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

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Génie de Procédés et Environnement

MEMOIRE DE MASTER

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Génie des Procédés
Option : Procèdes pharmaceutiques

Thème

Le traitement de la surface des lentilles de contact par l'auto-association des biopolymères

Etudié par :
- ✓ **M^{elle}. BOUDRA Amira Ouassila**
- ✓ **M^{elle}. HANOU Noura**

Dirigé par :
- *** Dr. GASMI Sarah Nawel**
- *** Dr.KERRACHE-LEFNAOUI Sonia**

Promotion 2015-2016

الملخص :

ان الهدف من دراستنا هو تغليف العدسات اللاصقة باستخدام غشاء المبلمرات مكون من المبلمرات الحيوية كالكيتوزان وخليط (الكيتوزان و الالجينات) من اجل ضمان خفضها . اثبتت دراسة اختبار المضادات الجرثومية للمحاليل المكونة ان التركيز الامثل لكل من المحلول الخليط (الكيتوزان /الجينات)ومحلول الكيتوزان هو 1٪، نفس الدراسة اثبتت ان هذه المحاليل لها فعالية كبيرة على ميكروب بسيدوموناس ايروجينوزا. في المرحلة التالية برهنت دراسة اختبار المضادات الجرثومية المطبقة على اغشية الخليط (كيتوزان/الجينات)و الكيتوزان ان غشاء الخليط له فعالية افضل من غشاء الكيتوزان .اخيرا ، تغليف العدسات اللاصقة بغشاء المركب(كيتوزان/الجينات)و الكيتوزان اكسبها خاصية مضادة للميكروبات . في الواقع العدسات المغلفة بغشاء المركب اعطت حماية من المكروبات متغيرة من متوسطة الى قصوى لمختلف البكتيريات.

الكلمات المفتاحية : الكيتوزان ، الالجينات ، خليط كيتوزان الجينات ، العدسات اللاصقة ، غشاء مبلمرات و اختبار مضاد جرثوم

Résumé :

L'objectif de notre étude est l'enrobage des lentilles de contact par des films polymériques formés à base de biopolymères comme le chitosane (CTS) et le mélange chitosane/alginate (ALG/CTS) afin d'assurer leur conservation. Les études des tests antimicrobiens des solutions utilisées pour la formation des films montrent que la concentration optimale des solutions de CTS ainsi que (ALG/CTS) est de 1%, la même étude a montré que ces deux systèmes ont une grande efficacité sur le *Pseudomonas aerogenosa* (PS). Par la suite, les tests antimicrobiens réalisés sur les films du mélange (ALG/CTS) et le CTS élaborés préalablement ont montré que le mélange a une meilleur efficacité antimicrobienne que le CTS seul. Enfin, l'enrobage des lentilles de contact par les films CTS/ALG et CTS leurs confèrent une propriété antimicrobienne. En effet, les lentilles de contact enrobées à base du film polymérique de (ALG/CTS) offrait une protection microbienne allant de moyenne à excellente pour les différentes souches étudiées.

Mots clés : chitosane, alginate, mélange (ALG/CTS), lentille de contact, films polymériques et tests antimicrobiens

Abstract:

The aim of our study is the contact lenses polymeric coating based on biopolymers such as chitosan (CTS) and chitosan / alginate mixture (ALG/CTS) to provide their conservation. Antimicrobial studies on solutions used for film formation show that the optimum concentration of CTS solutions and (ALG/CTS) is 1%, the same study showed that these systems are highly effective on *Pseudomonas aerogenosa* (PS). Subsequently, the antimicrobial studies on the (ALG/CTS) and CTS based films previously developed have shown that the mixture has a better antimicrobial efficacy than CTS based film. Finally, the contact lenses coating by (ALG/CTS) and CTS based films gives them an antimicrobial properties. Indeed, the contact lenses coated with the polymeric film base on (ALG / CTS) provided a microbial protection from medium to excellent for the different strains studied.

Keywords: chitosan, alginate, (ALG/CTS) mixture, contact lenses, polymeric films and antimicrobial tests.

Dédicace

A la source de tendresse, de générosité, de bonheur, à ceux qui ont consacré leur vie pour que je réussisse dans tout ce que j'entretiens, à vous mes très chères parents, ma mère qui est la plus chère personne à mon cœurs, qui m'a toujours encouragé et guidé ma vie, mon père qui a toujours été présent dans tous les moments et qui m'a soutenu sans cesse.

A mes très chers frères: Mouhamed, Hicham et Khaled Islam.

A ma très chère sœur: Asma.

A ma belle sœur: Meriem.

A tous mes cousins et mes cousines, ainsi qu'à toute ma grande famille.

A mon binôme: Amira et sa famille.

A mes chères amies: Fatima Zohra, Aicha et Takia.

Ainsi qu'à la plus proche personne à mon cœur, qu'ALLAH le protège.

A ma promotion de master procédés pharmaceutiques, ceux avec qui j'ai passe de très bons moments.

A celle qui a partagé avec moi le bon et le pire durant ce travail.

A tous mes enseignants.

NOURA.

Dédicace

Avec les sentiments d'amour et de gratitude les plus sincéres je dédie ce modeste travail.

A mon très cher papa qui a toujours garni mes chemins avec force et lumiére, qui a veillé,tout au long de ma vie a ce que je n'eusse besoin de rien et qui sait sacrifier afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

A ma très chére mama la plus belle perle du monde ,la source de la douceure pour son amour ,ses priéres ses consails et ses sacrifices.

A la source de la joie a celui qui me comprend son aucun mot

mes trés chérs fréres

Kheireddine et Hamada.

A mes chers cousins et cousines tous mes sentiments de reconnaissance pour vous.

A mon binome Noura , pour son amitie sa loyauté et sa franchise et toute sa famille.

A mes collegues et touts mes amies surtout Takia et Zakia.

Amira .

Remerciement

Louange à ALLAH, le miséricordieux, pour nous avoir aidées à mener nos études et parvenir à ce stade du savoir, de la connaissance, et de nous avoir données la force et la santé pour réaliser ce travail.

Tout d'abord, nos vifs remerciements vont à Pr. KREA M. qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury. Dr. YAHOUM M. M. d'avoir bien accepté d'examiner ce travail. Nous tenons à leur exprimer toute nos gratitudes et respect.

Nous remercions Dr. GASMI S.N. et Dr. KERRACHE- LEFNAOUI S., d'avoir accepté de diriger ce mémoire, de nous avoir encadrée durant le projet, leur assistance, leurs conseils ont été si précieux que nous tenons à leur exprimer notre profonde gratitude.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble du personnel du hall technologique de l'université de MEDEA de leur concours pour avoir mis a notre disposition les ressources nécessaires afin de réaliser la partie expérimentale de notre projet, et un remerciement spécial à Melle. FERGANI R., qui nous a accueillis dans son laboratoire avec tout le soutien.

Nous tenons à remercier vivement Dr. RABOUH, Dr. RAHEL, Dr. SEDDARI et Dr. CHERRIFI, ainsi l'ensemble des enseignants qui nous ont suivis durant notre cursus.

Nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel du laboratoire central du complexe Antibiotical de MEDEA (SAIDAL), plus particulièrement au chef de service du laboratoire de microbiologie Mr. BEN EMIAR et de son équipe, aussi au responsable de la salle de documentation Mr. FAHISSE. Sans oublier Mr. BEN ISSA pour son aide précieuse.

(A)

ADN : ACIDE **D**ésoxyribo **N**ucléique

ALG : alginate

a : canstante d'equation de Mark-Houwink-sakurada

(C)

CTS : chitosane.

(CTS/ALG) : Mélange de biopolymère de **chitosane et d'alginate.**

C.a : Candidas **A**lbicans

(D)

DA : Degré d'**A**cétylation.

DD : Degré de **D**ésacétylation.

D : isoméré droite

Dk : est la mesure de la perméabilité à l'oxygène d'un matériau

(E)

E.coli : Escherichia **coli**

(F)

FTIR : spectrométrie **I**nfra **R**ouge à **T**ransformée de **F**ourier.

(G)

G : Guluronate.

g : **g**ramme.

(H)

HEMA : Hydroxy **E**thyl **M**éth **A**crylate.

h : heure

(I)

IV : Intra**V**eineuse

(K)

K : constante d'equation de Mark-Houwink-Sakurada

(M)

M_w : Masse moléculaire en masse.

M : **M**annuronate.

m_g : **m**asse film polymérique à l'état **g**onflé (au temps t).

mH :**m**asse du film polymérique **H**umide à l'instant t=0.

mi : **m**asse du film polymérique à l'état **i**nitial (au temps t=0).

min : **min**ute.

mRNA : Acide **R**ibo **N**ucléique **m**essager.

ms : masse du film polymérique **s**ec à l'instant t.

(P)

PEC : Complexe **P**oly **E**lectrique.

PMMA : Poly**M**éth**A**crylate de **M**éthyle.

P.s : Pseudomona**s** aerogenosa.

P/V : **P**oids par **V**olume.

(R)

RGP : Rigid **G**as **P**ermeable.

RMN : Résonance magnétique nucléaire

(S)

SiHy : Silicon **Hy**drogel.

S.a : Staphylococcus **a**ureus.

S.b : basillus **S**ubtilus.

(T)

TG : Taux de **G**onflement.

TH : **T**aux d'**H**umidité.

(V)

V/V : Volume par **V**olume.

(η)

η : la viscosité dynamique

Sommaire

Introduction générale……...……15

Chapitre I Mélange des biopolymères 17

I.1 Mélange de polymères : 18

I.1.1 Mélanges de biopolymères binaires de charges opposées : 18

I.1.2 Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes : 19

Chapitre II Chitosane et alginate de sodium 22

II.1 Chitosane 23

II.1.1 Caractérisation physico-chimique du chitosane : 24

II.1.2 Propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes du chitosane 26

II.1.3 Application de chitosane : 27

II.2 Alginate de sodium 30

II.2.1 Caractérisation physico-chimique 31

II.2.2 Application de l'alginate de sodium 33

Chapitre III Lentilles de contact 35

III.1 Définition 36

III.2 Types 36

III.2.1 Lentilles souples 36

III.2.2 Lentilles rigides 37

III.3 Matériaux de fabrication : 37

III.4 Fonctions : 39

III.4.1 Lentilles correctrices : 39

III.4.2 Lentilles cosmétiques : 40

III.4.3 Lentilles thérapeutiques : 40

III.4.4 Les dépôts sur les lentilles de contact 41

III.5 Entretien : 43

III.6 Désinfection et déprotéinisation : 43

Chapitre IV Partie expérimentale 45

IV.1 Introduction 46

IV.2 Matériels et produits 46

IV.2.1 Matériels 46

IV.2.2 Produits utilisés 47

IV.2.3 Les Biopolymère 47

IV.3 Préformulation 49

IV.3.1 Choix du solvant 50

IV.3.2 Préparation des solutions chitosane-alginate (ALG/CTS) 51

IV.3.3 Etude de l'activité antimicrobienne des solutions polymériques 51

IV.4 Préparation des films polymériques 58

IV.4.1 Caractérisation des films polymériques 59

IV.4.2 Etude des propriétés antimicrobienne des films 62

IV.5 Enrobage des lentilles de contact 63

IV.5.1 Etude du gonflement des lentilles de contact enrobées 64

IV.5.2 Etude des propriétés antimicrobienne des lentilles de contact enrobées..... 64

IV.6 Conclusion : 66

Conclusion générale ……..69

Liste des figures

Figure I-1: Schématisation de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes (PEC) 18

Figure I-2: Représentation du complexe chitosane/xanthane 19

Figure I-3: Représentation de la réticulation ionique entre l'alginate de sodium et le chitosane 20

Figure II-1: Structure chimique de la chitine (a) et du chitosane (b) 23

Figure II-2: Structure chimique des acides uroniques présents dans l'alginate 30

Figure II-3: les différents blocs de l'alginate 31

Figure II-4: Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate 32

Figure II-5: Mécanisme de gélification de l'alginate « modèle de la boîte à œufs » 32

Figure III-1: Une paire de verres de contact posés face concave vers le haut. 36

Figure III-2: représente le cycle auto-entretenu germes/dépôts 42

Figure III-3: Étui pour lentilles de contact (L) signifie « Gauche » (R) signifie « Droite » ... 43

Figure IV-1: Structure chimique d'Alginate de sodium(ALG) 47

Figure IV-2 : Structure chimique du chitosane CTS 48

Figure IV-3 : Lentilles de contact utilisées 49

Figure IV-4. Taux d'inhibition des solutions d'alginate à différentes concentration, testées sur les différentes souches étudiées. 55

Figure IV-5. Taux d'inhibition des solutions de chitosane à différentes concentration, testées sur les différentes souches étudiées. 56

Figure IV-6. Taux d'inhibition des solutions du mélange ALG/CTS à différentes concentration, testés sur les différentes souches étudiées. 56

Figure IV-7. Comparaison des deux systèmes étudiés CTS et ALG/CTS à 1% 57

Figure IV-8 : les différents films obtenus par CTS (A) et ALG/CTS (B) 58

Figure IV-9 : Evolution du taux de gonflement des films de CTS et ALG/CTS en fonction du temps 60

Figure IV-10 : Evolution du taux d'humidité des films de CTS et ALG/CTS en fonction du temps 62

Figure IV-11 : La méthode d'enrobage des lentilles de contact 63

Figure IV-12: Evolution du taux de gonflement des lentilles de contact enrobées par un film de CTS (bleu) et un film de ALG/CTS (rouge) en fonction du temps. 64

Liste des tableaux

Tableau II-1: Application biomédicales de chitosane 29

Tableau II-2: Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications. 33

Tableau IV-1.Matériels utilisés 46

Tableau IV-2. Caractéristiques des réactifs utilisés 47

Tableau IV-3. Solubilité du chitosane dans différents acides organiques. 50

Tableau IV-4. Préparation des solutions chitosane-alginate (ALG/CTS). 51

Tableau IV-5. Différentes souches utilisées. 52

Tableau IV-6. Résultats des tests antimicrobiens des films polymériques 63

Tableau IV-7. Résultats des tests antimicrobiens des lentilles de contact enrobées par les films polymériques. 65

Introduction générale

Les lentilles sont en contact permanent avec les larmes et le milieu extérieur, lorsqu'elles sont portées manipulées ou stockées, cela dit que les phénomènes d'adsorption physiques des composants lacrymaux ou non participant à la formation des dépôts est inévitable. Différentes études montrent la responsabilité des germes dans la formation des dépôts. Des germes infectieux apportés par l'environnement extérieur pourront se développer sur la lentille. La présence de ces germes infectieux et de leurs secrétions va amplifier la formation des dépôts. Dans l'œil, la flore oculaire saprophyte est peu abondante et instable dans le temps mais dans le cas du port des lentilles, le film lacrymal a tendance à stagner entre la lentille et l'œil. Les germes vont donc dénaturer et faire précipiter leur composants et qui va entrainer la formation des dépôts. [1]

Le but de ce travail est de modifier la surface des lentilles de contact pour prévenir la prolifération des germes entre les lentilles de contact et l'œil par l'adhésion des films de polymères naturels antimicrobiens comme les films de chitosane et les films de complexe (alginate –chitosane). L'activité antimicrobienne de ce dernier a été abondamment décrite et publiée ces dernières années pour son action contre une large variété de micro-organismes incluant des espèces bactériennes et fongiques. Une activité bactéricide a clairement pu être identifiée chez des flores pathogènes ou d'altération incluant des $Gram^+$ (*Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacilluscereus*) et des $Gram^-$ (*E.coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonellathyphimirium, Shigella dysentteriae,….*).[2] Pour cela, ce mémoire se divisé en deux parties principales :

1- Partie d'étude bibliographique présentée en trois chapitres :
    - Le premier chapitre présente le mélange de polymères, la méthode de réalisation du mélange ainsi quelque information sur le complexe utilise dans ce travail (alginate/chitosane)
    - Le deuxième chapitre présente des définitions, caractéristiques, propriétés et quelques applications des biopolymères (Alginate/Chitosane)
    - Le troisième chapitre entame les lentilles de contact, présentation, leurs déférents types et les problèmes rencontré
2- Partie d'étude expérimentale, résumé dans le quatrième chapitre qui présente la réalisation du mélange polymérique (ALG/CTS), les testes antimicrobien, formation des films et leur effet sur les germes, arrivant au but qui est l'enrobage des lentilles.

Enfin, ce travail est récapitulé par une conclusion générale présentant les résultats les plus importants.

Chapitre I

Mélange des biopolymères

I.1 Mélange de polymères

La ses mélanges de polymères a beaucoup d'avantages par rapport aux polymères primaires, puisque des caractéristiques spécifiques et des propriétés améliorées peuvent être obtenues systématiquement en variant la composition de ces mélanges. De plus, élaborer un nouveau matériau à partir d'un mélange de polymères est moins coûteux et moins aléatoire que synthétiser un polymère dont les propriétés sont inconnues, à partir d'un nouveau monomère [3]. Quoique la réalisation des mélanges n'est possible que si la chimie des polymères mélangés est relativement proche.

Les mélanges de polymères possèdent les propriétés intrinsèques: chimiques, physiques, mécaniques, et morphologiques de chacun d'eux. Les avantages de chaque polymère peuvent être combinés en les mélangeant.

I.1.1 Mélanges de biopolymères binaires de charges opposées

Les mélanges de biopolymères sont généralement liés par des liaisons physiques, contrairement aux copolymères où les liaisons sont chimiques. L'association de deux biopolymères de charges opposées (l'un polyanionique et l'autre polycationique) crée des complexes polyélectrolytes (PEC) largement étudiés et forment des membranes à haute densité et peuvent avoir comme conséquence une sélectivité plus élevée [4], telles que les membranes à base du complexe alginate/chitosane.

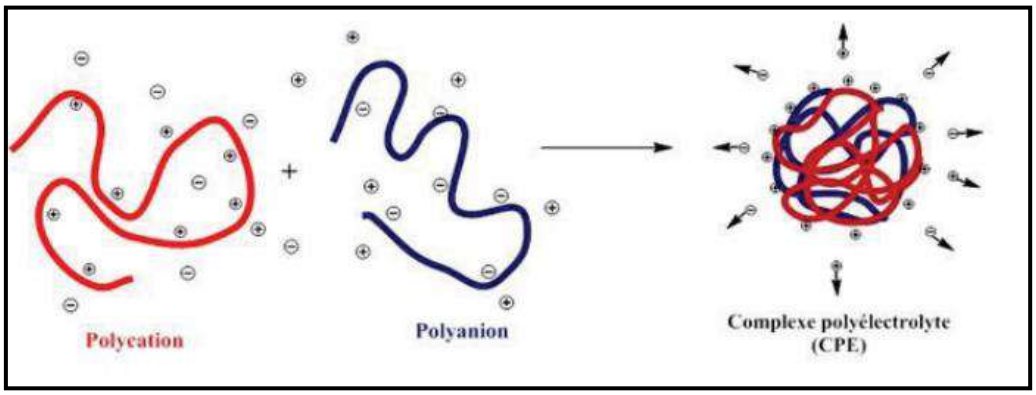


Figure I-1: Schématisation de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes (PEC)

Un autre exemple de mélange est le complexe chitosane/xanthane qui obéit aux mêmes conditions que les autres complexes à base de biopolymères de charges opposées lors de leur formation. Lorsque le chitosane (polybasique) et le xanthane (polyacide) interagissent. Il se forme alors un complexe insoluble (Figure I-2) [5].

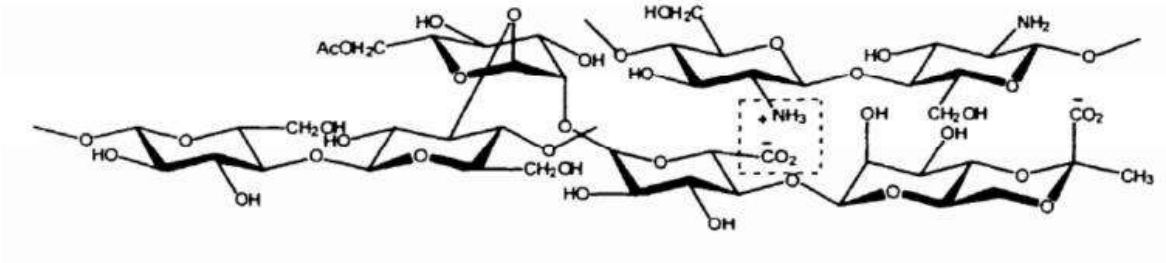


Figure I-2: Représentation du complexe chitosane/xanthane **[5]**

La complexation fait suite à la liaison des groupements amines du chitosane avec ceux Carboxyliques du xanthane selon la réaction ci-dessous:

I.1.2 **Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes**

La formation de complexes à base de biopolymères pour le développement de biomatériaux tridimensionnels est très décrite dans la littérature. Ce succès est particulièrement dû à la simplicité des interactions qui les composent. Pour réaliser cela, durant ce projet, nous avons travaillé avec l'alginate et le chitosane. Effectivement, la formation du réseau de complexe Alginate/Chitosane (Figure I-3) s'effectue au travers des réticulations ioniques entre les fonctions carboxylates déprotonées (chargées négativement) de l'alginate de sodium et les fonctions amines primaires protonées du chitosane (chargés positivement) aboutissant à la formation d'une structure tridimensionnelle dont la permiabilité est liée à la densité d'enchevêtrement des chaînes macromoléculaires des deux biopolymères.

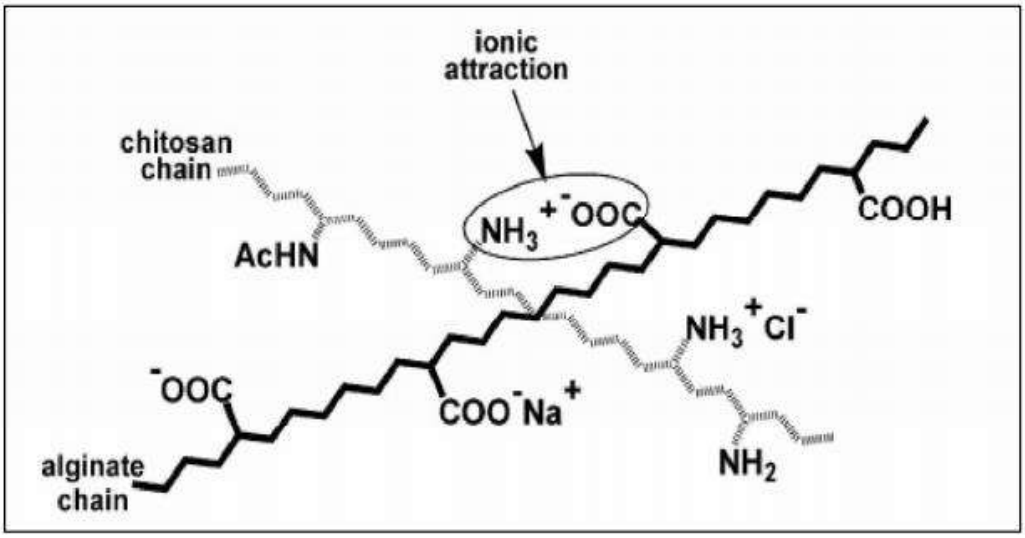


Figure I-3: Représentation de la réticulation ionique entre l'alginate de sodium et le chitosane

Mise en forme des membranes à base des biopolymères Il existe plusieurs procédés d'élaboration de membranes à base de biopolymères. Les deux principaux sont les procédés dits par voie humide et par voie sèche. La formation du matériau se déroule généralement en deux étapes : la première consiste à obtenir un état déstructuré et la seconde correspond à la mise en forme.

I.1.2.1 Voie sèche

Ce procédé de transformation est utilisé lorsque le matériau manifeste un comportement thermoplastique, c'est-à-dire qu'il pourra comme les polymères synthétiques thermoplastiques, être fondu de façon réversible. Certains biopolymères peuvent être considérés comme des matériaux thermoplastiques en présence d'eau. Les procédés de transformation utilisés sont les mêmes que ceux utilisés pour les polymères synthétiques: extrusion, injection, thermoformage, et calandrage [6]. Les paramètres à prendre en compte sont ceux classiquement considérés dans les différentes techniques de transformation des matières plastiques, à savoir, la viscosité, la température de transition vitreuse, la température de fusion, et la température de dégradation.

I.1.2.2 Voie humide

La voie humide consiste à solubiliser les macromolécules, souvent en milieu aqueux, puis à évaporer le solvant pour obtenir une membrane solide. En fonction du domaine d'application, il existe différents procédés pour réaliser des membranes par voie humide.

- La méthode de « solvent casting » reste une des méthodes les plus utilisées pour former des membranes minces. Elle consiste à étaler sur un support une solution ou un gel de polymère. L'épaisseur de la membrane est déterminée par la concentration en polymère et par l'épaisseur initiale de la solution ou du gel qui est généralement ajustée à l'aide d'une barre d'étalement. Elle permet de fabriquer de manière simple et peu coûteuse, à l'échelle laboratoire, des membranes dont la mise en œuvre et les propriétés sont assimilables à ceux produits par d'autres méthodes de voie humide, telle que le moulage par trempage par exemple.
- La méthode de moulage par trempage (dipping ou dip-molding) est une méthode très ancienne utilisée pour appliquer un film protecteur sur certains produits alimentaires, et pour la fabrication des gélules pharmaceutiques. Elle l'est également pour la fabrication d'objets en latex et de nombreuses pièces plastiques. L'objet à mouler ou à revêtir va être trempé dans une solution de manière à former une couche gélifiée uniforme sur la surface de l'objet. Une fois l'épaisseur désirée atteinte, l'objet est retiré de la solution puis séché. Le film obtenu pourra alors être démoulé [7].
- D'autres méthodes peuvent être employées comme le « spraying » qui consiste à pulvériser sur une surface une solution de biopolymère sous forme de fines gouttelettes afin d'obtenir une membrane d'une épaisseur très fine [8]. Pour des applications en tant que matériaux, les principaux polysaccharides sont la cellulose et l'amidon, mai une attention croissante a été portée à d'autres polysaccharides comme les alginates, les carraghénanes, la pectine, le chitosane, le pullulane et le xanthane.

Chapitre II

Chitosane et alginate de sodium

II.1 Chitosane

Le chitosane est obtenu par N-désacétylation partielle de la molécule de chitine. Leur structure chimique, représentée sur la Figure II-1, résulte de l'enchaînement d'unités de répétition N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine liées en β (1→4) [5].

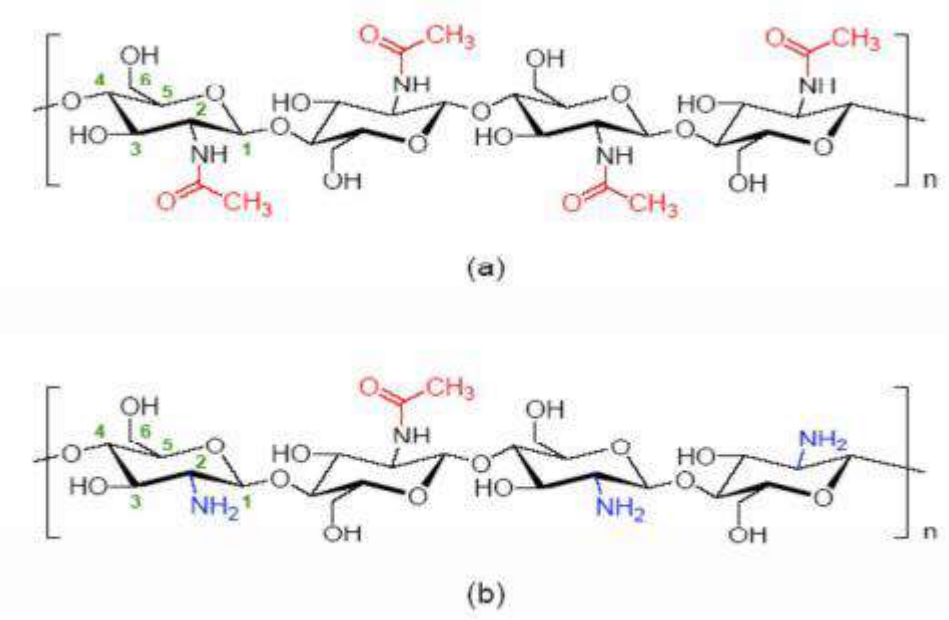


Figure II-1: Structure chimique de la chitine (a) et du chitosane (b)

Le chitosane est obtenu en enlevant suffisamment de groupes acéthyl (CH_3-CO) (un groupe amine $–NH_2$ remplace le groupe $–NH\text{-}CO\text{-}CH_3$) [9]. Grâce à ses groupements amines libres, ce composé possède des propriétés très intéressantes. En effet, elles permettent à la molécule d'être soluble dans la plupart des acides dilués cette désacétylation génère des groupes amines ($-NH_2$) Chargés positivement et confère aux chitosanes une nature « cationique » particulièrement à intéressante en milieu acide, d'autant plus que la plupart des polysaccharides du même temps sont très souvent neutres ou chargés négativement [10]. Le degré de désacétylation (DD) représente la proportion d'unités amine-Dglucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosuriques. Dans le cas du chitosane, le DD est supérieur à 60% pour les produits commerciaux. Cette valeur détermine également la limite de solubilité de ce polymère dans les solutions acides diluées (2< pH <6) en formant des sels [11]. Le DD est un paramètre structural qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière. Il influence

également les propriétés biologiques [12] comme la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestemiante.

II.1.1 **Caractérisation physico-chimique du chitosane**

Certaines caractéristiques du polymère ont une influence déterminante sur le caractère de solubilité la réactivité du chitosane. C'est le cas notamment de la masse moléculaire du polymère et du degré de désacétylation qui peuvent varier suivant les types et les conditions des procédés de dépolymérisation et désacétylation [11].

II.1.1.1 Degré d'acétylation (DA)

Le degré d'acétylation(DA) est le pourcentage d'unités acétylées par rapport au nombre d'unités octales, il peut être déterminé par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier(FTIR) ou par un titrage par une base forte.

Le chitosane et la chitine sont tous les deux des copolymères de même structure chimique globale et ne se distinguent que par la proportion relative des unités N-acétyl glusamine et glucosamine et glucosamine les constituant c'est à dire leur degré d'acétylation. Ce paramètre influe sur toutes leurs propriétés physico-chimiques (masse moléculaire en poids, viscosité, solubilité…) et apparait donc comme le plus important [12,5].

La frontière entre chitosane et chitine correspond à un DA de 50% : en-deçà le composé est nommé chitosane, au-delà, chitine. Il est important de faire la distinction entre le degré d'acétylation (DA) et le degré de désacétylation (DD). L'un étant l'inverse de l'autre c'est-à-dire que du chitosane ayant un DD de 85%, possède 15% de groupements acétyles et 85% de groupements amines sur ses chaines [5].

II.1.1.2 Solubilité

La chitine est soluble dans très peu de solvants. Sa masse molaire initiale est de l'ordre de 800 000 à 10^6 $g.mol^{-1}$ et elle est généralement fortement acétylée. Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 $g.mol^{-1}$ et un DA allant de 2 à 25%. Pour le chitosane, la masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée. De plus, un enchaînement

successif de plusieurs motifs N-acétylés confère au polymère un caractère plus hydrophobe, et donc des propriétés autoassociatives (propriétés épaississantes et gélifiantes) et modifie sa solubilité. En raison de sa solubilisation en solution acide, le chitosane se comporte comme un polymère cationique de forte densité de charge. Ses propriétés dépendent du pH du milieu. Le chitosane est solubilisé et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane soit 6,3 [13].

A un pH supérieur (> 6,5), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane se précipite. Autour de pH 6, le nombre de fonctions amine libres devient suffisamment élevé pour induire une association des chaînes et la précipitation du polymère. La viscosité du chitosane en solution est influencée par différents facteurs, comme le DA, la masse molaire, la concentration, la force ionique, le pH et la température.

II.1.1.3 Viscosité

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation (DD) de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante. La viscosité dépend également : de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente), du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée) [14-15]. Pour connaitre la viscosité, il existe différents méthodes. La plus employée étant la viscosimètrie qui nécessite de connaitre les paramètres Ket a de la relation de Mark-Houwink et Sakurada [16]:

$$[\eta] = K.M^{a}$$

[η] : la viscosité intrinsèque.

M : le poids moléculaire moyen du polymère.

K et a : des paramètres qui dépendent du système polymère-solvant à une T donnée.

II.1.1.4 Formation de films

Par emballages actifs, on fait référence à l'incorporation de certains additifs dans le système d'emballage, qu'ils soient dispersés, fixés à l'intérieur sous forme de sachet ou pastille, ou encore incorporés au matériau lui même [17]. Selon Charles et al [18], la plupart de potentiel d'application de chitosane est comme agent enduisant dans le secteur de la conservation de fruit. La biodégradabilité de chitosane est un des dispositifs les plus avantageux pour le souci des dommages environnementaux produits par la disposition inexacte des plastiques à base pétrochimique [19]. N,O-carboxyméthyl de chitosane peut former un film fort qui est sélectivement perméable à de tels gaz comme l'oxygène et l'anhydride carbonique. Les pommes enduites par ce matériau restent fraiches jusqu'à six mois. L'enduit de chitosane a été montré pour retarder la maturation de la banane jusqu'à 30 jours là où en tant que film le chitosane manifeste un aspect légèrement jaune, avec une couleur obscurcissant comme épaisseur accrue [20].

II.1.2 **Propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes du chitosane**

L'activité antimicrobienne du chitosane a été abondamment décrite et publiée ces dernières années pour son action contre une large variété de micro-organismes incluant des espèces bactériennes et fongiques. Une activité bactéricide a clairement pu être identifiée chez des flores pathogènes ou d'altération incluant des $Gram^+$ (*Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus*) et des $Gram^-$ (*E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella thyphimirium, Shigella dysentteriae*, etc.). L'action antimicrobienne apparaît comme fortement dépendante des caractéristiques du chitosane utilisé (origine, degré de polymérisation, pourcentage de résidus N acé-tylés) et des facteurs environnementaux tels que la teneur en eau de la matrice alimentaire et surtout son pH. Concernant les tailles de molécules, il a été clairement démontré par plusieurs auteurs que les chitosanes de faibles masses molaires ($1 < Mw < 10$ kDa) sont plus actifs comme antimicrobiens que les chitosanes macromoléculaires. Cependant les oligomères de très petites tailles ($Mw < 1$ kDa) se révèlent totalement inactifs [2]. Le mécanisme exact par lequel l'activité antimicrobienne s'exerce est encore assez mal connu mais passe à l'évidence par des interactions ioniques avec des composés bactériens anioniques (membranes, protéines, acides nucléiques,…) intra ou extracellulaires. Le chitosane agit également comme agent chélateur d'anions pouvant éliminer de l'environnement bactérien certains métaux à l'état de traces mais indispensables à

la croissance et/ou à la production de toxines. Les concentrations antimicrobiennes décrites dans la littérature sont très variables du fait des variations de chitosanes utilisés et de l'environnement physico-chimique. On constate que le maximum d'activité est observé pour des concentrations de chitosane fortement désacétylé (degré de désacétylation > 70 %) à des concentrations comprises entre 0,1 et 1 %. Dans ces conditions, l'effet observé est clairement bactéricide. À titre d'exemple, l'application de chitosane à 0,2 g/L réduit de 2 à 4 log la population d'E. COLI. pour des durées d'exposition comprises entre 2 min et une heure [2].

- **Mode d'action du chitosane**

Le mécanisme d'action du chitosane contre les bactéries et les souches fongiques est jusqu'à aujourd'hui mal connu. Cependant, il existe plusieurs éléments qui peuvent expliquer cette action:

• La formation de liaisons électrostatiques entre les charges positives du chitosane (transformation des motifs NH_2 du chitosane en motifs NH_3^+ en milieu acide) et les phospholipides de la membrane cellulaire qui ont une charge négative, perturbant ainsi les échanges entre la cellule microbienne et le milieu extérieur [21,22].

• La présence du chitosane peut aussi entraîner des déformations morphologiques au niveau de la membrane cellulaire [23,24].

• L'inhibition peut aussi être due à l'enrobage des cellules microbiennes par le chitosane, éliminant ainsi tout échange avec le milieu extérieur [25]. L'action du chitosane peut aussi se faire par formation de liaison avec les protéines et les électrolytes présents dans le cytoplasme [24].

• La formation des liaisons entre le chitosane et l'ADN des bactéries et l'inhibition de la synthèse du mRNA [27, 28].

• Le chitosane peut aussi agir de façon indirecte sur les bactéries et les moisissures, et cela par complexation des métaux nécessaires pour leur croissance [29].

II.1.3 **Application de chitosane**

L'utilisation thérapeutique du chitosane est très récente. Jusqu'à présent, les usages industriels de ces fibres étaient limités aux industries des cosmétiques et des textiles, mais elles font

actuellement l'objet d'intenses recherches dans les domaines du génie médical et de la pharmacologie [28].

II.1.3.1 Chitosane et médecine

C'est dans ce domaine que les propriétés bactériostatique, immunologique, antitumorale, cicatrisante, hémostatique, anticoagulante de la chitine et ses dérivés ont apporté le plus.

Il semble que le chitosane soit en voie de trouver son utilité en médecine classique comme « véhicule » de médicaments ou d'autres substances thérapeutiques (vaccins, antigènes ou gènes).on utilise en effet le chitosane pour confectionner des microcapsules qui peuvent préserver la substance thérapeutique jusqu'à ce qu'elle atteigne sa cible physiologique (œsophage ou colon, notamment) [30,31].

De par sa biocompatibilité avec les tissus du corps humaine, les propriétés cicatrisâtes de la chitine et du chitosane ont démontré leur efficacité pour toute forme de pansements : peau artificielle, pansements cornéens, fil de suture en chirurgie suture qui se résorbent naturellement après cicatrisation et les lentilles de contact bien tolérées. Mais aussi dans la réparation osseuse ou en chirurgie dentaire dans les implants ou la cicatrisation des gencives [32,33].

De plus, comme le chitosane se transforme en glucosamine dans l'organisme, et explore son utilisation sous forme d'injection dans le genou pour stimuler la réparation du cartilage endommagé.

Le chitosane est surtout connu pour ses présumées vertus amaigrissantes, ce qui explique sa présence dans de nombreux produits destinés à perdre du poids. La substance possède la propriété de se lier aux gras, ce qui favoriserait leur élimination et, possiblement, la perte de poids [32,33].

Tableau II-1: Application biomédicales de chitosane [32]

Forme physique	Application
Solution	Agent bactériostatique
	Agent Hémostatique
	Cosmétiques
Gel	Véhicule de livraison
	Spermicide
Poudre	Poudre pour les gants chirurgicaux
	Immobilisation d'enzyme
Film/ membrane	Membrane de dialyse
	Lentille de contact
	Pansement de blessure
Eponge	Pansement de muqueuse hémostatique
	Pansement de blessure
Fibres	Amélioration d'habilité à teinture
Divers	Matières anti-cholestérolémie
	Agents anti-gastrites
	Anticoagulants

II.1.3.2 Chitosane et cosmétologie

Le chitosane forme à la surface de la peau un film protecteur et tenseur, capable de fixer d'autres principes actifs ifs pour la peau. Ainsi d'autres agents hydratants, filtres solaires le chitosane forme à la surface de la peu un film protecteur et tenseur et tenseur, capable de fixer d'autres principes actifs pour la peau. Ainsi d'autres agents hydratants, filtres solaires, des acides organiques ou d'autres principes actifs peuvent être associés aux dérivés de chitine le chitosane est utilisé aussi comme barrière contre l'humidité dans les produits cosmétiques ou comme agent d'encapsulation quand les charges positives sont enlevées.

De fait**,** la chitine et le chitosane entrent aujourd'hui dans la composition de crémés de soin, shampoings, laques, vernis etc. De nombreux brevets ont été déposés et l'ouverture vers de nouvelles applications ne fait que commencer [33,34].

II.1.3.3 Chitosane et diététique

Le chitosane est déjà un de nos aliments quotidiens : nous l'absorbons à l'état naturel dans les coquillages, crustacés et champignons. Le chitosane n'étant pas digéré par le corps humain, il se comporte comme une fibre, élément important dans un régime alimentaire. Un des intérêts majeurs du chitosane en matière alimentaire est son interactivité avec les protéines qui lui confère des propriétés moussantes. En solution, le chitosane devient un épaississant, un stabilisateur, deux qualités intéressantes pour une belle tenue des sauces [30,31].

II.1.3.4 Chitosane et traitement de l'eau

Le chitosane a la propriété de se lier à une grande variété de contaminants organiques (bactéries, spores d'algues, sueur, urine), métalliques, huileux formant ainsi des particules suffisamment grosses pour être arrêtées par la filtration qu'il s'agisse de filtres à sables, à cartouches ou bien à diatomées [30,31].

II.2 Alginate de sodium

L'alginate Durant ce projet nous avons travaillé avec l'alginate qui est un des polysaccharides naturellement anioniques les plus utilisés. Il est obtenu sous la forme d'alginate de sodium, de calcium ou de magnésium, principalement après extraction basique à partir d'une algue brune appelée *Laminaria Digitata*. C'est un copolymère linéaire de β-D-mannuronate (M) et de son épimère C5, le α-L-guluronate (G) (Figure II-2) associé par des liaisons α,β(1-4).

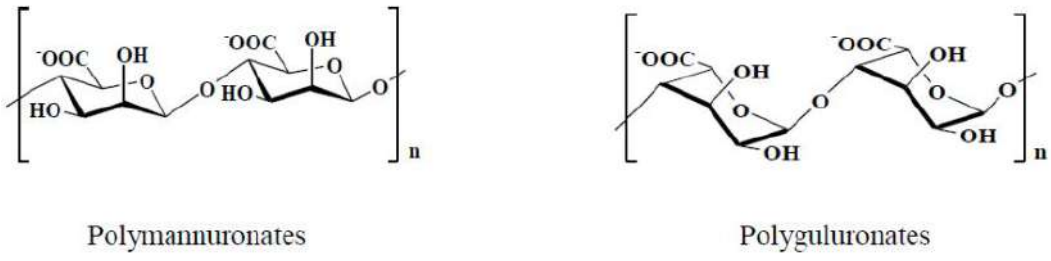


Figure II-2: Structure chimique des acides uroniques présents dans l'alginate **[35]**

Les motifs M et G sont organisés en blocs de régions homopolymères de motifs M (appelés blocs M), de motifs G (appelés blocs G) ou de régions de structure alternée (blocs MG) (Figure II-3). La proportion de ces deux monomères va influencer les propriétés physico-chimiques. Le rapport M/G se situe en général entre 0,25 et 2,25. Il peut être déterminé de la

même façon que les fractions de dimères par RMN ou par chromatographie liquide échangeuse d'ions [36].



Figure II-3: les différents blocs de l'alginate

II.2.1 **Caractérisation physico-chimique**

Les propriétés physico-chimiques des solutions et des gels d'alginate (en présence de cations divalents, voir ci-après) en milieu aqueux dépendent de leur structure, de la proportion des résidus mannuronates par rapport aux résidus guluronates, ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG [37, 38].

II.2.1.1 Solubilité

La solubilité des alginates en solution aqueuse dépend du degré d'ionisation des groupements carboxyliques. Ainsi, les alginates sont parfaitement solubles dans l'eau lorsqu'ils sont sous forme carboxylate associées à des cations monovalents. Par contre, l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses. Il précipite à un pH inférieur à 3,5. Le pKa apparent de l'acide alginique varie de 3,7 à 4,2 en fonction de sa composition. Les alginates de sodium se dissolvent dans l'eau en formant des solutions colloïdales visqueuses à visco-élastiques.

II.2.1.2 Gélification

Les alginates ont la capacité de former des hydrogels en présence de cations divalents ou trivalents. Cette méthode de gélification, dite ionotropique, met en jeu des interactions entre les charges des cations et les fonctions carboxylate portées par les unités monomères surtout lorsqu'ils sont de type guluronate (G) [39] (Figure II-4).

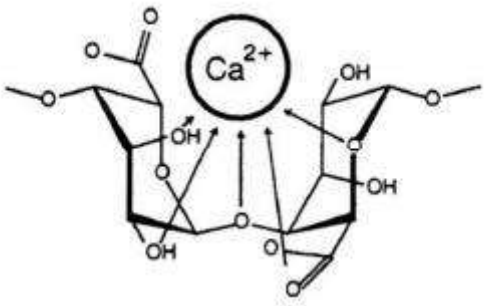


Figure II-4: Liaison des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate [41]

L'addition progressive de cations divalents (Ca^{2+} par exemple) provoque la formation d'un gel élastique non thermoréversible. Cette gélification est encore largement considérée selon le modèle de la «boîte à œufs» comme le montre la Figure II-5, même si ce modèle est très discuté [41].

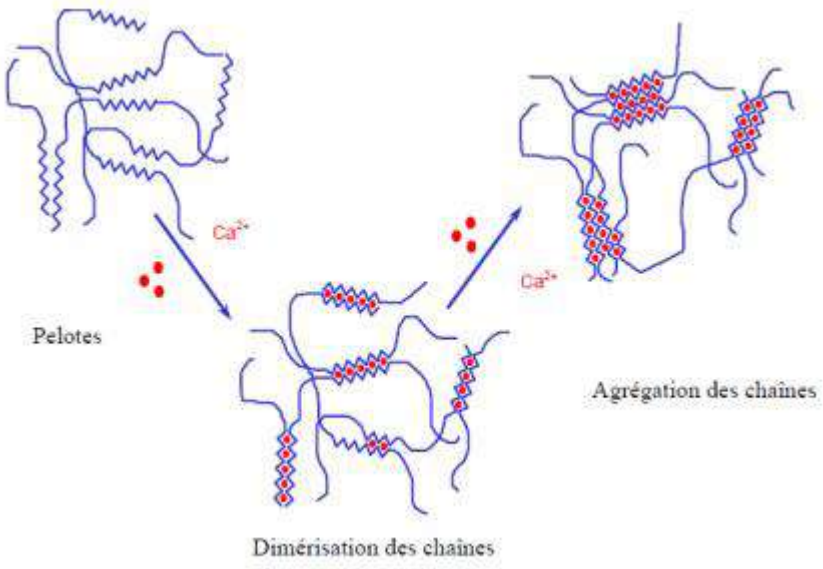


Figure II-5: Mécanisme de gélification de l'alginate « modèle de la boîte à œufs »

Le rapport M/G (Mannuronate/Guluronate) est alors un paramètre très important, les blocs G étant majoritairement responsables de la gélification (M ne gélifie pas ou peu). Les alginates les plus gélifiants sont ceux dont le rapport M/G est faible. La proportion des blocs poly-G et leur longueur dans la structure du polymère constituent ainsi les éléments déterminants du comportement rhéologique des gels d'alginate de calcium. Dans le cas de gélification avec les ions calcium, on distingue trois états différents quand la concentration en ions calcium augmente. A très faible concentration, il y a formation d'agrégats qui ne parviennent pas à se connecter pour conduire au macrogel. Puis, à partir d'une certaine concentration, une fois la

percolation atteinte, les macromolécules s'organisent pour former un réseau tridimensionnel de type gel. Si la concentration en calcium augmente encore, on observe un phénomène de synérèse. Il en résulte une diminution du taux de gonflement du gel et une expulsion d'eau du réseau [42]. Les cations Ca^{2+} sont les plus employés[43] mais les cations divalents Ba^{2+}, Sr^{2+} [44], Co^{2+} et Cu^{2+}, [45, 46] ou les cations trivalents Al^{3+} et Fe^{3+} sont aussi utilises [47]. On peut noter que les cations Mg^{2+} ne permettent pas la formation d'un gel [48]. La proportion des zones complexées (GG) et libres (MM) donnent au gel final des propriétés plus ou moins élastiques, plus ou moins résistantes mécaniquement selon les caractéristiques de l'alginate utilisé.

II.2.2 **Application de l'alginate de sodium**

L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans les domaines de l'agroalimentaire et textile, pour laquelle environ 80% de la production y est transformée. Ses propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent filmogène, gélifiant, etc (

Tableau II-2).

Tableau II-2: Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications [49].

Application	Rôle de l'alginate
Industrie textile (50%)	Epaississant pour les pâtes d'impression, Epaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation, Agent plastifiant et filmogène.
Industrie agroalimentaire (30%) codes E401 à E405	Epaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
Industrie du papier (5%)	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface, Epaississant et stabilisant dans les colles, Maintien des pigments en suspension.
Industrie pharmaceutique (5%)	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales, Gélifiant dans les pâtes a empreinte dentaire.
Divers (10%)	Epaississant dans les produits de beauté et pates à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Floculant en traitement des eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.

Chapitre III

Lentilles de contact

III.1 Définition

Une lentille de contact (aussi appelée verre de contact, lentille ou encore contact) est une lentille correctrice, cosmétique ou thérapeutique placée sur la cornée de l'œil.

Les lentilles de contact souples ont été inventées en 1961 par le chimiste tchèque Otto Wichterle, qui a aussi inventé le premier hydrogel utilisé dans leur production. Elles ont la même fonction que les lunettes mais se distinguent par leur encombrement réduit et leur quasi-invisibilité. Beaucoup de lentilles de contact sont légèrement teintées en bleu afin de mieux les distinguer dans leur étui de stockage. Les lentilles de contact cosmétiques sont expressément colorées afin de modifier l'apparence de l'œil.

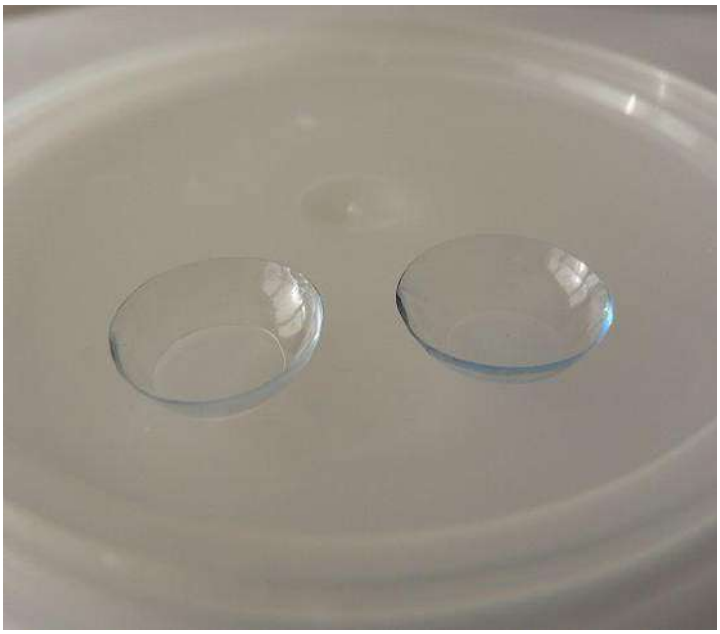


Figure III-1: Une paire de verres de contact posés face concave vers le haut**.**

III.2 Types

Il existe plusieurs types de lentilles de contact. Les lentilles souples et les lentilles rigides sont les deux types de lentilles les plus répandus.

III.2.1 **Lentilles souples**

Les lentilles souples sont les plus courantes, car très adaptables, abordables, et faciles à utiliser pour la plupart des personnes. En effet, on trouve des lentilles souples journalières,

hebdomadaires, bimensuelles, mensuelles et annuelles. Également, la plupart des lentilles cosmétiques et thérapeutiques sont des lentilles souples. Le temps maximum de port ne doit pas excéder 10 à 12 heures dans une journée [50].

III.2.2 **Lentilles rigides**

Il existe deux sortes de lentilles rigides (qui ont remplacé les anciennes lentilles dures) : les premières lentilles rigides qui existent depuis longtemps sont en PMMA (ou Perspex/Plexiglas) et les lentilles rigides modernes que l'on qualifie de RGP (Rigid Gas Permeable). Les lentilles rigides modernes sont un type de lentilles qui satisfait particulièrement les porteurs susceptibles de souffrir de sècheresse oculaire, du fait de leur grande perméabilité à l'oxygène [51]. Elles sont cependant moins répandues que les lentilles souples. La plupart des lentilles rigides sont plus onéreuses que les lentilles souples, mais leur fréquence de remplacement est généralement moins régulière. En effet, certaines lentilles rigides peuvent être utilisées durant un à deux ans [50].

III.3 Matériaux de fabrication

Les premières lentilles de contact, fabriquées à base de verre, causaient des irritations et ne pouvaient être portées longtemps. Mais lorsque William Feinbloom invente les lentilles fabriquées à base de polyméthacrylate de méthyle (PMMA ou Plexiglas), les lentilles deviennent beaucoup plus attractives. Ces lentilles en PMMA sont communément référencées en tant que lentilles « dures » (ce terme n'est aucunement utilisé pour d'autres types de lentille). Cependant, les lentilles en PMMA ont un inconvénient : aucun oxygène n'est transmis à travers la lentille vers la cornée, ce qui peut poser quelques troubles cliniques.

À la fin des années 1970 et dans les années 1980 et 1990, les lentilles rigides ont été améliorées pour les rendre totalement perméables à l'oxygène [52].

- **Passage des matières des lentilles**

Tout environnement professionnel nécessite constamment d’intégrer de nouvelles technologies et d’adopter de meilleures habitudes professionnelles.

Le silicone-hydrogel est une avancée technologique importante dans l'évolution de matériau des lentilles de contact souples. Il remplace avantageusement l'hydrogel dans quasiment toutes les lentilles souples de port mensuel et bimensuel. Ses performances sont nettement plus élevées en termes d'oxygénation cornéenne, en raison principalement d'un Dk/e plus élevé et de ses qualités de mouillabilité (Le Dk est la mesure de la perméabilité à l'oxygène d'un matériau divisé par l'épaisseur de la lentille (e)) [53].

En effet, le silicone-hydrogel est un matériau dont le Dk/e est compris entre 60 et 175, alors qu'il était compris entre 25 et 42 pour les lentilles en hydrogel, ce qui marque un progrès incontestable en termes d'oxygénation cornéenne sous lentille. Cette propriété permet de diminuer les complications hypoxiques et donc de réduire considérablement les œdèmes de cornée (3 à 4 % en port permanent) et de supprimer les néovascularisations cornéennes [54].

Il présente également des qualités de mouillabilité intéressantes : c'est un matériau peu hydrophile qui n'entraîne pas de sensation de sècheresse en fin de journée ou lors du travail sur écran (clignement plus rare). Ainsi, la qualité de la vision reste stable dans la journée et le confort en fin de journée est accru. Le fort module d'élasticité était, pour les premières lentilles en SiHy, un inconvénient majeur car il rendait difficile le confort en début de port. On a pu également noter des abandons imposés par des complications mécaniques. Cependant, ces difficultés ont été réduites avec les lentilles de dernière génération qui ont un module d'élasticité moindre [55-57].

Néanmoins, il est nécessaire de donner une attention toute particulière à leur entretien qui nécessite des produits compatibles et une éducation du patient pour effectuer un gommage quotidien de ces lentilles le soir [58].

Les lentilles de contact réutilisables à port journalier en silicone hydrogel (SiHy) sont, dans la plupart des cas, supérieures aux lentilles de contact traditionnelles en hydrogels d'HEMA (hydroxyéthylméthacrylate), et leur sécurité et leur efficacité sont bien établies [59,60]. Étant donné leur perméabilité élevée à l'oxygène, la large gamme de paramètres disponibles et leur facilité d'adaptation, les lentilles réutilisables à port journalier SiHy sont largement acceptées comme la nouvelle référence dans le domaine des lentilles de contact souples [61].

Le bénéfice le plus remarquable des lentilles SiHy par rapport aux lentilles en hydrogels d'HEMA est sans doute la réduction des signes cliniques et des symptômes oculaires dus à l'hypoxie cornéenne, ce qui offre d'importants bénéfices aux porteurs :

- Yeux plus blancs, d'aspect plus sain
- Moindre risque de complications hypoxiques
- Plus longue tolérance vis-à-vis du port de lentilles
- Possibilité de port nocturne.

III.4 Fonctions

Les lentilles de contact peuvent avoir des fonctions correctrices, cosmétiques et/ou thérapeutiques.

III.4.1 **Lentilles correctrices**

Les lentilles de contact sont correctrices pour la plupart des porteurs. En effet, chez de nombreuses personnes, il y a un décalage entre le pouvoir de réfraction de l'œil et la longueur de l'œil, ce qui conduit à une erreur de réfraction. Une lentille de contact neutralise ce manque et permet de corriger la vue. Tous les défauts de vue peuvent être corrigés par les lentilles de contact : l'hypermétropie, la myopie, l'astigmatisme et la presbytie (difficulté à voir de près). Les porteurs doivent généralement retirer leurs lentilles tous les soirs ou tous les deux ou trois jours, selon la marque et le style de la lentille de contact. Certaines lentilles de perméabilité particulière, peuvent être portées sans interruption pendant un mois sous contrôle de son ophtalmologiste. Récemment, il y a eu un regain d'intérêt pour l'orthokératologie, la correction de la myopie grâce à l'aplatissement nocturne de la cornée, ce qui permet de laisser l'œil sans lentilles de contact ou sans lunettes de correction au cours de la journée.

Il existe également des lentilles de contact progressives qui permettent de corriger la presbytie et la vision de loin. le principe le plus utilisé fait appel à la vision simultanée, c'est le cerveau qui travaille inconsciemment pour permettre cette vision de près comme de loin, mais ce mécanisme ne fonctionne pas pour tout le monde. Pour les personnes ayant certaines déficiences dans la perception des couleurs, des lentilles de contact de teinte rouge *X-Chrom* peuvent être utilisées. Bien que la lentille ne restaure pas une vision parfaite des couleurs, on prétend qu'elle permet à certains individus daltoniens de mieux les discriminer, mais un

daltonien qui ne voit pas une certaine couleur ne peut la voir davantage par cet artifice, il s'agit en fait d'une transposition de couleur [62,63].

III.4.2 **Lentilles cosmétiques**

Les lentilles de contact cosmétiques sont conçues pour changer l'apparence de l'œil. Ces lentilles peuvent également parfois corriger la vision. Il existe des lentilles de contact de nombreuses couleurs. En effet, toutes les couleurs possibles sont adaptables aux lentilles: bleu, vert, rouge, jaune, orange, etc. On trouve également des lentilles phosphorescentes (qui brillent dans l'obscurité) et des lentilles permettant d'avoir des yeux semblables à ceux de divers animaux (notamment ceux des félins et des reptiles). Les lentilles de contact cosmétiques sont souvent utilisées pour faire apparaître l'œil d'une façon agréable, inhabituelle ou non naturelle en apparence, notamment dans les films, où les lentilles peuvent donner une apparence d'yeux démoniaques, ensoleillés, etc. Des lentilles souples fluo sont utilisées par un certain nombre d'adeptes de sorties en discothèque. Les lentilles cercle sont un type de lentilles cosmétiques destinées à agrandir la taille apparente de l'iris [64].

III.4.3 **Lentilles thérapeutiques**

Les applications thérapeutiques des lentilles souples hydrophiles sont connues et utilisées depuis longtemps. Par ordre de fréquence, leurs indications sont : les kératites bulleuses ou les érosions épithéliales, le réservoir médicamenteux, le maintien de l'hydratation cornéenne, la protection contre des paupières défaillantes ou agressives, le piggy-back pour des lentilles rigides gaz perméables mal supportées, etc.

Quant à leur utilisation dans certaines kératites infectieuses ou dystrophies épithéliales, la littérature n'est pas si riche que cela. En effet, ces lentilles sont associées au risque de complication infectieuse, majoré, c'est logique, par le port permanent.

Dans ces indications, les lentilles silicone-hydrogel semblent tout aussi efficaces que les lentilles thérapeutiques en hydrogel utilisées jusqu'alors et sont de surcroît nettement plus perméable à l'oxygène. Elles permettent d'éviter l'hypoxie liée à l'usage de pommades antibiotiques sous occlusion des paupières. En protégeant la surface cornéenne de la conjonctive palpébrale, elles favorisent la migration des cellules épithéliales, donc la guérison [65].

III.4.4 **Les dépôts sur les lentilles de contact**

III.4.4.1 Dépôts des lipides et des protéines

Il est important que les matériaux en silicone hydrogel ne déposent pas dans la mesure où les lentilles en silicone élastomère fait, comme ces lentilles sont principalement destinés à être utilisés pendant une nuit pour un maximum de 30 jours et un tel dépôt nécessiterait l'enlèvement de lentilles fréquents pour le nettoyage. A ce jour, le degré de biocompatibilité avec les yeux atteint avec des matériaux de silicone-hydrogel a reçu une attention relativement minime, avec les résultats publiés indiquant que le dépôt de protéines sur ces matières est inférieure à celle observée avec les matériaux conventionnels [66-69], mais que le dépôt de lipides peut être un problème pour certains patients [67] en particulier si elles sont remises en place à partir d'un matériau ionique tel que l'étafilcon qui dépose très peu de lipides. Si les sujets sont vus à déposer leurs lentilles avec des lipides, puis de passer aux contenant sans névirapine (tels que Proclear ou Acuvue) permettra de réduire le dépôt de lipides. D'autres options incluent l'ajout de nettoyants tensioactifs contenant de l'alcool (comme Miraflow) ou de passer à des périodes plus fréquentes de remplacement [70].

III.4.4.2 Dépôts des Micro-organismes

Des études in vitro de l'adhésion bactérienne portée sur les lentilles SiHy ont montré que, généralement, les bactéries adhèrent à ces lentilles en plus grand nombre que les lentilles souples à base de méthacrylate d'hydroxyéthyle. Le port des lentilles a différents effets sur l'adhésion microbienne, et cela dépend du type des lentilles et des espèces microbiennes étudiées. Les biofilms qui peuvent être formées sur tout type de lentille ont tendance à protéger les bactéries et les champignons des effets des désinfectants. Les hyphes fongiques peuvent pénétrer dans la surface de la plupart des différents types de lentilles. *Acanthamoeba* adhérent en plus grand nombre à la première génération de lentilles en silicone hydrogel par rapport à la deuxième génération ou de lentilles de contact souples à base de méthacrylate d'hydroxyéthyle. Donc, l'adhésion microbienne aux lentilles en silicone hydrogel se produit et est associée à la production d'événements infiltrantes de la cornée lors de l'usure de la lentille [71].

III.4.4.3 Le rôle des germes :

Différents études montres la responsabilité des germes dans la formation des dépôts.

De façon naturelle, on retrouve au niveau de l'œil une flore microbienne saprophyte dont la prolifération est limitée par l'activité de certaines protéines lacrymales (lysozyme notamment).

Dans le cas d'un port de lentille, le film lacrymal a tendance à stagner entre la lentille et l'œil. Les germes, au contact des composants lacrymaux, vont, par leurs sécrétions enzymatiques, dénaturer et faire précipiter certains de leurs composants. La formation des dépôts peut commencer.
Il est démontré aussi que certaines protéines dénaturées offrent un excellent substrat pour certains micro-organismes (bactéries, champignons), ce qui va favoriser leur prolifération [1].

III.4.4.4 Le cycle auto-entretenu germes/dépots

La présence de germes au niveau de l'œil ou sur la lentille entraine une dénaturation des substances lacrymales ; ces substances dénaturées vont elles mêmes favoriser la prolifération des germes, qui vont continuer leur activité de précipitation des composants lacrymaux : on aboutit rapidement à un cycle auto-entretenu.

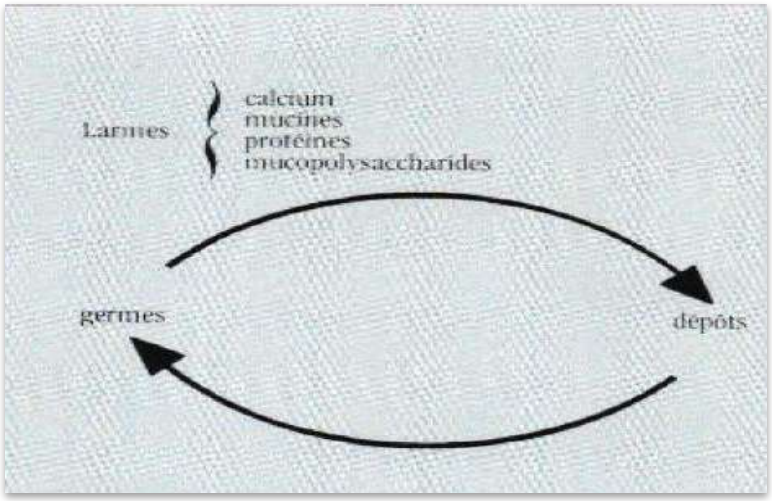


Figure III-2: représente le cycle auto-entretenu germes/dépôts

Il devient évident que pour enrayer ce processus, il faut à la fois agir sur les germes (décontamination) et éliminer de la surface des lentilles les substances qui favorisent leur développement, autrement dit les dépôts (nettoyage quotidien, nettoyage hebdomadaire) [1].

III.5 Entretien

Pour ranger des lentilles de contact, il existe souvent des solutions proposant un étui ainsi qu'une solution de désinfection et de conservation. Il s'agit souvent de mettre la lentille dans l'étui rempli de cette solution. Si les lentilles jetables ne nécessitent pas de nettoyage, d'autres types exigent un nettoyage et une désinfection réguliers afin de conserver une vision claire et d'éviter l'inconfort et les infections par divers micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les *Acanthamoeba*, qui forment un bio-film sur la surface de la lentille.



Figure III-3: Étui pour lentilles de contact (L) signifie « Gauche » (R) signifie « Droite »

Il existe un certain nombre de produits qui peuvent être utilisés à cet effet :

III.6 Désinfection et déprotéinisation

- Solution multifonctions : la solution de nettoyage la plus répandue pour les lentilles de contact. Utilisée pour le rinçage, la désinfection, la déprotéinisation, le nettoyage et la conservation des lentilles. D'après différentes études, ce type de solution n'est pas efficace contre les *Acanthamoeba* [63, 73, 74]. Étant donné que les produits désinfectants

contenus dans ces solutions multifonctions sont absorbés par les lentilles, la cornée y est exposée en permanence [62]. Cela entraîne une atteinte de l'épithélium cornéen pour différentes combinaisons de solutions et de lentilles [75].

- Solution de peroxyde d'hydrogène : utilisée pour la désinfection des lentilles, la déprotéinisation, le nettoyage et tant que la solution n'est pas neutralisée la conservation des lentilles, et disponible sous deux formes, soit « à deux étapes» (neutralisation au moyen d'une solution à la catalase ou au pyruvate de sodium) soit « à une étape » (neutralisation de la solution via des comprimés à la catalase ou un disque recouvert de platine). Ce type de solution est efficace contre les *Acanthamoeba*, mais la solution ne doit pas être neutralisée immédiatement, la neutralisation via des comprimés est donc idéale car elle permet d'ajouter le comprimé après 2-3 heures, la durée nécessaire pour une désinfection totale avec une concentration de 3 % de H_2O_2 [72,76].

Chapitre IV

Partie expérimentale

IV.1 Introduction

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du hall technologique de l'université de Médéa au sein du laboratoire d'analyses physico-chimiques, ainsi qu'au niveau du laboratoire microbiologie de la filiale ANTIBIOTICAL-Saidal de Médéa.

Dans le contexte où s'inscrit notre travail, nous avons tenté d'atteindre un objectif, qui consiste à préparer des films polymériques formé à base de biopolymères. Ces derniers seront imprégnés sur des lentilles de contact afin d'assurer leur conservation. Les biopolymères étudiés sont le chitosane et l'Alginate de sodium.

A cette fin, la partie expérimentale est subdivisée en deux (02) parties :

1. **Préformulation :** Cette partie du travail traite la préparation des solutions de biopolymères avec optimisation des types de solvant et des concentrations adéquates, ainsi que l'étude des propriétés microbiologiques des solutions obtenues.
2. **Préparation et caractérisation des films polymériques:** Cette partie du travail expérimental a pour objectif la mise au point des films polymériques et leurs imprégnations sur la surface des lentilles de contact. Une étude microbiologique est par la suite réalisée sur les lentilles imprégnées.

IV.2 Matériels et produits

IV.2.1 **Matériels**

Toutes les manipulations ont été réalisées en utilisant des équipements résumés dans le Tableau IV-1.

Tableau IV-1. Matériels utilisés

Matériels	**Marques**
Microscope optique	OPTECH (optical technology)
Balance analytique	DENVER INSTRUMENT
pH-mètre	Sartorius
Etuve	GIBERTINI
Agitateur magnétique	OVAN MCG15E

IV.2.2 **Produits utilisés**

Tous les réactifs utilisés lors de cette étude sont identifiés par la formule brute, l'origine, et la pureté et résumés dans leTableau IV-2.

Tableau IV-2. Caractéristiques des réactifs utilisés

Produit	**Formule**	**Fournisseur**	**Pureté (%)**	**Masse Molaire (g/mol)**
Acide Acétique	$C_2H_4O_2$	Riedel-de Haën	99-100	60,05
Hydroxyde de sodium	NaOH	Chem-Lab NV	98	40

IV.2.3 **Les Biopolymère**

IV.2.3.1 Alginate de Sodium (ALG)

a. **Formule chimique :** $(C_6H_7NaO_6)_n$

- **Synonymes :** Polymannuronate sodique.
- **Dénomination commerciale :** E401
- **Masse molaire :** 380 000 $g.mol^{-1}$
- **Point de fusion :** >300 °C
- **Aspect :** Poudre blanche légèrement jaunâtre, pratiquement inodore, sans goût.
- **Solubilité :** Pratiquement insoluble dans l'éthanol, l'éther, le chloroforme, les solvants organiques et les solutions acides aqueuses dont le pH est inférieur à 3. En présence d'eau, il forme une solution colloïdale.

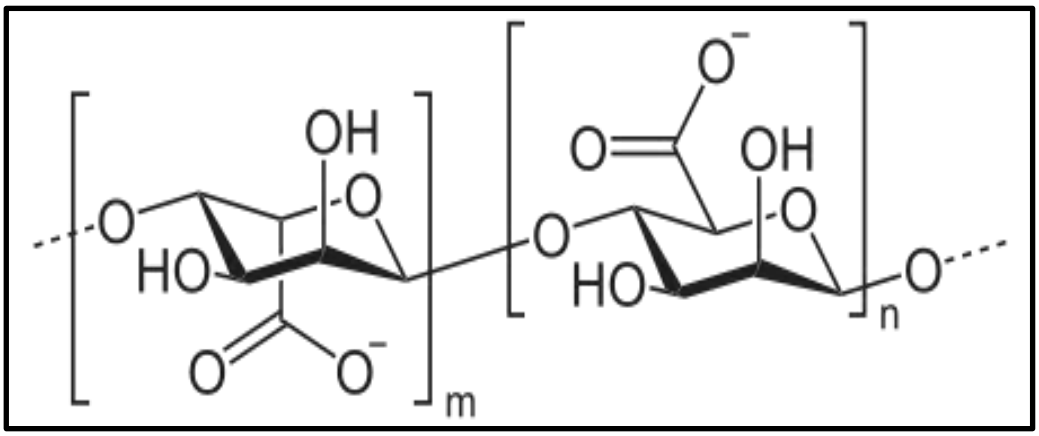


Figure IV-1: Structure chimique d'Alginate de sodium(ALG)

Données sécurité-toxicité : L'alginate est décrite comme non toxique, cependant une consommation excessive par voie orale peut devenir dangereuse. De plus une inhalation trop importante peut conduire à des problèmes respiratoires. En effet, la dose létale 50 chez le rat par voie orale est de : plus de 5 g/kg; chez le rat par voie intraveineuse (IV) : 1 g/kg; chez le lapin par voie IV : 0,1 g/kg; chez la souris par voie IV : 0,2 g/kg; chez le chat par voie IV : 0,25 g/kg.

IV.2.3.2 Chitosane (CTS)

b. Formule chimique : ($(C_6O_4H_9(NH_2)_{0,81}(NHCOCH_3)_{0,19})_n$

- **Synonymes :** Poliglusam
- **Masse molaire :** 94000 $g.mol^{-1}$
- **Aspect :** poudre fine blanche ou sensiblement blanche
- **Solubilité :** assez soluble dans l'eau, pratiquement insoluble dans l'éthanol.

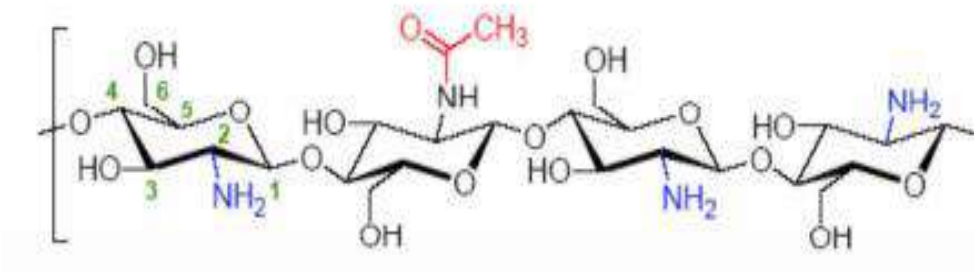


Figure IV-2 : Structure chimique du chitosane CTS

IV.2.3.3 Les Lentilles de contact

Fournisseur : Menicon

Le nom commercial : Premio

Le nom : Asmofilcon A (40% d'eau)

Nature : Silicone hydrogel

Forme de lentilles : Lentilles souple pour un port journalier ou pendant 7 jours maximum pour corriger une amétropie de puissane (myopie, hypermétropie et/ou astigmatisme) pour les yeux sains non aphaques.

Aspect : lentille de contact souple en silicone hydrogel à renouvellement fréquent et de teinte bleue.



Figure IV-3 : Lentilles de contact utilisées

IV.2.3.4 les armes artificiels :

Nom commercial : Artelac

Substance active : hypromellose

Composition : principe actif du médicament :

1ml de solution contient 3.20mg d'hypromellose

La viscosité de la solution se situe entre 7 et 11 mPa*s.

Excipients :

Cétrimide , hydrogénophosphate de sodium dodécahydraté dihydrogénophosphate de sodium dihydraté , sorbil , édetate de soduim et eau pour préparation injectables qsq 1 ml

Forme pharmaceutique et contenu :

Collyre en flacon compte-gouttes de 10ml de solution .

IV.3 Préformulation

Cette étape est considérée comme essentielle, elle doit être consacrée à une connaissance parfaite des matières premières utilisée (CTS et ALG).

Avant d'entreprendre la mise au point des films polymériques, il est nécessaire de rassembler un certain nombre de données préalables qui constitueront les bases du développement et guideront les choix ultérieurs.

Ces études d'orientation sont particulièrement importantes lors du développement des formes oculaires particulières car elles sont en relation directe avec des paramètres d'ordre physiologique et des paramètres physico-chimiques prédéterminés.

IV.3.1 **Choix du solvant**

La solubilité du chitosane varie donc en fonction de son degré d'acétylation (DA) et de la méthode de désacétylation mise en œuvre [35,78]. Le Tableau IV-3. Nous donnent la solubilité du CTS dans différents acides organique. Cette étude nous permettra de faire un choix judicieux du solvant approprié.

Tableau IV-3. Solubilité du chitosane dans différents acides organiques.

Acides	**Concentration en chitosane (P/V)**				
	1%	**5%**	**10%**	**50%**	**>50%**
Acétique	+	+	+		
Adipique	+				
Citrique	-	+	+		
Formique	+	+	+	+	+
Lactique	+	+	+		
Mlique	+	+	+		
Malonique	+	+	+		
Oxalique	+		+		
Propénoïque	+	+	+	+	
Succinique	+	+	+		
Tartrique	-		+		

Légende: (+) soluble, (-) insoluble

Selon les résultats précédents, le chitosane est plus soluble dans l'acide Formique et l'acide Propénoïque. Etant donné leur cout élevé et leur indisponibilité, le choix a été porté sur l'acide acétique et l'acide citrique.

Le Tableau IV-3 montre également que le chitosane est peu soluble à faibles concentrations dans l'acide citrique, c'est la raison pour laquelle nous avons choisi d'utiliser

l'acide acétique pour notre présent travail. La concentration utilisée est de 1% en acide acétique durant tout le travail.

IV.3.2 **Préparation des solutions chitosane-alginate (ALG/CTS)**

L'objectif est la préparation de complexes polyélectrolytes à base d'alginate de sodium et de chitosane. Pour cela, il faut tout d'abord préparé des solutions à base de chacun des biopolymères étudiés séparément à savoir des solution d'ALG et de CTS à différentes concentrations (allant de 0,25 %, à 1%) . Les solutions à base de CTS sont préparées dans une solution d'acide acétique à 1%. Les solutions à base d'ALG sont préparées dans de l'eau distillée.

Les deux solutions ont été mélangées afin d'avoir une solution de mélange ALG/CTS avec un rapport (V/V) de (1/1). La solution a été mise sous vive agitation pendant 15 minutes.

Tableau IV-4. Préparation des solutions chitosane-alginate (ALG/CTS)**.**

Solutions	CTS	ALG	CTS/ALG
1	0,25%	0,25%	0,25%
2	0,5%	0,5%	0,5%
3	1%	1%	1%

Une étude de l'activité antimicrobienne des solutions polymériques a été réalisée, par la suite, sur les différentes solutions préparées afin de déterminer la concentration en polymère optimale utilisée pour la suite de notre travail.

IV.3.3 **Etude de l'activité antimicrobienne des solutions polymériques**

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* des solutions de biopolymères étudiées sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur [78].

Les méthodes d'évaluation les plus utilisées sont la méthode de diffusion sur l'Agar et la méthode de dilution. Dans la première méthode les solutions à étudiées sont déposées sur des disques de papier ou dans des puits creusés dans l'Agar. Dans la seconde méthode, les solutions de biopolymères sont incorporées dans le bouillon de culture ou d'autres liquides

dans lesquels les bactéries sont présentes. Ces différentes techniques sont répertoriées et décrites dans différentes publications [79,80].

IV.3.3.1 Préparation des suspensions de microorganismes

La préparation des suspensions microbiennes se fait dans un milieu stérile, par ensemencement du milieu de culture liquide adéquat avec la souche vivante. Par la suite une incubation à la température optimale est nécessaire.

- **Mode opératoire**
  - Prélever aseptiquement 0,l mL de chaque suspension de colonies bactériennes étudiées.
  - Introduire le prélèvement dans un tube à essai stérile.
  - Diluer le prélèvement à l'aide d'eau distillée stérile.
  - La suspension de souche doit être à une concentration finale de 1%.
  - Incuber les tubes à essais pendant deux heures à température 37°C.
  - Les différentes souches (bactériennes et fongiques) étudiées sont résumés dans le Tableau IV-5.

Tableau IV-5. Différentes souches utilisées.

Noms Souches	Abréviations	Types	Familles
Candida albicans	C.A	levure / fongiques	*Saccharomycetaceae*
Staphylococcus aureus	S.A	bactériennes / fongiques	*Micrococcacea*
Escherichia coli	E.COLI	bactériennes / fongiques	*Enterobacteriacea*
Pseudomonas aerogenosa	P.S	bactériennes /fongiques	*Pseudomonacea*
Basillus subtilus	S.B	bactériennes / fongiques	*Bacillacea*

IV.3.3.2 Préparation des milieux de cultures

- **Gélose Trypticase soja** est un milieu de culture.

- Peptone de caséine : 17,0 $g.L^{-1}$

- Peptone de farine de soja : 3,0 $g.L^{-1}$

- D(+)- glucose : 2,5 $g.L^{-1}$

- Chlorure de sodium : 5,0 $g.L^{-1}$

- Phosphate dipotassique : 2,5 $g.L^{-1}$

- Eau : 1000 mL, pH : 7,3 ± 0,2.

Son pH est neutre à 7,3. Il doit être autoclavé pendant 15 min à 121°C avant utilisation.

Ce milieu riche convient à l'isolement, la culture et l'identification des germes particulièrement exigeants et principalement différents types de *Brucella, Streptocoques, Listeria, Staphylococcus aureus*.

La préparation des milieux de culture se fait de la façon suivante :

- Mettre en suspension 40 g de soja agar dans 1L d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et le maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir le milieu de culture obtenu en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 4 heures.

- **La gélose de Sabouraud** est un milieu de culture.

Composition:

- Peptone 10 g
- Glucose massé 20 g
- Agar-agar 15 g
- Eau distillée (qsp) 1 000 mL
- Vitamines et facteurs de croissance
- pH = 6,0

Caractéristiques:

Naturellement acide, elle inhibe la croissance de nombreuses bactéries. La préparation des milieux de culture se fait de la façon suivante :

- Mettre en suspension 65 g de gélose de Sabouraud dans 1L d'eau distillée.

- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et le maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir le milieu de culture obtenu en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 4 heures.

Ensemencement :

- Transférer l'échantillon à analyser sur le milieu.
- Étaler la souche a la surface à l'aide d'un étaleur en verre stérile.
- Incuber à 20 - 25 °C pour 48h.

IV.3.3.3 Etude de l'effet antimicrobien des solutions

Cet essai a pour objectif de confirmer l'effet antibactérien du CTS sur les différentes souches étudiées. Ainsi que de vérifier si cet effet existe avec l'ALG ou le mélange CTS/ALG.

Une fois les résultats des tests obtenus, la concentration adéquate des solutions de polymères sera fixée pour la seconde partie de l'étude.

- **Mode opératoire :**

Sous une haute à flux laminaire, faire couler nos milieux de culture (soja agar et saboureud) en boîtes de Petri stériles.

Laisser solidifier les milieux de culture sur une surface froide.

Après séchage, ensemencer les différentes souches étudiées sur le milieu de culture.

Emerger un disque stérile de 0,9 mm dans la solution de polymères étudiés.

Placer le dans la boite.

Appliquer cette méthode pour les différentes concentrations des polymères (0,25%, 0,5% et 1%) et les souches bactériennes étudiées.

Mettre les boites de pétri dans l'incubateur pour une durée 24h pour les bactéries et 48h pour la levure.

Les taux d'inhibition sont calculés par la formule suivante :

$$\textbf{Taux deinhibition } (\%) = \frac{\textbf{Li} - \textbf{Ld}}{\textbf{Ld}} \times \textbf{100} \qquad (\textbf{4.1})$$

Où L_i est le diamètre l'inhibition de la solution et, Ld est le diamètre du disque utiliser

Les résultats des tests antimicrobiens réalisés sur les solutions de polymères sont présentés dans les Figure IV-4Figure IV-5Figure IV-6.

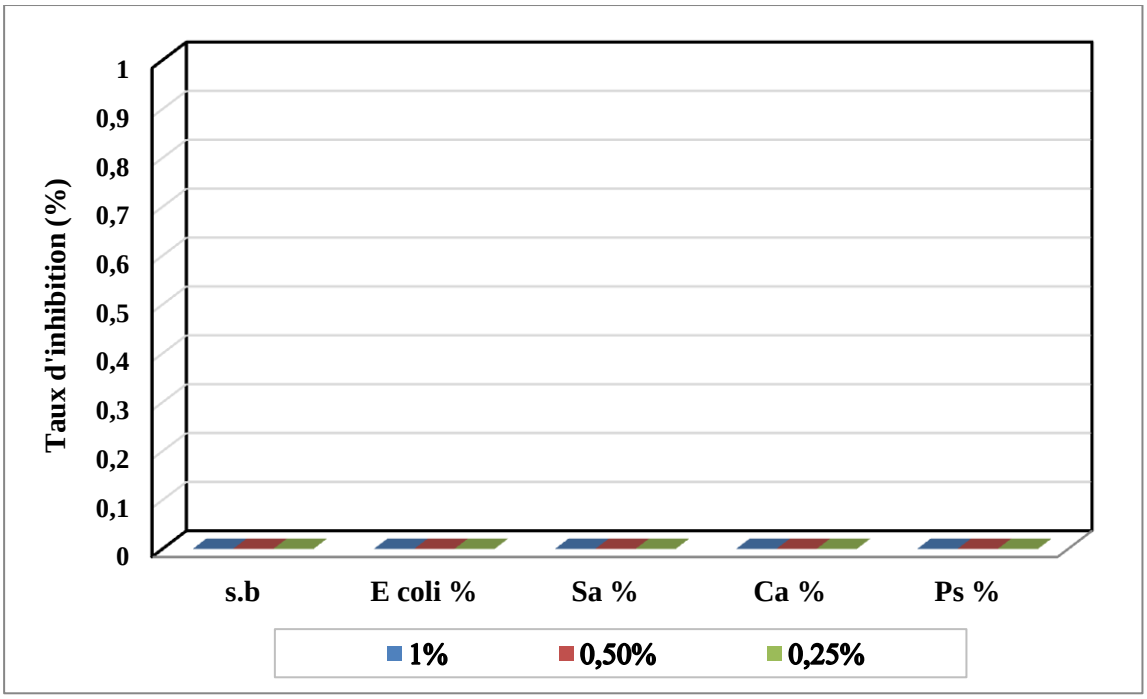


Figure IV-4. Taux d'inhibition des solutions d'alginate à différentes concentration, testées sur les différentes souches étudiées.

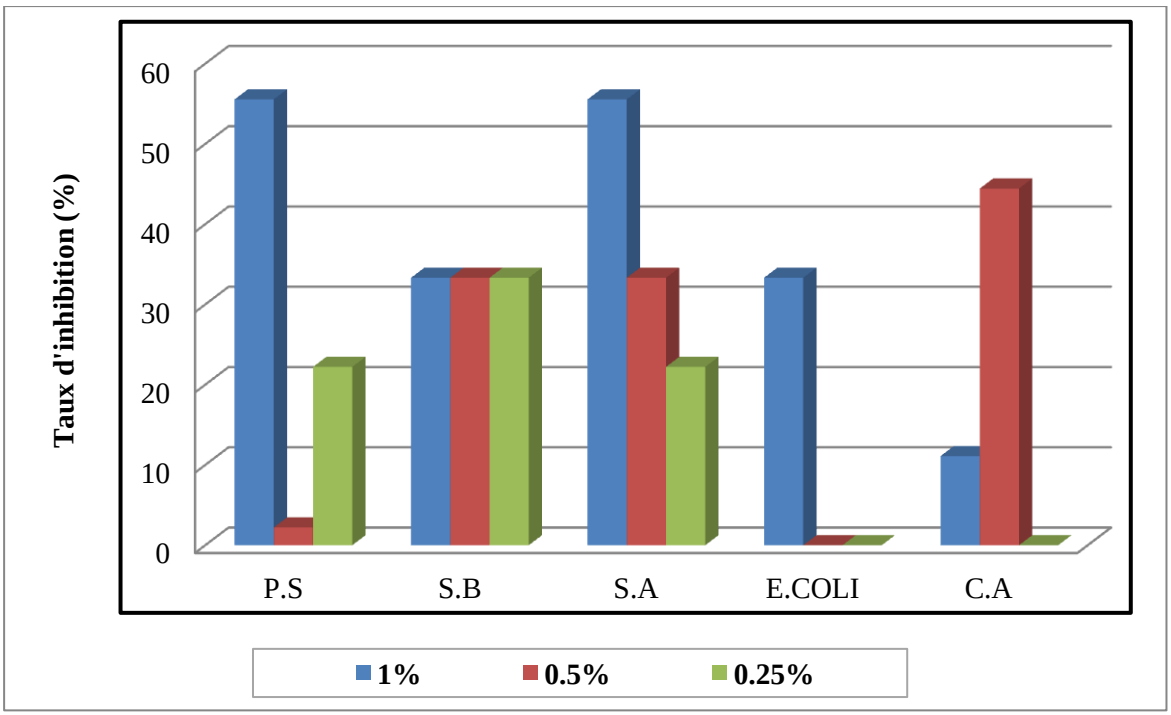


Figure IV-5. Taux d'inhibition des solutions de chitosane à différentes concentration, testées sur les différentes souches étudiées.

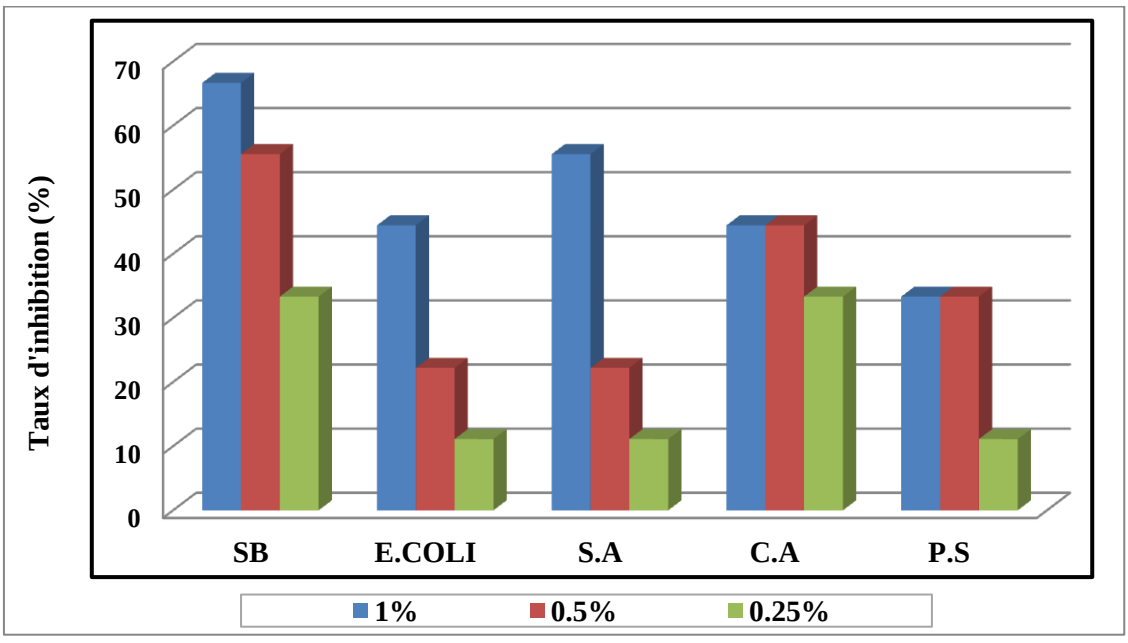


Figure IV-6. Taux d'inhibition des solutions du mélange ALG/CTS à différentes concentration, testés sur les différentes souches étudiées.

Selon les résultats obtenus, nous pouvons constater que l'alginate n'a aucune efficacité ni effet antibactérien contrairement au CTS (avec un taux d'inhibition de 55,5% pour les PS et SA).

Pour l'effet antibactérien des mélanges de solutions polymérique ALG/CTS, un taux d'inhibition de 66,5% et 55,5% ont été observés pour les souches SB et SA respectivement). Cet effet antibactérien du système ALG/CTS vient de la présence du chitosane dans le milieu.

Selon les résultats obtenus, on peut conclure que la meilleure concentration pour avoir une excellente inhibition est celle de 1% pour les solutions à base de CTS et le mélange ALG/CTS car cette dernière a montré le meilleur effet bactérien pour toutes les souches.

En effet, la Figure IV-7 montre une comparaison des taux d'inhibition entre les deux systèmes CTS et ALG/CTS à une de concentration 1%. Les résultats montrent clairement une plus grande efficacité du mélange ALG/CTS par rapport au CTS seul.

En effet, le taux d'inhibition est à 66, 44, 55, 44 et 33 pour P.S, S.B, S.A, E.COLI et C.A, respectivement, dans le cas du mélange de polymères ALG/CTS et n'atteignent que 55, 33, 55, 33 et 11 pour P.S, S.A, S.B, E.COLI et C.A, respectivement, dans le cas du CTS.

A partir des résultats obtenus, le reste de cette étude expérimentale sera réalisé uniquement avec la solution du mélange de polymères ALG/CTS à 1%.

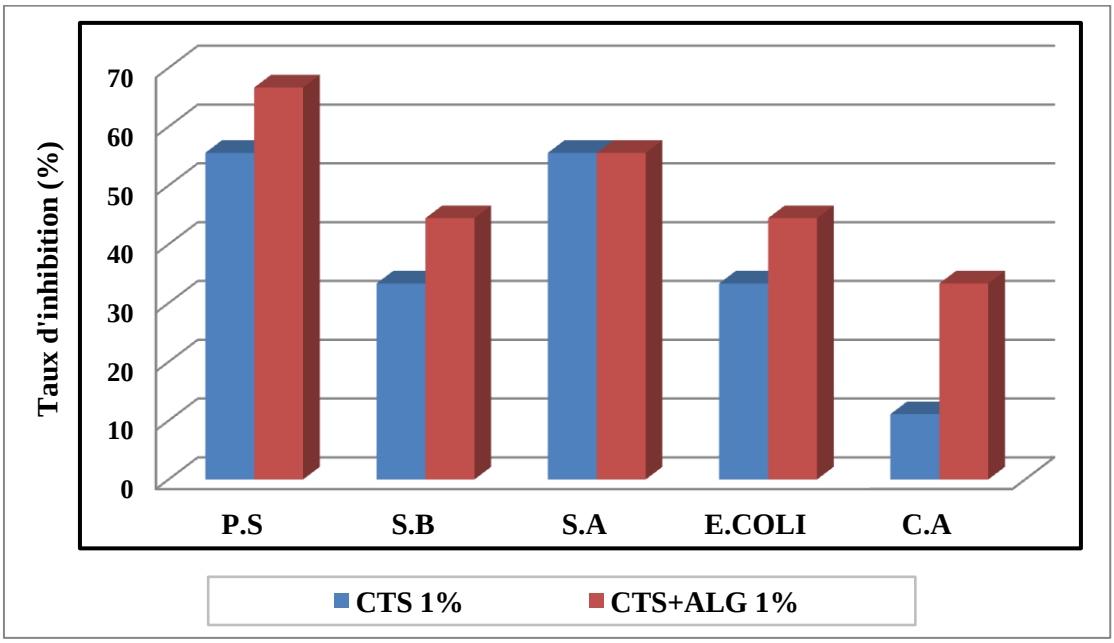


Figure IV-7. Comparaison des deux systèmes étudiés CTS et ALG/CTS à 1%

IV.4 Préparation des films polymériques

Pour préparer les membranes du mélange ALG/CTS, on mélange les deux solutions sous agitation magnétique en ajoutant la solution d'alginate goute à goute à la solution de chitosane.[81]

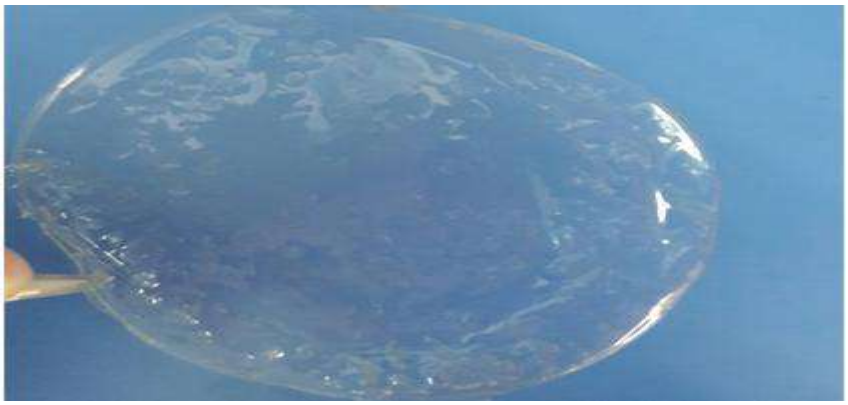
Par la suite, 5mL des différentes solutions préparées sont coulées dans des boites de Pétri et séchées à la température ambiante pendant 72h.

Après le séchage des films, un rinçage est appliqué avec une solution de NaOH à 1% suivie de deux autres rinçages avec de l'eau distillée. Cette étape est réalisée afin d'éliminer d'éventuelles traces de solvants utilisés lors de la solubilisation des biopolymères.

La Figure IV-8 montre les différents films obtenus.



(A)



(B)

Figure IV-8 : les différents films obtenus par CTS (A) et ALG/CTS (B)

IV.4.1 **Caractérisation des films polymériques**

La caractérisation des films polymériques est réalisée en étudiant leurs taux de gonflement, la variation des taux d'humidité ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne.

IV.4.1.1 Etude du gonflement

Etant donné que les membranes préparées seront destinées à des applications où elles seront en contact avec des fluides corporels, le gonflement de ces membranes présente une grande importance, notamment si on considère que dans certains cas ce dernier a des effets sur les propriétés et les performances des membranes.

L'étude du gonflement permet d'établir la cinétique de pénétration du milieu externe dans les films polymériques. Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et son augmentation de volume au cours du temps.

Le taux de gonflement des films a été réalisé dans une solution de larmes artificielles ARTELAC® vendues au niveau des pharmacies. Les pesés des films étudiés ont été effectuées toutes les 30 minutes à température ambiante.

La technique d'analyse de la cinétique de gonflement est basée sur une méthode gravimétrique. Cette méthode consiste à mesurer la quantité de liquide absorbée par les films polymériques en fonction du temps jusqu'à l'équilibre.

a. Mode opératoire

- Peser un film polymérique sec sur une balance analytique de précision.0.0001g
- Incorporer le film polymérique soigneusement dans 25ml de la solution de larmes artificielles ARTELAC®.
- A des intervalles de temps réguliers, le film polymérique est retiré du milieu de dissolution et posé sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide,
- Peser le film polymérique obtenu à l'aide d'une balance analytique de précision. 0.0001g

Les taux de gonflement sont calculés par la formule suivante :

$$\textbf{Taux de gonflement}\ (\%) = \frac{\mathbf{m_g - m_i}}{\mathbf{m_i}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{4.2})$$

Où m_i est la masse film polymérique à l'état initial (au temps t_0) et, $m_g$est la masse film polymérique à l'état gonflé (au temps t).

Les figures suivantes illustrent l'évolution du taux de gonflement des films de CTS et du système ALG/CTS (figure IV.9) en fonction du temps.

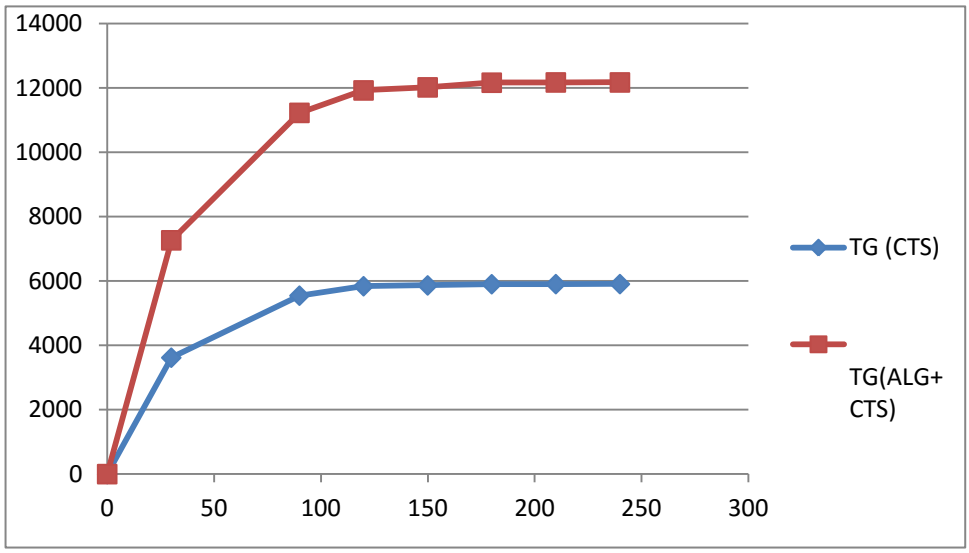


Figure IV-9 : Evolution du taux de gonflement des films de CTS et de ALG/CTS en fonction du temps

Le système ALG/CTS montre un taux de gonflement de 12000% par rapport à celui du CTS qui est autour de 6000% avec un plateau d'équilibre dès 120 minutes. Cela montre que l'ajout de l'alginate de sodium permet de conférer des propriétés hydrophiles au film polymérique.

En effet, l'ajout de l'alginate de sodium (qui représente une porosité très importante par rapport aux autres polymères) [82], dans notre cas, augmente la porosité du milieu ce qui conduit à l'augmentation de la capacité d'absorption des films à base de ALG/CTS par rapport à ceux du CTS seul.

IV.4.1.2 Variation des Taux d'humidité des films

Comme il a été déjà mentionné, le but de notre étude est d'incérer les films de CTS et de ALG/CTS sur les lentilles pour assurer leur conservation. Pour se faire, les films doivent rester coller sur la lentille le long de la durée d'utilisation. Pour cela, nous étudierons le taux

d'humidité des films obtenus et comparer ce dernier avec celui des lentilles qui est de 40%, (donnée par le fournisseur).

Mode opératoire :

- Peser un film polymérique sec sur une balance analytique de précision.0,0001g
- Mètre le film dans l'étuve à une température de 60°C.
- A des intervalles de temps réguliers, le film polymérique est retiré.
- Peser le film polymérique obtenu à l'aide d'une balance analytique de précision. 0,0001g

On a calculé le taux d'humidité par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidite (\%)} = \frac{mH - ms}{ms} \times 100 \qquad (\mathbf{4.3})$$

Avec :

mH : masse du film polymérique humide à l'instant t=0

ms : masse du film polymérique sec à l'instant t

Les figures suivantes illustrent l'évolution du taux d'humidité des films de CTS et du système CTS/ALG (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) en fonction du temps.

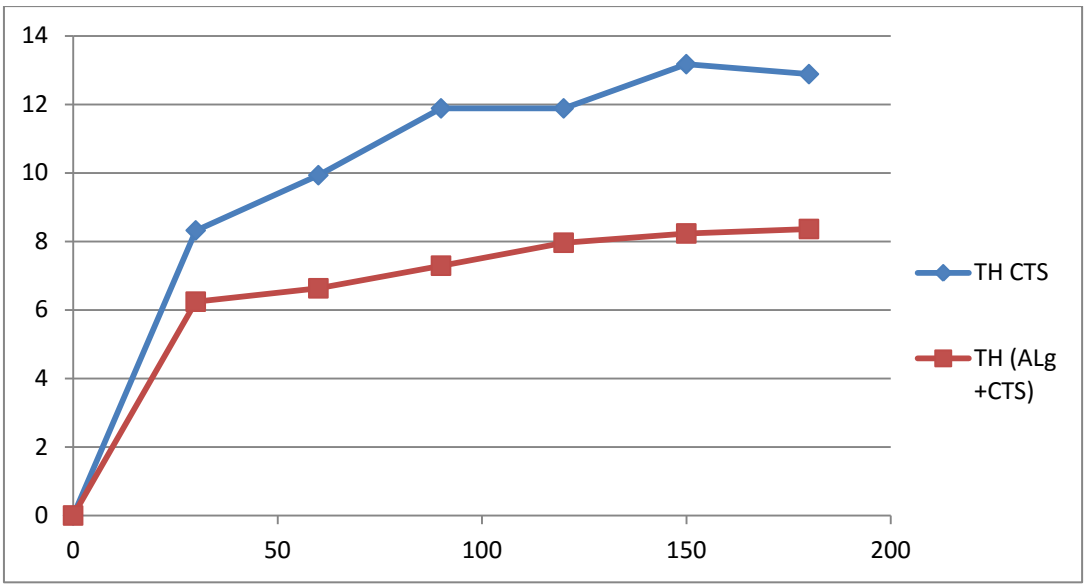


Figure IV-10: Evolution du taux d'humidité des films de CTS et ALG/CTS en fonction du temps

Les Figure IV-**Erreur ! Source du renvoi introuvable.** montre une augmentation du taux d'humidité en fonction du temps avec des taux maximums de 8 et 13% pour les systèmes ALG/CTS et CTS respectivement. Cela dit que, les TH présentés par les films sont inférieurs à celui des lentilles de contact étudiées ce qui justifie le phénomène d'adhésion des films sur la surface de ces dernières. En effet, l'eau passe des lentilles vers les films et non pas le contraire ce qui améliore leur adhésion.

IV.4.2 **Etude des propriétés antimicrobienne des films**

Pour effectuer le test antimicrobien des films étudiés, ces derniers sont tout d'abord coupés en petits morceaux et mis dans un tube à essai contenant 5ml d'eau distillée stérile.

Par la suite on y ajoute 0.1ml de chacune des suspensions microbiennes des différentes souches testées. Les tubes sont laissés pour incubation pendant un temps de contacte de 2h. Les mêmes étapes seront appliquées sur un tube témoin sans aucun film ainsi qu'avec une solution étalon d'Ampicilline.

Enfin, deux gouttes seront prélevées des différentes solutions préparées et étalées sur une boite de pétri contenant le milieu de culture à l'aide d'une pipette pasteur. Les boites seront, par la suite incubées 24 heures à 37°C, pour les bactéries et 35°C pour 48h pour les levures

Les résultats des tests antimicrobiens des films analysés sont résumés dans le Tableau IV-6.

Tableau IV-6. Résultats des tests antimicrobiens des films polymériques

	C.A	E.COLI	S.A	P.S	S.B
Témoin	-	-	-	-	-
CTS	+++	++	+	-	++++
ALG/CTS	++++	+	+++	+++	++++
Etalon	++++	++++	++++	++++	++++

Légende : (-) pas d'inhibition, (+) faible, (++) moyenne, (+++) bien, (++++) Excellent (absence total de la prolifération microbienne).

D'après les résultats obtenus, nous pouvons remarquer que les films à base du CTS seul montre un effet antimicrobien mais qui est moyen en le comparant à l'étalon qui est l'ampicilline. Nous pouvons aussi remarquer l'effet antibactérien du mélange ALG/CTS qui est excellant. En effet, il y a une absence totale de prolifération des différentes souches étudiées (C.A ; S.B).

IV.5 Enrobage des lentilles de contact

Les films polymériques étudiés précédemment ont été utilisés pour l'enrobage des lentilles de contact. Ces dernières ont été émergées dans la solution préalablement préparée et ont été laissées à température ambiante sous une haute à flux d'air laminaire pour éviter toutes éventuelle contamination.

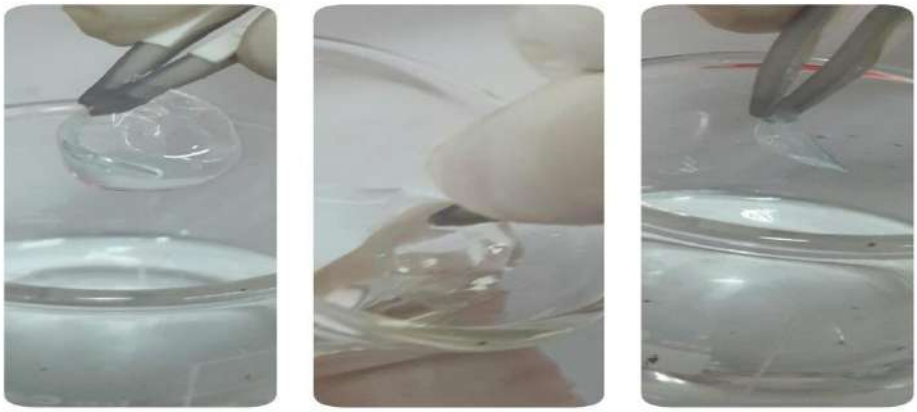


Figure IV-10 : La méthode d'enrobage des lentilles de contact

IV.5.1 **Etude du gonflement des lentilles de contact enrobées**

La caractérisation des lentilles de contact enrobées des différents films polymériques est réalisée en étudiant leurs taux de gonflement, ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne.

L'étude du gonflement a été réalisée avec la même méthode décrite dans la section IV.4.1.1.

Les résultats de la cinétique de gonflement des lentilles de contact enrobées sont présentés dans la Figure IV-11.

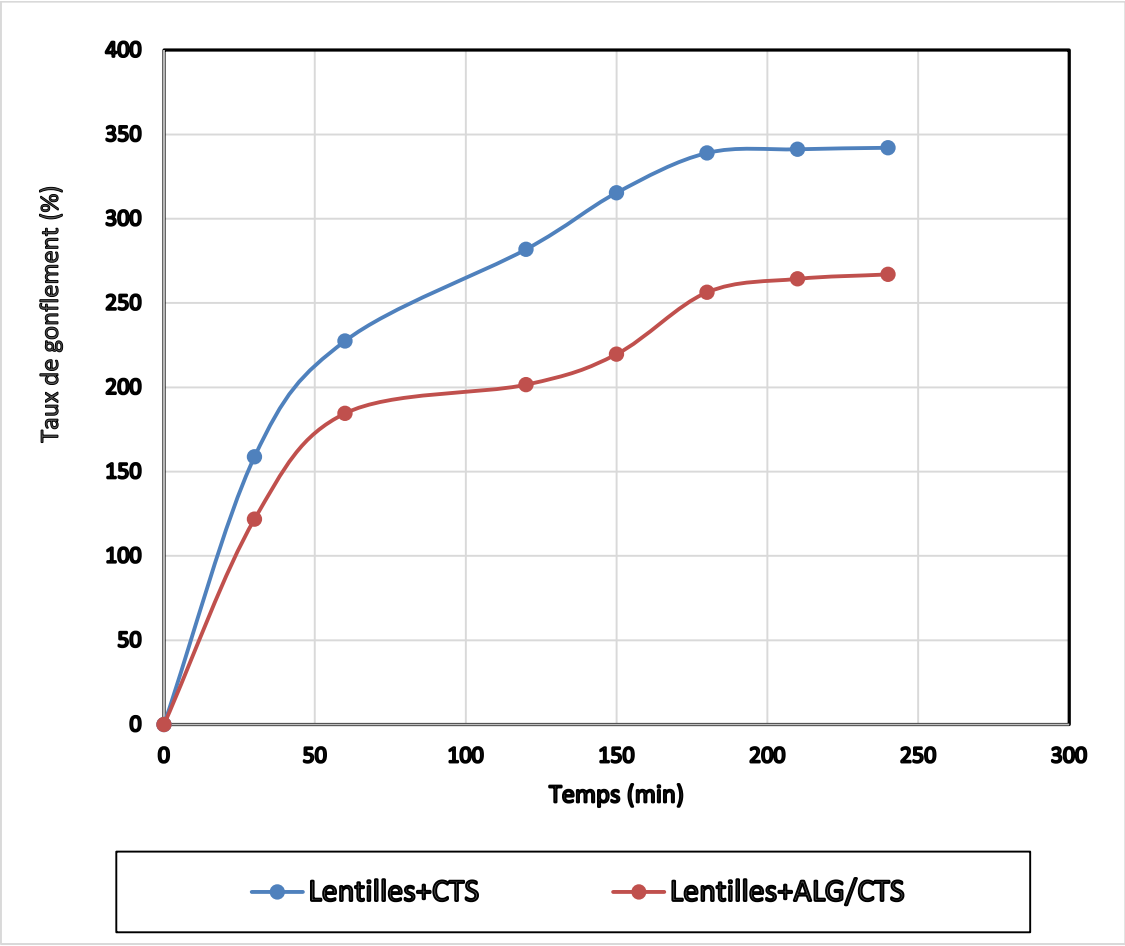


Figure IV-11: Evolution du taux de gonflement des lentilles de contact enrobées par un film de CTS (bleu) et un film de ALG/CTS (rouge) en fonction du temps.

La figure montre la présence de deux phases de gonflement. La première présente la diffusion de l'eau par osmose. En effet, lorsqu'un gel est immergé en solution, les molécules d'eau commencent par gonfler la surface de l'échantillon puis diffusent vers le centre du gel,

créant ainsi un gradient de concentration. La présence de groupements chargés le long de la chaîne s'accompagne de contre-ions mobiles, qui assurent l'électro neutralité.

La pression osmotique qu'exerce le passage du liquide du milieu externe vers le milieu interne, ainsi que les répulsions électrostatiques entre les chaînes de polymères, conduisent les gels de polyélectrolytes à des taux de gonflement important allant jusqu'à plusieurs centaines de fois leur propre poids en solvant.

La cinétique d'absorption d'eau, mise en évidence par la mesure de la quantité d'eau absorbée par l'hydrogel au cours du temps d'immersion, dépend de la vitesse de relaxation des chaînes de polymères par rapport à la vitesse de diffusion du solvant [83]. La deuxième phase représente l'érosion du gel formant le film qui suit le gonflement important du réseau.

Nous pouvons aussi remarquer que le taux de gonflement des lentilles imprégnées par le film à base de CTS est plus important par rapport aux lentilles imprégnées par le film à base du mélange ALG/CTS. Cela peut être expliqué par le fait qu'une partie des charges du CTS sont utilisées pour fixer le film sur la surface des lentilles de contact et pour l'association avec l'ALG ce qui diminue les répulsions électrostatiques des chaines, par conséquent, le taux de gonflement diminue également.

IV.5.2 **Etude des propriétés antimicrobienne des lentilles de contact enrobées**

Les lentilles de contact enrobées par les films polymériques seront coupées en petits morceaux pour effectuer le test antimicrobien. Les mêmes étapes appliquées pour les films (section IV.4.2) seront appliquées sur les lentilles de contact enrobées par les films polymériques. Les mêmes étapes seront appliquées sur un tube témoin contenant des lentilles de contact non enrobées ainsi qu'avec une solution étalon d'Ampicilline.

Les résultats des tests antimicrobiens des films analysés sont résumés dans le Tableau IV-7.

Tableau IV-7. Résultats des tests antimicrobiens des lentilles de contact enrobées par les films polymériques.

	C.A	E.COLI	S.A	P.S	S.B
Témoin	-	-	-	-	-
CTS	++	-	++	+	++++
CTS+ALG	++	++	+++	+++	++++
Blanc	-	-	-	-	-
Etalon	++++	++++	++++	++++	++++

Légende : (-) pas d'inhibition, (+) faible, (++) moyenne, (+++) bien, (++++) Excellent (absence total de prolifération microbienne).

D'après les résultats obtenus lors de cette étude, on peut dire que les lentilles de contact seules n'offre aucune protection microbienne. Cela parait évident en voyant les résultats de la contamination observée dans tous les échantillons de blanc analysé.

L'analyse des lentilles de contact enrobées à base du film polymérique de CTS offre une inhibition moyenne en le comparant à l'échantillon de l'étalon antibiotique d'Ampicilline. Cela confirme l'activité antibactérienne du biopolymère CTS.

Cette activité est inexistante sur la souche de l'E.COLI. où on n'a remarqué aucune inhibition. Cela peut être expliqué par le fait que cette souche résiste au milieu et prolifère en présence des lentilles de contact. En effet en comparant ces résultats avec les films individuels, les films à base de CTS résistent à la souche E.COLI. quand celui-ci est seul dans le milieu.

Cette étude a également montrée que les lentilles de contact enrobées à base du film polymérique de ALG/CTS offrait une protection microbienne allant de moyenne à excellente pour les différentes souches étudiées. En effet, aucune contamination n'a été détectée dans les échantillons analysés.

IV.6 Conclusion :

Cette étude nous a permis d'évaluer les propriétés antimicrobiennes de deux biopolymères qui sont ALG et CTS seul et ensemble en solution.

L'imprégnation des lentilles de contact par différents types de films polymériques nous permis d'établir une méthode de travail efficace pour garantir une protection

antimicrobienne aux lentilles de contact par simple adhésion des films polymériques à la surface des lentilles de contact.

Le mélange des deux biopolymères polyélectrolytes offre une meilleure protection bactérienne que l'utilisation individuelle des biopolymères. Une synergie a été démontré quand à l'utilisation de film à base de ALG /CTS.

Conclusion générale

La majorité des études scientifique dans le domaine médicale et développement des produits pharmaceutiques et parapharmaceutiques s'oriente ver tous se qui est naturel et biologique et surtout l'utilisation des biopolymères pour ceci on a étude deux biopolymères Alginate et Chitosane et leur propriétés

Notre travail a commencé par la préparation des solutions des polymères plus la préparation du mélange des deux polymères qui a donné un complexe polyélectrolytes qui a prouve des résultats très importantes dans les testes antibactériens et cette étape a montres la concentration optimal des solution de 1% pour préparé les films de CTS seul et les films de complexe ALG/CTS

La préparation des films a idée de faire plusieurs études qui ont déterminé le taux de gonflement par utilisation des l'armes artificiels qui été très grande pour le film du complexe, le taux d'humidité des films pour étudiée la possibilité d'enrobage et l'efficacité antibactérienne des films

Finalement L'enrobage des lentilles est réalisée par des solutions 1% le film est collé sur la surface grâce a les forces électrostatique (charge opposé) et le phénomène d'adhésion ces deux phénomènes justifie la diminution du taux de gonflement dans les lentilles enrobées. L'étude microbienne sur les lentilles enrobée a montres leurs efficacités de détruire les germes

Ces résultats peuvent êtres un début de chemin plusieurs recherches comme :

- ✓ Utilisation d'un autre biopolymere pour la préparation du complexe
- ✓ Des études sur la perméabilité des films
- ✓ Détermination du capacité de film a porte de PA
- ✓ Test microbien pour les bactéries qui existe naturellement dans l'œil

Références bibliographiques

[1] "La-prévention-des-dépots-en-contactologie", Laboratoire ALLERGAN, www.catalogue-lentilles.fr, consulté le 15 mars 2016.

[2] F. Shahidi, J. K.V. Arachchi and Y-J. Jeon, "Food applications of chitin and chitosans", *Trends Food Sci. Technol.,* vol. 10, pp. 37-51, 1999.

[3] T.A. Khan, K.K. Peh and H.S. Ch'ng, "Mechanical bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing", *J. Pharm. Pharm. Sc.*, vol.3, pp. 303–311, 2000.

[4] M.S. Chiou and H.Y. Li, "Adsorption behaviour of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads", *Chemosphere,* vol. 50, PP. 1095–1105, 2003.

[5] F. Chellat, "Biocompatibilité, biodégradation et influence de la stérilisation sur le complexe chitosane-xanthane", Institut de génie biomédical, Ecole polytechnique de Montréal, Canada, 1999.

[6] R. Chandra and R. Rustgi, "Biodegradable polymers", *Prog. Polym. Sci.,* vol. 23, pp. 1273-1335, 1998.

[7] F. Podczeck and B. Jones, "Pharmaceutical Capsules", Second Edition, Pharmaceutical Press, London, 2004.

[8] M.O. Nisperos-Carriedo, "Edible coatings and films based on polysaccharides", Technomic Publishing Company Inc, Lancaster, Pennsylvania, pp. 305-335, 1994.

[9] K. Kurita, "Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans", *Mar Biotechnol (NY),* vol. 8, pp. 203-226, 2006.

[10] M.J. Zohuriaan-Mehr, "Advances in chitin and chitosan modification through graft copolymerization : A comprehensive review", *Iran. Polym. J.,* vol. 14, pp. 235-265, 2005.

[11] S. Gogev, M.F. Versali and E. Thiry, "Les chitosanes-nouveaux adjuvants pour la vaccination par voie muqueuse chez les animaux", Ann. Méd. Vét., vol. 147, pp. 343-350, 2003.

[12] C. Chatelet, O. Damour and A. Domard, "Influence of the degree of acetylation on some Biological properties of chitosan Films", *Biomaterials,* vol. 22, pp. 261-268, 2001.

[13] M.G. Peter, "Applications and environmental aspects of chitin and chitosan", *J. Macromol. Sci. A,* vol. 32, pp. 629-640, 1995.

[14] R.H .Chen and M.L. Tsaih, "Effect of temperatures on the intrinsic viscosity and conformation of chitosan in dilute HC1 solution", *Int. J. Biol. Macromol.,* vol. 23, pp. 135-141, 1998.

[15] G. Berth, H. Dautzenberg and M. G. Peter, "Physico-chemical characterization of chitosans varrying in degree of acetylation", *Carbohyd. Polym.,* vol. 36, pp. 205-216, 1998.

[16] M. Amiali, "Caractérisation des films de chitosane par la perméabilité à la vapeur d'eau et aux gaz (CO_2, O_2)", thèse en sciences des aliments, université Laval, Canada, 1999.

[17] O. Cognasse, "Les emballages deviennent actifs", L'Usine Nouvelle- n°3132, pp 50-52, février 2009.

[18] W.L. Charls, et al., "Potential and vegetables", Appalachain Fruit Res.St,45 Wiltshire Road, Kearneysville,WV 25430,1994.

[19] D. Knorr, "Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management", *Food Technol.Chicago,* vol. 45, pp. 114-122, 1991.

[20] S. Setha, S. Kanlayanarat and H. Gemma, "Effect of various molecular weight of chitosan coating on the ripening of caven dish banana", Proceedings of the APEC symposium on postharvest handling systems Bangkok, p. 395, Thailand September 1-3, 2003.

[21] A. Bégin and M-R. V. Calsteren, "Antimicrobial films produced from chitosane", *Int. J. Biol. Macromol.,* vol. 26, pp. 63-67, 1999.

[22] R. C. Goy, D. de Britto and O. B. G. Assis, "A review of the antimicrobial activity of chitosan", *Polímeros,* vol.19, pp. 1678-5169, 2009.

[23] I. M. Helander, E. L. Numiaho-Lassila, R. Ahvenainen, J. Rhoades and S. Roller, "Chitosan distrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram negative bacteria", *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 71, pp. 235-244, 2001.

[24] P. Laflamme, N. Benhamou, G. Bussières and M. Dessureault, "Differentiel effect of chitosan on root rot fungal pathogens in forest nurseries", *Can. J. Botany*, vol. 77, pp. 1460-1468, 2000.

[25] R. A. Muzzareli, C. Muzzarelli, R. Tarsi, M. Miliani, F. Gabbanelli and M. Cartolari, "Fungistatic Activity of modified chitosans against Saprolegnia parasitica", *Biomacromolecules,* vol. 2, pp. 165-169, 2001.

[26] B. K. Choi, K. Y. Kim, Y. J. Yoo, S. J. Oh, J. H. Choi, and C.Y.Kim, "In vitro antimicrobial activity of chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *sterptococcus* mutans", *Int. J. Antimicrob. Agent,* vol. 18, pp. 553-557, 2001.

[27] F. Devlieghere, A. Vermeulen and J. Debevere, "Chitosan : antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables", *Food Microbil.*, vol. 21, pp. 703-714, 2004.

[28] X. F. Liu, Y. L. Guan, D. Z. Yang, Z. Li and K. D. Yao, "Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosane", *J. Appl. Polym. Sci.,* vol. 79, pp. 1324-1335, 2001.

[29] S. Roller and N. Covill, "The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice", *Int. J. Food Microbiol.,* vol. 47, pp. 67-77, 1999.

[30] M.N.V.R. Kumar, "A review of chitin and chitosan applications", *React. Funct. polym.*, vol. 46, pp. 1-27, 2000.

[31] Y. Fukumori and H .Ichikawa, "Nanoparticles for cancer therapy and diagnosis", *Adv. Powder Technol*., vol. 17, pp. 1-28, 2006.

[32] B.K. Park and M-M. Kim, "Applications of Chitin and Its Derivatives in Biological Medicine", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 11, pp. 5152–5164, 2010.

[33] M. Rinaudo, "Chitin and chitosan: Properties and applications", *Prog. Polym. Sci.*, vol 31, pp. 603-632, 2006.

[34] G. Lang, T. Clausen, The use of chitosan in cosmetics. In: Skjak-Braek, G., Thorleif Anthosen, T., Standford, P. (Eds.), Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry. Physical Properties and Applications. Elsevier Applied Science, London and New York, pp. 139–147, 1989.

[35] P. Gacesa, "Alginates", *Carbohyd. Polym.*, vol. 8, pp. 161-182, 1988.

[36] T.A. Fenoradosoa, G. Ali, C. Delattre et al., "Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides Grunow", J. Appl. Phycol.*, vol. 22, pp. 131-137, 2010.

[37] A. Haug, B. Larsen and O. Smisrod, "Uronic acid sequence in alginate from different sources", *Carbohyd. Res.*, vol. 32, pp. 217-225, 1974.

[38] K.I. Draget, O. Smidsrod and G. Skjak-Braek, "Alginates from algae", In *Polysaccharides and polyamides in the food industry. Properties, production and patents*, pp. 1-30, 2005.

[39] A. Martinsen, I. Storro and G. Skjak-Braek, "Alginate as immobilization material: III. Diffusional properties", *Biotechnol.Bioeng*, vol. 39, pp. 186-194, 1992.

[40] A. Stequert, Transfert de matière dans les gels d'alginate, thèse de diplôme d'Etat de docteur en pharmacie, Nancy, pp. 21-30, 2009.

[41] A. Wolnik, L. Albertin, L. Charlier and K. Mazeau, "Probing the helical forms of Ca^{2+}- guluronan junction zones in alginate gels by molecular dynamics 1: Duplexes", *Biopolym.*, vol. 99, pp. 562-571, 2013.

[42] M. Rastello De Boissesson, et al., "Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability", *J. Colloid Interf. Sci.*, vol. 273, pp. 131-139, 2004.

[43] K. I. Draget et al., "Effects of molecular weight and elastic segment flexibility on syneresis in Ca-alginate gels", *Food Hydrocolloid.*, vol. 15, pp. 485-490, 2001.

[44] Y. A. Morch, I. Donati, B. L. Strand and G. Skjak-Brak, "Effect of Ca^{2+}, Ba^{2+}, and Sr^{2+} on alginate microbeads", *Biomacromolecules*, vol. 7, pp. 1471-1480, 2006.

[45] L.K. Jang, D. Nguyen and G.G. Geesey, "Selectivity of alginate gel for Cu over Zn when acidic conditions prevail", *Water Research*, vol. 33, pp. 2817-2825, 1999.

[46] R. Rodriguez, C. Alvarez-Lorenzo and A. Concheiro, "Cationic cellulose hydrogels: kinetics of the cross-linking process and characterization as pH-/ ion-sensitive drug delivery systems", *J.Control. Release*, vol. 86, pp. 253-265, 2003.

[47] A. I. Zouboulis and I. A. Katsoyiannis, "Arsenic removal using iron oxide loaded alginate beads", *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 41, pp. 6149-6155, 2002.

[48] G. Meera and T. Abraham, "Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan a review", *J. Control Release*, vol. 114, pp. 1-14, 2006.

[49] P. Vauchel, "Optimisation de procédés innovants pour l'obtention des Phycocolloides", thèse de doctorat de l'université de Nantes, centre IFREMER, Nantes, pp. 32, 2007.

[50] J. Barr, "2004 Annual Report", sur Contact LensSpectrum, janvier 2005, consulté le 31 Avril 2016.

[51] **"**Les lentilles rigides sur le site de la société françaised'ophtalmologie" (Archive Wikiwix Archive.is Google Que faire?), surlentillesdecontact.info, consulté le 31 Avril 2016.

[52] N. Efron, "*Contact Lens Practice"*, Elsevier Health Sciences, Part 2: soft contact lenses, 2002.

[53] N. Brennan and P. Morgan, "Part I: Clinical Highs & Lows of Dk/t. Has oxygen run out of puff? ", Optician, Vol 238, 16–20, 2009.

[54] H.D. Cavanagh, P.M. Ladage, S.L. Li, et al., "Effects of daily and overnight wear of a novel hyper oxygen transmissible soft contact lens on bacterial binding and

corneal epithelium: a 13-month clinical trial", Ophthalmology, vol. 109, pp. 1957-69, 2002.

[55] G. Grobe, J. Kunzler, *et al.*, "Silicone hydrogels for contact lens applications", *Polym. Mater. Sci. Eng.*, vol. 80, pp. 108-109, 1999.

[56] P.C. Nicolson, J. Vogt, "Soft contact lens polymers: an evolution", *Biomaterials*, vol. 22, pp. 3273-3283, 2001.

[57] B. Tighe, "*Silicone hydrogels: Structure, properties and behaviour"*, in "*Silicone Hydrogels: Continuous Wear Contact Lenses"*, D. Sweeney, Editor. Butterworth-Heinemann, Oxford, pp 1 – 27, 2004.

[58] F. Le Cherpie, " Silicone-hydrogel : une réelle amélioration en contactologie quotidienne", Contactologie, Les cahiers /d'ophtalmologie n°107, février 2007.

[59] P. Bergenske, et al., "Long-term clinical results: 3 Years of up to 30-night continuous wear of lotrafilcon A silicone hydrogel and daily wear of low-Dk/t hydrogel lenses", *Eye & Contact Lens*, vol. 33, pp. 74-80, 2007.

[60] J. Stern, et al., "Comparison of the performance of 6-or 30-night extended wear schedules with silicone hydrogel lenses over 3 years", *Optom. Vis. Sci*., vol.81, pp.398-406, 2004.

[61] J. Bonanno et al., "Tear oxygen under hydrogel and silicone hydrogel contact lenses in humans", *Optom. Vis. Sci*., vol. 86, pp. 936-942, 2009.

[62] N.P. Hartenbaum and C.M. Stack, "Color vision deficiency and the X-Chrom lens", *Occup. Health Saf*., vol. 66, pp. 36-40, 1997.

[63] I.M. Siegel, "The X-Chrom lens. On seeing red",Surv. Ophthalmol., vol. 25, pp. 312-24, 1981.

[64] "Lentilles colorées ou de fantaisie", Avis du conseil supérieur de la santé N° 9140, Conseil Supérieur de la Santé, http://www.health.belgium.be, décembre 2014, (consulté le 3 mars 2016).

[65] S. Berthemy-Pellet, "La « silicone-hydrogel thérapie » Cas cliniques", Contactologie, Les cahiers /d'ophtalmologie, n° 117 • Février 2008.

[66] M. Senchyna, L. Jones et al., "Quantitative and conformational characterization of lysozyme deposited on balafilcon and etafilcon contact lens materials", *Curr. Eye. Res*., vol. 28, pp. 25-36, 2004.

[67] L. Jones, M. Senchyna et al., "Lysozyme and lipid deposition on silicone hydrogel contact lens materials", *Eye Contact Lens*, vol. 29, pp. 75-79, 2003.

[68] J. McNally, C.D. McKenney, "A clinical look at a silicone hydrogel extended wear lens", *Contact Lens Spectrum*, vol. 17, pp. 38-41, 2002.

[69] G.M. Bruinsma, H.C. van der Me *et al.*, "Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses", *Biomaterials*, vol. 22, pp. 3217-3224, 2001,

[70] L. Jones, A. Mann et al., "An in vivo comparison of the kinetics of protein and lipid deposition on group II and group IV frequent-replacement contact lenses", Optom. Vis. Sci., vol.77, pp. 503-510, 2000.

[71] M. D. P. Willcox, "Microbial Adhesion to Silicone Hydrogel Lenses: A Review", *Eye & Contact Lens*, vol. 39, p. 1, 2013.

[72] S.P. Johnston et al., "Resistance of *Acanthamoeba* Cysts to Disinfection in Multiple Contact Lens Solutions", *J. Clin. Microbiol*., vol. 47, p. 2040-2045, 2009.

[73] M. Padzik et al., "In vitro effects of selected contact lens care solutions on *Acanthamoeba castellanii* strains in Poland", Exp. Parasitol., vol. 145, pp. 98-101, 2014.

[74] A.P; de Aguiar , C. de Oliveira Silveira , M.A. Todero Winck , M.B. Rott , "Susceptibility of *Acanthamoeba* to multipurpose lens-cleaning solutions", *Acta Parasitol*., vol. 58, p. 304-308, 2013.

[75] The Staining Grid Center,« Andrasko Corneal Staining Grid » (consulté le 19 mai 2016).

[76] K Hiti, "Viability of *Acanthamoeba* after exposure to a multipurpose disinfecting contact lens solution and two hydrogen peroxide systems", *Brit. J. Ophthalmol.*, vol. 86, p. 144-146, 2002.

[77] S.M. Hudson, D.W. Jenkins, "Chitin and chitosane", in : EPST.Mark HF; ed. New York: Wiley. 569, 2003.

[78] K.I. Suhr and P.V. Nielson, "Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi", *J. Appl. Microbiol*., vol. 94, pp. 665-674, 2003.

[79] M. Lahlou, "Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oilsphytotherapy research", vol. 18, pp. 435-448, 2004.

[80] K. Bosio, C. Avanzini, A. D'avolio, O. Ozimo, D. Savoia, "*In vitro* activity of propolis against *Streptococcus pyogenes"*. *Lett Appl Microbiol,*vol. 31, pp. 174-177, 2000.

[81] " PEC Films Prepared from Chitosan–Alginate Coacervates" Departments of Pharmacya and Chemistry,b National University of Singapore, 10 Kent Ridge Crescent, Singapore 119260. Received December 13, 1999; accepted March 6, 2000 Chem. Pharm. Bull. 48(7) 941—946 (2000) July 2000

[82] I. L. Andresen, O. Skipnes, and O. Smidsrød, "Some Biological Functions of Matrix Components in Benthic Algae in Relation to Their Chemistry and the Composition of Seawater", *Cell. Chem. Technol*., ed. Arthur, J; ACS Symposium Series; American Chemical Society, vol. 61, pp. 361-381, 1977.

[83] A. K. Bajpai, S. K. Shukla, S. Bhanu, and S. Kankane, "Responsive polymers in controlled drug delivery", *Prog. Polym. Sci*., vol. 33, pp. 1088–1118, 2008.