

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de BIOLOGIE



MÉMOIRE

Présenté par

IMA Souleymane

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie et Contrôle de Qualité

Inhibition de la formation du biofilm des souches de Staphylocoques isolées de lentille de contact

Soutenu le 13/09/2023 , devant le jury composé de :

Présidente	HASSAINE Hafida	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	BELLIFA Samia	Maître de conférences A	Université de Tlemcen
Examinatrice	KARA TERKI Ibtissem	Maître de conférences A	Université de Sidi Bel Abbès

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Avant tous je remercie Dieu, Allah tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

Je suis fier d'exprimer mes vives remerciement et ma gratitude à mes parents qui, de par leur soutien, leur présence, leur prière, j'ai pu atteint ce niveau, que dieu vous protège et vous garde, vous accorde santé, bonheur et longue vie.

Mes sincères remerciements à ma promotrice Mme Benamar Samia née Bellifa, pour l'orientation, la confiance, la patience et la disponibilité qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

En second lieu, je tenais à remercier Mme HASSAINE Hafida, Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen et chef de Laboratoire de Microbiologie Appliqué à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE), de m'avoir donné le privilège d'élaborer mon mémoire au niveau de LAMAABE. je lui remercie profondément aussi bien en tant que membres du jury et pour ses conseils et ses recommandations an niveau de laboratoire, sa contribution à l'amélioration portée dans nos études durant tous ces années d'enseignement.

Mme KARA TERKI Ibtissem Maître de Conférences A, Université de Sidi Bel Abbès, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

J'adresse ma gratitude à Mr Benamar Ibrahim, pour ses bonnes explications et sa collaboration avec nous dans l'accomplissement de ce modeste travail.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude envers les personnels de notre laboratoire, qui a joué un rôle essentiel dans le déroulement de cette étude, je leur suis profondément reconnaissant pour leur dévouement et leur collaboration précieuse.

IMA Souleymane

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

A ma chère mère, Ce travail est le fruit de tes efforts, de tes prières et de tes encouragements, et ma profonde gratitude pour ton éternel amour. 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... Qu 'Allah t'accorde longue vie auprès de nous.

A la mémoire de mon défunt père et de mon frère. Leur présence dans ma vie a été inestimable et leur départ a laisser un vide immense .Que dieu le tout puissant vous accueille dans son éternel paradis et vous accorde sa clémence et sa miséricorde.

A mes chers Frères IMA Moussa et IMA Illiassou Sawadogo Djibril, Sawadogo Arouna et à mes très chères soeurs IMA Aminata, Sawadogo Zenab, Sawadogo Fatim. Que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur. Je suis profondément reconnaissant d'avoir eu de la chance de les avoir dans ma vie.

A la personne très chère pour moi, Billa Aminata. Tout long du parcours, tu as été une source inépuisable de soutien. Qu 'Allah veille sur toi.

A mon équipe de laboratoire, Lina Waafa Benmiloud et Sonia Abi Ayad pour leur soutien et leur dévouement tout long du travail

A mes amis qu'on a passé de merveilleux souvenir durant ces deux années d'étude et à toutes les personnes qui ont contribué à ce travail.

A mes amis du Burkina Faso pour leur soutien moral.

IMA Soufeymane

ملخص

عند استخدام العدسات اللاصقة (LC) ، يعد الالتصاق الميكروبي وتكوين الأغشية الحيوية من التهديدات الخطيرة لصحة العين بسبب تطور الأغشية الحيوية الناضجة على أسطح LC المرتبطة بالتهابات خطيرة في العين مثل التهاب القرنية. الهدف من هذا العمل هو تطوير نهج مبتكر لتثبيط الأغشية الحيوية بشكل فعال ، مع التركيز على استخدام عامل مضاد للميكروبات مثل حامض الستريك. في هذه الدراسة ، تم الكشف عن عزلات بكتيريا الجرام إيجابية من موانع الحمل المنخفضة للحاملات غير المصحوبة بأعراض. تم إنشاء نماذج بيوفيلم في المختبر على LC معقم غير ملبوس. ثم تقييم تأثير محلول حامض الستريك ومحلول صيانة العدسات اللاصقة Biotrue على القدرة على تثبيط وإزالة البيوفيلم. كان تركيز حامض الستريك عند 1% و 2% ضرورياً ضد الشكل العوالق للبكتيريا. تركيز 3% لاستئصال الغشاء الحيوي الكامل. بالنسبة لمحلول Biotrue ، كان التركيز 100% كافياً لتثبيط نمو البكتيريا والغشاء الحيوي. أثبتت الحلول كفاءة كبيرة في منع تركيب وإزالة البيوفيلم على العدسات اللاصقة اللينة.

الكلمات المفتاحية: العدسات اللاصقة ، حامض الستريك ، Biotrue ، البيوفيلم

Résumé

Lors de l'utilisation de lentilles de contact (LC), l'adhérence microbienne et la formation de biofilms sont des menaces cruciales pour la santé oculaire en raison du développement de biofilms matures sur les surfaces LC associées à des infections oculaires graves tels que la kératite. Le but de ce travail est le développement d'une approche novatrice pour inhiber efficacement les biofilms, en mettant l'accent sur l'utilisation d'agent antimicrobien tel que l'acide citrique. Dans cette étude des isolats de bactéries Gram positives ont été déposées à partir des LC des porteurs asymptomatiques. Des modèles de biofilms ont été créés *in vitro* sur LC non porté stérile. Ensuite une évaluation de l'effet de la solution d'acide citrique et la solution d'entretien de lentille de contact Biotrue sur la capacité à inhiber et éradiquer le biofilm. La concentration d'acide citrique à 1% et 2% était nécessaire contre la forme planctonique des bactéries. Une concentration de 3% pour éradication complète du biofilm. Quant à la solution Biotrue, une concentration 100% était suffisante pour inhiber la croissance bactérienne et le biofilm. Les solutions ont démontré une grande efficacité dans inhibition de l'installation et l'élimination du biofilm sur les LC souple.

Mots clés : Lentille de contact, acide citrique, Biotrue, biofilm

Summary

When using contact lenses (LC), microbial adhesion and biofilm formation are critical threats to ocular health due to the development of mature biofilms on LC surfaces associated with serious ocular infections such as keratitis. The aim of this work is the development of an innovative approach to effectively inhibit biofilms, with emphasis on the use of antimicrobial agent such as citric acid. In this study, isolates of gram-positive bacteria were detected from the LCs of asymptomatic carriers. Biofilm models were created *in vitro* on sterile unworn LC. Then the evaluation of the effect of citric acid solution and Biotrue contact lens maintenance solution on the ability to inhibit and eradicate biofilm. The concentration of citric acid at 1% and 2% were necessary against the planktonic form of the bacteria. A concentration of 3% for complete biofilm eradication. As for the Biotrue solution, a 100% concentration was sufficient to inhibit bacterial growth and biofilm. The solutions have demonstrated great efficiency in inhibiting the installation and elimination of biofilm on soft contact lenses.

Key words: Contact lens, citric acid, Biotrue, biofilm

Table des matières

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale.....2

Partie I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les lentilles de contact.....5

1 Historique des lentilles de contact6

2 Définition6

3 Classification des lentilles de contact7

3.1 Types des lentilles de contact7

3.1.1 Lentilles rigides7

3.1.2 Lentilles souples7

3.1.3 Lentilles hybrides8

3.2 Fonctions des lentilles de contact8

3.2.1 Lentilles correctrices8

3.2.2 Lentilles thérapeutiques.....8

3.2.3 Lentille cosmétiques.....8

4 Environnement des lentilles de contact.....9

4.1 Film lacrymal.....9

4.2 Microbiote oculaire.....10

Chapitre II : Risques liés à l'utilisation des lentilles de contact.....11

1 Kératites microbiennes.....12

1.1 Kératites bactériennes12

1.2 Kératites fongiques14

1.3 Kératites amibiennes.....15

1.4 Kératites virales16

2 Formation de biofilm sur les lentilles de contact16

2.1 Définition du biofilm16

2.2 Etapes de formation de biofilms sur LC.....17

2.2.1	Conditionnement de surface des lentilles de contact.....	17
2.2.2	Transport des bactéries vers la surface LC.....	18
2.2.3	Adhésion.....	18
2.2.3.1	Adhésion réversible.....	18
2.2.3.2	Adhésion irréversible: maturation de l'encrage bactérienne.....	18
2.2.4	Développement précoce du biofilm	19
2.2.5	Maturation du biofilm	19
2.2.6	Détachement de bactéries.....	19
2.3	Facteurs favorisant la formation du biofilm	20
2.3.1	Caractéristiques de la surface	21
2.3.2	Caractéristiques du milieu	21
2.3.3	Propriétés des cellules	21
Chapitre III : Solution de nettoyage et entretien des lentilles de contact		22
1	Historique l'entretien des lentilles de contact.....	23
2	Solutions d'entretien	23
2.1	Solutions multifonctions.....	24
2.2	Solutions oxydantes.....	24
2.3	Solutions uni-fonction	24
3	Guide pour une bonne utilisation des lentilles de contact.....	25
Partie II		
MATERIEL ET METHODES		
1	Lieu d'étude	27
2	Prélèvement.....	27
3	Enrichissement.....	Erreur ! Signet non défini.
4	Ensemencement et isolement.....	27
5	Identification des souches	27
6	Conservation des souches	28
6.1	Conservation sur gélose nutritive	28
6.2	Conservation dans le glycérol.....	28
7	Evaluation de la formation de biofilms in vitro	28
7.1	Méthode de Rouge Congo Agar (RCA)	28
7.2	Méthode de plaque de culture de tissu (TCP).....	30

8	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'acide citrique	31
9	Activité anti-adhésive de l'acide citrique et la solution biotruie contre sur de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i>	31
10	Activité de l'acide citrique et de la solution Biotruie sur un biofilm préformé	31
11	Calcul de l'efficacité de l'acide citrique et la solution biotruie (activité anti-adhésive et éradicatrice).....	32

Partie III
RESULTATS & DISCUSSION

1	Prélèvements	34
2	Identifications des souches isolées.....	34
2.1	Etude macroscopique.....	34
2.2	Identification biochimique.....	35
2.2.1	Test de coagulase	35
2.2.2	Identification biochimique par le système miniaturisé API	36
3	Evaluation de la formation de biofilms <i>in vitro</i>	38
3.1	Technique Rouge Congo	38
3.2	Technique de plaque de Culture de Tissu (TCP).....	39
4	Etude de l'activité de la solution d'entretien Biotruie et de l'acide citrique sur la formation biofilm sur les lentilles de contact.....	40
4.1	Activité de la solution multifonctionnelle d'entretien Biotruie.....	41
4.1.1	Activité anti-adhésive de la solution Biotruie sur le biofilm.....	41
4.1.2	Activité éradicatrice de la solution Biotruie sur le biofilm préformé.....	43
4.2	Activité de l'acide citrique	44
4.2.1	Détermination de la concentration minimale inhibitrices de l'acide citrique	44
4.2.2	Activité anti-adhésive de l'acide citrique sur le biofilm	44
4.2.3	Activité éradicatrice de l'acide citrique sur biofilm préformé	46
	Conclusion générale	49
	Références Bibliographiques	52

Annexes

Listes des figures

Figure 1: Dessin du film lacrymal sur une cornée	9
Figure 2: (1) Kératite à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; (2) Kératite à <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Figure 3: (1) œil atteint d'une kératite à <i>Fusarium</i> ; (2) Kératite à <i>Aspergillus</i>	14
Figure 4: Kératite amibienne	15
Figure 5: Différentes maladies oculaires résultant de la contamination des lentilles de contact et étuis à lentilles	16
Figure 6: Résumé des stratégies d'adhésion	19
Figure 7: Présentation schématique des étapes séquentielles de la formation de biofilm sur les LC	20
Figure 8: Culture sur la gélose Rouge Congo	29
Figure 9: Les étapes de la méthode de TCP	30
Figure 10: Fréquences de prélèvement bactériens.....	34
Figure 11: Aspect des colonies sur Chapman après plusieurs repiquages	35
Figure 12: Résultats du test de coagulase	35
Figure 13: Résultats de l'identification par la galerie API Staph	36
Figure 14: Fréquences d'espèces Gram positif isolées.....	37
Figure 15: Phénotype de production de slime sur RCA	39
Figure 16: Formation de biofilm par les souches de <i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i> par TCP	40
Figure 17: Résultats de dénombrement sur la gélose nutritive après traitement avec la solution à 100% et 80%	42
Figure 18: Résultats de dénombrement sur la gélose nutritive après traitement avec la solution Biotrue à 100 %	43
Figure 19: Activité anti-adhésive de l'acide citrique sur les souches bactériennes	45
Figure 20: Résultats du dénombrement de l'activité anti-adhésive	46
Figure 21: Activité éradicatrice de l'acide citrique sur les souches bactériennes	47
Figure 22: Résultats du dénombrement de l'activité éradicatrice	48

Listes des tableaux

Tableau 1: Germes responsables de la kératite bactérienne	13
Tableau 2: Groupe de champignons responsables de kératomycoses	14
Tableau 3: Les dépôts, les plus fréquemment retrouvés sur les lentilles contact	17
Tableau 4: Protocole d'entretien de lentille de contact	25
Tableau 5: La différence entre un résultat positive et négative d'un test de la coagulase	28
Tableau 6: Résultats de la production de slime par la méthode RCA.....	38
Tableau 7: Résultats de technique de TCP.....	39
Tableau 8: Activité anti-adhésive de la solution Biotrue	42
Tableau 9: La concentration minimale inhibitrice (CMI)	44
Tableau 10: Résultat de l'activité anti-adhésive de l'acide citrique	45
Tableau 11: Résultat de l'activité éradicatrice de l'acide citrique	47

Listes des abréviations

CV :	Cristal Violet.
°C :	Degré Celsius.
DO :	Densité optique.
EPS :	Exopolysaccharides
FAD :	Food and Drug Administration des Etats-Unis
HSV :	Herpès Simplex Virus
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogènes
ISO :	Organisation internationale de normalisation
KM :	Kératite Microbienne
LC :	Lentille de contact
LRPG :	Lentilles Rigides Perméables aux Gaz.
BHIB :	Bouillon cœur-cervele
MPS :	Solutions Multifonctionnelles
PMMA :	Polyméthacrylate de méthyle
PHMB :	Polyhexaméthylène Biguanide
PBS :	Phosphate Buffered Saline
PQ :	Polyquaternium
QS :	Qorum sensing.
S A :	<i>Staphylococcus aureus</i>
S E :	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
SNC :	<i>Staphylocoque</i> Coagulase Négative
RGP :	Rigide Perméable aux Gaz
TSB :	Bouillon Trypticase Soja.

TSA : Gélose Tryptone Soja.

UV : Ultraviolet.

VZV : Virus Varicelle-Zona

INTRODUCTION GENERALE

L'œil humain est l'un des organes les plus complexes du règne animal, et sa rétine l'un des tissus les plus complexes. L'œil humain peut être capable de détecter un seul photon (**Tinsley et al., 2016**). Cependant, les dysfonctionnements oculaires affectent un pourcentage important de la population moderne. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1,3 milliard de personnes dans le monde souffrent de déficience visuelle (**Moreddu et al., 2019**).

Les lentilles de contact (LC) sont des dispositifs médicaux utilisés par plus de 230 millions de personnes dans le monde pour résoudre ces problèmes fonctionnels ou optiques des yeux, ou pour modifier l'apparence des yeux (**Morgan et al., 2016**). Mais, lorsque celles-ci sont insérées dans les yeux, certaines substances telles que protéines, les glycoprotéines, les lipides de la déchirure s'accumulent rapidement à leur surface (**Dosler et al., 2020**), combinées avec une mauvaise manipulation et utilisation non hygiénique de ces lentilles, créent ainsi un environnement propice aux microorganismes qui adhèrent à la surface de celle-ci et d'en produire un biofilm (**Vijay et al., 2009**).

Ainsi, le contact continu de l'œil avec le cristallin infecté par le biofilm peut entraîner de graves infections oculaires, comme la kératite, non traitée, peut entraîner une perte de la vision (**Schaefer et al., 2001**). On estime que les deux tiers des infections humaines impliquent des biofilms, y compris des infections impliquant les voies urinaires, les poumons, les oreilles, la plaque dentaire, les implants et les lentilles de contact (**Kimkes et Heinemann, 2020**).

Les biofilms sont une préoccupation majeure dans le domaine des dispositifs médicaux en général, et les bactéries Gram positives et Gram négatives peuvent former des biofilms sur les dispositifs médicaux (**Khattoon et al., 2018**). L'accumulation de ces biofilms sur les lentilles de contact est associée à des infections oculaires notamment la kératite microbienne (KM) qui est une infection grave, menaçant la vue (**Ting et al., 2021**).

Pour prévenir efficacement les infections oculaires, il est essentiel de développer des méthodes de désinfection spécifiques qui permettent de minimiser la formation des biofilms sur les lentilles de contact.

Notre étude vise, tout d'abord, à dépister les isolats Gram positifs formant à partir des lentilles de contact souples utilisées et ensuite évaluer l'activité inhibitrice et éradicatrice deux

agents antimicrobiens, l'acide citrique et la solution d'entretien de lentille biotruie, la plus utilisée sur le marché, sur le biofilm bactérien.

Partie I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les lentilles de contact

1 Historique des lentilles de contact

Léonard de Vinci a introduit le concept des lentilles de contact en 1508, suivi de René Descartes en 1636. Cependant, les idées de Da Vinci et de Descartes étaient irréalisables (**Vincent, 2017**). Les premières lentilles de contact modernes étaient de grandes lentilles sclérales en verre soufflées inventées en 1887 et 1888, qui corrigeait la myopie et ne pouvait être porté que quelques heures à un temps (**Campolo et al., 2022**).

Par la suite, des lentilles sclérales (polyméthacrylate de méthyle, PMMA) en plastique ont été formées dans les années 1930 et, en 1949, les premières lentilles cornéennes ont été mises au point, lesquelles pouvaient être portées pendant 16 heures. Les lentilles cornéennes en PMMA sont devenues les premières lentilles de contact à gagner en popularité en les années 1960, mais ces lentilles n'étaient pas perméables à l'oxygène et portaient une gamme de potentiel confort et effets secondaires cliniques [(**Bärtschi, 2009**);(**Țălu et al., 2011**)].

Les lentilles cornéennes rigides perméables au gaz (RGP) sont apparues à la fin des années 1970 et sont rapidement devenues la norme de l'industrie pour les lentilles rigides (**Terry et al., 1989**). En 1998 les premières lentilles de contact en silicone hydrogel ont été lancées par Ciba Vision. Ces lentilles souples combinent une perméabilité à l'oxygène élevé avec un confort et des performances cliniques élevées et sont depuis devenu le type de lentilles de contact les plus couramment distribué (**Guillon, 2013**).

Divers matériaux commerciaux aux propriétés similaires ont suivi peu après. De nos jours, les hydrogels de silicone et les matériaux RGP dominent le marché des lentilles souples et rigides, respectivement.

2 Définition

Les lentilles de contact sont des dispositifs biomédicaux optiques transparents en forme de disques, destinées à être placées à la surface de l'œil, au contact de la cornée, pour corriger la plupart des défauts visuels, leur diamètre est compris entre 12,5 et 15 mm (**Berthélémy, 2015**). En effet, les lentilles de contact représentent une aide appréciable pour la vision en présence de troubles de la réfraction et un irremplaçable élément de traitement de certaines maladies chroniques de l'œil (**Foucaud, 2012**). 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 Classification des lentilles de contact

Les lentilles de contact interagissent avec la surface oculaire via le film lacrymal, l'épithélium cornéen et l'épithélium conjonctival. La lentille de contact doit permettre un débit d'oxygène suffisant pour maintenir l'aérobie métabolisme, homéostasie cornéenne et stabilité du film lacrymal. Les lentilles de contact peuvent être regroupées en trois catégories principales en fonction de leur composition : lentilles de contact souples, rigides et hybrides [(Schalk, 2017) ; (Moreddu *et al.*, 2019)]. Elles peuvent être classées en plus du matériau de construction, en fonction de la conception, du calendrier d'usure, du rôle et de la fréquence d'élimination (Donlan et Costerton, 2002).

3.1 Types des lentilles de contact

3.1.1 Lentilles rigides

Autrefois appelé « lentilles dures », « semi-rigides », « semi-flexibles » ou encore « lentilles rigides perméables à l'oxygène » (Schalk, 2017). Ces lentilles de contact sont fabriquées en polyméthacrylate de méthyle et bougent à chaque clignement, permettant aux larmes contenant de l'oxygène de s'écouler sous la lentille (Donlan et Costerton, 2002).

La durée de vie de ces lentilles, qui conditionne leur renouvellement, est d'une à deux années. Actuellement, le renouvellement fréquent n'est pas envisageable par les laboratoires pour ces lentilles rigides en raison du coût de fabrication (Pagot, 2009). Elles sont utilisées pour traiter l'astigmatisme et irrégularités cornéennes avec une variété de conceptions et aussi indiquées dans le cas d'une intolérance aux produits d'entretien (irritation ; allergie) ou lorsqu'on craint un manque d'hygiène ou bien on est face à une insuffisance lacrymale (van der Worp *et al.*, 2014). Les infections et les allergies sont beaucoup moins fréquentes en lentilles rigides qu'en lentilles souples (Foucaud, 2012).

3.1.2 Lentilles souples

Les lentilles de contact souples sont faites d'hydrogel ou de silicone et sont conçues pour permettre à l'oxygène de se diffuser à travers le matériau de la lentille pour fournir de l'oxygène à la cornée (Donlan et Costerton, 2002).

Ces lentilles permettent un meilleur confort. Leur perméabilité à l'oxygène dépend de leur contenu en eau qui peut s'étendre de 36 à 85%. Plus la lentille contient de l'eau plus la perméabilité à l'oxygène est bonne. Mais elle sera toujours inférieure à celle obtenue avec les

lentilles rigides perméables à l'oxygène. Leur diamètre est de 12,5 à 16 mm. Il est plus grand que celui des lentilles rigides et ne permet pas de va-et-vient de la lentille lors du clignement des paupières. Les larmes ont donc plus de mal à circuler sous la lentille ce qui expose la cornée au risque d'hypoxie (Earith, 1996).

3.1.3 Lentilles hybrides

Les lentilles hybrides comportent une zone optique centrale constituée d'un matériau rigide perméable à l'oxygène, entourée d'une zone d'ajustement périphérique constituée du silicone-hydrogel. Elles ont un diamètre de 14,5 mm et combinent le confort du port des lentilles souples avec l'optique plus claire des lentilles rigides perméables à l'oxygène (Pilskalns *et al.*, 2007).

3.2 Fonctions des lentilles de contact

3.2.1 Lentilles correctrices

Ces lentilles de contact corrigent dans la plupart des cas l'hypermétropie, la myopie mais également l'astigmatisme et la presbytie. Les porteurs doivent généralement retirer leurs lentilles tous les soirs ou tous les deux jours, selon la marque et le type de lentilles. Certaines lentilles « Night & Day » peuvent être portées sans interruption, elles sont conçues pour pouvoir dormir avec (Anonyme, 2023).

3.2.2 Lentilles thérapeutiques

Elle est employée pour traiter les maladies extérieures de l'œil ou pour accélérer la cicatrisation de la cornée en assurant un rôle de barrière entre l'extérieur et l'œil : en présence d'ulcération cornéenne, les lentilles souples agissent comme un pansement et accélèrent la ré-épithélialisation de la cornée.

Elle permet aussi l'administration locale de médicament car elle peut stocker et libérer les molécules actives de façon lente. Enfin, elle permet aussi de donner un aspect normal à un œil non fonctionnel (exemples : albinisme ; cataracte inopérable) (Lang, 2002).

3.2.3 Lentilles cosmétiques

Les indications des lentilles à but esthétique sont purement esthétiques. Changer la couleur des yeux est un souhait fréquemment exprimé (Guyomarch *et al.*, 2009). Elles sont parfois prescrites ou distribuées en dehors des réseaux habituels, souvent chez des adultes, jeunes emmétropes, non porteurs habituellement de lentilles de contact correctrices. Il est tout à fait

évident qu'elles exposent, comme toutes lentilles, à la survenue de complications infectieuses (Colin *et al.* 2006).

4 Environnement des lentilles de contact

4.1 Film lacrymal

Le film lacrymal est le film de larmes situé sur la face antérieure de l'œil. Il est localisé sur la cornée. Il est en contact direct avec l'épithélium cornéen, ils sont même indissociables. Forte adhérence du film sur l'épithélium cornéen par le glycocalyx. (Laëtitia, 2016). Il nourrit les tissus de la surface oculaire et élimine les déchets du métabolisme cornéen. Le film lacrymal est constitué de 3 couches (Moreddu *et al.*, 2019) (Figure 1) :

- **Une couche lipidique superficielle**, qui est sécrétée par les glandes de Zeiss et de Meibomius. Cette couche limite l'évaporation du film lacrymal et lisse la cornée.
- **Une couche intermédiaire aqueuse**, qui est sécrétée par les glandes lacrymales. Cette couche protège et nourrit la cornée. Elle prévient de la kératinisation et donc de l'opacification de la cornée. Elle véhicule des protéines protectrices.
- **Une couche profonde mucineuse**, qui est formée de cellules calciformes conjonctivales et qui permet l'adhésion du film lacrymal à la cornée, ainsi que sa bonne répartition sur la surface des cellules épithéliales. Elle participe à l'élimination des corps étrangers et des micro-organismes (Laëtitia, 2016).

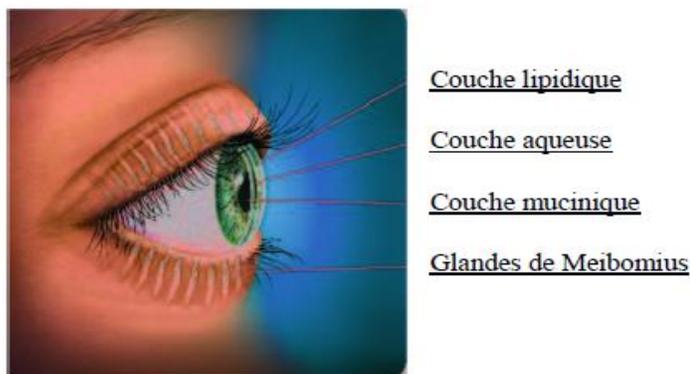


Figure 1: Dessin du film lacrymal sur une cornée (Laëtitia, 2016)

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

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. Trois principaux types bactériens peuplent l'environnement oculaire dans les conditions saines et ce sont *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN), *Corynebacterium sp* et **Propionibacterium sp** (**Willcox, 2013**). *Staphylococcus* à coagulase sont les plus représentées dans la conjonctive, les paupières et les larmes (plus de 50%) (**Graham *et al.*, 2007**).

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**).

Chapitre II : Risques liés à l'utilisation des lentilles de contact

L'utilisation des lentilles de contact comporte certains risques qu'il est important de prendre en considération. En effet, une mauvaise hygiène, telle que le non-respect des procédures de nettoyage et de désinfection, peut favoriser la prolifération des bactéries et la formation de biofilms sur les lentilles de contact provoquant ainsi des infections oculaires graves.

1 Kératites microbiennes

La kératite microbienne (KM) est une infection oculaire grave qui afflige la cornée et peut potentiellement conduire à la cécité (**Campolo et al., 2022**). Les agents infectieux cornéens comprennent un large éventail d'agents pathogènes tels que les bactéries, les champignons, les protozoaires et les virus (**Dosler et al., 2020**).

Les facteurs de risques le plus important liés aux ports de lentilles, résultant de patients qui ne nettoient pas correctement leurs lentilles de contact ou de solution d'entretien inefficace est la survenue des kératites microbiennes (KM) (**Campolo et al., 2022**).

Ainsi, le développement de biofilms matures sur les surfaces de LC a été associé à la kératite chez les humains et les modèles animaux [(**Bispo et al., 2015**);(**Willcox, 2013**)].

1.1 Kératites bactériennes

C'est est une infection de la cornée due à une ou plusieurs bactéries, le plus souvent dans les suites de lésions de la surface oculaire (**Souhail et Iferkhas, 2016**). Elle est caractérisée cliniquement par une zone d'infiltration cornéenne sous-jacente à un ulcère épithélial, d'origine infectieuse et entraîne une atteinte tissulaire secondaire à une réaction inflammatoire (**Muraine et Gueudry, 2015**).

Dans les pays développés, 90 % des kératites chez les porteurs de lentilles de contact sont d'origine bactérienne (**Dyavaiah et al., 2015**). Ces kératites peuvent être graves avec au maximum abcès de cornée qui peut mettre en jeu le pronostic visuel (**Feys, 2004**). Les germes les plus souvent responsables sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, plus rarement *Bacillus*. Les germes Gram positif, le *Staphylococcus aureus*, le *Staphylococcus epidermidis*, le *Streptococcus pneumoniae* et les pyogènes (Tableau1 et Figure 2) (**Bloise, 2017**).

Tableau 1: Germes responsables de la kératite bactérienne (Muraine et Gueudry, 2015).

Bactéries	Aérobies	Anaérobies
Cocci à Gram positif	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Staphylococcus : aureus/epidermidis/autres</i> ▪ <i>Streptococcus : pneumonia/ autres streptocoques</i> ▪ <i>Micrococcus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Ptococcus</i> ▪ <i>Peptostreptococcus</i>
Cocci à Gram négatif	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Neisseria: gonorrhoeae/ meningitidis/ autres</i> ▪ <i>Branhamella</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Veillonella</i>
Bacilles à Gram positif	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Bacillus</i> ▪ <i>Corynebacterium</i> ▪ <i>Listeria</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Propionibacterium</i> <i>Actinomyces</i> <i>Clostridium</i>
Bacilles à Gram négatif	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Pseudomonas : aeruginosa/non aeruginosa</i> ▪ <i>Enterobacteriaceae : Klebsiella/Enterobacter/ Serratia/Proteus/Escherichia/Citribacter</i> ▪ <i>Stenotrophomonas</i> ▪ <i>Burckholderia</i> ▪ <i>Acinetobacter</i> ▪ <i>Alcaligenes</i> ▪ <i>Azotobacter</i> ▪ <i>Haemophilus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Fusobacterium</i> <i>Bacteroides</i> <i>Capnocytophaga</i>

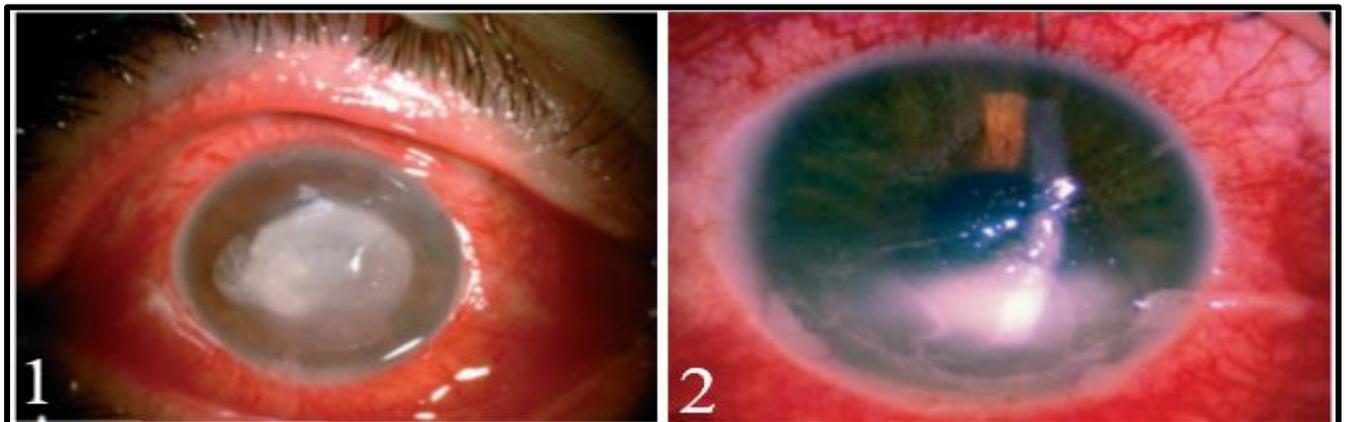


Figure 2:(1) Kératite à *Pseudomonas aeruginosa* ; (2) Kératite à *Staphylococcus aureus* **Bourcier et al., 2020).**

1.2 Kératites fongiques

Les kératites fongiques ou kératomycoses sont de graves infections cornéennes, causées généralement par des agents opportunistes sur une cornée lésée (Bourcier *et al.*, 2011). Elles sont essentiellement dues à des champignons filamenteux, des levures et exceptionnellement à des champignons di-morphiques à composante mixte : levures et filaments. Elles représentent 5 à 20 % des kératites microbiennes dans les pays en voie de développement, chez les porteurs de lentilles de contact (Dyavaiah *et al.*, 2015).

Les facteurs de risques sont essentiellement la mauvaise hygiène, le port permanent, la contamination de solutions d'entretien (Adil et Rajaa, 2014). Dans une kératite fongique sous-verres, les champignons filamenteux les plus souvent blâmés sont ceux du genre *Fusarium* et *Aspergillus* (Figure 3) (Dyavaiah *et al.*, 2015); pour les levures, ce sont les candida (Tableau 2) (Feys, 2004).

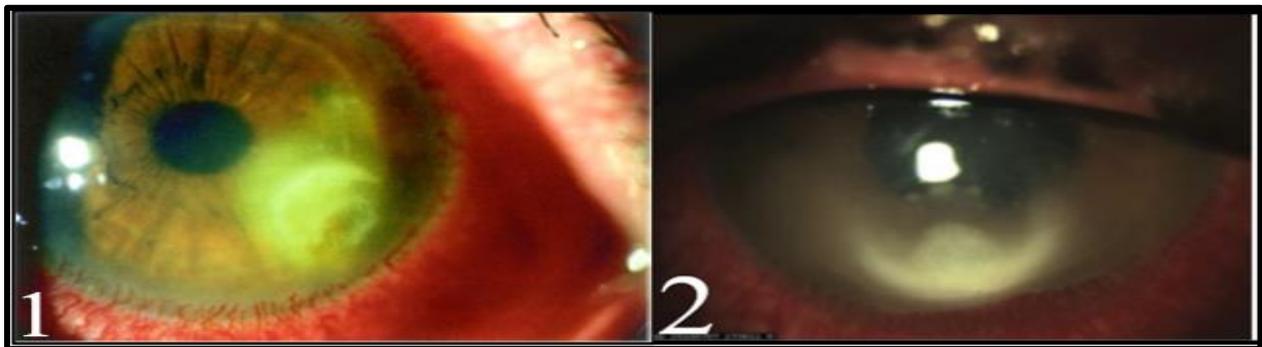


Figure 3:(1) œil atteint d'une kératite à *Fusarium* ; (2) Kératite à *Aspergillus* (Bourcier *et al.*, 2017).

Tableau 2: Groupe de champignons responsables de kératomycoses (Bourcier *et al.*, 2017).

Champignons filamenteux		Levures	Champignons dysmorphiques
Non pigmentés	Pigmentés		
<i>Fusarium</i> *	<i>Curvularia</i>	<i>Candida</i> *	<i>Blastomyces</i>
<i>Aspergillus</i> *	<i>Alternaria</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Coccidioides</i>
<i>Acremonium</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Histoplasma</i>
<i>paecilomyces</i>	<i>Bipolaris</i>	<i>Malassezia</i>	<i>Sporothrix</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Exserohilum</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Paracoccidioides</i>
<i>Pseudallescheria</i>	<i>Cladosporium</i>		
<i>Scedosporium</i>	<i>Lasioidiplodia</i>		
<i>Beauveria</i>			

* les champignons les plus fréquemment isolés et rapportés dans la littérature. Les champignons filamenteux pigmentés sont plus rares que les non-pigmentés.

1.3 Kératites amibiennes

Elle est considérée comme une infection rare et grave, menaçant le pronostic visuel dans le monde entier. La précocité de la prise en charge conditionne ainsi le pronostic visuel final (Figure 4) (El Haddad *et al.*, 2012). Son incidence a augmenté dans les pays occidentaux en même temps que le port de lentilles de contact (premier facteur de risque). La kératite amibienne est également une pathologie immunologique, se caractérisant par une évolution lente et douloureuse (Semaha, 2020).

Le principal facteur de risque des kératites amibiennes est le contact des lentilles avec une eau contaminée. Ce contact peut survenir par exemple lors de l'utilisation de l'eau du robinet pour le nettoyage, le rinçage ou la conservation des lentilles de contact ou encore en situation de baignade avec les lentilles de contact (Boulanger et George, 2015).

Les kératites amibiennes sont dues à de petits protozoaires omniprésents dans l'environnement (sol, air, eau des réseaux de distribution, eau des piscines, eau de mer...) comme les *Acanthamoeba*. Ces infections sont rares, leur incidence est d'environ 1% des kératites infectieuses sous lentilles dans le monde. Toutefois, les kératites amibiennes sont une préoccupation majeure à la fois pour les pays développés et pour les pays en voie de développement en raison de leur gravité (Dyavaiah *et al.*, 2015).



Figure 4: Kératite amibienne (Bourcier *et al.*, 2013)

1.4 Kératites virales

Les kératites virales peuvent se rencontrer chez le porteur de lentilles. Les lentilles de contact peuvent être contaminées par différents virus comme le virus de l'hépatite B, le virus de l'herpès (*Herpès Simplex Virus, HSV*), le virus varicelle-zona (*VZV*), l'*Adénovirus*, le *Cytomégalo*virus... (Figure 5) (Dyavaiah *et al.*, 2015).

Le virus Herpès Simplex-1 (*HSV-1*) infecte la majorité de la population mondiale et fait partie des principales causes de cécité infectieuses dans le monde développé. L'herpès oculaire toucherait 90 000 personnes en France, et le risque de le développer est de l'ordre de 1% au cours d'une vie humaine (Semaha, 2020).

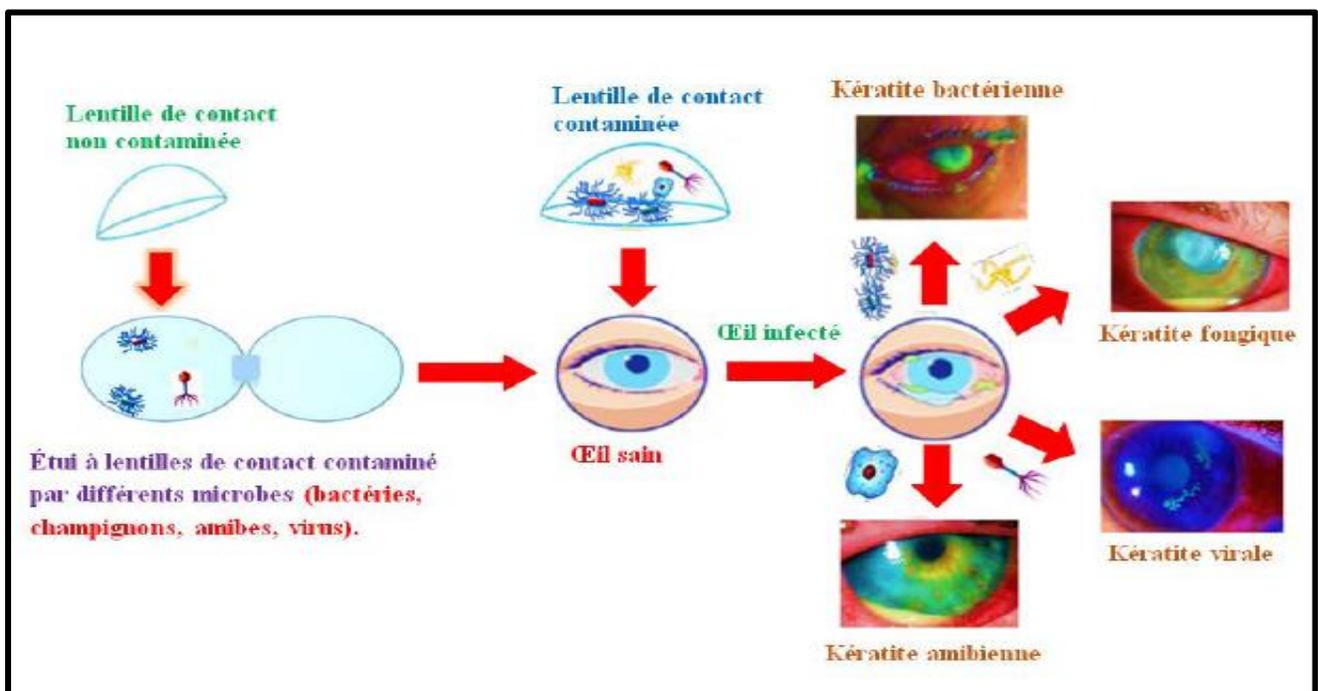


Figure 5: Différentes maladies oculaires résultant de la contamination des lentilles de contact et étuis à lentilles (Khan et Lee, 2020).

2 Formation de biofilm sur les lentilles de contact

2.1 Définition du biofilm

les biofilms sont généralement définis comme une communauté de microbes sessiles maintenus ensemble par une matrice extracellulaire polymérique, adhérente à une surface, une

interface ou à d'autres cellules qui sont phénotypiquement distinctes de leurs homologues planctoniques (**Donlan et Costerton, 2002**).

La formation de biofilm microbien sur les LC et les étuis de stockage de lentilles peut être un facteur de risque d'infections cornéennes associées aux LC (**Kackar et al., 2017**). Cette contamination des lentilles de contact provient essentiellement des mains, des solutions d'entretien, des étuis, de l'eau et de l'environnement. Les micro-organismes pathogènes sont principalement des bactéries Gram négatif, des champignons et des amibes (**Bloise, 2017**).

2.2 Etapes de formation de biofilms sur lentille de contact

2.2.1 Conditionnement de surface des lentilles de contact

Les minutes qui suivent l'immersion d'une surface dans un milieu, des molécules organiques, inorganiques et des macromolécules (protéines, biopolymères) sont adsorbées sur la surface, formant un film de conditionnement. Ce film entraîne des changements de propriétés de surface, telles que l'énergie de surface, la charge mais aussi la rugosité, et affecte de manière positive ou négative les interactions cellule-surface (**Chen et al., 2006**).

Dans le cas des LC les dépôts présents ont une origine organique ou pas. Ils proviennent des composants du film lacrymal ou de l'environnement et sont quantifiés et classés selon la classification du tableau (Tableau 3). Leur présence augmente le risque infectieux car ils servent de matrice nutritive aux germes et sont responsables d'un inconfort de port (**Bloise, 2017**).

Tableau 3: Les dépôts, les plus fréquemment retrouvés sur les lentilles contact (**Bloise, 2017**).

Nature Origines	Organiques	Non organiques
Film lacrymal	Protéines, Lipides, Mucines, Colorations, Autre composante des larmes	
Des mains et de l'environnement		Métal, Résidus de vêtements, Maquillage, Accumulation des composants des solutions d'entretien,

2.2.2 Transport des bactéries vers la surface LC

Les bactéries à l'état planctonique sont transportées vers la surface par des processus de transports passifs et/ou actifs (Scalabrini, 2019). En effet, Le transport dépend de plusieurs facteurs dont la nature milieu (viscosité, force ionique), les mouvements de ce milieu (sédimentation, mouvement de brownies) et le chimiotactisme qui est un facteur biologique est défini comme un ensemble des mouvements des flagelles d'une cellule ou des récepteurs spécifiques sensibles aux variations de concentration des nutriments présents (Bezoui, 2016).

2.2.3 Adhésion

Le développement d'un biofilm est un processus dynamique qui implique plusieurs étapes, notamment l'attachement à la surface cellulaire, la production de matrice et l'expansion de la population (Jiang *et al.*, 2021).

En général, le processus de fixation de bactérienne à n'importe quelle surface peut être divisé en deux étapes.

2.2.3.1 Adhésion réversible

En milieu liquide ou exposé à l'humidité, les bactéries planctoniques s'approchent d'une surface solide par mouvement brownien, par sédimentation ou par mobilité active (présence de flagelles) (Høiby *et al.*, 2011). Elles s'y attachent de manière réversible des interactions non spécifiques, électrostatiques et électrodynamiques. Cette étape est influencée par des conditions environnementales impliquant le pH, l'osmolarité, la température, la concentration en oxygène et en nutriments et l'hydrodynamique de fluide. L'adhérence des bactéries est également influencée par la nature de la surface, notamment sa rugosité et son hydrophobicité. Les bactéries adhèrent facilement sur une surface rugueuse, hydrophobe et non polaire (Beloïn *et al.*, 2008).

L'adhérence est temporaire, au cours de laquelle les bactéries peuvent se détacher de la surface. Cette étape est largement médiatisée par les forces de Londres, Van der Waals (Churaev *et al.*, 2013).

2.2.3.2 Adhésion irréversible : maturation de l'encrage bactérien

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 les fimbriae et les curli pour *E. coli*, qui interagissent avec des récepteurs spécifiques présents sur la surface (Figure 6) (Beloïn *et al.*, 2008).

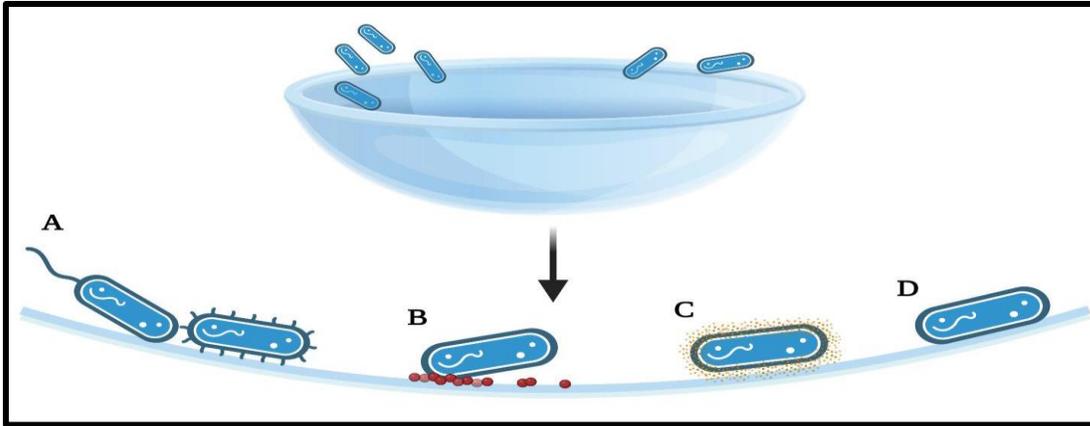


Figure 6: Résumé des stratégies d'adhésion (Campolo *et al.*, 2022).

(A) Fixation de bactéries via des flagelles ou des pili, (B) Dépôts superficiels de protéines ou de lipides après usure, permettant la fixation bactérienne, (C) Production de protéines adhésives, de polysaccharides ou de substances polymères extracellulaires exposées à la surface cellulaire (D) Adhérence polaire.

2.2.4 Développement précoce du biofilm

Une fois solidement ancrées sur la surface, les bactéries commencent à proliférer sous forme de clusters ou de micro-colonies et continuent de produire des exopolysaccharides (Scalabrini, 2019). Au cours des divisions cellulaires, les micro-colonies se réunissent et forment un tapis bactérien dense, qui sont protégées par la matrice exopolysaccharidique (Guzmán-Soto *et al.*, 2021).

2.2.5 Maturation du biofilm

Le biofilm adopte une structure tridimensionnelle dont la forme et les caractéristiques dépendent de la matrice EPS, de l'environnement, des espèces qui le composent, des interactions intercellulaires (quorum sensing), etc... On parle alors de biofilm mature (Scalabrini, 2019). Cette architecture complexe du biofilm se met en place avec la formation de canaux aqueux et de pores entre les microcolonies (Folkesson *et al.*, 2008), permettant l'acheminement d'oxygène et de nutriments nécessaires à la croissance de micro-organismes, ainsi que l'élimination des déchets (Tenke *et al.*, 2006). La production et la sécrétion d'enzymes ou de toxines provoquent la dégradation des résidus présentes dans les surfaces environnantes et permet ainsi la libération de nutriments (Jacolosen *et al.*, 2008).

2.2.6 Détachement de bactéries

Le détachement des cellules bactériennes planctoniques du biofilm est un détachement programmé, qui se produit de façon passive parfois, en raison de certains stress mécaniques

(force de cisaillement) ou de façon active, par des inducteurs tels que des molécules « signal », des fluctuations de nutriments, la présence d'enzymes dégradant certains exopolymères, dans la plupart des cas, certaines bactéries arrêtent de produire EPS (McDougald *et al.*, 2011).

Les bactéries acquièrent un mode de croissance, une physiologie et un métabolisme différent des bactéries planctoniques. Ces changements phénotypiques résultent d'une révolution du profil d'expression de leurs gènes. Toutes ces transformations sont coordonnées grâce à un système de communication entre les bactéries d'une même espèce au sein du biofilm, appelé *quorum sensing* (Behlau et Gilmore, 2008). Ce système est fondé sur la production de molécules diffusibles par les bactéries, par exemples les acyl-homoserine lactones chez les bactéries à Gram négatif, qui donnent une indication de la densité cellulaire dans un environnement donné (Filloux et Vallet, 2003). Les cellules dispersées peuvent conserver leurs propriétés du biofilm (l'insensibilité aux antibiotiques) et retrouve leur phénotype planctonique normal (Jamal *et al.*, 2015).

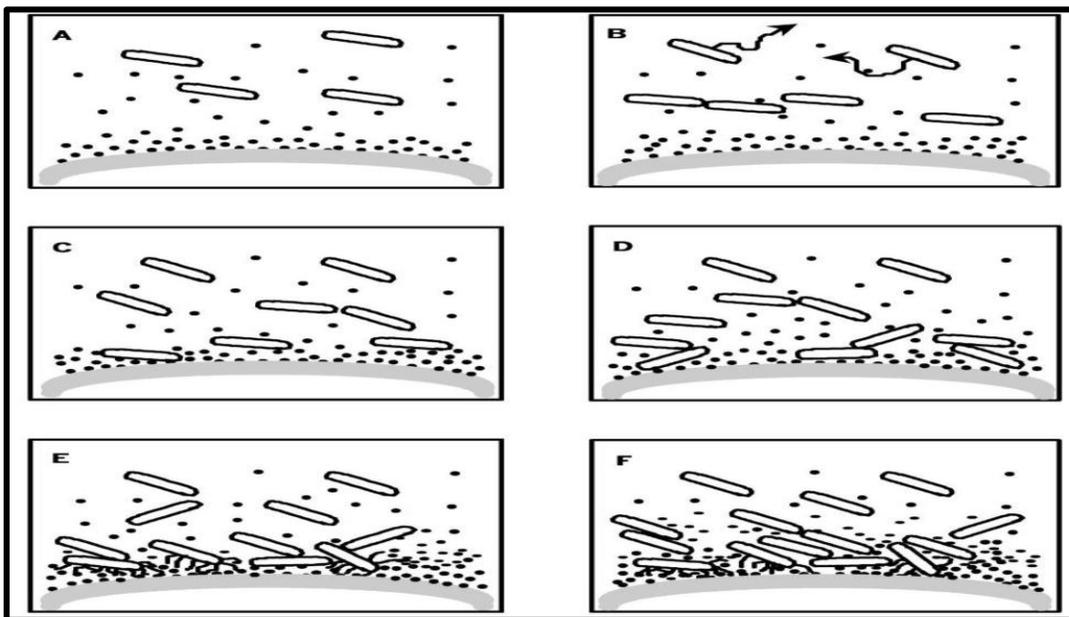


Figure 7: Présentation schématique des étapes séquentielles de la formation de biofilm sur les LC

(A) Adsorption des composants du film de conditionnement. (B) Transport microbien vers la surface LC. (C) Adhésion initiale de micro-organismes uniques. (D) Adhésion entre micro-organismes adhérents. (E) Ancrage et établissement d'une adhérence ferme et irréversible grâce à la production d'exopolymères. (F) développement du biofilm par croissance (Bruinsma *et al.*, 2001).

2.3 Facteurs favorisant la formation du biofilm

La formation du biofilm est un phénomène complexe sous l'influence de plusieurs facteurs caractéristiques du substrat sur lequel les bactéries vont se fixer, forces s'exerçant dans le

milieu aqueux (hydrodynamique du fluide), caractéristiques du milieu et propriétés de la surface des cellules (**Donlan, 2002**).

2.3.1 Caractéristiques de la surface

L'attachement cellulaire est important sur les surfaces rugueuses, 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**).

2.3.2 Caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessite des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clefs, tels que les changements dans les niveaux d'oxygène qui peuvent affecter la formation de biofilms dans diverses espèces de bactéries, la température et les conditions de faible teneur en nutriments qui créent un stress sur les micro-organismes et déclenchent la formation de biofilm. Cependant, les biofilms ne sont pas capables de mûrir si les niveaux de nutriments sont constamment bas (**Samrot et al., 2021**).

2.3.3 Propriétés des cellules

La fixation des cellules bactériennes est également influencée par production d'EPS ainsi les flagelles, les pili, fimbriae et les adhérences non fimbriales qui aident les cellules bactériennes à établir un premier contact physique avec les substrats. L'hydrophobicité est un autre facteur qui sert à réduire les forces répulsives entre la surface bactérienne et le substrat de colonisation, celle-ci dépend du milieu, du taux de croissance et des espèces bactériennes (**Muhammad et al., 2020**).

Chapitre III : Solution de nettoyage et entretien des lentilles de contact

1 Historique l'entretien des lentilles de contact

Les premiers systèmes de nettoyage des lentilles de contact étaient basés sur la chaleur : une pastille de sel était incorporée à de l'eau distillée, portée à chaud entre 80 et 90 °C pendant 10 minutes (70). Par la suite l'eau distillée a rapidement été remplacée par du sérum physiologique stérile prêt à l'emploi. Ces systèmes chauffants étaient efficaces contre les microorganismes, mais présentaient l'inconvénient d'être encombrants et destructeur pour les lentilles de contact. Les premiers systèmes d'entretien « chimiques » contenant des agents antiseptiques et des conservateurs ont été mis sur le marché. Plus tard ont paru les produits désinfectants à base de peroxyde d'hydrogène. Dans les deux cas, une étape supplémentaire de rinçage de la lentille par une solution séparée était nécessaire. Au cours des années 1970, les premiers produits contenant des conservateurs et antiseptiques combinées aux solutions de rinçage sont apparus (premières « Multipurpose solutions » MPS) ; par la suite, des surfactants et des agents lubrifiants ont été ajoutés aux solutions existantes pour créer des solutions « tout-en-un ». En dehors du peroxyde d'hydrogène, les premiers agents antiseptiques furent le Thimerosal, des dérivés de chlorure de chlorexidine, des complexes contenant de l'iode ou encore du chlorure de benzalkonium. Tous ces produits se sont révélés irritants voire allergisants. Ils ont désormais été remplacés par le Polyhexaméthylène Biguanide (PHMB), le Polyquaternium-1 (PQ-1), le myristamidopropyl diméthylamine et l'Alexidine (Szcotka-Flynn *et al.*, 2013).

2 Solutions d'entretien

Les solutions pour lentille de contact sont des mélanges très complexes de biocides (agents de conservation), de surfactants et d'autres agents conçus pour:

- **Désinfecter** : détruire et retirer tous les micro-organismes des lentilles de contact dans le but d'éliminer tous risques d'infections oculaires et d'autres effets secondaires ;
- **Nettoyer** : retirer tous les autres contaminants biologiques ou pas ;
- **Rincer et conserver** : Maintenir la lentille dans l'état jusqu'à une nouvelle utilisation [(Bloise, 2017);(Zaki *et al.*, 2019)].

Un bon entretien des lentilles de contact est important afin d'assurer le maintien du confort des lentilles pendant le port et surtout de diminuer le risque infectieux par l'action

décontaminante des solutions d'entretien. Elles se divisent en trois groupes: les solutions multifonctions, les solutions oxydantes et les solutions uni-fonctions (**Bloise, 2017**).

2.1 Solutions multifonctions

Les solutions multifonctions ont simplifié l'entretien pour améliorer l'observance. Elles contiennent différents agents chimiques à des concentrations variables suivant qu'il s'agisse d'un produit pour lentille souple ou pour lentille rigide. Avant 2012, elles ne contenaient qu'un seul biocide qui les différenciait entre elles. Aujourd'hui, certaines contiennent deux biocides, un biguanide et un ammonium IV pour augmenter l'efficacité sans augmenter les concentrations (**Jones et Powell, 2013**). Ces solutions ont pour ambition de rassembler en un seul produit les principales fonctions requises à l'entretien des lentilles. Les premières solutions multifonctions apparues sur le marché permettaient le nettoyage, la décontamination et la conservation des lentilles. De nos jours, les solutions modernes assurent en plus les fonctions de rinçage, de déprotéinisation et de lubrification (**Bloise et al., 2009**).

2.2 Solutions oxydantes

Les solutions oxydantes contiennent le plus souvent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à une concentration de 3% à visée décontaminante. Les plus récentes contiennent en plus un agent nettoyant ou lubrifiant. Le peroxyde d'hydrogène étant cytotoxique pour l'œil, il doit être neutralisé avant la pose de la lentille. Cette neutralisation consiste à transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène par voie catalytique soit par utilisation d'une catalase en comprimé ou grâce à un disque de platine (**Bloise, 2017**).

L'efficacité biocide des systèmes H_2O_2 est basée sur la capacité de la molécule H_2O_2 à déstabiliser les cellules et les substrats organiques par des réactions oxydatives, produisant des hydroxyles destructeurs radicaux qui attaquent les lipides membranaires et les composants cellulaires essentiels (**Nichols et al., 2019**).

2.3 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 (Schalk, 2017).

3 Guide pour une bonne utilisation des lentilles de contact

Il est important d'inculquer les bons gestes de manipulation ainsi que les protocoles d'entretien qui se rapportent à ses lentilles (Tableau 4). Il n'est pas inutile de rappeler ces notions aux utilisateurs réguliers qui au fil des années relâchent parfois leur vigilance.

Tableau 4: Protocole d'entretien de lentille de contact (Jones et Powell, 2013).

Avec les solutions multifonctions		Avec les solutions oxydantes	
Lors de la pose	Lors du retrait	Lors de la pose	Lors du retrait
Etape commune : Se laver les mains avec du savon et les sécher			
① Masser et rincer les lentilles en précisant bien avec la solution d'entretien ;	① Retirer les lentilles	① Pas de massage ni de rinçage avec la solution (risque de détérioration du matériau et de toxicité oculaire) ;	① Retirer les lentilles
② Poser les lentilles ;	② Masser et rincer les lentilles en précisant avec la solution d'entretien ;	② Poser les lentilles ;	② Déposer les lentilles dans les étuis spécifiques des solutions oxydantes. En cas de neutralisation par comprimé de catalase, ne pas oublier de le mettre dans l'étui
③ Vider l'étui ;	③ Remplir avec la solution d'entretien neuve et entièrement renouvelée ;	③ Laisser sécher l'étui ouvert et retourné sur un mouchoir en papier.	③ Respecter les temps de neutralisation qui varient en fonction de la solution.
④ Laisser sécher l'étui ouvert et retourné sur un mouchoir en papier ;	④ Fermer l'étui.		

Matériel et méthodes

1 Lieu d'étude

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bekr Bekaid-Tlemcen.

2 Prélèvement

Un total de 20 échantillons de lentilles de contact souple (LC) de différentes marques ont été collectés auprès des porteurs de lentilles de contact volontaires non atteints d'infections oculaires ni de maladies oculaires dont l'âge varie de 18-45 ans.

3 Enrichissement

Les différentes lentilles ont été mises en solution de 3 mL de bouillon cœur-cerveille (BHIB) pour être enrichies et ont été incubées à 37°C pendant 24h.

4 Ensemencement et isolement

Après l'incubation, les tubes ont été placés dans l'ultrason (WiseClean WUC-D06H) pendant 3min pour faciliter le détachement des cellules qui se trouvent sur les lentilles puis un passage au vortex avant d'être ensemencé d'un volume de 100µL sur le milieu Chapman par épuisement. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 48h.

5 Identification des souches

Les souches ont été identifiées après vérification de leurs puretés par :

- L'étude des caractères macroscopiques: formes, taille, couleur et aspect.
- L'étude des caractères biochimiques (la galerie API staph.)
- Recherche de la coagulase : Ce test de détection consiste à incuber pendant 4h jusqu'à 24h à 37°C un mélange de plasma de lapin et la souche à tester. L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°. Ce test permet l'identification de 99 % des souches de *S. aureus* (Tableau 6).

Tableau 5: La différence entre un résultat positive et négative d'un test de la coagulase

Coagulase positive	Coagulase négative
	
<ul style="list-style-type: none"> - Prise en masse du contenu du tube - coagulation du plasma - souche coagulase libre (+) Orientation Vers <i>Staphylococcus aureus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - le plasma reste liquide - absence de coagulation - souche coagulase (-) orientation vers <i>Staphylococcus</i> à SCN

6 Conservation des souches

6.1 Conservation sur gélose nutritive

La conservation à court terme a été effectuée en préparant la gélose nutritive puis l'incliner dans les tubes à essai. Ensuite, les souches purifiées et identifiées obtenues ont été ensemercer à partir de milieu Chapman sur la gélose inclinée par strie de la profondeur vers de surface et conserver à 4°C.

6.2 Conservation dans le glycérol

Il s'agit de la conservation à long terme, dans des tubes Eppendorf stériles, 500 µL de glycérol ont été pipeté auquel ont été ajouter un volume de 500 µL de la suspension bactérienne dans chaque tube. Les tubes Eppendorf ont été conservés à -20°C.

7 Evaluation de la formation de biofilms *in vitro*

Le potentiel de formation de biofilm des *Staphylococcus* a été évalué par les méthodes suivantes ; la méthode qualitative de rouge Congo (RCA) et la méthode quantitative de plaque de culture de tissus (TCP).

7.1 Méthode de Rouge Congo Agar (RCA)

La gélose Rouge Congo Agar est un milieu très convenable pour la détection des souches productrices de slime. Sur ce milieu les souches exprimant le PIA (Polysaccharide Intercellular

Adhesion) donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatives (**Ziebuhr et al., 2001**).

- **Technique**

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

- **Lecture**

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

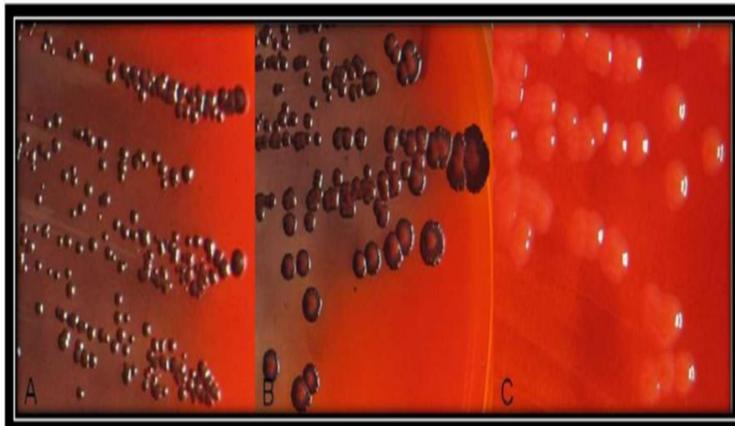


Figure 8: Culture sur la gélose Rouge Congo (**Hou et al., 2012**).

(**A**) RCA-positive souche de *S. epidermidis* (colonies noires), (**B**) RCA-positive souche de *S. aureus* (colonies noires), (**C**) RCA-négative souche de *P. aeruginosa* (colonies rouges).

7.2 Méthode de plaque de culture de tissu (TCP)

- **Technique**

Le test TCP décrit par pour la première fois **Christensen *et al.*, (1985)** et modifier par **O'Toole *et al.*, (2000)** permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm.

A partir d'une culture de 24 heures dans le milieu TSB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150 μ L de la suspension bactérienne ajustée a une DO de 0,1. Les microplaques sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les puits sont lavés trois fois avec l'eau distillée stérile afin d'éliminer les bactéries libres (planctoniques). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,1%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage pendant quelque minute. les microplaques sont ensuite remplis avec 150 μ L d'une solution d'éthanol (95%) afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (**Stepanovic *et al.*, 2000**).

- **Lecture**

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées comme suit: $DO \times 2 \leq DO_t$ (Témoin): non formatrice du biofilm. $DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$: Modérément formatrice du biofilm. $DO_t \times 4 \leq DO$: Fortement formatrice du biofilm (**Christensen *et al.*, 1985**).

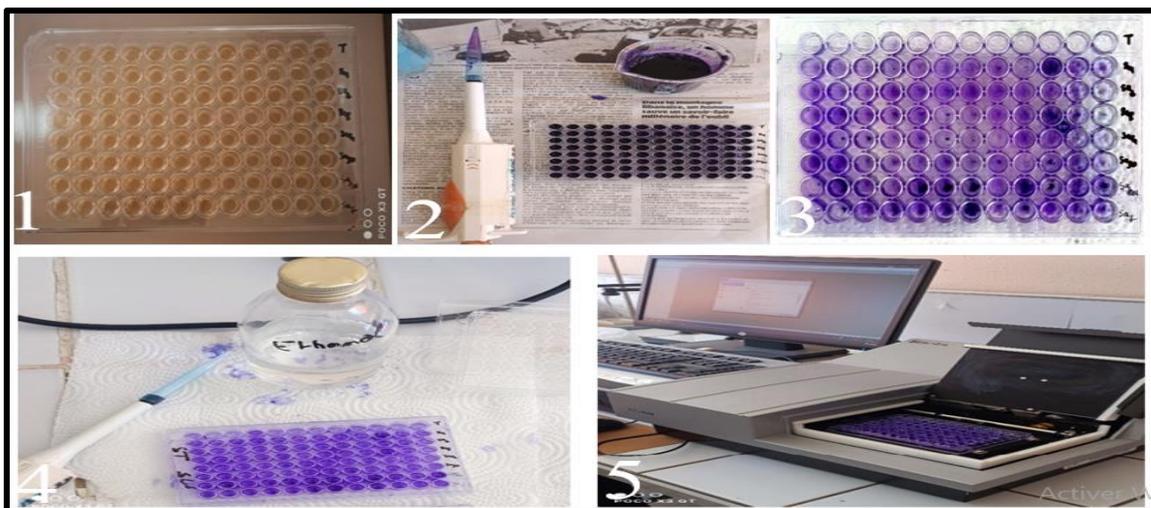


Figure 9: Les étapes de la méthode de TCP (photo personnelle)

- 1: Mise en culture (18h-24h)
- 2: Coloration par CV.
- 3: Rinçage par l'eau distillée stérile.
- 4 : Récupération de biofilm par l'éthanol.
- 5 : Lecture de microplaque par un lecteur ELISA (mesurer la DO).

8 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'acide citrique

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée suivant la méthode de microdilution en utilisant les microplaques de 96 puits (**Chraïbi *et al.*, 2021**). La CMI correspond à la plus faible concentration d'acide citrique (AC) qui produit une inhibition complète de la croissance appréciable à l'œil nu du germe testé après l'incubation. De ce fait, à partir d'une solution mère d'acide citrique, une série de dilutions de AC est préparée en milieu BHIB, a pour un volume final de 100 µL pour chaque concentration. Ensuite, 100 µL de l'inoculum bactérien de concentration ajustée à une DO de 0.1 sont ajoutés aux différentes concentrations de la série de dilutions. Ensuite, les puits sont incubés pendant 24 heures à 37 °C

9 Activité anti-adhésive de l'acide citrique et la solution biotruie contre sur de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*

Des lentilles de contact souples en silicone-hydrogel non portée et stérile sont mises dans des tubes contenant 1 mL de la suspension bactérienne à une DO de 0.1 et 1 mL de la solution de l'acide citrique préparer à 1%, 2% et 3% et de la solution d'entretien de LC à des concentrations de 100%, 80 % 50%, 20% diluée à l'eau distillée stérile puis incubés à 37°C pendant 24H. Les lentilles sont récupérées, lavées abondamment à l'eau distillée stériles puis placées dans 1 mL de l'eau physiologique. La sonication est effectuée 1 fois à l'aide de l'ultrason (WiseClean WUC-D06H) pendant 3 min puis par un passage de 20 secondes au vortex. Une série de dilutions est effectuée pour chaque échantillon, puisensemencée sur la gélose nutritive (GN). Le dénombrement des colonies est réalisé après 24h d'incubation à 37°C.

10 Activité de l'acide citrique et de la solution biotruie sur un biofilm préformé

Après la formation du biofilm sur les lentilles de contact non portées et stériles (Les lentilles sont introduites dans des tubes contenant 1 mL d'une suspension bactérienne de chaque souche ajustée à une DO₆₀₀ de 0,1 puis incubées à 37°C pendant 24H. Les supports sont récupérés, lavés abondamment à l'eau distillée stérile et placé dans des tubes contenant de la solution d'acide citrique à des concentrations 1%, 2% et 3% et de la solution d'entretien de LC à des

concentrations de 100%, 80 %, 50%, 20% diluée à l'eau distillée stérile, puis incubés à 37°C pendant 24h. Après incubation, les lentilles sont rincées, traitées par passage successif sur l'ultrason et vortex pour détacher les bactéries adhérentes sur la lentille de contact. Une série de dilutions est effectuée pour chaque échantillon, puis un ensemencement sur la gélose nutritive. Le dénombrement des colonies est réalisé après 24h d'incubation à 37°.

11 Calcul de l'efficacité de l'acide citrique et la solution d'entretien Biotrue (activité anti-adhésive et éradicatrice)

Le pourcentage de réduction des solutions sur le biofilm préformé et l'effet anti-adhésion est calculé par la formule suivante:

$$\text{Le pourcentage de réduction} = \left[\frac{(\text{nombre de ufc du témoin ST}) - (\text{nombre de ufc après traitement})}{\text{nombre de ufc du témoin ST}} \right] \times 100$$

ST: Sans Traitement

Résultats et discussions

1 Prélèvements

20 échantillons de lentilles de contact souple (LC) de différentes marques ont été collectés auprès des porteurs de lentilles de contact volontaires non atteints d'infection oculaires ni de maladies oculaires.

Après encensement de chaque lentille sur le milieu Chapman dans l'optique d'isoler les bactéries à Gram positif. Au total 07 souches ont été récupérés à partir des 20 échantillons de LC soit un pourcentage de 35 % (Figure 10).

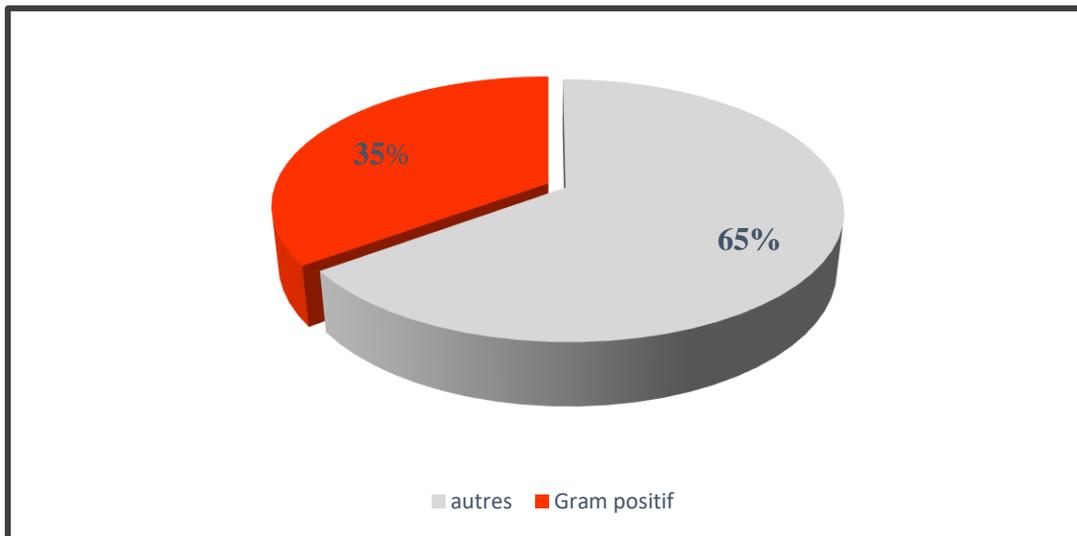


Figure 10: Fréquences de prélèvement bactériens

2 Identifications des souches isolées

2.1 Etude macroscopique

Sur le milieu de Chapman, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus* ont été prélevées, le développement bactérien sur le milieu de Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (entérocoques) peuvent y cultiver.

Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* sont apparues souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche.

Les colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre après 48h d'incubation à 37°C (Figure 11).

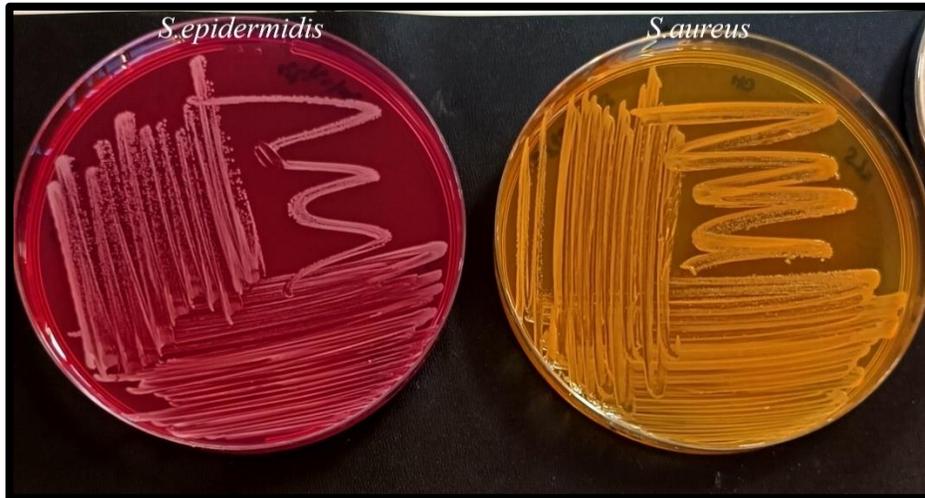


Figure 11: Aspect des colonies sur Chapman après plusieurs repiquages

(Photo Personnelle)

2.2 Identification biochimique

2.2.1 Test de coagulase

La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulase du plasma humain qui se traduit par la formation de caillot de coagulation (Figure 12).

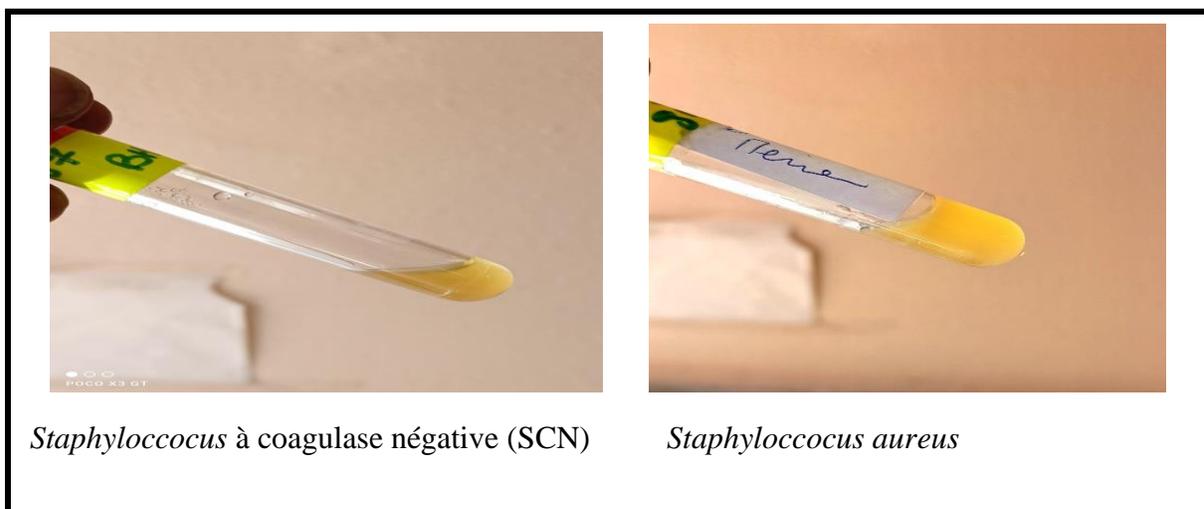


Figure 12: Résultats du test de coagulase (photo personnelle)

Sur l'ensemble des souches isolées, 05 étaient des *Staphylococcus aureus* et 02 étaient *Staphylococcus* à coagulase négative.

2.2.2 Identification biochimique par le système miniaturisé API

L'identification bactérienne réalisée par galerie API Staph (BIO Mérieux) ® nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques du genre *staphylococcus* et de caractériser ainsi deux profils numériques différents : le biotype : 6724151 pour *S. aureus* et 6706111 pour *S. epidermidis* (Figure 13).



Figure 13: Résultats de l'identification par la galerie API Staph (Photo Personnelle)

L'identification biochimique nous a permis de caractériser 05 souches *Staphylococcus aureus* et 02 souches *Staphylococcus epidermidis* (figure 14).

Staphylococcus aureus et *S. epidermidis* sont les germes Gram positifs les plus fréquemment isolés lors des kératites bactériennes (Moraglia, 2022). Ce sont des agents commensaux de la peau et des muqueuses. Ils sont responsables d'infections aiguës et chroniques dont la plupart sont dues à sa capacité à adhérer à des dispositifs médicaux et à former un biofilm (Liesse Iyamba, 2012).

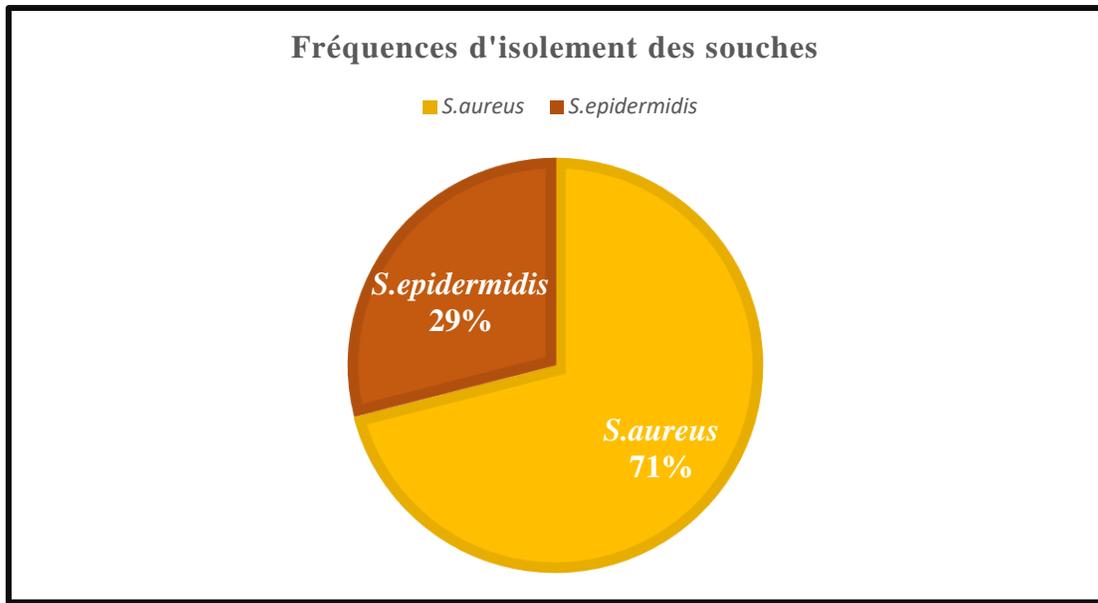


Figure 14: Fréquences d'espèces Gram positif isolées

Des résultats similaires ont été observés dans l'étude de **El-Ganiny et al., (2017)** sur " Prévention de la formation de biofilms bactériens sur les lentilles de contact souples à l'aide de composés naturels ", avec une fréquence d'isolement de 39,6% des Gram positifs. Dans cette étude *Staphylococcus aureus* était majoritaire suivi de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*. Par contre d'autres études ont trouvé une importante fréquence de bactérie Gram positive (cocci) avec un pourcentage de 83 % (**Inoue et al., 2007**).

Ces résultats peuvent s'expliquer par le non-respect des règles d'hygiène par les porteurs de lentille de contact. En effet les *Staphylocoques* sont présents dans le microbiote oculaire externe et peuvent se retrouver dans les lentilles de contact et dans les étuis de lentille de porteurs asymptomatiques lors des manipulations de ces dernières (**Wu et al., 2015**). Elles sont des causes majeures des infections oculaires car elles possèdent une meilleure capacité d'adhésion, ce qui explique leur fréquence élevée qui peut conduire à des kératites infectieuses (**Bourcier et al., 2004**).

La flore microbienne trouvée sur les lentilles de contact de porteurs asymptomatiques peut provenir de l'environnement, de l'eau ou de pratiques de manipulation de lentilles de contact non hygiéniques des porteurs asymptomatiques (**Patel et al., 2022**).

3 Evaluation de la formation de biofilms *in vitro*

Les lentilles de contact favorisent la formation du biofilm en fournissant une surface sur laquelle les microorganismes peuvent adhérer. Cette adhérence varie selon les conditions de stockage, la souche bactérienne, la température, le milieu utilisé, le moment, la fréquence de lavage des lentilles...etc (Vivero-Lopez *et al.*, 2021). Les facteurs de virulence de ces microorganismes résident dans leur capacité à produire une matrice extracellulaire. Cette production de matrice extracellulaire peut rendre le traitement clinique extrêmement difficile (Fitzpatrick *et al.*, 2002).

Plusieurs techniques sont utilisées pour mettre en évidence la capacité de formation de biofilms *in vitro*. L'ensemble des souches isolées ont été testées par deux techniques : une technique qualitative : méthode de Rouge Congo (RCA) et une technique quantitative : méthode de plaque de Culture de Tissus (TCP).

3.1 Technique Rouge Congo

La recherche de la production de slime sur milieu rouge Congo a révélé que 7/7 souches isolées de LC avaient un phénotype positif ou variable. Parmi les 07 souches, 03 avaient un phénotype positif et 04 variable (Tableau 7).

Tableau 6: Résultats de la production de slime par la méthode RCA

	Nombres	Positif		Variable		Négatif	
		N	%	N	%	N	%
<i>S. aureus</i>	5	3	60 %	2	40 %	0	0
<i>S. epidermidis</i>	2	0	0	2	100 %	0	0

Selon la technique RCA, les isolats étaient considérés comme phénotype positif lorsqu'il y avait présence de colonies noires à consistance cristalline sèche. Un assombrissement des colonies avec l'absence d'une morphologie coloniale cristalline sèche indique un producteur de slime modérément positif (phénotype variable). Les colonies restées roses ont été désignées comme non productrices de slime (phénotype négatif) (Figure 15).

Ces résultats sont différents de celles observés chez **Raksha et al., (2020)** où les 100 % de *Staphylococcus aureus* et 83,33 % *Staphylococcus* à coagulase négative étaient de bonnes formatrices du biofilm positif par la technique RCA.

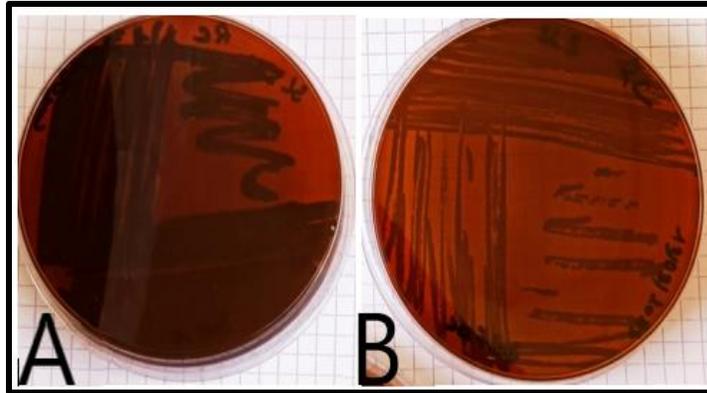


Figure 15: Phénotype de production de slime sur RCA (photo personnelle)

A : formatrice de slime, B : formatrice variable de slime

3.2 Technique de plaque de Culture de Tissu (TCP)

La technique TCP décrite par Christensen et al, (1985) est la plus largement utilisée et elle est considérée comme la norme pour la détection de la formation de biofilm.

Tableau 7:Résultats de technique de TCP

	Nombres	Formatrices biofilms		Modérément biofilms		Non formatrices de biofilms	
		N	%	N	%	N	%
		<i>S. aureus</i>	5	0	0	5	100 %
<i>S. epidermidis</i>	2	2	100 %	0	0	0	0

Selon, la valeur du témoin, la technique TCP a montré que 100% des souches de *Staphylococcus epidermidis* sont de bonnes formatrices de biofilms avec une D.O comprise entre 0,449 et 0,589. Quant aux *S. aureus* 100% se sont avérées modérément formatrices de biofilm avec une D.O comprise entre 0,242 à 0,350 (Figure 16).

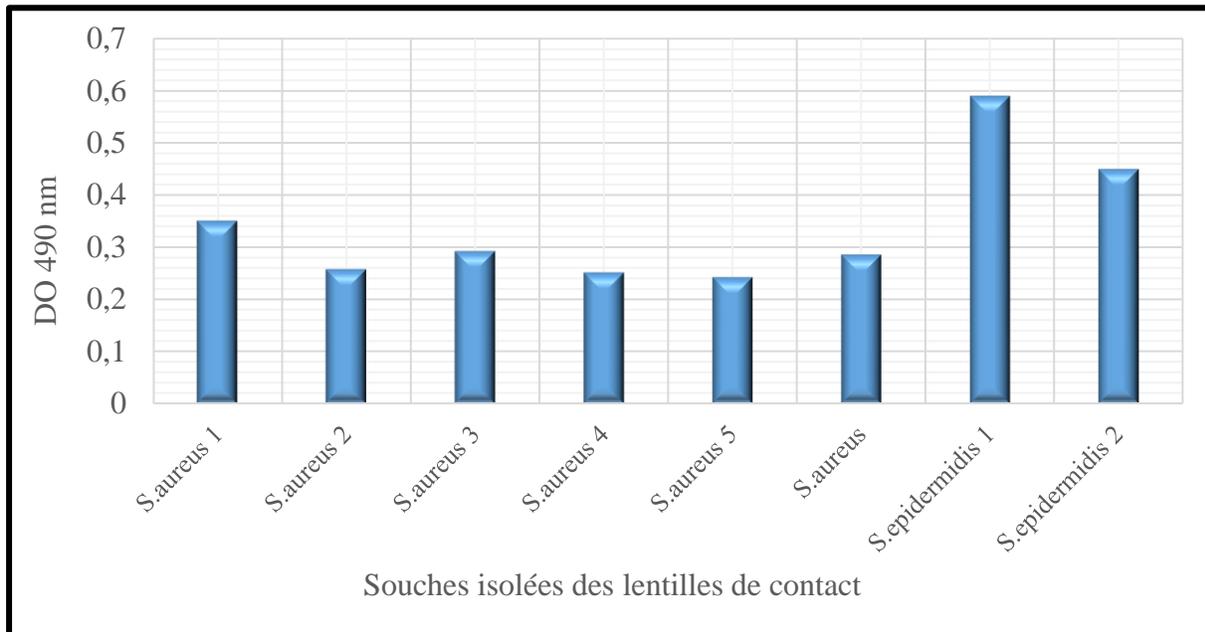


Figure 16: Formation de biofilm par les souches de *S. aureus* et *S. epidermidis* par TCP

Dans notre étude l'ensemble des souches isolées étaient de bonnes formatrices du biofilm (100 %). Des résultats inférieurs ont été trouvés par **Patel et al., 2022** où la formation de biofilm *in vitro* de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus* à négative étaient respectivement de 42,9 % et 40 %.

Plusieurs auteurs, affirment que la méthode rouge Congo semble être moins efficace pour détecter la formation du biofilm *in vitro*. La détection du biofilm par la méthode TCP semble plus fiable que celle de Rouge Congo [(**Bellifa et al., 2013**) ; (**Kara Terki et al., 2013**)].

4 Etude de l'activité de la solution d'entretien Biotrue et de l'acide citrique sur la formation biofilm sur les lentilles de contact

Pour cette partie, on a choisi *S. aureus* 1 et *S. epidermidis* 1 les plus formatrices de biofilms.

Les formes planctoniques des pathogènes opportunistes contaminent les surfaces biotiques et abiotiques en formant un biofilm mature difficile à éradiquer (**Lauderdale et al., 2010**). Un biofilm n'est pas seulement un abri pour les micro-organismes mais aussi une sorte de mécanisme de défense qui leur permet de persister plus longtemps dans des environnements

stressés, tels que des environnements recevant une antibiothérapie ou un traitement biocide [(Joshi *et al.*, 2010; Lauderdale *et al.*, 2010)].

Des biofilms microbiens se forment sur divers dispositifs médicaux et jouent un rôle important dans les infections récurrentes et chroniques (Lebeaux *et al.*, 2014). Une désinfection efficace et l'éradication des biofilms sur les surfaces sont fortement recommandées.

4.1 Activité de la solution multifonctionnelle d'entretien Biotrue

L'approbation réglementaire des solutions multifonctionnelles (MPS) nécessite la démonstration de l'efficacité antimicrobienne par le respect des exigences minimales du test autonome 14729 de l'organisation internationale de normalisation (ISO). Ce test évalue les caractéristiques d'efficacité microbienne de toutes les solutions multifonctions, mais ne prend pas en compte les interactions potentielles entre le biocide et les lentilles de contact, les étuis à lentilles ou les matières organiques contaminantes. Plusieurs études ont démontré que les biocides MPS sont absorbés par les lentilles de contact, réduisant ainsi l'efficacité antimicrobienne [(Clavet *et al.*, 2012; Shoff *et al.*, 2012)]. Pour résoudre ce problème, pour mieux refléter l'utilisation des MPS par les consommateurs, Food and Drug Administration des États-Unis a proposé de tester les solutions d'entretien avec les lentilles de contact et étuis à lentilles sur des organismes (bactériennes et fongiques)[(Rosenthal *et al.*, 2002);(Gabriel *et al.*, 2013)].

4.1.1 Activité anti-adhésive de la solution Biotrue sur le biofilm

Les cultures bactériennes ont été traitées en présence de lentille souple de contact pour évaluer l'effet anti-adhésive de la solution d'entretien Biotrue sur le taux de croissance de *S. aureus* et *S. epidermidis*.

Les cultures bactériennes ont été traitées avec 4 concentrations différentes (100%, 80%, 50% et 20%) pendant 24 heures (Tableau 8).

Tableau 8: Activité anti-adhésive de la solution Biotrue

		Concentration Biotrue			
		100%	80%	50%	20%
Efficacité	<i>S. aureus</i>	Oui	Oui	Non	Non
	<i>S. epidermidis</i>	Oui	Oui	Non	Non

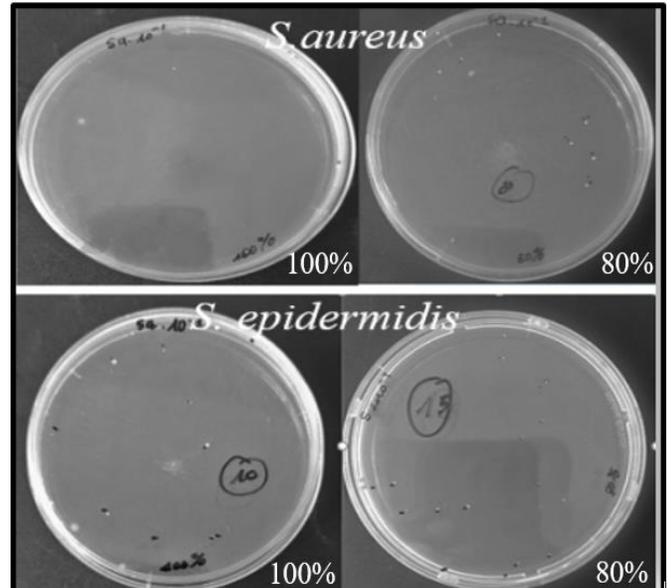


Figure 17: Résultats de dénombrement sur la gélose nutritive après traitement avec la solution à 100% et 80% (photo personnelle).

Les résultats des tests menés sur l’efficacité de la solution d’entretien Biotrue contre l’installation de *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* sont très satisfaisant à une concentration de 100 % et de 80% (Tableau 8 et Figure 17). En effet, les tests ont montré que cette solution était hautement efficace pour prévenir la formation de biofilms sur les lentilles de contact souples. En particulier, les tests réalisés à la concentration de 100 % ont démontré une efficacité anti-adhésive très importante en inhibant complètement l’installation de ces deux types de *Staphylocoques*.

De plus, les tests menés à une concentration de 80 % ont également montré des résultats prometteurs. Bien que l’efficacité anti-adhésive de la solution soit légèrement inférieure à celle obtenue avec une concentration de 100 %, elle reste de tout même significative. Cela montre que la solution Biotrue est très efficace à une concentration réduite, ce qui peut être utile pour les personnes ayant une sensibilité accrue aux solutions d’entretien.

Des résultats similaires ont été observés dans l'étude de **Artini et al., 2015** sur le test d'efficacité de trois solutions multifonctions (OPI-FREE, Biotrue et Regard) à une concentration de 100% et 75%. La solution d'entretien Biotrue a montré une inhibition complète de la croissance bactérienne à ces différentes concentrations.

4.1.2 Activité éradicatrice de la solution Biotrue sur le biofilm préformé

Une fois le biofilm est installé sur les lentilles de contact souples, son inhibition devient difficile. Dans notre étude nous avons montré une bonne efficacité de solutions d'entretien Biotrue à 100 % contre le biofilm bactérien du genre *Staphylococcus* formés sur les lentilles de contact en silicone hydrogel, prévenant ainsi le risque d'infections oculaires (Tableau 9).

Tableau 9 : Activité éradicatrice de la solution

		Concentration Biotrue			
		100%	80%	50%	20%
Efficacité	<i>S. aureus</i>	Oui	Non	Non	Non
	<i>S. epidermidis</i>	Oui	Non	Non	Non

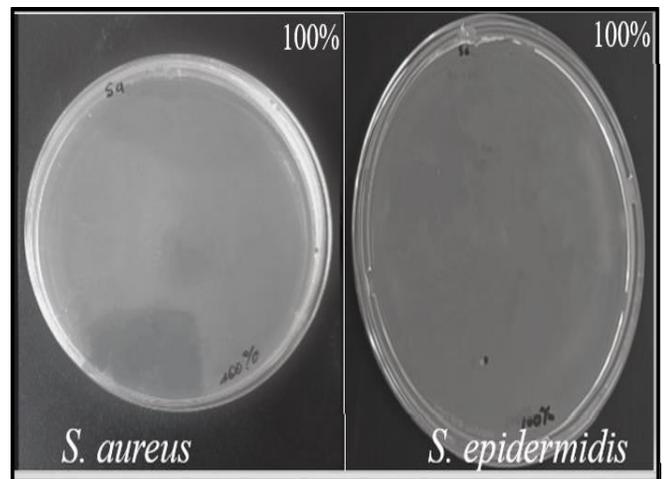


Figure 18: Résultats de dénombrement sur la gélose nutritive après traitement avec la solution Biotrue à 100 % (photo personnelle).

Des études antérieures ont montré que différentes solutions d'entretien des lentilles de contact avaient une efficacité réduite contre les biofilms formés sur les surfaces des lentilles de contact et dans les étuis de stockage de lentilles de contact [(**Szczotka-Flynn et al., 2009**; **Wu et al., 2011**)]. Ces chercheurs ont comparé la capacité de quatre solutions d'entretien contre les bactéries planctoniques et les biofilms formés sur les lentilles. Les bactéries planctoniques étaient susceptibles d'être tuées par les solutions d'entretien des lentilles de contact couramment utilisées

alors que les bactéries présentes dans le biofilm ont montré une résistance accrue à l'activité bactéricide testée (Szczotka-Flynn *et al.*, 2009).

Nos résultats de l'efficacité de la solution Biotrue sont en accord avec l'étude de Hinojosa *et al.*, (2017) où la solution avait démontré une très bonne efficacité de réduction de 7 Log (99,99 %) contre le biofilm de *Staphylococcus aureus*.

4.2 Activité de l'acide citrique

4.2.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrices de l'acide citrique

Après une incubation, la détermination de la CMI est basée sur l'observation de la présence ou non d'une croissance microbienne. L'absence d'une croissance indique une inhibition du développement microbien. Etant donné que la CMI est la plus petite concentration du produit testé qui ne présente pas une croissance microbienne.

Les CMI déterminées pour toutes les souches microbiennes testées sont rapportées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9: La concentration minimale inhibitrice (CMI)

AC \ Souches	8 %	7,2 %	6,4 %	5,6 %	4,8 %	4 %	3,2 %	2,4%	1,6 %	0,8%
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. epidermids</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : Inhibition de la croissance

Les résultats de la CMI montrent une sensibilité des souches à l'acide citrique sur toutes valeurs de la CMI utilisées. La CMI de deux souches de staphylocoques se situe en dessous ou est égale à la concentration de 0,8 % (0,008g/mL).

4.2.2 Activité anti-adhésive de l'acide citrique sur le biofilm

Les résultats expérimentaux de l'activité anti-adhésive montrent que toutes les souches testées sont sensibles à l'acide citrique aux différentes concentrations : 3%, 2% et 1% (Tableau 11, Figure 19 et annexe 2). Cependant, l'effet inhibiteur de l'acide citrique à différentes concentrations sur la croissance microbienne observées est variable selon la souche étudiée à savoir *S. epidermidis* et *S. aureus*.

Tableau 10: Résultat de l'activité anti-adhésive de l'acide citrique

Test Souches	Concentration d'acide citrique			Témoin (No)
	1%	2%	3%	
	Réduction en %			
<i>S. aureus</i> (UFC/ml)	99,59 %	99,9 %	99,99 %	5,36 Log
<i>S. epidermidis</i> (UFC/ml)	99,95 %	99,99 %	99,99 %	5,07 Log

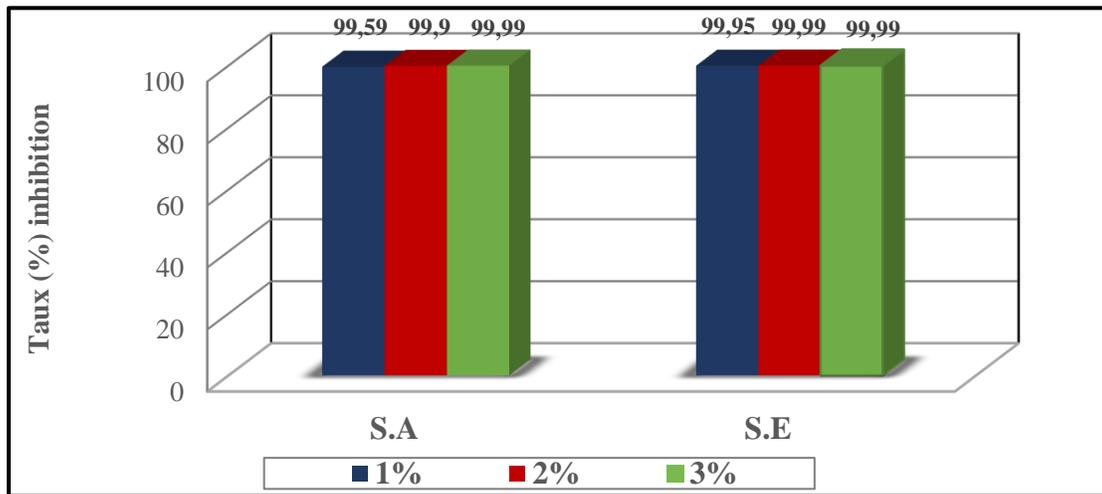


Figure 19: Activité anti-adhésive de l'acide citrique sur les souches bactériennes

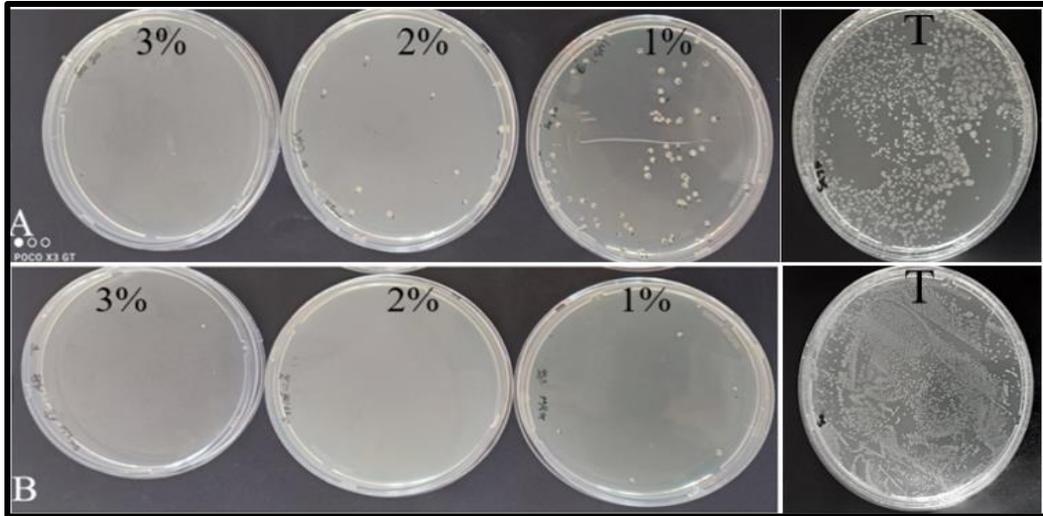


Figure 20: Résultats du dénombrement de l'activité anti-adhésive (photo personnelle).

(A) *S. aureus* ; (B) : *S. epidermidis*

Nous avons évalué l'effet anti-adhésive de l'acide citrique sur les souches de *S. aureus* et *S. epidermidis* les plus formatrices du biofilm. Les résultats obtenus indiquent que l'acide citrique à 1%, 2 % et 3 % est actif sur les deux souches bactériennes avec des taux d'inhibition allant de 99,59% à 99,99 % sur *S. aureus* et de 99,95% à 99,99 % sur *S. epidermidis* (Tableau 11 et Figure 19).

L'acide citrique reste efficace sur toutes les concentrations testées contre l'installation de *S. epidermidis* sur les lentilles de contact. Il est également efficace sur les *S. aureus* sauf à la concentration de 1 % (Figure 20).

4.2.3 Activité éradicatrice de l'acide citrique sur biofilm préformé

Les résultats de l'évaluation de l'activité éradicatrice de la formation du biofilm sur des lentilles de contact souple en silicone-hydrogel de l'acide citrique à des différentes concentrations sont mentionnés dans le tableau 12, figure 21 et annexe 2.

Ces résultats montrent que toutes les souches testées sont sensibles à l'acide citrique aux différentes concentrations : 1%, 2% et 3%. L'acide citrique présente une activité éradicatrice allant de 98,83 % à 99,98% sur *S. aureus* et de 99,24 % à 99,99 % *S. epidermidis*.

L'acide citrique présente un seuil d'efficacité maximal de 99,99 % de réduction contre le biofilm de *S. epidermidis* aux concentrations 2 % et 3 %. Alors qu'il était efficace uniquement à une concentration de 3 % contre le biofilm de *S. aureus*.

Tableau 11: Résultat de l'activité éradicatrice de l'acide citrique

Test Souches	Concentration d'acide citrique			Témoin (No)
	1%	2%	3%	
	Réduction en %			
<i>S. aureus</i> (UFC/ml)	99,88 %	99,6 %	99,98 %	5,36 Log
<i>S. epidermidis</i> (UFC/ml)	99,61 %	99,99 %	99,99 %	5,07 Log

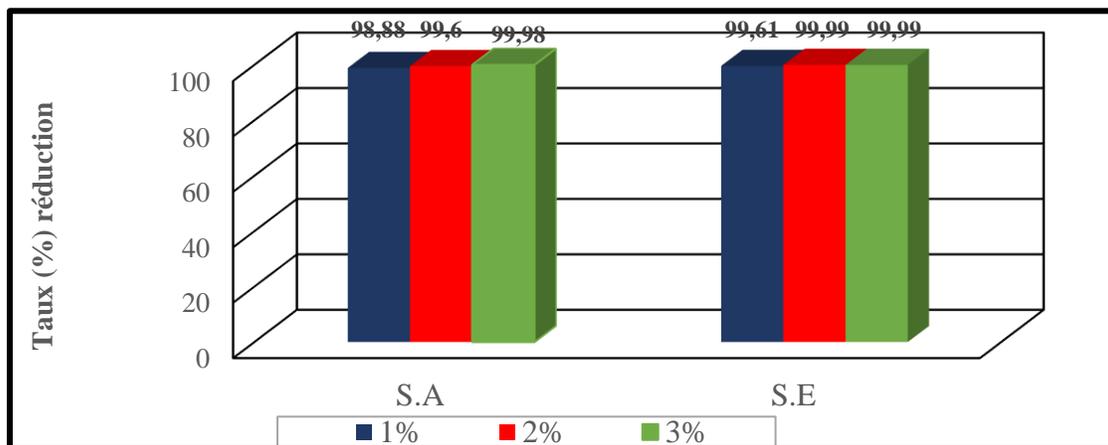


Figure 21: Activité éradicatrice de l'acide citrique sur les souches bactériennes

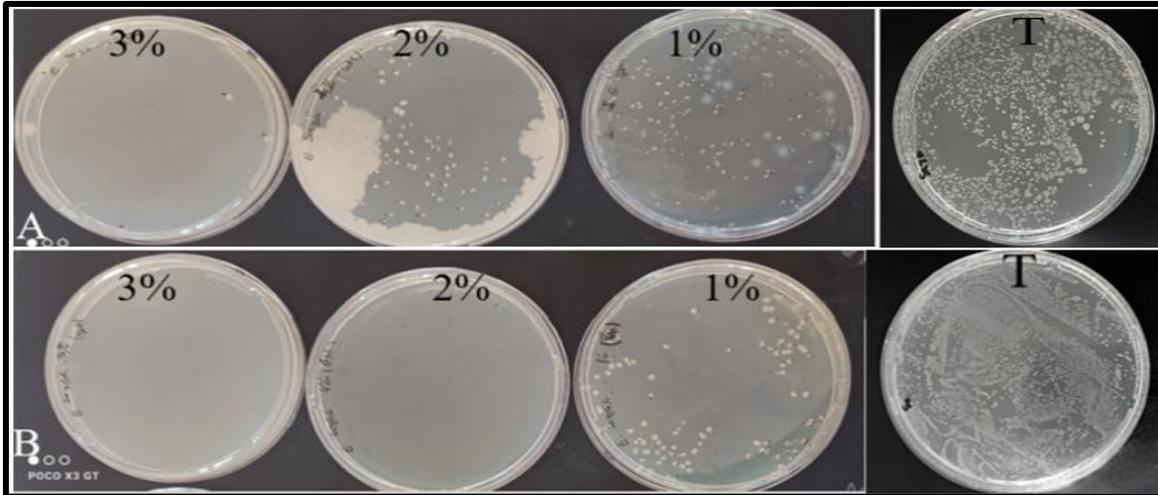


Figure 22: Résultats du dénombrement de l'activité éradicatrice
(A) *S. aureus* ; (B) : *S. epidermidis*

Des résultats de travaux similaires ont été réalisés par le Coréen **Kim et al., (2020)**, sur l'utilisation de l'acide citrique à 1% sur le biofilm de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). Ces résultats ont montré une faible réduction de biofilm à cette concentration.

Des concentrations élevées d'acide citrique étaient nécessaires pour l'éradication du biofilm des deux *Staphylococcus* en raison de la présence de la matrice exo-polymérique provoquant une pénétration limitée des agents antibactériens et le changement de phénotypes.

À la différence des acides forts jouant un rôle uniquement sur le pH externe de la cellule, les acides faibles sont capables de traverser la membrane et ainsi d'agir directement sur le pH cytoplasmique. À ce titre, les acides organiques sont généralement des acides faibles qui agissent plus efficacement pour inhiber les microorganismes. L'effet acidifiant se manifeste lors de l'ajout d'acide, ceci provoque une diminution du pH externe qui va entraîner une baisse du pH interne des micro-organismes et ainsi inhiber leur développement. L'acide a non seulement diminué le pH des suspensions, mais joue un rôle dans le mécanisme antimicrobien (**Kundukad et al., 2020**).

Nos résultats ont relevé que l'acide citrique était efficace contre la forme planctonique par rapport à la forme biofilms. À différentes concentrations, L'AC a montré une capacité remarquable à inhiber la croissance des microorganismes et empêcher la formation de biofilms indésirables.

Conclusion générale

L'utilisation de lentille est devenue courante dans la société moderne. Cependant, cette utilisation présente certains risques, notamment la formation de biofilms, ce qui peut entraîner des infections oculaires. Ces biofilms se forment en raison d'une mauvaise hygiène ou d'une négligence des procédures de nettoyage et de désinfection. Ils offrent un environnement propice à la prolifération de microorganismes pathogènes, augmentant, ainsi le risque d'infections oculaires chez les porteurs de lentille de contact.

Dans notre étude, les souches isolées à partir de lentilles de contact contaminées, à savoir *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* étaient de très bonnes formatrices de biofilms *in vitro* par la méthode Rouge Congo (RC) et la méthode Technique de Culture de Tissus (TCP), mettant en évidence l'importance de développer des approches de prévention et de traitement spécifiques pour contrer ces biofilms.

Concernant, l'inhibition de la formation de biofilms, la solution d'entretien Biotrue était efficace aux concentrations de 100 % et 80 % sur l'inhibition de l'installation du biofilm de *S. aureus* et *S. epidermidis* sur les lentilles de contact souple. Quant à l'acide citrique des concentrations 2 % et 3 % étaient nécessaires pour inhiber l'installation des deux Staphylocoques et ces concentrations pouvaient allées jusqu'à 1 % pour *S. epidermidis*. La concentration nécessaire de la solution Biotrue pour éradiquer un biofilm mature de *S. aureus* et *S. epidermidis* était de 100%.

L'acide citrique était efficace pour éradiquer les biofilms de *S. epidermidis* à des concentrations de 2 % et 3 %. En ce qui concerne les *S. aureus* une concentration de 3 % d'acide citrique était nécessaire pour obtenir des résultats satisfaisants contre le biofilm.

L'utilisation de l'acide citrique comme agent antimicrobien sur les lentilles de contact offre des avantages potentiels, tels que sa disponibilité, son faible coût. Cependant des recherches supplémentaires sont nécessaires pour affiner les protocoles d'application, les concentrations optimales et évaluer l'efficacité de l'acide citrique sur une large gamme de biofilms bactériens spécifiques aux lentilles de contact. En combinant ces efforts, il est possible de développer des stratégies d'entretien de lentilles de contact plus efficaces pour prévenir la formation de biofilms et minimiser les risques d'infections oculaires associées.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Adil B., Rajaa D. (2014). Keratite infectieuse sous lentilles de contact. *Pan African Medical Journal*, 17.

Artini M., Cellini A., Scoarughi G. L., Papa R., Tilotta M., Palma S., & Selan L. (2015). Evaluation of contact lens multipurpose solutions on bacterial biofilm development. *Eye & Contact Lens*, 41(3), 177-182.

B

Bärtschi, M. (2009). Lentilles de contact : Indications et contraintes. *Forum Médical Suisse*, 9(11), 228-232.

Behlau I., & Gilmore M. S. (2008). Microbial biofilms in ophthalmology and infectious disease. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 126(11), 1572-1581.

Bellifa S., Hassaine H., Damien B., Nicolas C., Imane M. hamedi Ibtissem K.T., Merieme L., Wafae D., Christiane F. (2013). Evaluation of biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* isolated from medical devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7, 5558–5564.

Berthélémy S. (2015). Le port des lentilles de contact. *Actualités Pharmaceutiques*, 54(547), 37-40.

Beloin C., Roux A. & Svanborg C. (2005) .Echerichia coli, biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol* 322,249-289.

Bezoui M. (2016). Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine (*Thèse de Doctorat en pharmacie*). *Universite mohammed v-rabat*.

Bispo P., Haas W., & Gilmore M. (2015). Biofilms in Infections of the Eye. *Pathogens*, 4(1), 111-136.

Bloise L. et Le Blond E., (2009). Entretien des lentilles de contact. In *Les lentilles de contact*, Mallet F., George M.-N., Vayr F. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux, 809-868

Bloise L. (2017). Surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact. *Journal Français d’Ophtalmologie*, 40(4), 329-337.

Bourcier T, Chaumeil C. Kératites bactériennes. In : Bourcier T, Chaumeil C, Borderie V et al. *Infections cornéennes. Diagnostic et traitement*, (2004). Paris : Elsevier ;, p. 39-63.

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

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., Sauer, A., Dory, A., Denis, J., & Sabou, M. (2017). Kératites fongiques. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 40(10), 882-888.

Bourcier T., Bouheraoua N., Gomart G., Gueudry J., Dory A., Prevost G., ...Labetoulle M. (2020). Kératite bactérienne. *EMC - Ophtalmologie*, 37(1), 1-12.

Bourcier T., Sauer A., Letscher-Bru V., Candolfi E. (2011). Kératites fongiques. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 34(8), 563-567.

Bruinsma G. M., van der Mei H. C., Busscher H. J. (2001). Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials*, 22(24), 3217-3224.

C

Campolo A., Pifer R., Shannon P., Crary M. (2022). Microbial Adherence to Contact Lenses and *Pseudomonas aeruginosa* as a Model Organism for Microbial Keratitis. *Pathogens*, 11(11), 1383.

Chaieb K., Mahdouani K., Bakhrouf A. (2005). Detection of *icaA* and *icaD* loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit. *Journal of Hospital Infection*, 61(3), 225-230.

Chaine G. (2000). *Ophtalmologie. Paris : Doin, 2000. 298 p.*

Chraïbi M., Fikri Benbrahim K., Edryouch A., Fadil M., & Farah A. (2021). Caractérisation chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et *Myrtus communis* et leur effet antibactérien synergique. *Phytothérapie*, 19(3), 171-177

Chen S., Yu F., Yu Q., He Y., Jiang S. (2006). Strong resistance of a thin crystalline layer of balanced charged groups to protein adsorption. *Langmuir*, 22(19), 8186-8191.

Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., Beachey E.H. (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.

Churaev, N. V.; Derjaquin, B. V.; Muller, V. (2013). *Surface Forces*, Springer, Boston, MA.

Clavet C. R., Chaput M. P., Silverman M. D., Striplin M., Shoff M. E., Lucas A. D., Hitchins V. M., Eydelman M. B. (2012). Impact of contact lens materials on multipurpose contact lens solution disinfection activity against *Fusarium solani*. *Eye & Contact Lens*, 38(6), 379-384.

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

D

Donlan R. M. (2002). Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Emerg Infect Dis*, 8(9), 881–890.

Donlan R. M., Costerton J. W. (2002). Biofilms : Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 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.

Dyavaiah M, Phaniendra A, Sudarshan SJ. (2015). Microbial Keratitis in Contact Lens Wearers. *JSM Ophthalmol* 3(3): 1036

E

El-Ganiny A. M., Shaker G. H., Aboelazm A. A., & El-Dash H. A. (2017). Prevention of bacterial biofilm formation on soft contact lenses using natural compounds. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection*, 7, 1-7.

El Haddad S., Imdary I., Rezzou B., El Yamouni O., Hajji Z., Chaoui Z., Berraho A. (2012). Les kératites amibiennes. *Maroc Médical*, 34(4), <https://doi.org/10.48408/IMIST.PRSM/mm-v34i4.2219>

F

Feys J. (2004). Lentilles de contact et risques infectieux, aspects réglementaires. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 27(4), 420-423.

Filloux A. et Vallet I. (2003).risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Med Sci (Paris)* 19, 77-83.

Fitzpatrick F., Humphreys H., Smyth E., Kennedy C.A., O'Gara G.P. (2002). Environmental regulation of biofilm formation in intensive care unit isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Hospital Infection*, 52(3), 212-218.

Folkesson A., Haagensen J. A. J., Zampaloni C., Sternberg C., & Molin S. (2008). Biofilm Induced Tolerance towards Antimicrobial Peptides. *PLoS ONE*, 3(4), e1891.

Foucaud A. (2012). *Lentilles Corneennes: Choix, Contaminations Fongiques Et Amibiennes Et Conseils A L'officine* (Thèse de doctorat inédite). Université de limoges

G

Gabriel M., McAnally C., Bartell J., Walters R., Spencer J., Clark L., Catalone B. (2013). Effect of contact lenses and lens cases on disinfection efficacy of four multipurpose disinfection solutions. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 54(15), 520-520.

Graham J. E., Moore J. E., Jiru X., Moore J. E., Goodall E. A., Dooley J. S. G., Hayes V. E. A., Dartt D. A., Downes C. S., Moore, T. C. B. (2007). Ocular Pathogen or Commensal : A PCR-Based Study of Surface Bacterial Flora in Normal and Dry Eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(12), 5616-5623.

Guillon M. (2013). Are silicone hydrogel contact lenses more comfortable than hydrogel contact lenses? *Eye & contact lens*, 39(1), 86-92.

Guyomarch J., N'Guyen Van Nuoï D., Beral L., Donnio A., Ayeboua L., & Merle H. (2009). 517 Kératites infectieuses et lentilles cosmétiques. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 32, 1S158-1S158.

Guzmán-Soto I., McTiernan C., Gonzalez-Gomez M., Ross A., Gupta K., Suuronen E. J., ... Alarcon E. I. (2021). Mimicking biofilm formation and development: Recent progress in in vitro and in vivo biofilm models. *iScience*, 24(5), 102443.

H

Hinojosa J. A., Patel N. B., Zhu M., Robertson D. M. (2017). Antimicrobial efficacy of contact lens care solutions against neutrophil-enhanced bacterial biofilms. *Translational Vision Science & Technology*, 6(2), 11-11.

Hou, W., Sun, X., Wang, Z., & Zhang, Y. (2012). Biofilm-forming capacity of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* from ocular infections. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(9), 5624-5631.

Høiby N., Ciofu O., Johansen H. K., Song Z., Moser C., Jensen P., Molin S., Givskov M., Tolker-Nielsen T., Bjarnsholt T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms. *International Journal of Oral Science*, 3(2), 55-65.

I

Inoue N., Toshida H., Mamada N., Kogure N., Murakami A. (2007). Contact lens-induced infectious keratitis in Japan. *Eye & contact lens*, 33(2), 65-69.

J

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(3), e-ISSN:2320-3528, p-ISSN:2347-2286

Jacobsen S.M., Stickler D.J., Mobley M.L., & Shitliff M.E. (2008). Complicated Catheter-associated urinary tract infectious due to Echerichia coli and Proteus mirabilis. *Clin Microbiol Rev* 21(1),26-59.

Jiang Z., Nero T., Mukherjee S., Olson R., & Yan J. (2021). Searching for the Secret of Stickiness : How Biofilms Adhere to Surfaces. *Frontiers in Microbiology*, 12, 686793.

Jones L., & Powell C. H. (2013). Uptake and Release Phenomena in Contact Lens Care by Silicone Hydrogel Lenses. *Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice*, 39(1), 29-36.

Joshi S. G., Paff M., Friedman G., Fridman G., Fridman A., & Brooks A. D. (2010). Control of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in planktonic form and biofilms : A biocidal efficacy study of nonthermal dielectric-barrier discharge plasma. *American Journal of Infection Control*, 38(4), 293-301.

K

Kackar S., Suman E., & Kotian M. S. (2017). Bacterial and Fungal Biofilm formation on Contact Lenses and their Susceptibility to Lens Care Solutions. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 35(1), 80-84.

Kara Terki I. (2014). Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen (Doctoral dissertation)Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

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*, 113, 101-118.

Khatoun Z., McTiernan C. D., Suuronen E. J., Mah T.-F., & Alarcon E. I. (2018). Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon*, 4(12), e01067.

Kim H. W., Lee N. Y., Park S. M., & Rhee M. S. (2020). A fast and effective alternative to a high-ethanol disinfectant : Low concentrations of fermented ethanol, caprylic acid, and citric acid synergistically eradicate biofilm-embedded methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 229, 113586.

Kimkes T. E. P., & Heinemann M. (2020). How bacteria recognise and respond to surface contact. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(1), 106-122.

Kundukad B., Udayakumar G., Grela E., Kaur D., Rice S. A., Kjelleberg S., & Doyle P. S. (2020). Weak acids as an alternative anti-microbial therapy. *Biofilm*, 2, 100019.

L

Laëtitia C. (2016). Étude qualitative, objective et subjective des lentilles spot dans les pathologies cornéennes (Mémoire de maîtrise inédit). Centre hospitalier universitaire à Clermont-Ferrand, France.

Lang GK. (2002) -Atlas de poche ophtalmologie - *Editions Maloine* chapitre 5 : 121-157.

Lauderdale K. J., Malone C. L., Boles B. R., Morcuende J., & Horswill A. R. (2010). Biofilm dispersal of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on orthopedic implant material. *Journal of Orthopaedic Research*, 28(1), 55-61.

Lebeaux D., Ghigo J.-M., & Beloin C. (2014). Biofilm-related infections: Bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(3), 510-543.

Leger A. J. S., Desai J. V., Drummond R. A., Kugadas A., Almaghrabi F., Silver P., Raychaudhuri K., Gadjeva M., Iwakura Y., & Lionakis M. S. (2017). An ocular commensal protects against corneal infection by driving an interleukin-17 response from mucosal $\gamma\delta$ T cells. *Immunity*, 47(1), 148-158.

Liesse Iyamba, J.-M. (2012). Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique (doctoral dissertation). Université libre de Bruxelles, Faculté de Pharmacie, Bruxelles.

Lily Therese, k. et Madhavan, L. (2004). microbiology research centre vision research foundation 18, college road, chennai - 600 006.2004.

M

Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D., Fatma T., Rattan A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: An evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol*, 24(1), 25-29.

McDougald D., Rice S. A., Barraud N., Steinberg P. D., & Kjelleberg S. (2011). Should we stay or should we go: Mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews. Microbiology*, 10(1), 39-50.

Moraglia A. (2022). Kératite bactérienne : Evolution des profils de résistance bactérienne et facteurs de risque de mauvais pronostic (Thèse doctorat). Université de Limoges, France.

Moreddu R., Vigolo D., & Yetisen A. K. (2019). Contact Lens Technology: From Fundamentals to Applications. *Advanced Healthcare Materials*, 8(15), 1900368.

Morgan P., Woods C., Tranoudis I., Helland M., & Efron N. (2016). International contact lens prescribing in 2015. *Contact Lens Spectrum*, 31(1), 24-29.

Muhammad M. H., Idris A. L., Fan X., Guo Y., Yu Y., Jin X., Qiu J., Guan X., & Huang T. (2020). Beyond Risk : Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. *Frontiers in Microbiology*, 11, 928.

Muraine M., & Gueudry J. (2015). *Rapport SFO 2015—Surface oculaire.*

N

Nasr S.A., Abushady H.M., Hussein H.S. (2012). Biofilm formation and presence of ica AD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 13(3) pp. 1110-8630.

Nichols J. J., Chalmers R. L., Dumbleton K., Jones L., Lievens C. W., Merchea M. M., & Szczotka-Flynn L. (2019). The Case for Using Hydrogen Peroxide Contact Lens Care Solutions : A Review. *Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice*, 45(2), 69-82.

O

O'Toole G. A., Kaplan HB., Kolter R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *The Annual Review of Microbiology*, 54, 49-79.

P

Pagot R., 2009. Types de lentilles – Types de port. In *Les lentilles de contact*, 191-199. Mallet F., George M.-N., Vayr F. (éditeurs). Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux.

Patel N., Patel C., et Desai M. Z. (2022). Study of Microbial Contamination of Contact Lens Care Solution and Contact Lens Care Practices in users of Central Gujarat. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 9(4), 471-479.

Pilskalns B., Fink B. A., & Hill R. M. (2007). Oxygen Demands with Hybrid Contact Lenses. *Optometry and Vision Science*, 84(4), 334-342

R

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

Rosenthal R. A., Sutton S. V., & Schlech B. A. (2002). Review of standard for evaluating the effectiveness of contact lens disinfectants. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 56(1), 37-52.

S

Samrot A. V., Abubakar Mohamed A., Faradjeva E., Si Jie L., Hooi Sze C., Arif A., Chuan Sean T., Norbert Michael E., Yeok Mun C., Xiao Qi N., Ling Mok P., & Kumar S. S. (2021). Mechanisms and Impact of Biofilms and Targeting of Biofilms Using Bioactive Compounds-A Review. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 57(8), 839.

Satorres S, Alcaraz A. (2007). Prevalence of icaA and icaD genes in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis strains isolated from patients and hospital staff. *Cent Eur J Public Health*, 15(2), 87–90.

Scalabrini M. (2019). *Étude de l'activité anti-bioadhésion de surfaces de verres greffées par des sucres furanosidiques rares* [PhD Thesis]. Université de Bretagne Sud.

Schaefer F., Bruttin O., Zografos L., & Guex-Crosier Y. (2001). Bacterial keratitis: A prospective clinical and microbiological study. *British Journal of Ophthalmology*, 85(7), 842-847.

Schalk O. (2017). *La contactologie à l'officine: Complications liées au port des lentilles de contact et modalités d'entretien* (Thèse de doctorat inédite). Université de Lorraine

Semaha S. (2020). *Les kératites infectieuses: Manifestations cliniques et prise en charge* [PhD Thesis]. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie

Stepanović S., Vuković D., Dakić I., Savić B., Švabić-Vlahović M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods* 40, 175–179.

Shoff, M. E., Lucas A. D., Brown J. N., Hitchins V. M., & Eydelman M. B. (2012). The effects of contact lens materials on a multipurpose contact lens solution disinfection activity against Staphylococcus aureus. *Eye & Contact Lens*, 38(6), 368-373.

Souhail H., & Iferkhas Z. E. (2016). Les kératites bactériennes. *Journal Marocain des Sciences Médicales*, 20(2), 1113-5867.

Szczotka-Flynn L. B., Imamura Y., Chandra J., Yu C., Mukherjee P. K., Pearlman E., & Ghannoum M. A. (2009). Increased resistance of contact lens related bacterial biofilms to antimicrobial activity of soft contact lens care solutions. *Cornea*, 28(8), 918-926.

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.

T

- Țălu Ș., Țălu M., Giovanzana S., & Shah R. D. (2011).** A brief history of contact lenses. *Human and Veterinary Medicine*, 3(1), 33-37.
- Terry R., C S., & Ba H. (1989).** Rigid gas permeable lenses and patient management. *The CLAO journal: official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc*, 15(4),305-309
- Tenke P. Kovacs B., Jackel M. & Nagy E. (2006).** The role of biofilm infection in urology. *World J Urol*, 24(1),13-20.
- Ting D. S. J., Ho C. S., Deshmukh R., Said D. G., & Dua H. S. (2021).** Infectious keratitis : An update on epidemiology, causative microorganisms, risk factors, and antimicrobial resistance. *Eye*, 35(4), 1084-1101.
- Tinsley J. N., Molodtsov M. I., Prevedel R., Wartmann D., Espigulé-Pons J., Lauwers M., & Vaziri A. (2016).** Direct detection of a single photon by humans. *Nature communications*, 7(1), 12172.
- Touati A., Achour W., Abbassi et al., (2007),** Détection des gènes ica et de la production de slime parmi des souches de Staphylococcus epidermidis isolées d'infections liées aux cathéters chez des patients neutropéniques, *Pathologie Biologie*, 55(6), 277–282

V

- van der Worp E., Bornman D., Ferreira D. L., Faria-Ribeiro M., Garcia-Porta N., & González-Meijome J. M. (2014).** Modern scleral contact lenses : A review. *Contact Lens and Anterior Eye*, 37(4), 240-250
- Vijay A. K., Sankaridurg P., Zhu H., & Willcox M. D. (2009).** Guinea pig models of acute keratitis responses. *Cornea*, 28(10), 1153-1159.
- Vincent S. J. (2017).** Contact Lens Practice, Third Edition Nathan Efron (Editor) Elsevier, Edinburgh, UK, 2018, 471 pages, RRP \$220. *Clinical and Experimental Optometry*, 100(5), 545-545.
- Vivero-Lopez M., Muras A., Silva D., Serro A. P., Otero A., Concheiro A., & Alvarez-Lorenzo C. (2021).** Resveratrol-loaded hydrogel contact lenses with antioxidant and antibiofilm performance. *Pharmaceutics*, 13(4), 532.

W

- Willcox M. D. (2013).** Microbial adhesion to silicone hydrogel lenses : A review. *Eye & contact lens*, 39(1), 61-66.
- Wu Y. T., Zhu H., Willcox M., & Stapleton F. (2010).** Removal of biofilm from contact lens storage cases. *Investigative ophthalmology & visual science*, 51(12), 6329-6333.

Wu Y. T., Zhu H., Willcox M., & Stapleton F. (2011). The effectiveness of various cleaning regimens and current guidelines in contact lens case biofilm removal. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(8), 5287-5292.

Wu Y. T.-Y., Willcox M., Zhu H., & Stapleton F. (2015). Contact lens hygiene compliance and lens case contamination : A review. *Contact Lens and Anterior Eye*, 38(5), 307-316.

Z

Zaki M., Pardo J., & Carracedo G. (2019). A review of international medical device regulations : Contact lenses and lens care solutions. *Contact Lens and Anterior Eye*, 42(2), 136-146.

Webographies

Anonyme., (2023), <http://www.vision-laser.fr>

Annexe 1 : résultats du dénombrement de l'effet de la solution biotruée sur *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

- La souches *Staphylococcus epidermidis*

	Activité anti-adhésive				Activité éradicatrice du biofilm			
	Concentration de Biotruée				Concentration de Biotruée			
Dilution	100%	80%	50%	20%	100%	80%	50%	20%
10⁻¹	-	-	id	id	-	id	id	id
10⁻²	-	-	22	75	-	id	id	id
10⁻³	-	-	-	-	-	-	52	id
10⁻⁴	-	-	-	-	-	-	-	-
10⁻⁵	-	-	-	-	-	-	-	-

Id : indécomptable

- La souches *Staphylococcus aureus*

	Activité anti-adhésive				Activité éradicatrice du biofilm			
	Concentration de Biotruée				Concentration de Biotruée			
Dilution	100%	80%	50%	20%	100%	80%	50%	20%
10⁻¹	-	-	Id	Id	-	id	id	Id
10⁻²	-	-	Id	Id	-	92	Id	Id
10⁻³	-	-	109	Id	-	52	-	Id
10⁻⁴	-	-	-	-	-	-	-	-
10⁻⁵	-	-	-	-	-	-	-	-

Id : indécomptable

Annexe 2 : Résultats du dénombrement et de la réduction en log de l'effet de l'acide citrique sur *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

➤ **Anti-adhésive**

	Concentration d'acide citrique			Témoin No
	1%	2%	3%	
	Dénombrement			
S. aureus (Ufc/ml)	900 (2,95 Log)	220 (2,34 Log)	10 (1 Log)	2,24.10 ⁵ (5,36 Log)
S. epidermidis (Ufc/ml)	60 (1,77 Log)	10 (1 Log)	10 (1 Log)	1,2.10 ⁵ (5,07 Log)

	Concentration d'acide citrique		
	1%	2%	3%
	Reduction en Log		
S. aureus (Ufc/ml)	2,41	3,02	4,36
S. epidermidis (Ufc/ml)	3,24	4,01	4,01

Reduction en Log= $Log ST - Log AT$
 ST: Sans traitement
 AT: Avec traitement

➤ **Eradicatrice du biofilm**

	Concentration d'acide citrique			Témoin No
	1%	2%	3%	
	Dénombrement			
S. aureus (Ufc/ml)	2600 (3,41Log)	920 (2,96 Log)	40 (1,6 Log)	2,24.10 ⁵ (5,36 Log)
S. epidermidis (Ufc/ml)	910 (2,95 Log)	0	0	1,2.10 ⁵ (5,07 Log)

	Concentration d'acide citrique		
	1%	2%	3%
	Reduction en Log		
S. aureus (Ufc/ml)	1,95	2,04	3,76
S. epidermidis (Ufc/ml)	2,41	5,07	5,07

Annexe 3 : Tableau de lecture Api Staph

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-MANnosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	ZYM A + ZYM B / 10 min incolore, beige-rosé, violet très pâle Violet	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min incolore-rose pâle violet-rose	
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD-glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE	p. I
TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. II
BIBLIOGRAPHIE	p. III
TABLES DES SYMBOLES	p. IV