi sur les cellules cornéennes, Cette toxicité impose une neutralisation des agents avant de poser la lentille sur l'œil.

Les agents de décontamination les plus utilisées sont les suivantes :

- Les oxydants :
  - Le peroxyde d'hydrogènes (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
  - Les dérivés chlorés

- Les biguanides :
  - Le polyhexaméthylène biguanide (PHMB)
  - L'alexidine
  - La chlorhexidine
- Les ammoniums quaternaires :
  - Le polyquaternium-1 (PQ-1)
  - un copolymère de 3 ammoniums quaternaires [(Berthélémy, 2015) ; (Bloise, 2016)].

#### 4.4. La lubrification

C'est améliorer le confort à la pose et pendant le port de lentille. Certaines molécules améliorent la mouillabilité de la lentille en permettant un meilleur étalement de la solution d'entretien. D'autres molécules augmentent la rétention d'eau pour réduire la sécheresse oculaire. Les molécules utilisées sont l'alcool polyvinylique, l'hydroxypropylméthylcellulose ou encore l'acide hyaluronique [(Berthélémy, 2015) ; (Bloise, 2016)].

#### 4.5. La déprotéinisation

Elle est nécessaire pour l'entretien des lentilles traditionnelles ou des lentilles rigides perméables aux gaz (LRPG) afin d'éliminer les protéines qui adhèrent à la surface de la lentille. Elle se fait de façon passive par des agents incorporés dans les solutions multifonctions (citrate, hydranate) et de façon active par l'utilisation d'enzymes protéolytiques (papaine, pancréatine, subtilisine).

Une action de déprotéinisation mécanique est obtenue par le massage des lentilles avec la pulpe du doigt lors de nettoyage ou par l'effervescence qui se produit lors de la neutralisation du peroxyde d'hydrogène [(Berthélémy, 2015) ; (Bloise, 2016)].

#### 4.6. La conservation

A pour but d'empêcher la prolifération des micro-organismes susceptibles de contaminer le flacon de solution d'entretien après son ouverture ou l'étui de stockage des lentilles. Les molécules telles Les biguanides, les ammoniums quaternaires ou encore l'acide citrique répondent à ces exigences et font partie des conservateurs les plus utilisés [(Berthélémy, 2015) ; (Bloise, 2016)].



### 5. Les complications des produits d'entretien des lentilles de contact

L'allergie aux produits d'entretien, les solutions multifonctions sont potentiellement pourvoyeuses d'allergie en raison de la présence de certains oxydants, de détergents, d'antiseptiques, de conservateurs (dérivés mercuriels) ou d'enzymes, qui ont pour rôle la déprotéinisation **(De Nicola, 2014)**. A l'inverse, les systèmes à base de peroxyde d'hydrogène sont potentiellement mieux tolérés car ils ne contiennent pas de conservateurs **(Mély, 2009)**. En cas d'allergie, les principaux signes subjectifs dont se plaint le patient sont habituellement bilatéraux et consistent en une rougeur oculaire, un prurit oculaire, une photophobie, un larmoiement et quelques fois un gonflement des paupières **(Boulanger et al., 2015)**.



**Figure 5 : Allergie oculaire (Chiambaretta et Lazreg, 2015).**

# **Matériel et méthodes**

### Matériel et méthodes

Dans cette partie, nous allons traiter deux articles scientifiques qui ont pour but l'inhibition du biofilm sur les lentilles de contact souple.

**Article 1:** Prevention of Bacterial Biofilm Formation on Soft Contact Lenses Using Natural Compounds. Ce travail a été réalisé par **El-Ganiny *et al.*, (2017)**.

**Article 2:** Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation on Soft Contact Lenses by *Allium sativum* Fermented Extract (BGE) and Cannabinol Oil Extract (CBD). Ce travail a été réalisé par **Di Onofrio *et al.*, (2019)**.

#### 1. Isolement et identification bactérienne

Dans l'étude de (**El-Ganiny *et al.*, 2017**) Un nombre total de 184 échantillons ont été prélevés, 116 échantillons ont été obtenus du service d'ophtalmologie de l'hôpital universitaire de Benha, en Égypte. Tandis que 68 spécimens ont été collectés auprès d'utilisateurs de lentilles. L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de l'université. Tous les échantillons ont été prélevés à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié.

Les écouvillons a été cultivés sur gélose chocolat, gélose au sang et gélose MacConkey , puis incubés à 37 °C pendant 24. La coloration gram a été préparée à partir des colonies isolées. Des tests microbiologiques standard ont également effectués pour identifier chaque isolat (**Collee *et al.*, 1996**)

Dans l'étude de (**Di Onofrio *et al.*, 2019**) le *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*; ATCC 9027) et la souche clinique de *Pseudomonas aeruginosa* isolée à partir d'écouvillons oculaires ont été maintenues dans des cultures mères de glycérol à -80 °C avant utilisation et cultivées sur de la gélose tryptone soja (TSA) (Becton Dickinson and Company).

Des colonies uniques de bactéries provenant des cultures d'une nuit ont été inoculées dans un bouillon tryptone soja (TSB) (Becton Dickinson and Company) et incubées dans un incubateur à agitation à 37 °C.

### 2. Composés criblés

#### 2.1. L'utilisation des produits chimiquement synthétisé pour l'élimination du biofilm sur les lentilles de contact

Trois solutions d'entretien pour lentilles de contact souples disponibles sur le marché égyptien ont été testées :

- La solution polyvalente Renu (Bausch et Lomb-IOM, Milan, Italie).
- La solution opti-Free (Alcon laboratoire, Inc. Fort Worth, Texas, États-Unis).
- Perfect care dissolvant de protéines (Orchidia pharmaceutical Industries, ElOubour, Egypte) (El-Ganiny *et al.*, 2017).
- Solution isotonique stérile, contenant du polyhexaméthylène biguanide à 0,00005 % (Di Onofrio *et al.*, 2019).

#### 2.2. L'utilisation des produits naturels pour l'élimination du biofilm sur les lentilles de contact

Quatre composés naturels ont également été testés, dont le miel, l'huile de jasmin, l'extrait de feuilles de *Buddleja salviifolia* et l'extrait de pétales de *Calendula officinalis*.

Le miel a été acheté auprès de la société Isis (Le Caire, Égypte), l'huile de jasmin, l'extrait de feuilles de *Buddleja Salviifollia* et l'extrait de fleurs de *Calendula officinalis* ont été préparés par la société Morgan Chemicals (Le Caire, Égypte).

- L'huile de jasmin a été extraite des pétales de *Jasminum officinale* par hydro-distillation (Paibon *et al.*, 2011).

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité (Marie, 2005).

- Les fleurs de *Calendula officinalis* en poudre ont été soumises à une extraction à l'éthanol à l'aide d'un appareil soxhlet (Roopashree *et al.*, 2008).

L'extracteur de Soxhlet est un appareil utilisé en chimie analytique qui permet de faire à chaud l'extraction par solvant d'un solide avec une grande efficacité. Cet appareil porte le nom de son inventeur: Franz Von Soxhlet (Benabdallah, 2016).

- Les feuilles en poudre de *Buddleja Salviifollia* a été extraites avec du méthanol aqueux à 20% (Pendota *et al.*, 2013).

- BGE (solution mère 175 mg/mL).

BGE a été préparé dans le laboratoire de génie alimentaire du département de génie chimique, des matériaux et de la production de l'Université de Naples Federico II. L'ail frais, acheté localement, a été fermenté pendant 7 jours à haute température et humidité relative élevée (90 °C et RH 70%). L'ail fermenté a ensuite été pulvérisé et mélangé avec de l'eau distillée dans un rapport (1:1). Par la suite, la fraction aqueuse de ce mélange, le BGE, a été séparée par un procédé d'extraction breveté utilisant du norflurane gazeux en condition sous-critique comme solvant [(Garella, 2012) ; (Di Onofrio *et al.*, 2019)].

- CBD (solution mère 3%), métabolite *Cannabis sativa*.

L'extrait d'huile de cannabinoles (CBD) a été acheté chez Enecta B.V. (Amsterdam, Pays-Bas) (300 mg, 3 % de CBD) (Di Onofrio *et al.*, 2019).

### 3. Détection des souches formatrices du biofilm

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

Tous les isolats ont été criblés pour leur capacité à former un biofilm par la méthode de la plaque de microtitration avec quelques modifications (Christensen *et al.*, 1985).

Des cultures d'une nuit d'isolats provenant de plaques de gélose trypticase soja (TSA) a été inoculées dans du bouillon tryptone soja (TSB) et la densité a été ajustée à 0,5 Mc Farland. La suspension a été diluée à 1/100 pour obtenir une densité de  $10^5$  à  $10^6$  cellules/mL. Un volume de 100  $\mu$ L a été ajouté dans une plaque de 96 puits contenant 100  $\mu$ L de TSB avec 2 % de glucose (TSB-glu), des puits de contrôle négatif ont été inclus. Les plaques ont été incubées pendant 48 heures à 37°C.

Le contenu de chaque tube a été aspiré puis lavé trois fois avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) pour éliminer les bactéries non adhérentes. Un volume de 200  $\mu$ L de méthanol à 99% a été ajouté à chaque puits pendant 15 min pour fixer le biofilm. Les puits ont été décantés, laissés à sécher et colorés avec 200  $\mu$ L de Crystal Violet (CV) à 2 % pendant 15 minutes. L'excès de colorant a été rincé délicatement à l'eau. Les plaques ont été séchées à l'air ; le colorant lié a été solubilisé avec 200  $\mu$ L d'acide acétique glacial à 33 % (v/v). La densité optique (DO) a été mesurée à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-1800 Shimadzu, Japon).

Le test a été réalisé en triple exemplaire. Sur la base des DO mesurées, les isolats testés ont été classés en quatre catégories ; non adhérentes, faiblement adhérentes, modérément adhérentes et fortement adhérentes (**Christensen *et al.*, 1985**).

#### 4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés sélectionnés

##### 4.1. Méthode de microdilution

L'étude de cette activité antibactérienne a été réalisée également par la technique de microdilution en milieu liquide sur microplaque stérile (96 puits). C'est une technique quantitative permet de déterminer l'intervalle de concentrations qui inhibent effectivement la croissance bactérienne (**Bali, 2019**).

Les CMI des désinfectants (solutions CL-care et composés naturels) ont été déterminées par la méthode de dilution en bouillon selon le CLSI (**CLSI (2014)**). Les colonies d'isolats formant un biofilm ont été prélevées avec une anse stérile et transférées dans un bouillon Mueller-Hinton (MHB), la densité a été ajustée à 0,5 McFarland. Ensuite La suspension a été diluée au 1/100 dans du MHB. Des dilutions en série de deux fois de chaque agent désinfectant (La solution polyvalente Renu, la solution opti-Free, Perfect care dissolvant de protéine) ont été préparées à l'aide de plaques de microtitration, 100 µL de chaque dilution sont placés dans des puits. Un volume de 100 µL d'inoculum préparé a été ajouté à chaque dilution, des puits témoins ont été inclus. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 20 heures. La CMI a été considérée comme la plus faible concentration de désinfectant qui inhibe la croissance bactérienne.

#### 5. Efficacité des composés criblés sur l'inhibition de la formation du biofilm

Des cultures d'une nuit d'isolats provenant de plaques TSA ont été inoculées dans du TSB et la densité a été ajustée à 0,5 Mc Farland et dilué à 1/100 pour obtenir une densité de  $10^5$ - $10^6$  cellules/mL. Un volume de 100 µL a été distribué dans une plaque de microtitration à 96 puits contenant 100 µL de sous-CMI de désinfectants testés ( $\frac{1}{2}$  ;  $\frac{1}{4}$  et  $\frac{1}{8}$  CMI) et incubées en conditions stationnaires pendant 48 heures à 37 °C. Le contenu de chaque puits a été aspiré, lavé trois fois avec du PBS, fixé avec 200 µL de méthanol à 99% pendant 15 min. Ensuite, les puits ont été décantés, séchés à l'air et colorés avec 200 µL de CV à 2 % pendant 15 min. L'excès de colorant a été rincé doucement à l'eau, les plaques ont été séchées à l'air et le colorant lié a été solubilisé avec 200 µL d'acide acétique glacial à 33 %. La DO a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (**Christensen *et al.*, 1985**).

La capacité de la solution désinfectante à inhiber la formation du biofilm sur le CL souple (Clear vision, Corée) a également été testée en utilisant la même procédure avec quelques modifications (**Yukinobu et al., 2006**). Des morceaux de CL souple a été placés dans chaque puits ; 200 µL d'éthanol-acétone (80:20) a été utilisés pour la solubilisation du biofilm. La densité optique a été déterminée à 630 nm. Chaque expérience a été réalisée en trois répétitions.

### **6.Efficacité des composés criblés sur l'élimination du biofilm préformé**

Des cultures d'une nuit d'isolats provenant de plaques de TSA ont été inoculées dans le TSB. La densité a été ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée à 1/100.

Un volume de 100 µL a été distribué dans une plaque de microtitration à 96 puits contenant 100 µL de TSB-glu et incubées pendant 48 heures à 37 °C. Le contenu de chaque puits a été aspiré, lavé trois fois avec du PBS stérile ; 200 µL de dilutions en série doubles des composés testés a été ajouté à chaque puits puis incubés pendant 24 heures à 37 °C.

Les puits ont été décantés et lavés trois fois avec du PBS stérile, fixés avec 200 µL de méthanol à 99 %, séchés à l'air et colorés pendant 15 min avec 200 µL de Cristal Violet 2 %.

la coloration au cristal violet permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm puisque la coloration adsorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé (**Musk et al., 2005**).

Pour les lentilles de contact, l'expérience a été répétée avec la même procédure avec l'ajout de morceaux de CL dans chaque puits, et 200 µL d'éthanol-acétone (80/20) a été utilisés pour la solubilisation du biofilm. La densité optique a été déterminée à 630 nm. Chaque expérience a été réalisée en trois répétitions (**Yukinobu et al., 2006**).

### **Article 2:**

Deux mélanges naturels, l'extrait fermenté d'*Allium sativum* (BGE) et l'extrait d'huile de cannabinoles (CBD), ont été évalués pour leur capacité à inhiber et à éliminer les biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* sur les lentilles de contact souples par rapport à une solution polyvalente d'entretien des lentilles de contact souples présente sur le marché italien.

Des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* (souche ATCC 9027) et de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir d'écouvillons oculaires ont été testées. La quantification du biofilm a été effectuée à l'aide du test sur plaque de microtitration et l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire a été calculé. Les deux formes de *Pseudomonas aeruginosa* ont généré des biofilms.

Le BGE à la concentration minimale inhibitrice (MIC) a montré des pourcentages d'inhibition supérieurs à 55 % pour les deux souches, et le CBD a inhibé la formation de biofilm d'environ 70 %. La solution de soin au MIC a inhibé la formation de biofilm d'environ 50 % pour les deux souches testées (**Di Onofrio et al., 2019**).

### **7. Efficacité des composés criblés sur l'inhibition et l'éradication de la formation de biofilm**

Les souches ont été cultivées pendant une nuit à 37 °C dans un bouillon tryptone soja, lavées deux fois dans une solution saline tamponnée au phosphate et mises en suspension pour obtenir une suspension équivalente à  $1 \times 10^5$  cellules/ml (OD600). Ensuite, 100 µl de chaque inoculum ont été distribués dans des puits de plaques de microtitration à 24 puits.

Pour éviter l'adhérence cellulaire au stade intermédiaire (biofilms de 24 h) (MBIC), les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 h avec la solution de lentilles de contact souples à 50 %, 40 % et 30 % de sa concentration d'origine ; avec BGE à des concentrations de 40 mg/mL, 30 mg/mL, 20 mg/mL et 10 mg/mL, et avec CBD à des concentrations de 20 mg/mL (2 %), 15 mg/mL (1,5 %), 10 mg/mL (1 %) et 5 mg/mL (0,5 %).

Pour éradiquer le biofilm préformé au stade de maturation (biofilms de 48 h) (MBEC), les plaques ont été incubées pendant 48 h, le milieu a été renouvelé après 24 h et des désinfectants aux mêmes concentrations ont été ajoutés au cours des dernières 24 h. Des biofilms formés par des bactéries n'ayant subi aucun traitement ont été utilisés comme témoins de comparaison avec la moyenne des traitements.

L'effet des désinfectants sur l'inhibition et l'éradication du biofilm a été quantifié à l'aide du test XTT qui analysait la densité des cellules adhérentes, mesurant l'activité métabolique relative à l'aide du XTT (2,3-bis (2-méthoxy-4-nitro-5-sulfo phényl)-5-(phénylamino) carbonyl)-2H-hydroxyde de tétrazolium) kit de dosage colorimétrique (Sigma) en suivant les instructions du fabricant comme décrit ailleurs [38]. Les variables continues ont été comparées à l'aide du test t de Student (**Di Onofrio et al., 2019**).



# **Résultats et discussion**

**1. Identification des isolats bactériens**

Les résultats de l'identification des isolats bactériens obtenus dans cette étude sont représentés sur le **Tableau 3**. 111 isolats ont été récupérés à partir de 184 échantillons, 81 isolats à partir d'échantillons cliniques et 30 isolats à partir de cas de lentilles de contact (**El-Ganiny et al., 2017**).

Les germes isolés ont été identifiés à l'aide de tests microbiologiques standards. Parmi les 111 isolats, 41 (36,9 %) Gram positifs, dont 22 (19,8 %) *S. aureus*, 10 (9 %) *S. epidermidis* et 9 (8,1 %) *S. saprophyticus*.

Les 70 isolats Gram négatifs comprennent 40 (36 %) *P. aeruginosa*, 9 (8,1 %) *K. pneumoniae*, 7 (6,3 %) *Serratia spp.*, 6 (5,4 %) *Moraxella catarrhalis*, 6 (5,4 %) *M. lacunata*, et seulement 2 (1,8 %) *E. coli*

**Tableau 3.** Distribution des échantillons et type d'isolats bactériens

échantillon/MO	Œil infecté	Étui à lentilles	Total	
	Non.	Non.	Non.	%
<b>Nombre d'échantillon</b>	116	68	184	100
<b>Échantillons négatifs</b>	49	46	95	51,6
<b>Spécimens positifs</b>	67	22	89	48.4
<b>Spécimens multi-infections</b>	14	8	22	
<b>Spécimens d'uni-infection</b>	53	14	67	
<i>S. aureus</i>	20	2	22	19.8
<i>S. epidermidis</i>	8	2	10	9
<i>S. saprophyticus</i>	2	7	9	8.1
<i>P. aeruginosa</i>	30	10	40	36
<i>Klebsiella spp.</i>	9	0	9	8.1
<i>Serratia spp.</i>	0	7	7	6.3
<i>M. lacunata</i>	6	0	6	5.4
<i>M. catarrhalis</i>	6	0	6	5.4
<i>E. coli</i>	0	2	2	1.8
<b>Total des isolats</b>	81	30	111	100

D'autres études ont été réalisées dans le même contexte citons les travaux de [(baharati *et al.*, 2010) ; (Hou *et al.*, 2012) ; (Rahman., 2013)] dont l'espèce *P.aeruginosa* été l'espèce majoritaire.

Des résultat similaires ont été trouvé par [(Anagaw *et al.*, 2011) ; (Rahman *et al.*, 2013)] qui ont isolé des souche de *S.aureus* avec un pourcentage de 22%et 23,6% respectivement .

*Pseudomonas aeruginosa* est difficile à coloniser les cellules épithéliales cornéennes saines. Cependant, cette adhérence est considérablement augmentée lorsque la couche épithéliale est endommagée, ce qui peut être causé par lentilles de contact (Vegans *et al.*, 2002).

Les souches de staphylocoques sont une cause majeure d'infections oculaires en raison de leur meilleure capacité d'adhérence, ce qui explique leur fréquence élevée et pouvant entraîner des kératites infectieuses (Bourcier *et al.*, 2004).

Plusieurs auteurs, ont démontré que *Serratia marscens* est souvent l'origine de kératites infectieuses et responsable de la formation du biofilm sur la surface des lentilles ( Coria-jinknez *et al.*, 1994).

## 2.Evaluation de la formation du biofilm par méthode spectrophotométrique

Tous les isolats ont été testés pour la production du biofilm. Seuls 12 isolats (10,8 %) formaient un biofilm modéré, 25 isolats (22,5 %) formaient un biofilm faible et 74 (66,6 %) ne formaient pas du biofilm. 22 isolats de *P. aeruginosa* et 8 de *S. aureus* formaient un biofilm. Seuls 4 isolats de *S. epidermidis*, 2 de *S. saprophyticus* et 01 de *K. pneumoniae* étaient de faibles producteurs du biofilm (Tableau 4).

**Tableau 4** Répartition des isolats formant un biofilm

Micro-organisme	Biofilm modéré	Biofilm faible	Total
<i>P. aeruginosa</i>	10	12	22
<i>S. aureus</i>	2	6	8
<i>S. épidermidis</i>	0	4	4
<i>S. saprophyticus</i>	0	2	2
<i>Klebsiella spp.</i>	0	1	1

Un pourcentage de 55% des souches de *P.aeruginosa* isolés étaient productrices du biofilm. ces résultats sont similaires à ceux de oncle *et al.*, (2010) qui ont trouvé un pourcentage de 60% de cette espèce par contre *Angaw et al.*, (2011) ont rapporté un pourcentage inférieur (33%).

Pour la souche *S. aureus*, 36,4% des souches étaient considérées comme de bonnes formatrices du biofilm, ce qui est inférieur à l'étude de *Hou et al.*, (2012) avec un pourcentage de 51,9%.

L'étude de *Dosler et al.*, (2020) confirme que les souches standard et cliniques de *P.aeruginosa* étaient les plus formatrices du biofilm sur les lentilles de contact. De même les souches de *S. aureus* étaient des bonnes formatrices sur certains types de lentilles de contact.

### 3.Efficacité des solutions désinfectantes et composés naturels sur l'installation du biofilm

Les concentrations minimales inhibitrices CMI<sub>90</sub> du miel, *Calendula officinalis*, l'huile de jasmin et l'extrait de *Buddleja salviifolia* étaient de 125 µL/mL, 31,2 µL/mL, 15,6 µL/mL. 31,2 µL/mL, respectivement.

Les sous- CMI (½ et ¼ CMI) des solutions désinfectantes ont été testées pour la capacité d'inhibition du biofilm (**Tableau 5**).

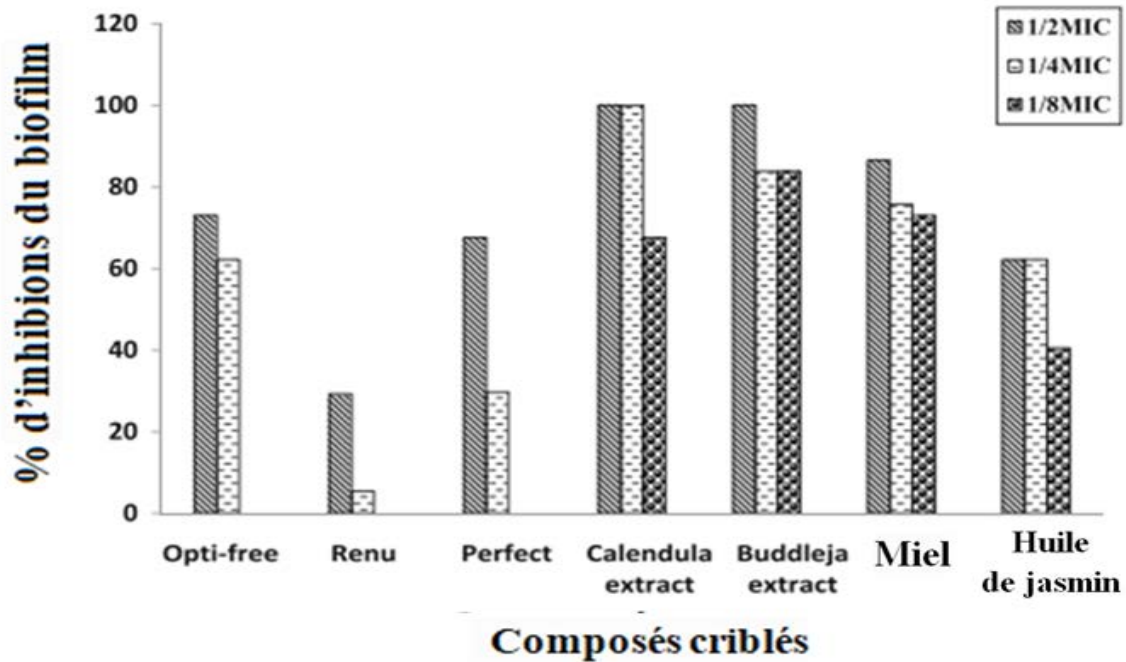
Dans cette étude ils ont observé que ½ de la CMI de la solution Opti-free a pu empêcher 72,97 % des isolats à former un biofilm. La solution Perfect prévient 67,56 % des isolats testés, alors que la solution Renu n'a pu prévenir que 29,72 % des isolats testés à former le biofilm (**Figure 7**).

Pour les composés naturels, ½ ; ¼ et ⅛ de la CMI du miel ont inhibé la production du biofilm des isolats testés avec un pourcentage de 86,5 %, 75,7 % et 73 % respectivement (**Tableau 6**).

De plus ½ ; ¼ et ⅛ CMI d'extrait de *Calendula* ont inhibé respectivement 100 %, 100 % et 67,6 % des isolats testés issus de la production du biofilm.

Pour l'extrait de *Buddleja salviifolia*, ½ ; ¼ et ⅛ CMI ont été capables d'inhiber respectivement 100 %, 83,8 % et 83,8 % des isolats testés de la production du biofilm.

Enfin, ½ ; ¼ et ⅛ CMI d'huile de jasmin ont pu inhiber respectivement 62,2 %, 62,2 % et 40,5 % des isolats testés de la formation du biofilm (**Figure. 7**).



**Figure. 6 :** Pourcentage d'inhibition du biofilm par des solutions CL-care sélectionnées et des composés naturels

**Tableau 5.** Efficacité des solutions désinfectantes sur l'installation du biofilm.

Les composés criblés	Sous- CMI	La CMI90 (µL/mL)
	½ CMI	
La solution polyvalente Renu	29,72 %	0,125 de leur concentration d'origine
La solution opti-Free	72,97 %	0,125 de leur concentration d'origine
La solution Perfect care dissolvant de protéines	67,56 %	0,25 de leur concentration d'origine

% : de l'inhibition du biofilm

**Tableau 6.** Efficacité des composés naturels sur l'installation du biofilm.

Les composés criblés	Sous- CMI			La CMI90 (µL/mL)
	½ CMI	¼ CMI	⅛ CMI	
<b>Le miel</b>	86,5 %	75,7 %	73 %	125 µL/mL
<b>d'extrait de Calendula <i>Calendula officinalis</i></b>	100 %	100 %	67,6 %	31,2 µL/mL
<b>l'huile de jasmin</b>	62,2 %	62,2 %	40,5 %	15,6 µL/mL
<b>l'extrait de <i>Buddleja Salviifolia</i></b>	100 %	83,8 %	83,8 %	31,2 µL/mL

% : de l'inhibition du biofilm

Les isolats formant un biofilm ont été exposés à des concentrations inférieures à la CMI des trois solutions désinfectantes trouvées sur le marché Égyptien pour tester leurs capacités à inhiber la formation du biofilm les CMI des solutions testées a été déterminées par la méthode Microdilution.

La CMI 90 pour Renu et opti-free de 0.125 de leur concentration d'origine.

Alors que CMI 90 de la solution Perfect était de 0,25 de sa concentration d'origine.

Les organismes testés (**Le miel, l'huile de jasmin, d'extrait de Calendula *Calendula officinalis*, l'extrait de *Buddleja Salviifolia*** ) ont également été exposés à des concentrations inférieures à la CMI de quatre composés naturels pour évaluer leur capacité à inhiber le biofilm.

*Les extraits de *Buddleja salviifolia* et de *Calendula officinalis* ont montré l'activité la plus élevée dans l'inhibition de la formation du biofilm avec un taux d'inhibition 100 %, suivis du miel 86,5 % puis de l'huile de jasmin 62,2 %.*

Il a été rapporté dans l'étude de **Yessad et Balhadi, 2015** que le miel inhibe les germes de *S.aureus* et de *P.aeruginosa* avec des pourcentages d'inhibition variant en fonction du miel utilisé, du degré de dilution pour *S. aureus* montrent que le miel pur est doué d'une faible activité antibactérienne avec des taux d'inhibition allant de 10 à 10.5 %. Les valeurs des taux d'inhibition obtenues par le miel dilué étaient de 0 à 9.5%. Pour *P.aeruginosa* le miel pure présente des taux d'inhibition plus, avec un taux moyen de 46,5 %. Le taux moyen d'inhibition obtenu par l'utilisation du miel dilué était de 32 % et 18.5 %.

L'efficacité du miel varie selon l'origine et la couleur du miel, sa durée de conservation, et si le miel était frais ou pas et selon la concentration de métabolites l'oxyde nitrique NO, le miel plus

foncé contient plus de métabolites NO, le stockage et le chauffage réduisent la teneur du miel en métabolites NO (Al-Waili, 2003).

**Barraud et al., 2006** ont montré que le l'oxyde nitrique (NO), provoque la dispersion de *P. aeruginosa*, bactéries formatrice du biofilm le NO et ses dérivés jouent un rôle dans le la dispersion du biofilm de *P. aeruginosa*.

#### **4.Efficacité des solutions désinfectantes et des composés naturels sur l'élimination du biofilm préformé**

Les différentes concentrations (8, 4, 2 fois CMI) de solutions désinfectantes ont été testées pour leurs effet d'élimination du biofilm. Toutes les solutions CL-care ont montré un faible effet sur l'élimination du biofilm préformé (**Tableau 7**).

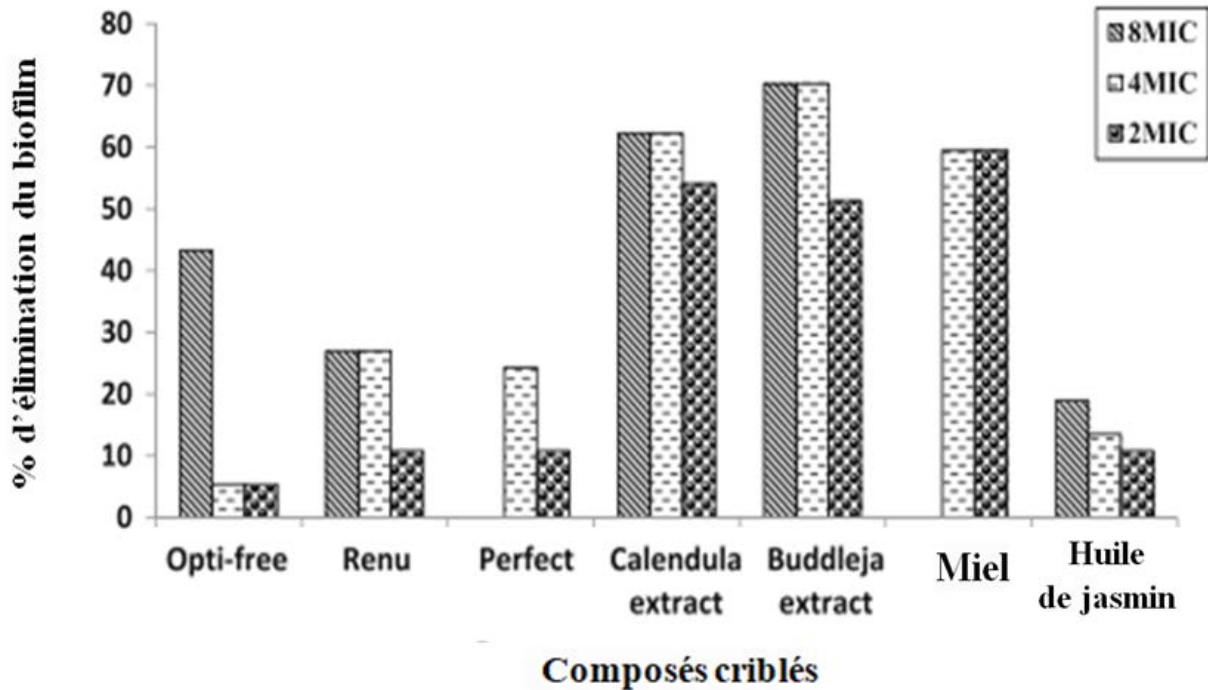
La CMI huit fois supérieure de la solution Opti free est considérée comme la meilleure pour l'élimination du biofilm car elle a éliminé le biofilm formé par 43,2 % des isolats. Alors que la CMI huit fois supérieure de la solution Renu a pu éliminer le biofilm formé par 27 % des isolats testés La CMI quadruple des solutions Perfect et Renu a permis d'éliminer le biofilm préformé de 24,3 % des isolats testés (**Figure 8**).

Le biofilm formé par les isolats a été également exposé à 8, 4 et 2 fois CMI de l'huile de jasmin, d'extrait de *Calendula officinalis* et d'extrait de *Buddleja salviifolia* et à 4 et 2 fois de la CMI du miel.

Le miel a éliminé le biofilm formé de 59,5 %4 de souches testées à une concentration de 2-4 \*CMI (**Tableau 8**).

Pour *Calendula officinalis*, des concentrations de 8, 4 et 2\* CMI ont pu éliminer le biofilm formé avec un pourcentage de 62,2 %, 62,2 % et 54,1 % de souches testées respectivement. En ce qui concerne *Buddleja salviifolia*, des concentrations de 8, 4 et 2 CMI ont éliminé le biofilm formé de 70,3 %, 70,3 % et 51,4 % des isolats respectivement.

L'huile de jasmin a montré le moins effet dont 8, 4 et 2\* CMI ont pu éliminer le biofilm formé par 18,9 %, 13,5 % et 10,8 % des isolats, respectivement (**Figure 8**).



**Figure. 7 :** Pourcentage d'élimination du biofilm par des solutions de soin filtrées et des composés naturels.

**Tableau 7.** Efficacité des solutions désinfectantes sur l'élimination du biofilm préformé

Les composés criblés	Sous- CMI	
	8*CMI	4*CMI
<b>La solution polyvalente Renu</b>	27 % réduit la résistance du biofilm de modérée à faible dans 21,6 %	24,3 %
<b>La solution opti-Free</b>	43,2 %	
<b>La solution Perfect care dissolvant de protéines</b>	62,2 %	24,3 %

% : de l'élimination du biofilm



**Tableau 8.** Efficacité des composés naturels sur l'élimination du biofilm préformé

Les composés criblés	Sous- CMI		
	8*CMI	4*CMI	2*CMI
Le miel		59,5 %	59,5 %
d'extrait de <i>Calendula officinalis</i>	62,2 %	62,2 %	54,1 %
l'extrait de <i>Buddleja Salviifolia</i>	70,3 %	70,3 %	51,4 %
l'huile de jasmin	18,9 %	13,5 %	10,8 %

% : de l'élimination du biofilm

Différents concentrations (8, 4, 2 fois MIC) de solution désinfectantes à été testées pour leur effet sur l'élimination du biofilm.

Les résultats de cette étude montrés que les 3 solutions ont une activité modérée contre l'élimination du biofilm.

La CMI 8 fois supérieure de la solution opti est considérée comme la meilleure pour l'élimination du biofilm car elle a éliminé le biofilm formé par 43,2% des isolats. Alors que la CMI 8 fois supérieure de la solution Renu a pu éliminer le biofilm formé par 27%des isolats testés.

Cette étude est la première à évaluer les propriétés anti-biofilms des solutions cl-care trouvées sur le marché égyptien contre les biofilms bactériens cultivés à la fois sur des plaques de microtitration en polystyrène et sur des cl souples (El-Ganiny *et al.*, 2017).

L'étude de *Szczotka et al.*, (2009) a rapporté que toutes les solutions d'entretien des lentilles testées étaient efficaces contre la croissance bactérienne planctoniques et inefficace contre le biofilm bactériens *in vitro*.

L'adhérence bactérienne aux lentilles de contact durables en hydrogel souple est considérée comme un facteur de risque de kératite microbienne associée aux *Enterobacteriaceae* (Cheng, 1999). Les lentilles sert de vecteur pour que les bactéries qui entrent en contact avec le tissu cornéen et provoquent des infections oculaires (Latkovic *et al.*, 1997).

Le risque de kératites infectieuses peut se lier aux lentilles souples qu'avec les lentilles rigides, parce que les lentilles rigides bougeant moins sur l'œil à cause que leurs diamètres importants (Kramer *et al.*, 2002).

La capacité des solutions Renu et opti-free à éliminer les biofilms formé sur les lentilles silicone hydrogel a été évaluée précédemment, Les résultats étaient insatisfaisants puisque les CMI des solutions Perfect et Renu a permis d'éliminer le biofilm préformé de 24,3% des isolats testés.

Les extraits de *Buddleja salviifolia* et de *Calendula officinalis* révèlent un excellent effet sur l'élimination du biofilm préformé avec un taux d'inhibition 70,3 %, 62,2 % respectivement, tandis que le miel a un effet modéré 59,5 %, Il a été rapporté précédemment que le miel était capable de pénétrer dans le biofilm de *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* (Merckoll, 2009). Cependant, dans cette étude le miel a montré une activité modérée dans l'élimination du biofilm par rapport à d'autres composés testés. Bien que l'huile de jasmin a montré une faible CMI (15,6 µL/mL) dans cette étude, elle ne peut pas être considérée comme efficace pour éliminer le biofilm préformé.

### **5. Efficacité des extraits de *Calendula* et de *Buddleja* sur l'inhibition de l'instatlation du biofilm et sur un biofilm préformé sur CL**

Pour l'extrait de *Calendula* et l'extrait de *Buddleja*,  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$  de la CMI ont été testés sur des isolats de *S. aureus* et *P. aeruginosa* formant un biofilm.

Pour *Calendula*,  $\frac{1}{2}$  CMI a inhibé la formation du biofilm sur CL pour les deux isolats, mais  $\frac{1}{4}$  CMI a inhibé la croissance de *P. aeruginosa* et a réduit la capacité de *S. aureus* à former un biofilm sur CL. Alors que  $\frac{1}{2}$  MIC et  $\frac{1}{4}$  MIC de *Buddleja* ont pu inhiber la formation du biofilm pour les deux isolats.

Pour les extraits de *Calendula* et de *Buddleja*, 4 et 8 fois la CMI a été testées sur des isolats de *S. aureus* et *P. aeruginosa* formatrices du biofilm, 4 et 8\* CMI de *P. aeruginosa* ont pu éliminer le biofilm préformé sur CL souple.

4 et 8 CMI de *Buddleja salviifolia* ont pu éliminer le biofilm préformé de *S. aureus* mais cette concentrations n'a fait qu'affaiblir le biofilm formé par *P. aeruginosa*.

**Tableau 9.** Efficacité des extraits de Calendula et de Buddleja sur l'inhibition de la formation du biofilm sur CL.

Les composés criblés	d'extrait de Calendula <i>Calendula officinalis</i>		l'extrait de Buddleja <i>Salviifolia</i>	
	½ CMI	¼ CMI	½ CMI	¼ CMI
les souches <i>S. aureus</i>	+	+	+	+
les souches <i>P. aeruginosa</i>	+	++	+	+

**Tableau 10.** Efficacité des extraits de Calendula et de Buddleja sur l'élimination du biofilm préformé sur CL.

Les composés criblés	d'extrait de Calendula <i>Calendula officinalis</i>		l'extrait de Buddleja <i>Salviifolia</i>	
	4*CMI	8*CMI	4*CMI	8*CMI
les souches <i>S. aureus</i>	+	+	+	+
les souches <i>P. aeruginosa</i>	+	+	+/-	+/-

Les plantes représentent une énorme ressource de molécules bioactives. Une étude récente a montré que certains d'entre eux contiennent des composés anti-biofilm qui inhibent la croissance, interrompent le quorum sensing (QS) ou empêchent l'adhésion bactérienne (Husain *et al.*, 2015).

Les principaux constituants actifs du *calendula* sont les terpénoïdes, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones et les huiles volatiles (Muley *et al.*, 2009), Il a été récemment rapporté que plusieurs flavonoïdes ont réduit la formation du biofilm dans *P. aeruginosa* et *E. coli* O157: H7 (Vikram *et al.*, 2010).

En ce qui concerne la question de la sécurité, des études de toxicité aiguë chez le rat et la souris indiquent que l'extrait est relativement non toxique. Une irritation oculaire minimale a été observée avec une formulation contenant de l'extrait lipophile de *C officinal* et aucune irritation avec d'autres extraits (Andersen *et al.*, 2010).

En outre, **Efstratiou et ses collaborateurs en 2012** ont évalué l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques et éthanoliques de *Calendula officinalis* contre un groupe de microorganismes pathogènes y compris: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella aerogenes*, par la méthode de diffusion sur disque. L'extrait méthanolique de *C. officinalis* a montré une meilleure activité antibactérienne contre la plupart des bactéries testées (**Efstratiou et al., 2012**).

*Buddleja officinalis* était utilisé par la médecine chinoise pour traiter les maladies oculaires (**Peng et al., 2008**). L'analyse phytochimique des extraits de *Buddleja* a identifié les polyphénols, les flavonoïdes et les phényléthanoïdes comme composants majeurs [(**Adedapo et al., 2009**) ; (**Sun et al., ( 2016)**), Il a été récemment rapporté que plusieurs flavonoïdes ont réduit la formation du biofilm dans *V. harveyi* et *E. coli* O157: H7 (**Vikram et al., 2010**). *Buddleja* a montré une activité antimicrobienne contre *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae* soutenant l'utilisation traditionnelle de la plante dans le traitement des infections oculaires (**Pendota et al., 2013**).

Des études *in vivo* sur des modèles animaux ont montré que les gouttes ophtalmiques contenant du *Buddleja* peuvent être utilisées en toute sécurité pour traiter la sécheresse oculaire [(**Peng et al., 2008**) ; (**Quan-long et al., 2009**)].

En outre, Il ya aussi d'autre compose naturelle testé dans l'étude de **Di Onofrio et al., (2019)** qui ont mis en évidence l'inhibition du biofilm de *Pseudomonas* sur les lentilles de contact souple (**Di Onofrio et al., 2019**).

**Di Onofrio** et ses collaborateurs en **2019** ont évalué les propriétés d'inhibitions et d'éradication de l'extrait d'huile de cannabidiol le CBD sur le biofilm produite par *P. aeruginosa* sur les lentilles de contact souples, en les comparant à une solution polyvalente pour lentilles de contact disponibles sur le marché italien et une solution naturelle d'*Allium sativum* (BGE) fermenté, le CBD à une concentration minimale inhibitrice CMI de 2 % a empêché la formation du biofilm d'environ 70 % à la fois des souches de références de laboratoire et des isolats provenant des prélèvements oculaires de *P. aeruginosa* formatrice du biofilm, cette capacité peut en fait d'être qualifiée élevée étant donné que le BGE est la solution polyvalente ont montré une capacité d'inhibition plus faible à une concentration de 55 % et 50 % respectivement.

# **Conclusion générale**

### Conclusion

Lorsque les CL sont insérés dans les yeux, certaines substances telles que les protéines, les glycoprotéines et les lipides de la déchirure s'accumulent rapidement sur la surface des CL, créant ainsi un environnement propice aux micro-organismes et par la suite la formation du biofilm.

Les biofilms développent une résistance accrue aux antibiotiques et aux agents antimicrobiens, ce qui représente un fardeau gênant pour la santé humaine, et le traitement des infections associées aux biofilms est actuellement un défi complexe. Ainsi, les ressources naturelles offrent une énorme bibliothèque pour le criblage d'agents anti-biofilm. Jusqu'à présent, une série de recherche a étudié les effets inhibiteurs des produits naturels sur la formation et le développement du biofilm bactérien, suggérant leur potentiel en tant qu'agents alternatifs pour les infections bactériennes.

La synthèse des articles choisis a permis de mettre en évidence l'effet antibactérienne et anti-biofilm des composés naturels de *Buddleja salviifolia*, *Calendula officinalis* et l'huile de jasmin, sur les lentilles de contact souple, cette dernière a montré que les extraits des deux premières plantes ont à un excellent pouvoir d'inhibition de l'installation du biofilm et sur un biofilm préformé.

**Références  
bibliographiques**

A

**Adedapo AA, Jimoh FO, Koduru S et al. (2009).** Assessment of the medicinal potentials of the methanol extracts of the leaves and stems of *Buddleja saligna*. BMC Complement Altern Med 9(1):21.

**Al-Waili NS. (2003).** Identification of nitric oxide metabolites in various honeys: effects of intravenous honey on plasma and urinary nitric oxide metabolites concentrations. J Med Food; Winter; 6(4):359-64.

**Anagaw B, Biadlegne F, Belyhun Y et al. (2011).** Bacteriology of ocular infections and antibiotic susceptibility pattern in Gondar University Hospital, North West Ethiopia. Ethiop Med J 49(2):117–123.

B

**BALI S. (2019).** Etude comparative entre deux méthodes d'extraction des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso, et évaluation de leur activité antimicrobienne. [MÉMOIRE DE MASTER, Biochimie appliquée. Biskra : Université Mohamed khider de Biskra Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie].

**Banerjee, D., Shivapriya, P. M., Gautam, P. K., Misra, K., Sahoo, A. K., & Samanta, S. K. (2019).** A Review on Basic Biology of Bacterial Biofilm Infections and Their Treatments by Nanotechnology-Based Approaches. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B : Biological Sciences, 90(2), 243-259.

**Barraud N, Hassett DJ, Hwang SH, Rice SA, Kjelleberg S, Webb JS. (2006).** Involvement of nitric oxide in biofilm dispersal of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 188(21), 7344–7353.



- Barthélemy, B. (2016).** La perméabilité des lentilles de contact (souple ou rigide).
- Bärtschi, M. (2009).** Lentilles de contact : indications et contraintes. *Forum Med Suisse* ; 9(11) :228-232.
- Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de Doctorat. Biologie cellulaire et biochimie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 76P.
- Benabdallah, H. (2016).** Techniques d'extraction, de purification et de conservation. Master Analyses biochimiques. Université Ferhat Abbas. Sétif. 75 p.
- Berthélémy, S. (2015).** Le port des lentilles de contact. *Actualités Pharmaceutiques*, 54(547), 37-40.
- Bezoui M. (2016).** Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine. Thèse de Doctorat : Microbiologi. Rabat : université de Mohammed V- Rabat, 111P.
- Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Fiandaca, M. J., Pedersen, J., Hansen, C. R., Andersen, C. B., Pressler, T., Givskov, M., & Høiby, N. (2009).** *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatric pulmonology*, 44(6), 547–558.
- Bloise L. (2016).** surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact. *EMC Ophthalmologie* ;13 :1-13.
- Bloise L. et Le Blond E., (2009).** Entretien des lentilles de contact. In *Les lentilles de contact*, 809-868. Mallet F., George M.-N., Vayr F. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.
- Bloise, L. (2017).** Surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 40(4), 329–337.

**Boulanger, G., George, M.-N. (2015).** Surface oculaire et lentilles. In Surface oculaire : rapport 2015, 381-393. Pisella P.-J., Baudouin C., Hoang-Xuan T. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.

**Bourcier, T., Chatel, M. A., Chaumeil, C., Borderie, V., & Laroche, L. (2007).** Kératites bactériennes. EMC - Ophtalmologie, 4(2), 19.

**Burmølle, M., Thomsen, T. R., Fazli, M., Dige, I., Christensen, L., Homøe, P., Tvede, M., Nyvad, B., Tolker-Nielsen, T., Givskov, M., Moser, C., Kirketerp-Møller, K., Johansen, H. K., Høiby, N., Jensen, P. Ø., Sørensen, S. J., & Bjarnsholt, T. (2010).** Biofilms in chronic infections - a matter of opportunity - monospecies biofilms in multispecies infections. FEMS immunology and medical microbiology, 59(3), 324–336.

C

**Chaine G. (2000).** ophtalmologie.paris :Doin.298p.

**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.

**Chiambaretta F. et Lazreg S. (2015) .** Kératoconjonctivite vernale. In Surface oculaire : rapport 2015, 247-251. Pisella P.-J., Baudouin C., Hoang-Xuan T. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-lesMoulineaux.

**Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ et al. (1985).** Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. J Clin Microbiol 22(6):996–1006.

**Clutterbuck AL, Woods EJ, Knottenbelt D, Clegg PD, Cochrane CA, Percival SL. (2007).**

Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, 121:1-2, pp 1-17.

**Coban AY, Ciftci A, Onuk EE et al. (2009).** Investigation of biofilm formation and relationship with genotype and antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with cystic fibrosis. *Mikrobiyol Bul* 43(4):563–573.

**Collee JG, Miles RS, Watt B. (1996).** Tests pour l'identification des bactéries, 14e éd. Churchill livingstone, New York.

**Collonge, C. (2010).** « Evolution des kératites amibiennes et vulgarisation des lentilles de contact ». Mémoire Présenté pour l'obtention de la licence professionnelle. Université Paris-Sud 11.

**Cope JR, Collier SA, Rao MM, Chalmers, R. Mitchell, L. et Richdale, k. (2015).** Contact lens wearer demographics and risk behaviors for contact lens-related eye infections: United States, 2014. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64:865–870.

**Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR & Lappin-Scott HM. (1995).** Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 49, 711-745.

**Costerton JW, Stewart PS & Greenberg EP. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science (New York, NY)* 284, 1318-1322.

**Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., & Marrie, T. J. (1987).** Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual review of microbiology*, 41, 435–464.

**Costerton, J. W., Ingram, J. M., & Cheng, K. J. (1974).** Structure and function of the cell envelope of gram-negative bacteria. *Bacteriological reviews*, 38(1), 87–110.

**Costerton, J. W., Irvin, R. T., & Cheng, K. J. (1981).** The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Annual review of microbiology*, 35, 299–324.

**Creuzot-Garcher C. (2006).** Lacrimal film and the ocular surface. *J Fr Ophtalmol*; 29 : 1053-9.

**Creuzot-Garcher C. (2015).** Anatomie et régulation du film lacrymal. In Surface oculaire : rapport 2015, 13-22. Pisella P.-J., Baudouin C., Hoang-Xuan T. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-lesMoulineaux.

D

**Dart JK, Saw VP, Kilvington S. (2009).** Acanthamoeba keratitis: diagnosis and treatment update 2009. *Am J Ophthalmol*: 148 : 487-99.

**Dart JK, Stapleton F, Minassian D. (1991).** Contact lenses and other risk factors in microbial keratitis. *Lancet* 338(8768):650–3

**De Nicola, R. (2014).** Complications du port de lentilles de contact. Chapitre 9, Ophtalmologie en urgence, 3è Edition, Elsevier Masson ; 309-313.7.

**Di Onofrio, V., Gesuele, R., Maione, A., Liguori, G., Liguori, R., Guida, M., Nigro, R. et Galdiero, E. (2019).** Prévention de la formation de biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* sur les lentilles de contact souples par l'extrait fermenté d'*Allium sativum* (BGE) et l'extrait d'huile de cannabinoïde (CBD). *Antibiotiques (Bâle, Suisse)* , 8 (4), 258.

**Donlan R. M. (2002).** Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), P881–890.

**Donlan RM, Costerton JW. (2002).** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiological Reviews*, 15, pp 167-193.

**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.

### E

**Earith, F. (1996).** « Les lentilles souples à renouvellement programmé et les jetables ». *Les cahiers d'ophtalmologie ; suppo 10 : 36-38*.

**Efstratiou E., Hussain A., Nigam P. and Moore J. (2012).** Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Grampositive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, pp. 173-176.

**El-Ganiny, A.M., Shaker, G.H., Aboelazm, A.A. et al (2017).** Prevention of Bacterial Biofilm Formation on Soft Contact Lenses Using Natural Compounds. *J Ophthal Inflamm Infect* 7, 11.

### F

**Flemming, H. C., and J. Wingender. (2010).** The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 8:623-33).

**Fontegnes, S., Chemia M. (2000).** Le guide des défauts visuels et leur correction. *Eddis : 34-36*.

**Foucaud, A. (2012).** Lentilles cornéennes : Choix, contaminations fongiques et amibiennes et conseils à l'officine. Thèse de Doctorat. Université de Limoges Faculté de Pharmacie.

### G

**Garella I. (2012).** Dispositivo di Estrazione Solido-Liquido ad Alta Efficienza. Patent n0001396896, 20 December.

**Ghazay F Alotaibi, Mamdouh A Bukhari. (2021).** Factors Influencing Bacterial Biofilm Formation and Development. *Am J Biomed Sci & Res.*12(6)

**Gray TB, Cursons RTM, Sherwan JF et al. (1995).** Acanthamoeba, bacterial, and fungal contamination of contact lens storage cases. *Br J Ophthalmol* 79:601– 605.

**Groupe d'experts sur l'examen des ingrédients cosmétiques. (2001).** Rapport final sur l'évaluation de l'innocuité de l'extrait de *Calendula et de C. officinalis* . *Int J Toxicol* 20(Suppl 2):13–20) ; (Andersen *et al.*, 2010).

## H

**Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S, Høiby N, Moser C, Moser A, Costerton JW, Møller A & Bjarnsholt T. (2012).** Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*, Thematic Issue 'Biofilms II' 65: 146–157.

**Henrici A. T. (1933).** Studies of Freshwater Bacteria: I. A Direct Microscopic Technique. *Journal of bacteriology*, 25(3), 277–287.

**Hildebrandt C, Wagner D, Kohlmann T. (2012).** In-vitro analysis of the microbicidal activity of 6 contact lens care solutions. *BMC Infect Dis* 12:241.

**Høiby N. (2014).** A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. *Pathogens and disease*, 70(3), 205–211.

**Høiby, N. (2017).** A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS*, 125(4), 272-275.

**Hou W, Sun X, Wang Z et al. (2012).** Biofilm-Forming capacity of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* from Ocular Infections. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53:5624–5631.

I

**Imamura, Y., Chandra, J., Mukherjee, P. K., Lattif, A. A., Szczotka-Flynn, L. B., Pearlman, E., Lass, J. H., O'Donnell, K., & Ghannoum, M. A. (2008).** *Fusarium* and *Candida albicans* biofilms on soft contact lenses: model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(1), 171–182.

J

**J.colin, F.Aitali, F.malet, D.touboul, J.feki. (2006).** kératite bilatérale chez une patiente porteuse de lentilles souples cosmétiques,page 666.

**Jacques, M., Aragon, V. and Tremblay, Y.D. (2010).** Biofilm Formation in Bacterial Pathogens of Veterinary Importance. *Animal Health Research Reviews*, 11, 97-121.

**Jamal, M., Tasneem, U., Hussain, T., & Andleeb, S. (2015).** Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *Research and Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4.

**Jones DB, Visvesvara GS, Robinson NM. (1975).** Acanthamoeba polyphaga keratitis and Acanthamoeba uveitis associated with fatal meningoencephalitis. *Trans Ophthalmol Soc UK*: 95 ; 221–32.

**Joseph T. Barr. (2006).** 20 Years of Contact Lenses. CLS staff. *Contact Lens Spectrum*.

K

**Kaplan, J. B. (2010).** "Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications and potential therapeutic uses." *J Dent Res* 89 ; (205-218).

**Karatan, E., & Watnick, P. (2009).** Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 73(2), 310–347.

**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*.

**Kilvington S, Lonnen J. (2009).** A comparison of regimen methods for the removal and inactivation of bacteria, fungi and Acanthamoeba from two types of silicon hydrogel lenses. *Cont Lens Anterior Eye* 32:73–77.

**Klein Geraldine (2011).** Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines. PhD Thesis, UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE. (Consulté le 19 avril 2022).

**Kramer A., Rudolph P., Werner HP. (2002).** Antimicrobial efficacy of contact lens care products and critical comment on ISO/FDIS 14729, *ophtalmo1*, 33: 343-36 1.

**KRIFA F, Khochtali S, Ben hadjer hamida F. (2011).** « Les kératites amibiennes ». *Revue Tunisienne d'Infectiologie*;5:7–11. CHAINE G. *Ophtalmologie*. Paris : Doin, 2000. 298 p.

## L

**Larkin DF, Kilvington S, Easty DL. (1990).** Contamination of contact lens storage cases by Acanthamoeba and bacteria. *Br J Ophthalmol* 74(3):133–135.

**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.



**Lebeaux, D., & Ghigo, J. M. (2012).** Infections associées aux biofilms. médecine/sciences, 28(8-9), 727-739.

**Leger, AJ, Desai, JV, Drummond, RA, Kugadas, A, Almaghrabi, F, Silver, P, Caspi, RR. (2017).** An Ocular Commensal Protects against Corneal Infection by Driving an Interleukin-17 Response from Mucosal  $\gamma\delta$  T Cells. *Immunity*.18;47(1):148-158.e5.

**Lewis K. (2007).** Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol* 5, 48-56.

**Li Y, Li X, Hao Y, Liu Y, Dong Z, Li K. (2021).** Biological and Physiochemical Methods of Biofilm Adhesion Resistance Control of Medical-Context Surface. *Int J Biol Sci* ; 17(7):1769-1781.

**Lily Therese, k. et Madhavan, L. (2004).** microbiology research centre vision research foundation l8, college road, chennai - 600 006.2004.

**Lobo A-M, Agelidis AM, Shukla D. (2019).** Pathogenesis of herpes simplex keratitis: the host cell response and ocular surface sequelae to infection and inflammation. *Ocul Surf*. 17(1):40-9.

## M

**Malet, F., Peyre, C. (2002).** « Correction des amétropies par lentilles de contact ». Paris : Elsevier Masson. (EMC Ophtalmologie, 21-070-B-10).

**Marie Elisabeth LUCCHESI. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Université de La Réunion, thèse.

**McLaughlin-Borlace L, Stapleton F, Matheson M, Dart JK. (1998).** Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis. *J Appl Microbiol*;84: 82738.

**Mély, R. (2009).** Lentilles thérapeutiques. In *Les lentilles de contact*, 661-670. Mallet F., George M.-N., Vayr F. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.

**Merckoll P, Jonassen T, Vad ME et al. (2009).** Bacteria, biofilm and honey: a study of the effects of honey on 'planktonic' and biofilm-embedded chronic wound bacteria. *Scand J Infect Dis* 41(5):341–347.

**Muley BP, Khadabadi SS, Banarase NB. (2009).** Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): A Review. *Trop J Pharm Res* 8(5):455–465.

**Musk, D.J., Banko, D.A., Hergenrother, P.J. (2005).** Iron Salts Perturb Biofilm Formation and Disrupt Existing Biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry & Biology*; 12: 789–796.

**O**

**Oncel S, Pinar E, Sener G et al. (2010).** Evaluation of bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 39(1):52–55.

**P**

**Paibon W, Yimnoi C-A, Tembap N et al. (2011).** Comparison and evaluation of volatile oils from three different extraction methods for some Thai fragrant flowers. *Int J Cosmet Sci* 33:150–156.

**Parsek, M. R., & Singh, P. K. (2003).** Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annual review of microbiology*, 57, 677–701.

**Pasteur L (1864).** Memoire sur la fermentation acetique. *Ann. Scient. L'Ecole Normale Superiure* 133–158 (in: Oeuvres des Pasteur).

**Pendota SC, Aderogba MA, Ndhkala AR et al. (2013).** Antimicrobial and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Buddleja salviifolia* (L.) Lam. leaf extracts and isolated compounds. *J Ethnopharmacol* 148(2):515–520.

**Peng QH, Yao XL, Wu QL et al. (2008).** Effects of extract of *buddleja officinalis* on prevention of dry eye in castrated rabbits. *Zhonghua yan ke za zhi* 44(11):1011–1019.

## Q

**Quan-long W, Qing-hua P, Xiao-lei Y et al. (2009).** Effects of eye drops with extract of *Buddleja officinalis* on histo-morphology of lacrimal gland cells of castrated in rats with dry eyes. *J Tradit Chin Med* 5:007.

## R

**Radford CF, Bacon AS, Dart JK. (1995).** Risk factors for acanthamoeba keratitis in contact lens users: a case-control study. *BMJ* 310(6994):1567–1570.

**Radford CF, Lehmann OJ, Dart JK. (1998).** Acanthamoeba keratitis : multicentre survey in England 1992–1996. National Acanthamoeba Keratitis Study Group. *Br J Ophthalmol*; 82 : 1387–92.

**Rahman ZA, Harun A, Hasan H et al. (2013).** Ocular surface infections in north eastern state of malaysia: a 10-year review of bacterial isolates and antimicrobial susceptibility. *Eye Contact Lens* 39(5):355–60.

**Rambelomamonjy H. (2017).** Evaluation de la formation du biofilm sous différentes conditions de culture (milieu de croissance, acidité et température) chez : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de Master : biotechnologie. Antananarivo : Université d'Antananarivo, 32 P.

**Ratnumnoi, Ravee., Keorochana N. et Sontisombat, C. (2017).** Normal flora of conjunctiva and lid margin, as well as its antibiotic sensitivity, in patients undergoing cataract surgery at Phramongkutklao Hospital; 11: 237–241.

**Renier G. (2008).** Immunologie de l'œil. Rev Fr Allergol, 48, 303-313.

**Roopashree TS, Dang R, Shobha RH et al. (2008).** Antibacterial activity of antipsoriatic herbs: *Cassia tora*, *Momordica charantia* and *Calendula officinalis*. Int J of Appl Res Nat Prod 3:20–28.

**ROTH HW, MALET F, CAVANAGH H. (2005).** Complications des lentilles de contact. Paris: Elsevier Masson, 214 p.

**Roth HW, Malet F, Cavanagh H. (2005).** complications des lentilles de contact. Paris : Elsevier Masson .214p.

## S

**Sherif ZH, Labib FM, Mahmoud AH et al. (1976).** Acute conjunctivitis in rural Egyptian community. Bull Ophthalmol Soc Egypt 69(73):1–88m.

**Stapleton, F., & Dart, J. (1995).** *Pseudomonas* keratitis associated with biofilm formation on a disposable soft contact lens. The British journal of ophthalmology, 79(9), 864–865.

**Sthapit, PR. et Tuladhar, NR. (2014).** Conjunctival Flora of Normal Human Eye. JSM Ophthalmol 2(2): 1021.

**Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002).** Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), 187-209.

**Sun M, Luo Z, Liu Y et al. (2016).** Identification of the major components of *Buddleja officinalis* extract and their metabolites in rat urine by UHPLC LTQ-Orbitrap. *J Food Sc* 81(10):H2587–H2596.

**Sutherland IW. (2001).** Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*. 147:3–9.

**Szczotka-Flynn L, Ahearn DG, Barr J, Benjamin WJ, Kiang T, Nichols JJ, et al. (2013).** History, evolution, and evolving standards of contact lens care. *Contact Lens Anterior Eye J Br Contact Lens Assoc.* 15 ;36 Suppl 1:S4-8.

**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.

**Szczotka-Flynn LB, Imamura Y, Chandra J et al. (2009).** Increased resistance of contact lens related bacterial biofilms to antimicrobial activity of soft contact lens care solutions. *Cornea* 28(8):918–926.

## T

**Taburet Y, Colin J.(1986).** Etude Clinique de 30 observations de complication en contactologie-  
contactologia, 8F: 17 1-176.

**Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014).** Bacterial biofilms: their importance in animal health and public health. *Canadian journal of veterinary research* 78(2), 110–116.

U

**Upadhyay, M. Karmacharya, P. Koirala, S. Shah, D. Shakya, S. Shrestha, J. et Whitcher, J. (2001).** The Bhaktapur Eye Study: Ocular trauma and antibiotic prophylaxis for the prevention of corneal ulceration in Nepal. *British Journal of Ophthalmology*, 85(4), 388–392.

V

**Vikram A, Jayaprakasha GK., Jesudhasan PR, Pillai SD, Patil BS. (2010).** Suppression of bacterial cell-cell signalling, biofilm formation and type III secretion system by citrus flavonoids. *J. Appl. Microbiol*; 109:515–527.

W

**Willcox, M. D. P. (2013).** Microbial Adhesion to Silicone Hydrogel Lenses. *Eye & Contact Lens : Science & Clinical Practice*, 39(1), 61-66.

Y

**Yessad M. Balhadi K. (2016).** L'effet Anti biofilm a base de pro-miel. [MÉMOIRE DE MASTER, Pharmacognosie et phytothérapie. Mostaganem: Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie].

**Yukinobu O, Shinichiro K, Akiyoshi T. (2006).** Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* on intraocular lens material. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47:2971–2975.

Z

**Zobell, C. E., & Allen, E. C. (1935).** The Significance of Marine Bacteria in the Fouling of Submerged Surfaces. *Journal of bacteriology*, 29(3), 239–251.

### **a. Webographie**

DESPLACES.N. Infectiologie.Org.Tn, 2011, <https://www.infectiologie.org.tn>.

<https://www.visiondirect.fr/blog/lentilles-de-contact-intelligentes>

# **Annexes**





# Prevention of Bacterial Biofilm Formation on Soft Contact Lenses Using Natural Compounds

Amira M. El-Ganiny<sup>1\*</sup>, Ghada H. Shaker<sup>1</sup>, Abeer A. Aboelazm<sup>2</sup> and Heba A. El-Dash<sup>1</sup>

## Abstract

**Purpose:** In eye care field, contact lenses (CL) have a great impact on improving vision, but their use can be limited by ocular infection. CL-associated infections can be reduced by good attention to CL storage case practice.

CL-care solutions should be able to control microbial growth on CL.

The aim of the study was to evaluate and compare the efficacy of CL-care solutions (found in Egyptian market) with some natural compounds in removal and inhibition of bacterial biofilm formed on soft CL.

Clinical isolates were recovered from patients having conjunctivitis from Benha University Hospital and identified microbiologically. Quantification of biofilm was done using microtiter plate assay. Three multipurpose CL-care solutions were examined for their ability to remove and inhibit biofilm. Also four natural extracts having antibacterial activity and are safe on eye were tested for their anti-biofilm activity.

**Results:** The major bacterial isolates from eye infections were *Pseudomonas aeruginosa* (36%) and *Staphylococcus* spp. (37.8%). Only 33.3% of isolates showed ability to produce weak to moderate biofilm. The tested multi-purpose CL-care solutions showed moderate ability to remove preformed biofilm. Among the tested natural compounds, *Calendula officinalis* and *Buddleja salviifolia* extracts showed an excellent efficacy in inhibition of biofilm and also removal of preformed biofilm.

**Conclusion:** This study demonstrated that isolates from infected eye and CL-cases showed weak to moderate biofilm formation. *Calendula officinalis* and *Buddleja salviifolia* extracts showed excellent effect on inhibition and removal of biofilm, these extracts could be added into CL-care solutions which could markedly reduce eye infections during CL-wear.

**Keywords:** Biofilm, Contact lenses, *Calendula officinalis*, *Buddleja salviifolia*

## Introduction

The human's eye is protected by many factors that prevent ocular infections. However, in certain circumstances, microorganisms gain access to the eye causing variety of infections. The most common bacteria that can cause eye infections are *Staphylococcus aureus*, *Sterptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hemophilus influenza* and *Klebsiella* species [1].

In the eye care field, contact lenses (CL) have a great impact on improving vision, but their use can be limited

by ocular infection. CL-wear is the most important risk factor for microbial infections. Wearers of soft lenses are at higher risk than other types of lenses [2]. Wearing contact lenses is associated with changes in the ocular microbiota, the microbiota of ocular conjunctiva was found to be similar to that of skin under the eye [3]. Gram-negative bacteria are the predominant cause of CL-related microbial keratitis with *Pseudomonas* spp. being the most commonly isolated organism [4–7], while *Staphylococcus* spp. and *Serratia* spp. come next [8, 9]. Infections are more likely if there is poor lens hygiene



## Article

**Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation on Soft Contact Lenses by *Allium sativum* Fermented Extract (BGE) and Cannabinol Oil Extract ( CBD )****Valeria Di Onofrio <sup>1,\*</sup> , Renato Gesuele <sup>2</sup>, Angela Maione <sup>2</sup> , Giorgio Liguori <sup>3</sup>, Renato Liguori <sup>1</sup>, Marco Guida <sup>2</sup> , Roberto Nigro <sup>4</sup> and Emilia Galdiero <sup>2</sup>** 

- <sup>1</sup> Department of Sciences and Technologies, University of Naples “Parthenope”, Business District, Block C4, 80143 Naples, Italy; denevo88@gmail.com
- <sup>2</sup> Department of Biology, University of Naples “Federico II”, Via Cinthia, 80126 Naples, Italy; renato.gesuele@unina.it (R.G.); angela.maione3@gmail.com (A.M.); marco.guida@unina.it (M.G.); emilia.galdiero@unina.it (E.G.)
- <sup>3</sup> Department of Movement Sciences and Wellbeing, University of Naples “Parthenope”, Via Medina 40, 80133 Naples, Italy; giorgio.liguori@uniparthenope.it
- <sup>4</sup> Department of Chemical, Material and Production Engineering, University of Naples “Federico II”, Piazzale V. Tecchio 80, 80125 Naples, Italy; roberto.nigro@unina.it

\*Correspondence: valeria.dionofrio@uniparthenope.it

Received: 15 November 2019; Accepted: 9 December 2019; Published: 10 December 2019

**Abstract:** Two natural mixtures, *Allium sativum* fermented extract (BGE) and cannabinol oil extract

(CBD), were assessed for their ability to inhibit and remove *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on soft contact lenses in comparison to a multipurpose Soft Contact Lens-care solution present on the Italian market. *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027 strain) and *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains isolated from ocular swabs were tested. Quantification of the biofilm was done using the microtiter plate assay and the fractional inhibitory concentration index was calculated. Both forms of *Pseudomonas aeruginosa* generated biofilms. BGE at minimal inhibitory concentration (MIC) showed inhibition percentages higher than 55% for both strains, and CBD inhibited biofilm formation by about 70%. The care solution at MIC inhibited biofilm formation by about 50% for both strains tested. The effect of BGE on the eradication of the microbial biofilm on soft contact lenses at MIC was 45% eradication for

*P. aeruginosa* ATCC 9027 and 36% for *P. aeruginosa* clinical strain. For CBD, we observed 24% biofilm eradication for both strains. For the care solution, the eradication MICs were 43% eradication for *P. aeruginosa* ATCC 9027 and 41% for *P. aeruginosa* clinical strain. It was observed that both the test soft contact lenses solution/BGE (fractional inhibitory concentration index: 0.450) and the test soft contact lenses solution/CBD (fractional inhibitory concentration index: 0.153) combinations exhibited synergistic antibiofilm activity against most of the studied bacteria. The study showed that BGE and CBD have good

---

## 1. Introduction

Diseases related to the eye are frequently observed in clinical practice. Soft Contact lenses have a great impact on improving vision, but their use can often be associated with a risk of infections [1]. Eye infections related to the use of soft contact lenses are linked to various risk factors such as falling

## ملخص

في مجال العناية بالعيون ، العدسات اللاصقة (CL) لها تأثير كبير على تحسين الرؤية ، ومع ذلك ، فإن تكوين البيوفيلم عليها يمكن أن يكون عامل خطر بسبب التهابات العين ، والهدف من تحليل المقال هو تقييم ومقارنة فعالية محاليل CL-care مع بعض المركبات الطبيعية في القضاء على البيوفيلم البكتيري وتثبيطه على الطبقة اللينة CL. تم استعادة العزلات السريرية من المرضى الذين يعانون من التهاب الملتحمة لتحديد الميكروبيولوجي ، كما تم إجراء القياس الكمي للغشاء الحيوي باستخدام فحص لوحة ميكروتيتر. تم فحص ثلاثة محاليل CL-care متعددة الاستخدامات لمعرفة قدرتها على القضاء على الأغشية الحيوية وتثبيطها ، وأظهرت نتائج الدراسة أن العزلات البكتيرية الرئيسية من عدوى العين هي *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus spp*. أظهرت حلول CL-care التي تم اختبارها قدرة معتدلة على التخلص من الأغشية الحيوية سابقة التشكيل، في حين أن منتجين طبيعيين، وهما مستخلصات *Buddleja salviifolia* و *Calendula officinalis* لهما فعالية ممتازة في تثبيط الأغشية الحيوية وكذلك في القضاء على الغشاء الحيوي المُشكّل مسبقاً.

**الكلمات المفتاحية** Biofilm ، العدسات اللاصقة ، *Buddleja salviifolia* ، *Calendula officinalis* ، حلول CL-care.

## Résumé

Dans le domaine des soins oculaires, les lentilles de contact (CL) ont un grand impact sur l'amélioration de la vision, néanmoins, la formation de biofilm sur ces derniers peut être un facteur de risques causant des infections oculaires, le but de l'analyse de ces articles est d'évaluer et de comparer l'efficacité des solutions CL-care avec certains composés naturels dans l'élimination et l'inhibition du biofilm bactérien formé sur le CL souple. Des isolats cliniques ont été récupérés chez des patients atteints de conjonctivite pour l'identification microbiologique, aussi la quantification du biofilm a été effectuée à l'aide d'un test sur plaque de microtitration. Trois solutions CL-care polyvalentes ont été examinées pour leur capacité à éliminer et à inhiber le biofilm. Les résultats d'article étudiés montre que les principaux isolats bactériens provenant d'infections oculaires étaient *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus spp*. Les solutions CL-care testées ont montré une capacité modérée à éliminer le biofilm préformé, alors que deux produits naturels, les extraits de *Calendula officinalis* et de *Buddleja salviifolia* ont une excellente efficacité dans l'inhibition du biofilm et également dans l'élimination du biofilm préformé.

**Mots clés** Biofilm, Lentilles de contact, *Calendula officinalis*, *Buddleja salviifolia*, les solutions CL-care.

## Abstract

In the field of eye care, contact lenses (CL) have a great impact on improving vision, however, the formation of biofilm on them can be a risk factor causing eye infections, the goal of l analysis of the article to evaluate and compare the effectiveness of CL-care solutions with certain natural compounds in the elimination and inhibition of the bacterial biofilm formed on the soft CL. Clinical isolates were recovered from patients with conjunctivitis for microbiological identification, also biofilm quantification was performed using a microtiter plate assay. Three versatile CL-care solutions were examined for their ability to eliminate and inhibit biofilm. The article results studied show that the main bacterial isolates from eye infections were *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus spp*. The CL-care solutions tested showed a moderate ability to eliminate preformed biofilm, while two natural products, *Calendula officinalis* and *Buddleja salviifolia* extracts have excellent efficacy in inhibiting biofilm and also in eliminating biofilm preformed..

**Keywords** Biofilm, Contact lenses, *Calendula officinalis*, *Buddleja salviifolia*, CL-care solution.