



⑫ **DEMANDE DE BREVET EUROPEEN**

⑳ Numéro de dépôt : **94401452.1**

⑤① Int. Cl.⁶ : **C11D 3/384**

㉔ Date de dépôt : **28.06.94**

③① Priorité : **30.06.93 FR 9307956**

④③ Date de publication de la demande :
04.01.95 Bulletin 95/01

⑧④ Etats contractants désignés :
BE CH DE DK FR GB IT LI NL SE

⑦① Demandeur : **ESSILOR INTERNATIONAL**
(COMPAGNIE GENERALE D'OPTIQUE)
147, rue de Paris
F-94227 Charenton cedex (FR)

⑦② Inventeur : **Baguet, Joel**
16, quai Sarrail
F-69006 Lyon (FR)

⑦④ Mandataire : **Casalonga, Axel**
BUREAU D.A. CASALONGA - JOSSE
Morassistrasse 8
D-80469 München (DE)

⑤④ **Utilisation d'un colostrum ou lait maternel pour inhiber l'accumulation des protéines à la surface de polymères synthétiques utilisés au contact de systèmes biologiques; application à l'entretien des lentilles de contact.**

⑤⑦ La présente invention porte sur l'utilisation d'un colostrum ou d'un lait maternel d'origine humaine ou mammifère, pour inhiber l'accumulation de protéines sur la surface de polymères en contact avec des systèmes biologiques susceptibles de contenir des protéines.

L'invention porte plus particulièrement sur l'entretien des lentilles de contact au moyen d'une solution constituée de colostrum ou de lait maternel d'origine humaine ou mammifère, ainsi que les procédés de traitement mettant en oeuvre cette solution.

La présente invention concerne l'utilisation d'un colostrum ou d'un lait maternel pour inhiber l'accumulation des protéines à la surface de polymères synthétiques généralement utilisés au contact de systèmes biologiques susceptibles de contenir des protéines. L'invention concerne en particulier l'application d'un colostrum ou d'un lait maternel pour l'entretien des lentilles de contact de tout type.

5 La présente invention résulte de recherches effectuées au Laboratoire MEUSE OPTIQUE CONTACT, Centre Hospitalier de BAR LE DUC, FRANCE.

Les lentilles ophtalmiques de contact sont généralement constituées de polymères synthétiques. On distingue deux types de lentilles de contact : les lentilles souples hydrophiles et les lentilles rigides.

10 Les lentilles souples hydrophiles, encore appelées hydrogels, sont obtenues à partir de monomères hydrophiles tels que l'hydroxyéthylméthacrylate (HEMA), l'hydroxyéthylméthylméthacrylate et la vinylpyrrolidone, polymérisés en présence d'agents réticulants. Des copolymères vinylpyrrolidone/méthylméthacrylate se sont révélés être des matériaux présentant une haute hydrophilie et de très bonnes propriétés mécaniques. Des lentilles de ce type sont commercialisées par la Société ESSILOR sous la dénomination "LUNELLE" et renferment à l'état hydraté 72% d'eau.

15 Comme exemples de lentilles rigides, on peut citer les lentilles obtenues à partir des polymères tels que le polyméthacrylate de méthyle (PMMA), les copolymères silicones acrylates.

Lorsqu'une lentille de contact est placée sur l'oeil du porteur, celle-ci est recouverte par des larmes. En particulier un film lacrymal pré-lentille se constitue sur la surface extérieure et une couche de larmes post-lentille se place à l'interface entre la cornée et la lentille. Une première couche de composants lacrymaux (mu-
20 cine, protéines et lipides) adhère au polymère de la lentille et reste adsorbée de manière irréversible par échange d'énergie thermodynamique. Une deuxième couche se constitue de manière réversible conduisant à l'équilibre de la lentille dans le système lacrymal.

Un phénomène d'adsorption des protéines lacrymales de cette deuxième couche à la surface du polymère rompt cet équilibre. Cette adsorption résulte de la dénaturation desdites protéines par les radiations ultraviolettes, par les espèces oxydantes environnantes et les énergies de surface. Cette dénaturation entraîne l'apparition de sites hydrophobes sur les protéines qui sont responsables de leur accumulation à la surface du polymère.

30 Le dépôt de protéines lacrymales formé ainsi à la surface de la lentille diminue fortement l'acuité visuelle et le confort du porteur. Dans certains cas extrêmes, en l'absence d'entretien de la lentille, une réaction inflammatoire et immune de l'oeil aux dépôts protéiques se produit et peut provoquer une conjonctivite papillaire géante.

Par ailleurs, pour les lentilles souples hydrophiles, leur désinfection par ébullition dénature encore et coagule les matières protéiques et conduit à la formation de dépôts blancs opaques adhérant encore plus fermement à la surface de la lentille.

35 De nombreux procédés et solutions de nettoyage ont été mis en oeuvre pour éliminer les dépôts protéiques déjà formés sur les lentilles de contact. On connaît dans l'état de la technique, notamment des procédés comprenant un frottement mécanique de la lentille, l'utilisation des ultra-sons, l'utilisation de compositions tensio-actives, hypertoniques, enzymatiques ou oxydantes. Ces traitements nécessitent généralement une désinfection, soit par voie chimique, soit par voie thermique, par exemple par ébullition dans une solution saline.

40 Il s'avère que les protéines adsorbées sur la surface des lentilles ne peuvent pas être retirées par des compositions classiques détergentes.

Pour garantir une plus longue utilisation de la lentille de contact, il est donc indispensable de nettoyer celle-ci régulièrement et d'empêcher la formation des dépôts de protéines lacrymales difficiles à éliminer, au moyen d'un procédé d'entretien simple à mettre en oeuvre et non toxique pour le système oculaire.

45 La demanderesse a découvert qu'un colostrum ou un lait maternel d'origine humaine ou animal, inhibait le phénomène d'accumulation de protéines à la surface de polymères synthétiques utilisés au contact de systèmes biologiques, en particulier les polymères des lentilles de contact.

La demanderesse a découvert que l'incubation régulière d'une lentille de contact dans une solution de colostrum ou de lait maternel, permettait de réduire considérablement l'accumulation des protéines lacrymales à la surface du polymère de la lentille, sans effet toxique pour le système oculaire.

50 La présente invention a donc pour objet l'utilisation d'un colostrum ou d'un lait maternel d'origine humaine ou d'origine mammifère comme agent inhibiteur de l'accumulation des protéines à la surface des polymères synthétiques au contact de systèmes biologiques.

L'invention concerne plus particulièrement une solution d'entretien des lentilles de contact à base de colostrum ou de lait maternel, permettant de prévenir in vitro la formation de dépôts de protéines lacrymales sur la surface des lentilles.

Un autre objet consiste en un procédé d'entretien des lentilles de contact mettant en oeuvre cette solution.

D'autres objets apparaîtront à la lumière de la description et des exemples qui suivent.

Les solutions d'entretien des lentilles de contact conformes à la présente invention, sont constituées essentiellement d'une solution de colostrum ou de lait maternel humain ou d'origine mammifère.

On utilise plus particulièrement du colostrum ou du lait maternel humains ou du colostrum bovin issu des laiteries. Le lait maternel humain peut être utilisé à l'état frais ou pasteurisé.

5 Les solutions de lait maternel ou de colostrum selon l'invention peuvent être utilisées à l'état pur.

De façon préférentielle, on utilise des solutions de lait maternel ou de colostrum délipidées et partiellement décaséinées selon le procédé de traitement suivant :

a) on effectue une centrifugation du lait ou du colostrum à 2800 g pendant 30 minutes à 4°C;

b) on élimine les liquides superficiels;

10 c) on récupère le liquide principal;

d) on centrifuge le liquide ainsi obtenu à 15000 g pendant 30 minutes à la température de 4°C;

e) on élimine les lipides en surface par aspiration et on récupère le liquide principal résultant;

f) on filtre sur un tamis de 0,22 µm;

15 g) on dilue éventuellement en milieu tampon salin de pH d'environ 7,4 jusqu'à l'obtention de la concentration souhaitée.

Selon la présente invention, les solutions de lait ou de colostrum délipidées contiennent une concentration en protéines inférieure ou égale à 10 mg/ml, selon qu'elles soient pures ou diluées en milieu tampon tel que défini ci-dessus.

20 La concentration en protéines est choisie en fonction du degré d'hydrophilie du polymère de la lentille à traiter. Elle est comprise préférentiellement entre 10⁻³ mg/ml et 10 mg/ml, et plus particulièrement entre 0,01 et 1 mg/ml.

Les solutions d'entretien des lentilles de contact contiennent de préférence un agent tampon du type phosphate mixte, par exemple les combinaisons Na₂HPO₄, NaH₂PO₄ et NaHCO₃ ou le tampon borate.

25 Les solutions selon l'invention présentent de préférence une tonicité voisine de celle du milieu lacrymal. La tonicité peut être ajustée par l'addition de chlorure de sodium.

Les solutions conformes à la présente invention peuvent comporter en outre d'autres agents inhibiteurs des mécanismes responsables de l'encrassement des lentilles, notamment les vitamines A, C et E et/ou le bendazac de lysine.

30 Les vitamines A, C et/ou E sont présentes dans des concentrations comprises de préférence entre 0,05% et 0,2% en poids par rapport au poids total de la solution.

Le bendazac de lysine est utilisé à des concentrations comprises de préférence entre 0,05 et 2% en poids par rapport au poids total de la solution.

Il s'agit de l'acide [(1-(phénylméthyl)-1H indazol-3-yl)oxy] acétique, soit C₁₆H₁₄N₂O₃. On utilise de préférence. le produit vendu sous la dénomination ZILDASAC.

35 Un autre objet de l'invention consiste en un procédé d'entretien de lentilles de contact comprenant l'incubation à température ambiante de la lentille à traiter, dans une solution telle que définie précédemment pendant une durée comprise de préférence entre 1 et 16 heures. L'incubation peut être suivie d'un rinçage dans une solution tampon isotonique au milieu lacrymal avant d'être replacée sur l'oeil du porteur.

40 Dans le cas des lentilles de contact en polymères hydrophiles à haute hydrophilie, on améliore encore l'activité inhibitrice sur la surface du polymère traitée au colostrum ou au lait, selon un procédé de traitement de l'invention comprenant, dans un premier temps, l'incubation de la lentille dans un liquide organique hydrophobe tel que le chloroforme, pendant une durée de quelques secondes, de préférence, de l'ordre de 5 à 15 secondes, suivi de l'incubation de la lentille dans une solution de colostrum ou de lait telle que définie précédemment, pendant une durée de préférence comprise entre 1 et 16 heures.

45 Ainsi, tout porteur de lentilles de contact peut se préserver du dépôt de protéines lacrymales sur la surface des lentilles, en effectuant quotidiennement l'un de ces traitements dans des conditions simples à mettre en oeuvre.

50 Les solutions de lait maternel ou de colostrum telles que définies précédemment, peuvent être utilisées dans de nombreux domaines techniques utilisant des polymères synthétiques en contact avec des systèmes biologiques susceptibles de contenir des protéines, notamment dans l'industrie alimentaire, l'industrie des biomatériaux, le domaine des appareils ou instruments à usage médical ou biologique.

Les exemples qui suivent servent à illustrer l'invention sans toutefois présenter un caractère limitatif.

ETUDE SUR LE POUVOIR INHIBITEUR DE SOLUTIONS DE COLOSTRUM HUMAIN SUR L'ACCUMULATION DES PROTEINES LACRYMALES A LA SURFACE DE POLYMERES SYNTHETIQUES.

Quatre polymères synthétiques ont été testés avec :

- un disque Ø 13 mm en polystyrène;
- une lentille de contact dure en polyméthylméthacrylate (PMMA);
- une lentille de contact souple obtenue à partir d'hydroxyéthylméthacrylate (HEMA) à 38% d'eau;
- une lentille de contact souple en copolymère vinylpyrrolidone/ méthylméthacrylate (NVP/PMMA) à 72% d'eau.

Chaque lentille ou disque est traité selon le mode opératoire suivant :

- a) on effectue une préincubation de la lentille pendant 2 heures dans 2 ml d'une solution tampon phosphate, NaCl de pH 7,4, que l'on nommera solution (T);
- b) on immerge ensuite la lentille dans 2 ml de solution de colostrum humain délipidée selon le procédé décrit ci-dessus et diluée dans une solution (T). Cette solution présente une concentration totale en protéines inférieure à 10 mg/ml (10 mg/ml représente la concentration d'une solution de colostrum délipidée pure). La durée d'incubation est de 16 heures;
- c) on rince pendant 3 minutes la lentille dans 2 ml de solution (T);
- d) on incube pendant 4 heures la lentille dans 2 ml d'albumine conjuguée à la peroxydase de raifort, diluée dans une solution de larme artificielle composée de 2,5 mg/ml d'albumine bovine et 2,5 mg/ml de lysozyme d'oeuf de poule. On reconstitue ainsi la présence de la lentille dans l'oeil recouverte de larmes.

Pour chaque type de polymère testé, on utilise l'albumine marquée à la "concentration optimale". Cette concentration correspond à la concentration de demi-amplitude mesurée sur la courbe représentant l'adsorption de l'albumine marquée sur la surface du polymère en fonction du logarithme de la concentration de la solution lacrymale d'incubation. Cette concentration optimale permet de réaliser les mesures d'adsorption les plus fines possibles;

- e) on effectue trois lavages de 3 minutes dans 2 ml de solution (T);
- f) on immerge la lentille dans une solution révélatrice du système marqueur albumine-peroxydase.

On laisse incuber pendant 30 minutes, dans le noir, la lentille marquée dans 1 ml de solution révélatrice contenant 165 µl de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (6 mg/ml dans le diméthylsulfoxyde DMSO) dans 10 ml de solution 0,11 M acétate de sodium ajusté à pH 5,5 par 1 'acide citrique solide. On stoppe la réaction par 500 µl d'acide sulfurique 4 N. Une partie de cette solution colorée est transférée dans un puits d'une plaque 96 puits et la densité optique DO de la lentille est mesurée à 450 nm grâce à un lecteur de plaques (VMax de Molecular Devices USA) et au moyen d'une lecture automatisée et d'un traitement informatique (Soft Max de Molecular Devices).

La densité optique (DO) de la lentille est liée au taux d'adsorption de protéine marquée sur la surface du polymère, qui reflète le taux total de protéines adsorbées.

On mesure également la densité optique maximale (DO_{max}) correspondant à la quantité maximale possible de protéine marquée adsorbée sur la surface du polymère.

La valeur DO_{max} correspond en fait à la densité optique mesurée sur polymère non traité par la solution de colostrum;

- g) le pourcentage d'inhibition de l'adsorption de la protéine marquée est calculé en effectuant le rapport

$$\left[\frac{DO_{max} - DO}{DO_{max}} \right] \times 100$$

Plus la valeur de ce rapport est élevée, plus le pouvoir inhibiteur de la solution de colostrum est important. A titre de témoins, on effectue l'expérience selon le mode opératoire défini ci-dessus :

- (1) avec la solution tampon (T) , sans effectuer l'étape d'incubation dans une solution de colostrum (DO_{max} ; 0% d'inhibition)

- (2) avec une solution de protéines :

On remplace la solution de colostrum de l'étape (b) par une solution de protéines purifiées (albumine + lysozyme) ou du sérum humain dilué à une concentration équivalente à celle du colostrum.

On détermine leur pouvoir inhibiteur sur l'adsorption de la protéine marquée à la surface de chaque

polymère.

Les résultats de ces essais sont représentés en partie dans le tableau I et dans les courbes représentées sur les figures 1 et 2.

TABLEAU I

Pouvoirs d'inhibition sur l'adsorption de l'albumine marquée (%)					
Solutions inhibitrices Polymère testé	Solution (T) (Témoin)	Solution de colostrum 0,01 mg/ml en protéines	Solution de colostrum 0,1 mg/ml en protéines	Solution de sérum 0,01 mg/ml en protéines	Solution de sérum 0,1 mg/ml en protéines
PMMA	O	88,5	85,5	3	
Polystyrène	O	87,1	89,7	15,4	25,9
HEMA 38% d'eau	O	45,2	55,4	1	4
NVP/PMMA 72% d'eau	O	40,6	60,2	1	25

La figure 1 représente les courbes de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en protéines de la solution de lait testée. Chaque courbe est spécifique au polymère testé.

La figure 2 représente le diagramme en barres, pour chaque polymère, du pouvoir inhibiteur d'une solution de lait ayant une concentration en protéines de 0,1 mg/ml ou 0,01 mg/ml ou d'une solution de sérum diluée à une concentration équivalente à celle du colostrum.

On observe que pour les polymères durs : polystyrène et PMMA, une préincubation de 16 heures dans une solution de colostrum à 0,01 mg/ml en protéines, apporte une inhibition de l'adsorption ultérieure des protéines de 90% environ.

On constate que la préincubation de polymères hydrophiles : HEMA et NVP/PMMA pendant 16 heures dans une solution de colostrum à 0,1 mg/ml, conduit à une inhibition de l'ordre de 60%.

L'inhibition apportée par les protéines est de l'ordre de 1 à 25%.

Revendications

- Utilisation d'un colostrum ou d'un lait maternel humain ou d'origine mammifère, pour inhiber l'accumulation de protéines à la surface d'un polymère synthétique en contact avec un système biologique susceptible de contenir des protéines.
- Utilisation selon la revendication 1, pour inhiber l'accumulation des protéines lacrymales à la surface d'une lentille de contact en polymère synthétique.
- Solution d'entretien de lentilles de contact, caractérisée par le fait qu'elle est constituée de lait maternel ou de colostrum d'origine humaine.

4. Solution d'entretien des lentilles de contact, caractérisée par le fait qu'elle est constituée de lait ou de colostrum bovin.
5. Solution selon la revendication 4, constituée de colostrum bovin.
- 5 6. Solution selon la revendication 3, caractérisée par le fait que le lait maternel humain utilisé est frais ou pasteurisé.
7. Solution selon l'une quelconque des revendications 3 à 6, caractérisée par le fait qu'elle est délipidée et présente une concentration en protéines comprise entre 10^{-3} et 10 mg/ml.
- 10 8. Solution selon la revendication 7, caractérisée par le fait qu'elle présente une concentration en protéines comprise entre 0,01 et 1 mg/ml.
9. Solution selon l'une quelconque des revendications 3 à 8, caractérisée par le fait qu'elle est diluée dans un milieu tampon du type phosphate ou borate dont le pH est d'environ 7,4.
- 15 10. Solution selon l'une quelconque des revendications 3 à 9, caractérisée par le fait qu'elle comprend en plus du chlorure de sodium.
11. Solution selon l'une quelconque des revendications 3 à 10, caractérisée par le fait qu'elle contient en plus un agent inhibiteur des mécanismes de l'encrassement des lentilles de contact.
- 20 12. Solution selon la revendication 11, caractérisée par le fait que l'agent inhibiteur supplémentaire est choisi parmi la vitamine A, la vitamine C ou la vitamine E ou le bendazac de lysine ou leurs mélanges.
- 25 13. Solution selon la revendication 12, caractérisée par le fait que la concentration en vitamines A, C et/ou E est comprise entre 0,05 et 0,2% en poids et la concentration en bendazac de lysine est comprise entre 0,05 et 2% en poids par rapport au poids total de la composition.
- 30 14. Procédé de préparation de la solution telle que définie dans la revendication 7, caractérisé par le fait qu'on centrifuge un colostrum ou un lait maternel humain ou d'origine mammifère à 2800 g pendant 30 minutes à 4°C, qu'on rejette les liquides superficiels et récupère le liquide principal; qu'on centrifuge le liquide ainsi obtenu à 15000 g pendant 30 minutes à 4°C; qu'on aspire les lipides en surface; qu'on récupère le liquide résultant et qu'on le filtre sur un tamis de 0,22 μ m; la solution ainsi obtenue étant éventuellement diluée ensuite dans un milieu tampon dont le pH est d'environ 7,4.
- 35 15. Procédé d'entretien de lentilles de contact, caractérisé par le fait qu'il comprend l'incubation à température ambiante desdites lentilles dans une solution telle que définie dans l'une quelconque des revendications 3 à 13, pendant une durée comprise entre 1 et 16 heures, suivie éventuellement d'un rinçage en solution tampon isotonique au milieu lacrymal avant d'être replacée sur l'oeil du porteur.
- 40 16. Procédé d'entretien de lentilles de contact en polymère hydrophile à haut degré d'hydrophilie, caractérisé par le fait qu'il comprend l'incubation desdites lentilles dans un liquide organique hydrophobe pendant une durée comprise entre 5 et 15 secondes, suivie de l'incubation dans une solution de colostrum ou de lait maternel telle que définie dans l'une quelconque des revendications 3 à 13 pendant une durée comprise entre 1 et 16 heures.
- 45 17. Solution de traitement préventif contre l'accumulation de protéines à la surface d'un polymère synthétique utilisé en contact d'un système biologique susceptible de contenir des protéines, caractérisée par le fait qu'elle est identique à la solution telle que définie dans l'une quelconque des revendications 3 à 13.
- 50

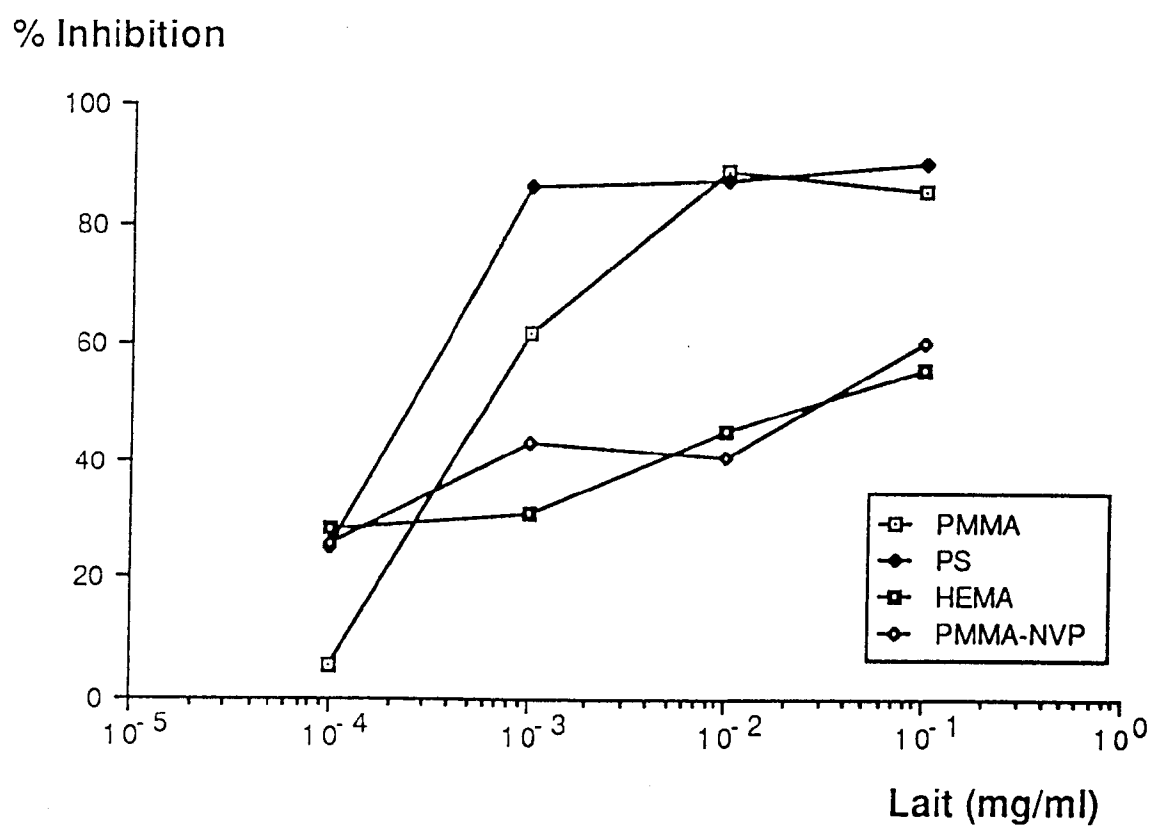
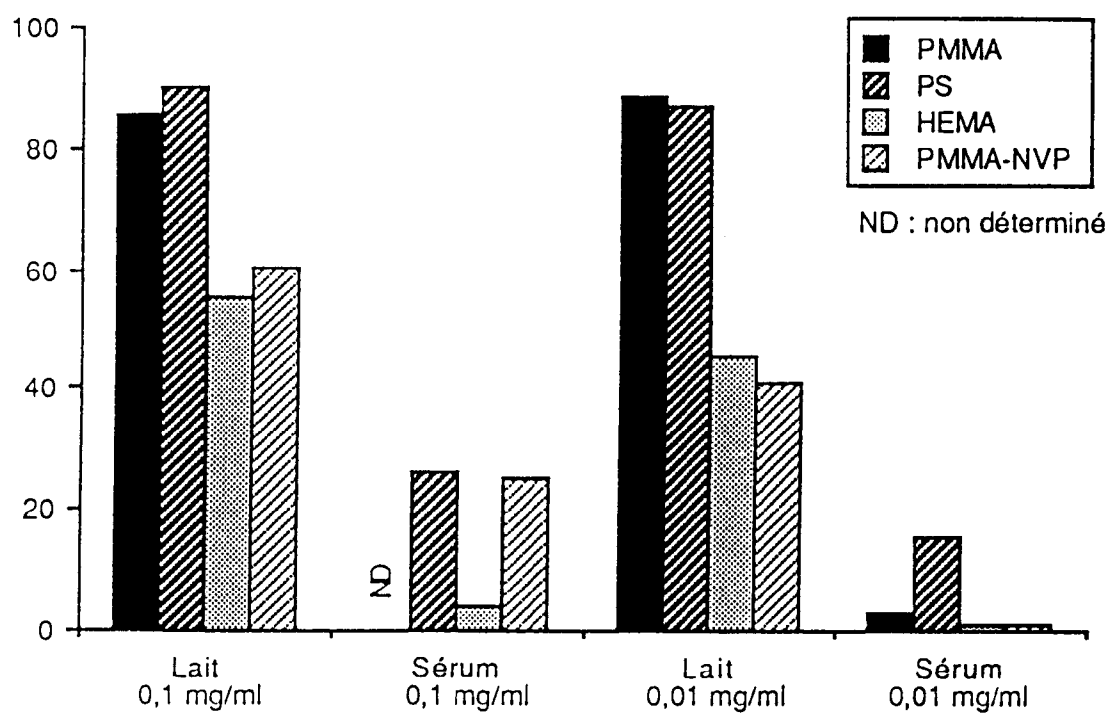
FIG.1

FIG.2

% Inhibition





Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numero de la demande
EP 94 40 1452

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.6)
A	EP-A-0 437 179 (CIBA-GEIGY AG) * revendications 1-4, 12, 13 *	1, 2, 9, 10	C11D3/384
A	US-A-4 786 436 (OGUNBIYI ET AL.) * revendications *	1, 2, 9, 10	
A	US-A-3 287 277 (J.HENDERSON BARBOUR) * revendications 1, 6 *	1, 7, 10	
A	GB-A-1 545 206 (RONEY PRODUCTS AND DEVELOPMENTS LTD) * page 2, ligne 55 - ligne 82; revendications 1, 7 *	1, 4	
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 8819, Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 88-128385 & IL-A-74 781 (ROSNER L) 29 Février 1988 * abrégé *	1	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.6)
			C11D
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 7 Septembre 1994	Examineur Serbetsoglou, A
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

EPO FORM 1503 01.82 (P04C02)