



**UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCCEN**  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
et des Sciences de la Terre et de l'Univers*  
**Département de Biologie**  
**Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au  
Biomédical et à l'Environnement**  
مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية للأغذية البيطرية و للبيئة



## **Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie**

**Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**Option : MICROBIOLOGIE**

*Présenté par :*

*Mme. Cherif Rajaa*

**Thème**

**Evaluation de la formation d'un biofilm chez des souches  
bactériennes isolées de lentille de contact.**

**Soutenu le 19/06/2014**

**Devant le Jury composé de :**

<b>Président : Dr REBIAHI S.A.</b>	Maitre de conférences classe B	Univ. Tlemcen
<b>Promotrice : Mme. HASSAINE H.</b>	Professeur	Univ. Tlemcen
<b>Examineur : Dr BARKAT S.</b>	Maitre de conférences classe B	Univ. Tlemcen

**Année Universitaire : 2013-2014**



**UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN**  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
et des Sciences de la Terre et de l'Univers*  
**Département de Biologie**  
*Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au  
Biomédical et à l'Environnement*  
**مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية للأغذية البيوتوبي و للبيئة**



## **Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie**

**Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**Option : MICROBIOLOGIE**

*Présenté par :*

*Mme. Cherif Rajaa*

Thème

**Evaluation de la formation d'un biofilm chez des souches  
bactériennes isolées de lentille de contact.**

**Soutenu le 19/06/2014**

**Devant le Jury composé de :**

<b>Président : Dr REBIAHI S.A.</b>	Maitre de conférences classe B	Univ. Tlemcen
<b>Promotrice : Mme. HASSAINE H.</b>	Professeur	Univ. Tlemcen
<b>Examineur : Dr BARKAT S.</b>	Maitre de conférences classe B	Univ. Tlemcen

**Année Universitaire : 2013-2014**

# ***RESUME***

## ملخص

البيوفيلم هو مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة المتشابهة بين بعضها البعض و اللاصقة على السطح. يمكن للبيوفيلم التشكيل على الأجهزة بيوطبية و ان تسبب التهابات العين.الهدف من هذه الدراسات هو اختبار قدرة البكتيريا المعزولة من العدسة على تشكيل البيوفيلم من خلال طريقة زراعة الأنسجة لوحة (TCP). من 13 بكتيريا 02 بكتيريا جد مكونة للبيوفيلم 05 بكتيريا متوسطة التكوين و 02 بكتيريا ضعيفة التكوين و 02 بكتيريا لا تكون البيوفيلم.البكتيريا المكونة للبيوفيلم المعزولة في دراستنا تنتمي إلى البكتيريا التي تشكل سبب رئيسي في الإصابات الحادة للعين. على النحو التالي:

*Serratia marcesens, Myroides chryseobactérium indologens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus xylosum et capitis*

## Résumé

Un biofilm est une communauté de microorganismes adhérant entre eux et fixés à une surface. Les biofilms peuvent se former sur implants biomédical et être à l'origine des infections oculaires. Le but de cette étude, est de tester la capacité de certaines bactéries Gram négatifs et positifs isolées à partir des lentilles de contacts à former un biofilm par la méthode de plaque de culture de tissus (TCP). Sur les 13 souches testées, 02 souches sont fortement productrices de biofilm, 05 souches sont des productrices modérées, 02 souches sont faiblement productrices et 02 souches ne forment pas de biofilm. Les souches productrices de biofilm isolées durant notre étude font partie des germes qui représentent une cause importante des infections oculaires sévères (Kératites) tel que : *Serratia marcesens, Myroides chryseobactérium indologens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus xylosum et capitis*.

## Abstract

A biofilm is a community of microorganisms to join together and attached to the surface. Can form biofilms on medical implants and vital cause eye infections. The purpose of this study is to test the ability of certain gram negative and positive lenses isolated from any contact with the biofilm formation by the method of tissue culture plate (TCP) bacteria. Of 13 strains tested, 02 strains were strong biofilm producers, 5 strains of moderate producers and 02 strains are low producing. The 02 strains are Lalla forments biofilms. Biofilm-producing strains isolated during the study is part of the bacteria that are a major cause of severe injury to the eye (keratitis) as follows: *Serratia marcesens, Myroides chryseobactérium indologens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus xylosum et capitis*

## *Remerciements*

Gloire à **Allah** seigneur du monde et que sa bénédiction soit sur le dernier des prophètes **Mohamed**(PSL) qui nous a permis d'atteindre notre objectif. Au terme de ce travail, Je dois Remercier particulièrement:

- Mon promoteur Mme **HASSAINE Hafida** née **TERKI HSSAINE.**, maitre de conférence classe A à l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, pour son encadrement et pour son appui ses conseils et ses orientations tout au long de ce travail. Je lui suis très reconnaissante pour son savoir faire ; ainsi que ses sympathies, simplicité, modesties et sa gentillesse.
  
- Monsieur **REBIAHI S.A.**, maitre de conférence classe A à l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur de présider ce Jury.
  
- Monsieur **BARKAT.S.**, maitre de conférence classe B à l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.
  
- J'adresse également un immense merci à tous les membres du laboratoire **L.A.M.A.A.B.E.** pour leur aide et leur soutien considérable.

Je dois également exprimer ma gratitude à:

- Les doctorantes Samia et Wafaa pour leurs aides au sein du laboratoire.
  
- Toutes mes amies et en particulier :Manel (amie de l'enfance), Imene, Sarah, Wassila, Bahia, Nabila.

Avec toute ma reconnaissance

***Cherif Rajaa***

## *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail à :

**A** mon grand trésor mon fils Imad Eddine qui ma donné une force énorme pour continué mes études et d'achevé se travail.

**A** mon Marie Abdelhafid pour son soutien ses conseils et ses encouragements toutes au long de mon parcours

**A** mon adorable et cher Maman : nulle dédicace ne peut exprimer ce que je dois pour tes sacrifices ta patience durant mes études, ton soutien moral. Ce travail n'est qu'un humble témoignage de mon grand et éternel amour. Que dieu tous puissant préserve ta santé et t'accorde longue vie.

**A** mon cher père Abdelmadjid : votre place et énorme de mon cœur vous m'avais donné l'amour la tendresse d'un père qui donne à sa fille vous avez remplacé le vide que j'avis vos encouragement vos conseil mon poussé d'aller loin je suis très reconnaissante de votre amour et que dieu tous puissant préserve votre santé et vos accorde longue vie.

**A** ma grand-mère Nadjia: ses prières et ses daaouate m'ont permis d'achevé mon travail. Que dieu t'accorde une longue vie.

**A** mes frères Chakib et Mohamed et leur femmes Naima et Amel.

**A** mes Sœurs zoubida et insafet leurs maries.

**A** mes nièces et neveux : Ghizlene et feriel, Bassim, Majid, Hayem, Housseem, Yassine, Zaineab, Meriem, Assia, Kawter, Abdelnour et le plus petit Abderrahmane.

**A** toute ma belle famille et je dédie en particulier ce travail à ma belle mère.

**A** toutes ma famille, oncles, tantes, cousin, cousine.

**A** toute ma promotion Microbiologie LMD et à tous mes professeurs qui m'ont appris avec cœur tous ce que je sais.

# Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>01</b>
<b>Partie I : Synthèse Bibliographique</b>	
<b>I- lentilles de contacts.....</b>	<b>03</b>
1. Définition.....	03
2. les différents types de lentilles de contacts.....	03
2.1 Lentille souple.....	03
2.2 Lentille rigide perméable au gaz.....	04
2.3 Lentille souple protéique.....	05
2.4 Lentille thérapeutique.....	05
3. hygiène et entretien des lentilles de contacts.....	05
4. Matériaux des lentilles souples.....	06
5. Les risques infectieux liés au port des lentilles de contacts.....	07
5.1 Les agents transmissibles conventionnels (ATC).....	07
5.2 Facteurs de risques.....	09
<b>II. Biofilm sur les lentilles de contacts.....</b>	<b>09</b>
1. complication du port des lentilles de contacts.....	09
2. biofilm.....	11
2.1 Historique.....	11
2.2 Définition.....	11
2.3 Observation du biofilm.....	12
2.4 Les étapes de formation le biofilm.....	12
2.4.1 Film primaire.....	12
2.4.2 Le transport de la bactérie vers son support.....	13
2.4.3 L'adhésion des bactéries au support.....	13
2.4.4 La formation de micro colonies.....	14
2.4.5 Maturation du biofilm.....	14
2.4.6 Dispersion du biofilm.....	15
2.5 Résistance de biofilm aux antibiotiques.....	15
<b>Matériel et méthode</b>	
1. Lieu d'étude.....	17

2.	Prélèvement et ensemencement.....	17
3.	Cultures des prélèvements oculaires.....	17
4.	Isolement et purification.....	18
5.	Identification par des tests biochimiques : Galerie Api 20E / Galerie Api Staph.....	18
5.1	Identification à la coloration de gram.....	18
5.2	Lecture et interprétation.....	19
6.	Antibiogramme.....	19
6.1	Principe.....	19
6.2	Technique.....	19
6.3	Lecture.....	20
7.	Evaluation de la formation du biofilm.....	21
7.1	Méthode de plaque de culture de tissus(TCP).....	21
7.2	Technique.....	21
7.3	Lecture.....	21
<b>Résultat et discussion</b>		
1.	Prélèvement.....	23
2.	Répartition des souches.....	25
3.	Résistance aux antibiotiques.....	29
4.	Résultats de l'évaluation de la formation du biofilm.....	30
<b>Conclusion</b> .....		33
<b>Références Bibliographiques</b> .....		35
<b>Annexes</b> .....		41



## LISTE DES ABREVIATIONS

**ADH** : Arginine Dihydrolase

**ATC** : Agent transmissible conventionnel

**BHIB** : Bouillon cœur cerveau

**CT** : Colistine

**CCE** : teneur en eau à l'équilibre

**CIT** : Citrate

**DK** : Perméabilité d'oxygène.

**EPS** : Exopolysaccharide

**GEL** : Gélatine

**h** : Heure

**H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'hydrogène

**HEMA** : Hydroxyéthyl- méthacrylate

**MH** : Mueller Hinton

**NaCl** : chlorure de sodium

**NOR** : Norfloxacin

**ODC** : Ornithine

**OFX** : Ofloxacin

**PBS** : Tampon phosphate salin

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**SXT** : Triméthoprime

**TCP** : Plaque de Culture de tissus

**TE** : Tétracycline

**UFC** : Unité formant colonie

**URE** : Urée

**VP** : Vosges Proskauer

## Liste des figures

**Figure 01** : Représentation schématique des différentes étapes du développement d'un biofilm bactérien

**Figure 02** : disposition des disques d'antibiotiques pour des bactéries à Gram négatif.

**Figure 03** : Lecteur de microplaque (Lecteur ELIZA).

**Figure 04**: Répartition des prélèvements.

**Figure 05** : Résultats de l'identification bactérienne

**Figure 06** : Photos représentative des souches à Gram positive isolées de lentilles de contacts (L.A.M.A.A.B.E).

**Figure 07** : Répartition des souches à Gram positif isolées des lentilles de contacts.

**Figure 08** : Photo représentative des souches à Gram négative isolées des lentilles de contacts (L.A.M.A.A.B.E).

**Figure 09**: Etat de résistance aux antibiotiques des souches à Gram négative isolées des lentilles de contacts.

**Figure 10** : Photo d'antibiogramme des souches de *Myroides chryseobactérium indologens*

**Figure 11** : Photo d'antibiogramme de la souche *Serratia marcesens*.

**Figure 12** : Etude de la formation du biofilm des souches testées.

## **Liste des tableaux**

**Tableau 1** : Résultats des prélèvements effectués au labo L.A.M.A.A.B.E de Tlemcen.

**Tableau 2** : Résultats positif des prélèvements.

**Tableau 3** : Résultats de la formation de biofilm des souches étudiées par la méthode de TCP.

# ***INTRODUCTION***

La vue est un élément essentiel dans la vie de l'être humain, elle lui permet de percevoir en permanence le monde extérieur et de s'y mouvoir, instrument d'une grande précision, l'œil est un organe complexe et fragile, susceptible à des affections plus ou moins graves.

Des études épidémiologiques réalisées depuis 1950 montrent une augmentation des kératites d'origine microbienne entre 1950 (2,5 pour 100 000 habitants) et 1998 (11 pour 100 000 habitants). Cette recrudescence des infections de la cornée est une grande partie due au port des lentilles de contact. **(Bialasiewicz, 1996).**

Le port de lentille de contact est un corps étranger introduit dans l'œil toute faute d'asepsie peut entraîner des complications sérieuses. Lors de la manipulation par les doigts, la lentille peut apporter de nombreux germes au niveau de la cornée et même le mauvais nettoyage peut être l'origine d'une infection. La simple présence de la lentille modifie les moyens de défenses de l'œil en modifiant la circulation des larmes et provoquant une érosion mécanique de l'épithélium cornéen. Pour toutes ces raisons, le port de lentille de contact est la première cause de kératite infectieuse **(Bialasiewicz, 1996).**

C'est dans les années 30 que les premiers travaux consacrés à la colonisation par des bactéries des surfaces inertes en contact avec des liquides ont débuté.

En effet 65% des infections bactériennes chez l'homme implique des biofilms **(Chicurel, 2000)**. Les biofilms peuvent se former au niveau des implants des lentilles de contact, et attaquent des tissus corporels comme les yeux **(Costerton *et al.*, 1999)**.

Les microorganismes (bactéries, champignons) qui sont attachés à une surface, sont organisés en communauté structurés, et englobés dans une matrice d'exopolysaccharide. Ce mode de développement, appelé biofilm, a pris une importance toute particulière lorsqu'il a été établi qu'il était impliqué dans un grand nombre d'infection bactérienne **(Filooux *et al.*, 2003)**.

***SYNTHESE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

## Chapitre I : Les lentilles de contacts

### 1. Définition

Les lentilles de contacts sont les plus largement utilisées dans le monde. Elles sont clairement définies comme un dispositif biomédical optique souple ou rigide transparent en forme de disque, destinée à être placée au contact de la cornée pour la correction des défauts de la vision (réfraction) (Bohnert *et al.*, 2000).

La lentille de contact corrige le trouble de la réfraction à un niveau plus proche de son origine que les lunettes d'où un meilleur résultat optique. Elle modifie moins la taille des images. Les lentilles sont plus esthétiques que les verres traditionnels, et permettent également plus d'aisance pour pratiquer un sport.

Les lentilles peuvent avoir des propriétés chimiques différentes telles :

- La perméabilité à l'oxygène (DK) : c'est le taux du flux d'oxygène qui passe à travers le matériau d'une lentille par unité de surface et par unité de temps. Avec une perméabilité à l'oxygène forte, la tolérance sera meilleure.
- La teneur en eau : l'adhérence des dépôts est plus forte sur les matériaux plus riches en eau.
- L'ionocité : c'est la proportion en ions présente dans les matériaux ioniques présentant une meilleure mouillabilité, un meilleur confort mais favorisent les dépôts protéiques avec un risque d'encrassement de la lentille (Savin, 2003).

### 2. Les différents types de lentille de contact :

#### 2.1 Lentilles souple :

Apparu en 1963, leur développement est fulgurant depuis les années 70, elles représentent actuellement plus de 80% du marché (Syffoc, Sofres 2002).

Le matériau de ces lentilles de contact est souple et flexible. Ces lentilles sont plus confortables. Leur perméabilité à l'oxygène dépend de leur contenu en eau qui peut s'étendre de 36 à 85%. Plus la lentille contient de l'eau plus la perméabilité à l'oxygène est bonne. Mais elle sera toujours inférieure à celle obtenue avec les lentilles rigides perméables à l'oxygène. Leur diamètre est de 12,5 à 16 mm. Il est plus grand que celui des lentilles rigides et ne permet

pas de va et vient de la lentille lors du clignement des paupières. Les larmes ont donc plus de mal à circuler sous la lentille ce qui expose la cornée au risque d'hypoxie (**Earith, 1996**).

Il existe plusieurs modes de port pour les lentilles souples : les trimestrielles changées (tous les 3 mois) ; les jetables mensuelle changées chaque mois. Les bi mensuelles changées tous les 15 jours, les hebdomadaires changées tous les semaines et les quotidiennes changées tous les jours (**Fontegne et al., 2000**).

L'utilisation des lentilles souples hydrophiles sont plutôt prescrites pour des motifs esthétiques ou sportifs ou encore pour des amétropies faibles ou en cas de fragilité cornéenne.

Du faite que les lentilles souples sont souvent indiquée lors : d'une intolérance aux lentilles rigides, d'une myopie ou hypermétropie forte, dans les milieux poussiéreux : le bord de la lentille est plaqué contre la surface oculaire et ou les particules se glissent difficilement en dessous.

Neomains les lentilles souples peuvent être contre indiquée pour : les maladies auto immune et le diabète car ces pathologies présentent un terrain fragile est plus propice aux infections. (**Fontegne et al.,2000**).

### **2.2 Lentilles rigides perméables à l'oxygène :**

Elles représentent 7% du marché des lentilles, leur diamètre et plus petit que celui des lentilles souples : 9,5 à 10 mm La lentille rigide ne recouvre que les 2/3 de la cornée ce qui favorise le passage des larmes (**Syffoc, Sofres 2002**).

L'Utilisation de ces lentilles rigides sont indiquées dans le cas d'une intolérance aux produit d'entretien (irritation ; allergie) ou lorsqu'on craint un manque d'hygiène ou bien on est face à une insuffisance lacrymale ou lors d'un traitement à l'isotrétinoïne (Roaccutane) (**Fontegne et al.,2000**).Ces lentilles ne doivent pas être porté de façon occasionnelleet elles représentent une meilleure tolérance oculaire que les lentilles souples.

Actuellement les lentilles rigides corrigent les myopies ; hypermétropie, les astigmatismes et les kératocônes, certaines sont visées thérapeutique.

Cependant les lentilles rigides sont souvent contre indiqués pour : les infections palpébrales, conjonctivales et cutanées (**Bonnet ,1996**).



### 2.3 La lentille souple prothétique :

Elle est utilisée dans le but principalement esthétique et n'apporte pas forcément de correction oculaire. On retrouve dans cette catégorie les lentilles colorées : « de multiples couleurs pour un effet très naturel », il existe même des lentilles de déguisement.

Il est important de rappeler que la lentille de contact n'est pas un accessoire comme les autres c'est un corps étrange posé directement sur la cornée. Banaliser le port des lentilles de contact, c'est prendre le risque de voir se multiplier des complications (**Lang, 2002**).

### 2.4 La lentille thérapeutique :

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

Elle permet aussi l'administration locale de médicament car elle peut stocker et libérer les molécules actives de façon lente.

Enfin, elle permet aussi de donner un aspect normal à un œil non fonctionnel (exemples : albinisme ; cataracte inopérable) (**Lang, 2002**).

## 3. Hygiène et entretien des lentilles de contacts :

Une récente étude épidémiologique a confirmé que la mauvaise hygiène des lentilles de contacts est fortement associée à l'infection de la cornée (**Stapleton et al ., 1962**), et à des complications oculaire (**Bates et al ., 1989**).

Il est donc important que les porteurs de lentilles de contact effectuent une pratique efficace de l'hygiène pour minimiser la contamination. L'entretien des lentilles est rapide et facile ; elle a pour objectifs d'éviter la formation des dépôts (lipides, protéines et impuretés) sur la lentille et d'éliminer les risques infectieux (présence de germes) tout en respectant la physiologie oculaire (**Gray et al ., 1995**). L'entretien en général doit se faire tous les soirs et se compose de 3 étapes

- Nettoyage par massage de la lentille pendant 20 secondes avec le produit d'entretien (uniquement pour les lentilles souples), pour réduire le nombre de germes et éliminer les dépôts de surface de façon à éviter tout problème infectieux.

## 5. Les risques infectieux liés au port des lentilles de contacts :

### 5.1 Les agents transmissibles conventionnels (ATC) :

Ils peuvent provoqués des kératites infectieuses chez le porteur de lentille de contact.

- **Les infections fongiques :**

Elles sont très rares, surtout liées à une mauvaise hygiène, les champignons les mycéliens peuvent se fixer sur les lentilles souples. L'encrassement des lentilles ainsi la contamination des étuis favorise la prolifération des champignons (acrémonium) plus rarement les levures (*Candida*) (**Wilhemus et al., 1988**).

- **Les infections amibiennes :**

*Acanthamoeba* est une amibe ubiquitaire, responsable des kératites assez rare mais grave avec ulcère de cornée, survenant le plus souvent chez un porteur de lentilles souples.

L'infection est favorisé par la contamination microbienne des boitiers ainsi que par rinçage des lentilles à eau du robinet, ou la baignade avec les lentilles « (**Cardine et al., 2002**) ; (**Radford et al., 2002**) ».

- **Les infections virales :**

Certain virus, adénovirus, herpès, HIV, sont susceptible d'être transmis d'un patient à un autre par l'intermédiaire de lentille d'essais multi patient. Par ailleurs le port des lentilles est un facteur aggravant une infection virale évolutive.

- **Les infections bactériennes :**

Elles sont les plus fréquentes, la flore commensale du cul de sac conjonctival est modifiée par la présence d'une prothèse avec prédominance de bacille à gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcesens*), d'où le risque d'infection et plus particulièrement sur des lentilles souples hydrophiles (**Stern, 1998**).

Les germes les plus souvent responsables des kératites bactériennes sont : *Serratiamarcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ; *Staphylococcus epidermidis*, plus rarement les *Bacillus* (**Levey et al., 1996**).

- ***Serratia marcesens* :**

Les *Serratia* sont des entérobactéries VP (positif) ; ils sont longtemps considérés comme un saprophyte, mais *Serratia marcescens* se comporte de plus en plus souvent comme un

pathogène opportuniste responsable, d'infections nosocomiales, et des kératites chez les sujets porteurs de lentilles de contact. *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* sont souvent des agents de contamination le plus souvent retrouvé dans des collyres mal conservés et contaminés (**Marchal et al., 1982**).

- ***Pseudomonas aeruginosa* :**

*Pseudomonas aeruginosa* est un des microorganismes les plus difficiles à éradiquer. Ce bâtonnet gram négatif produit une enzyme : la collagénase qui détruit littéralement la cornée. C'est un organisme ubiquitaire ayant la facilité de vivre dans un environnement pauvre en nutriment. Boles (1990) a montré que *Pseudomonas aeruginosa* s'attache facilement à des lentilles neuves. Il a également été démontré que les dépôts de protéines sur les lentilles facilitent l'adhérence de *Pseudomonas* aux lentilles (**Butrus, 1990**).

Cette espèce microbienne semble particulièrement résistante aux antibiotiques, et plus spécifiquement sous forme de biofilm dans les infections oculaires « (**Stapleton et al., 1990**), (**Durin et al., 1994**) ».

- ***Staphylococcus aureus* :**

Appelé couramment staphylocoque doré en raison de la couleur des colonies bactériennes observées en milieu gélosé. Ce coque à gram positif et un organisme ubiquitaire est souvent impliqué dans divers infections et peut causer des dommages extensifs par sa résistance aux antibiotiques « (**Chalupa et al., 1987**), (**Durin et al., 1994**) ». Cette espèce exprime de nombreux facteurs de virulence tels que la sécrétion de toxines ou la résistance au système immunitaire, mais également sa capacité à former des biofilms très mucoïdes lui permettant de devenir un pathogène opportuniste (**Fey et al., 2010**).

- ***Staphylococcus epidermidis* :**

*Staphylococcus epidermidis* est une cause majeure de kératites infectieuses associées au port de verres de contact. Selon Fleiszig et Evans, l'adhésion de *Staphylococcus epidermidis* au port de lentilles de contact est modulée par plusieurs facteurs dont le phénotype du microorganisme et les solutions utilisées (**Durin et al., 1994**).

### 5.2 Les facteurs de risques :

Ils peuvent être classés selon des facteurs modifiables (type de lentilles, entretien, type de port) et non modifiables (sexe, âge, amétropie) « (Dart *et al.*, 1991) ; (Stapleton *et al.*, 2008) ».

- Les facteurs favorisant la survenue d'une infection sous les lentilles sont des facteurs propre au porteur tel que déficience immunitaire, une sécheresse oculaire et ou une blépharite chronique, enfin toutes ces maladies doivent être recherchés avant toute pose de lentille par un examen médical (Liesegang, 1997).
- Une mauvaise hygiène du patient est parfois liée à une information déficiente sur les règles élémentaires de entretien des lentilles, l'information et l'éducation des porteurs de lentilles doit accompagner avec toute première adaptation.
- Le non respect de consigne de port, en particulier port trop prolongé ou le port permanent des lentilles souples est un facteur favorisant le risque infectieux.
- La contamination microbienne des produits d'entretien, liée à une activité antiseptique insuffisante, ainsi qu'à un délai d'utilisation trop prolongé après ouverture (rôle des normes) (Schein *et al.*, 1994).
- Le type de lentille ainsi que le support qui peuvent faciliter l'adhésion de certain germes et provoquer la formation du biofilm et par conséquent des infections oculaires divers.

## Chapitre II : Biofilm sur les lentilles de contacts

### 1. Complications du port des lentilles de contact

La classification la plus utilisée pour décrire les accidents liés au port de lentilles de contact est celle de Spikler (1991). Elle repose sur la gravité potentielle et décrit les complications non significatives, les complications significatives et les complications graves :

- Les complications non significatives sont le plus souvent asymptomatiques et ont un retentissement modéré. Elles ne nécessitent pas l'arrêt immédiat du port des lentilles.
- Les complications significatives regroupent les complications inflammatoires, allergiques, hypoxiques Les agents transmissibles conventionnels (ATC)

traverser une épaisse couche constituée d'exopolysaccharides et des protéines à fin de pouvoir atteindre leurs cellules-cible (**Donlan, 2002**).

les EPS sont chargés négativement et fonctionnent comme une résine d'échange ionique qui est capable de lier un grand nombre de molécules d'antibiotique qui essaient d'atteindre les cellules incorporées dans un biofilm (**Thein et al., 2001**)

➤ La seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm, dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides et pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'antibiotique (**Stewart et al., 2001**).

➤ Enfin, la dernière hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms et dont les micro-organismes constitutifs pourraient présenter des formes plus résistantes et sur l'explication de l'antibiorésistance (**Drenkard et al., 2002**).

Ces trois hypothèses reposent sur la nature communautaire et multicellulaire du biofilm. La plupart des spectres antibiotiques ont été étudiés sur des formes planctoniques, et doivent maintenant être étudiés sur des modèles de biofilms plus complexes. Ainsi, de nouvelles concentrations minimales d'inhibition, ainsi que de nouvelles associations médicamenteuses doivent être envisagées.

Les recherches actuelles essaient d'envisager des molécules capables de rompre ou d'empêcher la formation de la matrice polysaccharidique, voire d'agir sur les signaux de différenciation du « quorum sensing ».

***MATERIELS ET  
METHODES***

### 1. Lieu d'étude :

Cette étude a été réalisée au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement (L.A.M.A.A.B.E), Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen.

Celle-ci vise à évaluer la contamination d'un groupe de porteurs de lentilles jetables sur une période de 3 mois, un groupe de porteurs de lentilles à port de 1 mois et un groupe de porteurs de lentilles à port prolongé.

Aucun critère n'a été pris en considération, le groupe de volontaire a été pris de façon aléatoire chez des opticiens, ces derniers viennent pour changement de lentilles

### 2. Prélèvement et ensemencement :

Lors de nos visites chez les opticiens, les lentilles sont prélevées de façon aseptique chez des personnes volontaires, mises immédiatement dans leurs étuis et sont ramenés dans les heures qui suivent au laboratoire pour être analysés.

Au laboratoire les différentes lentilles sont mises dans 5 mL d'eau physiologique stérile et subissent une sonication de 3 min pour décrocher en douceur les bactéries attachées à leurs surfaces. Après sonication, une agitation mécanique par vortex est nécessaire pour homogénéiser le contenu du tube.

### 3. Cultures des prélèvements oculaires :

Les bactéries recueillies dans le tube sont de suite ensemencées sur différents milieux

- **Milieu de Mac Conkey** pour l'isolement des bactéries à Gram négatifs grâce à l'action de deux inhibiteurs le cristal violet (inhibition de la flore Gram-positif) et les sels biliaires (sélection des entérobactéries). La fermentation du lactose en acide est révélée en présence de rouge neutre par la formation de colonies roses ou rouges. Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores (**Joffin *et al.*, 2001**).

- **Milieu de Chapman** est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*. Ce milieu contient de fortes concentrations en chlorure de sodium ( $75 \text{ g/L}^{-1}$ ), ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* tolérant les fortes concentrations en NaCl.

La fermentation du mannitol peut être également étudiée par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol, autour des colonies (Joffin *et al.*, 2001).

#### **4. Isolement et purification :**

Après incubation des milieux, on procède à la purification des colonies bactériennes par ré-isolement sur deux milieux Mac Conkey et Chapman afin d'obtenir des souches pures à identifier.

#### **5. Identification à la coloration de gram**

La coloration de Gram est utile pour fournir les informations préliminaires sur les microorganismes en présence.

##### **5.1 Identification par des tests biochimiques : Galerie Api 20E / Galerie Api Staph**

###### **❖ Galerie Api Staph**

Api staph est un système d'identification des genres *staphylococcus* et *Micrococcus* comportant des tests biochimiques standardisés et miniaturisés et une base de données spécifique.

###### **❖ Galerie Api 20 E**

Api 20 E est un système pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacille Gram-négatifs non fastidieux. Utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données spécifique.

La galerie API 20 E/ API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée.

Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

A partir d'une culture de 18h,ensemencée sur boîtes, prendre à l'aide d'une pipette pasteur une colonie isolée de la souche à étudier, puis introduire la colonie dans 4ml d'eau physiologique stérile ; vortexer la suspension bactérienne. Ensuite répartir de l'eau distillée Stérile dans les alvéoles que comporte le fond de la galerie afin de créer une atmosphère humide.



Après en ouvre et en dépose stérilement la galerie dans la boîte d'incubation humidifiée. A l'aide d'une pipette Pasteur, introduire la suspension dans les cupules de la galerie, en évitant la formation de bulles, pour les caractères soulignés « tels que ADH, URE », remplir les cupules d'huile de paraffine et pour les caractères encadrés « tels que CIT », remplir cuve et cupules de suspension bactérienne. Et enfin Incuber 24h à 37°C.

### 5.2. Lecture et interprétation

Après l'incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (**Annexe 1**).

## 6. Antibiogramme

### 6.1 Principe :

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro et de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire, ou résistant). Il est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration obtenu par diffusion à partir de disques dans un milieu gélosé « Mueller-Hinton » (**CASFM, 2013**).

Mueller-Hinton est un milieu de base non sélectif pour la culture des bactéries, relativement riche, mais qui reste un milieu de base qui permet la culture des bactéries non exigeantes.

### 6.2 Technique :

#### ❖ Préparation de l'inoculum :

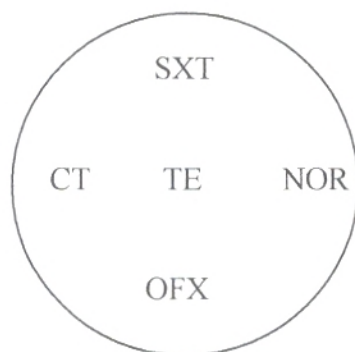
- Réaliser une suspension en ensemencant 5 ml de bouillon de BHIB par 3 à 4 colonies de morphologie similaire à partir d'un milieu non sélectif.
- Incuber 3 à 5h sous agitation à 37°C. La culture obtenue doit être de  $10^8$  UFC/mL soit de densité optique 0.08-0.1 à une longueur d'onde de 625nm.

### ❖ **Ensemencement :**

- Diluer la suspension inoculum au 1/100( $10^6$  UFC/mL) pour les bactéries à Gram négatif dans de l'eau physiologique.
- Ensemencer par écouvillonnage la suspension sur le milieu préalablement coulée par 20 mL de Mueller- Hinton.

### ❖ **Application des disques :**

- Déposer les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile (figure 02). Les antibiotiques utilisés sont les suivants : Colistine, Ofloxacin, Norfloxacine, Tétracycline, Triméthoprime.



**Figure 02 : disposition des disques d'antibiotiques pour des bactéries à Gram négatif.**

### **6.3 Lecture :**

Après 24 heures d'incubation on mesure les diamètres d'inhibition en se référant aux valeurs critiques qui permettent de définir si la souche est sensible (S), résistante (R), ou intermédiaire (I) (**Annexe 5**).

1. Les souches catégorisées **S** sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte.
2. Les souches catégories **R** sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique.

### 7. Evaluation de la formation du biofilm :

#### 7.1 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP) :

Le test de TCP décrit par **Christensen *et al.*, 1985** permet une évaluation semi quantitative de la formation de biofilm.

#### 7.2 Technique:

A partir d'une boîte de culture de 24h,ensemencer une colonie dans 10ml de bouillon BHIB supplémenté de 2% de saccharose puis incubé à 37°C pendant 18h.

On effectue une dilution au 1/100 pour les bactéries à Gram négatif et 1/10 pour les bactéries à Gram positif avec du milieu frais (BHIB) et on remplit les puits d'une plaque de 96 puits avec 0.2mL de cette dilution ainsi que de 0.2 mL de bouillon de culture (BHIB) stérile qui servira de témoin.

Les microplaques sont ensuite incubées pendant 18 heures à 37°C. Une fois que le contenu de chaque puits soit enlevé délicatement en tapotant la plaque, les puits sont lavés quatre fois avec 0,2 ml de tampon phosphate salin (PBS pH 7,2) afin d'éliminer les bactéries libres flottant (planctonique). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles dans la plaque sont fixés avec de l'acétate de sodium (2%) pendant 15 min et colorés avec du cristal violet (0,1 % p/v) pendant 5 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 afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (**Stepanovic *et al.*, 2000**).

#### 7.3 Lecture :

Les puits sont remplis d'éthanol et la lecture de la DO de chaque puits est réalisée à l'aide d'un lecteur ELISA



**Figure 03: Lecteur de microplaque (Lecteur ELIZA).**

La formation de biofilm est considérée comme positive lorsqu'il y a la présence d'un film au fond de tube, la lecture des souches testées à former le biofilm sur microplaque se fait par comparaison de la DO du témoin à celle des souches étudiées.

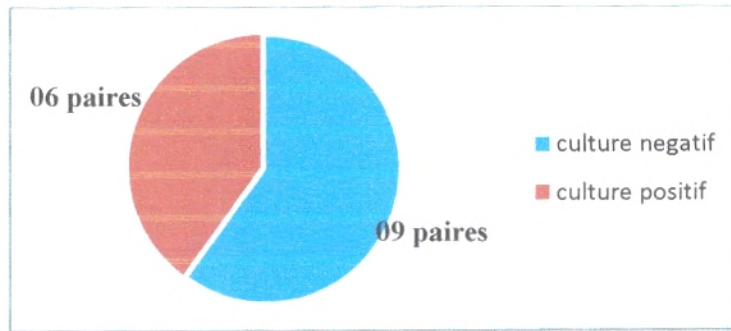
Les souches sont classées dans les catégories suivantes

$DO_1 \leq 2 \text{ DOT}$	Négatif
$2T \leq DO \leq 4T$	Modéré
$DO \geq 4T$	Formatrice

***RESULTATS ET  
DISCUSSIONS***

**1. Prélèvements:**

15 paires de lentilles de contacts ont été analysé, dont 09 paires n’ont pas permis de mettre en évidence des colonies bactériennes présentant de ce fait une culture négative. Les 06 paires restantes ont toutes présenté des cultures positives ou 13 souches bactériennes ont été isolées et identifiées (**figure 4**).



**Figure 04: Répartition des prélèvements.**

**Tableau 1 : Résultats des prélèvements effectués au labo L.A.M.A.A.B.E de Tlemcen**

Prélèvements	Résultats (Gram (-) / Gram(+))		Durée
P1a	Culture negative		01 mois
P1b	Culture negative		
P2a	Culture negative		02 mois
P2b	Culture negative		
P3a	Culture negative		06 mois
P3b	Culture positive	Culture positive	
P4a	Culture positive	Culture positive	01 ans
P5a	Culture positive	Culture positive	01 ans
P6a	Culture positive	Culture positive	01 ans
P7a	Culture negative		01 mois
P7b	Culture negative		
P8a	Culture negative		03 mois

## Résultats et Discussions

P8b	Culture negative		03 mois
P9a	Culture negative		03 mois
P9b	Culture negative		
P10a	Culture positive	Culture positive	06 mois
P10b	Culture negative	Culture positive	
P11a	Culture negative		01 mois
P11b	Culture negative		
P12a	Culture negative		01 mois
P12b	Culture negative		
P13a	Culture negative		01 mois
P14a	Culture negative	Culture positive	06 mois
P14b	Culture negative	Culture positive	
P15a	Culture negative		01 mois
P15b	Culture		

**P : Personnes    Pa : œil droite ; Pb : œil gauche**

Les 15 paires de lentilles récupérées des 15 personnes volontaires ont présentent des cultures variables, selon le tableau 1 on constate que 06 personnes ont présentent une culture positive sur leurs lentilles (œil droite et gauche).

Cependant, on constate que pour la personne P3bseule une lentille a donné une culture positive.

Chez 9 personnes la culture de leurs lentilles était négative et tous les portaient moins de 06 mois.

Semblerait être que la durée de portage des lentilles est un facteur favorisant leurs contaminations.

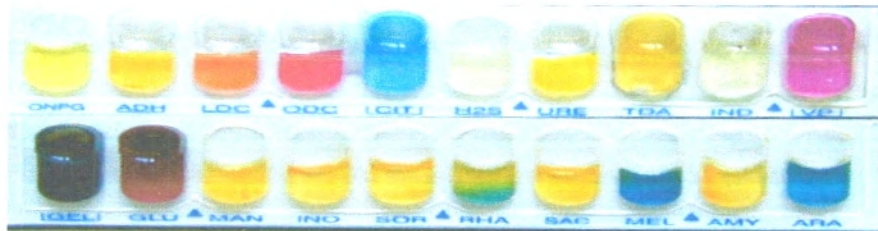
2. Répartition des souches isolées

Tableau 2 : Résultats positif des prélèvements.

Prélèvement	Résultats		Durée
P3b	<i>Myroides chryseobacterium indologenes</i>	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus warneri</i>	06 mois
P4a	<i>Myroides chryseobacterium indologenes</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>	01 ans
P5a	<i>Serratia marcesens</i>	<i>Kocuria varians/ rosea</i>	01 ans
P6b	<i>Myroides chryseobacterium indologenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	01 ans
P10a	<i>Serratia plymuthyca</i>	<i>Bacillus</i>	06 mois
P10b	Culture négative	<i>Staphylococcus xylosus</i>	06 mois
P14a	Culture négative	<i>Staphylococcus aureus</i>	06 mois
P14b	Culture négative	<i>Staphylococcus capitis</i>	06 mois

On remarque selon le tableau 2 que la contamination des lentilles par *Myroides chryseobacterium indologenes* est toujours associée à la présence du genre *Staphylococcus* d'où l'intérêt de connaître et d'étudier les contaminations mixtes sur dispositif.





*Serratia marcescens*



*Staphylococcus hominis*



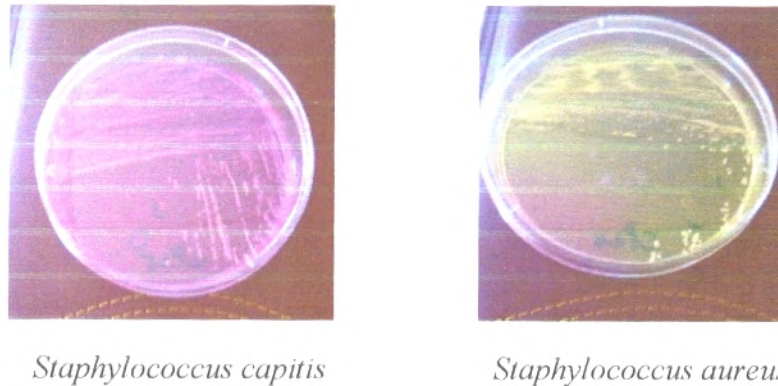
*Staphylococcus xylosum*



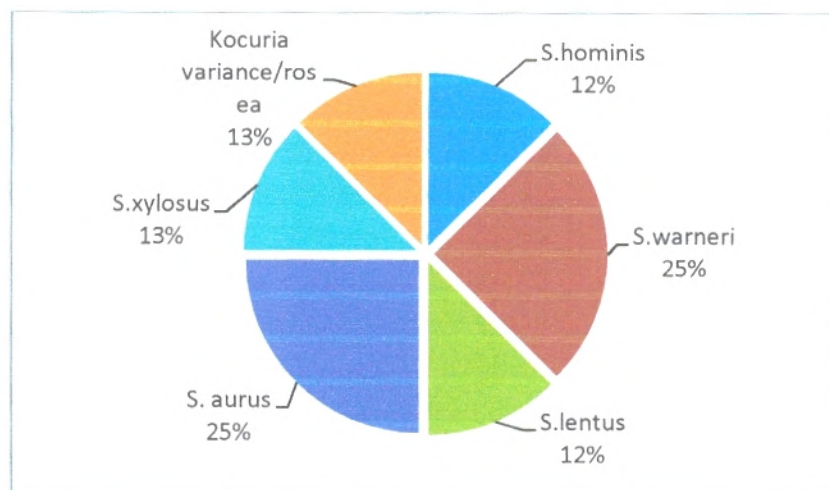
*Staphylococcus warneri*

**Figure 05: Résultats de l'identification bactérienne.**

Après ensemencement et purification et identification des cultures positives, on constate (le tableau2) que la majorité des lentilles était colonisées par des bactéries à Gram positive du genre *Staphylococcus* ; on retrouve principalement *Staphylococcus hominis* ; *Staphylococcus capitis* ; *Staphylococcus lentus* et aussi *Staphylococcus warneri* et *S.aureus* d'autre part ont retrouve d'autre souches dites : *kocuria variance rosea*, et même *bacillus*.



**Figure 06 : Photos représentative des souches à Gram positive isolées de lentilles de contacts (L.A.M.A.A.B.E).**



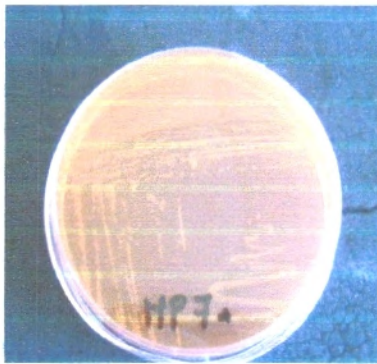
**Figure 07 : Répartition des souches à Gram positif isolées des lentilles de contacts.**

Cette contamination pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs selon l'étude de **Radford en 1993** un mauvais entretien du boîtier à lentilles serait responsable de 72 % des contaminations. Le manque d'entretien des boîtiers pour lentilles de contact est un problème majeur car le risque de kératite microbienne est multiplié par 4 quant celui-ci n'est pas nettoyé correctement (**Wu Y, 2010**). Il est recommandé de nettoyer le boîtier quotidiennement avec le produit d'entretien prescrit et de laisser sécher complètement le boîtier à l'air avant de stocker ses lentilles de contact (**Wu YT, 2010**). Il a été démontré que les boîtiers sont contaminés par des bactéries dans 77 % des cas et par des amibes dans 8 % des cas (**Gray, 1995**). L'utilisation de l'eau du robinet augmente le risque d'infection amibienne « (**Moore, 1987**), (**Seal, 1999**) ».

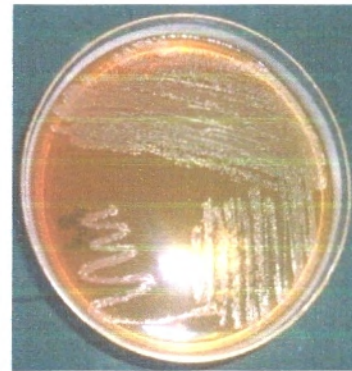
Un mauvais lavage des mains peut être responsable de 50 % des contaminations de lentilles de contacts ; Le lavage des mains avec un savon est un point clé pour diminuer l'incidence des kératites microbiennes. L'absence de lavage des mains augmente le risque de 4,5 fois d'où la nécessité d'utiliser un savon antiseptique et antimicrobien « **(Radford, 1993) ;(Larson, 2003)** ».

Selon **Pitts (1987)**, la contamination pourrait être due également à des solutions d'accompagnement des lentilles. Parce que ces dernières sont souvent périmées ou contaminées et contribuent à leur façon, à la chaîne de contamination. En effet, Pitts et Krachmer prétendent que plusieurs types de solutions sont faiblement préservés pour éviter la toxicité oculaire.

Quant aux bactéries à Gram négatives, elles étaient représenté uniquement par deux genres *Serratia marcescens* et *Myroides chryseobacterium indologenes*



*Myroides chryseobacterium indologenes*



*serratia marcescens*

**Figure 08 : Photo representative des souches à gram négative isolée des lentilles de contacts (L.A.M.A.AB.E).**

Cette contamination à *Serratia* selon l'étude de **Marchal et al., 1982** peut être responsable des infections nosocomiales et aussi des infections oculaires telles les kératites infectieuses sévères et souvent graves.

Tous ces genres ont été également retrouvées dans d'autre études tel les travaux de **Bourcier et al., 2003** qui explique et démontre la contamination des lentilles.

L'adhérence des bactéries aux lentilles de contacts souple en hydrogel à port prolongé est considérée comme un primaire facteur de risque dans la kératite microbienne, liée au genre entérobactéries (Cheng, 1999). On pense que la lentille sert de vecteur qui amène la bactérie en contact avec des tissus de la cornée qui provoque des infections oculaires (Latkovic *et al.*, 1997).

Le risque de kératites infectieuses peut se lier au type de port qui est environ 21 fois plus grand avec les lentilles souples qu'avec les lentilles rigides (Kramer *et al.*, 2002), car les lentilles rigides bougeant moins sur l'œil du faite que leur diamètre et plus important (Taburet, 1986) et que les lentilles souples contiennent un pourcentage élevée d'eau ce qui permet aux bactéries de se lier plus facilement à leur surface (Dejacoruhsvrmi *et al.*, 2001).

Selon Schein *et al.*, 1989 ; 74% des keratites ulcéreuses se présentent chez les porteurs de lentille souple à port prolongé (Schein *et al.*, 1989), ce qui va multiplier par 10 à 15 fois le risque de survenu des kératites infectieuse (De Andrade, 2003).

### 3. Résistance aux antibiotiques :

Seules les bactéries à Gram négatif isolées des lentilles de contacts ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques.

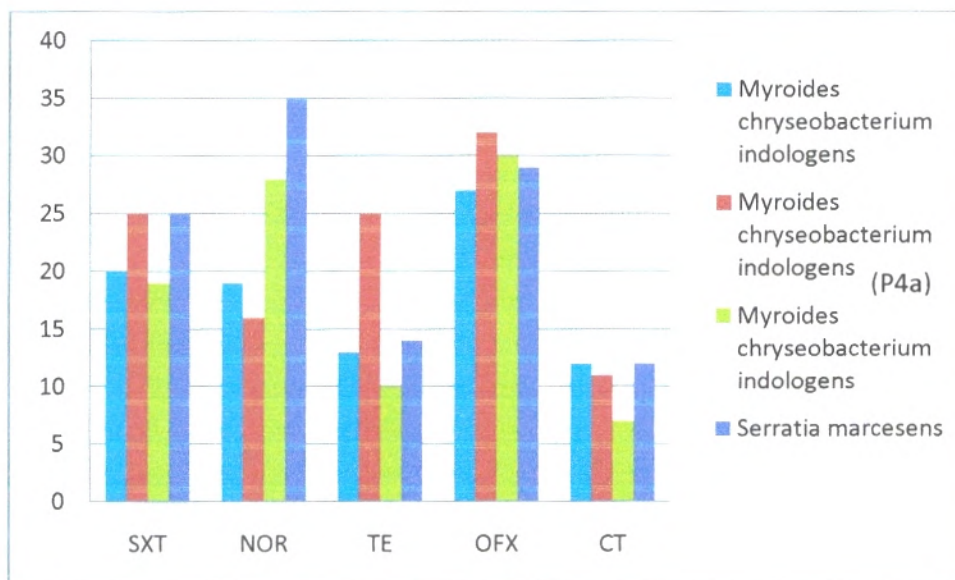


Figure 09 : Etat de résistance aux antibiotiques des souches à Gram négative isolées des lentilles de contacts.

Selon la figure 9 on constate que l'espèce *Myroides chryseobacterium indologenes* isolée du porteur **P4a** présente des résistances importantes aux fluoroquinolone (ofloxacine), à la tétracycline et au triméthoprim avec des diamètres d'inhibitions allant de 16 à 25 mm. Les autres bactéries ont présenté des résistances moindres telle la colistine.

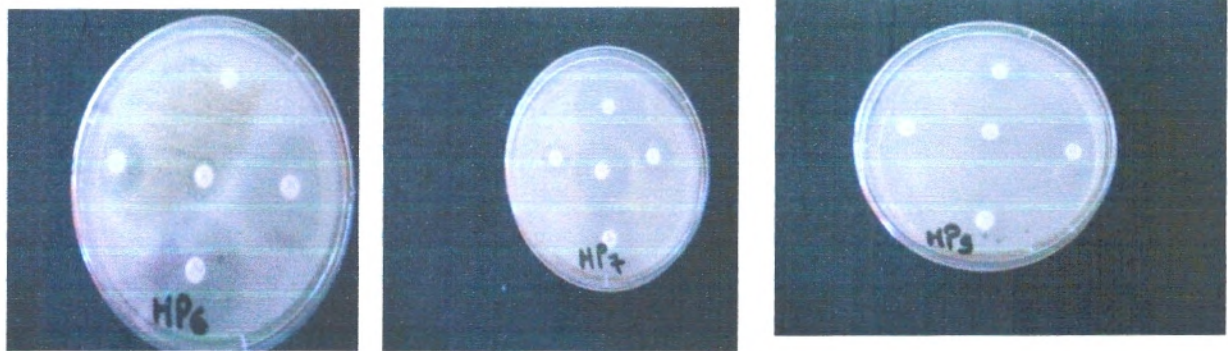
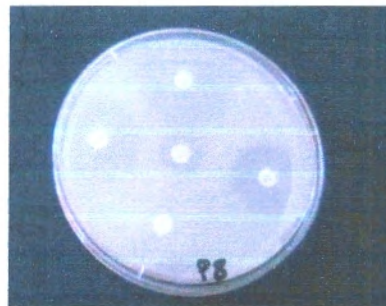


Figure10 : Photo d'antibiogramme des souches de *Myroides chryseobactérium indologens*



La souche de *Serratia marcescens*

Figure 11 : Photo d'antibiogramme de la souche *Serratia marcescens*.

*Serratia marcescens* isolée du porteur **P5a** se démarque par sa résistance à la norfloxacine à l'ofloxacine et au triméthoprim cette espèce est moins résistante aux tétracycline et à la colistine .

#### 4. Résultats de l'évaluation de la formation du biofilm par la méthode TCP :

Sur l'ensemble des bactéries isolées seules 11 souches appartenant au genre *Staphylococcus* et 02 appartenant aux Entérobactéries ont été étudiée pour leur capacité à former les biofilms par la technique de TCP (méthode de plaque de culture de tissu).

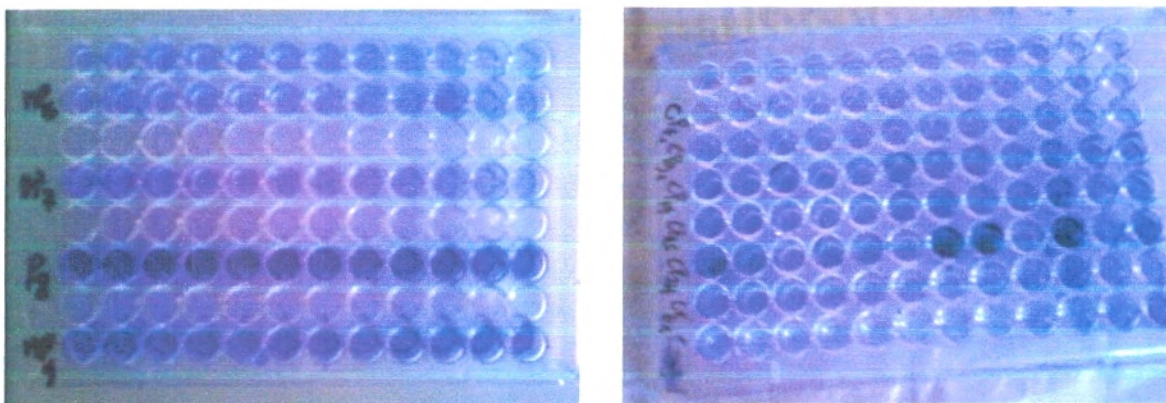
**Tableau 03** : Résultats de la formation de biofilm des souches étudiées par la méthode de TCP

Souches	Nombre de souche			
	absent	Faible	modéré	fort
<i>Serratia marcesens</i>	0	0	0	1
<i>Myroides chryseobacterium indologens</i>	0	1	2	0

<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	1	1
<i>Staphylococcus lentus</i>	1	0	0	0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	0	0	1	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	0	1	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	1	0	0
<i>Staphylococcus warneri</i>	1	0	0	0

Sur les 11 souches testées 2 d'entre elles sont de très bonnes formatrices de biofilm, une est représentée par *Serratia marcesens* et l'autre représentée par *Staphylococcus aureus*.

Les 05 souches sur 11 étaient modérées et sont représentées par 02 souches de *Myroides chryseobacterium indologenes* et 03 souches de *Staphylocoques*.



**Figure 12:** Etude de la formation du biofilm des souches testées.

Effectivement la souche de *Serratia marcesens* est une cause majeure des kératites (infection oculaire) chez les porteurs des lentilles de contacts utilisant des collyres contaminée (**Marchal et al., 1982**).

De même cette bactérie a été également retrouvée dans d'autre dispositif tel les endoscopes ou elle formait de véritable biofilm (**Mostapha-Kara, 2013**).

Plusieurs auteurs **Coria-Jimenez et al., 1994** ont démontré que *Serratia marcesens* est souvent responsable de kératite infectieuse et responsable de la formation de biofilm sur les lentilles ; leur présence est liée selon différents auteurs à la contamination des collyres utilisées et mal conservées.

Ce qui concerne à la souche *Myroides chryseobacterium indologens* celle-ci est retrouvée dans les situations médicales telles les infections oculaires et les conjonctivites (**Bourcier et al., 2003**).

Concernant le genre *staphylococcus*, on constate que l'espèce *Staphylococcus aureus* à coagulase positive fait partie des bons producteurs de biofilm.

Néanmoins 03 souches Staphylocoques à coagulase négative étaient des producteurs modérés de biofilm tels : *Staphylococcus xylosum* et *Staphylococcus capitis*.

En effet les souches de *staphylocoques* sont des causes majeures des infections oculaires car elles possédant une meilleure capacité d'adhésion ce qui explique, leur fréquence élevée qui peut conduire à des kératites infectieuses (**Bourcier et al., 2004**).

La durée d'implantation du dispositif influence considérablement aux porteurs des lentilles de contacts qui porte plus de 24 heures sans nettoyage ni entretien quelque soit le type de port va conduire à la formation d'un biofilm car les lentilles sont considérées comme un implant de court durée avec nettoyage et l'entretien des boîtiers pendant la nuit à fin d'éviter l'accumulation des bactéries (biofilm) (**Liesegang et al., 1997**).

# ***CONCLUSION***



Nombreuses sont les pathologies liées à la présence de biofilm bactériens sur implants oculaires ce qui conduit les ophtalmologistes à employer des doses plus élevées d'antibiotiques, à extraire et changer rapidement ces dispositifs dès que l'antibiothérapie échoue, et à employer des immunosuppresseurs (corticoïdes) quand les complexes immuns menacent d'endommager les tissus environnants.

L'adhésion bactérienne aux implants intraoculaires explique nombre des complications et kératites infectieuses. Le biomatériau parfait des lentilles de contact empêchant l'adhésion et la colonisation bactérienne n'existe pas encore en 2014.

L'expérience clinique a montré que les défenses de l'organisme ainsi que les traitements antibiotiques sont insuffisants pour éliminer un biofilm mature. Par ailleurs, nous ne disposons actuellement d'aucun moyen de lutte efficace contre les biofilms matures et le plus souvent, seul le retrait du matériel infecté permet de guérir le patient. La prévention de la formation des biofilms est par conséquent essentielle et nécessite une parfaite connaissance de toutes les étapes de formation et du rôle des différents acteurs.

A l'issue de cette contribution, 1/3 des personnes porteurs de lentilles était contaminé par différents micro-organismes où certains sont très souvent considérés pathogènes dont *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratia marcescens*.

Selon la technique TCP utilisé dans le cadre de cette contribution, toutes ces bactéries étaient de bonnes productrices de biofilm et donc capables d'adhérer et de former de véritables agrégats sur ces dispositifs oculaires.

En conséquence nous confirmons que le port de lentilles peut être source de grave infections et que le changement de ce dispositif est nécessaire afin de limiter et de diminuer les contaminations microbiennes et en conséquence leurs adhésion sur l'implant biomédical (Lentilles de Contacts). Seuls l'éducation et l'information du patient porteur tiennent une place essentielle dans la prévention et afin de limiter la colonisation des lentilles de contacts des mesures de prévention doivent être prises, ces mesures comportent l'application stricte des règles hygiène ;

- Se laver soigneusement les mains
- Respecter la durée d'utilisation après l'ouverture du flacon,
- Nettoyer soigneusement l'étui, ou moins une fois par semaine,
- Remplacer régulièrement l'étui
- Eviter l'utilisation d'eau de robinet parce qu'il est responsable des infections amibiennes.

**« Il faut se souvenir que la lentille est renouvelable, la cornée ne l'est pas ».**

**Pierre lumbroso.**

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

### B

- **Bialasiewicz A.A.** (1996) - Aspects microbiologiques de la contactologie- *contactologia* ; 187 : 201-204.
- **Balestrino D.**(2007).Formation de biofilm par *Klebsiella Pneumoniae*, une bactérie pathogène responsable d'infections nosocomiales; facteurs impliqués et rôle du quorum sensing (directeur de thèse: Christane Forrestier). « Prix du jeune chercheur de la ville Clermont-Ferrand. Ecole doctorale Science et de la santé ».
- **Bates AK., Morris RJ., Stapleton F., Minassian D., Dart JKG.** (1989). 'Sterile' corneal infiltrates in contact lens wearers. *Eye*; 3:803–810.
- **Bos R, Busscher H.** (1997). Geertsema-Doornbush G.I., Van der Mei H.C. Adhesion competition between *Streptococcus thermophiles* and *Candida* species. In Biofilms, community interactions and control. Ed. Wimpenny J., Handley P., Gilbert P., Lappin-Scott H. and Jones M., *Bioline U.K*: 113-118.
- **Bohnert J., Horbett T., Ratner B., Royce F.** (2000). Adsorption of proteins from artificial tear solutions to contact lens materials. *Invest Ophthalmol Vis Sci*; 29: 362- 373.
- **Bonnet M.** (1996). Les lentilles rigides –*les cahiers d'ophtalmologie*, suppo ; 10 : 18-19.
- **Bourcier T.**( 2004). Infections cornéennes: diagnostic et traitement. *Elsevier Masson* ; p. 39-44.
- **Bourcier T., Thomas F., Borderie V., Chaumeil C., Laroche L.** (2003). Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Brj ophthalmol*; 87: 834-8.
- **Bourcier T, Chameil C.** (2004). Kératites bactérienne In: infection cornéennes. Diagnostic et traitement. Paris : *Elsevier*39-63.
- **Butrus SI, Klotz SA.** (1990). Contact lens deposits increase the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* current, *eye .Re*; 711- 714.

C

- **Caldwell DE.** (1983). Derivation of Growth Rate Equation Describing Microbiological Surface Colonization. *Microbial Ecology*; 9: 1-6.
- **Caldwell DE, Lawrence JR.** (1986) . Bacterial growth kinetics in the hydrodynamic boundary layer of solid-liquid interfaces. *Microb. Ecol*; 12:299–312.
- **Cardine S., Bourcier T., Chaumeil C., Zamfir O., Borderie V., Larache L** (2002).prise en charge clinique et pronostic des keratites amibiennes *JFR ophtalmol* ; 10 :1007-13.
- **Chalupa E., Swabrick H., Halden BA., Sjostrand J.** (1987). Severe infections associated with contact lens Wear. *Ophthalm.Mocogy*; 94: 17-22.
- **Characklis WG.** (1973). Attached microbial growths-II. Frictional resistance due to microbial slimes.*Water Res.*7 : 1249-1258.
- **Chec C., Liao X., Jiang H., Zhu H., Yue L., Fang B., LiuY.**(2010).Characteristics of *Esherichia coli* biofilm production. Genetic typing, drug résistance pattern and gene expression under aminoglycoside pressures, *Environmental toxicology and pharmacology*; 30: 5-10.
- **Cheng KH., Leung SL., Hoekman HW., Beekhuis WH., Mulder PG., Geerards AJ et al.,** (1999). Incidence of contact lens-associated microbial keratitis and its related morbidity.*Lancet* ; 354: 181–5.
- **Cheng A., Athan E., Appelbe A., McDonald M.** (2002). The changing profile of bacterial endocarditis as seen at an australian provincial centre. *Heart Lung Circ*; 11: 26-31 [cross-ref].
- **Chicurel M.**(2000).Bacterial biofilms and infections.Slimebusters.*Nature*; 408: 284-6.
- **Clutterbuck AL., Woods EJ., et al.,** (2007).Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbiol* Mar 31; 121 (1-2): 1-17.

- **Coria-Jimenez R, Ortiz-Torres C.** (1994). Aminoglycoside resistance patterns of *Serratia marcescens* strains of clinical origin. *J Epidemiol Infect*; 112: 125-131. (*serratia*).
- **Costerton JW., Stewart PS., Greenberg EP.** (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*; 284: 1318-22.
- **Costerton JW., Geesey GG., Cheng KJ.** (1978). How bacteria stick. *Sci. Am*; 238: 86-95.

### D

- **Dart JK., Stapleton F., Minassian D.** (1991). Contact lenses and other risk factors in microbial keratitis. *Lancet*. sept 14; 338(8768):650-3.
- **De Andrade Sobrinho M.V.** (2003) - do the economic and social factors play an important role in relation to the compliance of contact lenses care routines? - *Eye et contact lens*, 29(4) : 210-212.
- **Donlan RM.** (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis*; 8 (9): 881-890.
- **Drenkard E, Ausubel FM.** (2002). *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature*; 416:740-743.
- **Durin JP., Mondino B J., Weissman B J.** (1994). Infectious contact lens wearers in Bennett Clinical Contact Lens Practice.

### E

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

### F

- **Filloux A, Vallet I.** (2003). Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Medicine / Science*; 19: 77-83.

- **Fletcher EL., Weissman BA., Efron N., Fleiszig SM., Curcio AJ., Brennan NA.** (1993). The role of pili in the attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to unworn hydrogel contact lenses. *Curr. Eye Res*; 12: 1067-1071.
- **Fontegnes S, Chemla M.** (2000).Le guide des défauts visuels et leur correction. *Eddis* ; :34-36.
- **Fey J,** (2010), Lentille de Contact et risques infectieux, aspect réglementaire JFr ophtalmol, 2004 ;27,4 :420-423.

### G

- **Gavin R., Merino S., Altarriba M., Canals R., Shaw JG., Tomas JM.**(2003).Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by *Aeromonas SPP* . *FEMS Microbial .Lett*; 224: 77-83.
- **Gray TB.,Cursons RT., Sherwan JF., Rose PR.** (1995). *Acanthamoeba* bacterial and fungal contamination of contact lens storage cases. *Br J Ophthalmol*; 79:601–605.

### H

- **Hall-Stoodley L, et StoodleyP** .(2002) . Developmental regulation of Microbial biofilm *curr Opin Biotechnol*; 13:228-233.
- **Harass D.**(2006). Biofilm et altération des matériaux de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. Laboratoire de biotechnologie.In bulk tank milk during the indoor winter season (SvergesLantburksuniversité, institutionen for agricultural biosystems and technology); Rapport,PP: 114-1997.
- **Hart DE., Tidsale RR., Sack RA.** (1986). Origin and composition of lipid deposits on soft contact lenses. *Ophthalmology*; 93: 495-503.
- **Hurlow J, Bowler PG.** (2009). «Clinical experience with wound biofilm and management: a case series », *Ostomy / Wound Management*; vol. 55, n° 4, Avril, P. 38-49.

### J

- **Joffin JN, Leyral G.** (2001). Microbiologie technique - Tome 1, Dictionnaire des techniques 3 e éditions. Microbiologie technique.
- **Jones L., Evans K., Sariri R., Franklin V., Tighe B.** (1997). Lipid and protein deposition of N-vinyl pyrrolidone-containing group II and group IV frequent replacement contact lenses. *CLAO J*; 23: 122-126.
- **JEHL F.** (2013). Laboratoire de Bactériologie Hôpitaux Universitaires de Strasbourg- Faculté de Médecine

### K

- **Katsikogianni M., Missirlis Y.F., Harris L., Douglas J.** (2004) .Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur. Cell. Mater*; 8: 37-57.
- **Kramer A., Rudolph P., Werner HP.** (2002). Antimicrobial efficacy of contact lens care products and critical comment on ISO/FDIS 14729, *ophthalmol*; vol 33: 343-361.

### L

- **Lang GK.** (2002) -Atlas de poche ophtalmologie – *Editions Maloine* chapitre 5 : 121-157.
- **Larson E., Aiello A., Lee LV., Della-Latta P., Gomez-Duarte C., Lin S.** (2003). Short- and long-term effects of handwashing with antimicrobial or plain soap in the community. *J Community Health*.avr; 28(2):139-50.
- **Latkovic S, Nilsson SE.** (1997). The effect of high and low DK/L soft contact lenses on the glycocalyx layer of the corneal epithelium and on the membrane-associated receptors for lectins. *CLAO J* ; 23:185–7.
- **Leopold IH., Nichols AC., Vogel AW.** (1950). Penetration of chloramphenicol U. S. P. into the eye. *Arch Ophthalmol*; 44: 706.



- **Levey SB, Cohen EJ.** (1996). Methods of disinfecting contact lenses to avoid corneal disorders. *Surv ophthalmol*; 41: 245-51.
- **Lewis K.** (2005). Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry(Mosc)*; 70: 267-274.
- **Liesegang TJ.** (1997). Contact lens-related microbial keratitis, part one: *epidemiology. Cornea*; 16: 125-31.

### M

- **Marchal N., Bourdon J.L., Richard C.** (1982). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. *Doin éditeurs-Paris* ; 483 pages.
- **Mc Bride JS.** (2001). Bacterial gliding motility: multiple mechanisms for cell movement over surfaces. *Annu.Rev .Microbial*; 55: 49-75.
- **Moore MB., McCulley JP., Newton C., Cobo LM., Foulks GN., O'Day DM., et al.,** (1987). *Acanthamoeba* keratitis. A growing problem in soft and hard contact lens wearers. *Ophthalmology*; déc; 94(12):1654-61.

### O

- **O'Toole Kaplan H.B, Kolter R.** (2000). Biofilm formation as microbial development *Annu. Rev. Microbial*; 54:49-79.
- **O'Toole GA, Kolter R.** (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol Microbiol*; 30:295-304.

### P

- **Palmer J., Flint S., Brooks J.** ( 2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *J Ind Microbiol Biotechnol*; 34 (9): 577-88.
- **Pitts D, Krachmer GF,** (1987), Etude sur les solution accompagnier les lentilles Bactériologie clinique. *Edition Marketing*, Paris, 49-52.

## Q

- **Quiryman M., Bollen CML., Papaisannow Va., ELDERE J., Van Streenerge D.** (1995). The influence of titanium abatement surface roughness on plaque.

## R

- **Radford CF., Minassian DC., Dart JK.** (2002). *Acanthamoeba* keratitis in England and Wales : incidence outcome, and risk factors. *BR ophthalmol*; 86:536-42.
- **Radford CF., Woodward EG., Stapleton F.** (1993). Contact lens hygiene compliance in a university population. *Journal of The British Contact Lens Association*. janv; 16(3):105-11.

## S

- **Sauer K., Camper AK., Eherlich GD., Costerton JW., Davies DG.** (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J. Bacteriol*; 184: 1140-1154.
- **Sauer K., Cullen MC., Rickard AH., Zeef LAH., Davies DG., Gilbert P.** (2004). Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm. *J. Bacteriol*; 186: 7312-7326.
- **Syffoc D., Sofres S.** (2002). Le marché de la contactologie statistique.
- **Schein OD., Buehler PO., Stamler JF., Verdier DD., Katz J.** (1994). The impact of overnight wear on the risk of contact lens –associated ulcerative keratitis. *Arch ophthalmol*; 112:186-90.
- **Seal DV., Dalton A., Doris D.** (1999). Disinfection of contact lenses without tap water rinsing: is it effective? *Eye (Lond)* ;avr;13 ( Pt 2): 226-30.
- **Stapleton F., Dart JFK., Matheson M., Woodward GE.** ( 1990). Extended Wear lenses, biofilm and bacterial adhesion. *Arch. Ophth*; 97: 296-302.

- **Stapleton F., Keay L., Edwards K., et al.,** (2008).The incidence of contact lens-related microbial keratitis in Australia. *Ophthalmology*; 115:1655–1662.
- **Stapleton** (1962) Intracorneal, aqueous humor, and vitreous humor penetration of topical and oral ofloxacin. *Arch Ophthalmol*; 115: 173-175.
- **Stapleton F., Keay L., Edwards K., Naduvilath T., Dart JKG., Brian G., et al.,** (2008). The incidence of contact lens-related microbial keratitis in Australia. *Ophthalmology*; Oct;115(10):1655-62.
- **Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B., Vlahovic MS.** (2000).A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of microbiological methods*; 40: 175-179.
- **Stern GA.** (1998).Contact lens associated bacterial keratitis “past, present, future” *CLAO*; 24:52-6.

### T

- **Taburet Y, Colin J.**(1986). Etude Clinique de 30 observations de complication en contactologie- *contactologia* ; 8F:171-176.
- **Thein FC, O’tool GA.**(2001) .*Trendes Microbial*; 9: 34-39.
- Thèse pour le diplôme d’état de docteur en pharmacie « Port de lentilles de contact et kératites d’origine infectieuse : 14 cas diagnostiqués au CHU de Nantes de juin 2001 à décembre 2003 » par **Emilie Savin.**
- Thèse pour le diplôme de master en microbiologie « Evaluation de la contamination bactérienne des endoscopes digestifs au niveau du service de gastro-entérologie CHU Tlemcen 2013 » par **Mostapha-Kara.**

### V

- **Vallet L., Olson JW., Lory S., Lazdunski A., Filloux A.** (2001). The chaperone usher pathways of *Pseudomonas aeruginosa* : identification of fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation. *Processing of the national academy of science of the USA* .98, 6911. vol27, PP: 175-183.
- **Van Loosdrecht MCM., Eikelboom D., Gjaltema A., Mulder A., Tjihuis L., Heijnen JJ.** (1998). Biofilm structures. *Water Science and Technology*; 32 (8) : 35-43.

### W

- **Wilhemus KR., Robinson NM., Font RA., Hamill MB., Jones DB.** (1988). Fungal keratitis in contact lens wearers. *AMJ ophthalmol*; 10:708-14.
- **Wolcott RD., Rhoads DD., Dowd SE.** (2008). Biofilms and chronic wound inflammation. *J wound care*; 17(8): 333-41.
- **Wu Y., Carnt N., Stapleton F.** (2010). Contact lens user profile, attitudes and level of compliance to lens care. *Cont Lens Anterior Eye*.; Août- 33(4):183-8.
- **Wu YT., Zhu H., Willcox M., Stapleton F.** (2010). Impact of Air-Drying Lens Cases in Various Locations and Positions. *Optom Vis Sci*. mai;1.

### Z

- **Zobell CE.** ( 1943). *J.Bacteriol*; 46:39-56.

# ***ANNEXES***

Annexe 1 : Tableau de lecture d'une galerie API 20E

Tests	Substrat	Caractères recherchés	Résultats	
			Négatif	positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/Orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/jaune	Bleu vert/ Vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production de H <sub>2</sub> S	Incolore/grisatre	Dépôt noir/fin liser
URE	Urée	Uréase	jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophanédésaminase	<b>TDA/ Immédiat</b>	
			Jaune	Maronfoncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	<b>IND/ 2mn, Max</b>	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de Sodium	Production d'acétoïne	VP1+VP2/10mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non-Diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/Oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxidation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/ bleu-vert	Jaune

Annexe 2: Tableau de lecture API 20E

API 20 E	VA.1	W																		NC2	N3	MO3	ME3	GR3	GRF					
		DRPG	AD	LDG	ODG	DI	IPS	URE	DM	NO	YP	GE	GLJ	MAN	NO	SOR	RA	SAC	MEL							AMY	ARI	OR		
Budivudela agrestis		100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	95	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100	100
Cecobola diuisa		99	89	0	99	75	0	0	0	0	89	0	100	99	0	0	0	1	100	1	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Cecobola bolosa		99	99	0	0	75	0	0	0	0	90	0	100	99	0	0	0	1	100	1	0	1	100	0	100	100	100	100	100	100
Cecobola inaki		80	45	0	99	75	81	1	0	4	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Cecobola foudi		90	24	0	0	75	75	0	0	1	0	0	100	99	25	99	99	99	82	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Cecobola kwilomphobosi		99	75	0	100	97	0	1	0	99	0	0	100	100	25	99	99	1	1	98	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Cecobola kofonimbi		99	2	0	100	25	0	1	0	99	0	0	100	100	1	99	99	99	80	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Cecobola yunoni		100	58	0	1	86	80	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Ebedwobola kophim		0	0	100	99	80	94	0	0	99	0	0	100	100	0	0	1	100	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola rasi		0	0	100	99	1	75	0	0	99	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola isononi		99	0	99	58	82	0	0	0	0	85	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola asoboni		99	25	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kwilomphobosi		99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	99	100	1	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola zizizani		100	25	0	99	80	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kanzononi		100	75	0	99	99	0	0	0	0	89	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola rasi		99	82	1	92	90	0	0	0	0	85	0	99	99	12	90	85	99	90	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola zizizani		99	0	82	100	75	0	99	0	0	90	0	100	99	23	1	100	99	100	99	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kwilomphobosi		99	0	0	99	1	0	0	0	0	2	0	100	97	0	88	99	40	100	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kwilomphobosi		100	98	0	91	94	0	1	0	0	25	91	100	100	75	8	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola col 1		90	1	74	78	0	0	0	0	0	88	0	99	98	1	91	82	88	75	3	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola col 2		126	1	45	20	0	0	0	0	0	50	0	99	90	1	42	30	3	3	1	70	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kwilomphobosi		99	1	99	100	1	0	0	0	99	0	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kwilomphobosi		100	0	1	100	1	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	99	25	0	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kwilomphobosi		100	80	80	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Esandwola kwilomphobosi		99	0	0	0	75	0	0	0	0	95	1	99	99	0	0	1	0	1	90	1	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Haba ave 1		75	0	99	98	80	0	10	0	0	50	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Haba ave 2		80	0	89	99	1	0	1	0	0	10	0	99	99	0	1	1	1	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi		99	0	80	0	89	0	78	0	99	80	0	100	100	99	100	99	99	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		94	18	25	1	15	0	1	0	0	1	0	99	96	87	88	89	20	80	97	85	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		99	0	73	0	86	0	75	0	0	50	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		95	0	25	99	60	0	0	0	0	80	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		99	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	100	93	0	2	100	86	99	99	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		97	0	0	0	40	0	0	0	15	0	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		1	0	10	88	1	1	99	93	99	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		85	0	0	0	13	0	1	0	1	9	1	100	99	1	26	1	98	28	88	81	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		99	1	0	0	99	0	1	0	0	50	82	4	100	99	35	82	50	96	91	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	100	99	84	1	97	93	23	85	97	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		85	1	0	0	29	0	1	0	0	58	1	99	100	10	32	99	72	89	99	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		1	0	0	95	80	75	99	98	1	1	82	88	0	0	0	0	1	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		1	0	0	0	1	20	100	99	0	0	90	99	0	0	0	0	100	0	1	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		1	0	0	0	12	83	99	99	92	0	74	99	1	0	0	0	89	0	86	1	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		0	0	0	0	80	0	0	100	99	0	0	99	1	1	0	0	1	0	0	0	1	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		1	1	0	0	74	0	99	99	90	0	0	98	82	78	1	80	25	0	40	1	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		1	0	0	0	66	0	80	95	0	0	38	3	80	0	0	15	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		100	0	0	0	80	0	0	1	0	99	0	100	100	0	98	99	100	97	100	98	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		100	0	99	99	89	0	85	0	100	85	0	100	100	99	100	100	100	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		100	0	99	99	80	0	0	0	0	75	0	99	99	99	99	99	100	100	100	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		98	75	97	99	75	99	0	0	1	0	0	100	99	0	99	99	1	78	0	99	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		0	15	99	99	5	84	0	0	0	0	0	100	99	0	98	99	0	20	0	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100
Kwibola kwilomphobosi sp kwilomphobosi		0	0	100	1	0	25	0	0	0	0	0	100	100	0	0	1	0	0	0	100	0	100	0	100	100	100	100	100	100

Annexe 3: Tableau de lecture d'une galerie API Staph

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aurion		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1.56	(Témoin positif (D-Glucose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1.4	acidification (D-FRuctose)		
MNE	D-mannose	1.4	acidification (D-Mannose)		
MAL	D-maltose	1.4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1.4	acidification (LACTose)		
TRE	D-tréhalose	1.32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1.36	acidification (D-MANNitol)		
XLT	xylitol	1.4	acidification (Xyl-TOl)		
MEL	D-mélibiose	1.32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0.08	Réduction des Nitrates en nitrites		
PAL	β-naphtyl phosphate	0.0244	Phosphatase Alcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> jaune   violet	
VP	sodium pyruvate	1.904	production d'acétyl-méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incoloro-rose pâle   violet-rose	
RAF	D-raffinose	1.56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1.4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1.32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-α-D-glucopyranoside	1.28	acidification (Méthyl-α-D-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1.28	acidification (N-Acetyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1.904	Arginine Dihydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0.76	UREase	jaune	rouge-violet



Annexe 4 : Tableau de lecture de la plaque API Staph

API STAPH V4.1	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MOG	NAG	ADH	URE	LSTR
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	100	99	36	72	10	90	9	0	0	81	0	1	0	0	40	0	15	90	1	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	100	99	80	43	22	2	35	0	0	86	23	90	0	0	50	0	1	85	35	0
<i>Staphylococcus caprae</i>	0	100	99	70	10	75	74	10	0	0	99	95	99	0	0	0	0	1	99	60	0
<i>Staphylococcus carnosus</i>	0	100	100	99	0	99	99	99	0	0	99	83	83	0	0	0	0	100	100	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	0	100	100	99	79	100	100	13	0	0	96	96	1	0	1	100	0	31	89	95	0
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	0	100	99	66	99	2	97	88	33	0	21	66	94	0	0	2	0	9	2	1	0
<i>Staph cohnii ssp urealyticum</i>	0	100	100	99	98	98	100	94	64	0	1	94	87	0	0	0	0	98	0	99	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	100	99	70	99	81	2	0	0	1	80	84	68	1	0	97	4	18	73	88	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	99	75	5	99	80	91	60	0	1	78	3	67	0	0	98	13	83	85	1	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	98	94	41	97	50	86	28	0	1	82	27	70	1	0	97	4	50	49	84	0
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0	100	99	99	0	87	99	0	0	0	90	90	15	0	0	99	2	93	100	68	0
<i>Staphylococcus lentus</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	7	99	92	21	57	100	100	100	28	100	0	1	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0	100	89	88	99	66	99	0	0	0	99	16	99	0	0	100	0	90	1	50	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0	100	99	2	97	90	99	88	22	0	35	14	79	1	0	96	1	70	30	65	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0	100	80	100	0	1	71	0	0	0	99	97	99	0	0	0	0	94	99	0	0
<i>Staphylococcus scuri</i>	0	99	99	99	99	70	93	98	0	0	83	67	30	0	16	95	7	68	0	0	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	0	100	100	57	11	95	92	73	4	0	83	27	38	0	4	97	2	90	97	84	0
<i>Staphylococcus warneri</i>	0	99	99	59	98	19	96	70	0	0	23	16	90	0	0	99	0	6	77	97	0
<i>Staphylococcus xylosum</i>	0	100	100	92	81	85	95	90	30	9	82	75	67	11	82	87	10	80	5	90	0
<i>Kocuria kristinae</i>	0	99	96	99	90	9	84	3	0	0	6	3	93	0	0	90	12	0	0	0	97
<i>Kocuria varians/rosea</i>	0	91	92	8	1	1	8	1	0	0	75	4	8	4	8	4	0	1	1	29	95
<i>Micrococcus spp</i>	0	2	4	0	1	0	1	0	0	0	8	15	1	0	0	1	0	1	11	11	91

**Annexe 5:** Concentration et diamètres critiques des antibiotiques utilisés (CA-SFM, 2013)

Antibiotiques		Signe	Charge du disque	Concentrations Critique (Mg/L)		Diamètre Critique (MM)	
				S	R	S	R
Tétracycline	Tétracycline	TE	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Polypeptide	Colistine	CT	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
Sulfamide	Triméthoprime	SXT	5 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 12
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OFX	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
	Norfloxacine	NOR	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22

Annexe 6 : Résultats et identification par la galerie API 20 E

Caractère Souche	O N P G	A D H	L D C	O D C	C I T	H <sub>2</sub> S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A
Serratia Marcesens	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+/-
Serratia plymuthyca	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+
Myroides Chryseobactérium indologenes	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Annexe7 : Résultats et l'identification par la galerie API Staph

Caractères Souches	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
<b>Staphylococcus aureus</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+/-	+/-	-	-	+	-	-	+	+
<b>Staphylococcus warneri</b>	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+	-	-	-	+
<b>Staphylococcus hominis</b>	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+	-	+	-	+
<b>Staphylococcus xylosus</b>	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	-	-	+/-	+	+
<b>Staphylococcus lentus</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+/-	+	+	+	+/-	+	-	+
<b>Kocuria varians/rosea</b>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Annexe 8** : Résultats de l'antibiogramme pour les souches des entérobactéries

<b>Souches</b> \ <b>Antibiotiques</b>	SXT	NOR	TE	OFX	CT
Myroides chryseobacterium indologens 1	S	R	R	S	R
Myroides chryseobacterium indologens 2	S	R	S	S	R
Myroides chryseobactérium indologens 3	S	S	R	S	R
Serratia marcesens	S	R	R	S	R

## ملخص

البيوفيلم هو مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة المتشابكة بين بعضها البعض و اللاصقة على السطح. يمكن للبيوفيلم التشكيل على الأجهزة بيوطبية و ان تسبب التهابات العين.الهدف من هذه الدراسات هو اختبار قدرة البكتيريا المعزولة من العدسة على تشكيل البيوفيلم من خلال طريقة زراعة الأنسجة لوحة (TCP). من 13 بكتيريا 02 بكتيريا جد مكونة للبيوفيلم 05 بكتيريا متوسطة التكوين و 02 بكتيريا ضعيفة التكوين و 02 بكتيريا لا تكون البيوفيلم.البكتيريا المكونة للبيوفيلم المعزولة في دراستنا تنتمي إلى البكتيريا التي تشكل سبب رئيسي في الإصابات الحادة للعين. على النحو التالي:

*Serratia marcesens, Myroides chryseobactérium indologens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus xylosus et capitis*

## Résumé

Un biofilm est une communauté de microorganismes adhérant entre eux et fixés à une surface. Les biofilms peuvent se former sur implants biomédical et être à l'origine des infections oculaires. Le but de cette étude, est de tester la capacité de certaines bactéries Gram négatifs et positifs isolées à partir des lentilles de contacts à former un biofilm par la méthode de plaque de culture de tissus (TCP). Sur les 13 souches testées, 02 souches sont fortement productrices de biofilm, 05 souches sont des productrices modérées, 02 souches sont faiblement productrices et 02 souches ne forment pas de biofilm. Les souches productrices de biofilm isolées durant notre étude font partie des germes qui représentent une cause importante des infections oculaires sévères (Kératites) tel que : *Serratia marcesens, Myroides chryseobactérium indologens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus xylosus et capitis*.

## Abstract

A biofilm is a community of microorganisms to join together and attached to the surface. Can form biofilms on medical implants and vital cause eye infections. The purpose of this study is to test the ability of certain gram negative and positive lenses isolated from any contact with the biofilm formation by the method of tissue culture plate (TCP) bacteria. Of 13 strains tested, 02 strains were strong biofilm producers, 5 strains of moderate producers and 02 strains are low producing. The 02 strains are Lalla forments biofilms. Biofilm-producing strains isolated during the study is part of the bacteria that are a major cause of severe injury to the eye (keratitis) as follows: *Serratia marcesens, Myroides chryseobactérium indologens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus xylosus et capitis*