

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث 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

M<sup>elle</sup> BENMILOUD Lina Wafaa

M<sup>elle</sup> ABI AYAD Sonia Rym

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Microbiologie fondamentale

## **Inhibition de la formation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* sur les lentilles de contact**

Soutenu le 14/06/2023, devant le jury composé de :

<b>Présidente</b>	HASSAINE Hafida	Professeur	Université de Tlemcen
<b>Encadrant</b>	BELLIFA Samia	Maître de conférences A	Université de Tlemcen
<b>Examinatrice</b>	KARA TERKI Ibtissem	Maître de conférences A	Université de Sidi Bel Abbés

**Année universitaire 2022/2023**

## ملخص

البيوفيلم عبارة عن مجتمع من الكائنات الحية الدقيقة المرتبطة بسطح ويتم الحفاظ عليها بواسطة مادة لاصقة ومصفوفة واقية. يمكن أن يكون تكوين الأغشية الحيوية على سطح العدسات اللاصقة عامل خطر للإصابة بالتهابات العين. الهدف من عملنا هو التحديد المسبق للنباتات البكتيرية لـ *Pseudomonas aeruginosa* التي تستعمر سطح العدسات اللاصقة من متطوعين بدون أعراض ؛ واختبار النشاط المضاد للالتصاق والاستئصال لحمض الستريك و محلول صيانة على سلالة *P.aeruginosa* الأكثر تكويناً للغشاء الحيوي. تحقيقاً لهذه الغاية ، تمت دراسة تثبيط والقضاء على تكوين الأغشية الحيوية لسلالات *P.aeruginosa* عن طريق العلاجات بمحلول صيانة متعدد الوظائف وحمض الستريك (1% ، 2% ، 3%) على لوح ميكروتيتر لمدة 24 ساعة. أشارت النتائج إلى أن التثبيط والتخلص من الأغشية الحيوية سابقة التشكيل كان فعالاً ، وأن عدد سلالات *P.aeruginosa* التي تم منعها أو القضاء عليها باستخدام معالجة حامض الستريك كانت أعلى. كان التثبيط والقضاء على تكوين البيوفيلم أكبر بشكل ملحوظ عندما زاد تركيز حامض الستريك إلى أقل من 3%. أظهرت النتائج أنه يمكن استخدام حامض الستريك كمطهر بديل للتحكم في تكوين البيوفيلم على العدسات اللاصقة..

**الكلمات المفتاحية :** *Pseudomonas aeruginosa* , عدسات لاصقة, بيوفيلم , حامض الستريك , القضاء.

## Résumé

Un biofilm est une communauté de microorganismes fixée à une surface et maintenue par une matrice adhésive et protectrice. La formation des biofilms à la surface des lentilles de contact peut être un facteur de risque des infections oculaires.

L'objectif de notre travail vise à identifier au préalable la flore bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa* colonisant la surface des lentilles de contacts provenant de personnes volontaires asymptomatiques ; et à tester l'activité anti-adhésive et éradicatrice de l'acide citrique et de la solution d'entretien sur la souche de *P.aeruginosa* la plus formatrice de biofilm. À cette fin, l'inhibition et l'élimination de la formation de biofilm de souches de *P.aeruginosa* par des traitements à la solution d'entretien multifonction et à l'acide citrique (1%,2%,3%) ont été étudiées sur plaque de microtitration pendant 24h. Les résultats ont indiqué que l'inhibition et l'élimination de biofilm préformé était performante, et que le nombre de souches de *P.aeruginosa* empêchées ou éliminées à l'aide du traitement à l'acide citrique étaient plus élevés. L'inhibition et l'élimination de la formation de biofilms étaient sensiblement plus élevées lorsque la concentration du traitement à l'acide citrique augmentait à moins de 3 %. Les résultats montrent que l'acide citrique peut être utilisé comme désinfectant alternatif pour contrôler la formation de biofilm sur les lentilles de contact.

**Mot clés :** *Pseudomonas aeruginosa*, lentilles de contact, biofilm, acide citrique, éradication.

## Summary

A biofilm is a community of microorganisms attached to a surface and maintained by an adhesive and protective matrix. The formation of biofilms on the surface of contact lenses can be a risk factor for eye infections.

The objective of our work is to identify beforehand the bacterial flora of *Pseudomonas aeruginosa* colonizing the surface of contact lenses from asymptomatic volunteers; and to test the anti-adhesive and eradicating activity of citric acid and multifunction maintenance solution on the most biofilm-forming *P.aeruginosa* strain. To this end, the inhibition and elimination of biofilm formation of *P.aeruginosa* strains by treatments with multifunction maintenance solution and citric acid (1%,2%,3%) have were studied on a microtiter plate for 24 hours. The results indicated that the inhibition and elimination of preformed biofilm was efficient, and that the number of *P.aeruginosa* strains prevented or eliminated using citric acid treatment were higher. Inhibition and elimination of biofilm formation was significantly greater when the concentration of citric acid treatment increased to less than 3%. The results show that citric acid can be used as an alternative disinfectant to control biofilm formation on contact lenses.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, biofilm, contact lenses, citric acid, eradication.

## *Remerciements*

Avant toute chose, nos remerciements vont à Dieu le tout puissant qui nous a éclairé les chemins du savoir et nous a maintenu en santé pour mener à bien cette année d'étude et de nous avoir donné la volonté, le courage et la patience pour réaliser ce travail de recherche.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre encadrant Madame BELLIFA Samia, cela a été un réel plaisir de travailler sous sa direction. Ses capacités d'encadrement, d'orientation, et d'écoute ainsi que sa patience, et surtout sa disponibilité à diriger ce travail, nous ont permis de nous améliorer. Nous espérons que la confiance que vous nous avez accordé et que ce mémoire est à la hauteur de vos espérances. Veuillez croire, à tout notre respect et nos reconnaissances.

Notre vif remerciement pour les membres du jury, à commencer par :

Madame HASSAINE Hafida, pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury de ce mémoire, merci pour votre confiance, votre bienveillance et votre joie de vivre. Soyez assurée de notre profonde reconnaissance.

Madame KARA TERKI Ibtissem, Maître de Conférences A, Université de Sidi Bel Abbés, pour l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche en acceptant d'examiner ce modeste travail.

Nos remerciements vont également à Monsieur BENAMMAR Ibrahim ; son orientation nous a été très bénéfique pour la réalisation de ce travail, sa rigueur et façon de travailler nous ont permis d'être plus attentives vis-à-vis de notre travail. Votre gentillesse et vos conseils nous ont beaucoup touché et encouragé tout au long de ce travail.

Ce mémoire a été effectué dans le laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE), Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, sous la direction du Professeur HASSAINE Hafida, à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers (SNV-STU), Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen. Cela a été un grand privilège d'y travailler. Un grand merci à toute l'équipe du laboratoire (Ingénieurs et doctorantes) pour leur aide et leurs conseils.

Nous tenons à saisir cette occasion et adresser notre profonde gratitude aux différents opticiens, en particulier à Mr. KOULOUGHLI M. et puis à OTTICO, OPTIKOS, OPTIVISION, OPTICAL express, PARIS VISION, PANAM OPTIQUE ; pour leur aide dans la collecte des lentilles de contact.

## *Dédicaces*

Avant tout, louange au Dieu le plus puissant pour ce qu'il nous a donné, comme santé, volonté et surtout patience pour pouvoir achever ce modeste travail.

Je dédie ce travail,

A moi-même pour avoir été courageuse ces dernières années malgré les difficultés, je suis fière d'avoir réalisé ce travail et d'avoir accompli ma mission de déléguée de 3 promos.

A mon adorable et très chère maman MEKHAZNI Baya, ce travail est le fruit de tes efforts, de tes prières, de tes encouragements et de tes histoires passionnantes, aucune dédicace ne saurait exprimer ma profonde gratitude, mon éternel amour, mon respect et ma considération pour tous les sacrifices que tu as consenti de Tizi-Ouzou jusqu'à Tlemcen, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir. Le Meilleur est à venir, comme on dit.

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

Je vous aime et supplie dieu de vous accorder une bonne santé.

A toi, mon cher frère Djamil, pour que tu sois fier de ta grande sœur. Félicitations pour ta licence, je te souhaite le meilleur dans tous tes projets futurs avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A madame HASSAINE Hafida, votre bonne humeur, votre énergie positive et votre complicité avec vos étudiants font de vous une personne extraordinaire, vous êtes un exemple à suivre ...  
mon exemple.

A tous mes enseignants, de la L1 au M2, et en particulier madame BELLIFA, Mme BOUBLENZA, Mme MKEDDER, Mme LEMERINI, Mme BENSALAH, Mme MEDJDOUB, ainsi que monsieur REBIAHI et monsieur BELYAGOUBI.

A mon binôme et amie Sonia, à tous nos moments partagés ensemble ces dernières années.

A mes ami(e)s en particulier Selma, Oussama, Fatema, Souleymane, Sabiha, Manal, Karim, Rania, Zineb pour leur soutien et encouragement.

*Avec toute mon affection, Lina* 

## **Dédicaces**

*Le succès est une route sinueuse pleine de défis et de patience, mais pour son gout, c'est une douceur indescriptible.*

*Je tien à la fin de ce travail à remercier*

**ALLAH**

*Le tout puissant de m'avoir donné la foi et de m'avoir permis d'en arriver là. Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie ce modeste travail à :*

**À mon très cher père**



*Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher.*

*Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour.*

*Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin.*

*Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père.*

*J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.*

**À ma très chère mère**



*Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement.*

*Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée.*

*Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

**À mes chères sœurs HIND et MANEL**



*Qui font de mon univers une merveille, les mots ne suffisent pas pour exprimer l'attachement et l'affection que je porte pour vous, j'ai vraiment été bénie d'avoir des sœur comme vous , J'implore Dieu qu'il vous apporte le bonheur et vous aide à réaliser tous vos rêves.*

**À mon cher beau-frère RAMZI BENHABIB**



*Il n'y a rien de tel qu'un ami le plus cool au monde et un frère réunis en un seul , je te souhaite le meilleur dans la vie , c'est l'occasion pour moi de te remercier très sincèrement pour votre encouragements , les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime.*

**A mon neveu WASSIM**



*Mon petit ange t'es une telle joie d'avoir un neveu , tu es un paquet compact d'amusement et d'aventure et je ne peux pas croire la qualité d'amour que j'ai pour toi je te souhaite le meilleur de ce que la vie peut t'offrir , que dieu te protège et te bénisse .*

**À ma très chère tante CHAHIDA**



*Je vous dédie cette thèse pour vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel.*

*Merci pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue vie parmi nous.*

*Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je te porte.*

*Ta bonté, ton précieux soutien, ton encouragement tout au long de mes années d'étude, ton amour et ton affection, ont été pour moi l'exemple de persévérance.*

**À la mémoire de ma chère grand-mère maternel**



*Comment t'oublier ? ta bonté reste encore gravée dans ma mémoire, j'imagine quelle serait ta joie aujourd'hui, j'aurai voulu que tu assistes à l'aboutissement de ces années de dur labeur, Dieu en a décidé autrement.*

*Que Dieu t'accorde la paix éternelle et t'accueille dans son paradis.*

**À la mémoire de mes grands-parents**



*Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que*

*ce travail soit une prière pour votre âme.*

*Que vous reposiez dans le paradis du seigneur.*

**À ma chère binôme BENMILOUD Lina Wafaa**



*Qui m'a supporté durant ce travail, et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite ; Que Dieu bénisse cette amitié fraternelle, sincère et fidèle.*

**À mes professeurs particulièrement HASSAINE, BELLIFA , BOUBLENZA, LEMERINI et BELYAGOUBI durant tout mon cursus d'étude**

**A ma chère cousine et amie Amel BERRACHED**



*Qui m'a aidée beaucoup dans tout mon cursus , t'était toujours présente et à l'écoute merci pour votre aimable attention .*

**À mes chères amies Selma, souleymane , Nihal ,Rihen, Sara, Nouna , Dounia ,Kawthar**



*En souvenir des moments heureux passés ensemble, Avec vous l'amitié est un voyage merveilleux, une affection délicieuse ,et des agréables moments durant ces cinq ans.*



**ABI AYAD SONIA RYM**

## Table des matières

### Liste des abréviations

### Liste de figures

### Liste des tableaux

<b>Introduction</b> .....	<b>01</b>
<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b> .....	<b>02</b>
<b>Chapitre 1 : Généralités sur les lentilles de contact</b> .....	<b>03</b>
1. Historique.....	04
2. Définition .....	05
3. Caractéristiques des lentilles de contact .....	05
4. Matériaux des lentilles de contact .....	06
5. Classification.....	07
5.1 Lentille souple .....	07
5.2 Lentille rigide .....	07
5.3 Lentille hybride .....	08
5.4 Lentille sclérale .....	08
5.5 Lentille thérapeutique.....	09
5.6 Lentille cosmétique .....	09
6. Dépôts à la surface des lentilles de contact.....	09
6.1 Définition.....	09
6.2 Types de dépôts à la surface des LC .....	10
6.2.1 Dépôts protéiques .....	10
6.2.2 Dépôts lipidiques .....	11
6.2.3 Dépôts muciniques.....	11
6.2.4 Autres types de dépôts à la surface des LC .....	11
7. Environnement des lentilles de contact .....	12
7.1 Environnement non infectieux .....	12
7.1.1 Film lacrymal sous lentille .....	12
7.1.2 Flore oculaire saprophyte .....	13
7.2 Environnement infectieux .....	13

7.2.1 Facteurs de contamination .....	13
7.2.2 Contamination bactérienne.....	14
7.2.3 Contamination fongique.....	16
7.2.4 Contamination amibienne .....	17
7.2.5 Contamination virale.....	17
7.2.6 Agent transmissible non conventionnel (ATNC).....	18
7.2.7 Formation du biofilm sur les lentilles de contact .....	18
<b>Chapitre 2 : Généralités sur les biofilms.....</b>	<b>19</b>
1. Historique.....	20
2. Définition .....	20
3. Formation du biofilm sur les lentilles de contact .....	20
3.1 Etapes de la formation du biofilm .....	21
3.1.1 Film de conditionnement ou le film primaire .....	21
3.1.2 Transport des bactéries vers la surface des LC .....	21
3.1.3 Adhésion réversible .....	22
3.1.4 Adhésion irréversible .....	23
3.1.5 Formation des micro-colonies .....	23
3.1.6 Maturation du biofilm .....	24
3.1.7 Détachement des bactéries .....	24
4. Facteurs favorisant la formation de biofilm.....	24
5. Résistance du biofilm aux agents antimicrobiens et aux antibiotiques .....	25
<b>Chapitre 3 : Entretien des lentilles de contact.....</b>	<b>27</b>
1. Principales étapes .....	28
1.1 Nettoyage.....	28
1.2 Rinçage.....	28
1.3 Décontamination.....	28
1.4 Trempage et conservation .....	29
2. Les solutions d'entretien .....	29
2.1 Définition.....	29
2.2 Types .....	29
2.2.1 Les solutions polyvalentes multifonctions(MPS) .....	29

2.2.2 Les solutions oxydantes.....	30
3. L'entretien des étuis .....	30
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes .....</b>	<b>31</b>
1. Lieu d'étude .....	32
2. Prélèvements .....	32
3. Ensemencement et Isolement.....	32
4. Identification .....	32
4.1 Etude des caractères macroscopiques .....	32
4.2 Etude des caractères biochimiques .....	32
4.2.1 Test d'Oxydase .....	32
4.2.2 Identification par galerie API 20NE .....	32
5. Conservation des souches .....	33
6. Détection de la formation du biofilm sur les lentilles de contact <i>in vitro</i> .....	33
6.1 Méthode de plaque de culture de tissu (TCP) .....	33
6.1.1 Technique.....	33
6.1.2 Lecture.....	34
6.2 Détection de la production de slime sur milieu Rouge Congo Agar (RCA).....	34
6.2.1 Technique.....	34
6.2.2 Lecture.....	34
7. Etude de l'effet de l'acide citrique et de la solution d'entretien sur la forme biofilm des souches isolées des lentilles de contact.....	34
7.1 Effet de l'acide citrique sur la forme biofilm des souches isolées de lentilles de contact.....	34
7.1.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'acide citrique.....	34
7.2 Activité inhibitrice de l'acide citrique et de la solution d'entretien .....	35
7.3 Activité éradicatrice de l'acide citrique et de la solution d'entretie .....	35
<b>Troisième partie : Résultats et discussion.....</b>	<b>36</b>
1. Prélèvements .....	37
2. Identification .....	37
2.1 Identification macroscopique .....	37
2.2 Identification biochimique.....	38
2.2.1 Test d'oxydase .....	38
2.2.2 Galerie API 20 NE .....	38
3. Evaluation de la formation du biofilm <i>in vitro</i> .....	39

3.1 Méthode quantitative (TCP) .....	39
3.2 Méthode qualitative (RCA) .....	41
4. Etude de l'effet de la solution d'entretien sur la forme biofilm des souches isolées des lentilles de contact.....	42
4.1 Activité anti adhésion .....	43
4.2 Activité éradicatrice.....	45
5. Etude de l'effet de l'acide citrique sur la forme biofilm des souches isolées des lentilles de contact.....	47
5.1 Détermination de la CMI.....	48
5.2 Activité antiadhésive .....	48
5.3 Activité éradicatrice.....	49
<b>Conclusion .....</b>	<b>51</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>54</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>68</b>

## Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

AC : Acide Citrique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AOA : American Optometric Association

ATCC : American Type Culture Collection

ATNC : Agent transmissible non conventionnel

**BHIB** : Brain Heart Infusion Broth

[C] : Concentration

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CMV** : Cytomégalovirus

**CoF** : Coefficient de friction

**Dk** : Transmissibilité de l'oxygène

**DO** : Densité Optique

**E** : Module d'élasticité

**EBV** : Epstein-Barr virus

**ECM** : Matrice hydrophobe extracellulaire

**EDS** : Eau distillée Stérile

**EP** : Eau physiologique

**EPS** : Exopolysaccharide

**FDA** : Food and Drug Administration

**GN**: Gélose Nutritive

**H** : Heure

**HEMA** : Hydroxy-éthyl méthacrylate

**HSV** : virus de l'herpès simplex

**IgA** : Immunoglobulines A

**KA** : Kératite amibienne

**KB** : Kératite bactérienne

**KF** : Kératite fongique

**KM** : Kératite microbienne

**KV** : Kératite virale

**LC** : Lentille de contact

**LCH** : Lentilles de contacts hybrides

**LRPG** : Lentilles rigides perméables au gaz

**LSH** : Lentilles souples hydrophiles

**mm** : millimètre

**mM** : milli-molaire

**MPS** : Solutions de désinfection polyvalentes

**nm** : nanomètre

**pH** : Potentiel d'Hydrogène

**pKa** : Potentiel de la constante d'acidité

**PMMA** : Polyméthacrylate de méthyl

**RCA** : Rouge Congo Agar

**SCL** : Lentilles de contact souple

**Sihys** : Hydrogels de silicone

**SPOT** : Lentilles sclérales

**TCP** : Méthode de plaque de culture de tissus

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UV** : Ultra-Violet

**VZV** : Virus varicelle-zona

## Liste des figures

<b>Figure 01.</b> Kératite à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Hilliam <i>et al.</i> , 2020).....	15
<b>Figure 02.</b> Kératite à <i>Moraxella</i> (Bourcier <i>et al.</i> , 2020).....	15
<b>Figure 03.</b> Kératite mycosique à <i>Fusarium</i> (Bärtschi, 2009) .....	16
<b>Figure 04.</b> Kératite amibienne (Bouheraoua <i>et al.</i> , 2014) .....	17
<b>Figure 05.</b> Adhésion des bactéries à la surface des LC.....	23
<b>Figure 06.</b> Etapes de formation du biofilm sur les lentilles de contact .....	24
<b>Figure 07.</b> Entretien des lentilles de contact (Bärtschi, 2009) .....	30
<b>Figure 08.</b> Répartition des prélèvements.....	37
<b>Figure 09.</b> Aspect macroscopique des colonies obtenues sur milieu MacConkey.....	37
<b>Figure 10.</b> Aspect macroscopique de <i>P.aeruginosa</i> obtenue sur milieu Cétrimide.....	38
<b>Figure 11.</b> Résultat du test Oxydase.....	38
<b>Figure 12.</b> Identification de <i>P. aeruginosa</i> (galerie API20 NE). .....	39
<b>Figure 13.</b> Résultats de l'évaluation de la formation de biofilm par TCP (N=07) .....	40
<b>Figure 14.</b> Résultats de l'évaluation de la formation de biofilm par RCA (N=07) .....	41
<b>Figure 15.</b> Représentation graphique de l'effet anti-adhésion de la solution d'entretien sur le biofilm préformé.....	43
<b>Figure 16.</b> Résultats du dénombrement sur GN de l'activité anti-adhésive après utilisation de la solution d'entretien.....	44
<b>Figure 17.</b> Représentation graphique de l'effet éradicateur de la solution d'entretien sur le biofilm préformé.....	45
<b>Figure 18.</b> Résultats du dénombrement sur GN de l'activité éradicatrice après utilisation de la solution.....	45
<b>Figure 19.</b> MPS contre les biofilms de <i>P. aeruginosa</i> sur les LC (Dosler <i>et al.</i> , 2020).....	46
<b>Figure 20.</b> Réduction logarithmique moyenne (taux d'élimination des micro-organismes)(Cyrot <i>et al.</i> , 2010) .....	47
<b>Figure 21.</b> Résultat du dénombrement sur GN de l'activité anti-adhésive après traitement à l'AC.....	48
<b>Figure 22.</b> Résultat du dénombrement sur GN de l'activité éradicatrice après traitement à l'AC.....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01.</b> Résultats des différents tests de la galerie biochimique API 20 NE.....	39
<b>Tableau 02.</b> Résultats de la formation du biofilm par les deux techniques TCP et RCA.....	42
<b>Tableau 03.</b> Résultats des CMI de l'AC.....	48

# **INTRODUCTION**

L'œil est l'un des organes les plus importants du corps humain fournissant des informations fondamentales sur l'environnement (**Abdi et al., 2023**), nos yeux nous fournissent environ 80 % de nos perceptions sensorielles. La connaissance du monde extérieur s'exerce essentiellement par la vision, qui a donc un triple rôle : perceptif, sensoriel et cognitif.

Les lentilles de contact sont un moyen optique et thérapeutique efficace portées par pas moins de 230 millions de personnes dans le monde, utilisable de la naissance à un âge avancé (**Bärtschi, 2009**), permettant de corriger l'erreur de réfraction, les irrégularités et les anomalies de surface de la cornée (**Gurnani et Kaur, 2022**).

Pratiques et discrètes, les lentilles de contact ont révolutionné le quotidien de millions de personnes dans le monde en facilitant grandement la vie des gens ayant un problème de vue.

Bien que généralement bien tolérées, les lentilles de contact peuvent provoquer une infection de la cornée (kératite microbienne), avec une incidence annualisée approximative allant de 2 à 20 cas pour 10 000 porteurs (**Fleiszig et al., 2020**), et entraînant parfois une déficience visuelle grave et la cécité (**Heidari et al., 2018**).

Les maladies liées à l'œil sont fréquemment observées en pratique clinique (**Steele et Szczotka-Flynn, 2017**). En dépit du fait que les lentilles de contact présentent des avantages optiques et professionnels, elles sont associées à certaines complications (**Khan et al., 2020**) notamment lors d'un mauvais entretien.

En effet, certaines maladies oculaires infectieuses sont dues à la formation de biofilms bactériens (**Patel et al., 2022**) et le port de lentilles de contact s'est avéré être un facteur de risque important à la formation des biofilms causant de graves infections ophtalmiques.

Environ un tiers des kératites microbiennes liées aux lentilles de contact se sont avérées être associées à des coques à Gram positif telles que des staphylocoques et des streptocoques, mais les deux tiers sont associées à des bâtonnets à Gram négatif, en particulier *Pseudomonas aeruginosa* (**Subbaraman, 2009**), pour qui le biofilm est important dans la pathogénie, car il lui permet de persister sur les dispositifs médicaux implantables et de constituer un réservoir (**Méar, 2014**).

Le présent travail a pour objectif de détecter la formation de biofilms *in vitro* à la surface des lentilles de contact.

Dans ce contexte, nous avons aussi essayé de tester les capacités de quelques substances sur l'inhibition et l'élimination du biofilm de *P.aeruginosa* sur la surface des lentilles de contact; à savoir une des solutions de désinfection les plus vendues sur le marché et une substance naturelle : l'acide citrique.

**Première partie**  
**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre 1**

## **Généralités sur les lentilles de contacts**

## 1. Historique

Initialement, le concept de lentilles de contact est né en 1508, de Léonard de Vinci décrivant et esquissant la première idée (**Kilvington, 2000**).

Ce n'est que trois siècles plus tard qu'un souffleur de verre allemand, F.E. Müller produit le premier couvre-œil conçu pour être vu à travers et toléré. Les lunettes de Muller ont été conçues en premier lieu à des fins de protection, mais elles étaient très lourdes et ne pouvaient être portées que pendant de très courtes périodes (**Țălu et al., 2011**).

Les premières lentilles de contact virent le jour en 1888 avec le physiologiste et ophtalmologiste allemand Adolf Eugene Fick à Zurich, sous forme de coques sclérales en verre soufflé (**Colliot, 2022**) dont il mit à profit les propriétés optiques et mécaniques pour compenser efficacement la faiblesse de sa vision (**Bärtschi, 2009**). Mais ces lentilles étaient grandes, lourdes et inconfortables. Elles couvraient la quasi-totalité de la surface de l'œil et ne pouvaient être portées que pendant quelques heures (**Anonyme, 2010**).

C'est en 1945 que l'American Optometric Association (AOA), reconnaît officiellement le domaine croissant des lentilles de contact en spécifiant que l'ajustement des lentilles de contact fait partie intégrante de la pratique de l'optométrie (**Țălu et al., 2011**).

L'utilisation de polyméthacrylate de méthyle (PMMA) dans les lentilles de contact cornéennes a conduit à la vulgarisation de la lentille de contact au début des années 1950 grâce à l'opticien californien Tuohy. Le PMMA est plus léger que le verre, clair, rigide et relativement inerte biologiquement (**Harvey et al., 1990**). Elles pouvaient être portées jusqu'à 16 heures par jour et ont été largement distribuées dans les années 1960 (**Barr, 2006**).

Il a fallu attendre le début des années 1970 pour la commercialisation des premières lentilles souples en hydrogel d'hydroxy-éthyl métacrylate (HEMA), sur une idée du tchèque Otto Wichterle en 1961, reprise par l'entreprise Bausch & Lomb (**Colliot, 2022**).

Au cours des années 1980 et 1990, de nombreuses études ont abouti à une amélioration de la perméabilité à l'oxygène des lentilles rigides perméables aux gaz d'aujourd'hui, en particulier l'utilisation de substrats à haute teneur en oxygène et/ou en silicone hydrogel pour rendre les lentilles dures plus confortables (**Barr, 2006**).

C'est ainsi qu'en 1999, que les hydrogels de silicone (SiHys) ont été introduits élargissant la gamme de lentilles souples, mais a également augmenté l'incidence d'une gamme de complications (**Bhamra et Tighe, 2017**).

## 2. Définition

Les implants médicaux sont des dispositifs artificiels partiellement ou entièrement insérés dans le corps humain et destinés à rester après la procédure à des fins diagnostiques, thérapeutiques et de rééducation (Caldara *et al.*, 2022).

Les lentilles de contact sont des prothèses oculaires utilisées par plus de 150 millions de personnes dans le monde. Les principales applications des lentilles de contact comprennent la correction de la vue, la thérapeutique et les cosmétiques (Moreddu *et al.*, 2019), et les différentes indications peuvent être optiques, préventives, diagnostiques, opératoires et professionnelles. Les premières lentilles de contact ont été fabriquées avec des matériaux disponibles dans le but de corriger la vision. Alors que de nouveaux matériaux étaient développés pour améliorer la santé et le confort du porteur (Bhamra et Tighe, 2017).

## 3. Caractéristiques des lentilles de contact

Les lentilles de contact sont décrites avec diverses spécifications telles que le diamètre global, le diamètre de la zone optique, la courbe de base, les courbes centrale, périphérique et intermédiaire, le bord, la puissance, l'épaisseur et la teinte (Gurnani et Kaur, 2022).

Elles peuvent avoir différentes propriétés chimiques telles que :

- **La perméabilité à l'oxygène** : aussi appelé transmissibilité de l'oxygène ou valeur « Dk », est une caractéristique de performance clé pour les lentilles de contact. L'expression Dk est devenue universellement acceptée, comme le terme faisant référence à la propriété intrinsèque d'un matériau à transporter l'oxygène à travers sa masse (Nicolson et Vogt, 2001).

Selon le matériau, le passage de l'oxygène au travers de la lentille est fonction de :

- La teneur en eau pour les lentilles en hydrogel
- La quantité de silicone pour les lentilles en silicone hydrogel (Bloise, 2020)

Chaque lentille de contact est une barrière au transport de l'oxygène dans l'œil et peut induire une hypoxie, qui est une cause de problèmes cliniques (Lee *et al.*, 2015).

- **La mouillabilité** : est parmi l'une des caractéristiques de surface d'une lentille de contact qui décrit la capacité d'un liquide, qui est le film lacrymal à se répandre et à se maintenir sur une surface solide, la surface de la lentille de contact (Efron, 2010).

La mouillabilité dans l'œil est généralement évaluée en déterminant la facilité avec laquelle le film lacrymal s'étale sur la surface de la lentille de contact et la stabilité avec laquelle le film lacrymal reste adhérent à cette surface (**Menzies et Jones, 2010**).

➤ **Coefficient de friction**

Le CoF est une valeur quantitative extrêmement importante reflétant la lubrification (qualité) de la surface de la lentille (**Bloise, 2020**). Un faible CoF permet à la surface de la lentille d'être plus soyeuse et plus douce.

➤ **Module d'élasticité**

Le module d'élasticité (module de Young) mesure la déformation du matériau sous une certaine pression. Il représente la capacité du matériau à s'adapter à la surface oculaire et résister à la déformation sous une certaine tension.

Le module d'élasticité de la lentille de contact (E) a un impact sur l'adhérence du matériau sur l'épithélium cornéen et donc sur la notion de confort (**Demianenko, 2015**).

➤ **Hydrophilie des lentilles**

L'affinité du matériau constitutif de la lentille vis-à-vis de l'eau caractérise son hydrophilie. Exprimée en pourcentage, elle est égale au quotient : (poids de l'eau / poids total du matériau hydraté) \* 100 (**Schalk, 2017**).

➤ **Ionicité des matériaux**

Cette propriété influe sur l'attraction électrostatique des protéines des larmes et a donc des conséquences sur l'encrassement des lentilles et des modalités d'entretien qui en découlent (**Schalk, 2017**).

#### **4. Matériaux des lentilles de contact**

Les matériaux des lentilles de contact ont considérablement évolué au fil du temps pour minimiser les effets indésirables associés au port de lentilles, maintenir un métabolisme cornéen régulier et préserver la stabilité du film lacrymal (**Moreddu et al., 2019**).

Se caractérisant par leur perméabilité à l'oxygène (Dk), mouillabilité, dureté, module de Young (matériau souple) ou de rigidité (matériau rigide), coefficient de friction, transmission optique, indice de réfraction, filtration des UV et teinte (**Colliot, 2022**), les matériaux doivent prendre en compte

pour la sélection des lentilles de contact une perméabilité élevée à l'oxygène afin que l'oxygène puisse atteindre la cornée et empêcher la vascularisation, une teneur élevée en eau pour la mouillabilité et le confort du film lacrymal et enfin la résistance des dépôts de protéines, lipides ou de mucus sur la lentille de contact (**Williams *et al.*, 2019**).

Le matériau de la lentille doit aussi supporter un film lacrymal continu pour une clarté visuelle optimale, il ne doit pas se déshydrater et il doit résister à la sorption des composants lacrymaux tels que les lipides, les protéines et les mucines, car l'accumulation de dépôts peut entraîner une diminution de la clarté visuelle et un confort réduit (**Lever, 1995**).

## 5. Classification

### 5.1 Lentille souple

Introduites pour la première fois au début des années 1970 (**Bhamra et Tighe, 2017**), la lentille de contact souple (SCL) est un matériau très flexible et perméable à l'oxygène avec une teneur en eau souvent élevée. Cette flexibilité signifie que les SCL s'adaptent à la forme de l'œil de l'utilisateur beaucoup plus rapidement qu'une lentille rigide (**Musgrave et Fang, 2019**).

Ces lentilles sont constituées de polymères hydrophiles, hydrogels (80 %) et silicones-hydrogels (20 %). Leur diamètre est compris entre 12,5 et 15 mm (**Berthélémy, 2015**).

L'intérêt principal par rapport aux matériaux hydrogel est le Dk, beaucoup plus fort en silicone hydrogel car indépendant de sa teneur en eau (**Colliot, 2022**).

Les lentilles souples dominent désormais le marché des lentilles de contact et sont disponibles dans une grande variété de matériaux, de conceptions, de fréquences de remplacement et de modalités de port (**Efron *et al.*, 2013**).

### 5.2 Lentille rigide

Historiquement, on les appelait autrefois « lentilles dures », « semi-rigides », « semi-flexibles » ou encore « lentilles rigides perméables à l'oxygène » (**Schalk, 2017**).

Les lentilles rigides assurent une vision de meilleure qualité mais nécessitent un temps d'adaptation assez long. Il existe deux types de lentilles rigides traditionnelles à port journalier : les semi-rigides, dont les matériaux laissent passer l'oxygène, et les dures, qui ne sont pratiquement plus utilisées (**Berthélémy, 2015**).

En effet, le matériau original des lentilles de contact rigides, le polyméthacrylate de méthyle, était biologiquement inerte, avait une excellente clarté optique et pouvait être moulé dans presque toutes les formes souhaitées (**Efron, 2023**).

Mais le grand inconvénient des lentilles en PMMA est qu'aucun oxygène n'est transmis à travers la lentille vers la conjonctive et la cornée, ce qui peut provoquer différents effets cliniques indésirables (**Zantos et Titus, 1987**), il était donc imperméable à l'oxygène, facteur qui a finalement conduit à sa disparition totale.

En effet, le développement des matériaux RGP a commencé avec l'introduction des acrylates de silicone, qui combinaient la perméabilité à l'oxygène du silicone avec la fabrication accessible du PMMA (**Moreddu et al., 2019**).

Le développement de ce type de matériaux hautement perméables à l'oxygène a annoncé une augmentation de l'utilisation de lentilles rigides. La plupart des lentilles rigides sont aujourd'hui fabriquées à partir de matériaux à Dk moyen à élevé (**Efron, 2023**). Les très hauts Dk allient sécurité et confort et autorisent le port prolongé (**Bloise, 2020**).

L'intolérance et les complications secondaires aux lentilles RGP ont conduit au développement de conceptions plus sûres et plus confortables, telles que les lentilles hybrides et sclérales (**Sezgin Akcay et al., 2022**).

### 5.3 Lentille hybride

C'est en 1970 que les lentilles hybrides ont vu le jour avec une expérience novatrice qui consistait à placer une lentille rigide perméable au gaz (RPG) sur une lentille souple (**Benchechou, 2014**). Les LCH ont une zone rigide centrale avec une jupe souple périphérique circonférentielle pour utiliser les performances visuelles des lentilles dures et le confort et la stabilité des lentilles souples (**Sezgin Akcay et al., 2022**).

### 5.4 Lentille sclérale

Appelées lentilles SPOT, les lentilles sclérales sont des lentilles de contact de grande taille (allant de 16 à 23 mm) (**Cuffaro, 2016**), perméables aux gaz, conçues pour couvrir toute la cornée et le limbe et reposer sur la sclérotique, ayant la particularité de passer en pont au-dessus de la cornée (**Sezgin Akcay et al., 2022**).

### 5.5 Lentille thérapeutique

C'est à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle que les premières lentilles thérapeutiques sont apparues et cette découverte revient au français Galezowski (**Malet *et al.*, 2009**).

Les lentilles thérapeutiques n'ont pas pour objectif de corriger la vue, mais de guérir un problème physiologique ou pathologique oculaire, peuvent servir aussi comme pansements oculaires ou pour permettre une distribution médicamenteuse (**Lang, 2002**).

Elles sont principalement utilisées pour soulager l'inconfort, aider à la vision dans les yeux avec des cornées irrégulières et pour guérir les tissus oculaires blessés. Les lentilles rigides sont utilisées comme dispositifs thérapeutiques pour corriger les anomalies cornéennes et les troubles oculaires liés aux déficiences du film lacrymal, les lentilles souples sont utilisées pour faciliter la gestion de la chirurgie post-réfractive dans les yeux soumis à une ablation épithéliale et dans la dégénérescence cornéenne (**Moreddu *et al.*, 2019**).

### 5.6 Lentille cosmétique

Les lentilles cosmétiques sont destinées à changer la couleur apparente ou l'aspect des yeux (**Guyomarch *et al.*, 2010**). Peuvent être correctrices ou non, corrigeant les myopies, les hypermétropies et les astigmatismes, ou simplement utilisées dans un but uniquement esthétique, en port journalier (**Berthélémy, 2015**). En raison de leur popularité croissante, ces lentilles de contact dites décoratives, festives sont désormais classées comme dispositifs médicaux (**Chan *et al.*, 2014**), car elles exposent aux mêmes complications que les lentilles correctrices (**Guyomarch *et al.*, 2010**).

## 6. Dépôts à la surface des lentilles de contact

### 6.1 Définition

Les dépôts sont une source d'inconfort chez le porteur de lentille de contact (**Bloise, 2017**), car dès leur pose sur l'œil, elles absorbent rapidement les composants présents dans le film lacrymal tels que les dépôts lipidiques, aqueux ou de mucus, ces derniers vont s'accumuler et former alors des dépôts soit à la surface soit dans la matrice des lentilles (**Malet *et al.*, 2009**). Les dépôts ont donc pour origine principale les larmes mais aussi le milieu extérieur de l'œil comme les doigts, les étuis, les solutions d'entretien périmées, les cosmétiques, le maquillage, la laque, la pollution, la fumée, les aérosols...etc. (**Berthélémy, 2015**).

La formation de ces dépôts se produit à la suite d'interactions chimiques entre le matériau de la lentille et le film lacrymal (**Morgan *et al.*, 2021**).

La vitesse de leur formation varie d'un patient à un autre et différents facteurs peuvent les favoriser tel que **(Barthélémy et Thiébaud, 2004)** :

- la qualité des larmes, sécheresse oculaire...
- lentilles
- environnement (air conditionné, pollution, usage de cosmétiques...)

Leur présence dépend de la teneur en eau et de l'ionocité du matériau, de la durée du port, de l'ancienneté de la lentille et de facteurs individuels **(Bloise, 2020)**, mais le matériau des lentilles ainsi que le porteur sont les facteurs essentiels capables d'influencer le type et la quantité de dépôts **(Bloise, 2017)**.

## 6.2 Types de dépôts à la surface des LC

Les dépôts sur les lentilles de contact réduisent l'acuité visuelle, augmentent les réponses inflammatoires et réduisent potentiellement le confort de la lentille **(Tonge et al., 2001)**.

On distingue :

- Les dépôts protéiques
- Les dépôts lipidiques
- Les dépôts muciniques
- Autres dépôts

### 6.2.1 Dépôts protéiques

La protéine est le composant principal des dépôts sur la plupart des matériaux de lentilles de contact souples, et 90 % de la protéine totale de la lentille est constituée de lysozyme. Seulement 30 % des protéines se trouvent sur les surfaces des lentilles ; les 70% restants entrent dans la matrice de la lentille **(Rakow, 2003)**. Le premier événement observé à l'interface entre une lentille de contact et le liquide lacrymal est l'adsorption de protéines. Les dépôts de protéines sur les lentilles de contact sont associés à une diminution de l'acuité visuelle, à la sécheresse et à l'inconfort et aux changements inflammatoires liés aux paupières **(Subbaraman, 2009)**.

Elles sont produites par la glande lacrymale et sont très nombreuses dans le film lacrymal. Celles présentes à forte concentration sont le lysozyme, la lactoferrine, la lipocaline et les IgA sécrétoires **(Bloise, 2020)**.

Le dépôt de protéines sur les lentilles de contact est considérablement influencé par le matériau de la lentille, ainsi que par la concentration en protéines, la structure des protéines et la charge des

protéines dans le film lacrymal (**Luensmann et Jones, 2012**) et dépend à la fois de la teneur en eau et de la capacité de liaison ionique du matériau de la lentille (**Tonge et al., 2001**).

### 6.2.2 Dépôts lipidiques

Dans les dépôts lipidiques, on retrouve essentiellement du cholestérol, des triglycérides, des acides gras libres, des esters méthyliques d'acide gras ou de cholestérol (**Bloise, 2017**).

Les lipides représentent l'autre contaminant organique majeur après les protéines des lentilles de contact hydrophiles et rigides perméables aux gaz (RGP).

### 6.2.3 Dépôts muciniques

Les mucines sont connues pour adhérer aux lentilles de contact, leur dépôt peut avoir un impact sur le confort des lentilles de contact et la capacité des mucines à piéger les débris cellulaires et les agents pathogènes (**Nichols, 2013**).

Les dépôts sur les lentilles de contact réduisent l'acuité visuelle, augmentent les réponses inflammatoires et réduisent potentiellement le confort de la lentille (**Tonge et al., 2001**).

### 6.2.4 Autres types de dépôts à la surface des LC

#### ✚ Les dépôts calciques

Les dépôts de sel de calcium sont les plus fréquents, en conséquence ils peuvent endommager de façon irréversible la surface des lentilles de contact et provoquer des irritations voire des érosions mécaniques (**Barthélémy et Thiébaud, 2004**).

#### ✚ Les dépôts de rouille

Ces dépôts proviennent de l'oxydation du fer (**Bloise, 2017**). Leur présence est souvent liée à l'utilisation d'eau du robinet pour l'entretien des lentilles, mais il peut aussi s'agir de corps étrangers métalliques provenant de l'environnement extérieur (**Malet et al., 2009**).

#### ✚ Les dépôts cosmétiques

Les dépôts cosmétiques se présentent sous une forme circulaire, de couleur rouge orangée formant des tâches graisseuses d'aspect irisé à la surface de la lentille (**Bloise, 2017**).

## ✚ Les Micro-organismes

Ce sont des dépôts provenant des micro-organismes présents dans l'environnement oculaire immédiat ou d'origine externe (poussières, mains, étuis). De couleur foncée à clair, ils se situent le plus souvent dans la matrice du matériau, plus rarement à la surface des lentilles. Ce sont des champignons ou des levures d'aspect filamenteux (Malet *et al.*, 2009).

## 7. Environnement des lentilles de contact

### 7.1 Environnement non infectieux

#### 7.1.1 Film lacrymal sous lentille

Le film lacrymal est un gel composé d'un mélange complexe de protéines, lipides, mucines, saccharides et sels divers, baignant dans un milieu liquide (Malet *et al.*, 2009). L'ancien modèle distinguait de façon classique trois couches distinctes (Barthélémy et Thiébaud, 2004) :

- ✚ La couche superficielle ou lipidique
- ✚ La couche intermédiaire ou aqueuse
- ✚ La couche basale ou mucinique

Aujourd'hui, les dernières études considèrent le film lacrymal comme une structure en deux couches, la couche lipidique et le gel muco-aqueux se trouvant sous cette dernière et formé par les couches aqueuse et muqueuse (Herbaut *et al.*, 2019).

Le rôle du film lacrymal est d'assurer la nutrition de la surface cornéenne en lui apportant oxygène et nutriments, de lubrifier et protéger la surface oculaire contre les différents agents pathogènes, et ainsi garantir une surface de qualité optique optimale (Pisella *et al.*, 2015).

Ce gel participe également au pouvoir réfractif de l'œil et possède par ailleurs des propriétés antimicrobiennes et bactériostatiques permettant la défense et la protection oculaire (Semaha, 2020).

Sa bonne qualité, à la surface d'une lentille de contact en excellent état, donne une très bonne mouillabilité de la lentille, facteur de bon confort et de bonne qualité optique, car en effet il constitue un véritable système de rinçage, permettant d'éliminer les débris présents entre la cornée et la lentille (Malet *et al.*, 2009).

### 7.1.2 Flore oculaire saprophyte

L'œil sain compte à sa surface de multiples germes commensaux formant une flore particulièrement variée : des germes saprophytes sans action pathogène sur l'œil composés principalement de Cocci Gram+ et des germes pathogènes en très faibles quantités (**Heitz et Bourcier, 2013**).

La flore oculaire saprophyte regroupe la variété des micro-organismes présents à la surface oculaire ne provoquant pas d'infections dans les conditions oculaires normales. Elle est peu abondante, instable dans le temps et variable selon les conditions environnementales (**Malet et al., 2009**).

Cette flore saprophyte est composée de germes Gram positif et de staphylocoques à coagulase négative (**Bloise, 2017**). *Staphylococcus epidermidis* est représentatif de la flore bactérienne normale sur la surface oculaire et est le plus souvent isolé de la microflore de la surface oculaire humaine (**Ueta et al., 2007**).

Il est intéressant de noter également que le port de lentilles de contact modifie la flore du sujet sain par la contamination manuportée liée aux manipulations des lentilles en favorisant la présence de germes pathogènes à Gram-, notamment *Pseudomonas aeruginosa* (**Heitz et Bourcier, 2013**).

## 7.2 Environnement infectieux

### 7.2.1 Facteurs de contamination

Le port de lentilles de contact est, dans les pays développés, le facteur prédisposant le plus souvent retrouvé lors des infections cornéennes microbiennes ou parasitaires. Les germes pathogènes retrouvés sur les porteurs de lentilles sont différents de ceux présents chez les non porteurs. La contamination des lentilles peut se produire dans de nombreuses conditions si les règles d'hygiène et les étapes d'entretien ne sont pas correctement effectuées, soit lors de la manipulation, soit par l'intermédiaire des étuis, par les surfaces ou par les fluides contaminés.

Les micro-organismes et parasites possèdent leurs propres systèmes leur permettant d'adhérer aux lentilles ou à la surface cornéenne (**Malet et al., 2009**).

La kératite microbienne est l'une des principales causes de morbidité oculaire et une cause potentiellement majeure de cécité (**Tabatabaei et al., 2018**), rare dans les yeux normaux à moins qu'elle ne soit associée au port de lentilles de contact (**Dart et al., 1991**) qui représente environ 12 à 66 % de tous les événements de kératite microbienne (**Kackar et al., 2017**).

La présence de germes pathogènes sur les lentilles augmente le risque infectieux, car leur port réduit les défenses immunitaires de l'œil. Les infections peuvent être d'origine **(Barthélémy et Thiébaud, 2004)** :

- Bactérienne
- Fongique
- Virale
- Amibienne
- Agent transmissible non conventionnel (ATNC)

La majorité des infections liées aux lentilles de contact sont dues à des bactéries (environ 80 à 95 %), le reste étant causé par des agents pathogènes, notamment *Acanthamoeba* spp. et les champignons filamenteux (tels que *Fusarium* spp.) .

Parmi les agents pathogènes bactériens, les agents les plus courants responsables de la kératite sont *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* et *Serratia* sp. Les agents fongiques des infections cornéennes comprennent à la fois les espèces filamenteuses et les levures, notamment *Fusarium*, *Aspergillus*, *Curvularia* et *Candida*, tandis que chez les protistes, *Acanthamoeba* spp. sont responsables de maladies oculaires **(Lakhundi et al., 2017)**.

#### 7.2.1.1 Contamination bactérienne

La kératite bactérienne (KB) ou ulcère cornéen est une infection du tissu cornéen causée par diverses espèces bactériennes. Les KB peuvent être poly bactériennes et peuvent être associées à d'autres agents pathogènes tels que des amibes ou des champignons, notamment chez les patients porteurs de LC **(Bourcier et al., 2020)**.

Les différents facteurs prédisposant à la kératite bactérienne sont le port de lentilles de contact pendant la nuit, le port excessif, le nettoyage inadéquat des lentilles de contact, le rinçage de la lentille de contact à l'eau du robinet, la contamination, le manque d'hygiène, les lentilles de contact bandées, le partage des LC, la natation avec des lentilles de contact , contamination de la solution de lentilles de contact et traumatisme induit par les lentilles de contact **(Gurnani et Kaur, 2022)**.

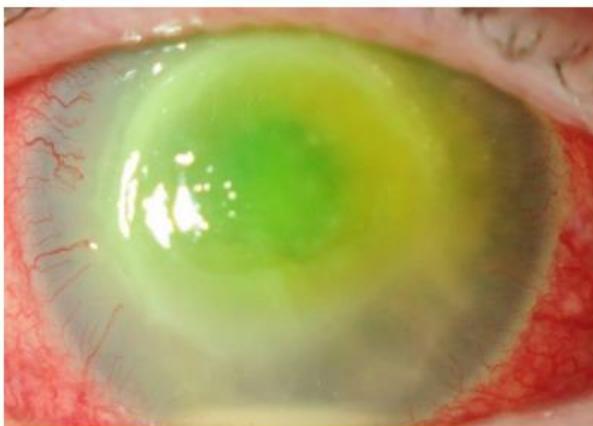
Les données épidémiologiques actuelles suggèrent que la kératite microbienne peut être épidémique dans certaines parties du monde, en particulier en Asie du Sud, du Sud-Est et de l'Est, et peut dépasser 2 millions de cas par an dans le monde. Les schémas étiologiques varient entre les pays économiquement développés et les pays en développement, avec une prédominance bactérienne dans les premiers et une prédominance fongique dans les seconds **(Ung et al., 2019)**.

En effet, un grand nombre de bactéries aérobies et anaérobies (Cocci /Bacilles à Gram positif et négatif) peuvent provoquer une infection cornéenne, mais 90% des cas de KB sont dues à une large prédominance de quatre groupes : les Staphylocoques, les Streptocoques, les *Pseudomonas* et d'autres bacilles à Gram négatif (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Moraxella*, *Proteus*) [(Lin et al., 2018) ; (Bourcier et al., 2020)] (Figure 01,02).

*Pseudomonas aeruginosa*, est l'agent causal le plus courant dans les cas de kératite bactérienne (Harris et al., 2023) associée à l'utilisation de LC .Au cours du processus d'infection, l'agent large éventail de facteurs de virulence, notamment la motilité et la sécrétion de diverses protéases et toxines (Hilliam et al., 2020). Ce bacille à gram négatif, agit en libérant des toxines semblables à celles de la toxine diphtérique, des enzymes protéolytiques et des endotoxines qui provoquent une destruction majeure des cellules épithéliales ou endothéliales cornéennes, pouvant aboutir à une perforation cornéenne rapide (Malet et al., 2009).

*Serratia marcescens* est une petite bactérie à gram négatif de la famille des entérobactéries. Comme le *Pseudomonas*, c'est un agent pathogène opportuniste qui peut devenir résistant aux antibiotiques et aux désinfectants et provoquer des kératites graves notamment chez les porteurs de lentilles souples (Fleiszig et al., 1996).

Un autre agent causal important de la kératite infectieuse associée au port de lentilles de contact est *Staphylococcus epidermidis*. Le mucus de cette bactérie a une adhérence polysaccharidique, qui s'est avérée impliquée dans la fixation à des surfaces telles que les lentilles de contact (Fleiszig et al., 1996).



**Figure 01.** Kératite à *Pseudomonas aeruginosa* (Hilliam et al., 2020)



**Figure 02.** Kératite à *Moraxella* (Bourcier et al., 2020)

### 7.2.1.2 Contamination fongique

La kératite fongique (KF) ou kératomycose est une infection cornéenne grave entraînant souvent la cécité et la perte des yeux (**Brown et al., 2021**), essentiellement due à des champignons filamenteux, à des levures et exceptionnellement à des champignons di-morphiques. Les agents pathogènes sont le plus souvent *Aspergillus*, *Fusarium* et *Candida* (**Yu et al., 2022**) (**Figure 03**).

Il est rapporté que dans les climats chauds et tropicaux, 30 à 62 % de tous les cas de kératite microbienne sont causés par des champignons, mais ils sont rares dans les régions à climat tempéré (**Tabatabaei et al., 2018**). En Algérie, la kératite fongique est rarement diagnostiquée et peut être manquée. Cinquante-deux pour cent (52 %) des origines sont représentés par l'espèce *C. albicans* suivie par les champignons filamenteux (**Chekiri-Talbi et Denning, 2017**).

Dans les pays en développement, environ 30 à 40 % des kératites infectieuses sont des KF, caractérisées par une incidence élevée, un diagnostic tardif et un pronostic terriblement mauvais (**Wei et al., 2023**) chaque année, c'est plus d'un million de personnes qui sont touchées (**Yu et al., 2022**).

Le port de lentilles de contact s'est avéré être le facteur de risque premier des kératomycozes (**Malet et al., 2009**), en effet une augmentation globale de la KF liée aux LC a été notée dans le monde entier, de 5 % dans les années 1980 à 52 % au début du 21e siècle (**Sengupta et al., 2012**). Aujourd'hui, un diagnostic précoce et un traitement rapide sont reconnus comme des stratégies clés pour améliorer le pronostic de la kératite fongique (**Wei et al., 2023**).



**Figure 03.** Kératite mycosique à *Fusarium* (**Bärtschi, 2009**)

### 7.2.1.3 Contamination amibienne

Les amibes libres sont des protozoaires de l'environnement, présents de façon ubiquitaire dans la nature ils se nourrissent de bactéries, de champignons, d'algues, de levures ou d'autres protozoaires (**Bouheraoua et al., 2014**). Celles du genre du genre *Acanthamoeba* sont les agents responsables d'une infection rare (**Figure 04**) et potentiellement grave de la cornée menaçant la vue, connue sous le nom de kératite à *Acanthamoeba* (**Lorenzo-Morales et al., 2015**) ou kératite amibienne (KA).



**Figure 04.** Kératite amibienne (**Bouheraoua et al., 2014**)

L'utilisation des lentilles de contact est le principal facteur de risque dans les pays développés [(**Malet et al, 2009**) ; (**Bouheraoua et al., 2014**)]. Une prolifération anormale d'amibes libres sur des lentilles de contact, souillées à cause d'une mauvaise hygiène, peut être à l'origine de ce type de kératite et d'ulcération de la cornée pouvant laisser des séquelles oculaires irréversibles (**Chedni et Djaid, 2022**).

### 7.2.1.4 Contamination virale

La kératite virale (VK) est l'une des formes les plus répandues de kératite infectieuse. Parmi les différents virus dont on a signalé qu'ils provoquaient la kératite le virus de l'herpès simplex (HSV) alpha-herpès virus est la principale cause [(**Guess et al., 2007**) ; (**Koganti et al., 2021**)].

C'est l'une des principales causes de perte de vision cornéenne. Il s'agit généralement d'une maladie unilatérale, ce qui signifie qu'un seul œil est affecté dans la plupart des cas (**Gupta et Daigavane, 2022**).

D'autres agents courants de la kératite virale comprennent le cytomégalovirus (CMV) bêta-herpès virus, le virus varicelle-zona (VZV) alpha-herpès virus, le virus gamma-herpès Epstein-Barr virus (EBV) (Koganti *et al.*, 2021) ainsi que les adénovirus (Gupta et Daigavane, 2022).

#### 7.2.1.5 Agent transmissible non conventionnel (ATNC)

Les prions sont définis comme des particules infectieuses protéiques. Ces nouvelles entités moléculaires sont responsables de nombreux mais rares troubles neurodégénératifs chez les animaux et les humains collectivement définis comme des maladies à prions (Legname, 2023). Ils causent un groupe de maladies neurodégénératives mortelles des encéphalopathies spongiformes transmissibles (Legname et Moda, 2017).

Le risque de transmission par des lentilles contaminées est inconnu mais non exclu. Le principe de précaution doit s'appliquer (Barthélémy et Thiébaud, 2004).

#### 7.2.1.6 Formation du biofilm sur les lentilles de contact

La présence d'un biofilm est visible, en microscopie électronique, à la surface des lentilles ôtées de l'œil de patients présentant des infections bactériennes, sur les étuis des lentilles, de même que sur les lentilles contaminées (Malet *et al.*, 2009).

La capacité de former un biofilm est maintenant reconnue comme une caractéristique propre à plusieurs microorganismes (Tremblay *et al.*, 2014).

D'après Hilliam *et al.*, 2020, *Pseudomonas aeruginosa* forme régulièrement des biofilms lors de l'infection, ce qui confère une résistance drastiquement accrue aux antibiotiques, même si les souches sont sensibles lorsqu'elles sont cultivées en mode planctonique. Il a été démontré que les antibiotiques cliniquement utiles, tels que les carbapénèmes, les fluoroquinolones et les aminoglycosides, tuent efficacement *P. aeruginosa* dans la croissance planctonique, mais peuvent induire une production de biofilm plus sévère lorsque les bactéries sont exposées à des concentrations sous-inhibitrices.

Les champignons peuvent adhérer à la surface d'une lentille relativement propre et pénétrer dans la matrice des LSH (Barthélémy et Thiébaud, 2004). *Candida albicans*, l'espèce la plus représentée, colonise efficacement les surfaces abiotiques et forme des biofilms microbien classique *in vitro* et *in vivo* (Lebeaux et Ghigo, 2012).

Ces caractéristiques comprennent la production d'une matrice hydrophobe extracellulaire (ECM), l'adhérence de surface, la multi-cellularité et une résistance accrue aux médicaments antimicrobiens [(Muller *et al.*, 2011) ; (Morelli *et al.*, 2021)].

# **Chapitre 2**

## **Généralités sur les biofilms bactériens**

### 1. Historique

Les biofilms ont été découverts pour la première fois dans le milieu microbien de l'océan profond, et il a été révélé que l'histoire de la capacité de formation de biofilm remontant à des milliards d'années. C'est plus tard, au XVIIe siècle, qu'Antoni van Leeuwenhoek a découvert de nombreux micro-organismes de la plaque dentaire qui s'étaient formés en biofilm tout en travaillant sur son échantillon à l'aide d'un microscope (**Norouzi *et al.*, 2021**).

En 1933, Arthur Henrici plonge des lames de microscopie en verre dans son aquarium et observe un dépôt de microorganismes qui s'épaissit progressivement. En 1943, Claude Zobell montre que, dans un récipient rempli de liquide, les bactéries colonisant les parois sont plus nombreuses que celles en suspension (**Roux et Ghigo, 2006**). Mais ce n'est que beaucoup plus tard que le terme de « film bactérien » puis de « biofilm » fut popularisé, notamment par J. William Costerton dans les années 1980. Costerton était un microbiologiste canadien (1934 – 2012), intéressé notamment par les bactéries du milieu aquatique. Il a montré que, contrairement aux données établies, le mode de vie dominant des bactéries était sous forme de communautés complexes apparentées à un être pluricellulaire qu'il a dénommé biofilm (**Aumeran *et al.*, 2020**).

### 2. Définition

Les biofilms bactériens sont des communautés bactériennes hautement organisées, formées sur des surfaces biotiques ou abiotiques et des interfaces air-liquide (**Sugimoto et Kinjo, 2023**).

Selon de récentes estimations mondiales, 40 à 80 % de tous les procaryotes vivent dans des biofilms. Les biofilms sont des assemblages de cellules microbiennes attachées les unes aux autres et/ou à une surface, enfermées dans une matrice autoproduite (**Penesyan *et al.*, 2021**).

Les cellules microbiennes qui se développent dans un biofilm sont physiologiquement distinctes des cellules planctoniques du même organisme et sont plus résistantes aux antibiotiques, aux désinfectants ou aux mécanismes de défense de l'hôte (**Dosler *et al.*, 2020**).

Les biofilms multi-espèces associés aux étuis et aux lentilles de contact peuvent prédisposer les individus aux complications inflammatoires liées aux lentilles de contact (**Willey *et al.*, 2012**).

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

Les communautés microbiennes enchevêtrées dans une matrice de macromolécules, appelées biofilms, constituent le cadre naturel des bactéries. L'exopolysaccharide est un composant essentiel de la matrice des biofilms (**Ma *et al.*, 2022**) dont la formation induit un environnement unique pour les bactéries qui permet le mode de vie dynamique du biofilm.

L'adhésion et la colonisation par les micro-organismes, en particulier les bactéries, sur les lentilles de contact continuent d'être impliquées dans plusieurs événements indésirables, y compris la kératite microbienne (**Dutta et al., 2012**).

*Pseudomonas aeruginosa*, ce pathogène opportuniste peut s'adapter à un large éventail d'environnements et peut former des biofilms ou des agrégats dans une variété de surfaces ou d'environnements, tels que les lentilles de contact. La capacité de synthétiser plusieurs exopolysaccharides est l'un des avantages qui facilitent la survie des bactéries dans différents environnements (**Ma et al., 2022**).

Les biofilms, et le mode de vie qui en résulte, se construisent selon des étapes précises et définies, produisant une communauté bactérienne hétérogène dans l'espace et dans le temps (**Flemming et Wingender, 2010**).

### 3.1 Étapes de la formation du biofilm

La majorité des bactéries sont capables de former des biofilms et les différentes étapes conduisant à la formation d'agrégats complexes et hétérogènes à partir de quelques bactéries individuelles ont été largement décrites pour certaines espèces. Il s'agit de phénomènes parfaitement coordonnés et génétiquement programmés (**Aumeran et al., 2020**).

Le mécanisme de formation des biofilms peut se faire en cinq étapes [(**Stoodley et al., 2002**); (**Kostakioti et al., 2013**)] (**Figure 06**).

#### 3.1.1 Film de conditionnement ou le film primaire

La première étape de formation est rapide, elle se déroule en quelques minutes, le film est formé par des dépôts de particules provenant du milieu environnant en tant qu'une matière minérale (sel, glucides ; lipides..). Ce dernier sert aux modifications des propriétés physicochimiques de surface pour la création d'un microenvironnement favorable à l'adhésion stable des bactéries ainsi la prévention de l'approche des bactéries [(**Squinazi, 2013**) ; (**Bezoui, 2016**)].

#### 3.1.2 Transport des bactéries vers la surface des LC

C'est le transport des microorganismes à proximité de la surface à partir du milieu ou le biofilm en phase de dispersion, ce transport dépend de plusieurs facteurs dont la nature, les mouvements (sédimentation, mouvement de Brownies) et le milieu. Le chimiotactisme qui est un facteur biologique, est défini comme un ensemble des mouvements des flagelles d'une cellule ou des

récepteurs spécifique sensible aux variations de concentration des nutriments présents (**Bezoui, 2016**).

Le processus de toute kératite liée aux lentilles de contact commence généralement par l'adhésion d'agents pathogènes opportunistes à la surface de la lentille de contact. L'adhérence aux lentilles diffère selon les divers genres/espèces/souches de bactéries. *Pseudomonas aeruginosa*, qui est l'organisme causal prédominant, adhère en plus grand nombre aux lentilles en hydrogel et en silicone hydrogel *in vitro*. Les propriétés physiques et chimiques du matériau des lentilles de contact affectent l'adhésion bactérienne (**Dutta et al., 2012**) ; (**Figure 05**).

### 3.1.3 Adhésion réversible

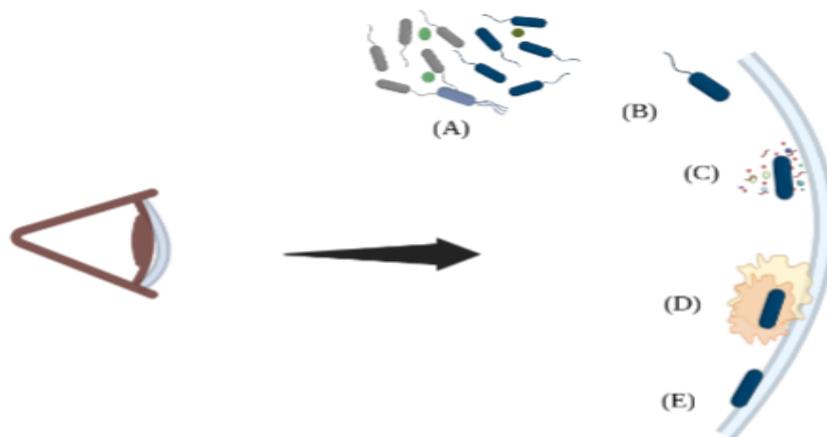
Initialement, les bactéries adhèrent aux lentilles de contact de manière non spécifique en éliminant les molécules d'eau entourant les lentilles à l'aide de leurs composants de surface hydrophobes. Plusieurs facteurs régulent l'adhésion des bactéries aux biomatériaux, notamment les propriétés de surface du biomatériau, les interactions de surface bactéries-biomatériau, les forces de Van der Waals, les propriétés de la cellule bactérienne et la concentration en électrolyte du liquide de suspension (**Subbaraman, 2009**).

En général, le processus d'attachement bactérien peut être divisé en deux étapes. La première étape est celle de l'adhérence temporaire, au cours de laquelle les bactéries peuvent se détacher de la surface. Cette étape est largement médiatisée par les forces de London et les interactions Van der Waals (**Dutta et al., 2012**).

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**). L'adhésion de *P. aeruginosa* aux lentilles est rapide, se produisant généralement en 1 h, et la formation de biofilm peut se produire avec 24 h d'adhésion initiale (**Dutta et al., 2012**).

### 3.1.4 Adhésion irréversible

Suite à cette fixation initiale réversible, les bactéries adhèrent fortement au biomatériau par une adhésion spécifique médiée par un récepteur d'adhésion (Subbaraman, 2009).



**Figure 05.** Adhésion des bactéries à la surface des LC

(A) Bactéries planctoniques dans le milieu, (B) Phase de transport, (C) Différents types de dépôts (protéines, lipides, poussières...) à la surface des LC, (D) Sécrétion d'exopolymères, de polysaccharides et de protéines adhésives, (E) Adhésion irréversible

Dans cette deuxième étape, une union ferme dépendante du temps se produit dans laquelle les bactéries ne présentent plus de mouvement brownien et ne peuvent pas être éliminées par lavage. Le temps nécessaire pour la fixation bactérienne irréversible, grâce à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation au support et la formation de biofilm à la surface de la lentille, est un facteur crucial qui peut varier selon les types de bactéries (Dutta *et al.*, 2012).

### 3.1.5 Formation des micro-colonies

Après l'adhérence initiale, les bactéries adhérant à la surface de la lentille de contact commencent à proliférer sur le substrat au sein du glycocalyx riche en polysaccharides, formant des micro-colonies (Subbaraman, 2009), qui constituent un stade précoce de la formation du biofilm (Dosler *et al.*, 2020). Une fois solidement ancrées sur la surface, ces bactéries sous forme de micro-colonie, continuent de produire des exo-polysaccharides (Scalabrini, 2019) et au cours des divisions cellulaires, elles se réunissent et forment un tapis bactérien dense, qui est protégé par la matrice exopolysaccharidique (EPS) (Guzman-soto *et al.*, 2021).

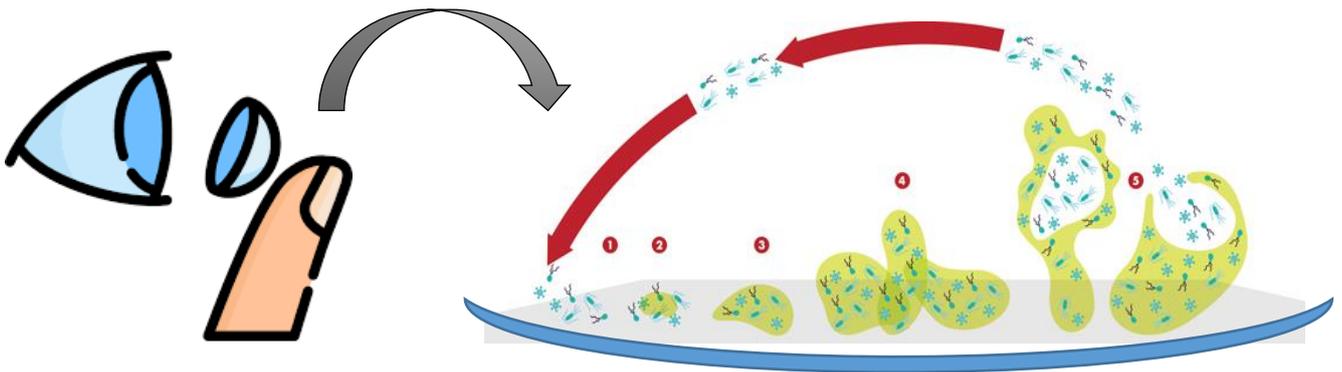
### 3.1.6 Maturation du biofilm

C'est l'étape clé de la formation de 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 inter cellulaires (*quorum sensing*), etc .... On parle alors de biofilm mature (Scalabrini, 2019).

### 3.1.7 Détachement des bactéries

Le détachement et la dispersion de cellules bactériennes d'un biofilm jouent un rôle important dans la transmission de bactéries de réservoirs environnementaux à un hôte humain, dans la transmission entre les hôtes et dans la propagation de l'infection chez un hôte (Tremblay *et al.*, 2014).

Lorsque les niveaux de nutriments diminuent ou que la densité bactérienne augmente dans une certaine zone, les bactéries peuvent rapidement se disperser et coloniser de nouveaux espaces, à la recherche de meilleures conditions (Faria *et al.*, 2015).



**Figure 06.** Etapes de formation du biofilm sur les lentilles de contact

(1) Transport des bactéries planctonique (conditionnement de la surface) ; (2) Adhésion des bactéries ; (3) Formation de micro-colonies et production d'exopolysaccharide ; (4) Maturation du biofilm ; (5) Détachement.

## 4. Facteurs favorisant la formation de biofilm

Plusieurs groupes de chercheurs ont étudié l'adhésion bactérienne aux surfaces des lentilles de contact et ont rapporté que ce processus est influencé par des variables telles que la température, les milieux de culture, le revêtement de surface, le matériau de la lentille, etc (Szczotka-Flynn *et al.*, 2009).

Pour l'adhésion microbienne, de nombreuses études ont rapporté l'importance de l'hydrophobicité et de la rugosité de surface (Ji *et al.*, 2015). En effet, le matériau de chaque type de lentille de contact affiche divers propriétés qui peuvent influencer la proportion des bactéries à adhérer aux lentilles de

contact (**Shen et al., 2012**). L'utilisation croissante des lentilles de contact à la fois à des fins médicales ou cosmétiques a considérablement augmenté le risque de contracter des infections à *Pseudomonas*.

Dans l'ensemble, les principaux facteurs bactériens qui influencent l'adhésion sont leur hydrophobicité de surface cellulaire, l'utilisation de différentes souches et le milieu de suspension. La plupart des études montrent que l'adhérence de *P. aeruginosa* est supérieure à celle des autres types de bactéries à la plupart des types de lentilles, ce qui est peut-être l'une des raisons de la prédominance de cette bactérie dans la kératite microbienne (**Dutta et al., 2012**).

### 5. Résistance du biofilm aux agents antimicrobiens et aux antibiotiques

Les biofilms bactériens représentent aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique mondiale. En effet, ces assemblages de cellules bactériennes, organisés et structurés, sont responsables de très nombreuses infections opportunistes essentiellement chroniques (**Trognon, 2022**). Cette propriété majeure des biofilms apparaît dans les heures suivant l'adhésion des micro-organismes (**Squinazi, 2013**).

Les cellules bactériennes qui colonisent une surface à l'intérieur d'un biofilm montrent une plus grande résistance aux substances antimicrobiennes que les cellules libres. Ce phénomène est attribué à la fois à la plus faible vitesse de diffusion des biocides à travers la matrice du biofilm et aux niveaux inférieurs d'oxygène et de nutriments que les cellules reçoivent par rapport aux cellules planctoniques (**Di Onofrio et al., 2019**).

En fait, les bactéries d'un biofilm peuvent être de 10 à 1000 fois plus résistantes aux agents antimicrobiens. Plusieurs facteurs peuvent expliquer la plus grande résistance (certains auteurs préfèrent plutôt parler d'une tolérance) des biofilms aux agents antimicrobiens. Un de ces facteurs est la matrice polymérique qui agit comme barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens. Les charges électrostatiques à la surface de la matrice polymérique peuvent aussi lier certains agents antimicrobiens (**Tremblay et al., 2014**).

La résistance aux antibiotiques courants est peu fréquente dans les isolats liés aux lentilles de contact et il existe peu de preuves suggérant une augmentation de la résistance bactérienne au fil du temps (**Stapleton, 2020**). Elle peut être naturelle ou acquise, deux grands mécanismes de résistance soit mécanismes génétique par mutations chromosomiques et de l'intégration de petits brins d'ADN circulaires qui se transmettent de bactérie à bactérie (les plasmides), soit mécanismes biochimique

qui font appel à plusieurs mécanismes : production d'une enzyme inhibant l'antibiotique, imperméabilisation de la membrane de la bactérie, modification de la cible de l'antibiotique **(Benameur et al., 2021)**.

Malheureusement, les agents pathogènes tels que *P. aeruginosa* peuvent exprimer ou acquérir une grande variété de gènes de résistance et voies favorisant le biofilm qui permettent la survie en cas de défi **(Harris et al., 2023)**.

Les bactéries du biofilm peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants que les cellules bactériennes planctoniques **(Benameur et al., 2021)**.

# **Chapitre 3**

## **Entretien des lentilles de contact**

Le maintien de la propreté des lentilles de contact est un gage essentiel pour la sécurité des porteurs (**Colliot, 2022**). Leur entretien est une étape importante et fondamentale pour limiter le dépôt de poussière et de saleté, ainsi que les résidus de protéines et de gras du film lacrymal sur la surface des lentilles de contact.

## 1. Principales étapes

D'abord un lavage des mains suivi d'un séchage est obligatoire. Si les lentilles sont rigides, elles seront retirées en leur appliquant une ventouse, et si elles sont souples, les ôter simplement avec les doigts (**Bärtschi, 2009**).

### 1.1 Nettoyage

C'est une action à la fois mécanique, par massage, et chimique. visant à éliminer les dépôts qui ont pour origines les larmes (dépôts lipidiques, aqueux ou de mucus) et le milieu extérieur (doigts, étuis, solutions d'entretien périmées, cosmétiques, maquillage, laque, pollution, fumée, aérosols...) (**Berthélémy, 2015**).

Il existe deux types de produits de nettoyage : les surfactants et les nettoyeurs enzymatiques. Les surfactants sont généralement très efficaces pour éliminer les dépôts lipidiques accumulés sur la lentille, mais ils sont moins efficaces pour retirer les dépôts protéiniques plus tenaces, d'où l'utilité des nettoyeurs enzymatiques (**Laviolette et Meunier, 2003**).

### 1.2 Rinçage

Lorsqu'il est réalisé après le nettoyage contribue à décoller les dépôts et à réduire le nombre de germes présents à la surface de la lentille. Il enlève 90 % des contaminants et des débris. Le rinçage s'effectue le plus souvent grâce à une solution multifonction (**Schalk, 2017**). Un nettoyage et un rinçage adéquat permettent d'éliminer 99,9 % des agents de contamination avant l'étape de désinfection (**Laviolette et Meunier, 2003**).

### 1.3 Décontamination

C'est un processus dynamique qui a pour but de réduire ou éliminer le nombre de germes pour minimiser le risque infectieux ou inflammatoire (**Barthélémy, 2004**). Les agents de décontamination sont classés selon leur famille chimique. Les plus utilisées sont les suivantes : les oxydants, les biguanides dont la Chlorhexidine et les ammoniums quaternaires (**Schalk, 2017**).

Les solutions oxydantes restent la référence en termes de décontamination des lentilles de contact et l'agent décontaminant utilisé est le peroxyde d'hydrogène (**Colliot, 2022**).

### 1.4 Trempage et conservation

Ces deux opérations visent à prolonger la décontamination et doivent maintenir les propriétés de la lentille, en particulier son hydratation, tout en évitant le risque d'une multiplication éventuelle des germes restés sur la lentille. Des solutions antiseptiques et isotoniques aux larmes sont souvent utilisées (**Berthélémy, 2015**). Les biguanides, les ammoniums quaternaires ou encore l'acide citrique répondent à ces exigences et font partie des conservateurs les plus utilisés. Il est important de conserver les lentilles dans un étui propre et renouvelé régulièrement (**Barthélémy, 2004**).

- **Un dernier rinçage avant la pose**

Il est conseillé afin d'éliminer toute trace des solutions employées. Les produits utilisés sont les mêmes que lors du premier rinçage (**Berthélémy, 2015**).

La déprotéinisation indispensable dans le cadre de l'entretien des lentilles traditionnelles ou des lentilles rigides perméables aux gaz (LRPG) (**Schalk, 2017**) a pour but de prévenir le dépôt ou d'éliminer les protéines qui, dès le premier jour, se déposent et s'accrochent à la surface de la lentille (**Malet et al., 2009**).

Plus l'intervalle entre les nettoyages est long, plus le risque de complications est important (**Laviolette et Meunier, 2003**).

## 2. Les solutions d'entretien

### 2.1 Définition

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

### 2.2 Types

Deux grandes familles de produits existent : les solutions multifonctions et les solutions oxydantes :

#### 2.2.1 Les solutions polyvalentes multifonctions (MPS)

Introduites pour la première fois sur le marché en 1995, les MPS sont des agents utilisés pour nettoyer, désinfecter et stocker les LC dans un produit tout-en-un (**Lievens et al., 2017**) ;(**Figure 07**).

### 2.2.2 Les solutions oxydantes

Il s'agit d'agents antimicrobiens extrêmement efficaces si le temps de contact est suffisant (**Barthélémy, 2004**).

Les solutions oxydantes contiennent le plus souvent du peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée ou  $H_2O_2$ ). Les plus récentes contiennent en plus un agent nettoyant ou lubrifiant (**Bloise, 2016**). La concentration la plus fréquemment utilisée est de 3 % qui nécessite une phase de neutralisation avant la pose de la lentille pour éviter une brûlure chimique, via une mousse de platine ou l'enzyme catalase, qui transforme le peroxyde d'hydrogène en eau (**Berthélémy, 2015**).

Ces solutions doivent offrir un bon compromis entre une activité antimicrobienne contrôlée et une bonne tolérance oculaire (**Colliot, 2022**).

### 3. L'entretien des étuis

Le frottement et le rinçage des étuis et leur couvercles avec des solutions désinfectantes polyvalentes suivis d'un essuyage des tissus et d'un séchage à l'air sont le régime de nettoyage le plus efficace pour éliminer les cellules du biofilm de *S. aureus* ou *P. aeruginosa* de la surface des étuis à lentilles de contact (**Wu et al., 2011**).

Les étuis antimicrobiens doivent rester fermés car les ions d'argent sont libérés en présence d'humidité (**Bloise, 2017**).



**Figure 07.** Entretien des lentilles de contact (**Bärtschi, 2009**)

**Deuxième partie**  
**Matériel et méthodes**

### 1. Lieu d'étude

Cette étude est réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen.

### 2. Prélèvement

Dans des conditions d'asepsie 20 lentilles de contact ont été soigneusement prélevées chez des personnes volontaires porteuses de lentilles souples de différentes marques, de groupe d'âge allant de 18 à 50 ans, non atteintes d'infections oculaires, de kératites ou de quelconques autres infections oculaires ; placées individuellement dans des tubes en verre stériles afin d'être transportés immédiatement au laboratoire pour être analysé.

### 3. Ensemencement et Isolement

Les lentilles ont été nettoyées de la face extérieure puis passées à l'incubés à 37°C pendant 24h. Un traitement des LC par l'ultrason (Wise Clean) et passage au vortex permet de détacher les biofilms de la surface des lentilles. Un volume de 0,1 mL de chaque échantillon a été ensemencé dans deux milieux sélectifs MacConkey et Cétrimide puis incubation à 37°C pendant 24H.

- **MacConkey** : est un milieu d'isolement ordinaire, lactosé et sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants. Le désoxycholate de sodium et le cristal violet inhibe la croissance des bactéries à Gram positif.
- **Cétrimide** : La gélose au Cétrimide est utilisée pour l'isolement et l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*. Le Cétrimide est un ammonium quaternaire qui inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes. *Pseudomonas aeruginosa* colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

### 4. Identification

L'identification des souches est contrôlée après vérification de leur pureté par :

**4.1 Étude des caractères macroscopiques** : aspect des colonies sur milieux gélosés MacConkey et Cétrimide.

**4.2 Étude des caractères biochimiques** :

#### 4.2.1 Test d'oxydase

La recherche d'oxydase est une technique d'identification en bactériologie concernant les bactéries à gram négatif. Les bactéries possédant l'enzyme oxydase peuvent oxyder le N-diméthyl-paraphénylene diamine, ce qui donne des produits violacés.

### 4.2.2 Identification par galerie API 20NE

La galerie API est un système standardisé pour l'identification des *Entérobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif et les staphylocoques, elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Nit1, Nit2 et Kovacs).

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du logiciel d'identification (Biomérieux).

## 5. Conservation des souches

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique :

**5.1 Gélose nutritive inclinée :** c'est une technique de conservation à court terme. Une fois que les tubes sont ensemencés et placés dans l'étuve à 37°C pendant 24h, ils sont conservés dans le réfrigérateur à 4°C. La vitalité de la souche se maintient pendant des durées variables, selon la température et l'espèce microbienne.

**5.2 Glycérol :** c'est une technique de conservation à long terme. Elle consiste à l'ajout du glycérol aux suspensions bactériennes. Le glycérol est un cryoprotecteur permettant d'éviter au maximum les altérations cellulaires dues au refroidissement.

## 6. Détection de la formation du biofilm sur les lentilles de contact *in vitro*

### 6.1 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

#### 6.1.1 Technique

Le test TCP décrit 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 Cétrimide, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150 µL de la suspension bactérienne ajustée à 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 quelques minutes. Les microplaques sont ensuite remplies avec 150 µL d'une solution d'éthanol (95%) afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (Stepanovic *et al.*, 2000).

### 6.1.2 Lecture

La classification des résultats obtenus présentée sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées comme suit :  $DO \leq 2DO_t$  (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**).

## 6.2. Détection de la production de slime sur milieu Rouge Congo Agar (RCA)

### 6.2.1 Technique

Cette technique qualitative consiste à l'ensemencement des souches testées pour leurs capacités à produire du slime sur milieu Rouge Congo (**Chaieb *et al.*, 2005**). C'est une méthode indirecte qui permet de distinguer entre les souches productrices de slime de celles qui n'en produisent pas, en se basant sur la composition de la couleur de leurs colonies.

Les souches sont ensemencées par stries en surface du milieu Rouge Congo coulé en boîtes et incubés à 37° pendant 24 à 48h (**Mathur *et al.*, 2006**).

### 6.2.2 Lecture

Evaluation de couleur des colonies, selon Satorres et Alcaraz en 2007, les colonies des souches non productrices sont de couleur rose rouges tandis que celles qui ont la capacité à produire un slime sont de couleur noires à surface ou presque noire (**Nasr *et al.*, 2012**).

## 7. Etude de l'effet de l'acide citrique et de la solution d'entretien sur la forme biofilm des souches isolées des lentilles de contact

### 7.1 Effet de l'acide citrique sur la forme biofilm des souches isolées des lentilles de contact

#### 7.1.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'acide citrique

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

La première colonne est remplie avec du BHIB stérile (100µL) pour servir de témoin de contamination, la deuxième est remplie uniquement de la suspension bactérienne considéré comme

test positif. La troisième colonne est remplie de 100 µl de la suspension bactérienne avec 100µL d'acide citrique de différentes concentrations.

Nous avons effectué dix dilutions de l'acide citrique : 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% et 10%.

Enfin, la plaque est couverte puis incubée 24h à 37°C. La lecture du résultat se fait visuellement, la CMI correspond au premier puit où la croissance bactérienne n'a pas été observée et/ou en utilisant un lecteur de microplaque afin d'identifier la concentration efficace la plus basse.

### **7.2 Activité inhibitrice de l'acide citrique et de la solution d'entretien**

Des lentilles de contact stériles ont été déposées dans des tubes contenant 0,5 mL de suspension bactérienne et 0,5 mL d'acide citrique (AC) à différentes concentrations (3%, 2% et 1%) et de la solution d'entretien à différentes concentrations allant de 100% ,80%, 50% jusqu'à 20%, pour un volume final d'1 mL. Après incubation pendant 24h à 37°C, les lentilles sont récupérées et rincées plusieurs fois avec de l'EDS et ajoutées à 1mL d'EP puis soumises à une sonication à l'aide du modèle WiseClean WUC-D06H pendant 3 mn et un passage au vortex. Chaque dilution a étéensemencée sur la gélose nutritive. Le dénombrement a été réalisé après 24H d'incubation à 37°C.

### **7.3 Activité éradicatrice de l'acide citrique et de la solution d'entretien**

Après avoir été mises en contact pendant 24H à 37°C avec 1 ml de la suspension bactérienne pour permettre l'installation du biofilm, les lentilles de contact ont été récupérées et rincées 1 à 2 fois avec de l'EDS afin d'éliminer les bactéries non adhérentes, puis placé dans de nouveaux tubes contenant l'acide citrique (AC) à différentes concentrations (3%, 2% et 1%) et la solution d'entretien diluée avec de l'EDS puis incubées à 37°C pendant 24h. Après incubation, les lentilles de contact sont récupérées, mises dans 1mL d'eau physiologique puis soumises à une sonication à l'aide du modèle WiseClean WUC-D06H pendant 3 mn et un passage au vortex. Chaque dilution a étéensemencée sur la gélose nutritive. Le dénombrement a été réalisé après 24H d'incubation à 37°C.

**Troisième partie**  
**Résultats et Discussion**

## 1. Prélèvements

Sur une période de trois semaines, un ensemble de vingt lentilles de contact souple de différentes marques a été prélevé sur des patients volontaires. Sur la totalité des lentilles de contact analysées, sept (07) ont donné un résultat positif sur les milieux de culture MacConkey et Cétrimide (**Figure 08**).



**Figure 08.** Répartition des prélèvements

## 2. Identification

L'identification est basée sur l'étude des caractères macroscopiques et biochimiques, selon les différentes informations relatives à l'aspect des colonies et sur les caractères biochimiques (galeries classiques ou automate).

### 2.1 Identification macroscopique

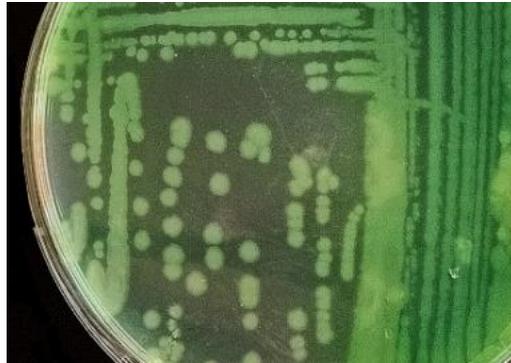
➤ **Sur milieu MacConkey :** Nous avons observé de grandes colonies rondes et plates, à bord déchiqueté avec présence d'une odeur aromatique spécifique de fleur de seringat (**Figure 09**).



**Figure 09.** Aspect macroscopique des colonies obtenues sur milieu MacConkey

### ➤ Sur milieu Cétrimide

Nous avons observé de moyennes à grandes colonies isolées, bombées à contour irrégulier, à aspect métallique (**Figure 10**).

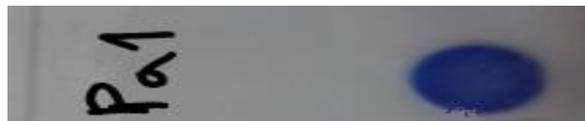


**Figure 10.** Aspect macroscopique de *P. aeruginosa* obtenue sur milieu Cétrimide

## 2.1 Identification biochimique

### 2.2.1 Test Oxydase

Les *Pseudomonas* sont des bactéries à métabolisme oxydatif, c'est à dire ayant recours à des réactions enzymatiques d'oxydo-réduction pour l'utilisation des nutriments comme sources de carbone et d'énergie. Parmi les caractéristiques biochimiques de *P. aeruginosa*, la production d'une cytochrome C oxydase (test de l'oxydase positif) (**Figure 11**).



**Figure 11.** Résultat du test Oxydase

### 2.1.2 Galerie API 20 NE

L'identification bactérienne réalisée par galerie API 20NE nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches obtenues de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats obtenus des bactéries isolées testés sont compatibles avec les caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa* caractérisant et confirmant ainsi un profil numérique 1554555 (93%) (**Tableau 01, Figure 12**).

**Tableau 01.** Résultats des différents tests de la galerie biochimique API 20 NE

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							
Tests	Résultats	Tests	Résultats	Tests	Résultats	Tests	Résultats
NO3	+	ESC	+	MNE	-	CAP	+
TRP	-	GEL	+	MAN	+	ADI	-
GLU	-	PNPG	-	NAG	+	MLT	+
ADH	+	GLU	+	MAL	-	CIT	+
URE	-	ARA	-	GNT	+	PAC	-



**Figure 12.** Identification de *P. aeruginosa* (galerie API20 NE)

### 3. Evaluation de la formation du biofilm *in vitro*

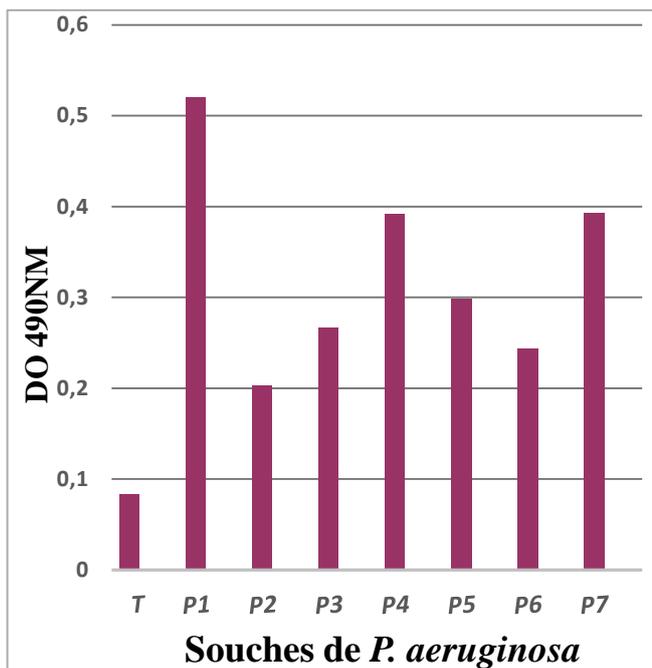
Les sept souches isolées lors de cette étude ont été testées pour leur capacité à former des biofilms par les deux techniques : la méthode qualitative du Rouge Congo (Mathur *et al.*, 2006) et la méthode quantitative de la microplaque 96 puits [(Freeman *et al.*, 1989); (Mathur *et al.*, 2006)].

#### 3.1 Méthode quantitative (TCP)

La formation de biofilms est une stratégie importante utilisée par de nombreuses bactéries pour survivre dans les environnements naturels (Hou *et al.*, 2012), car son architecture est construite principalement par des substances polymères extracellulaires autogènes qui fonctionnent comme un échafaudage pour enfermer les bactéries ensemble sur des surfaces et pour les protéger des stress environnementaux, il empêche la phagocytose et confère ainsi la capacité de colonisation et de persistance à long terme (Thi *et al.*, 2020).

Les valeurs de l'absorbance à 490 nm après incubation et coloration au cristal violet sont considérées comme un indice de l'adhésion bactérienne à la surface interne des microplaques et la capacité des bactéries à former des biofilms.

La détection de la production de biofilms par la méthode TCP a montré que 03 des 07 souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentaient une forte production de biofilm avec une DO comprise entre 0,391 et 0,52 par contre 04 souches étaient moyennement productrices de biofilm avec une DO comprise entre 0,203 et 0,298 (**Figure 13**).



**Figure 13.** Résultats de l'évaluation de la formation de biofilm par TCP (N=07)

Dans l'étude d'**Abidi et al., (2013)**, il a été constaté que sur un total de 22 isolats de *Pseudomonas aeruginosa* obtenus à partir de 36 lentilles de contact, tous les isolats étaient de bonnes formatrices du biofilm tandis que les résultats de **Hou et al.,(2012)** ont indiqué qu'aucun des 29 isolats ophtalmiques de *P. aeruginosa* ne pouvaient produire de biofilms *in vitro*.

D'autres études ont été réalisées dans le même contexte citons les travaux de **Dosler et al., (2020)** qui ont montré que les souches cliniques de *P. aeruginosa* étaient les plus formatrices de biofilm sur tous les types de lentilles.

### 3.2 Méthode qualitative (RCA)

L'étude de la formation d'un « slime » par les souches de *Pseudomonas aeruginosa* a été réalisée en utilisant de la gélose rouge Congo. La formation de colonies roses ou rouges est considérée comme négative et le développement de colonies noires est considéré comme une souche productrice de biofilm (**Heidari, 2018**).

Cette technique est couramment employée dans l'étude de la formation de biofilms chez les isolats cliniques.

Le criblage de la production de slime par la méthode RCA a montré que 100% de nos souches étudiées n'étaient pas productrices de biofilm (**Figure 14**).



**Figure 14.** Résultats de l'évaluation de la formation de biofilm par RCA (N=07)

Nos résultats concordent avec ceux de **Hou et al., (2012)**, où ils montrent que sur 29 des isolats ophtalmiques de *P. aeruginosa*, aucune n'a formé de colonies noires.

En revanche, il a été rapporté dans l'étude de **Raksha et al., (2020)** que 12/13 isolats de *Pseudomonas* isolées des lentilles de contact formaient des colonies noires et étaient phénotypiquement positifs pour la formation de biofilm par la technique RCA.

Selon plusieurs auteurs la méthode de 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 à celle du rouge Congo (**Tableau 03**).

En effet, la technique TCP est la plus largement utilisée et considérée comme un test standard pour la détection de la formation de biofilm. Cette méthode a été rapportée comme étant la plus sensible, précise et reproductible pour la détermination de la formation de biofilm à *Pseudomonas*. Elle permet une détermination quantitative pour comparer l'adhésion des différentes souches et aussi examiner un

grand nombre d'isolats simultanément (Nasr *et al.*, 2012). Cependant, elle peut être moins précise pour déterminer la capacité des souches à sécréter le slime bactérien (Castro Melo *et al.*, 2013).

Dans notre étude, la comparaison de la production de biofilm des souches isolées par ces deux méthodes conventionnelles est rapportée dans le tableau suivant (Tableau 02) :

**Tableau 02.** Résultats de la formation du biofilm par les deux techniques TCP et RCA

Technique	Nombre des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	Absence	Modéré	Fort
Microplaque	0	4	3
RCA	0	0	0

Nos résultats concordent avec ceux d'Oli *et al.*, (2012), où ils montrent que la technique TCP est la plus fiable pour la détection de la formation de biofilm chez des souches cliniques.

De ce fait, nous avons choisi la souche la plus formatrice de biofilm afin de poursuivre notre étude et tester quelques substances inhibitrices de la formation du biofilm sur les lentilles de contact.

#### 4. Etude de l'effet de la solution d'entretien sur la formation du biofilm sur les lentilles de contact

L'éradication du biofilm est aujourd'hui un défi majeur pour surmonter l'incidence de la résistance aux médicaments. *Pseudomonas aeruginosa* est l'agent causal le plus souvent associé à la maladie microbienne. Lors du port de lentilles de contact, des agents pathogènes peuvent être introduits dans l'environnement oculaire, qui pourraient provoquer des événements indésirables (Harris *et al.*, 2023) d'où l'intérêt d'un entretien efficace.

L'objectif d'un système d'entretien des lentilles est de lutter contre la contamination microbienne, de réduire au minimum les dépôts et de maintenir les performances des lentilles en termes de santé, de confort et de vision (Veys *et al.*, 2008).

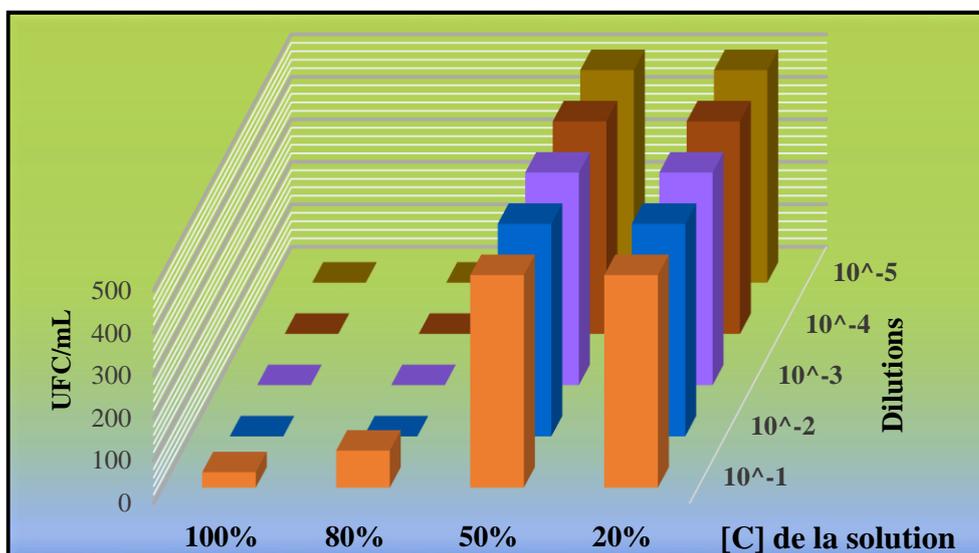
La présence de biofilm bactérien à la surface des lentilles de contact joue un rôle clé dans le développement de la kératite microbienne puisque les souches productrices de biofilm peuvent

survivre après avoir été désinfectées avec des solutions existantes sur le marché (Mordmuang *et al.*, 2021).

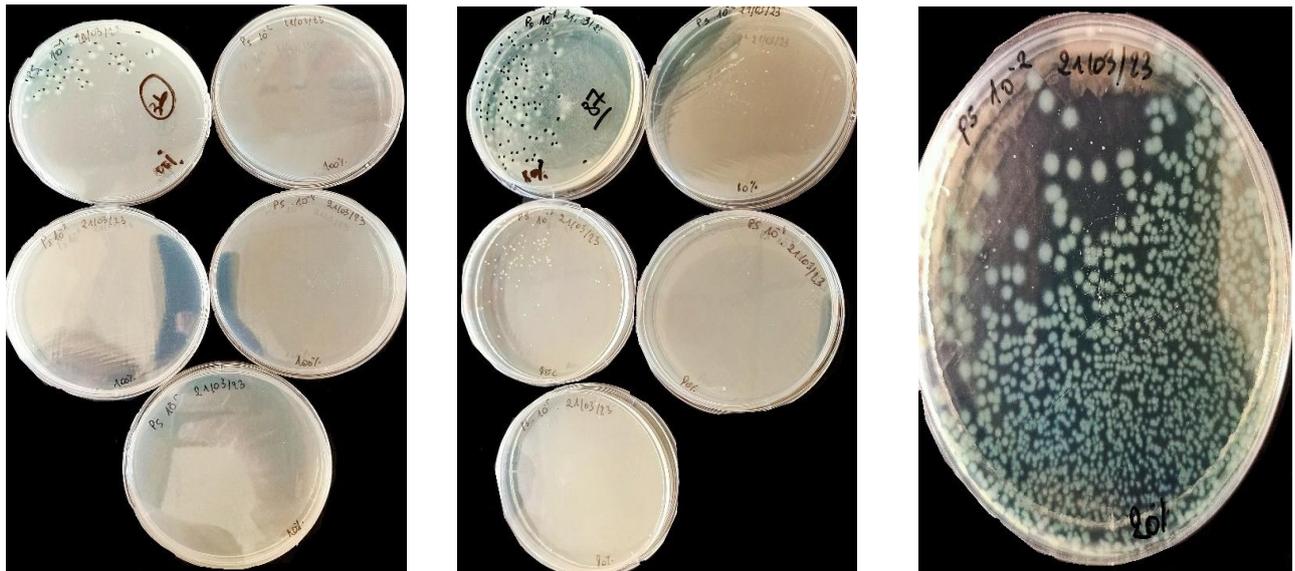
Différentes concentrations d'une solution désinfectante multifonctions pour lentilles de contact souples ont été testées (100 %, 80% ,50% et 20%), pour leurs effets d'inhibition et d'élimination du biofilm sur les lentilles de contact.

### 4.1 Activité anti-adhésive

Les résultats expérimentaux de l'activité anti-adhésive montrent que l'installation du biofilm a été complètement empêchée par la solution d'entretien aux deux concentrations 100% et 80%. Quant à la dilution du produit à 50% et 20%, celui-ci n'a pas été efficace (Figure 15,16).



**Figure 15.** Représentation graphique de l'effet anti-adhésion de la solution d'entretien sur le biofilm préformé



**Figure 16.** Résultats du dénombrement sur GN de l'activité anti-adhésive après utilisation de la solution d'entretien

Des résultats similaires ont été trouvés par **Artini et al., (2015)** dont l'objectif était d'étudier les propriétés de désinfection de différentes solutions multifonctions contre le biofilm bactérien sur les lentilles de contact. Ils ont prouvé que la solution utilisée a été en mesure d'entraver complètement la croissance de bactéries. De même aucune croissance bactérienne n'a été observée lorsque les cellules ont été incubées avec 100 % de MPS et aucune cellule n'a été mise en évidence dans les suspensions bactériennes issues de croissances réalisées en présence de cette solution.

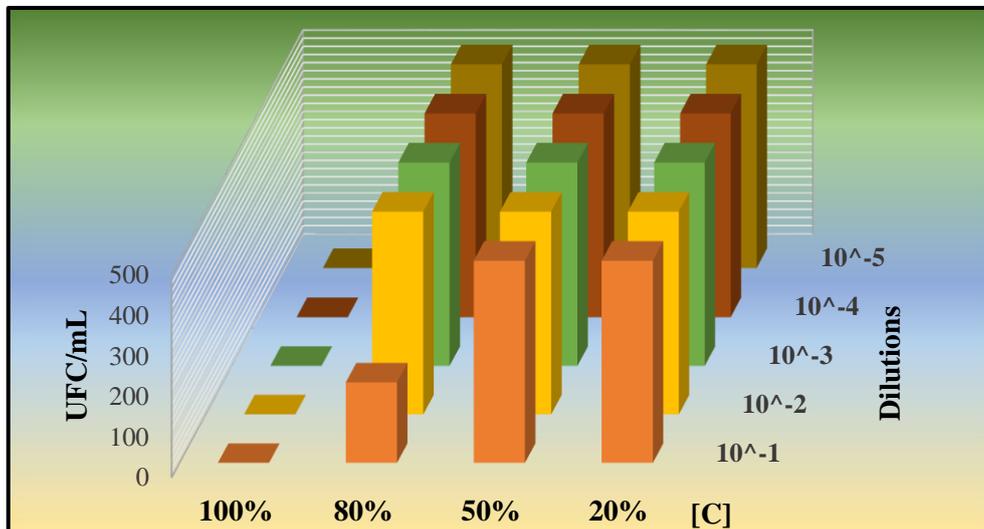
Ces chercheurs ont aussi rapporté qu'aucun effet inhibiteur n'a été observé pour des concentrations plus diluées.

L'action inhibitrice de la solution de nettoyage pour les lentilles suggère qu'en utilisant la solution de nettoyage, la formation des biofilms peut être inhibée sur les lentilles de contact ainsi que dans les étuis, ce qui peut grandement contribuer à prévenir les infections oculaires (**Kackar et al., 2017**).

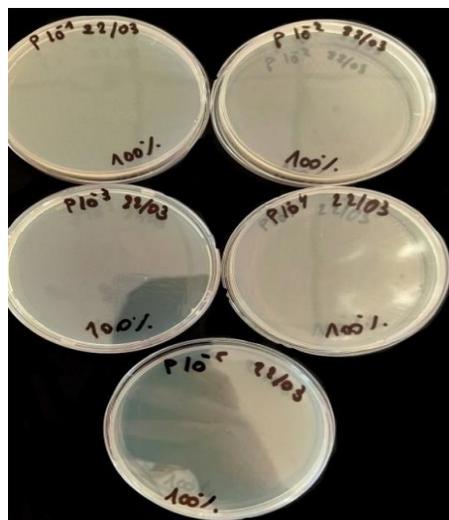
Par rapport à *S. aureus*, *P. aeruginosa* a montré une fixation plus rapide sur tous les types de LC. Cependant, *P. aeruginosa* a été plus facilement éliminée de la surface des LC que *S. aureus* par trempage à la solution seule ou en combinaison avec un lavage à la main (**Ji et al., 2015**).

#### 4.2 Activité éradicatrice

Les résultats du test montrent que seule la solution à 100% a été efficace sur l'éradication du biofilm préformé sur les lentilles de contact (**Figure 17, 18**).



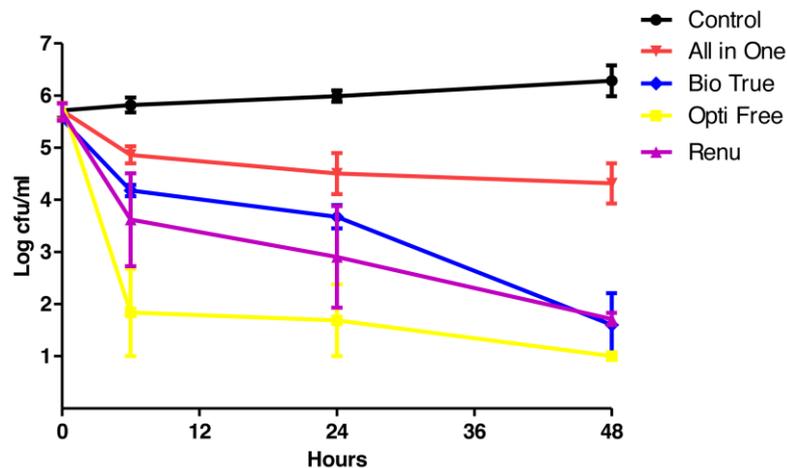
**Figure 17.** Représentation graphique de l'effet éradicateur de la solution d'entretien sur le biofilm préformé



**Figure 18.** Résultats du dénombrement sur GN de l'activité éradicatrice après utilisation de la solution

Dans l'étude de **Kackar et al., (2017)** qui consistait à étudier l'effet de la solution de nettoyage des lentilles sur les biofilms, ils ont observé une réduction significative dans le cas de lentilles souples.

Dans une étude menée par **Dosler et al., (2020)** sur l'efficacité de quelques solutions de désinfections dont Biotrue, il a été montré que ce dernier avait prouvé son efficacité contre les biofilms de *P.aeruginosa* sur les lentilles de contact, réduisant ainsi le nombre de bactéries vivantes dans le biofilm de log (5.5) au départ à log (4.5) après 24h, puis à log (2.8) après 48h (**Figure 19**).

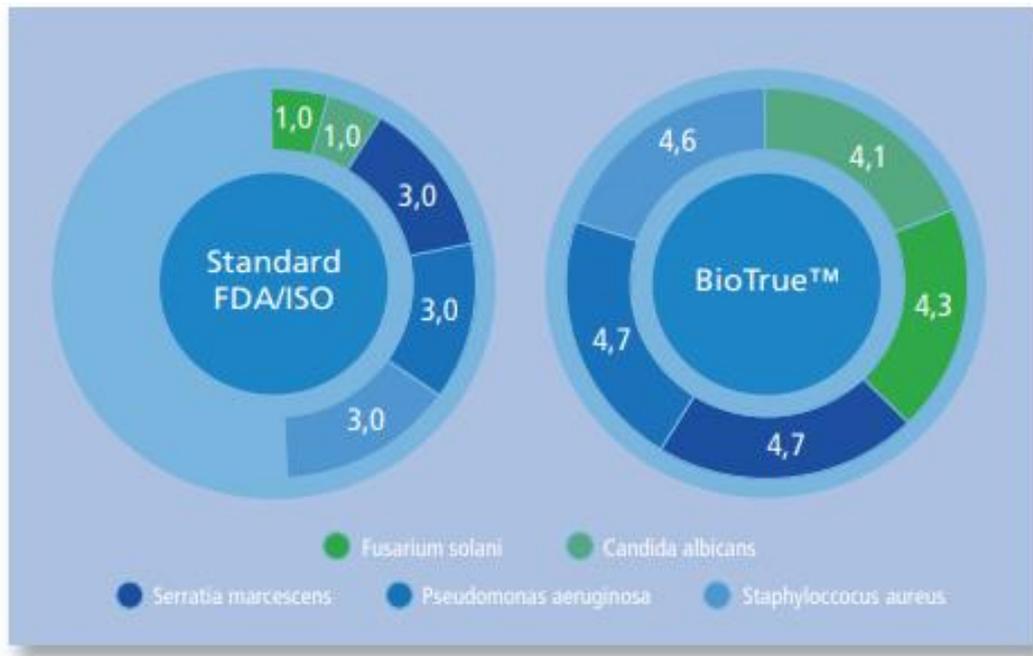


**Figure 19.** MPS contre les biofilms de *P. aeruginosa* sur les LC (**Dosler et al., 2020**)

Toutes les solutions multifonctions destinées à l'entretien des lentilles de contact doivent valider l'étape du Stand Alone Testing. Cette épreuve, qui n'utilise aucune lentille, évalue *in vitro* l'efficacité du « produit seul » sur des souches de références ATCC. Le pouvoir désinfectant du produit est exprimé en réduction logarithmique.

Pour autoriser la commercialisation d'une solution multifonctions en tant que « produit de décontamination de lentilles de contact » il faut une réduction d'au moins 3 log\* pour les bactéries *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, pendant la période de trempage minimale recommandée, soit habituellement 6 heures [normes FDA (Food and Drug Administration) et de l'ISO 14729-2001].

Au cours des tests autonomes, Biotrue™ a induit en seulement 4h une réduction logarithmique de : 4,1 pour *Fusarium*, 4,3 pour *Candida*, 4,6 pour *Staphylococcus aureus* et enfin 4,7 pour *Serratia* et *Pseudomonas* (**Figure 20**). Ce qui équivaut à un taux d'élimination de *P.aeruginosa* à 99,99% (**Cyrot et al., 2010**).



**Figure 20.** Réduction logarithmique moyenne (taux d'élimination des micro-organismes) (Cyrot *et al.*, 2010)

Afin de garder nos yeux en bonne santé et à l'abri des infections, les solutions d'entretien doivent faire preuve d'une activité nettoyante et désinfectante satisfaisante pour éviter une contamination jusqu'à la prochaine utilisation des lentilles et ainsi garantir un port confortable.

Dans la prochaine étape de cette étude, nous avons testé l'effet de l'acide citrique sur l'inhibition de la formation du biofilm.

### 5. Etude de l'effet de l'acide citrique sur la forme biofilm des lentilles de contact

*Pseudomonas aeruginosa* est apparu comme un pathogène oculaire important, responsable d'infections ophtalmiques graves. L'utilisation croissante des lentilles de contact à la fois à des fins médicales ou cosmétiques a considérablement augmenté le risque de contracter des infections à *Pseudomonas* (Abidi *et al.*, 2013).

La formation de biofilm bactérien sur les lentilles de contact (LC) est associée à une infection cornéenne, à une kératite bactérienne chez les porteurs de lentilles et au développement d'une résistance aux médicaments (Boominathan *et al.*, 2022).

Ces infections représentent un défi médical majeur et sont impliquées dans 60% des infections bactériennes, ce qui complique le diagnostic et le traitement (Høiby *et al.*, 2014), d'où l'intérêt de l'éradication du biofilm (Sengupta *et al.*, 2012).

### 5.1 Etude de la CMI

Après incubation, la détermination de la CMI est basée sur l'observation de la présence ou non d'une croissance microbienne. L'absence de croissance indique une inhibition du développement microbien. Etant donné que la CMI est la plus petite concentration du produit testé qui ne présente pas de croissance. Les résultats de la CMI ont montré que ce produit est efficace à la dernière concentration (Tableau 03).

**Tableau 03.** Résultats des CMI de l'AC

[C]	8%	7.2%	6.4%	5.6%	4.8%	4%	3.2%	2.4%	1.6%	0.8%
Croissance	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : Inhibition de la croissance

Les résultats de la CMI montrent une sensibilité à l'acide citrique sur toutes les valeurs de la CMI utilisées. La CMI de notre souche de *P.aeruginosa*  $\leq$  à la concentration de 0,8 % (0,008g/mL).

### 5.2 Activité anti-adhésive

Lors de l'utilisation de lentilles de contact, l'adhérence microbienne et la formation de biofilms sont des menaces irréfutables pour la santé oculaire en raison du développement de biofilms matures sur les surfaces des lentilles associées à des infections oculaires graves, telles que la kératite microbienne, les yeux rouges aigus induits par les LC et les ulcères périphériques pendant la période de port des LC (Dosler *et al.*, 2020).

Dans cette étude, l'activité anti-biofilm de l'acide citrique sur la souche de *P. aeruginosa* la plus formatrice du biofilm a été évaluée (Figure 21).



**Figure 21.** Résultats du dénombrement sur GN de l'activité anti-adhésive après traitement à l'AC

A cet effet, la prévention et l'inhibition de la formation de biofilm de cette souche par l'acide citrique à différentes concentrations (3%, 2 % et 1%) ont été étudiées avec pour objectif de comparer avec la solution d'entretien multifonctions.

D'après les résultats obtenus, à partir du dénombrement des boîtesensemencées sur gélose nutritive, l'acide citrique a empêché l'installation du biofilm sur les LC, dans les diverses concentrations.

### 5.3 Activité éradicatrice

Dans cette partie, nous avons testé l'effet de l'acide citrique sur l'éradication d'un biofilm déjà formé.

Les résultats obtenus après dénombrement sur GN, ont montré l'élimination du biofilm formé par l'acide citrique, dans les diverses concentrations 3%, 2%, 1% (**Figure 22**), ce qui montre la forte activité antibactérienne de l'AC sur le biofilm de *P. aeruginosa* sur les lentilles de contact.



**Figure 22.** Résultat du dénombrement sur GN de l'activité éradicatrice après traitement à l'AC

Les acides faibles organiques sont utilisés pour traiter les infections depuis des milliers d'années, et il y a eu un récent regain d'intérêt pour l'utilisation d'acides faibles pour traiter les infections bactériennes car ils peuvent éradiquer efficacement les biofilms en raison de leur capacité à pénétrer la matrice du biofilm et la membrane cellulaire.

L'acide citrique est un acide triprotique avec trois valeurs de pKa et il a été démontré que cet acide réduit le taux de survie des bactéries dans les biofilms de *Pseudomonas*.

L'efficacité d'un acide faible (acide citrique) a été testée sur des biofilms formés par plusieurs bactéries dont *Pseudomonas aeruginosa* et *P.putida* (**Kundukad et al., 2020**).

Ces chercheurs ont constaté que les acides triprotiques, tels que l'acide citrique, tuent les bactéries du biofilm à un pH < pKa1. Cependant, à un pH compris entre pKa1 et pKa2, l'acide citrique est

efficace pour tuer les bactéries au cœur des micro-colonies de biofilm mais ne tue pas les bactéries à la périphérie.

Ils ont également montré que les acides faibles ont un large spectre d'activité contre un large éventail de bactéries, y compris les bactéries résistantes aux antibiotiques. Ainsi, les acides faibles ciblent les bactéries résistantes aux antibiotiques et éradiquent les cellules persistantes dans les biofilms qui sont tolérantes aux autres méthodes conventionnelles d'éradication des biofilms (**Kundukad et al., 2020**).

L'étude d'**Ouslimani et Tafer, (2015)** qui consistait à évaluer et comparer l'activité antibactérienne et antifongique de quelques composés dont l'acide citrique sous différentes concentrations (10%, 8%, 6%, 4% et 3%) a rapporté que l'acide citrique (AC) exerçait un effet bactéricide sur différentes bactéries.

Leurs résultats ont montré que la combinaison de l'acide citrique avec une huile essentielle (de Thym) optimisait l'activité antimicrobienne de l'AC.

De plus, il a été démontré par **Lieleg et al., (2011)** que l'acide citrique avait réduit la viabilité bactérienne de > 95 % . Dans cette étude, ils ont identifié l'acide citrique comme étant à la fois un agent de fluidisation puissant et un produit chimique antimicrobien pour divers biofilms de *Pseudomonas* préformés.

Ils ont pu observer que l'acide citrique est très puissant pour fluidifier davantage le biofilm par rapport au traitement avec de l'eau seule, car l'acide citrique 250 mM réduit l'élasticité du biofilm de près de 99,5 %.

Nous constatons que l'acide citrique a une activité antibactérienne et élimine efficacement les bactéries du site d'infection et améliore le processus de guérison. Étant une substance naturelle issue des agrumes, il n'a pas d'effets secondaires et a l'avantage de ne pas être toxique pour les cellules impliquées dans le processus d'activité antimicrobienne contre *P. aeruginosa*, qui est naturellement sensible à l'acide (**Nagoba et al., 2017**).

# **Conclusion**

Le nombre de porteurs de lentilles de contact ne cesse d'augmenter depuis quelques années et va très certainement encore évoluer dans les années à venir. La commodité ainsi que l'aspect esthétique qu'elles représentent ont déjà séduit un grand nombre d'utilisateurs.

Cependant, à peine les lentilles de contact insérées dans les yeux que les lipides, les protéines et les glycoprotéines s'accumulent rapidement à leur surface, favorisant ainsi l'adhésion des bactéries commensales et la formation de biofilms.

En effet, nombreuses sont les pathologies associées à la présence de biofilms bactériens sur les lentilles de contact, la plus courante est la kératite microbienne qui est une infection de la cornée pouvant entraîner la perte de la vision. Le principal facteur de risque étant l'utilisation généralisée de ce genre de dispositif.

Ce travail nous a permis de montrer que sur les vingt paires de lentilles de contact collectées auprès de différents patients chez divers opticiens de la ville de Tlemcen, sept étaient infectées.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressées sur la mise en évidence des biofilms formés par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, nous avons obtenu 3/7 souches fortement formatrices de biofilm et 4/7 modérément formatrices. Dans ce contexte, nous avons pu confirmer la capacité de *P. aeruginosa* à former le biofilm par la technique TCP.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les capacités d'inhibition et d'élimination du biofilm de deux composés, l'un d'origine naturelle et l'autre chimique. C'est ainsi, que nous avons constaté que l'acide citrique a permis une inhibition et une éradication totale du biofilm de *P. aeruginosa* à la surface des lentilles de contact aux différentes concentrations réalisées de 3%, 2% et 1%. La solution d'entretien a été capable d'inhiber l'installation du biofilm aux deux concentrations 100% et 80%, et a pu l'éliminé à la concentration de base seulement, soit 100%.

L'éradication d'un biofilm bactérien pose de gros problèmes cliniques, car l'antibiothérapie active habituellement sur les bactéries à l'état planctonique se révèle bien souvent moins efficace sur des structures organisées en biofilm. Il devient donc essentiel d'améliorer nos connaissances sur les mécanismes impliqués dans la formation de biofilm, afin de trouver de nouveaux moyens de prévenir ou de traiter les infections associées aux biofilms sur les lentilles de contact. Par conséquent, l'importance des antimicrobiens d'origine naturelle augmente de jour en jour.

Cette étude montre l'efficacité de l'acide citrique et des concentrations utilisées vis-à-vis de *P. aeruginosa*, et sa bonne activité anti-adhésive et anti-biofilm ; et que la solution d'entretien considérée ici, est efficace pour réduire la capacité de formation de biofilms et aussi pour prévenir la formation de biofilms de cette bactérie sur les LC.

Ce travail présente une étude préliminaire, qui nous encourage à continuer notre recherche pour diminuer et/ou inhiber la formation de biofilm sur les dispositifs médicaux.

# **Références bibliographiques**

### A

- **Abdi B., Mofidfar M., Hassanpour F., Cilingir KE., Kalajahi SK., Milani PH., Ghanbarzadeh M., Fadel D., Barnett M., Ta CN., Leblanc RM., Chauhan A., Abbasi F. (2023).** Therapeutic contact lenses for the treatment of corneal and ocular surface diseases, advances in extended and targeted drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 638:122740.
- **Abidi SH., Sherwani SK., Siddiqui TR., Bashir A., Kazmi SU. (2013).** Drug resistance profile and biofilm forming potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from contact lenses in Karachi-Pakistan. *BMC Ophthalmol* 13, 57.
- **Artini M., Cellini A., Scoarughi GL., Papa R., Tilott M., Palm S., Selan L. (2015).** Evaluation of Contact Lens Multipurpose Solutions on Bacterial Biofilm Development. *Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice*, 41(3), 177–182.
- **Aumeran C., Balestrino D., Forestier C. (2020).** Biofilms bactériens et santé. *Encyclopédie de L'environnement*.

### B

- **Bali S. (2019).** Etude comparative entre deux méthodes d'extraction des huiles essentielles d'Artemisia herba alba Asso, et évaluation de leur activité antimicrobienne. Th.master : Biochimie appliquée : Université Mohamed khider de Biskra.
- **Barr JT. (2006).** 20 Years of Contact Lenses. CLS staff. *Contact Lens Spectrum*.
- **Barthélémy B., Thiébaud T. (2004).** Contactologie. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Bärtschi M. (2009).** Lentilles de contact, indications et contraintes, *Forum Medical Suisse*, 9(11), 228–232.
- **Benameur H., Bellatrache I., Mouffok S. (2021).** Étude sur les biofilms bactériens et les mécanismes de résistance aux antibiotiques. Th. Mémoire : Université de Médéa. <http://dspace.univ-medea.dz/handle/123456789/3640>
- **Benchekchou J. (2014).** Les lentilles hybrides.Th. diplôme d'opticien lunetier, École - supérieure d'optique et de lunetterie-Maroc.
- **Berthélémy S. (2015).** Le port des lentilles de contact. *Actualités Pharmaceutiques*, n° 547, 37-40.

- **Bezoui M. (2016).** Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine (Thèse de Doctorat en pharmacie). Université Mohammed V-rabat.
- **Bhamra TS., Tighe BJ. (2017).** Mechanical properties of contact lenses, the contribution of measurement techniques and clinical feedback to 50 years of materials development. *Contact Lens and Anterior Eye*, 40(2), 70-81.
- **Bloise L. (2016).** Surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact. In Encyclopédie Médico-Chirurgicale (EMC)-Ophtalmologie, 13, 1-13.
- **Bloise L. (2017).** Surveillance, hygiène et entretien des lentilles de contact. *Journal français d'ophtalmologie*, 40(4), 329-337.
- **Bloise L. (2020).** Les avancées en contactologie, SFOALC, BSOF, SOP, SFO Éditions Medline.
- **Boominathan R., Devanesan S., AlSalhi M S., Balasubramanian A., Alkhalid IZ., Parameswari P., Ranjit singh AJA. (2022).** Quorum quenching action of marine red alga *Halymenia durvillei* on biofilm forming Gram negative bacterial isolates from contact lens. *Algal Research*, 64, 102693.
- **Bouheraoua N., Labbé A., Chaumeil C., Liang Q., Laroche L., Borderie V. (2014).** Kératites amibiennes. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 37(8), 640-652.
- **Bourcier T., Bouheraoua N., Gomart G., Gueudry J., Dory A., Riegel P., Prevost G., Merabet L., Baudouin F., Henrat C., Bocskei Z., Wurtz M., Messerlin A., Dormegnny L., Hoareau G., Grillon A., Liu X., Gaucher D., Sauer A., Rousseau A., Borderie V., Labetoulle M. (2020).** Kératites bactériennes. *EMC – Ophtalmologie*, 37(1), 1-12.
- **Brown L., Leck AK., Gichangi M., Burton MJ., Denning DW. (2021).** The global incidence and diagnosis of fungal keratitis. *Lancet Infectious Diseases*, 21, e49–e57.

## C

- **Caldara M., Belgiovine C., Secchi E., Rusconi R. (2022).** Environmental, Microbiological, and Immunological Features of Bacterial Biofilms Associated with Implanted Medical Devices. *Clinical Microbiology Reviews*, 35(2), e00221-20.
- **Chan KY., Cho P., Boost M. (2014).** Microbial adherence to cosmetic contact lenses. *Contact Lens and Anterior Eye*, 37(4), 267-272.

- **Chedni N., Djaid FZ. (2022).** Les Maladies parasitaires humaines et animales dans la région de Tissemsilt. Th. Master , Microbiologie appliquée. Université de Tissemsilt.
- **Chekiri-Talbi M., Denning DW. (2017).** Estimation des infections fongiques en Algérie. *Journal de Mycologie Médicale*, 27(2), 139-145.
- **Christensen GD., Simpson WA., Younger JJ., Baddour LM., Barrett FF., Melton DM., Beachey EH. (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.
- **Colliot JP. (2022).** Chapitre 8, Lentilles de contact. Réfractions Du Diagnostic Aux Traitements Optiques et Chirurgicaux, 371-424.
- **Cuffaro L. (2016).** Étude qualitative, objective et subjective des lentilles spot dans les pathologies cornéennes. Médecine humaine et pathologie.dumas-01406379
- **Cyrot G., Bertrand-Cuingnet H., Comet-Mateu F., Delfour-Malecaze M., Le Blond E., Lejeune S., Luftman-Legagneux F., Vis-Choukroun K. (2010).** Biotrue : La solution d'entretien multifonctions pour lentilles souples inspirée de la biologie oculaire. Les Cahiers d'ophtalmologie, n°145.

### D

- **Dart JKG., Stapleton F., Minassian D. (1991).** Contact lenses and other risk factors in microbial keratitis. *The Lancet, Elsevier*, 338(8768), 650-653.
- **De Castro Melo P., Ferreira LM., Filho AN., Zafalon LF., Vicente HI., de Souza V. (2013).** Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Braz J Microbiol*, 44(1), 119-24.
- **Demianenko P. (2015).** Développement de matériaux polymères à haute perméabilité d'oxygène. Th. Doctorat, Université du Maine, Le Mans.
- **Di Onofrio V., Gesuelle R., Maione A., Liguori G., Liguori R., Guida M., Nigro R., Galdiero E. (2019).** Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation on Soft Contact Lenses by *Allium sativum* Fermented Extract (BGE) and Cannabinol Oil Extract (CBD). *Antibiotics*, 8(4), 258.
- **Dosler S., Hacıoglu M., Yilmaz FN., 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.

- **Dutta D., Cole N., Willcox M. (2012).** Factors influencing bacterial adhesion to contact lenses. *Mol Vis*, 18, 14-21.

### E

- **Efron N. (2010).** Contact Lens Practice. [2nd ed.]. Butterworth-Heinemann, Oxford, Uk; St. Louis, Mo
- **Efron N. (2023).** Contact Lens Practice. [4th ed], 122-130.
- **Efron N., Morgan PB., Woods CA. (2013).** International Survey of Rigid Contact Lens Fitting, *Optometry and vision science*, 90(2), 113-8.

### F

- **Faria S., Joao I., Jordao L. (2015).** General Overview on Nontuberculous Mycobacteria, Biofilms, and Human Infection. *J Pathog*, 2015,1-10.
- **Fleiszig SM., Evans DJ., Mowrey-McKee MF., Payor R., Zaidi TS., Vallas V., Pier GB. (1996).** Factors affecting Staphylococcus epidermidis adhesion to contact lenses. *Optometry and Vision Science*, 73(9), 590-594.
- **Fleiszig SMJ., Kroken AR., Nieto V., Grosser MR., Wan SJ., Metruccio MME., Evans DJ. (2020).** Contact lens-related corneal infection, Intrinsic resistance and its compromise. *Prog Retin Eye Res*, 76:100804.
- **Flemming HC., Wingender J. (2010).** The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633.
- **Freeman DJ., Falkiner FR., Keane CT. (1989).** New method of detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42, 87-84.

**G**

- **Guess S., Stone DU., Chodosh J. (2007).** Evidence-based treatment of herpes simplex virus keratitis, A Systematic Review. *The Ocular Surface*, 5(3), 240–250.
- **Gupta D., Daigavane S. (2022).** A Clinical Case of Viral Keratitis. *Journal of medical science*. Cureus, 14(10), e30311.
- **Gurnani B., Kaur K. (2022).** Bacterial Keratitis. In, StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing;. PMID, 34662023.
- **Guyomarch J., N’Guyen van Nuoï D., Beral L., Donnio A., Desbois N., Olive C., Theodose R., Merle H. (2010).** Kératites infectieuses et lentilles cosmétiques, étude rétrospective de cinq cas. *J Fr Ophtalmol*, 33(4), 258–262.
- **Guzmán-Soto I., McTiernan C., Gonzalez-Gomez M., Ross A., Gupta K., Suuronen EJ., Griffith M., Alarcon EI. (2021).** Mimicking biofilm formation and development, Recent progress in *in vitro* and *in vivo* biofilm models. *iScience*, 24(5), 102443.

**H**

- **Harris V., Pifer R., Shannon P., Crary M. (2023).** Comparative Evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* Adhesion to a Poly-(2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine)-Modified Silicone Hydrogel. *Contact Lens. Vision*, 7(1), 27.
- **Harvey TB., Meyers WB., Bowman LM. (1990).** Contact lens materials, their properties and chemistries. In, Gebelein, C.G., Dunn, R.L. (eds) *Progress in Biomedical Polymers*. Springer, Boston, MA, 1-5.
- **Heidari H., Hadadi M., Sedigh Ebrahim-Saraie H., Mirzaei A., Taji A., Hosseini SR., Motamedifar M. (2018).** Characterization of virulence factors, antimicrobial resistance patterns and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus* spp. strains isolated from corneal infection. *J Fr Ophtalmol*, 41(9), 823-829.
- **Heitz A., Bourcier T. (2013).** Les antibiotiques dans le traitement des infections bactériennes de la surface oculaire. *Les Cahiers d'Ophtalmologie*, (173), 37-41.
- **Herbaut A., Liang H., Denoyer A., Baudouin C., Labbé A. (2019).** Analyse du film lacrymal et évaluation de sa qualité optique, une revue de la littérature. *Journal Francais d'Ophtalmologie*, 42, 226-243.

- **Hilliam Y., Kaye S., Winstanley C. (2020).** *Pseudomonas aeruginosa* and microbial keratitis. *Journal of medical microbiology*, 69(1), 3-13.
- **Høiby N. (2014).** A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. *Pathogens and disease*, 70(3), 205–211.
- **Høiby N., Ciofu O., Johansen HK., Song ZJ., Moser C., Jensen PØ., 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.
- **Hou W., Sun X., Wang Z., Zhang Y. (2012).** Biofilm-Forming capacity of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* from Ocular Infections. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53(9), 5624-5631.

### I

- **International Standards Organization. (2001).** ISO/FDIS 14729 ophthalmic optics, contact lens care products, microbiological requirements and test methods for products and regimens for hygienic management of contact lenses. ISO, Geneva, Switzerland.

### J

- **Ji YW., Cho YJ., Lee CH., Hong SH., Chung DY., Kim EK., Lee HK. (2015).** Comparison of Surface Roughness and Bacterial Adhesion Between Cosmetic Contact Lenses and Conventional Contact Lenses. *Eye & Contact Lens*, 41(1), 25-33.

### K

- **Kackar S., Suman E., Kotian MS. (2017).** Bacterial and Fungal Biofilm formation on Contact Lenses and their Susceptibility to Lens Care Solutions. *Indian J Med Microbiol*, 35(1), 80-84.
- **Khan M., Stapleton F., Willcox MDP. (2020).** Susceptibility of Contact Lens-Related *Pseudomonas aeruginosa* Keratitis Isolates to Multipurpose Disinfecting Solutions, Disinfectants, and Antibiotics. *Translational Vision Science & Technology*, 9(5), 2.

- **Kilvington S. (2000).** Through a glass darkly – Contact lenses and personal hygiene. *Microbiology today*, 27, 66-69.
- **Koganti R., Yadavalli T., Naqvi RA., Shukla D., Naqvi AR. (2021).** Pathobiology and treatment of viral keratitis. *Experimental Eye Research*, 205, 108483.
- **Kostakioti M., Hadjifrangiskou M., Hultgren SJ. (2013).** Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor Perspect Med*, 3(4).
- **Kundukad B., Udayakumar G., Grela E., Kaur D., Rice SA., Kjelleberg S., Doyle PS. (2020).** Weak acids as an alternative anti-microbial therapy. *Biofilm*, 2, 100019.

### L

- **Lakhundi S., Siddiqui R., Khan NA. (2017).** Pathogenesis of microbial keratitis. *Microbial Pathogenesis*, 104, 97-109.
- **Lang GK. (2002).** Ophthalmologie : atlas de poche en couleurs. Paris: Maloine, 586 p.
- **Lavolette M., Meunier P. (2003).** L'entretien des lentilles cornéennes (1re partie). *Le Médecin du Québec*, 38(4), 105-113.
- **Lebeaux D., Ghigo JM. (2012).** Infections associées aux biofilms. Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ? *Med Sci (Paris)*, 28(8-9), 727-739.
- **Lee SE., Kim SR., Park M. (2015).** Oxygen permeability of soft contact lenses in different pH, osmolality and buffering solution. *International Journal of Ophthalmology*, 8(5), 1037-42.
- **Legname G. (2023).** Prions. *Encyclopedia of Cell Biology*, 2<sup>nd</sup> edition, 3, 450-462.
- **Legname G., Moda F. (2017).** The Prion Concept and Synthetic Prions. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 150, 147-156.
- **Lever OW., Groemminger SF., Allen ME., Bornemann RH., Dey DR., Barna BJ. (1995).** Evaluation of the relationship between total lens protein deposition and patient-rated comfort of hydrophilic (soft) contact lenses. *International Contact Lens Clinic*, 22(1-2), 5-13.
- **Lieleg O., Caldara M., Baumgärtel R., Ribbeck K. (2011).** Mechanical robustness of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Soft Matter*, 7(7), 3307-3314.
- **Lievens CW., Cilimberg KC., Moore A. (2017).** Contact lens care tips for patients, an optometrist's perspective. *Clin Optom*, 9, 113-121.

- **Lin A., Rhee MK., Akpek EK., Amescua G., Farid M., Garcia-Ferrer FJ., Varu DM., Musch DC., Dunn SP., Mah FS. (2018).** Bacterial Keratitis Preferred Practice Pattern®, *American Academy of Ophthalmology*, 126(1), 2-55.
- **Lorenzo-Morales J., Khan NA., Walochnik J. (2015).** An update on *Acanthamoeba* keratitis, diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite*, 22, 10.
- **Luensmann D., Jones L. (2012).** Protein deposition on contact lenses, The past, the present, and the future. *Contact Lens and Anterior Eye*, 35(2), 53-64.

### M

- **Ma LZ., Wang D., Liu Y., Zhang Z., Wozniak DJ. (2022).** Regulation of Biofilm Exopolysaccharide Biosynthesis and Degradation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Annu Rev Microbiol*, 76, 413-433.
- **Malet F., George MN., Vayr F. (2009).** Les lentilles de contact. Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux, Paris.
- **Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay DJ., Fatma T., Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol*, 24(1), 25-29.
- **Méar JB. (2014).** Étude de la modulation de la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* par *Candida albicans* dans un modèle de pneumonie. Th. Doct : Université Lille nord de France, Ecole doctorale biologie santé de Lille.
- **Menzies KL., Jones L. (2010).** The Impact of Contact Angle on the Biocompatibility of Biomaterials, *Optometry and Vision Science*, 87(6), 387-99.
- **Mordmuang A., Udomwech L., Karnjana K. (2021).** Influence of Contact Lens Materials and Cleaning Procedures on Bacterial Adhesion and Biofilm Formation. *Clin Ophthalmol*, 15, 2391-2402.
- **Moreddu R., Vigolo D., Yetisen AK. (2019).** Contact Lens Technology, From Fundamentals to Applications. *Advanced Healthcare Materials* 8, 1900368.
- **Morelli KA., Kerkaert JD., Cramer RA. (2021).** *Aspergillus fumigatus* biofilms: Toward understanding how growth as a multicellular network increases antifungal resistance and disease progression. *PLoS Pathog* 17(8): e1009794.

- **Morgan PB., Murphy PJ., Gifford KL., Golebiowski B., Johnson L., Makrynioti D., Moezzi AM., Moody K., Navascues-Cornago M., Schweizeri H., Swiderska K., Young G., Nichols JJ. (2013).** Deposition on Silicone Hydrogel Lenses. *Eye & Contact Lens, Science & Clinical Practice*, 39(1), 19-22.
- **Müller FMC., Seidler M., Beauvais A. (2011).** *Aspergillus fumigatus* biofilms in the clinical setting. *Medical Mycology*, 49(S1), S96-S100.
- **Musgrave CSA., Fang F. (2019).** Contact Lens Materials, A Materials Science Perspective. *Materials* (Basel), 12(2), 261.

### N

- **Nagoba B., Davane M., Gandhi R., Wadher B., Suryawanshi N., Selkar S. (2017).** Treatment of skin and soft tissue infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* —A review of our experiences with citric acid over the past 20 years. *Wound Medicine*, 19, 5-9.
- **Nasr RA., AbuShady HM., Hussein HS. (2012).** Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of *staphylococci*. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 13(3), 269-274.
- **Nichols JJ. (2013).** Deposition on Silicone Hydrogel Lenses. *Eye & Contact Lens*, 39(1), 20-23.
- **Nicolson PC., Vogt J. (2001).** Soft contact lens polymers, an evolution. *Biomaterials*, 22, 3273-3283.
- **Norouzi M., Niyiyati M., Behniafar H. (2022).** Microbial Biofilms as a Risk Factor for *Acanthamoeba* keratitis. *Novelty in Biomedicine*, 10(1), 37-42.

### O

- **Oli AK., Raju S., Nagaveni S., Kelmani Chandrakanth R. (2012).** Biofilm formation by Multidrug resistant *Enterococcus faecalis* (MDEF) originated from clinical samples. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(2).
- **Ouslimani S., Tafer L. (2015).** Etude comparative de l'activité antimicrobienne de quelques composés d'origine végétale, animale et synthétique testés individuellement et en

combinaison. Th. Master : Microbiologie Appliquée ,Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

### P

- **Patel C., Desai Z., Patel N. (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 (EJMCM)*, 9, 471-479.
- **Penesyana A., Paulsen IT., Kjelleberg S., Gillings MR. (2021).** Three faces of biofilms: a microbial lifestyle, a nascent multicellular organism, and an incubator for diversity. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 7(1), 80.
- **Pisella PJ., Baudouin C., Hoang-Xuan T. (2015).** Surface oculaire. *Société Française d'Ophthalmologie*.

### R

- **Rakow P. (2003).** Current contact lens care systems. *Ophthalmology Clinics of North America*, 16(3), 415-432.
- **Raksha L., Gangashettappa N., Shantala GB., Nandan BR., Sinha D. (2020).** Study of biofilm formation in bacterial isolates from contact lens wearers. *Indian J Ophthalmol*, 68(1), 23-28.
- **Roux A., Ghigo JM. (2006).** Les biofilms bactériens. *Bull. Acad. Vét. France*, 159(3), 261-268.

### S

- **Scalabrini M. (2019).** Etude de l'activité anti-bioadhésion de surfaces de verres greffées par des sucres furanosidiques rares, Th.doct: Université de Bretagne Sud.
- **Schalk O. (2017).** La contactologie à l'officine : complications liées au port des lentilles de contact et modalités d'entretien. Th doct : Pharmacie, Université de Lorraine.

- **Semaha S. (2020).** Les kératites infectieuses, manifestations cliniques et prise en charge. Th.doct : Sciences pharmaceutiques, Université d'Aix-Marseille.
- **Sengupta J., Saha S., Khetan A., Sarkar S. K., Mandal SM. (2012).** Effects of lactoferricin B against keratitis-associated Fungal biofilms. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 18(5), 698–703.
- **Sezgin Akcay BI., Kockar A., Limon U., Kardes E., Dogan Dursun A. (2022).** Comparison of Clinical and Topographic Outcomes of Hybrid and Scleral Lenses in Advanced Keratoconus. *Beyoglu Eye J*, 7(1), 59-65.
- **Shen EP., Tsay RY., Chia JS., Wu S., Lee JW., Hu FR. (2012).** The role of type III secretion system and lens material on adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* to contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53(10), 6416-26.
- **Squinazi F. (2013).** Biofilm et matériaux des réseaux intérieurs de distribution d'eau. Éd. 2013,1-52.
- **Stapleton F. (2020).** Contact lens-related corneal infection in Australia. *Clin Exp Optom*, 103(4), 408-417.
- **Steele KR., Szczotka-Flynn L. (2017).** Epidemiology of contact lens-induced infiltrates, an updated review. *Clin Exp Optom*, 100(5), 473-481.
- **Stoodley P., Sauer K., Davies DG., Costerton JW. (2002).** Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol*, 56, 187-209.
- **Subbaraman LN. (2009).** Protein Deposition and Bacterial Adhesion to Conventional and Silicone Hydrogel Contact Lens Materials. Th.doctorat (PhD) sciences de la vision, Université de Waterloo, Ontario, Canada.
- **Sugimoto S., Kinjo Y. (2023).** Instantaneous Clearing of Biofilm (iCBiofilm): an optical approach to revisit bacterial and fungal biofilm imaging. *Communications Biology*, 6(1), 8.
- **Szczotka-Flynn LB., Imamura Y., Chandra J., Yu C., Mukherjee PK., Pearlman E., Ghannoum MA. (2009).** Increased Resistance of Contact Lens-Related Bacterial Biofilms to Antimicrobial Activity of Soft Contact Lens Care Solutions. *Cornea*, 28(8), 918-926.

## T

- **Tabatabaei SA., Tabatabaei M., Soleimani M., Tafti ZF. (2018).** Fungal keratitis caused by rare organisms. *Journal of Current Ophthalmology*, 30(1), 91–96.

- **Țălu Ș., Țălu M., Giovanzana S., Shah RD. (2011).** A brief history of contact lenses. *Human & Veterinary Medicine - International Journal of the Bioflux Society*, 3(1), 33-37.
- **Thi MTT., Wibowo D., Rehm BHA. (2020).** *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Int J Mol Sci*, 21(22), 8671.
- **Tonge S., Jones L., Goodall S., Tighe B. (2001).** The *ex vivo* wettability of soft contact lenses. *Current Eye Research*, 23(1), 51-59.
- **Tremblay YD., Hathroubi S., Jacques M. (2014).** Les biofilms bactériens, leur importance en santé animale et en santé publique [Bacterial biofilms, their importance in animal health and public health]. *Can J Vet Res*, 78(2), 110-6.
- **Trognon J. (2022).** Développements d'inhibiteurs du Quorum Sensing pour le contrôle de la formation de biofilms complexes. *theses.fr*. École doctorale Sciences écologiques, vétérinaires, agronomiques et bioingénieries, Toulouse.

### U

- **Ueta M., Iida T., Sakamoto M., Sotozono C., Takahashi J., Kojima K., Okada K., Chen X., Kinoshita S., Honda T. (2007).** Polyclonality of *Staphylococcus epidermidis* residing on the healthy ocular surface. *J Med Microbiol*, 56, (Pt 1),77-82.
- **Ung L., Bispo PJM., Shanbhag SS., Gilmore MS., Chodosh J. (2019).** The persistent dilemma of microbial keratitis, Global burden, diagnosis, and antimicrobial resistance. *Surv Ophthalmol*, 64(3), 255-271.

### V

- **Veys J., Meyler J., Davies I. (2008).** Contact Lens Care. Essential Contact Lens Practice. The Vision Care Institute of Johnson & Johnson Medical Ltd.

### W

- **Wei Z., Wang S., Wang Z., Zhang Y., Chen K., Gong L., Li G., Zheng Q., Zhang Q., He Y., Zhang Q., Chen D., Cao K., Pang J., Zhang Z., Wang L., Ou Z., Liang Q. (2023).**

Development and multi-center validation of machine learning model for early detection of fungal keratitis. *EBioMedicine*, 88.

- **Wiley L., Bridge DR., Wiley LA., Odom JV., Elliott T., Olson JC. (2012).** Bacterial biofilm diversity in contact lens-related disease: emerging role of *Achromobacter*, *Stenotrophomonas*, and *Delftia*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53(7), 3896-905.
- **Williams RL., Levis HJ., Lacey R., Doherty KG., Kennedy SM., Kearns VR. (2019).** Biomaterials in Ophthalmology. *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, 1, 289-300.
- **Wu YT., Zhu H., Willcox M., Stapleton F. (2011).** The Effectiveness of Various Cleaning Regimens and Current Guidelines in Contact Lens Case Biofilm Removal. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52(8), 5287-92.

### Y

- **Yu B., Li C., Gu L., Zhang L., Wang Q., Zhang Y., Lin J., Hu L., Jia Y., Yin M., Zhao G. (2022).** Eugenol protects against *Aspergillus fumigatus* keratitis by inhibiting inflammatory response and reducing fungal load. *European Journal of Pharmacology*, 924.

### Z

- **Zantos PO., Titus CO. (1987).** Contact lenses. In: *Ophthalmic technology: a guide for the eye care assistant*. Rhode S. J., Ginsberg S. P. (eds.), pp. 341-359, Raven Press, New York, USA.

### Webographie :

**Anonyme, 2010:** [https://www.gralon.net/articles/materiel-et-consommables/materiel-medical/article-les-lentilles-de-contact---histoire-d-une-invention-4113.htm#google\\_vignette](https://www.gralon.net/articles/materiel-et-consommables/materiel-medical/article-les-lentilles-de-contact---histoire-d-une-invention-4113.htm#google_vignette)

# **Annexe**

**Tableau 01.** Résultats des ensemencements de *P.aeruginosa* sur les milieux sélectifs

Echantillons	Milieux	
	Cétrimide	MacConkey
L1	-	-
L2	+	+
L3	-	-
L4	-	-
L5	+	+
L6	-	-
L7	-	-
L8	+	+
L9	-	-
L10	+	+
L11	-	-
L12	-	-
L13	+	+
L14	-	-
L15	+	+
L16	-	-
L17	-	-
L18	+	+
L19	-	-
L20	-	-

Tableau 02. Tableau de lecture de la galerie API 20 NE

api® 20 NE

07615K - fr - 2009/11

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO <sub>3</sub>	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolore	rose-rouge
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptoPhane)	Zn / 5 min	
				incolore vert pâle / jaune	rose incolore
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse ( $\beta$ -glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl- $\beta$ -D- galactopyranoside	0,22	$\beta$ -galactosidase (Para-NitroPhényl- $\beta$ -D- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
[GLU]	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
[ARA]	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
[MNE]	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
[MAN]	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
[NAG]	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
[MAL]	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
[GNT]	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
[CAP]	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
[ADI]	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	transparence	trouble
[MLT]	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
[CIT]	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	trouble
[PAC]	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale notamment peptone bovine/porcine.

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

bioMérieux, le logo bleu, API et **apiweb** sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales. ATCC est une marque appartenant à American Type Culture Collection.

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



**bioMérieux SA**  
RCS LYON 673 620 399  
69280 Marcy-l'Etoile / France  
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
www.biomerieux.com

**bioMérieux, Inc**  
Box 15969,  
Durham, NC 27704-0969 / USA  
Tél. (1) 919 620 20 00  
Fax (1) 919 620 22 11  
Imprimé en France



**Tableau 03.** Efficacité de la solution d'entretien sur l'inhibition de la formation du biofilm formé par *Pseudomonas aeruginosa*

Activité anti adhésion					
Dilution UFC/mL	100%	80%	50%	20%	N <sub>0</sub> = 1x10 <sup>8</sup> UFC/ml
10 <sup>-1</sup>	36	87	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-2</sup>	-	-	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-3</sup>	-	-	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-4</sup>	-	-	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-5</sup>	-	-	Indénombrable	Indénombrable	

**Tableau 04.** Efficacité de la solution d'entretien sur l'éradication du biofilm formé par *Pseudomonas aeruginosa*

Eradication de biofilm					
Dilution UFC/mL	100%	80%	50%	20%	N <sub>0</sub> =1x10 <sup>8</sup> UFC/ml
10 <sup>-1</sup>	-	200	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-2</sup>	-	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-3</sup>	-	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-4</sup>	-	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable	
10 <sup>-5</sup>	-	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable	

**Tableau 05.** Efficacité de l'acide citrique sur l'inhibition de la formation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*

Test Souche	Concentrations de l'acide citrique			
	1%	2%	3%	Témoin
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	1x10 <sup>8</sup> UFC/mL

**Tableau 06.** Efficacité de l'acide citrique sur l'élimination de la formation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*

Test Souche	Concentrations de l'acide citrique			
	1%	2%	3%	Témoin
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	1x10 <sup>8</sup> UFC/mL