

POLE : PHARMACOTECHNIE ET PHYSICO-CHIMIE

Année : 2006 – 2007

Série de Doctorat N° : 932

THESE

Présentée

A L'Unité de Formation et de Recherche
Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry
Université Paris -Sud 11

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS-SUD 11

Par

Omar MRAD

Titre :

**Effet d'un plasma d'azote sur la stabilité de cathéters de
polyuréthane**

Soutenue le 26 mars 2007 devant la commission d'examen :

Mme M.N. BELLON-FONTAINE	Professeur	Rapporteur
M. C. BUNEL	Professeur	Rapporteur
Mme A.M. POINTU	Professeur	
Mme F. ALLOIN	Chargé de Recherche	
M. E. ODIC	Professeur	
Mme N. YAGOUBI	Professeur	Directeur de Thèse
Mme J. SAUNIER	Maître de conférences	



À mes parents

mon épouse « Rim » pour tous ses sacrifices

mes enfants

et à ma grande famille

Remerciements

Je remercie le Professeur B. Legendre, qui m'a accueilli au Laboratoire de Matériaux et Santé (EA 401) à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry.

Je remercie vivement Mme le Professeur Najet YAGOUBI de m'avoir accueilli dans son laboratoire, un grand merci également pour les rapports humains entretenus tout au long de cette thèse qui m'ont encouragé dans la réalisation de mes travaux.

Je tiens à remercier Johanna SAUNIER qui m'a donné l'opportunité de travailler sur les dispositifs médicaux et qui m'a permis de découvrir ce domaine de recherche qui est en plein essor.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde reconnaissance à Caroline AYMES-CHODUR qui m'a soutenu pour mener ce travail à bien.

Je suis reconnaissante envers Véronique ROSILIO de m'avoir permis de travailler dans son Equipe de Physico-Chimie des Surfaces, et ainsi que pour ses réflexions scientifiques très complètes. Merci à Marie-Martine BOISSONNADE pour ses précieux conseils lors des mesures d'angles de contact.

Merci encore à Mme Sylvie BOUTTIER, qui m'a accueilli dans son Laboratoire de Microbiologie qui m'a aidé et guidé lors de mes travaux des tests microbiologiques.

Je suis également reconnaissant à Florence AGNELY pour sa disponibilité, et à Mme M. BESNARD qui m'a aidé à réaliser toutes les manipulations effectuées au cours de Microscopie à balayage.

Je remercie par ailleurs l'équipe du LPPG et en particulier M. Ganciu et A.M. Pointu pour nous avoir aidés à mettre en place la décharge plasma au sein du laboratoire et à régler les différents problèmes techniques en résultant.

Je vous remercie par ailleurs :

Mme Le Professeur M.N. BELLON-FONTAINE, Directrice de l'UMR - Professeur à l'ENSIA et M. Le Professeur C. BUNEL, Directeur du Laboratoire de Matériaux Macromoléculaires à l'INSA de Rouen d'avoir accepté de rapporter mon travail.

Mme Le Professeur A.M. POINTU, Mme F. ALLOIN et M. Le Professeur E. ODIC d'avoir accepté de faire partie des membres du jury.

Mes remerciements au personnel enseignant et non enseignant du LCPMB, notamment :

E. DICHI, Mlle L. LARBES, Mesdames D. De GIROLAMO et N. GOURLAÏN, M. M. SGHAÏER, J. R.-O. KIKOUAMA les Doctorants S. TRUCHON et K. SLIMANI.

Je ne peux pas oublier tous mes amis syriens, durant nos études, en France : Koutayba, Abdelkader, Eskander, Jamal, Hour, Iyas, Issam, Yhia et Atef...

Enfin, je tiens à remercier le Commissariat à l'Energie Atomique Syrien (AECS) pour avoir financé mes études.

Châtenay-Malabry le 4 Avril 2007

Tables des Matières

Tables des Matières.....	i
Tables des Figures	vii
Liste des Tableaux.....	xiii
Liste des Abréviations	xv
Introduction	1
1^{ère} partie : Partie Bibliographique.....	9
CHAPITRE I : LES POLYMERES DANS LES DISPOSITIFS MEDICAUX.....	11
I.1 Généralités sur les dispositifs médicaux (DM) et sur les biomatériaux	13
I.2 La notion de biocompatibilité	14
I.3 Polymères et applications médicales.....	17
I.3.1 Généralités sur la biocompatibilité des polymères	17
I.3.2 Dégradation du polymère (biostabilité)	18
I.3.3 Le rôle des migrants potentiels	18
I.4 Le polyuréthane (PU)	20
I.4.1 Introduction.....	20
I.4.2 Synthèse et critère de choix des différents réactifs	22
I.4.3 Structure et propriétés.....	28
I.4.4 Dégradations	30
I.4.5 Les polyuréthanes d'intérêt médical	31
I.5 Les polymères commerciaux biomédicaux	32
I.6 Conclusion.....	33
CHAPITRE II : LES METHODES DE STERILISATION	35
II.1 Introduction générale	37
II.1.1 Définition des notions de stérilisation et de décontamination	37
II.1.2 Exigences des principaux domaines d'application.....	38
II.2 Les différentes méthodes de stérilisation	39
II.2.1 Stérilisation par agents thermiques.....	39
II.2.1.1 Stérilisation par chaleur sèche	39

II.2.1.2 Stérilisation par chaleur humide	40
II.2.2 Stérilisation par agents chimiques	41
II.2.3 Stérilisation par agents physiques de type rayonnements ionisants	43
II.2.3.1 Electrons accélérés	45
II.2.3.2 Rayonnements gamma	45
II.2.3.3 Rayonnements X	46
II.2.4 Stérilisation par agents physiques de type plasma froid	46
II.2.4.1 Description et obtention d'un plasma	47
II.2.4.2 Plasma direct et plasma différé	48
II.2.4.3 Les différents types de gaz	48
II.2.4.4 Les plasmas commerciaux	50
II.2.4.5 Mécanismes de stérilisation	51
II.2.4.6 Effets sur les matériaux polymères	54
II.2.5 Validation d'un processus de stérilisation	56
II.3 Conclusion	57
CHAPITRE III : ADHESION BACTERIENNE	59
III.1 L'adhésion bactérienne sur la surface	61
III.1.1 Le transport	62
III.1.1.1 Sédimentation	62
III.1.1.2 Mouvement brownien	62
III.1.1.3 Chimiotaxie	62
III.1.2 L'adhésion initiale	62
III.1.2.1 Interactions électrostatiques	62
III.1.2.2 Interactions non-électrostatiques	63
III.1.2.3 Les théories de l'adhésion bactérienne	64
III.1.3 L'adhésion irréversible ou attachement	65
III.1.4 La colonisation et la formation du biofilm	66
III.2 Les facteurs influençant l'adhésion	66
III.2.1 Facteurs liés aux micro-organismes	66
III.2.1.1 La charge de surface de la bactérie	66
III.2.1.2 L'hydrophobicité de la souche bactérienne	67
III.2.1.3 La taille	67
III.2.1.4 Les appendices	67
III.2.2 Facteurs liés à l'environnement	67
III.2.2.1 La concentration bactérienne dans le milieu	67
III.2.2.2 Le pH du milieu	68
III.2.2.3 La force ionique	69
III.2.2.4 La température	70

III.2.3 Facteurs liés au support	70
III.2.3.1 Nature physico-chimique du support	70
III.2.3.2 Topologie de la surface	71
III.3 Méthodes permettant de réduire la colonisation bactérienne sur la surface des biomatériaux	71
III.3.1 Modification des propriétés de la surface	71
III.3.2 Greffage de molécules antimicrobiennes	72
III.4 Influence de la stérilisation sur l'adhésion des bactéries sur les polymères à usage médical.....	73
III.5 Conclusion	73
2^{ème} partie : Partie Expérimentale	75
CHAPITRE IV : TECHNIQUES EXPERIMENTALES	79
IV.1 Matières premières et souche utilisées	81
IV.1.1 Biomatériau.....	81
IV.1.2 Souche bactérienne	83
IV.2 Traitement des échantillons par plasma froid.....	83
IV.2.1 Organisation générale du dispositif de stérilisation	83
IV.2.2 Caractéristiques de la décharge plasma et des espèces actives créées	84
IV.2.3 Efficacité du procédé de stérilisation.....	85
IV.2.4 Les enceintes et les porte-échantillons.....	85
IV.3 Techniques d'extraction	87
IV.4 Mise en stabilité des polymères.....	87
IV.4.1 Milieux liquides	87
IV.4.2 Milieux à température et humidité contrôlées.....	88
IV.5 Techniques de caractérisation	90
IV.5.1 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	90
IV.5.2 Analyse thermique	91
IV.5.2.1 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	91
IV.5.2.2 Courants thermostimulés (TSC).....	93
IV.5.2.3 Analyse thermogravimétrique (ATG)	94
IV.5.3 Techniques séparatives	94
IV.5.3.1 Chromatographie liquide haute performance (HPLC)	94
IV.5.3.2 Chromatographie d'exclusion stérique (CES).....	96
IV.5.4 Analyse de surface	98

IV.5.4.1 Microscopie optique.....	98
IV.5.4.2 Microscopie à force atomique (AFM).....	98
IV.5.4.3 Microscopie à balayage (MEB).....	99
IV.5.4.4 Spectroscopie des photoélectrons (XPS).....	100
IV.5.4.5 Mesures d'angles de contact	103
IV.6 Tests d'adhésion des bactéries	105
IV.6.1 Préparation des supports	105
IV.6.2 Tests d'adhésion	106
IV.6.2.1 Protocole d'adhésion.....	106
IV.6.2.2 Traitement statistique des résultats.....	106
CHAPITRE V : CARACTERISATION DES CATHETERS DE PELLETHANE® AVANT	
TRAITEMENT PLASMA	109
V.1 Caractérisation de la structure physico-chimique de la matrice polymère de polyuréthane (PU).....	111
V.1.1 Nature des chaînes polymères	111
V.1.2 Organisation des chaînes polymères	111
V.1.2.1 Analyse spectroscopique par FTIR.....	114
V.1.2.2 ATG.....	116
V.1.2.3 DSC	117
V.1.2.4 Analyse par TSC.....	121
V.1.3 Distribution des masses molaires	123
V.2 Caractérisation des additifs contenus dans les cathéters.....	124
V.2.1 Antioxydants phénoliques	124
V.2.2 Lubrifiant.....	127
V.3 Caractérisation de la surface des cathéters	135
V.3.1 Mouillabilité.....	135
V.3.2 Aspect de la surface	137
V.3.3 Effet des hétérogénéités de surface et de la rugosité du cathéter	144
V.3.4 XPS	145
V.4 Conclusion	151
CHAPITRE VI : EFFETS DU TRAITEMENT PLASMA SUR LE MATERIAU.....	155
VI.1 Caractérisation de l'enceinte de post décharge	157
VI.1.1 Température dans la zone de post décharge.....	157
VI.1.2 Espèces chimiques présentes dans la zone de post décharge.....	158
VI.2 Modifications des cathéters de Pellethane® en volume.....	159

VI.2.1 Analyse thermique	159
VI.2.1.1 ATG	159
VI.2.1.2 DSC	160
VI.2.1.3 TSC	163
VI.2.1.4 Conclusion	163
VI.2.2 Analyse spectroscopique.....	165
VI.2.3 Evolution des masses molaires par CES	167
VI.2.4 Teneur en antioxydants phénoliques.....	167
VI.2.5 Comportement comparé durant l'incubation	168
VI.2.6 Conclusion	174
VI.3 Modifications engendrées sur la surface du matériau	175
VI.3.1 Mouillabilité.....	175
VI.3.2 Microscopies	178
VI.3.3 Effet d'un éventuel film de BES (lubrifiant) en surface du matériau	180
VI.3.4 Nettoyage des surfaces.....	181
VI.3.5 XPS	184
VI.3.6 Conclusion	186
VI.4 Effets des différents paramètres du traitement plasma.....	186
VI.4.1 Reproductibilité et homogénéité du traitement au plasma.....	187
VI.4.2 Influence du nombre de traitements plasma successifs	188
VI.4.3 Effet du débit d'azote.....	189
VI.4.4 Effet du temps de traitement.....	192
VI.4.5 Conclusion	195
VI.5 Evolution de la surface après traitement plasma	195
VI.5.1 Comportement dans des milieux de température et d'humidité contrôlées	196
VI.5.1.1 Evolution des angles de contact et des énergies de surface après traitement	196
VI.5.1.2 Analyse XPS des surfaces stockées.....	200
VI.5.1.3 Effet du temps de traitement sur l'évolution post-traitement de la surface.....	202
VI.5.1.4 Effet de la température de conservation	203
VI.5.1.5 Effet du taux d'humidité	207
VI.5.2 Milieux liquides	211
VI.5.2.1 Incubation dans l'eau	211
VI.5.2.2 Incubation dans du méthanol.....	213
VI.6 Effets du traitement sur l'adhésion bactérienne	215
VI.6.1 Effet du plasma sur l'adhésion.....	215
VI.6.2 Etude cinétique de l'adhésion	216
VI.6.3 Effet du temps de traitement sur l'adhésion.....	217

VI.6.4 Effet du vieillissement après le traitement.....	218
VI.6.5 Effet du traitement plasma sur l'adhésion : cas du polypropylène	219
VI.7 Conclusion sur les modifications de surface du matériau	220
Conclusion générale et Perspectives	223
Annexes.....	229
Annexe 1 : Milieux de culture nécessaires aux tests d'adhésion bactérienne	231
Annexe 2 : Evaluer les énergies de surface	233
Annexe 3 : t-distribution.....	235
Références Bibliographiques.....	237

Tables des Figures

Figure I.1 : Formule générale des polyuréthanes	21
Figure I.2 : Synthèse du prépolymère	22
Figure I.3 : Synthèse du polyuréthane.....	26
Figure I.4 : Structure des polyuréthanes	28
Figure I.5 : Représentation schématique des segments rigides (bâtonnets épais) et des segments souples(traits fins) au sein du matériau [20, 35].....	30
Figure I.6: Formule générale des Pellethanes [®]	33
Figure II.1 : Formule chimique de l'oxyde d'éthylène	41
Figure II.2 : Principales espèces créées lors d'une décharge couronne dans l'air	48
Figure II.3 : Cinétique de réduction de Bacillus subtilis lors de la stérilisation par le Plasmodul [®] en fonction du temps avec trois gaz différents [64]	49
Figure II.4 : Emission dans le domaine allant du VUV au visible, de différents gaz utilisés dans les processus plasma [82]	52
Figure II.5 : Courbes de survie de spores de Bacillus subtilis soumises à une zone de post décharge : l'ajout d'oxygène au gaz argon permet l'inactivation complète	54
Figure II.6 : Plasma CO ₂ sur PE, évolution du taux de cristallinité de surface en fonction du temps de traitement [86]	55
Figure II.7 : Imagerie AFM d'une surface de PET a) non traité b) traité par un plasma air 60 s [87].....	55
Figure II.8 : Mouillage de la surface d'un polyamide par une goutte d'eau [88]	56
Figure III.1 : Les différentes étapes de l'adhésion bactérienne et de la formation du biofilm sur les biomatériaux [89, 90].....	61
Figure III.2 : Les doubles couches électriques [91]	63
Figure III.3 : Prévision thermodynamique de l'adhésion.....	65
Figure III.4 : Evolution de la constante de vitesse d'adhésion des bactéries sur du polystyrène en fonction de la concentration bactérienne [109]	68
Figure III.5 : Evolution de la constante de vitesse d'adhésion bactérienne sur des surfaces de polypropylène et polystyrène en fonction du pH du milieu [109].....	69
Figure III.6 : Evolution de la constante de vitesse d'adhésion bactérienne sur une surface de polystyrène en fonction de la force ionique [109].....	69
Figure III.7 : Adhésion des S. epidermis sur des surfaces hydrophobes.....	70

Figure IV.1 : Tubes de Pellethane® fabriqués en 2004.....	82
Figure IV.2 : Tubes de Pellethane® fabriqués en 2006 (avec ligne ORX).....	82
Figure IV.3 : Schéma du circuit de traitement plasma.....	83
Figure IV.4: Vue générale du système de production de plasma froid.....	84
Figure IV.5 : Première enceinte de traitement plasma.....	85
Figure IV.6 : Entrée de la première enceinte.....	86
Figure IV.7 : Seconde enceinte de traitement plasma avec son porte-échantillons.....	86
Figure IV.8 : 2 ^{ème} enceinte avec des tubes sur le porte-échantillons.....	86
Figure IV.9 : Dessiccateur utilisé pour le stockage des PU.....	88
Figure IV.10 : Thermo-hygromètre utilisé pour contrôler la température et l'humidité.....	89
Figure IV.11 : Structure du sachet plastique utilisé pour le stockage sous vide.....	89
Figure IV.12 : Programme et paramètres appliqués lors de l'analyse TSC.....	94
Figure IV.13 : Principe du microscope à force atomique.....	98
Figure IV.14 : Vue générale de l'Appareil MEB LEO 1530.....	99
Figure IV.15 : Pics 1s des éléments de la deuxième rangée du tableau périodique.....	100
Figure IV.16 : Illustration d'un déplacement ESCA secondaire induit par un groupement en position β dans le spectre C1s du PMMA résolu en quatre composantes.....	101
Figure IV.17 : Vue générale de l'Appareil ESCA LEYBOLD LHS10.....	103
Figure IV.18 : Angle de contact d'un liquide sur une surface solide.....	104
Figure IV.19 : Vue générale du système G40 (Krüss®).....	104
Figure V.1 : Spectre IR (ATR) des cathéters de Pellethane®.....	112
Figure V.2 : Les différents types de liaisons hydrogène possibles entre les chaînes de PU. a) entre segments rigides b) entre segments souple et rigide.....	114
Figure V.3 : Agrandissement de la Figure V.1 pour les bandes associées.....	115
Figure V.4 : Thermogramme ATG et courbe dérivée associée, pour le cathéter.....	116
Figure V.5 : Thermogrammes de PU à base de MDI et de polyester montrant les trois domaines T_I , T_{II} , T_{III} pour un échantillon ayant subi différents traitements thermiques.....	118
Figure V.6 : Représentation schématique de la morphologie en fonction de la température. a) en dessous de T_{II} , b) entre T_{II} et T_{III} , c) au dessus de T_{III}	119
Figure V.7 : Thermogramme DSC du cathéter de Pellethane® ($V=20^\circ\text{C}/\text{min}$).....	120
Figure V.8 : Analyse TSC pour les cathéters de PU témoins.....	122
Figure V.9 : Chromatogramme CES du cathéter de Pellethane®.....	124
Figure V.10 : Chromatogramme d'une solution d'extraction de PU témoin. (Phase acétonitrile pure).....	125

Figure V.11 : Chromatogramme d'une solution d'extraction de PU témoin. (Phase gradient)	126
Figure V.12 : Formule chimique du BES	127
Figure V.13 : Spectre IR (ATR) du BES et des PU incubés et non incubés	128
Figure V.14 : Thermogramme du BES – Première et deuxième montée en température	129
Figure V.15 : Spectres FTIR- ATR du BES et de l'extrait obtenu après chauffage à reflux	130
Figure V.16 : Thermogramme de l'extrait sec	131
Figure V.17 : Spectres FTIR-ATR du BES et de l'extrait purifié. Encerclés, les motifs correspondants à d'éventuelles impuretés	132
Figure V.18 : Thermogrammes de l'extrait sec purifié et non purifié lors de la deuxième montée en température	133
Figure V.19 : Spectres FTIR- ATR du PU et du résidu solubilisé dans le THF	134
Figure V.20 : Images de la surface de cathéters de Pellethane [®]	138
Figure V.21 : Image AFM de la surface externe du cathéter	141
Figure V.22 : Images de la surface des PU après nettoyage au méthanol	142
Figure V.23 : Chromatogrammes d'une solution de méthanol de nettoyage du PU témoin et celui d'une solution d'Irganox 1076 [®] (Détection UV à 280 nm) – colonne C18	143
Figure V.24 : Déconvolution du spectre C1s non corrigé en énergie, du tube non traité	146
Figure V.25 : Déconvolution du spectre O1s non corrigé en énergie, du tube non traité	146
Figure V.26 : Déconvolution du spectre N1s non corrigé en énergie, du tube non traité	147
Figure V.27 : Déconvolution du spectre C1s corrigé en énergie, du tube non traité	147
Figure V.28 : Comparaison des spectres C1s, O1s et N1s, corrigés en énergie, des échantillons témoin, nettoyé à l'eau ou à l'alcool	150
Figure V.29 : Aspect de la surface à différentes échelles :	152
Figure V.30 : Représentation schématique de la surface du tube de PU (section du tube)	153
Figure VI.1 : Thermomètre (ERTCO-EUTECHNICS, MODEL 4400)	157
Figure VI.2 : Evolution de la température dans la zone de post décharge en fonction de la distance à la source de la décharge d'azote à pression atmosphérique	157
Figure VI.3 : Spectre d'absorption du gaz plasma d'azote utilisé	158
Figure VI.4 : Perte de masse associée aux trois étapes de dégradation des PU (1999) en fonction du temps d'exposition au plasma	159
Figure VI.5 : Comparaison des thermogrammes (DSC) des PU témoin et traité 150 min au plasma	161

Figure VI.6 : Enthalpies des endothermes des PU (1999 et 2004) en fonction du temps d'exposition plasma	162
Figure VI.7 : Enthalpies des endothermes de PU traité 150 min au plasma en fonction de la distance à la source de la décharge	162
Figure VI.8 : Analyse TSC pour les cathéters de PU traités au plasma	164
Figure VI.9 : Evolution des rapports d'intensité des bandes des spectres IR des cathéters de Pellethane® avec le temps de traitement au plasma	166
Figure VI.10 : Spectres ATR-FTIR d'échantillons traités au plasma après soustraction du spectre de l'échantillon non traité. Les flèches indexent les bandes du BES	166
Figure VI.11 : Concentration des additifs (BHT et Irganox 1076®) dans les cathéters en fonction du temps d'exposition au plasma	168
Figure VI.12 : Spectres ATR du PU témoin après incubation entre 2 et 10 jours dans le méthanol à 37°C.....	169
Figure VI.13 : Comparaison de l'évolution de la bande à 1636 cm^{-1} en fonction du temps d'incubation dans le sérum physiologique et le méthanol (pour un échantillon non traité). L'intensité de cette bande a été rapportée à celle d'une bande du PU (1596 cm^{-1}).....	170
Figure VI.14 : Evolution de la bande à 1636 cm^{-1} avec le temps d'incubation dans	171
Figure VI.15 : Perte de masse (%) du cathéter de PU en fonction du temps d'incubation dans le sérum physiologique ou le méthanol pour des échantillons non traités et traités 40 minutes au plasma.....	171
Figure VI.16 : Evolution de la teneur en antioxydants dans les solutions d'incubation	173
Figure VI.17 : Chromatogramme CES des oligomères ayant migré dans le méthanol.....	174
Figure VI.18 : Chromatogramme CES du cathéter incubé dans le méthanol pour un échantillon traité et non traité au plasma ($\lambda = 254\text{ nm}$).....	174
Figure VI.19 : Goutte d'eau déposée sur un cathéter de Pellethane®	176
Figure VI.20 : Microscopie optique pour des PU traités 40 min au plasma	178
Figure VI.21 : Images MEB de la surface de cathéters de Pellethane® traités 40 minutes au plasma.....	179
Figure VI.22 : Image AFM du PU traité 40 min	180
Figure VI.23 : Enceinte utilisée pour le traitement des lames recouvertes de BES	181
Figure VI.24 : Angles de contact pour les PU nettoyés à l'éthanol.....	182
Figure VI.25 : Angles de contact pour les PU nettoyés à l'eau	182
Figure VI.26 : Angles de contact pour les PU décontaminés au RBS	183

Figure VI.27 : Comparaison des spectres C1s, O1s et N1s, corrigés en énergie, des échantillons témoin et traités plasma (40 minutes, 40 L/min) et analysés 3h après le traitement	185
Figure VI.28 : Evolution des angles de contact en fonction de la distance à la source de plasma pour l'eau et pour trois séries identiques (t=40 min, d=40 L/min).....	187
Figure VI.29 : Evolution des énergies de surface en fonction de la distance à la source de plasma (t=40 min, d=40 L/min) pour trois séries identiques.....	188
Figure VI.30 : Modification des énergies de surface lors de la répétition des cycles de traitement plasma.....	189
Figure VI.31 : Evolution des énergies de surface du PU en fonction de la distance à la source du plasma pour différents débits de gaz.....	190
Figure VI.32 : Evolution de l'inverse de la concentration atomique en fonction de la distance à la source pour un débit de gaz de 40 L/min [128].....	191
Figure VI.33 : Evolution du volume de gaz (V) en fonction de l'énergie de surface	192
Figure VI.34 : Evolution de l'angle de contact des trois liquides sur la surface du PU en fonction du temps de traitement au plasma	193
Figure VI.35 : Evolution de l'énergie de surface du PU en fonction du temps de traitement ..	193
Figure VI.36 : Evolution de la fraction polaire en fonction du temps de traitement.....	194
Figure VI.37 : Evolution des angles de contact de l'eau sur la surface des PU témoins et traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)	197
Figure VI.38 : Evolution des énergies de surface des PU témoins et traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)	198
Figure VI.39 : Evolution des fractions polaires des PU témoins et traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)	199
Figure VI.40 : Comparaison des spectres C1s, O1s et N1s, corrigés en énergie, des échantillons traités au plasma et analysés 3h et 3 jours après le traitement.....	201
Figure VI.41 : Evolution des énergies de surface pour les PU traités 40 min et 100 min en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)	202
Figure VI.42 : Evolution des fractions polaires pour les PU traités 40 min et 100 min en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)	203
Figure VI.43 : Evolution des angles de contact de l'eau sur la surface des PU conservés à 25°C et 45°C (75 % HR).....	203
Figure VI.44 : Evolution des énergies de surface des PU conservés à 25°C et 45°C	204
Figure VI.45 : Evolution des fractions polaires des PU conservés à 25°C et 45°C	205

Figure VI.46 : Evolution des énergies de surface des cathéters de PU et des films de BES conservés à 25°C et 45°C (75 % HR).....	206
Figure VI.47 : Evolution des énergies de surface des PU témoins en fonction du temps de stockage pour différents taux d'HR (25°C).....	208
Figure VI.48 : Evolution des énergies de surface des PU traités en fonction du temps de conservation pour différents taux d' HR.....	208
Figure VI.49 : Evolution des énergies de surface des PU traités en fonction du taux d'humidité après 9 jours, 1 et 2 mois de stockage à 25°C.	209
Figure VI.50 : Evolution des pentes p1 et p2 en fonction du temps de stockage.	210
Figure VI.51 : Evolution des angles de contact de l'eau sur la surface des PU en fonction du temps de conservation dans l'eau.....	211
Figure VI.52 : Evolution des énergies de surface des PU en fonction du temps de conservation dans l'eau.....	212
Figure VI.53 : Evolution des fractions polaires des PU en fonction du temps de conservation dans l'eau.....	212
Figure VI.54 : Evolution des énergies de surface du PU traité et non traité en fonction de la durée d'incubation dans le méthanol	213
Figure VI.55 : Evolution des fractions polaires pour le PU traité et non traité en fonction de la durée d'incubation dans le méthanol	214
Figure VI.56 : Population adhérente de <i>S. aureus</i> aux PU témoins et aux PU traités 40 min (temps de contact = 30 min).....	216
Figure VI.57 : Adhésion de <i>S. aureus</i> aux supports témoins et traités au plasma 40 min en fonction du temps de contact.....	217
Figure VI.58 : Adhésion de <i>S. aureus</i> aux supports témoins et traités en fonction du temps de stockage des supports (le temps de contact est de 30 min).....	219

Liste des Tableaux

Tableau I-1 : Principaux extenseurs de chaînes	25
Tableau I-2 : Récapitulatif de la composition chimique des PU	27
Tableau IV-1 : Lots de Pellethane [®] utilisés dans cette étude.....	82
Tableau IV-2 : Conditions de stockage en fonction de l'HR et de la température	90
Tableau IV-3 : Composition (pourcentage volumique) des différentes phases du gradient	96
Tableau IV-4 : Description du gradient	96
Tableau V-1 : Principales fréquences des vibrations caractéristiques du Pellethane [®] 2363-80AE	113
Tableau V-2 : Pourcentages de perte de masse associés à chaque étape de dégradation des témoins (analyses réalisées en 2004)	117
Tableau V-3 : Enthalpies des endothermes du cathéter de Pellethane [®]	121
Tableau V-4 : Masses molaires moyennes en nombre et en poids et indice de polymolécularité du cathéter de Pellethane [®]	124
Tableau V-5 : Formules chimiques des BHT et Irganox 1076 [®]	125
Tableau V-6 : Concentrations d'additifs dans les PU témoins	127
Tableau V-7 : Teneur en BES dans le PU	133
Tableau V-8 : Tension de surface pour les trois liquides choisis [159] à 20°C	135
Tableau V-9 : Angles de contact des liquides avec les cathéters de Pellethane [®]	135
Tableau V-10 : Energie de surface du PU témoin.....	136
Tableau V-11 : Nombre théorique d'atomes de carbone, oxygène et azote pour les différents constituants du Pellethane [®]	148
Tableau V-12 : Nombres d'atomes calculés à partir des spectres XPS pour les différents échantillons	148
Tableau V-13 : Rapports C/O et C/N pour les additifs BES et Irganox [®] 1076	149
Tableau VI-1 : Masses molaires moyennes et indice de polymolécularité des PU.....	167
Tableau VI-2 : Comparaison des angles de contact et de l'énergie de surface entre les tubes des PU traités et non traités.....	176
Tableau VI-3 : Energie de surface du PU	183
Tableau VI-4 : Fractions polaires.....	183
Tableau VI-5 : Nombres d'atomes calculés à partir des spectres XPS pour les PU traités et non traités	184

Tableau VI-6 : Angles de contact, énergies de surface et fractions polaires des PU témoins en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)	197
Tableau VI-7 : Angles de contact, énergies de surface et fractions polaires des PU traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)	198
Tableau VI-8 : Nombres d'atomes calculés à partir des spectres XPS pour les PU traités.....	200
Tableau VI-9 : Population adhérente de <i>S. aureus</i> aux PU témoins et aux PU traités 40 min au plasma.....	216
Tableau VI-10 : Population adhérente de <i>S. aureus</i> aux PU témoins et aux PU traités 40 min au plasma.....	217
Tableau VI-11 : Population adhérente de <i>S. aureus</i> aux supports de PU pour des temps de traitement 40 et 100 min.....	218
Tableau VI-12 : Population adhérente de <i>S. aureus</i> aux PU témoins et aux PU traités	218
Tableau VI-13 : Population adhérente de <i>S. aureus</i> aux supports de PP témoins et aux supports de PP traités	220

Liste des Abréviations

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AFM	Microscopie à force Atomique
ATG	Analyse Thermogravimétrique
ATR	Réflexion Totale Atténuée
BD (BDO)	Butanediol
BES	Bis Ethylène Stéaramide
BHT	Butyl Hydroxy Toluène
CEFH	Centre d'Etudes et de Formation Hospitalière
CES	Chromatographie d'Exclusion Stérique
DBD	Décharge à Barrière Diélectrique
DM	Dispositifs Médicaux
DAM	Division d'Assistance Médicale
DS	Diluant tryptone Sel
DSC	Calorimétrie Différentielle à Balayage
E. coli	Escherichia coli
EA	Electrons accélérés
ESCA	Spectroscopie d'Electron pour Analyse Chimique
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
H ₁₂ MDI	4,4'-méthylène-bis (cyclohexylisocyanate)
HDI	Hexaméthylène diisocyanate
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
HR	Humidité Relative
IGM	Institut de Génétique et Microbiologie
LPGP	Laboratoire de Physique des Gaz et des Plasmas
LPPM	Laboratoire de PhotoPhysique Moléculaire
MDA	4,4'-methylenedianiline
MDI	Méthylène diphenyl isocyanate
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
MOCA	4,4'-méthylène-bis (2-chloro-aniline)
OE	Oxyde d'éthylène

PC	Polycarbonate
PCHD	Polycarbonate d'hexane diol
PE	Polyéthylène
PEA	Poly(éthylène adipate)
PEO	Polyéthylène oxyde
PET	Polyéthylène Téréphtalate
PMMA	Polyméthacrylate de méthyle
PP	Polypropylène
PPF	Projet Pluri-Formations
PPG	Poly(propylène glycol)
PS	Polystyrène
PTFE	Polytétrafluoréthylène
PTMG	Polytétraméthylène glycol
PU	Polyuréthane
PVC	Polychlorure de vinyle
RF	Radio fréquence
RX	Rayonnement X
R γ	Rayonnement gamma
S. aureus	Staphylococcus
SEM	Scanning Electron Microscopy
SIMS	Spectroscopie de Masse d'Ion secondaire
SR	Segments Rigides
SS	Segments Souples
T	Température
TDI	Diisocyanate de Toluène
Tg	Température de transition vitreuse
THF	Tétrahydrofurane
TSA	Trypticase Soja Agar
TSC	Courants thermostimulés
UFC	Unités Formant Colonies
UV	Ultraviolets
VUV	Vacuum Ultra-violet
XPS	Spectroscopie des photoélectrons

Introduction

Les dispositifs médicaux (DM) connaissent actuellement un essor important. Par ce terme assez général, peu parlant pour le grand public, est désigné tout appareil, matériau ou produit d'origine non biologique utilisé chez l'homme à des fins médicales. Ainsi ces dispositifs peuvent correspondre à des objets variés allant des implants aux appareils de diagnostics, en passant par de simples pansements ou encore du matériel chirurgical. Ils couvrent donc un champ d'activité très vaste et des domaines d'application très variés. Cependant, comme dans la plupart des cas, ils sont amenés à être en contact avec le corps humain, ces dispositifs médicaux doivent être bien souvent désinfectés voire stérilisés afin de garantir l'application aseptique chez le patient. Si le DM est destiné à être réutilisé, il doit pouvoir être ainsi stérilisé efficacement autant de fois que nécessaire sans entraîner son dysfonctionnement tout en assurant la sécurité du personnel hospitalier et du patient. Prévenir toute contamination est en effet un enjeu crucial en milieu hospitalier : chaque année on considère qu'environ 9000 personnes hospitalisées décèdent des suites de maladies nosocomiales.

Comme dans de nombreux domaines de la vie courante, les polymères constituent un matériau de choix pour la fabrication des DM. En effet, ces matériaux possèdent une grande diversité de propriétés physico-chimiques, mécaniques et de surface, ce qui leur confère une grande adaptabilité à la plupart des contraintes d'usage en milieu médical. Les plus répandus en terme de fréquence d'utilisation sont les polyoléfinés (polyéthylène, polypropylène), les polyvinyliques (polychlorure de vinyle, polystyrène ...) et les polyuréthanes (PU). En milieu hospitalier, la méthode de stérilisation la plus fréquemment employée est l'autoclavage. Ce procédé, qui pourtant constitue la référence en terme d'efficacité, ne convient cependant pas aux produits thermosensibles et notamment aux nombreux polymères thermosensibles utilisés dans le domaine de la santé. Il est donc nécessaire d'employer d'autres méthodes pour stériliser ces matériaux. Pour qu'un mode de stérilisation en milieu hospitalier soit le plus intéressant possible, il faut qu'il puisse répondre à différents critères d'exigence : la durée du cycle de stérilisation doit être relativement courte, la stérilisation doit être non toxique pour l'environnement, le manipulateur et le patient, ne doit affecter d'aucune manière le matériel et doit être peu coûteuse. Si la stérilisation par rayonnements ionisants (rayonnement gamma ou électrons accélérés), connue depuis près de 50 ans, a profité des progrès technologiques continus qui permettent aujourd'hui de disposer de techniques de stérilisation fiables et sûres, cette méthode ne peut être cependant utilisée en routine en milieu hospitalier en raison de la lourdeur de son équipement et de son coût élevé. Quant aux

méthodes chimiques, elles posent d'autres problèmes : l'oxyde d'éthylène (OE) qui a connu une importante hégémonie jusqu'à aujourd'hui, demande des temps d'immobilisation du matériel assez long en raison du temps de désorption des molécules toxiques d'OE qui ont pénétré dans la matrice polymère lors du traitement.

C'est pourquoi ces dix dernières années une nouvelle méthode s'est développée, la stérilisation par plasma froid, méthode simple, rapide à mettre en œuvre, utilisable à température ambiante, sans danger ni pour l'environnement, ni pour le patient et le personnel hospitalier. Cependant, même si ce type de traitement est *a priori* peu agressif pour le matériau stérilisé, un certain nombre de modifications, notamment de surface, peut être induit par le gaz de décharge du plasma au niveau du polymère. Les propriétés physico-chimiques, mécaniques, de surface du matériau traité au plasma peuvent être altérées et les conséquences en terme de performances et de sécurité d'emploi qui peuvent être attendues doivent être appréhendées. Si la méthode de stérilisation par les gaz plasma doit répondre aux exigences concernant l'efficacité antimicrobienne, comme tous les autres modes de stérilisation, elle ne doit pas altérer le produit à stériliser (en particulier lorsqu'il s'agit de matériel réutilisable qui subira plusieurs cycles de stérilisation). Or, vu le caractère récent de ce mode de stérilisation et la grande variété de plasma existants, de nombreuses études sont encore nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors de la stérilisation, les modifications structurales induites sur les matériaux et leurs conséquences sur l'adhésion bactérienne à leur surface.

Dans le cadre de cette étude, il s'agissait ainsi de tester un nouveau plasma froid développé par le LPGP (Laboratoire de Physique des Gaz et des Plasmas d'Orsay, Université Paris-Sud 11). Ce plasma, qui fonctionne à pression atmosphérique, doit permettre une stérilisation dans la zone de post décharge en écoulement. Ce procédé utilise un gaz non toxique, l'azote (N_2), et établit une décharge au moyen d'une tension pulsée d'une dizaine de kV. Les effets de ce plasma ont été testés sur des cathéters commerciaux de polyuréthane (Pellethane[®] 2363-80AE), et ce, afin de modéliser le comportement de gaines d'endoscope. Un endoscope comprend en effet un long tube flexible permettant son introduction au sein de l'organisme. Ce tube est notamment équipé d'une lentille et de fibres optiques, mais aussi de différents canaux qui permettent d'insuffler de l'air ou un liquide, d'aspirer ou encore d'introduire des instruments comme des pinces. Cette partie flexible est recouverte d'une gaine d'élastomère, le plus souvent de polyuréthane. La longueur de la gaine est variable,

mais typiquement comprise entre 30 et 170 cm et le diamètre extérieur varie quant à lui le plus souvent entre 5 et 15 mm. La stérilisation des endoscopes est une application potentiellement intéressante pour les procédés de stérilisation de type plasma froid. Actuellement, on estime que la contamination infectieuse, si elle n'affecte que 1,5 % des patients en contact avec un endoscope, est cependant fatale dans 20 % de ces cas. A cause de la gaine élastomère, l'autoclavage n'est pas réalisable sur ce type de système. En outre, du fait de leur coût, les endoscopes sont généralement en faible nombre au sein des services hospitaliers et font donc l'objet d'une grande fréquence d'utilisation : il faut donc pouvoir les stériliser rapidement sans pour autant augmenter le risque de contamination du patient : ceci exclut donc les procédés de chimio-stérilisation à l'oxyde d'éthylène qui nécessitent un temps d'immobilisation du matériel après stérilisation beaucoup trop long (au moins 24 h). Enfin, dans les cas de procédés de désinfection par immersion dans des bains de produits chimiques, il persiste toujours un risque d'irritations, de brûlures, d'allergies pour le patient et le personnel hospitalier chargé d'assurer le nettoyage du matériel. Actuellement la procédure de désinfection des endoscopes (définie dans la circulaire 591 du 17 décembre 2003) est relativement complexe et longue (45 minutes en moyenne) ; elle nécessite un personnel spécialement formé, un mode opératoire précis et reproductible, constitué de la succession de nombreuses étapes : prétraitement (élimination des souillures visibles), test d'étanchéité, premier nettoyage (nettoyage physico chimique et mécanique avec un détergent sans aldéhyde) et premier rinçage, deuxième nettoyage (nettoyage physico chimique et mécanique avec un détergent sans aldéhyde) et second rinçage abondant, désinfection dans un bain (acide peracétique par exemple), rinçage terminal abondant et avec une eau stérile ou bactériologiquement maîtrisée, séchage soigneux avec de l'air comprimé médical puis stockage dans un endroit propre et sec. L'utilisation d'un traitement par plasma froid permettrait donc de diminuer sans nul doute la complexité d'une telle procédure. Restent à valider cependant deux points : l'efficacité du traitement stérilisant et l'absence de modifications néfastes du matériau traité. C'est sur ce deuxième point qu'a porté ce travail dont l'objectif est de mettre en évidence et de quantifier sur les tubes de polyuréthane choisis :

- les modifications de la structure du polymère en volume et ce, afin de vérifier l'absence de dégradation des chaînes (scissions, oxydations ...) et l'absence d'altération au niveau de l'arrangement des chaînes (cristallinité ...) par le traitement plasma ;

- les modifications de l'état de surface qui conditionnent la biocompatibilité et l'adhésion microbiologique, ainsi que leur réversibilité dans le temps et les conditions de stockage après traitement ;
- l'effet du traitement sur l'adhésion d'une souche bactérienne choisie (*Staphylococcus aureus*). Ce staphylocoque est en effet une des bactéries qui jouent un rôle prépondérant dans les infections nosocomiales ;
- les composés extractibles contenus dans le polymère (oligomères, résidus de synthèses, additifs industriels comme les antioxydants et les lubrifiants ...) et l'effet du traitement plasma sur ces composés et leur relargage dans des milieux biologiques.

Dans une première partie, nous présenterons le contexte général de cette étude, en décrivant le domaine des dispositifs médicaux et en nous intéressant plus particulièrement aux biomatériaux polymères et à la problématique de la biocompatibilité. La structure et les propriétés des polyuréthanes ainsi que leurs applications dans les domaines médicaux seront évoqués, et nous détaillerons ensuite les différentes techniques de stérilisation des polymères en insistant sur la technique dont il sera question au cours de cette thèse, à savoir la stérilisation par plasma froid. A la fin de cette partie nous présenterons l'adhésion des bactéries aux surfaces et les méthodes permettant de réduire l'adhésion bactérienne.

La deuxième partie de ce mémoire sera consacrée aux résultats de notre étude ; après avoir décrit les techniques expérimentales employées lors de ce travail, nous nous intéresserons tout d'abord à la caractérisation du matériau utilisé (en surface et en volume) avant d'évoquer les effets induits par le traitement plasma, que ce soit en volume ou en surface, et ce, pour différentes conditions de traitement. Enfin, on s'intéressera à la réversibilité du traitement pour différentes conditions de stockage ainsi qu'à son effet sur l'adhésion d'une souche bactérienne *Staphylococcus aureus*.

Un point important mérite d'être signalé dès à présent : l'analyse de la surface du matériau constituera un des points clefs de ce mémoire. En effet, il est connu que les traitements par plasma froid modifient essentiellement la surface du matériau ; par ailleurs, cet état de surface est déterminant pour la plupart des propriétés de biostabilité et de biocompatibilité du matériau. Nous avons choisi dans le cadre de cette étude, de travailler sur des produits finis commerciaux, afin de nous rapprocher des conditions « réelles » d'utilisation d'un tel traitement stérilisant en milieu hospitalier. Toutes nos analyses ont donc

été réalisées sur des matériaux relativement éloignés de la représentation du polymère « idéal » (présence notamment d'additifs dans la matrice polymère), et sur des surfaces très différentes de la surface « idéale » notamment en terme d'homogénéité et de rugosité.

1^{ère} partie : Partie Bibliographique

Chapitre I : Les polymères dans les dispositifs médicaux

Sommaire

I.1 Généralités sur les dispositifs médicaux (DM) et sur les biomatériaux	13
I.2 La notion de biocompatibilité	14
I.3 Polymères et applications médicales	17
I.3.1 Généralités sur la biocompatibilité des polymères	17
I.3.2 Dégradation du polymère (biostabilité)	18
I.3.3 Le rôle des migrants potentiels	18
I.4 Le polyuréthane (PU)	20
I.4.1 Introduction	20
I.4.2 Synthèse et critère de choix des différents réactifs	22
I.4.3 Structure et propriétés	28
I.4.4 Dégradations	30
I.4.5 Les polyuréthanes d'intérêt médical	31
I.5 Les polymères commerciaux biomédicaux	32
I.6 Conclusion	33

I.1 Généralités sur les dispositifs médicaux (DM) et sur les biomatériaux

La notion de dispositif médical couvre une grande variété de domaines, et il est difficile de les décrire avec précision. Leur définition a été établie par la loi du 18 janvier 1994 qui introduit dans le droit français la définition du dispositif médical :

« On entend par dispositif médical tout instrument, appareil, équipement, matière, produit, à l'exception des produits d'origine humaine, ou autre article utilisé seul ou en association, y compris les accessoires et logiciels intervenant dans son fonctionnement, destiné par le fabricant à être utilisé chez l'homme à des fins médicales et dont l'action principale voulue n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques ni par métabolisme, mais dont la fonction peut être assistée par de tels moyens ».

Cette définition montre très clairement la grande diversité et l'hétérogénéité des produits répondant à ces critères : elle concerne les dispositifs invasifs ou non invasifs ; les implants actifs ou encore des instruments plus simples (pansements, gants ...).

Les DM se distinguent donc du médicament car ils n'ont pas de mécanisme d'action préventif ou curatif qui fasse intervenir des moyens pharmacologiques, immunologiques, ou métaboliques. Ils ont par contre bien souvent une action physique et interviennent notamment en cas de blessure, d'handicap ou de maladie, en remplaçant partiellement un organe défectueux (pacemaker, prothèse ...), ou encore en intervenant dans le diagnostic (stéthoscope, endoscope ...), la prévention, le traitement (pansements, sutures ...). Ils englobent pratiquement tout moyen de diagnostic ou thérapeutique ne pouvant être désigné sous le terme de médicament. Les dispositifs médicaux peuvent être ainsi implantables ou non, actifs ou non.

La conception, la fabrication, et la distribution de dispositifs médicaux sont soumises à une réglementation. L'une des directives les plus importantes pour les DM est la directive 93/42/CEE [1]. Cette réglementation est principalement destinée aux fabricants de produits finis, mais peut aussi concerner les sous-traitants et distributeurs.

Les matériaux utilisés dans les DM doivent donc répondre à des exigences de biocompatibilité précises. Ces matériaux sont appelés biomatériaux. Là encore, il est difficile de donner une définition satisfaisante du terme « biomatériau ». La Conférence de Chester

de la Société Européenne des Biomatériaux en 1986 a retenu pour les biomatériaux la définition suivante :

« Matériaux non vivants utilisés dans un dispositif médical destinés à interagir avec les systèmes biologiques, qu'il participe à la constitution d'un dispositif à visée diagnostique ou celle d'un substitut de tissu ou d'organe ou encore à celle d'un dispositif de suppléance ou d'assistance fonctionnelle » [2, 3].

Les dispositifs médicaux peuvent être constitués d'un seul biomatériau, comme dans le cas de prothèses vasculaires, ou de plusieurs biomatériaux, dans des dispositifs plus complexes (prothèse de hanche). Les biomatériaux sont choisis selon plusieurs critères alliant les propriétés directement liées au matériau telles que la dureté ou les caractéristiques optiques et celles liées à son comportement dans le milieu d'usage, comme par exemple sa biotolérance ou son comportement à la stérilisation. On peut ainsi définir plusieurs critères de choix :

- la facilité de mise en œuvre du matériau ;
- son inertie et absence de toxicité vis-à-vis du tissu destiné à être en contact ; mais dans le cas de certains biomatériaux cette inertie n'est pas de mise et l'on peut rechercher une biodégradation du matériau (cas des sutures résorbables, des matériaux ostéoconstructeurs qui favorisent la croissance osseuse ...) ;
- ses propriétés mécaniques ;
- son accessibilité, et notamment l'autorisation de mise sur le marché, selon les critères établis de biocompatibilité (pureté, métaux lourds, stabilité, etc.) ;
- les possibilités de décontamination et de stérilisation sans perdre les qualités pour lesquelles le matériau a été choisi [4].

Le coût de la matière n'est généralement pas un critère déterminant (les prix des polymères sont souvent relativement faibles).

I.2 La notion de biocompatibilité

On dit d'un biomatériau qu'il est *biocompatible* lorsqu'il est capable de remplir sa fonction même à long terme et ce, sans effet néfaste sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner [3]. Le terme biocompatibilité englobe des notions variées comme la

bio adhésion (désirable ou non), les biodégradations induites par le tissu hôte sur le matériau (biostabilité), les changements induits sur l'hôte par le matériau, les réactions inflammatoires et de rejet Nous pouvons illustrer cet aspect en prenant plusieurs exemples parmi les dispositifs médicaux: dans le cas d'une prothèse de hanche, un des aspects les plus importants est le contrôle des débris d'usure produits lors du fonctionnement : les différents matériaux constituant l'articulation doivent fonctionner avec un frottement minimal permettant de générer le moins de débris possible [5], débris qui doivent en outre ne déclencher ni inflammation, ni allergie. Par ailleurs, les matériaux métalliques utilisés doivent répondre à deux critères d'exigences supplémentaires : ils ne doivent relarguer, en cas de corrosion, aucun produit toxique pour l'organisme et doivent favoriser la recolonisation de la prothèse par le tissu osseux [6]. De même, une sonde urinaire ne doit faciliter ni la pénétration ni le développement de bactéries dans la vessie, et un vaisseau sanguin artificiel ne doit pas conduire à la formation d'un caillot sur la surface en contact avec le sang [7]. Etrangers au corps humain, les biomatériaux peuvent à son contact, entraîner différentes réactions indésirables comme des réactions inflammatoires, des fibroses, des infections ou encore des sensibilisations. La réaction naturelle des cellules envers un corps étranger est en effet une réaction de rejet. Cette réaction dépend énormément des propriétés macroscopiques et microscopiques du matériau et notamment de sa taille, de sa forme, et de la nature chimique et physique de sa surface. Par exemple, la compatibilité avec le sang est généralement meilleure pour des surfaces lisses. La biocompatibilité d'un matériau doit donc être appréciée avant son utilisation au contact des tissus vivants. Elle est ainsi évaluée par des tests *in vitro* sur des cultures cellulaires puis *in vivo* (tests sur des animaux). Le terme d'hémocompatibilité est employé quand le dispositif est au contact du sang (cathéter par exemple). L'hémocompatibilité concerne les réactions physiologiques propres au milieu sanguin (coagulation, agrégation plaquettaire, réponse du système immunitaire, réaction des lymphocytes et leucocytes ...). Aucune thrombose ni hémolyse ne doivent être favorisée par le matériau. Certains dispositifs, tels que les valves cardiaques, sont concernés par les deux notions de bio- et d'hémocompatibilité.

Une des normes les plus importantes pour la biocompatibilité est la norme européenne de biocompatibilité des DM (EN 10993). Cette norme aborde notamment tous les essais de génotoxicité, cancérogénicité, toxicité sur la reproduction, les essais d'interaction avec le sang, de cytotoxicité *in vitro* et donne des procédures d'essais pour l'analyse des produits de dégradation des DM. Les DM y sont classés suivant la nature du contact avec le corps : sans contact, contact en surface (peau saine, peau lésée, muqueuse),

DM communiquant avec l'extérieur (sang, tissus), implants (sang/tissus) et suivant la durée de mise en contact : limitée (< 24 heures), prolongée (< 30 jours), permanente.

La biocompatibilité est hautement dépendante de la structure de la surface du matériau, car il est connu que les entités biologiques "voient", d'un matériau à leur contact, seulement quelques couches atomiques. Afin d'améliorer la biocompatibilité, de nombreuses recherches sur les biomatériaux ont donc pour objet la modification de l'état de surface des matériaux, sélectionnés initialement pour leurs propriétés physico-chimiques intrinsèques (mécaniques notamment). Par exemple, il est relativement courant d'essayer d'améliorer les propriétés anticoagulantes de matériaux polymères comme le polyuréthane en greffant de nouvelles fonctionnalités en surface [8]. Mais les modifications de surface concernent aussi les matériaux métalliques : il est ainsi possible de déposer un film d'hydroxyapatite à la surface d'un implant en alliage de titane afin d'accroître son affinité pour les cellules osseuses [9], ou de modifier la microstructure du titane en surface afin de modifier les interactions avec les protéines du plasma sanguin et de favoriser les processus d'adhésion [10]. La construction d'une surface nouvelle, d'une épaisseur de quelques nanomètres, suffit pour conférer des propriétés nouvelles à un dispositif mis au contact avec un milieu physiologique.

Il n'est pas forcément évident de connaître les effets d'un traitement de surface sur la biocompatibilité d'un matériau: il est nécessaire pour cela de tester le nouveau matériau traité dans différents environnements biologiques, allant des cultures cellulaires aux expériences cliniques *in vivo*. La première étape consiste en une caractérisation de la surface traitée au moyens de techniques classiques de caractérisation de surface comme l'analyse chimique de surface (XPS), et l'observation de la mouillabilité du matériau par divers liquides (mesures de l'angle de mouillage) [8].

Une meilleure compréhension des phénomènes d'interface cellules-biomatériau est fondamentale afin, non seulement d'établir des critères biochimiques prédictifs du comportement cellulaire ultérieur, mais également de concevoir de nouveaux biomatériaux biocompatibles qui ne soient plus inertes mais bioactifs. Il est souhaitable de maîtriser la formation spontanée des dépôts biologiques tels que des colonies bactériennes, des biofilms (constitués d'une couche protéinique, puis des organismes unicellulaires) sur les implants ou les supports médicochirurgicaux. Suivant les applications, une bio-colonisation peut être recherchée, soit pour avoir une meilleure incorporation d'un implant, soit pour permettre une prolifération sur un support (par exemple sur un support d'analyse). Au contraire, cette bio-

colonisation peut aussi s'avérer indésirable : c'est le cas par exemple des objets stériles utilisés en milieu hospitalier [4].

I.3 Polymères et applications médicales

I.3.1 Généralités sur la biocompatibilité des polymères

Les polymères ont été introduits en chirurgie dans les années 50. Si l'on considère seulement la tolérance des tissus vis-à-vis d'un corps étranger, pratiquement tous les polymères sont biocompatibles, mais ils se distinguent par l'intensité de la réaction inflammatoire qu'ils peuvent provoquer [11]. Cependant la biocompatibilité est aussi conditionnée par l'absence d'instabilité physique et chimique du matériau mis en contact avec le milieu biologique, c'est-à-dire par la biostabilité du matériau, en raison de la potentielle toxicité pour l'organisme des produits issus de la dégradation du matériau. La biocompatibilité d'un polymère est en grande partie conditionnée par des paramètres physico-chimiques relatifs à la surface du polymère, qui est la zone privilégiée d'interaction avec le milieu biologique : on peut citer notamment la nature chimique et l'hydrophilie, la rugosité et l'organisation macromoléculaire de la surface. L'évaluation de la biocompatibilité est d'autant plus importante que les matériaux polymères employés dans la fabrication des dispositifs médicaux sont nombreux et très diversifiés. Ainsi, un matériau démontré comme biocompatible dans une application particulière peut se révéler non compatible au niveau d'un autre site d'implantation ou d'une autre application biomédicale.

Le polymère peut présenter une surface hydrophobe ou hydrophile. La surface hydrophobe est une surface de faible énergie ayant donc une composante polaire faible, voire nulle, ce qui est dû à l'absence de groupes polaires. La surface est constituée de sites chimiques apolaires (—C—H , C—C) et il n'y a donc pas de possibilités d'établir des interactions physicochimiques avec des molécules du milieu environnant. Les matériaux correspondant à cette catégorie sont les polymères hydrocarbonés (polyéthylène, polypropylène), les polymères fluorés et les silicones. Les surfaces hydrophiles sont à l'inverse des surfaces de forte énergie ayant donc une composante polaire forte : cela est dû à l'existence de nombreux groupes polaires tels que les —OH (alcool), —NH_2 (amine), —COOH (acide), etc. ... capables d'établir des liaisons polaires, ioniques, acido-basiques avec le milieu environnant. Des liaisons hydrogène (de faible énergie, mais pouvant être nombreuses) s'établissent alors spontanément entre des atomes de la membrane cellulaire,

des groupes chimiques de la biomolécule (protéine), et des fonctions chimiques de la surface du dispositif au contact [4, 12]. Les matériaux présentant ces propriétés sont les poly alcool vinyliques, les dérivés cellulosiques, les polyéthylènes glycols, les polyamides, les polyuréthanes

Dans le cas d'une surface hydrophile en contact avec un milieu aqueux, il est admis qu'un film d'eau se forme immédiatement en surface et constitue ainsi une couche de faible cohésion interdisant le dépôt d'une couche protéinique et ensuite de cellules : l'adhésion est très faible. Par ailleurs, il est aussi souvent observé que les irrégularités de surface sont propices à un accrochage mécanique des bactéries et composés unicellulaires [4].

I.3.2 Dégradation du polymère (biostabilité)

Les mécanismes réactionnels de l'hôte vis-à-vis des dispositifs médicaux avec lesquels il entre en contact peuvent être des mécanismes d'hydrolyse, d'oxydation.

La calcification, par dépôt régulier du calcium sanguin au niveau du dispositif peut aussi entraîner des complications à moyen ou à long terme [13].

La dégradation est un phénomène complexe d'abord surfacique : les études *in vivo* et *in vitro* sont parfois contradictoires. *In vivo* la dégradation est complexe et résulte de la réaction inflammatoire : des molécules biologiques, comme les lipides, peuvent s'absorber dans le matériau et affecter les propriétés mécaniques. La dégradation est accélérée par la présence de leucocytes phagocytes comme les macrophages qui relâchent des produits métaboliques tels que de l'eau oxygénée, et qui possèdent une grande variété d'enzymes capables de digérer pratiquement n'importe quelle molécule biologique (notamment la cathepsine B). Les macrophages s'attachent aux implants et produisent divers enzymes, des superoxydes, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), de l'hypochlorite à des concentrations très élevées localement.

Les principales causes de dégradation *in vivo* sont les fissurations sous stress environnemental, dues à l'action combinée de contraintes mécaniques et d'un agent chimique biologique, et l'oxydation du matériau amorcée et propagée par des ions métalliques [13].

I.3.3 Le rôle des migrants potentiels

On a vu que la biocompatibilité était déterminée par les propriétés de surface du polymère. S'il est vrai que dans le cas d'un polymère exempt de tout migrant potentiel, ce sont les propriétés de surface qui vont surtout jouer un rôle majeur, dans le cas contraire il faudra

prendre en plus en compte le fait que des composés de faible masse molaire peuvent être relargués dans le milieu hôte. Ces composés peuvent être des oligomères, des résidus de synthèse (catalyseurs, monomères, solvants..) ou encore les additifs qui sont ajoutés au polymère lors de leur synthèse ou de leur mise en forme et/ou leurs produits de dégradation. Ces composés peuvent se révéler cytotoxiques, et d'autre part, leur migration peut entraîner un vieillissement prématuré du matériau ou une perte de ses propriétés. Comme il n'y a pas de polymère idéal, tous contiennent des composés de faible masse molaire, même si leur concentration est plus faible dans le cas des polymères de grades médicaux et leur usage réglementé par les différentes pharmacopées. En outre, les additifs de surface comme par exemple les lubrifiants, peuvent masquer la surface même du polymère. Ces composés de surface peuvent alors avoir un effet bénéfique ou non : protection du polymère ralentissant sa dégradation, augmentation de la biocompatibilité, ou au contraire augmentation de la réaction inflammatoire, cytotoxicité ...

Les additifs sont en général des produits organiques, que l'on mélange aux polymères pour modifier leurs propriétés physiques (comme les plastifiants) ou chimiques (comme les stabilisants). Pour les matériaux plastiques destinés au conditionnement pharmaceutique ou à l'emballage alimentaire, les additifs doivent être choisis dans une liste positive (donnée par exemple par la Pharmacopée Européenne pour les conditionnements pharmaceutiques), qui fixe aussi la teneur maximale de chaque additif dans le polymère. Par contre, la composition des matériaux plastiques à usage industriel autre que médical, pharmaceutique ou alimentaire n'est pas réglementée ; ces matériaux contiennent généralement de nombreux adjuvants permettant de faciliter leur mise en œuvre, d'accroître leur résistance et leur durée de vie, et d'améliorer leurs propriétés, mécaniques notamment.

On peut distinguer plusieurs catégories d'additifs parmi lesquelles les plus largement utilisées sont :

- les plastifiants : ce sont des composés de plus ou moins haute masse molaire qui s'insèrent entre les chaînes du polymère, diminuent les forces d'attraction qui les lient et confèrent ainsi de la souplesse au matériau (abaissement de la température de transition vitreuse) ;
- les antioxydants : leur fonction est de protéger les polymères contre les oxydations (thermiques, chimiques, rayonnements) ;
- les protecteurs UV : ils protègent le polymère de la photolyse, qui précède l'oxydation du polymère ;

- les lubrifiants : ils sont utilisés pour limiter la friction de la matière sur l'outillage et pour diminuer l'échauffement au cours de la mise en œuvre.

Les additifs peuvent être des molécules souvent très réactives comme les antioxydants phénoliques, et peuvent être polluants compte tenu de leur faible masse molaire et de leur volatilité [14]. Leur migration dépend de différents facteurs [15] tels que la nature du milieu avec lequel le matériau est en contact (liquide, air, polymère ...), la nature physique et chimique du polymère (cristallinité, température de transition vitreuse ...), la structure des additifs (longueur de la chaîne carbonée par exemple ...), et leur concentration.

Les antioxydants sont utilisés dans la plupart des polymères hydrocarbonés. Le choix de ces substances et leur pourcentage dans la résine dépend à la fois de la nature du composé macromoléculaire et du type d'oxydation que l'on veut prévenir. En effet, les polymères insaturés ont tendance à s'oxyder, alors que les polymères saturés sont plus résistants mais sont sensibles à l'action de températures élevées. Les antioxydants appartiennent à plusieurs groupes chimiques. Ils sont classés en deux catégories : les primaires et les secondaires. Les antioxydants primaires empêchent la formation de radicaux libres, ils inhibent les réactions de propagation de l'oxydation en bloquant les radicaux alkyles et peroxydes. Ces composés sont caractérisés par la présence d'un atome d'hydrogène mobile. Ils interceptent et stabilisent les radicaux $PO^\bullet$ et $POO^\bullet$ (P = Polymère) en leur cédant un hydrogène. Ce sont le plus souvent des phénols à encombrement stérique. Les amines aromatiques sont généralement toxiques voire même cancérogènes et ne peuvent ainsi entrer dans la composition d'articles destinés à l'industrie alimentaire, pharmaceutique et médicale [16, 17]. Les antioxydants secondaires décomposent quant à eux les hydroperoxydes ($ROOH$) instables avant leur clivage. Ce sont généralement des phosphites ou des composés soufrés. Il est à noter que les stabilisants présents dans les polymères n'enrayent pas la dégradation enzymatique du matériau [18].

I.4 Le polyuréthane (PU)

I.4.1 Introduction

La longue histoire des polyuréthanes débute en 1937, avec la mise au point du procédé de polyaddition des polyisocyanates par le Dr Otto Bayer, qui dirigea le service de recherche de la société Bayer pendant plus de trente ans.

Depuis lors, le polyuréthane est devenu l'un des matériaux les plus universels et les plus intéressants. Il occupe une place importante dans de nombreux domaines d'applications : automobile, peintures, mousses, dispositifs médicaux. Ceci est dû à l'importante diversité de structures (linéaires, ramifiées, réticulées) et de compositions chimiques qu'il peut présenter. On désigne en effet par le terme polyuréthane une grande variété d'élastomères formés à partir d'un polyol et d'un diisocyanate. Les PU sont caractérisés par la présence du groupement uréthane (Figure I.1).

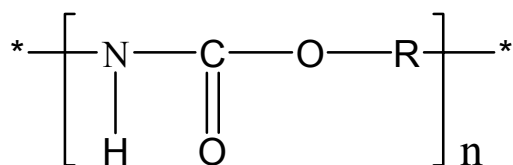


Figure I.1 : Formule générale des polyuréthanes

Le nom de polyuréthane peut prêter à confusion à plusieurs titres : d'une part, le polymère n'est pas synthétisé à partir de monomères uréthanes directement, puisque ce groupement fonctionnel provient de la réaction de polymérisation elle-même. D'autre part, alors qu'une proportion élevée de groupements uréthanes est attendue dans la structure chimique finale du polymère, ceux-ci ne forment qu'une proportion limitée, de nombreuses autres fonctions étant également présentes telles que des fonctions éthers, esters, urées, amides Les principaux constituants de la majorité des PU sont les diisocyanates, de longues chaînes de polyol terminées par un groupement hydroxyle (le plus couramment de type polyéther ou polyester), et des extenseurs de chaînes qui sont soit une diamine, soit une chaîne courte de type diol. Cette composition particulière explique la grande diversité des propriétés physico-chimiques et mécaniques des polyuréthanes [13].

En 1990, la production mondiale de plastiques a dépassé 100 millions de tonnes. Les PU sont classés 5^e par rapport à la production mondiale des thermoplastiques après le polyéthylène (PE), le polychlorure de vinyle (PVC), le polypropylène (PP), et le polystyrène (PS) [19].

I.4.2 Synthèse et critère de choix des différents réactifs

La synthèse des polyuréthanes est issue d'une réaction de polycondensation entre différents monomères : un monomère diol réagit avec un monomère diisocyanate pour donner naissance au groupement uréthane (cf. Figure I.2).

De nombreux polyuréthanes sont synthétisés par un procédé en une étape. Ce procédé rapide, économique et simple, est largement employé. Cependant, nous détaillerons ici la synthèse en deux étapes, qui est la méthode majoritairement utilisée dans le cadre des polyuréthanes d'intérêt médical. Celle-ci permet une meilleure maîtrise de paramètres tels que la structure, les propriétés ou la toxicité du matériau final [13, 20]:

1^{ère} étape : synthèse du prépolymère

La mise en présence du polyol et du diisocyanate permet la formation d'un prépolymère (Figure I.2) ; il s'agit d'un liquide visqueux ou d'un solide à bas point de fusion, dont la masse molaire, n'excède jamais 1500 à 2000 g/mol, et est déterminée par le rapport stœchiométrique entre les deux composés. Généralement, un excès de diisocyanate est mis en œuvre pour permettre l'obtention de groupements isocyanates terminaux sur le prépolymère. Les polyuréthanes peuvent être synthétisés à partir de molécules comportant deux ou plusieurs groupements isocyanates.

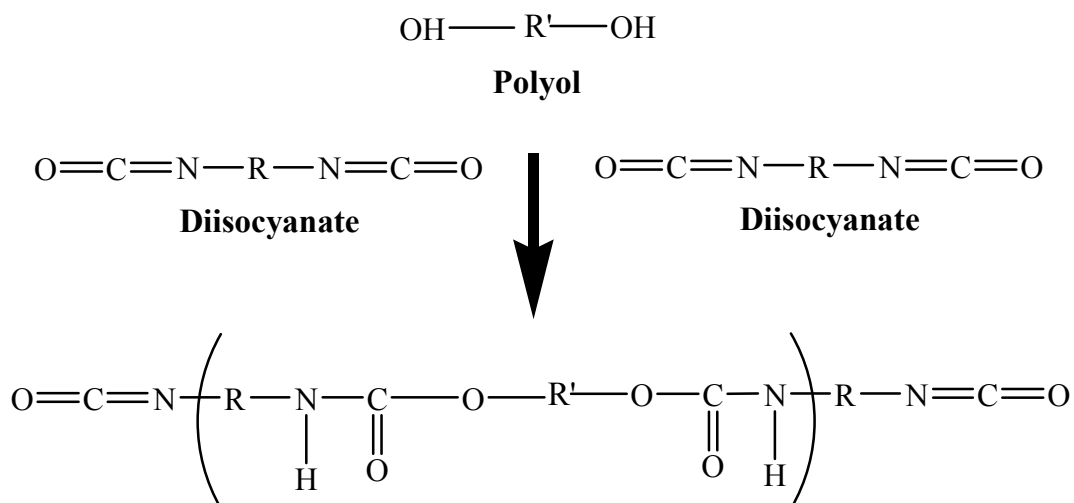


Figure I.2 : Synthèse du prépolymère

Les isocyanates employés dans la synthèse des polyuréthanes peuvent être de nature variée (aliphatique, aromatique, cycloaliphatique). Le groupement isocyanate possède la particularité d'être extrêmement réactif avec de nombreux groupements fonctionnels, qu'ils

soient donneurs ou accepteurs d'électrons : alcools, amines, acides carboxyliques, esters Les polyuréthanes de diisocyanates aliphatiques résistent moins bien aux alcools et sont dégradés après quelques mois d'implantation [21]. Les polyuréthanes de diisocyanates aromatiques présentent une meilleure résistance aux solvants organiques et aux huiles par rapport à leurs homologues aliphatiques. De plus, ils ont globalement de meilleures propriétés mécaniques et une stabilité thermique supérieure. Les polyuréthanes cycloaliphatiques présentent une stabilité à l'hydrolyse inférieure à celle des polyuréthanes aromatiques ; ceci est probablement dû à la présence d'impuretés (mélange d'isomères) dans les diisocyanates utilisés pour la synthèse. Par contre, les polyuréthanes d'isocyanates aliphatiques sont photo-stables [22, 23], tandis que les polyuréthanes d'isocyanates aromatiques subissent la photo-dégradation [24, 25]. Les rayonnements ultraviolet (UV) agissent en effet sur les groupements isocyanates directement voisins d'un noyau aromatique pour donner un chromophore responsable de l'apparition d'une coloration jaune puis brune [26]. Cependant, ce vieillissement n'altère pas les propriétés mécaniques du polymère.

Cette réactivité est à l'origine de réactions annexes conduisant à la formation d'allophanates dans le cas de polyuréthanes ($-\text{CH}_2-\text{N}(-\text{CO}-\text{NHR}')-\text{COO}-\text{CH}_2-$) ou de biurets dans le cas de polyuréthanes-urées ($-\text{CH}_2-\text{N}(-\text{CO}-\text{NHR}')-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-$) ... : ceux-ci peuvent être retrouvés à l'état de trace dans le polymère final si tous les paramètres de synthèse ne sont pas parfaitement maîtrisés [13, 20]. L'utilisation de diisocyanates aromatiques permet généralement d'obtenir des matériaux plus rigides et de température de fusion supérieure, ce qui permet d'obtenir une meilleure résistance à la fatigue en flexion. Ces isocyanates permettent en outre d'avoir une plus faible absorption d'eau et une meilleure résistance aux solvants. Cependant, leur usage entraîne généralement un jaunissement du matériau. Dans le domaine médical les trois composés presque exclusivement utilisés sont le diisocyanate de toluène (TDI), le méthylène diphenylisocyanate (MDI) et le 4,4'-méthylène bis cyclohexyl isocyanate (H_{12}MDI). Le TDI et plus particulièrement le MDI sont les plus employés et représentent à eux seuls approximativement 90 % des diisocyanates totaux utilisés [27-29]. Le MDI présente l'avantage d'être solide à température ambiante, ce qui réduit les problèmes de toxicité inhérents à l'utilisation d'isocyanates volatils tels que le TDI. Il peut en effet provoquer une réaction d'hypersensibilité de type immédiat et/ou retardé, dont le symptôme est l'asthme.

Les polyols utilisés dans la synthèse des polyuréthanes sont des longues chaînes de macrodiols ayant des masses molaires comprises entre 400 et 5000 g/mol. Le diol est

généralement soit un polyéther, soit un polyester, soit un polycarbonate, mais ils incluent aussi des polydiènes ou polyoléfines, et des polydiméthylsiloxanes. Les polyuréthanes à base d'éther sont moins sensibles à l'hydrolyse que ceux à base de polyesters et sont donc plus utilisés dans le domaine biomédical ; les plus stables sont sans doute les polycarbonates. Les polyols sont les molécules principalement responsables de la flexibilité du PU à température ambiante. En pratique, on utilise des composés présentant des groupements hydroxyles terminaux. Les premiers polyols employés ont été les polyéthers. Les polyesters se révèlent sensibles à l'hydrolyse et ne sont donc envisagés que dans des applications biomédicales à court ou moyen terme (de quelques heures à quelques jours). Ainsi, quand la stabilité hydrolytique est requise, on utilise les polyéthers, généralement le polytétraméthylène glycol (PTMG, encore noté PTMEG ou PTMO) qui, de plus, donne au matériau de meilleures propriétés mécaniques [13, 20].

2^{ème} étape : synthèse du polymère

L'association des chaînes du prépolymère entre elles par l'intermédiaire d'un extenseur de chaînes constitue la seconde étape de la synthèse et permet l'obtention des chaînes de polyuréthanes proprement dites. Il s'agit généralement d'un diol de faible masse molaire. Cependant, des composés diamines peuvent également être utilisés ; ils induisent la présence de groupements urées simultanément aux groupements uréthanes et aboutissent à la famille des polyuréthanes-urées, qui est rattachée à la classe des polyuréthanes du fait de ses propriétés voisines (Figure I.3).

Les composés diols ou diamines, de nature aliphatique ou aromatique, sont employés comme extenseurs de chaînes. Généralement, les extenseurs aliphatiques donnent des matériaux plus souples que leurs homologues aromatiques. L'extenseur de chaîne peut augmenter la longueur du segment rigide et ainsi autoriser la ségrégation de segments rigides ce qui entraîne des propriétés mécaniques excellentes telles qu'une augmentation de la température de transition vitreuse (T_g) du segment rigide du polymère. En modifiant le ratio entre le polyol et l'extenseur de la chaîne, les polyuréthanes peuvent prendre les propriétés d'un thermoplastique rigide et fragile ou bien d'un élastomère caoutchouteux. La concentration du segment rigide est définie comme le ratio de la masse des composants non-polyols sur la masse totale du polymère [30].

Le Tableau I-1 regroupe les principaux extenseurs de chaînes polyols employés dans la synthèse des polyuréthanes.

<i>Tableau I-1 : Principaux extenseurs de chaînes</i>	
1, 6-hexanediol	$\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$
BD : 1, 4-butanediol	$\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$
Ethylène glycol	$\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$
Ethylène diamine	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}_2$
MOCA : 4, 4'-méthylène bis(2-chloroaniline)	

Dans le Tableau I-2 nous pouvons voir le résumé des différentes compositions chimiques employés dans la synthèse des polyuréthanes avec les propriétés correspondantes.

Le 4,4'-méthylène-bis(2-chloro-aniline) (MOCA) n'est pas utilisé dans les applications biomédicales car il a été montré comme étant potentiellement cancérigène [20].

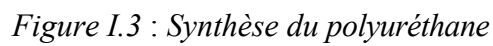


Tableau I-2 : Récapitulatif de la composition chimique des PU

Groupe	Classes	Propriétés
Diisocyanate	Aromatiques (MDI et TDI)	- Globalement bonnes propriétés mécaniques et thermiques. - Aromatiques : plus réactifs, plus rigides, température de fusion supérieure, meilleure résistance en fatigue en flexion, moindre absorption d'eau, meilleure résistance aux solvants et aux huiles mais toxicité importante. - Les UV agissent sur les aromatiques et sont responsables de la coloration du PU. - Ce phénomène de vieillissement ne se produit pas dans les aliphatiques.
	Aliphatiques (H ₁₂ MDI et HDI)	
	Cycloaliphatiques (cyclohexyl diisocyanate)	
Polyols	Polyéthers (PPG, PTMG et PEO)	- Ce sont des segments souples, responsables de la flexibilité du PU à température ambiante. - Le PTMG donne au matériau de meilleures propriétés mécaniques. - Polyesters : sensibles à l'hydrolyse. - Polyéthers : bonne stabilité hydrolytique.
	Polyesters (PEA, PCHD et Polycaprolactone)	
Extenseurs de chaînes (aliphatique / aromatique)	Diols (BD et Ethylène glycol)	- Ils augmentent la longueur du segment rigide. - Propriétés mécaniques excellentes. - Les aliphatiques sont plus souples que les aromatiques. - Suivant le taux d'extenseurs dans le polymère, propriétés d'un thermoplastique rigide et fragile ou d'un élastomère caoutchouteux. - Le MOCA est cancérigène.
	Diamines (MOCA et Ethylène diamine)	

I.4.3 Structure et propriétés

Un grand nombre de PU utilisés dans le domaine médical sont des copolymères dits « segmentés ». Le terme « segmenté » indique l'alternance, dans chaque chaîne macromoléculaire, de segments homopolymères différents (Figure I.4). Les polyuréthanes segmentés sont très complexes. Il est impossible de décrire leurs comportements ou leurs propriétés de façon schématique à cause de leur grande diversité.

Schématiquement, on obtient deux types de segments :

- le polyol proprement dit, qui peut initialement avoir une masse molaire de quelques milliers de g/mol et qui constitue les segments dits souples (SS) ;
- le diisocyanate et l'extenseur de chaîne, qui sont alternés avec les segments de polyol et qui constituent ensemble les segments dits rigides (SR).



Figure I.4 : Structure des polyuréthanes

Les principaux paramètres responsables des propriétés de structure du polyuréthane sont la composition chimique, la masse molaire et la distribution entre les segments rigides et souples. La proportion relative de chacun de ces deux types de segments influence les propriétés finales du polymère.

Comme les différents types de segments qui composent les PU sont de masse molaire élevée, ils contribuent de façon indépendante aux propriétés du polyuréthane. Les adjectifs « souples » ou « rigides » proviennent du comportement mécanique que ces composés donnent au polyuréthane final [20]. Le taux de phase souple modifie ainsi la dureté, l'élongation, le module élastique, et une augmentation du taux de segments rigides augmente le taux de cristallinité dans la phase rigide [31]. La phase rigide a un rôle de renfort, et constitue des points de réticulation physique. L'interconnexion des domaines rigides peut favoriser une déformation plastique à faible étirement [32]. Il a été montré par ailleurs que la susceptibilité des polyuréthanes aux phénomènes de biodégradation dépend des proportions relatives SS/SR du matériau.

Les segments souples (SS) et rigides (SR) sont partiellement immiscibles : c'est pourquoi, parallèlement à la présence de certaines régions de mélange entre SS et SR, ceux-ci auront tendance à s'organiser avec des segments de même nature pour former des micro-

domaines souples ou rigides. La séparation plus ou moins marquée des segments dépend du degré d'organisation des différents segments. La taille des domaines est de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres. La biocompatibilité du PU et ses propriétés mécaniques résultent en partie de cette micro-séparation de phases entre les segments rigides et souples, qui est due à la différence d'énergie de cohésion entre les deux phases, et aussi à la possibilité d'un arrangement cristallin ou paracristallin des segments rigides. Le rôle des forces d'interaction est primordial dans cette organisation. Les interactions moléculaires entre les chaînes permettent d'augmenter la cristallinité. Les différents types d'interaction électrostatique peuvent ainsi jouer un rôle non négligeable dans les propriétés du matériau. Dans le cas des polyuréthanes, l'organisation qui prend place au sein du polymère est favorisée par les liaisons hydrogène (liaisons H). En effet, la fonction uréthane contient un groupement N-H donneur d'hydrogène et deux groupements accepteurs, C=O et C-O-C. D'autres groupements, tels que les éthers des polyols employés en tant que segments souples, contiennent fréquemment des groupements accepteurs de protons ; c'est notamment le cas du PTMG. Ces liaisons H se révèlent importantes du point de vue qualitatif et quantitatif ; elles sont significativement impliquées dans les propriétés du matériau final. C'est pourquoi, bien qu'ils soient linéaires, les polyuréthanes possèdent les propriétés mécaniques d'un élastomère. Les polyétheruréthanes ont moins de liaisons H que les polyesteruréthanes de même composition en segment rigide. L'augmentation du taux de segments rigides accroît le nombre de liaisons hydrogène. Environ 90 % des groupements N-H dans le segment rigide d'un polyuréthane typique, forme des liaisons hydrogène [33, 34].

Schématiquement, aux proportions couramment employées, on parle de micro-domaines rigides plus ou moins organisés dispersés dans une matrice de SS (Figure I.5) [20, 35]. Il est important de noter que la présence d'extenseur de chaînes au sein du matériau final facilite l'organisation et la séparation des phases.

On a déjà vu dans la partie consacrée à la synthèse, que la présence de certains groupements chimiques dans la structure du polyuréthane peut en rigidifier la matrice : c'est le cas notamment des groupements aromatiques ou cycloaliphatiques, ou encore des doubles liaisons. Il faut noter aussi que la symétrie des composés intervenant dans la synthèse du polyuréthane joue un grand rôle dans la facilité des chaînes à s'organiser en zones ordonnées plus ou moins cristallines. En conséquence, elle joue également un rôle dans les propriétés mécaniques. Outre la notion d'immiscibilité des différents composés, la capacité d'organisation inhérente à la nature des segments peut donc être très différente. Certains monomères de structure régulière et symétrique tels que le MDI ou le PTMG ont ainsi la

possibilité de s'organiser pour former des zones denses et cristallines. Aussi, les polyuréthanes à base de MDI présentent des micro-domaines rigides bien organisés alors que, du fait de sa disponibilité sous forme de mélange d'isomères, le H₁₂MDI conduit à la formation de micro-domaines d'organisation et de taille inférieures [13].

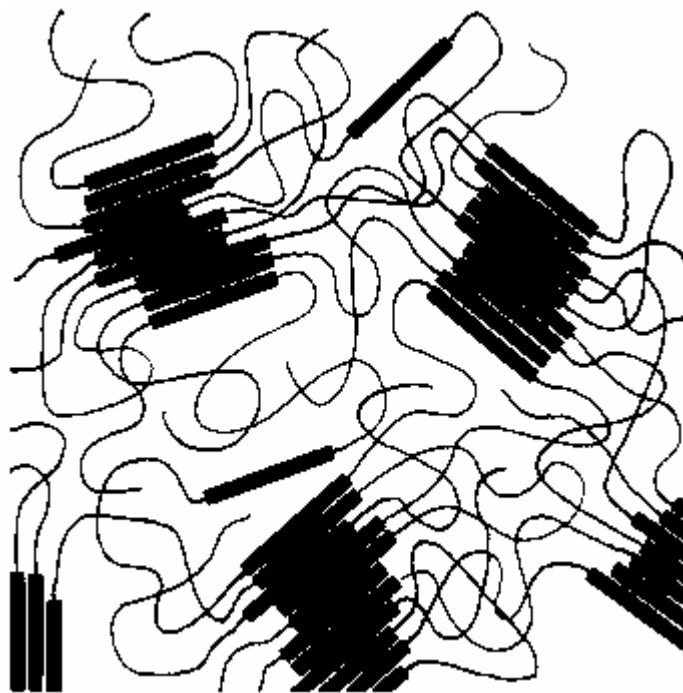


Figure I.5 : Représentation schématique des segments rigides (bâtonnets épais) et des segments souples (traits fins) au sein du matériau [20, 35]

La flexibilité d'un polyuréthane est augmentée par une forte densité de liaisons C-O-C et est diminuée par la présence de courts substituants de la chaîne principale (ex. : groupement méthyle), de ramifications, de réticulations, de zones cristallines et par l'utilisation de groupements aromatiques ou asymétriques.

Les zones cristallines diminuent la flexibilité et augmentent la dureté, la force et la résistance mécanique du polymère de façon plus ou moins importante. Ces propriétés peuvent être gênantes pour des élastomères ou des mousses de polyuréthanes [26].

I.4.4 Dégradations

Dans l'air, ce sont les rayonnements UV qui amorcent la dégradation sur les groupements C-C-O par auto-oxydation ; dans l'eau, les structures polyéther sont relativement résistantes à l'hydrolyse classique, mais le point faible est le pont uréthane. Les dégradations des polyéthers restent très modérés notamment comparés aux polyesters pour lesquels il y a

autocatalyse grâce aux groupements acides. Le processus de mise en forme joue un rôle non négligeable dans l'existence de la dégradation : la présence de bulles, fissures, stress résiduels, impuretés initiales peuvent jouer de manière conséquente sur le comportement *in vivo* La dégradation est favorisée par la présence des segments souples car les attaques oxydantes se font au niveau des groupements C-O. Les polyéthers peuvent être hydrolysés sous des conditions spécifiques (haute température, acidité, alcalinité), peuvent être oxydés (par H₂O₂ notamment) et attaqués par de nombreuses enzymes (la production de MDA est ainsi observée en présence de papaïne) [20].

I.4.5 Les polyuréthanes d'intérêt médical

Les polyuréthanes présentent, grâce à leur diversité, un grand intérêt dans le domaine biomédical et pharmaceutique. En effet, de par leurs propriétés mécaniques, physiques et chimiques, ainsi que par leur biocompatibilité, ils constituent l'un des matériaux de choix pour la fabrication des dispositifs médicaux, au même titre que les silicones. A la fois résistants et flexibles, transparents ou translucides, hémocompatibles et biocompatibles, ils sont les polymères les plus largement utilisés pour les produits destinés à entrer en contact avec le sang et les tissus [26]. Nous les trouvons ainsi dans des dispositifs médicaux, dont une grande partie destinée à des applications cardio-vasculaires. Dès 1960, des cathéters de polyuréthane ont ainsi été mis sur le marché puis des dispositifs médicaux à base de PU furent conçus dans le but d'être utilisés sur des pacemakers. Cependant, les applications cardio-vasculaires ne sont pas l'unique domaine d'application des PU médicaux et ils interviennent aussi au sein de divers organes artificiels ainsi que dans le domaine de la substitution tissulaire. On trouve ainsi des éléments en PU au niveau :

- des tubes de pompes péristaltiques ;
- des tubes pour solutions parentérales ;
- des prothèses mammaires ;
- des membranes d'hémodialyse, tubes, connections ;
- des cathéters de diagnostic : urologique, gastro-intestinal, nasal, oral, gaines d'endoscopes ;
- des tubes endotrachéaux ;
- des prothèses vasculaires, tubes vasculaires, chambre de cœur artificiel, valves cardiaques, isolant pacemaker.

I.5 Les polymères commerciaux biomédicaux

Un des polymères les plus adaptés au domaine médical est le Biomer[®] commercialisé par Ethicon. Il présente un très bon compromis entre propriétés physiques, chimiques, mécaniques et état de surface. Sa très bonne résistance à la fatigue et sa biostabilité en font un candidat convaincant pour la réalisation de pièces de cœur artificiel. C'est un polyuréthane urée élaboré à partir de MDI, de PMTG et d'éthylène diamine. D'autres industries ont mis au point des polymères analogues au Biomer[®], comme Polymedica Industries avec le Mithrathane[®] et 3M avec l'Hemothane[®]. Le problème du Biomer[®] est sa processibilité : il doit être coulé en solution car il ne peut être fondu sans risque d'être dégradé.

Pour les applications cardio-vasculaires l'Angioflex[®] (Abiomed) et le Cardiothane[®] (Avco) qui sont des silicones uréthanes, présentent une bonne hémocompatibilité mais sont difficiles à mettre en forme.

La dernière famille des grades médicaux est constituée des polyuréthanes de type polyéther. Parmi ceux-ci, on trouve les Tecoflex[®] (Thermedics) qui sont à base de diisocyanate aliphatique et les Pellethanes[®] qui sont à base de diisocyanates aromatiques. Le Pellethane[®] est une marque enregistrée de Dow Chemical. C'est un polyuréthane très flexible et perméable à l'air. Le Pellethane[®] présente une large gamme de résines différentes (plus de trente) pouvant être mises en forme par des procédés d'injection, de moulage et d'extrusion [36].

Le Pellethane[®] (Figure I.6) a des propriétés et avantages importants :

- une bonne flexibilité ;
- une bonne résistance aux combustibles, aux huiles et aux solvants non-polaires (aliphatique et aromatique) ;
- une bonne stabilité à l'hydrolyse (Polyéthers Séries 2101, 2103, 2363) ;
- une bonne transparence.

La série des Pellethane[®] 2363 est celle qui est utilisée pour les applications médicales. Elle est obtenue à partir de MDI, PTMG et utilise comme extenseur de chaîne du butane diol. Un de ses atouts majeurs est sa grande facilité de mise en forme par des moyens variés : moulage, extrusion, thermoformage, coulage. Biocompatible, non cytotoxique et non

mutagène, ces polymères présentent une résistance à la fatigue acceptable. Ce PU est relativement peu coûteux. Il a un aspect clair, lisse et il est relativement stable en milieu aqueux. Le problème des Pellethane[®], comme des Tecoflex[®] est qu'ils ne peuvent pas être utilisés pour des implants à long terme en raison de leur susceptibilité à se fissurer *in vivo*. C'est pourquoi les Pellethane[®] 2363 ont été retirés du marché pour les applications à long terme depuis 1992. Les Pellethane[®] 2363 peuvent être stérilisés par chaleur sèche, gaz ou irradiation. L'autoclavage n'est pas recommandé : la formation de MDA de l'ordre de quelques ppb par hydrolyse a été mise en évidence par certains auteurs [37]. Dans le cas de la stérilisation à l'oxyde d'éthylène, aucune modification n'a été observée et les radiations n'ont pas d'effets marqués sur les propriétés mécaniques [38].

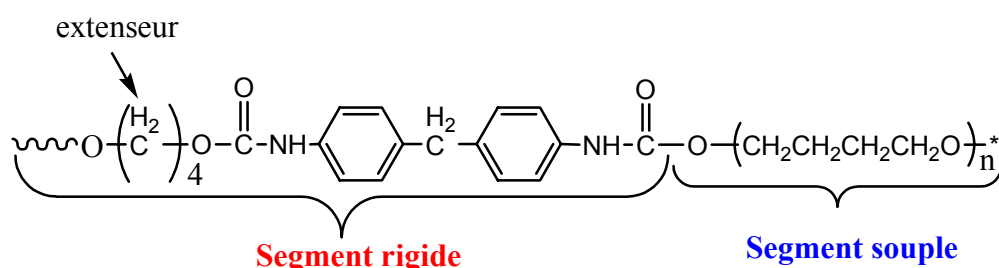


Figure I.6: Formule générale des Pellethanes[®]

I.6 Conclusion

Cette partie bibliographique nous a permis de mettre en évidence deux points clefs :

- le premier concerne l'importance de la physico-chimie de surface dans les applications biologiques : c'est en effet l'état de surface qui conditionne de manière prépondérante la biostabilité et la biocompatibilité des matériaux, ainsi que l'adhésion bactérienne sur un matériau ;
- le second nous montre la grande diversité des polyuréthanes tant au niveau de leur structure physique que chimique.

L'organisation structurale peut être relativement complexe avec une micro-séparation de phases plus ou moins marquée, des domaines plus ou moins organisés, et la présence de liaisons hydrogène qui peuvent avoir un rôle important dans l'organisation structurale de ces

matériaux. En raison de ces diverses caractéristiques, le polyuréthane apparaît comme un candidat très intéressant pour de nombreuses applications médicales.

Chapitre II : Les méthodes de stérilisation

Sommaire

II.1 Introduction générale	37
II.1.1 Définition des notions de stérilisation et de décontamination	37
II.1.2 Exigences des principaux domaines d'application	38
II.2 Les différentes méthodes de stérilisation	39
II.2.1 Stérilisation par agents thermiques	39
II.2.2 Stérilisation par agents chimiques	41
II.2.3 Stérilisation par agents physiques de type rayonnements ionisants	43
II.2.4 Stérilisation par agents physiques de type plasma froid	46
II.2.5 Validation d'un processus de stérilisation	56
II.3 Conclusion	57

II.1 Introduction générale

La stérilisation est une étape obligatoire dans le cycle de fabrication d'un matériel médical voué à entrer en contact avec les tissus vivants, donc de tout matériel implantable ou médico-chirurgical. L'ensemble du matériel médical est concerné, qu'il soit organique (polymère) ou inorganique (céramique, métal). Pour stériliser efficacement un dispositif médical, il est nécessaire de prendre en compte trois entités différentes qui font partie intégrante du système, qui sont l'agent stérilisant, le matériau à stériliser, les micro-organismes à inactiver. Les infections nosocomiales sont l'une des plus importantes sources de complications quand on implante des DM en intra musculaire ou en subcutanée.

II.1.1 Définition des notions de stérilisation et de décontamination

Le but de la stérilisation d'un objet est la destruction ou l'inactivation irréversible de tous les micro-organismes (cellules vivantes, spores, virus ...) qui se trouvent dans ou sur cet objet sans altérer ses propriétés physico-chimiques. La norme AFNOR NF 72-101 définit la stérilisation comme étant [39] :

« La mise en œuvre d'un ensemble de méthodes et de moyens visant à éliminer tous les micro-organismes vivants de quelque nature que ce soit et sous quelque forme que ce soit, portés par un objet parfaitement nettoyé ».

Dans ou sur un objet stérilisé, aucun micro-organisme ne peut donc plus être décelé. Dans la pratique, comme il est impossible de détecter de très faibles niveaux de contamination, la stérilité décrite et requise dans les textes réglementaires, est basée sur une fonction de probabilité : un produit est considéré comme stérile quand la probabilité de survie d'un micro-organisme après le processus de stérilisation auquel il a été soumis est inférieure à 10^{-6} , sachant qu'il a été montré que la mortalité des micro-organismes lors d'une stérilisation suit une évolution logarithmique. La notion de stérilisation est indissociable de celle de désinfection.

Selon l'AFNOR, la désinfection est une opération, au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération [39]. Cette étape est extrêmement importante

car l'efficacité d'un procédé de stérilisation dépend de la charge microbienne. Si le matériel à stériliser est fortement contaminé, la stérilité ne peut être garantie [40-42].

Etant donné qu'un objet stérile peut être contaminé par contact avec le milieu extérieur, une première exigence est de conditionner l'objet avant stérilisation. Ce n'est qu'au moment de son utilisation qu'il peut être déconditionné de manière aseptique. Le conditionnement et le mode de conservation du matériel stérile font ainsi partie intégrante de la stérilisation.

II.1.2 Exigences des principaux domaines d'application

Il existe deux champs d'application de la stérilisation qu'il est important de distinguer et qui sont le milieu industriel et le milieu hospitalier. L'ensemble des agents stérilisants disponibles se divise en agents thermiques, chimiques ou physiques. Aucun de ces agents n'est universel, c'est-à-dire applicable à tous les types de matériaux. Le choix de la technique de stérilisation sera fonction de la nature chimique, de la forme du dispositif médical ainsi que de son emballage [13, 43]. Actuellement les hôpitaux et les industries utilisent différentes techniques de stérilisation adaptées à des charges à stériliser différentes. Certains agents stérilisants, tels que les agents thermiques, peuvent être mis en œuvre de la même façon dans les deux domaines d'application alors que d'autres sont exclusivement utilisables dans l'un ou l'autre de ces pôles d'application.

En milieu industriel, les produits finis représentent un volume global très élevé. La stérilisation est conduite, contrôlée et validée en routine par un personnel spécialement qualifié pour cette fonction. Les stérilisations mises en œuvre doivent posséder une capacité à stériliser d'importants volumes. Le domaine technologique de la stérilisation industrielle est en évolution car l'oxyde d'éthylène, qui est l'agent stérilisant prédominant depuis les années 1960, est régulièrement remis en cause depuis près de vingt ans pour un certain nombre de problèmes toxicologiques et environnementaux. Beaucoup de stérilisations s'effectuent ainsi désormais via des traitements par rayonnements ionisants.

Pour le milieu hospitalier, la problématique est toute autre. Dans ce secteur, il convient de distinguer le matériel à usage unique (seringues, aiguilles, cathéters ...), stérilisé lors de la production en temps qu'objet fini par l'industriel, que l'hôpital utilise directement puis élimine, du matériel réutilisable, tels que les instruments de chirurgie, que l'hôpital doit stériliser avant chaque utilisation. La stérilisation à l'hôpital concerne un volume plus faible de dispositifs médicaux mais qui ont été préalablement utilisés. Leur nature physico-

chimique est très diversifiée et l'aspect qualitatif et quantitatif de la contamination est inconnu. La stérilisation, réalisée par un personnel moins spécialisé, est menée avec un nombre de contrôles minimal, et sans doute insuffisant. A l'hôpital, la stérilisation est réalisée principalement par la chaleur humide (autoclave). Lorsque celle-ci n'est pas possible, d'autres méthodes de stérilisation sont utilisées, notamment des techniques de chimios térilisation ou de plasma (Plazlyte[®], Sterrad[®]).

II.2 Les différentes méthodes de stérilisation

II.2.1 Stérilisation par agents thermiques

Les techniques faisant intervenir la chaleur ont été les premières méthodes mises en œuvre pour obtenir la stérilité. Leur principe a peu évolué depuis leur première mise au point. Cependant, l'appareillage, les procédés de mise en œuvre et de contrôle ont largement évolué et ont permis d'améliorer l'efficacité de ce type de traitement. Les agents thermiques sont principalement utilisés dans le cas des dispositifs médicaux métalliques (les instruments de chirurgie ...) et des contenants en verre tels que les ampoules et flacons [13].

II.2.1.1 Stérilisation par chaleur sèche

Elle est réalisée dans un stérilisateur à chaleur sèche appelée aussi étuve de Poupinel ou four Pasteur, qui possède un système de ventilation permettant de répartir uniformément la chaleur dans l'enceinte. Le produit à stériliser est exposé à une température déterminée pendant un temps donné [13]. Les températures sont généralement comprises entre 140 et 180°C, mais elles peuvent s'élever jusqu'à 400°C pour certaines applications pour lesquelles il est nécessaire de détruire des endotoxines, qui sont des toxines produites par certaines bactéries (en particulier les bactéries gram-négatives). La durée des cycles est comprise entre 30 minutes et 4 heures : elle dépend de la nature du matériel à stériliser, du volume du matériel et du conditionnement.

Il convient de noter qu'en présence de chaleur sèche, certaines bactéries peuvent développer une résistance par sporulation (formation d'une coque).

Les mécanismes d'action invoqués sont la déshydratation et les réactions d'oxydation et de dénaturation des protéines constitutives des micro-organismes. L'efficacité d'un tel mécanisme dépend de la température et de la durée d'exposition à la chaleur.

Cette méthode de stérilisation est simple et possède un pouvoir de pénétration important et ne nécessite qu'un contrôle et une maintenance relativement limités. Cependant cette technique ne peut être utilisée avec des matériaux thermosensibles ou des polymères trop facilement oxydables tels que les polyoléfines et polyacétals.

II.2.1.2 Stérilisation par chaleur humide

La stérilisation par la chaleur humide est faite à des températures élevées au moyen de vapeur saturée et sous pression. Cette méthode est certainement le procédé de stérilisation le plus fiable et le plus facile à contrôler. La stérilisation à la vapeur sous pression représente donc le premier choix pour le matériel qui résiste aux températures et pressions élevées, aux brusques changements de pression et à l'humidité. Cette méthode est la plus ancienne et la plus répandue en milieu hospitalier où elle est utilisée dans 90 % des cas. En général, les temps standard de stérilisation sont de 20 minutes à 120°C avec une surpression de 100 kPa [13, 44].

Dans l'enceinte close de stérilisation, un équilibre établi entre la température et la pression permet d'obtenir une vapeur d'eau de température élevée.

La vapeur d'eau entre en contact avec le matériau à stériliser et c'est l'échange de chaleur entre la vapeur et le produit à stériliser par le biais de l'eau qui va être à l'origine de l'action stérilisante et de la destruction des endotoxines. L'humidité permet de réduire la température nécessaire pour dénaturer et agglutiner les protéines du micro-organisme, accélérant ainsi sa destruction. Des valeurs de l'ordre de 120 à 140°C sont ainsi couramment employées. L'efficacité dépend de trois facteurs déterminants. Le premier est la durée du cycle qui varie de 40 à 60 min, avec une phase de stérilisation d'une quinzaine de minutes. Les deux autres paramètres correspondent à la température et au pourcentage d'humidité du cycle. Ces deux paramètres sont étroitement corrélés, puisque le pourcentage d'humidité présent réduit en conséquence la température nécessaire à l'activité stérilisante.

Cette méthode est facile à contrôler, peu coûteuse, rapide et non toxique pour l'environnement. Mais elle ne convient pas à certains matériaux thermosensibles ou thermolabiles qui peuvent être respectivement dégradés ou déformés par la température [45]. Elle ne convient pas non plus aux polymères hydrolysables facilement dégradables par l'eau tels que les polyesters, polyglycoliques ou polylactiques. En outre, quand les matériaux sont

stérilisés dans leur emballage final, il faut que celui-ci soit compatible avec la technique, et soit suffisamment perméable pour permettre la pénétration de la vapeur d'eau jusqu'au matériau. Cette technique est ainsi applicable à quelques polymères connus pour être résistants à la chaleur, tels que les silicones et les polymères fluorés.

II.2.2 Stérilisation par agents chimiques

Il existe de nombreux agents chimiques qui ont une fonction décontaminante ou un effet inactivant sur certains germes pathogènes spécifiques. On trouve typiquement des composés phénoliques (phénol ...), des alcools (éthanol ...), des composés halogénés (iode, iodophore, chlore ...), des aldéhydes (glutaraldéhyde) et des gaz stérilisants (oxyde d'éthylène, formaldéhyde).

Le développement de la stérilisation par l'oxyde d'éthylène (OE) a débuté dans les années 1930 ; elle a alors suivi une croissance importante pour devenir la première technique de stérilisation du matériel médical [13]. L'oxyde d'éthylène est un éther cyclique dont la formule chimique est représentée sur la Figure II.1. Il est gazeux à pression atmosphérique et à température ambiante. Son action bactéricide est due à son pouvoir alkylant ; par ouverture de son cycle, l'oxyde d'éthylène peut entrer dans des réactions d'hydroxy-éthylation qui sont à l'origine de son action biocide.

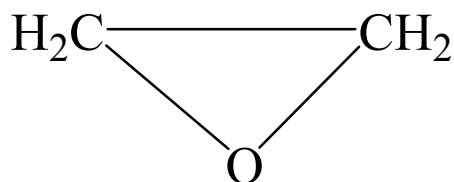


Figure II.1 : Formule chimique de l'oxyde d'éthylène

L'oxyde d'éthylène est peu coûteux et permet de stériliser les produits thermosensibles. Un cycle de stérilisation par l'OE présente en effet l'avantage de se dérouler à une température relativement faible (50°C), en comparaison avec les techniques présentées précédemment. De plus, cette méthode est efficace, non corrosive, facile d'emploi et permet la stérilisation de nombreux éléments même complexes, en profondeur [46].

Mais cette méthode présente aussi de nombreux inconvénients : l'oxyde d'éthylène est inflammable dans l'air dès que sa concentration est supérieure à 3 % (un certain nombre d'accidents de ce type se sont produits durant ces dernières années). C'est pourquoi il sera utilisé sous pression réduite, pur ou mélangé à un gaz inerte tel que l'azote. En outre il peut entraîner

des irritations des muqueuses oculaires et respiratoires, des nausées, des vomissements et des troubles nerveux. Il possède, en particulier, des propriétés cancérogènes et mutagènes [47]. L'oxyde d'éthylène peut également réagir avec les molécules de polymères et des dérivés toxiques peuvent apparaître comme le chloro-2-éthanol et l'éthylène glycol [45]. Tout ceci est dangereux pour les manipulateurs directement exposés et pour le patient par le biais de produits formés dans le polymère [48]. La durée du cycle est ainsi assez longue, car afin d'éliminer tout résidu toxique, une période d'aération est nécessaire. Cette période doit être optimisée pour chaque matériau car l'élimination des résidus d'oxyde d'éthylène, appelée désorption, dépend de la composition du produit à stériliser, de son épaisseur, de sa porosité (plus un matériau est poreux, plus la désorption est difficile), de son poids, du matériau d'emballage, mais aussi des conditions d'aération et de l'emploi auquel le matériau est destiné (contact avec les patients ou non) [47]. L'OE piégé éventuellement dans le matériau après une mauvaise désorption peut entraîner chez le patient diverses réactions allant de l'irritation locale jusqu'à des problèmes sanguins graves tels que des syndromes hémorragiques [45] ou encore une fibrinolyse [49].

Après un vide préalable et une humidification contrôlée, la charge à stériliser est exposée à l'action du mélange gazeux à une pression correspondant à une concentration et à un temps donnés, ainsi qu'à une température déterminée. La concentration en oxyde d'éthylène dans l'enceinte doit être supérieure à 600 mg/L(sous vide) [40]. Le temps peut varier de 0 à 12 heures selon la concentration en oxyde d'éthylène dans l'enceinte de stérilisation. A cela s'ajoute une période de mise en « repos » en local ventilé, allant de quelques jours à quelques semaines, et permettant la désorption de l'oxyde d'éthylène. Cependant les paramètres temps, concentration et pression sont très variables selon les procédés et les mélanges gazeux utilisés.

La majorité des biomatériaux polymères est compatible avec la stérilisation par oxyde d'éthylène. Cependant, les matériaux pour lesquels le temps de désorption de l'OE emprisonné dans la matrice est très long peuvent poser des problèmes ultérieurs de toxicité par relargage des résidus au niveau du milieu biologique. Par conséquent, cette méthode fait l'objet d'une réglementation de plus en plus contraignante qui s'oriente, à l'heure actuelle, vers sa stricte limitation aux matériaux pour lesquels les autres agents stérilisants ne peuvent être employés.

Il est à noter qu'un autre gaz, le formaldéhyde, peut être employé pour la stérilisation des matériaux thermolabiles, mais sa pénétration est moins bonne que celle de l'oxyde d'éthylène.

II.2.3 Stérilisation par agents physiques de type rayonnements ionisants

Cette méthode est aujourd'hui largement utilisée dans l'industrie pour la stérilisation du matériel médico-chirurgical [45]. La radiostérilisation est un procédé fiable, facilement contrôlable, pouvant être réalisé à température ambiante ; il peut être intégré dans une chaîne de production industrielle d'articles préemballés. Mais cette technique a l'inconvénient d'être très coûteuse car elle nécessite l'installation de structures particulières, résistant à ces rayonnements. Elle est notamment trop lourde et trop coûteuse pour être utilisée à l'hôpital.

La radiostérilisation utilise des rayonnements fortement ionisants qui possèdent la propriété de pouvoir arracher des électrons aux atomes de la cible. Trois types de rayonnements sont utilisés : les électrons accélérés (les rayonnements β), les rayonnements gamma ($R\gamma$) et les rayonnements X. Les rayonnements γ et X sont plus pénétrants que les rayonnements β . Les rayonnements gamma sont les plus utilisés pour la stérilisation.

Les micro-organismes sont inactivés par les rayonnements ionisants suivant deux voies : une inactivation directe des molécules vitales telles que l'ADN, et une inactivation indirecte de ces mêmes molécules par des molécules biologiques non fondamentales du micro-organisme. Les radicaux libres, issus notamment de la radiolyse de l'eau, jouent un rôle important dans ce processus d'inactivation.

La dose absorbée à laquelle les matériaux doivent être soumis doit permettre la destruction totale des micro-organismes tout en entraînant un minimum de modifications au sein du matériau. Dans le cas des rayonnements ionisants, la quantité d'énergie cédée au milieu par unité de masse est donnée par la dose absorbée en Gray (Gy) ou anciennement en rad ($10 \text{ kGy} = 1 \text{ Mrad} = 10 \text{ kJ/kg}$). Le débit de dose correspond à la vitesse à laquelle l'énergie est absorbée par la cible et s'exprime en kGy.s^{-1} . Il conditionne le temps d'exposition des produits à stériliser aux rayonnements ionisants. Dans le cas des $R\gamma$, le débit de dose est directement relié à l'activité qui décroît avec le temps (nombre de transformations nucléaires par unité de temps, en Curie). Cette évolution, quantifiable, est mathématiquement reliée à la demi-vie de l'isotope. En revanche, le débit de dose est constant dans le temps puisqu'il dépend uniquement de la puissance de l'installation.

Il est à noter que les rayonnements ionisants, hautement énergétiques, induisent une élévation de température de la matière. A la fin de l'irradiation, on parle d'équilibre thermique lorsque la totalité de l'énergie des rayonnements a été dissipée dans le matériau. Puis, les molécules excitées ou ionisées entrent dans une succession de réorganisations et de

réactions jusqu'à l'obtention de l'équilibre chimique. Cependant, dans le contexte de la radiostérilisation, il est communément reconnu que cette élévation de température qui est modérée et/ou de durée brève, n'induit aucun effet thermique supplémentaire.

Les rayonnements, quel que soit leur type, peuvent cependant modifier la structure et la coloration des polymères. Une odeur rance peut aussi être constatée avec certains polymères (polyoléfines) après traitement ionisant. Ces effets dépendent du type de polymère et de la dose moyenne absorbée. Classiquement on distingue trois classes de polymères : les polymères peu résistants qui ne peuvent supporter une dose de 25 kGy (polytétrafluoréthylène (PTFE), polyvinyliques (PP, PVC) et polyméthacrylate de méthyle (PMMA) ...), les polymères résistants qui peuvent subir un ou plusieurs cycles de radiostérilisation (PE, cellulose et dérivés, polymères fluorés autres que PTFE, polyacryliques autres que PMMA, silicones, PU ...), et les polymères très résistants qui peuvent subir de nombreux cycles de stérilisation en présentant des altérations modérées (PS et autres polymères aromatiques, polyéthylène téréphtalate (PET) et polycarbonates (PC) aromatiques ...).

La radiostérilisation peut être ainsi largement utilisée pour le matériel à usage unique en plastique dans l'industrie, et ce, même si son impact sur certains polymères n'est pas négligeable. Les rayonnements peuvent en effet entraîner différents types de modifications des matériaux polymères [45, 50-52] : il est ainsi possible d'observer des dégradations du polymère par rupture (scission) des chaînes principales, ce qui a pour conséquence une diminution de la masse molaire du polymère et un changement de ses propriétés mécaniques. Parallèlement des réticulations par création de ponts entre les chaînes principales peuvent aussi se produire. Généralement, dans le cas des polymères ramifiés ou ayant un carbone substitué (tel que le poly(méthacrylamide)), la scission prédomine sur la réticulation. La réticulation a majoritairement lieu pour les polymères comportant des carbones non substitués (tels que le PE et le PP). Cette réticulation est due en partie à la présence d'atomes d'hydrogène mobiles dans le polymère : elle augmente la masse molaire du polymère et entraîne la formation d'un réseau tridimensionnel. En raison des scissions de chaînes, l'irradiation peut par ailleurs entraîner la formation de doubles liaisons le long des chaînes polymères, ainsi que la création de radicaux libres de carbone ($C^{\bullet}$) qui réagissent avec l'oxygène présent pour donner des groupements peroxydes ($COOR$) qui se décomposent ensuite, entraînant une dégradation supplémentaire du polymère. Si des doubles liaisons conjuguées sont présentes le long des chaînes, une coloration (jaune à brune) du polymère

est possible. En outre, les additifs ajoutés dans les matériaux plastiques peuvent être dégradés par les rayonnements et donner naissance à des dérivés toxiques.

II.2.3.1 Electrons accélérés

Correspondant à un faisceau d'électrons délivré par un accélérateur (canon à électrons), la stérilisation par les électrons accélérés (EA) a été envisagée dès les années 1930 par D.A. Charlesby [53] et le premier accélérateur a été commercialisé dans les années 1950 par Johnson & Johnson. Cependant, des problèmes de fiabilité et de performances diminuaient, à l'époque, l'intérêt de cette technique par rapport aux $R\gamma$. C'est dans les années 1970 qu'un grand nombre de progrès technologiques ont permis l'utilisation fiable des EA comme méthode de stérilisation. Les électrons accélérés sont aujourd'hui issus de générateurs ou d'accélérateurs électriques de haute puissance : l'énergie de ces rayonnements peut atteindre 10 MeV.

L'interaction EA-polymère, lorsque l'énergie des électrons est de quelques MeV, peut être réduite à la diffusion inélastique, c'est-à-dire lorsque l'énergie cinétique du système avant et après collision entre les atomes cibles et l'électron incident est totalement conservée. L'électron incident qui entre en collision avec un électron des atomes cibles, lui cède une partie de son énergie cinétique et est dévié de sa trajectoire initiale. L'électron cible, appelé électron secondaire, est éjecté et peut, si l'énergie qui lui a été cédée est suffisante, induire l'ionisation d'un nouvel atome par éjection d'un électron tertiaire. Ainsi, une réaction en cascade s'effectue jusqu'à ce que l'énergie des électrons (primaires, secondaires, ...) ne soit plus suffisante pour entraîner de nouvelles ionisations. Un second mécanisme se traduit par l'émission d'un rayonnement dit de freinage (Bremsstrahlung) lors du passage des électrons au voisinage des atomes. Ce rayonnement, qui correspond à une émission de rayons X, est négligeable dans le cas d'électrons de quelques MeV interagissant avec des cibles organiques.

II.2.3.2 Rayonnements gamma

Ils correspondent à un rayonnement électromagnétique de grande énergie obtenu à partir d'éléments radioactifs (les plus courants : cobalt 60 et césium 137). La désintégration de ces noyaux libère des photons d'énergie définie. L'énergie de ces rayonnements est de l'ordre du MeV. Contrairement aux électrons accélérés qui ont plus une action de surface, les $R\gamma$ ont une action dans la masse. Le premier stérilisateur utilisant les $R\gamma$ a été développé par Ethicon (Johnson & Johnson) et a été commercialisé en 1956.

Il y a trois principaux processus décrivant l'interaction $R\gamma$ - matière : l'effet Compton, l'effet photoélectrique et la production de paires électron-positron. L'importance relative de chacun des trois processus dépend de l'énergie des photons incidents. De la même façon que dans le cas des EA, un rayonnement de freinage (Bremsstrahlung) peut intervenir ; il n'est notable que dans le cas de cibles lourdes et pour des énergies très élevées.

II.2.3.3 Rayonnements X

Ils sont générés par le bombardement électronique d'une cible métallique. Ils résultent soit du ralentissement des électrons dans la matière soit du changement de niveau d'énergie des électrons sur une orbite interne [54].

II.2.4 Stérilisation par agents physiques de type plasma froid

Le premier rapport sur le plasma comme agent stérilisant a été décrit par Menashi en 1968 [55]. L'appareil utilisait une radio fréquence (RF) et de l'argon à pression atmosphérique et a été utilisé pour stériliser la surface intérieure de fioles. Dans ce but, le champ RF était imposé dans la bouteille par un fil droit, et une bobine était enveloppée autour de la fiole et jouait le rôle d'électrode de référence pour fermer le circuit RF (décharge du type couronne). Menashi était ainsi capable de stériliser des fioles qui contenaient 10^6 spores, en moins d'une seconde. Par la suite, Ashman et Menashi (1972) aussi bien que Boucher (1980) et Bithell (1982) [56-58] ont montré qu'une décharge électrique dans un gaz approprié (ou dans un mélange de gaz) pouvait mener à la stérilisation. L'efficacité de la stérilisation par gaz plasma a ainsi été démontrée avec de nombreux micro-organismes notamment en comparant les résultats obtenus avec des méthodes de stérilisation plus habituelles (oxyde d'éthylène) ou par des solutions décontaminantes (éthanol, solution décontaminante pour lentilles oculaires, glutaraldéhyde).

Les procédés de stérilisation par plasma n'exigent pas de travailler dans un local protégé comme dans le cas de la stérilisation par oxyde d'éthylène. L'absence de risque toxicologique est équivalente à celle de la stérilisation à la vapeur. Les procédés ne sont *a priori* ni polluants, ni dangereux pour le personnel et le patient. Il n'existe pas de risque d'implosion, les résidus formés en fin de cycle sont non toxiques et il n'existe pas d'émissions dangereuses. Le système de stérilisation par les gaz plasma paraît particulièrement intéressant pour les matériaux et biomatériaux thermosensibles, de par la durée de son cycle, sa non toxicité, et son coût relativement faible.

II.2.4.1 Description et obtention d'un plasma

Le plasma est un gaz dont les atomes et les molécules sont excités et/ou ionisés. Il est aussi nommé quatrième état de la matière, car il se différencie des états classiques (solide, liquide et gaz) par des propriétés électriques et chimiques caractéristiques et fortement liées entre elles. C'est donc un nuage réactif composé d'ions, d'électrons libres, des radicaux libres, molécules excitées et d'espèces neutres, correspondant à un état particulier de la matière, à un non équilibre thermodynamique. Dans l'univers, 99 % de la matière existe à l'état de plasma [43, 44]. Les aurores boréales sont un phénomène naturel comparable au plasma. On distingue ainsi le plasma haute température généré sous de hautes pressions comme le soleil ou les étoiles et le plasma basse température généré sous des basses pressions comme les aurores boréales ou les néons.

L'obtention d'un plasma se fait par l'intermédiaire d'un gaz confiné qui reçoit de l'énergie par action d'une décharge. Celle-ci excite et/ou ionise les atomes et molécules présentes. Le plasma est produit en exposant un gaz dans un champ électromagnétique soit oscillatoire, soit continu. La décharge peut être produite par différents moyens, le plus souvent par des ondes radios (dont la fréquence va de 1 à 100 MHz) ou des micro-ondes (dont la fréquence est supérieure à 300 MHz). Mais on trouve aussi des procédés qui utilisent des décharges couronne ou des décharges à barrière diélectrique (DBD). Pour une décharge en courant continu, une différence de potentiel est appliquée entre une anode et une cathode créant de cette façon un champ électrique. Ce champ accélère les particules chargées et cette énergie est alors communiquée au plasma grâce aux collisions des électrons avec les particules lourdes [59]. Les particules excitées peuvent retrouver leur niveau énergétique initial, soit spontanément en émettant un photon soit par collision avec une autre particule ou des surfaces. Ces espèces excitées ont une durée de vie très courte. Elles se combinent rapidement pour aboutir à des espèces stables. Goldman [60] a donné un schéma permettant de visualiser le cheminement de la formation des espèces stables (Figure II.2) pour une décharge de type couronne réalisée dans l'air.

Les plasmas les plus utilisés en stérilisation sont les plasmas froids, en référence à la température du gaz. Ces plasmas sont faiblement ionisés (degré d'ionisation inférieur à 10^{-4}). Les particules lourdes (neutres et ions) de ces plasmas ont des températures au moins dix fois inférieures à celle des électrons.

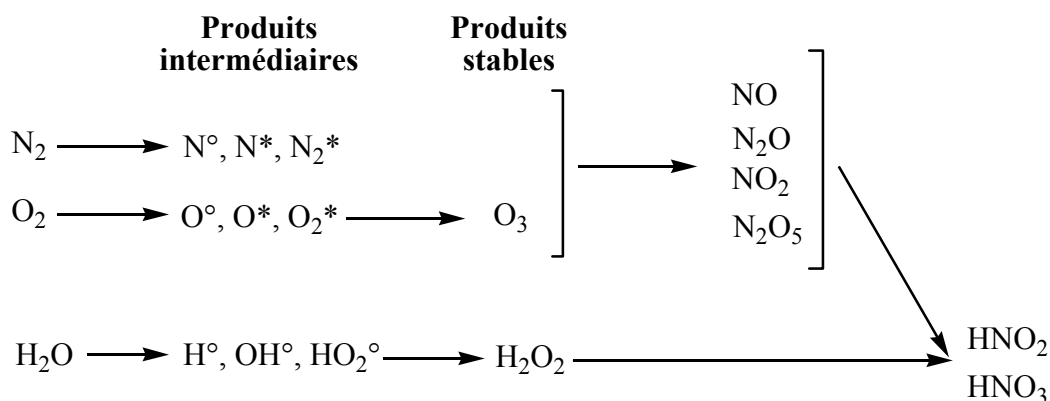


Figure II.2 : Principales espèces créées lors d'une décharge couronne dans l'air à pression atmosphérique [60]

II.2.4.2 Plasma direct et plasma différé

Dans les applications du plasma, il est possible de distinguer deux types de plasmas, le plasma direct et le plasma différé.

Pour le plasma direct, le traitement se produit dans le plasma. Cette méthode présente de nombreux désavantages pour le traitement des surfaces sensibles [59, 61] : il existe d'une part une interface entre le plasma et la surface qui accélère les ions et peut ainsi provoquer une altération des surfaces traitées ; d'autre part, au niveau du champ électrique il peut y avoir une augmentation locale de la chaleur.

Dans le plasma différé, le traitement s'effectue dans la zone de post décharge : il y a des atomes et molécules excités, des atomes et molécules non excités et des photons, mais très peu de particules chargées comparativement au plasma direct. Cette qualité procure au plasma différé de nombreux avantages pour le traitement des surfaces sensibles [59, 61] : avec des plasmas de haute densité (comme ceux produits avec des micro-ondes), la température au niveau de la décharge peut atteindre quelques centaines de degrés Celsius, tandis qu'elle reste inférieure à 50°C dans la zone de post décharge ; pour ce type de plasma, ce sont les espèces neutres qui ont le rôle principal dans le processus de stérilisation. Le plasma différé peut remplir de plus grands volumes de chambre à moindre coût.

II.2.4.3 Les différents types de gaz

La plupart des premières expériences sur la stérilisation plasma ont utilisé des gaz inertes, tel que l'argon ou hélium. Dans la littérature, des gaz tels que l'oxygène, l'azote, l'air, l'hydrogène, les halogènes, l'oxyde d'azote, l'eau, le dioxyde de carbone, l'oxyde de soufre et l'ammoniac sont fréquemment cités. Ashman et Menashi [56] ont ajouté des halogènes

tels que le chlore, le brome et l'iode dans la chambre de stérilisation pour augmenter l'efficacité du processus de stérilisation utilisant des gaz inertes. Boucher [57] a ajouté des aldéhydes au gaz porteur. Enfin au lieu d'un gaz inerte, Jacobs et Lin (1987) ont utilisé directement le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) comme agent stérilisant [62] ; dans ce cas, le processus se fait en deux temps : on injecte H_2O_2 au contact avec les objets devant être stérilisés puis on applique une décharge RF afin de s'assurer qu'aucun résidu toxique ne reste sur les objets stérilisés.

Boucher [63] a observé que certains gaz étaient plus efficaces que d'autres (par exemple le CO_2 se révèle plus efficace que l'argon) pour désactiver des spores bactériennes. Une étude comparant les sources de plasma telles que l'air, l'argon et l'ammoniac, avec le Plasmodul[®] (un procédé plasma), a montré par ailleurs que c'est l'air du laboratoire qui donne le meilleur résultat [64] (Figure II.3).

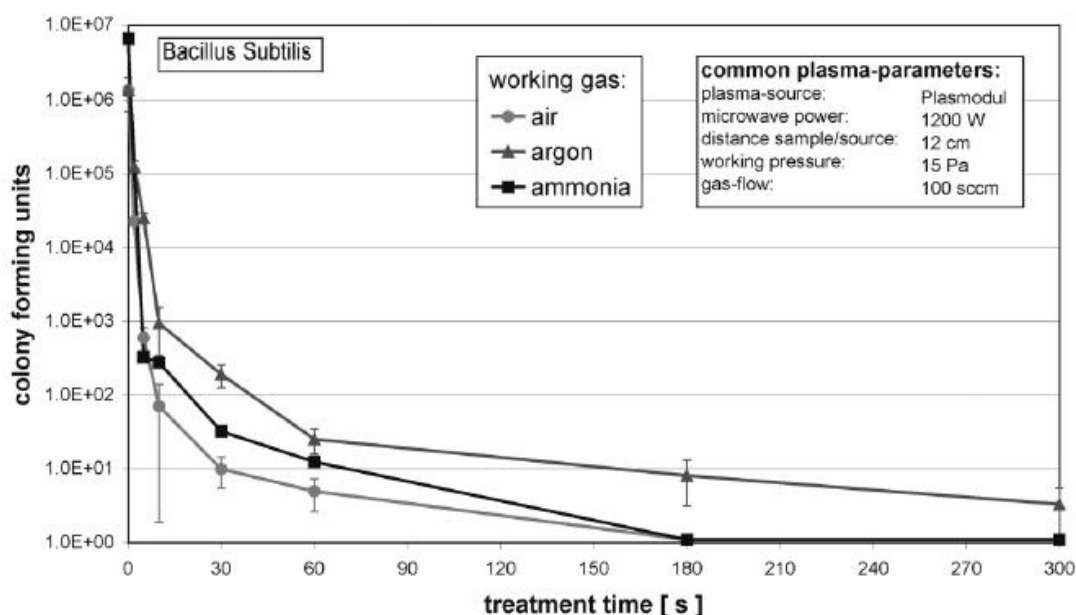


Figure II.3 : Cinétique de réduction de *Bacillus subtilis* lors de la stérilisation par le Plasmodul[®] en fonction du temps avec trois gaz différents [64]

Ratner et al. [65] ont montré que la stérilisation par plasma est effective avec la plupart des gaz de la décharge (O_2 , N_2 , air, H_2 , halogènes, N_2O , H_2O , H_2O_2 , CO_2 , SO_2 , SF_6 , aldéhydes, acides organiques, ...), quel que soit le type de décharge.

Nelson et Berger [66] ont montré sur *B. Subtilis* et *Clostridium Sporogenes*, qu'un plasma d'oxygène peut être très efficace comme moyen biocide. Avec une puissance de 200 W, la population de *B. Subtilis* a été réduite de plus de 3,5 $\log_{10}$ en 60 minutes. Une

efficacité inférieure avait été rapporté plus tôt par Fraser [67] mais les conditions de fonctionnement étaient différentes (puissance de 300 W et exposition de 15 min).

II.2.4.4 Les plasmas commerciaux

Actuellement, deux procédés utilisant des gaz réactifs ont été commercialisés : le Plazlyte[®] des laboratoires AbTox et le Sterrad[®] des laboratoires Johnson et Johnson [68]. Ils n'utilisent pas un procédé dans lequel les espèces biocides sont issues d'un gaz non stérilisant suite à une décharge électrique, mais utilisent déjà un agent stérilisant, la décharge ne servant ici qu'à arrêter le processus d'oxydation des gaz utilisés. Les deux premiers dispositifs de stérilisation par plasma ont été autorisés à être mis sur le marché au début des années 1990 par la Food and Drug Administration (FDA).

Le procédé Sterrad[®]

Une faible quantité de peroxyde d'hydrogène est introduite dans une enceinte sous vide. Le gaz est porté à l'état de plasma grâce à la création d'un champ électromagnétique produit par une fréquence radio. Une série de réactions en chaîne génère des composés hyperactifs (des ions, des électrons accélérés et des radicaux libres) qui agissent sur les fonctions vitales des micro-organismes. A l'issue du cycle de stérilisation, les agents actifs du plasma se recombinent en composés simples tels que H₂O et O₂. C'est un procédé qui est réalisé à basse température et en l'absence d'humidité [69, 70], ce qui justifie cette application pour la stérilisation de certains biomatériaux dont les caractéristiques physico-chimiques sont modifiées par l'hydratation. L'utilisation des appareils Sterrad[®] peut être ainsi recommandée pour des applications de stérilisation ou de désinfection de haut niveau (sporicide) des dispositifs médicaux thermosensibles lorsque ces derniers ne peuvent être stérilisés par la vapeur (circulaire n°672 du 20 octobre 1997) [71], et de désinfection de niveau intermédiaire (notamment les endoscopes souples visés par la circulaire n°236 du 2 avril 1996) [68]. Cependant il a été montré que le procédé Sterrad[®] peut entraîner une dégradation de la gaine souple de polyuréthane de ces endoscopes. Le polyuréthane utilisé seul est perméable aux espèces gazeuses. Le peroxyde d'hydrogène peut ainsi réagir avec les lubrifiants contenus dans le tube d'insertion (disulfure de molybdène par exemple) et former des dérivés acides capables de dégrader la membrane extérieure de polyuréthane.

Certains auteurs ne considèrent pas le plasma du Sterrad[®] comme un système de stérilisation. Krebs et al. ont mis en évidence que la phase plasma n'a aucun rôle bactéricide quel que soit le temps d'exposition, l'espèce bactérienne ou le support [72]. L'effet

stérilisant serait dû uniquement à la présence de peroxyde d'hydrogène, alors que le plasma jouerait un rôle de détoxifiant par destruction des radicaux peroxydes ou des résidus toxiques pouvant souiller le matériel après le processus. Il faut noter par ailleurs que le système Sterrad[®] n'est pas efficace sur les agents transmissibles non conventionnels tels que le prion [73] et que si les plastiques et dispositifs à base de plastiques peuvent être stérilisés par Sterrad[®], pour certains tels que le polystyrène expansé, ou la cellulose, il y a incompatibilité. Les instruments à lumière (conduit) longs de plus de 2 m ou étroits de moins d'1 mm de diamètre ou fermés à une extrémité [74], ainsi que les matériels absorbants (papier, cellulose) ne peuvent être stérilisés par cette méthode sous peine d'y piéger l'agent stérilisant [75].

Le Plazlyte[®]

Le Plazlyte[®] est un autre système de stérilisation par plasma, développé par AbTox et introduit en France par la société 3M [76, 77]. Il utilise un traitement par vapeur d'acide peracétique ($\text{CH}_3\text{-COOOH}$) qui est alterné avec un traitement plasma généré par excitation micro-ondes d'un mélange de H_2 et O_2 à faible pression. Le plasma est généré à l'extérieur de la chambre de stérilisation puis transféré dans la chambre de stérilisation (plasma "secondaire") [78]. Plazlyte[®] a fait l'objet d'un retrait du marché (1998) à la suite d'une série de problèmes postopératoires graves en chirurgie ophtalmique aux Etats-Unis. Ces problèmes ont été attribués à la présence de dépôts de cuivre et de zinc sur des instruments stérilisés par Plazlyte[®]. En effet, l'acide peracétique utilisé dans Plazlyte[®], aurait attaqué le chrome recouvrant l'instrument mis en cause, mettant à nu le laiton qui se serait alors décomposé en cuivre et zinc. Or le cuivre est toxique pour la cornée [79].

Le cycle du Plazlyte[®] est à peu près le même que celui du Sterrad[®] exception faite que le gaz injecté est de l'acide peracétique et que le plasma est produit dans un mélange d'oxygène, hydrogène et argon. Le cycle s'effectue à une température inférieure à 50°C [80].

II.2.4.5 Mécanismes de stérilisation

La première description quantitative du mécanisme de stérilisation par plasma est venue de Pelletier (1993). Elle est basée sur l'érosion, atome par atome, de la matière du micro-organisme [81]. Le mécanisme est analogue à une combustion lente. Aucune mention du rôle des UV n'est alors évoqué, bien que les photons UV soient connus pour participer à l'érosion de polymères.

Par la suite, différents mécanismes d'action [59, 64, 82] ont été proposés car il existe différentes espèces actives dans le plasma, qui peuvent potentiellement jouer un rôle dans le processus de stérilisation. Le processus prédominant peut varier suivant le type de plasma utilisé. Par exemple, en mode direct, les espèces réactives seront les ions, les photons et des espèces neutres, alors qu'en mode différé seuls les photons et les espèces neutres pourront agir, du moins dans le cas d'un plasma à basse pression. Pour les plasmas utilisés à pression ambiante, pour lesquels la fréquence de collision des particules est importante, l'émission de rayon UV dans la zone de post décharge est en effet très faible, et les processus de stérilisation ne font intervenir que des espèces neutres oxydantes ou acidifiantes générées par le plasma.

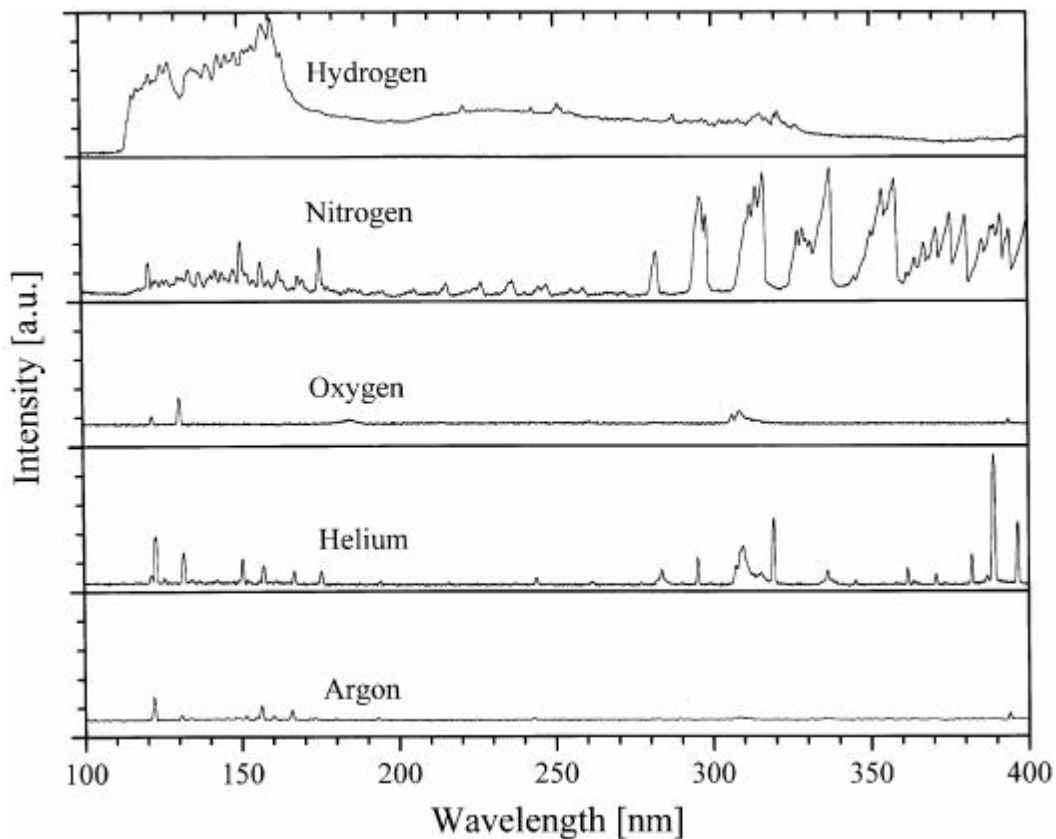


Figure II.4 : Emission dans le domaine allant du VUV au visible, de différents gaz utilisés dans les processus plasma [82]

Le mécanisme de stérilisation inclut ainsi bien souvent l'interaction du micro-organisme avec les espèces oxygénées actives. Feichtinger et al. [64] ont identifié, dans le cas des plasmas micro-ondes à basse pression avec de l'air, de l'argon ou de l'ammoniac, la lumière UV émise par le plasma comme le mécanisme principal de réduction des spores. Le même type de résultat a été obtenu par Subramanyam et al. [83] pour des traitements plasma

direct micro-ondes ou radio fréquence à basse pression. En effet, les molécules excitées et les atomes du plasma peuvent émettre des photons (Figure II.4). Ceux émis dans l'UV ou le VUV (Vacuum Ultra-Violet) ont des énergies comparables à celles de liaisons covalentes et sont donc capables de les détruire. En particulier les radiations VUV à des longueurs d'onde plus courtes que 200 nm sont efficaces sur la bactérie *Aspergillus niger* qui est normalement résistante à la lumière UV (haute longueur d'onde).

Plusieurs processus d'élimination des micro-organismes [59, 64] peuvent donc être supposés et peuvent se recouper :

- l'adsorption d'espèces réactives du plasma telles que les molécules neutres, les radicaux, les ions ou les électrons sur le micro-organisme entraînant des réactions chimiques conduisant à l'érosion de celui-ci ;
- la lumière émise dans le domaine allant du VUV à l'infrarouge qui détruit le matériel génétique du micro-organisme par les radiations UV et entraîne l'érosion du micro-organisme par photo-désorption intrinsèque (les photons rompent des liaisons chimiques et conduisent à la formation de composés volatils à partir des atomes de la bactérie) ;
- les photons UV d'énergie 3.3 à 6.2 eV qui ont un effet important car ces valeurs d'énergie correspondent à un maximum d'absorption par l'acide désoxyribonucléique (ADN) et d'autres acides nucléiques [57] ;
- le vide tout simplement (dans le cas du plasma à basse pression).

Dans les appareils de micro-ondes pour des plasmas micro-ondes N₂/O₂ utilisés en traitement différé, la présence d'atomes d'oxygène est essentielle et il peut être considéré qu'il existe une synergie entre les photons UV et les atomes d'oxygène (ainsi que le montre la Figure II.5). En effet, comme le soutient M. Moisan et al [84], l'effet de la stérilisation est dû à l'action combinée de photons ultraviolets et des atomes d'oxygène libres. Les photons UV peuvent seuls suffire à tuer les spores en détruisant leur matériel génétique mais uniquement si les spores se trouvent sur une seule couche : l'action pénétrante de ces photons étant limitée à un micromètre, ils ne peuvent atteindre les spores des couches inférieures si plusieurs d'entre eux sont superposés. C'est là qu'intervient l'effet des radicaux libres : l'oxygène atomique désagrège atome par atome les spores mortes situées en surface jusqu'à ce qu'il atteigne la dernière couche de spores qui subit alors l'effet d'inactivation directe des UV. Cette érosion est semblable au procédé de gravure utilisé dans la fabrication des puces électroniques.

Concernant les appareils plasma à radiofréquences, l'efficacité de la stérilisation est d'autant plus importante que la densité de la décharge est importante (au moins 1mW/cm^3) [64].

Boucher a mentionné que la densité des RF devrait être inférieure à 1 mW/cm^3 . Il a rapporté que l'efficacité de la stérilisation augmente avec la tension radio fréquence (RF) absorbée dans la décharge [57, 63].

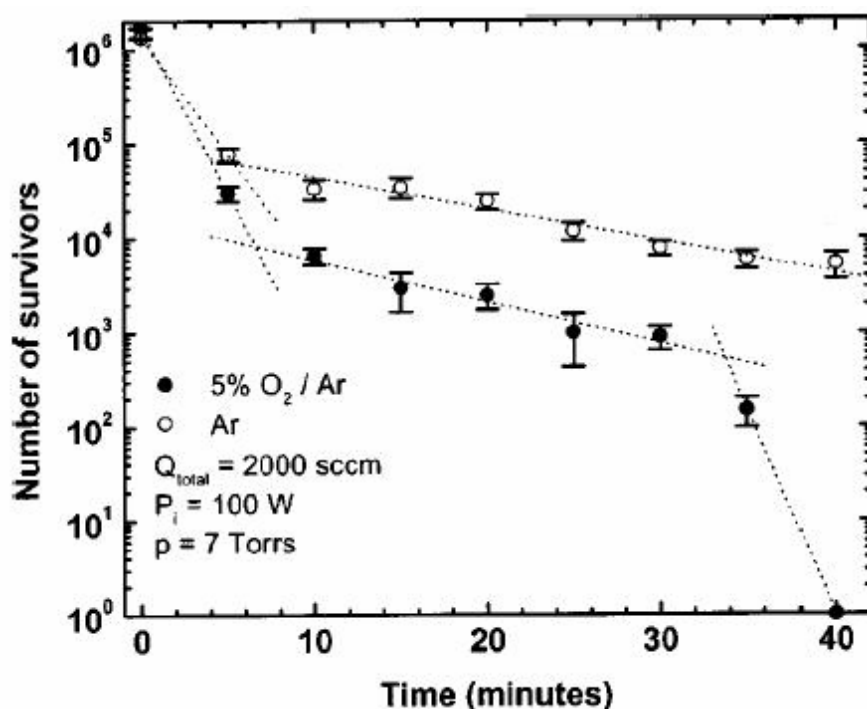


Figure II.5 : Courbes de survie de spores de *Bacillus subtilis* soumises à une zone de post décharge : l'ajout d'oxygène au gaz argon permet l'inactivation complète des spores en 40 minutes [85]

II.2.4.6 Effets sur les matériaux polymères

Pour le plasma, on s'attend essentiellement à des modifications surfaciques de l'échantillon. Lors du traitement plasma, les espèces ionisées peuvent réagir avec les chaînes carbonées de surface, créant localement des scissions de chaînes et des espèces radicalaires. La cristallinité de la surface peut ainsi se trouver modifiée (Figure II.6). Par ailleurs ces radicaux peuvent se recombiner et aboutir à une réticulation de la surface du matériau, ils peuvent aussi réagir avec l'oxygène de l'air, ou encore être à l'origine du greffage de fonctions spécifiques au gaz plasma utilisé

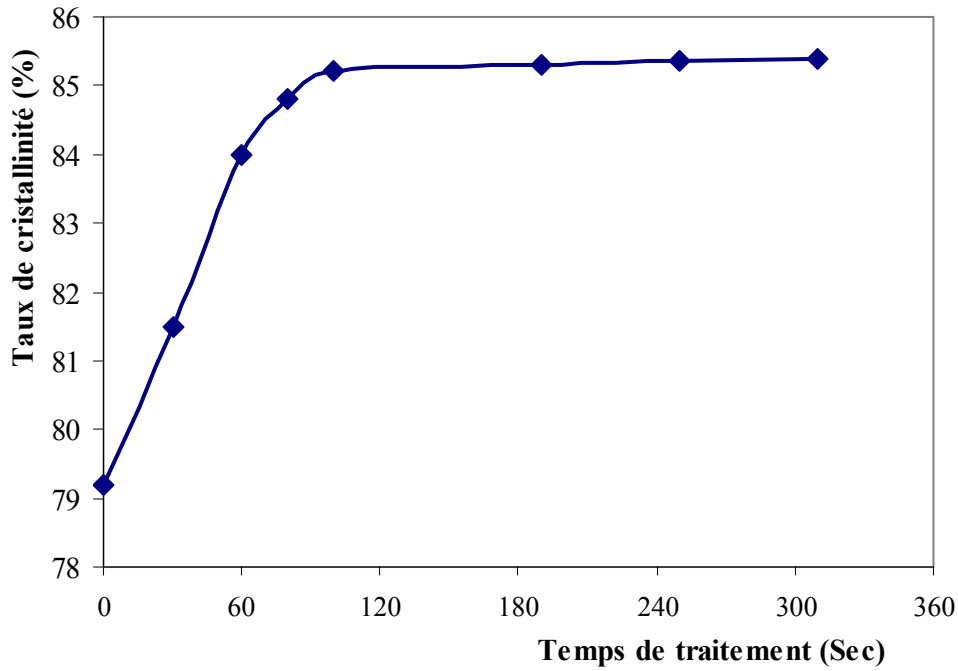


Figure II.6 : Plasma CO_2 sur PE, évolution du taux de cristallinité de surface en fonction du temps de traitement [86]

La réticulation de surface permet d'envisager de modifier les vitesses de diffusion à l'interface, d'augmenter la dureté et la résistance chimique d'un matériau. Elle se produit essentiellement lors de traitements par plasmas de gaz inertes. Les traitements plasma s'accompagnent généralement d'une dégradation caractérisée par une perte de matière (décapage) qui est favorisée par la présence d'oxygène ou de fluor dans le gaz du plasma. Les polluants organiques ou les atomes de la surface subissent alors une "combustion froide" contrôlée. Ces modifications dépendent à la fois du gaz employé et du matériau traité (Figure II.7).

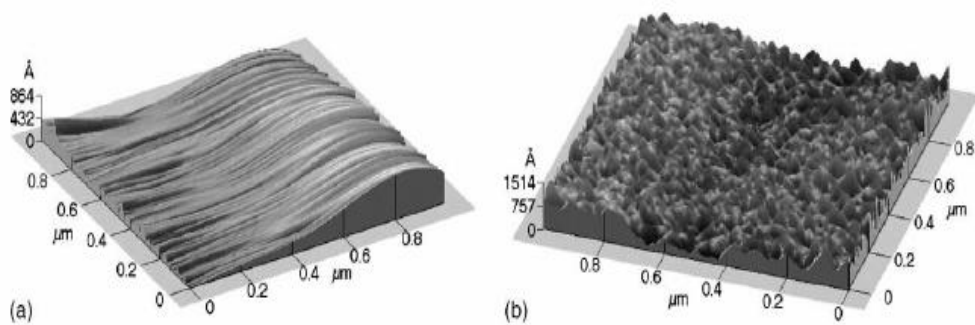
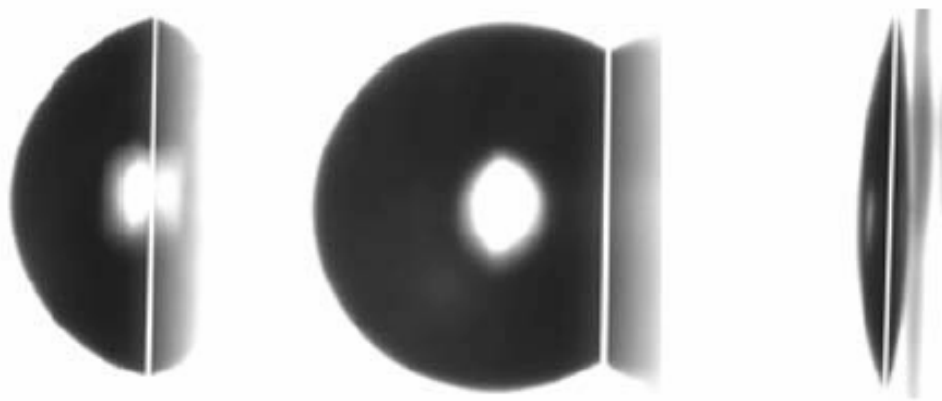


Figure II.7 : Imagerie AFM d'une surface de PET a) non traité b) traité par un plasma air 60 s [87]

D'un point de vue physique, elles peuvent aboutir à une modification de la cristallinité de surface, ainsi qu'à une modification de la rugosité de surface. Les propriétés de mouillabilité (greffage de fonctions polaires ou non, modification de la rugosité), de perméabilité (réticulation, densification de la surface) risquent ainsi de se trouver modifiées par le traitement entraînant une variation possible des propriétés de biocompatibilité du matériau et de l'adhésion bactérienne à sa surface (Figure II.8).

Il est à noter que les modifications engendrées par un plasma peuvent ne pas être permanentes [88].



a) surface non modifiée

b) traitée par CF_4

c) traitée par CO_2

Figure II.8 : Mouillage de la surface d'un polyamide par une goutte d'eau [88]

II.2.5 Validation d'un processus de stérilisation

Pour valider une stérilisation en terme d'efficacité, des indicateurs biologiques ou chimiques peuvent être utilisés. Ces indicateurs sont introduits dans le stérilisateur avec le matériel à stériliser.

➤ Les indicateurs biologiques

Ils correspondent à une quantité prédéterminée d'un micro-organisme choisi pour sa résistance élevée à la technique considérée. Son comportement est connu, et donc prédictible, ce qui permet la validation ou la non validation du cycle de stérilisation. En pratique, on introduit un tube scellé contenant un milieu de culture ainsi qu'une tige recouverte d'une souche de bactéries. Après traitement, on introduit la tige dans le milieu de culture et on vérifie l'absence de croissance bactérienne.

➤ Les indicateurs physico-chimiques

De la même façon, ce sont des agents qui vont présenter une modification de leurs propriétés physiques ou chimiques sous l'effet de la stérilisation. Cette modification sera qualitativement spécifique de l'indicateur et de l'agent stérilisant considérés et les résultats seront quantitativement exploitables pour la validation du cycle de stérilisation. La dosimétrie utilisée lors des stérilisations par rayonnements ionisants fait intervenir ce type d'agent. Cet indicateur doit cependant présenter obligatoirement des modifications indépendantes du débit de dose et exclusivement dépendantes de la dose.

Pour étudier le pouvoir stérilisant d'une méthode, on le teste généralement avec les spores qui sont considérées comme les micro-organismes les plus résistants ; il s'agit en fait de la forme de survie des bactéries quand elles sont soumises à une agression extérieure. On suit alors la courbe de survie d'une population de 10^6 de ces spores.

En outre, il existe un autre critère de validation d'un processus de stérilisation. Il concerne le produit fini qui doit garder les propriétés pour lesquelles il a été choisi en vue d'une utilisation déterminée. La surface d'un dispositif médical présente notamment la spécificité d'être la zone de contact privilégiée avec les liquides ou les tissus biologiques. Elle présente également la caractéristique d'être la zone la plus exposée aux effets de la stérilisation ; si ceci est partiellement exact pour les méthodes affectant le matériau dans la masse (ex : rayonnement gamma, traitement thermique ou chimique) ceci s'avère être strictement vrai pour les méthodes de surface (stérilisation par gaz plasma). La méthode de stérilisation doit donc n'être responsable d'aucune modification drastique des propriétés du matériau qui pourrait induire la perte de ses performances. Des études doivent être conduites pour s'assurer de la compatibilité du dispositif avec son application après stérilisation, à court comme à long terme.

II.3 Conclusion

La stérilisation est essentielle pour tous les matériaux destinés à être en contact avec l'organisme. La stérilisation par les gaz plasma est récente et possède tout de même de grands avantages par rapport aux autres méthodes habituellement utilisées : l'autoclavage et les méthodes de stérilisation par les rayonnement ionisant et l'oxyde d'éthylène. Les gaz plasma apparaissent comme les plus intéressants car ils permettent d'avoir un cycle rapide,

peu coûteux et non toxique tout en conservant la possibilité de stériliser les matériaux thermosensibles que sont la plupart des biomatériaux.

L'impact de cette méthode de stérilisation sur la structure de surface des polymères est généralement moins important que les autres méthodes de stérilisation, ce qui est là encore positif. En effet, les radiations ionisantes sont à l'origine de scissions ou de réticulations du polymère soumis à la stérilisation. Quant à l'oxyde d'éthylène, même si les modifications structurales qu'il induit sont moins importantes qu'avec les radiations, il peut laisser des résidus toxiques à la surface du matériau.

Les modifications de surface induites par la stérilisation par les gaz plasma peuvent être avantageuses. En effet, il est parfois possible d'adapter, en modifiant les caractéristiques du plasma, le polymère à son environnement, d'améliorer sa biocompatibilité et même de réduire l'adhésion bactérienne à sa surface. Tous ces éléments sont essentiels à la bio-intégration du matériau à l'organisme.

Très récemment de nouveaux types de plasma se sont développés. Il s'agit des appareils à micro-ondes. Leur mécanisme d'action n'est pas encore complètement élucidé mais il paraît intéressant d'optimiser leur fonctionnement car ils permettraient d'effectuer un cycle de stérilisation en un temps très court et d'employer des gaz peu coûteux, tel que l'air.

La stérilisation par les gaz plasma s'avère être une méthode pleine d'avenir. Cependant, des études approfondies en fonction des différents matériaux à stériliser sont encore nécessaires pour bien connaître son mode d'action et ses conséquences. Cette méthode tend déjà à remplacer la stérilisation par l'oxyde d'éthylène. Des appareils ont été commercialisés et sont déjà présents en milieu hospitalier ; néanmoins, contrairement au plasma étudié pendant cette thèse, leur mode d'action n'est pas uniquement dû au plasma.

Chapitre III : Adhésion bactérienne

Sommaire

III.1 L'adhésion bactérienne sur la surface	61
III.1.1 Le transport	62
III.1.2 L'adhésion initiale	62
III.1.3 L'adhésion irréversible ou attachement	65
III.1.4 La colonisation et la formation du biofilm	66
III.2 Les facteurs influençant l'adhésion	66
III.2.1 Facteurs liés aux micro-organismes	66
III.2.2 Facteurs liés à l'environnement	67
III.2.3 Facteurs liés au support	70
III.3 Méthodes permettant de réduire la colonisation bactérienne sur la surface des biomatériaux	71
III.3.1 Modification des propriétés de la surface	71
III.3.2 Greffage de molécules antimicrobiennes	72
III.4 Influence de la stérilisation sur l'adhésion des bactéries sur les polymères à usage médical	73
III.5 Conclusion	73

L'adhésion bactérienne sur la surface des tissus animaux, végétaux ou des matériaux inertes (polymères, aciers, verres, bois) est la capacité que possède les bactéries à se fixer sur une surface. L'adhésion est largement répandue dans le monde microbien et largement rencontrée dans les bio-industries.

Il est envisageable que les modifications de surface des dispositifs médicaux réutilisables, induites par les divers procédés de stérilisation, puissent avoir une répercussion sur le nombre de bactéries adhérentes après contact avec l'hôte. Dans ce chapitre, après avoir rappelé dans un premier temps les étapes de l'adhésion bactérienne et les facteurs qui influent sur cette adhésion, on évoquera les méthodes permettant de réduire la colonisation bactérienne et l'influence de la stérilisation des biomatériaux sur ce phénomène.

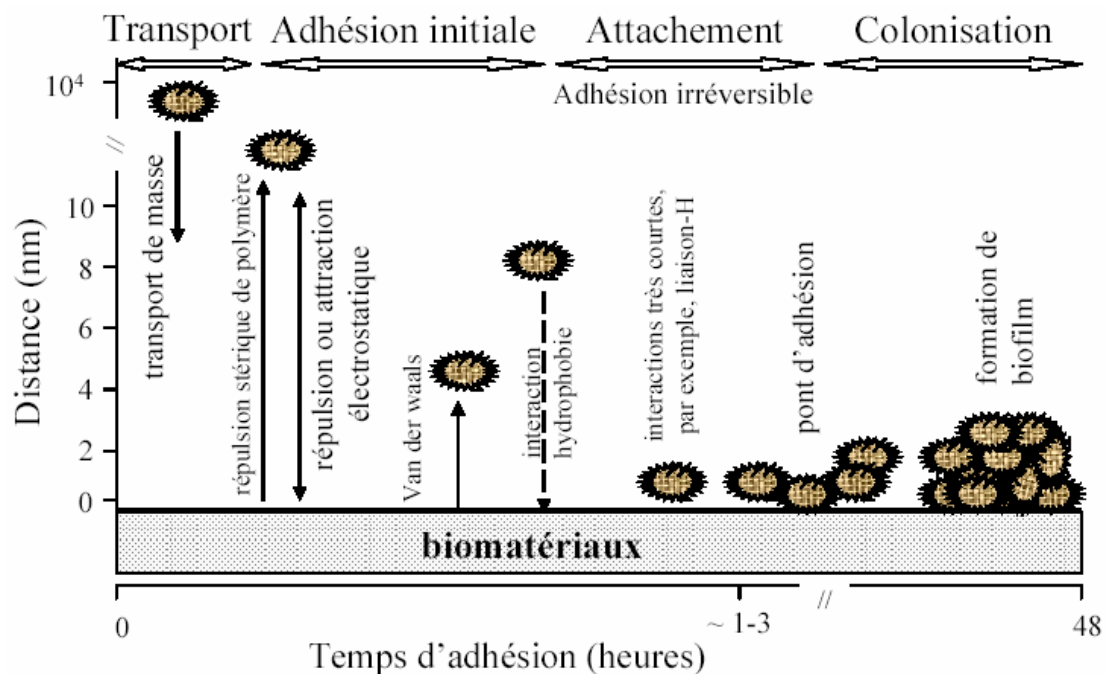


Figure III.1 : Les différentes étapes de l'adhésion bactérienne et de la formation du biofilm sur les biomatériaux [89, 90]

III.1 L'adhésion bactérienne sur la surface

L'adhésion de particules ou de micro-organismes à une surface est un phénomène très largement rencontré. Il survient selon différentes étapes [91] (Figure III.1) :

- le transport ;
- l'adhésion initiale ;

- l'adhésion irréversible ou attachement ;
- la colonisation.

III.1.1 Le transport

Le transport des bactéries vers le support dépend des conditions hydrodynamiques du milieu et du mode de déplacement des bactéries. Lorsque les forces de cisaillement sont nulles ou faibles (conditions statiques ou écoulement laminaire) les bactéries peuvent être dirigées vers la surface à la suite d'un des mécanismes suivants [92-94] :

III.1.1.1 Sédimentation

Ce processus, dû aux seules forces de gravité, est particulièrement significatif lorsqu'il y a agrégation ou floculation des particules.

III.1.1.2 Mouvement brownien

Il est défini comme un mouvement perpétuel irrégulier, exécuté par des particules de tailles inférieures à 1µm, soumises à l'agitation thermique. L'amplitude du déplacement dépend du rayon de la particule et de la viscosité du milieu.

III.1.1.3 Chimiotaxie

Ce mode de déplacement ne concerne que les bactéries mobiles (flagellées) situées au voisinage d'une interface. La chimiotaxie correspond au déplacement des bactéries vers les substances attractives telles que les glucides ou les acides aminés et à l'éloignement des bactéries des substances répulsives comme par exemple des composés toxiques.

III.1.2 L'adhésion initiale

Quand les bactéries arrivent à une dizaine de nanomètres de la surface du support, des forces électrostatiques et autres régissent les interactions des bactéries avec le support.

III.1.2.1 Interactions électrostatiques

Lorsque les micro-organismes (particules) sont plongés dans un milieu aqueux, ils peuvent porter des charges de surface et avoir un potentiel de surface. Dans ce milieu aqueux des contre-ions vont entourer la particule et une double couche électrique est ainsi formée. La double couche est constituée d'une première appelée couche de Stern, au-delà de laquelle se

forme une seconde qui s'étend dans la phase aqueuse ; cette couche diffuse est appelée couche de Gouy-Chapman (Figure III.2).

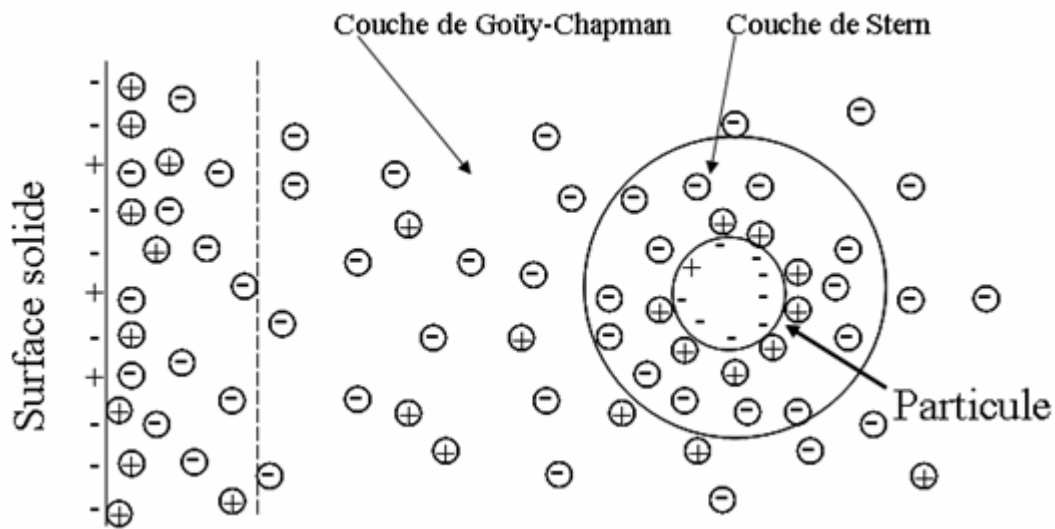


Figure III.2 : Les doubles couches électriques [91]

En cas de superposition des doubles couches des micro-organismes et de la surface d'adhésion, il y a interaction électrostatique. Si les charges sont identiques il y a répulsion, et, dans le cas contraire, il y a attraction [95]. Cette dernière favorise l'adhésion bactérienne [96]. Plus la concentration en électrolytes est forte, moins les interactions des doubles couches électrostatiques sont importantes. L'énergie électrostatique est fonction de différentes caractéristiques du micro-organisme (rayon, densité de charge à la surface), du milieu qui l'entoure (constante diélectrique, potentiel électrique, force ionique) et de la distance entre les particules et le support.

III.1.2.2 Interactions non-électrostatiques

Elles sont caractérisées par des liaisons de Van der Waals et acido-basiques [97].

Les forces de Van Der Waals

Ce sont des forces de nature électrique. Elles peuvent être attractives ou répulsives. Ces forces sont de trois types :

- Les forces de Keesom (effet d'orientation) qui résultent d'une attraction entre deux molécules polaires c'est-à-dire d'une interaction dipôle – dipôle ;
- Les forces de Debye (effet d'induction) qui résultent d'une attraction entre une molécule polaire et une molécule non-polaire ;

- Les forces de London (effet de dispersion) qui résultent d'une attraction entre deux molécules non-polaires.

Les forces de répulsion qui accompagnent les forces d'attraction décroissent avec la distance entre les molécules.

Les interactions acido-basiques

Les interactions de type acido-basique font intervenir le caractère donneur ou accepteur d'électrons (selon Lewis) ou le caractère accepteur ou donneur de protons (selon Brönsted).

III.1.2.3 Les théories de l'adhésion bactérienne

Pour étudier l'adhésion des bactéries à un support inerte nous pouvons utiliser deux théories physico-chimiques qui sont la théorie DLVO et la théorie du mouillage.

Dans les deux cas, les cellules sont considérées comme des particules colloïdales sphériques, rigides et possédant une surface bien définie et uniforme. La population est considérée comme homogène et le système comme un ensemble à l'équilibre où seules les interactions non spécifiques interviennent.

L'adhésion par la théorie DLVO

Lorsque, particules et surfaces solides possèdent une charge électrique, leur adhésion, qui correspond à un état stable, peut être décrite par la théorie de la stabilité de l'état colloïdal, formulée par Derjaguin et Landau (1949) ainsi que par Verwey et Over Beek (1948), appelée théorie DLVO d'après les initiales des quatre auteurs.

Selon cette théorie, l'énergie d'interaction entre deux corps macroscopiques séparés est composée de deux termes, l'énergie d'attraction et l'énergie de répulsion. L'énergie d'interaction est donc fonction de la distance de séparation entre les deux corps. L'énergie d'adhésion est la somme arithmétique des interactions électrostatiques et des effets de dispersion de Van Der Waals [91].

L'énergie d'adhésion dépend des propriétés électriques et de la polarisabilité des micro-organismes et du support aussi bien que des propriétés du milieu.

L'adhésion par la théorie du mouillage

Ce modèle, fourni par la thermodynamique des surfaces, considère un système bactérie-solide-liquide. L'adhésion bactérienne correspond à un état d'équilibre qui se traduit d'une part par

la création d'une interface bactérie-solide, et d'autre part, par la destruction des interfaces solide-liquide et liquide-bactérie (Figure III.3) [98].

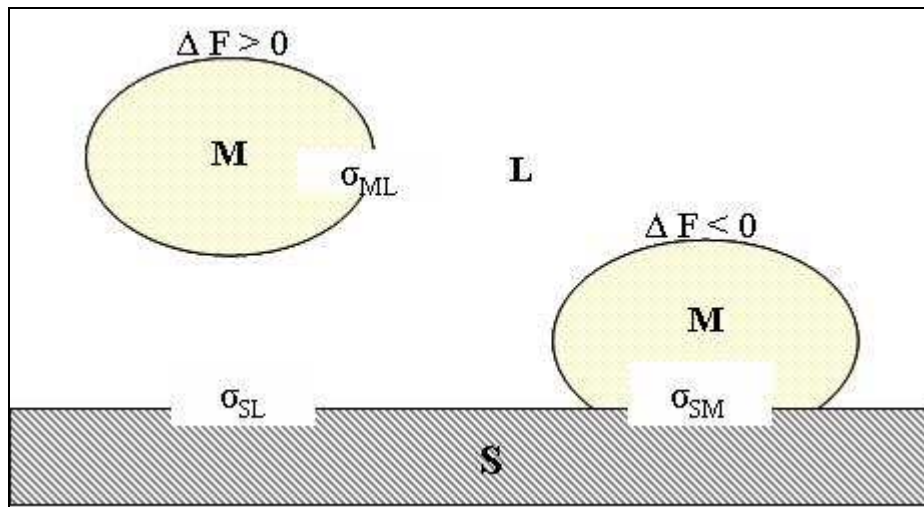


Figure III.3 : Prédiction thermodynamique de l'adhésion avec M : micro-organisme, S : solide, L : liquide (forme sphérique)

Selon le second principe de la thermodynamique, il y aura adhésion si la variation d'énergie libre du système, ΔF , est négative. Cette variation est donnée par l'Equation III-1 [99], où σ_{SM} est l'énergie libre interfaciale solide (S)/micro-organisme (M), σ_{SL} est l'énergie libre interfaciale solide (S)/liquide (L) et σ_{ML} est l'énergie libre interfaciale micro-organisme (M) / liquide (L).

$$\Delta F = \sigma_{SM} - \sigma_{SL} - \sigma_{ML} \quad \text{Equation III-1}$$

Il est à noter que l'approche thermodynamique ne tient pas compte de l'effet de rugosité et surtout de la topographie des surfaces solides.

Cette théorie permet de prévoir et de quantifier l'adhésion des micro-organismes sur une surface, si les caractéristiques énergétiques des corps en présence sont déterminées dans les conditions effectives de l'adhésion (adsorption de composés, etc.).

III.1.3 L'adhésion irréversible ou attachement

L'adhésion bactérienne lors de cette étape est beaucoup plus lente que l'adhésion initiale. Des interactions chimiques à faible distance entre le micro-organisme et la surface ont lieu (cf. Figure III.1 ; p.61). Il s'agit de la formation de liaisons hydrogène ou de liaisons covalentes de plus forte énergie. La bactérie produit alors des substances macromoléculaires

extracellulaires. Une bactérie peut en effet former différents types d'exopolymères : des polysaccharides, des lipides et des protéines qui sont tous impliqués dans l'adhésion irréversible [89].

III.1.4 La colonisation et la formation du biofilm

La colonisation résulte de la multiplication cellulaire. Les bactéries continuent à produire des exo-polysaccharides (exo-polymères) et l'ensemble conduit à un ensemble de cellules qui constitue le biofilm. Les micro-organismes peuvent adhérer si cet exo-polysaccharide est compatible avec la surface.

Une fois la colonisation achevée, la formation et la croissance du biofilm bactérien sont indépendantes du substrat. Grâce au biofilm, les bactéries sont protégées de l'action de nombreux agents antibactériens [100].

III.2 Les facteurs influençant l'adhésion

Différents facteurs influencent l'adhésion bactérienne sur des surfaces. Ces facteurs sont propres aux micro-organismes, au milieu environnant, et aux supports. Il ne suffit pas de prendre en compte seulement quelques uns de ces facteurs. Tous sont interdépendants : l'adhésion bactérienne sur un matériau résulte ainsi d'un processus multifactoriel [101].

III.2.1 Facteurs liés aux micro-organismes

Les caractéristiques physico-chimiques des bactéries jouent un rôle majeur dans l'adhésion bactérienne [102]. Parmi les différents facteurs influençant l'adhésion, on peut notamment citer :

III.2.1.1 La charge de surface de la bactérie

La plupart des bactéries sont chargées négativement [103] en milieu aqueux mais cela peut varier selon l'espèce bactérienne, son âge et le milieu environnant [104]. La charge, si elle est de même signe que celle de la surface, contribue à la répulsion des interactions avec le polymère [105]. Gottenbos et al [106] ont montré que l'adhésion initiale de *Pseudomonas aeruginosa* (charge négative) est plus rapide sur les surfaces chargées positivement que sur celles chargées négativement.

III.2.1.2 L'hydrophobicité de la souche bactérienne

L'hydrophobicité des bactéries varie avec les espèces bactériennes et est influencée par le milieu de culture, par l'âge de la bactérie et sa structure de surface [102]. En règle générale, les bactéries hydrophobes adhèrent plus aux surfaces hydrophobes et les bactéries hydrophiles adhèrent plus aux surfaces hydrophiles [103].

Ong et al. ont étudié l'adhésion de *Escherichia coli* K12 (souche D21, hydrophile) et de son mutant (souche D21f2, hydrophobe) sur des surfaces d'hydrophobicité différente. Ainsi, l'adhésion de la souche D21f2 est favorisée sur des surfaces de faible énergie (téflon et polystyrène) et réciproquement l'adhésion de la souche D21 est favorisée sur des surfaces de forte énergie (verre et mica) [107].

III.2.1.3 La taille

La taille (de l'ordre du micromètre) et la morphologie du micro-organisme ont une influence sur leur adhésion, ces éléments sont à prendre en compte de la même façon que la rugosité du support [108].

III.2.1.4 Les appendices

Certaines bactéries possèdent des flagelles, des fimbriae ou des pili qui sont souvent hydrophobes [43, 95].

La présence de ces appendices de surface des micro-organismes joue un rôle non-négligeable dans le transport et l'hydrophobicité de surface des bactéries et participe ainsi à leur fixation [105].

III.2.2 Facteurs liés à l'environnement

Quatre facteurs principaux de l'environnement peuvent jouer un rôle sur l'adhésion bactérienne.

III.2.2.1 La concentration bactérienne dans le milieu

Une concentration élevée favorise une adhésion bactérienne plus rapide. D'après Liu [109], la vitesse d'adhésion associée à la constante de vitesse k (en min^{-1}) des micro-organismes sur du polystyrène augmente avec la concentration bactérienne de la suspension puis devient constante (Figure III.4).

L'adhésion bactérienne peut être représentée par l'équilibre suivant (Equation III-2), où k_1 et k_2 sont respectivement les constantes de vitesse associées à la réaction d'adhésion et à la réaction de désorption [109].

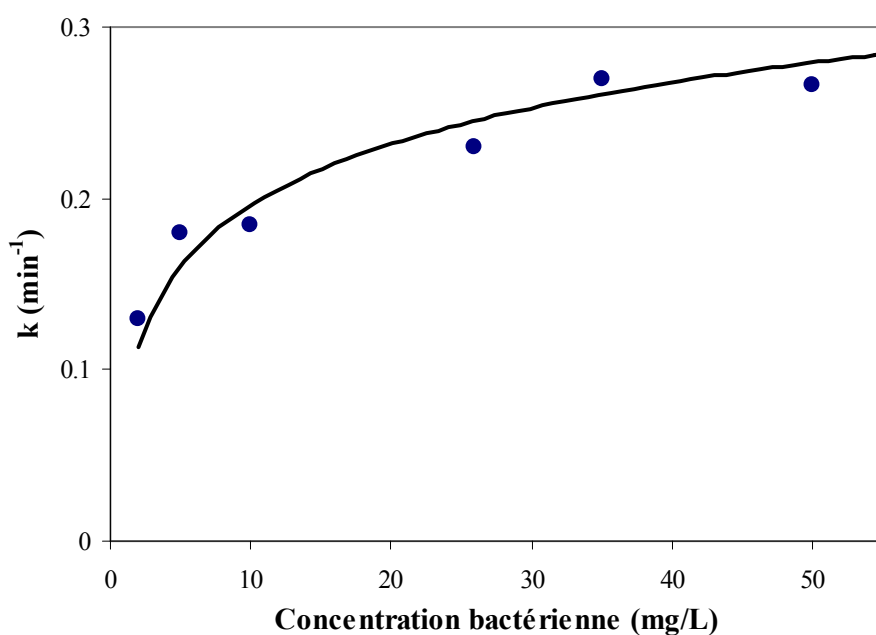
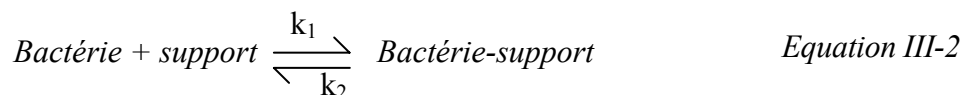


Figure III.4 : Evolution de la constante de vitesse d'adhésion des bactéries sur du polystyrène en fonction de la concentration bactérienne [109]

III.2.2.2 Le pH du milieu

La vitesse d'adhésion des micro-organismes varie selon le pH, car les charges bactériennes en sont dépendantes et ceci joue sur les interactions électrostatiques entre bactéries et polymère. Il peut ainsi exister un pH optimal favorisant l'adhésion bactérienne [110]. La vitesse d'adhésion sur des surfaces de polypropylène (PP) et polystyrène (PS) est, par exemple, maximale à $\text{pH} = 4,8$ (Figure III.5) [109].

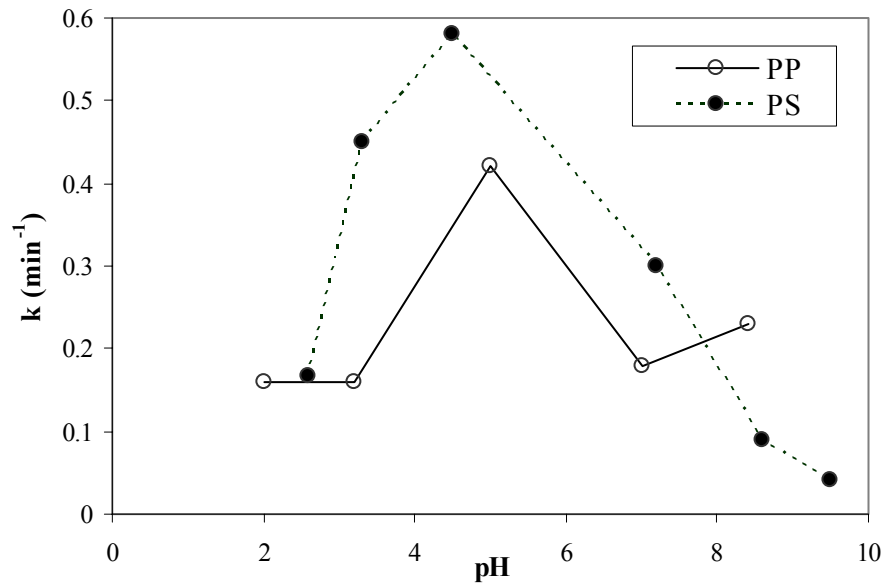


Figure III.5 : Evolution de la constante de vitesse d'adhésion bactérienne sur des surfaces de polypropylène et polystyrène en fonction du pH du milieu [109]

III.2.2.3 La force ionique

Liu [109] ainsi que Brisset et al. [111] ont montré que la vitesse d'adhésion bactérienne croît lorsque la force ionique augmente (Figure III.6).

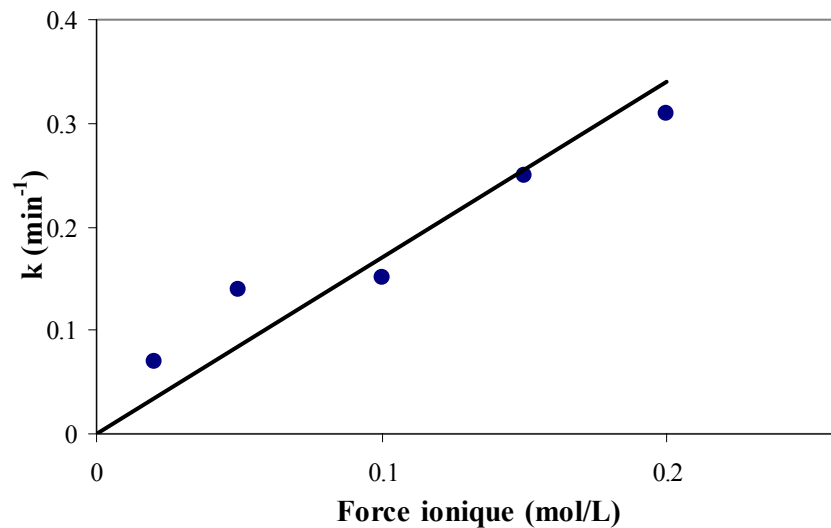


Figure III.6 : Evolution de la constante de vitesse d'adhésion bactérienne sur une surface de polystyrène en fonction de la force ionique [109]

III.2.2.4 La température

La température peut favoriser les phénomènes d'adhésion. Ainsi, celle de *Streptococcus faecium* sur le verre augmente avec la température (jusqu'à 50°C) [112].

III.2.3 Facteurs liés au support

III.2.3.1 Nature physico-chimique du support

La capacité d'adhésion dépend de la nature du polymère, notamment du caractère acido-basique de sa surface, de sa composition chimique, de sa charge et de son caractère hydrophile ou hydrophobe [102]. Speranza et al. ont ainsi mis en évidence [113], qu'en raison du caractère basique de la membrane de *E. coli*, l'adhésion de cette souche était plus importante sur une surface acide (PVC) que sur une surface basique (PMMA). Le caractère hydrophobe ou hydrophile est particulièrement important. *Staphylococcus epidermis* (souche hydrophobe) adhère en grand nombre aux polymères ayant des énergies de surface faible, en revanche, cette adhésion est très diminuée sur les polymères ayant des énergies de surface élevées [114] (Figure III.7).

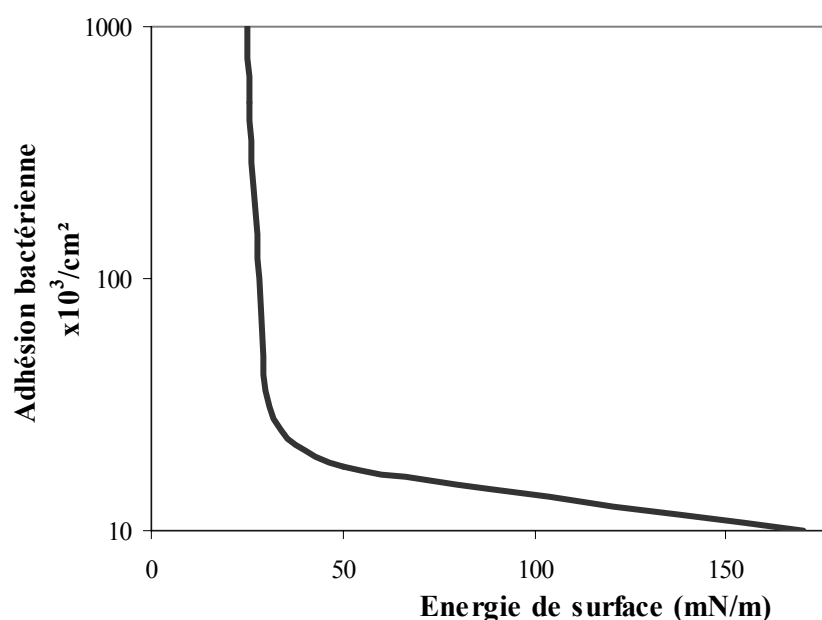


Figure III.7 : Adhésion des *S. epidermis* sur des surfaces hydrophobes pour plusieurs polymères en fonction de l'énergie de surface [115]

En revanche, Rasmussen et al. [116] n'ont pas observé de corrélation directe entre l'hydrophobicité des hydrogels et l'adhésion de *Pseudomonas sp.* Buisma et al. [101] ont

étudié les propriétés de surface de lentilles de contact avant et après portage (après 10 jours et 50 jours) et l'adhésion de *P. aeruginosa* sur ces lentilles. Les faibles modifications de surface observées sur les lentilles n'ont pas entraîné d'augmentation ou de diminution de l'adhésion.

III.2.3.2 Topologie de la surface

De nombreux auteurs ont mis en évidence une augmentation de la colonisation bactérienne lorsque la rugosité croît [105, 108, 113]. Une surface irrégulière favorise le piégeage des bactéries et les anfractuosités augmentent la surface réelle de contact.

III.3 Méthodes permettant de réduire la colonisation bactérienne sur la surface des biomatériaux

Pour réduire la colonisation des bactéries sur la surface des biomatériaux, il existe différentes méthodes comme la modification des propriétés de surface des matériaux, l'enrobage ou le traitement par gaz plasma de ces matériaux [100, 117].

III.3.1 Modification des propriétés de la surface

En modifiant les caractéristiques physico-chimiques du support nous pouvons limiter l'adhésion des bactéries au support.

Tsibouklis et al. [100] ont modifié la surface de support en verre ou en polyméthylméthacrylate par enrobage de polymères de faible énergie de surface (poly(méthylpropenoxyfluoroalkylsiloxane)s ou poly(perfluoroacrylate)s). Ce traitement permettait d'obtenir un film relativement lisse qui était résistant à la colonisation bactérienne.

James et Jayakrishnan [118] ont étudié l'effet de la thiocyanation du PVC sur l'adhésion de deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* et *S. epidermidis*. Ils ont montré que le traitement de la surface entraînait une diminution de la rétention de *S. aureus* et de *S. epidermidis*. Cette diminution peut s'expliquer soit par une interaction des bactéries avec les groupements thiocyanates soit par une augmentation de l'hydrophilie du PVC.

De la même façon Rad et al. [119] ont utilisé un procédé de modification de surface de cathéters en PVC par plasma basse température en présence de monomères de diméthylaminoéthylméthacrylate ou d'acide acrylique. Cette méthode permet d'augmenter

l'hydrophilie du matériau initial et donc de réduire l'adhésion bactérienne. Néanmoins, des différences significatives apparaissent suivant le genre et l'espèce de la bactérie.

Gottenbos et al. [120] ont implanté chez le rat des biomatériaux (polyméthylméthacrylates) de charges différentes (copolymère PMMA-chlorure de triméthylaminoéthylméthacrylate de charge positive et copolymère PMMA-acide méthacrylique de charge négative) ; les biomatériaux avaient été préalablement mis en contact avec une suspension de *E. coli* O2K2 ou une suspension de *P. aeruginosa* AK1. Ces auteurs ont évalué le nombre des bactéries viables après 48 heures d'implantation. L'incidence d'infection par *E. coli* était deux fois plus faible pour les surfaces chargées positivement que pour celles chargées négativement. En revanche, pour *P. aeruginosa*, l'incidence d'infection était similaire quel que soit le type du support.

Park et al. [121] ont observé que le recouvrement de cathéters urinaires par un copolymère multiblocs de polyéthylène oxyde (PEO) et de polytétraméthylène oxyde (PTMG) diminuait l'adhésion bactérienne de *E. coli*, de *Proteus mirabilis*, et de *S. epidermidis* par obtention d'une surface plus hydrophile et plus lisse.

III.3.2 Greffage de molécules antimicrobiennes

Flemming et al. [122] ont développé un protocole pour limiter la prolifération de *S. aureus* sur des polyuréthanes (des Pellethanes). Quatre polyuréthanes différents ont été synthétisés : un PU avec des amines quaternaires (méthyl et éthyl), un PU avec zwitterion phosphaté, un PU phosphaté et un PU sulfaté. Les bactéries sont capables de coloniser le PU simple, PU phosphaté ou PU sulfaté. Le PU avec des amines quaternaires et le PU avec zwitterion phosphaté, prévenaient la colonisation. Ainsi après une heure d'adhésion pour les PU simple et PU sulfaté, 3.10^4 UFC par support étaient dénombrées alors que pour le PU avec des amines quaternaires, seulement 3.10^2 UFC étaient dénombrées. Après 24 heures les bactéries n'étaient plus détectées sur le PU avec des amines quaternaires. Ceci peut-être dû soit à une faible affinité de *S. aureus* pour ce polymère soit à une activité bactéricide des composés du polymère.

Pour greffer de nouvelles fonctions, on peut notamment utiliser les techniques de type plasma. Sodhi et al. [117] ont ainsi employé une méthode de modification de surface par plusieurs gaz plasma (CO_2 , H_2O et NH_3) sur un film de polymère à base d'éthylène (polyuréthane et silicone). L'effet désiré était d'introduire des groupements amines à la surface afin d'y greffer soit un antibiotique, soit un système de libération d'un principe actif.

Ces traitements ont modifié l'hydrophobicité de surface du polymère. Cette augmentation de l'hydrophilie n'a pas modifié l'adhésion de *P. aeruginosa* et la rétention d'antibiotique excepté pour les surfaces traitées par le plasma d'H₂O pour lesquelles une légère diminution d'adhésion a été observée. Cette diminution peut être attribuée à la présence de groupement –OH et de leurs interactions avec l'antibiotique.

III.4 Influence de la stérilisation sur l'adhésion des bactéries sur les polymères à usage médical

Actuellement, la majeure partie des biomatériaux est produite à partir de polymères et leur mode de stérilisation peut modifier l'adhésion des bactéries à la surface de ces polymères. Il est possible, pour une suspension microbienne donnée de tracer plusieurs courbes de survie à des températures différentes. La stérilisation par un traitement thermique relativement long à haute température (supérieure à 100°C), est capable de détruire toutes les formes microbiennes [110].

En 1994, Espersen et al. [123] ont comparé l'adhésion de staphylocoques sur des polymères stérilisés soit par l'oxyde d'éthylène soit par des rayonnements bêta. Ils ont observé une influence du mode de stérilisation et du type de polymère sur l'adhésion. L'adhésion de *S. aureus* et de *S. epidermidis* sur le PVC est augmentée après une stérilisation par les rayonnements « bêta ». Ils ont aussi montré que la stérilisation à l'oxyde d'éthylène n'influe pas sur l'adhésion.

III.5 Conclusion

La détermination des propriétés physicochimiques de surface des micro-organismes, des solides ainsi que des liquides de suspension, a permis de prévoir et de quantifier l'adhésion de micro-organismes sur des surfaces idéales.

La principale préoccupation lors de l'implantation d'un matériel médical reste le risque d'infection bactérienne due aux micro-organismes présents au voisinage du dispositif, soit par contamination durant l'action chirurgicale, soit par extension de l'infection à partir d'un site distant. Celle-ci se déroule en plusieurs étapes : adhésion de la bactérie sur le matériau puis colonisation de la surface. Ceci peut entraîner une extension de l'infection et

une toxicité systémique. Le risque est d'autant plus important lorsque les biomatériaux sont partiellement implantés dans une cavité corporelle ou sont installés par passage transcutané. De plus, l'incidence des infections est relative à la durée d'utilisation de ce biomatériau sur le site

Cependant peu d'études sont publiées sur les conséquences d'une stérilisation par les gaz plasma sur l'adhésion bactérienne. Walckenaer [124] a étudié l'effet de la stérilisation par plasma sur l'adhésion de différentes souches bactériennes ; les matières plastiques utilisées étaient le PVC, le PE et le PP. La stérilisation par le plasma augmente l'adhésion de *E. coli*, de *S. aureus*, de *P. fluorescens* et de *Listeria monocytogenes* au PP alors que l'adhésion aux PVC et PE n'est pas modifiée. Etudier l'influence du traitement plasma dans cette thèse sur l'adhésion de bactéries est donc un point important.

2^{ème} partie : Partie Expérimentale

La stérilisation par les gaz plasma est récente et possède de grands avantages par rapport aux autres méthodes de stérilisation (un cycle rapide, peu coûteux et non toxique tout en ayant la possibilité d'y soumettre les matériaux thermosensibles que sont la plupart des biomatériaux). Il est en effet important que le procédé de stérilisation ne modifie ni la surface ni la structure des dispositifs médicaux réutilisables afin de ne pas altérer leurs fonctionnalités. A ce titre, l'impact du traitement par le plasma sur les biomatériaux semble généralement moins important que celui des autres méthodes [59].

Dans le cadre du Projet Pluri-Formations (PPF) sur la stérilisation d'objets médicaux par décharges électriques, créé lors du contrat quadriennal 2002-2005, plusieurs équipes de l'Université Paris-Sud 11 se sont associées dans l'objectif de mettre au point une nouvelle décharge à pression atmosphérique dans l'azote et d'utiliser la post décharge obtenue afin de stériliser les biomatériaux.

Les équipes participantes appartiennent toutes à l'Université Paris-Sud 11 sont constituées :

- de spécialistes des décharges électriques travaillant à l'élaboration du plasma « froid » et pouvant caractériser et doser les espèces actives, représentées par des équipes du LPGP (Laboratoire de Physique des Gaz et des Plasmas de faculté de Sciences) et de l'EA1400 (département Energie de Supélec) ;
- de microbiologistes devant d'une part, évaluer l'efficacité des traitements plasma vis-à-vis d'une bactérie choisie, et ainsi comprendre les mécanismes d'attaque des micro-organismes lors du traitement et d'autre part, étudier l'influence du traitement sur la capacité des supports à permettre l'adhésion bactérienne, représentés par des équipes de l'IGM (Institut de Génétique et Microbiologie UMR 8621 CNRS) et du Laboratoire de Microbiologie (EA 4043) de la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris-Sud ;
- de physico-chimistes devant analyser les modifications chimiques et structurales induites par le traitement plasma sur les biomatériaux testés, représentés par des équipes du LPPM (Laboratoire de PhotoPhysique Moléculaire) de la faculté des Sciences, du Groupe Matériaux et Santé (EA 401) et du laboratoire « Physico chimie – Pharmacotechnie – Biopharmacie » (UMR CNRS 8612) de la faculté de Pharmacie de l'Université Paris-Sud ;

- de spécialistes de toxicologie chargés de définir les besoins et de valider cliniquement le procédé, représentés par des équipes de la faculté de médecine situées à l'hôpital de Bicêtre.

C'est dans ce cadre que s'est déroulée cette thèse qui avait pour objectif d'évaluer l'effet des décharges électriques sur la stabilité des matériaux polymères qui y sont soumis. Ce travail a été réalisé à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry (Université Paris-Sud 11 - IFR141) et a donné lieu à une collaboration entre les laboratoires :

- « Matériaux et Santé » (EA 401) ;
- « Physico chimie – Pharmacotechnie – Biopharmacie » (UMR CNRS 8612) ;
- « Laboratoire de Microbiologie » (EA 4043).

Chapitre IV : Techniques expérimentales

Sommaire

IV.1 Matières premières et souche utilisées	81
IV.1.1 Biomatériau	81
IV.1.2 Souche bactérienne	83
IV.2 Traitement des échantillons par plasma froid	83
IV.2.1 Organisation générale du dispositif de stérilisation	83
IV.2.2 Caractéristiques de la décharge plasma et des espèces actives créées	84
IV.2.3 Efficacité du procédé de stérilisation	85
IV.2.4 Les enceintes et les porte-échantillons	85
IV.3 Techniques d'extraction	87
IV.4 Mise en stabilité des polymères	87
IV.4.1 Milieux liquides	87
IV.4.2 Milieux à température et humidité contrôlé	88
IV.5 Techniques de caractérisation	90
IV.5.1 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	90
IV.5.2 Analyse thermique	91
IV.5.3 Techniques séparatives	94
IV.5.4 Analyse de surface	98
IV.6 Tests d'adhésion des bactéries	105
IV.6.1 Préparation des supports	105
IV.6.2 Tests d'adhésion	106

IV.1 Matières premières et souche utilisées

IV.1.1 Biomatériau

Nous avons choisi de travailler sur un polyuréthane qui est employé dans l'élaboration de dispositifs médicaux tels que les cathéters et qui permettra de simuler le comportement d'une gaine d'endoscope (un matériel réutilisable devant être stérilisé souvent et rapidement). Ce polymère fait partie de la famille des Pellethanes[®]. Les Pellethanes[®] sont des élastomères aromatiques thermoplastiques de polyuréthane qui sont très résistants et qui sont employés essentiellement dans le domaine médical pour l'élaboration de cathéters, tubes et endoscopes par exemple (cf. I.4.5 ; p.31).

Nous avons travaillé sur une série précise de Pellethanes[®] : il s'agit du Pellethane[®] 2363-80AE (Dow Chemical[®]). La série 2363 est un grade médical linéaire segmenté aromatique. Il est facilement mis en forme de différentes manières : extrusion, moulage par injection, thermoformage, coulage. Il est constitutif des cathéters pour véhiculer le sang et les médicaments, les valves de cœur artificiel, et au sein de pompes diverses. Cependant au fur et à mesure de son utilisation quelques litiges sont apparus concernant les implants pour le long terme : il a ainsi été enlevé du marché biomédical en 1992 pour les implants à long terme.

Le grade 2363-80AE utilise un PTMG (polytétraméthylène glycol) de masse molaire égale à 1000 g/mol, et présente une composition de 56 % en segments souples. La terminaison AE indique des fonctions terminales hydroxyles. Ce polymère nous a été fourni par la société Vygon[®] (Siège Social : 5 rue Adeline, 95440 ECOUEN-France) sous forme de cathéters translucides portant ou non une ligne blanche radio-opaque (ORX). Trois lots différents ont été utilisés (Tableau IV-1).

Pour limiter les variations des propriétés de surface des polymères et la dégradation trop rapide des antioxydants contenus dans le polymère, nous avons conservé ces tubes dans le réfrigérateur ($\approx 3^{\circ}\text{C}$), à l'abri de la lumière et de la poussière, mais sous atmosphère à humidité relative non contrôlée.

Dans ce travail, le lot majoritairement utilisé est celui qui a été fabriqué en 2004 (Figure IV.1). Sauf mention contraire, les manipulations ont été effectuées sur ce lot. Pour tous les tests de caractérisation et avant traitement plasma, la ligne ORX a été enlevée des polymères par découpage aux ciseaux dans la longueur du tube (Figure IV.2).

Suivant la technique d'analyse ou le procédé utilisé, les tubes ont été préparés différemment. Par exemple pour la DSC et l'ATG, les tubes de Pellethane® ont été découpés en morceaux suffisamment petits pour rentrer dans les capsules (volume compris entre 20 et 50 μL). En revanche, pour les tests microbiologiques, un tube d'environ 3 cm de long a été utilisé. Enfin, pour la mouillabilité, la longueur des tubes nécessaire variait entre 0,5 et 2 cm.

<i>Tableau IV-1 : Lots de Pellethane® utilisés dans cette étude</i>			
Année de fabrication	1999	2004	2006
Lot	ND07010941	RA16010941	OF0097458
Matière transparente	Pellethane® 2363-80AE-DOW	Pellethane® 2363-80AE-DOW	Pellethane® 2363-80AE-DOW
Matière chargée	ligne ORX blanche : Pellethane® 2363- 80A + 40 % BaSO ₄	-	ligne ORX blanche : Pellethane® 2363- 80A + 40 % BaSO ₄
Diamètre intérieur	2,5 mm	2,5 mm	2,5 mm
Diamètre extérieur	4 mm	4 mm	4 mm
Longueur	1260 mm	1000 mm	1260 mm



Figure IV.1 : Tubes de Pellethane® fabriqués en 2004

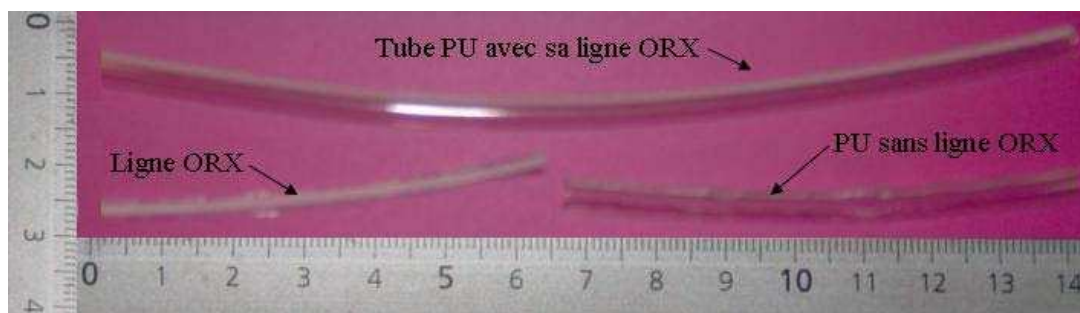


Figure IV.2 : Tubes de Pellethane® fabriqués en 2006 (avec ligne ORX)

IV.1.2 Souche bactérienne

Les expériences ont été réalisées avec des cultures de *Staphylococcus aureus* CIP 4.83, bactérie fréquemment rencontrée en milieu hospitalier.

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille de *Micrococcaceae* qui regroupe des espèces bactériennes constituées de cellules arrondies immobiles et disposées en amas. *S. aureus* ou Staphylocoque doré, est une espèce commensale présente sur le corps et les muqueuses, et est souvent responsable d'infections graves communautaires et nosocomiales (20 % des cas [125]). Cette bactérie est responsable de l'infection des plaies, de la peau et du sang. Elle acquiert facilement des résistances aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline [126].

IV.2 Traitement des échantillons par plasma froid

IV.2.1 Organisation générale du dispositif de stérilisation

Le montage de notre système de production de plasma froid est schématiquement représenté sur les Figure IV.3 et Figure IV.4.

Le circuit de traitement est composé :

- 1- d'une bouteille d'azote alpha gaz 1, un gaz de grande pureté (eau < 3 ppm, $O_2 < 2$ ppm et $C_nH_m < 0.5$ ppm) fournie par Air Liquide ;
- 2- d'un débitmètre pour contrôler le débit d'azote ;
- 3- d'un générateur plasma ;
- 4- d'une enceinte porte-échantillons ;
- 5- d'un générateur électrique.

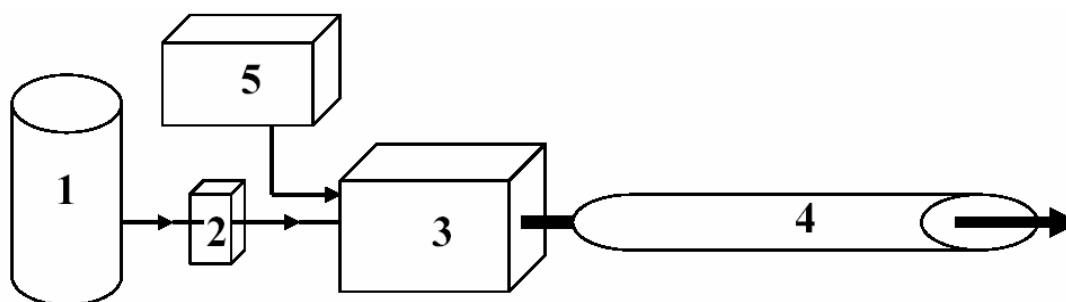


Figure IV.3 : Schéma du circuit de traitement plasma

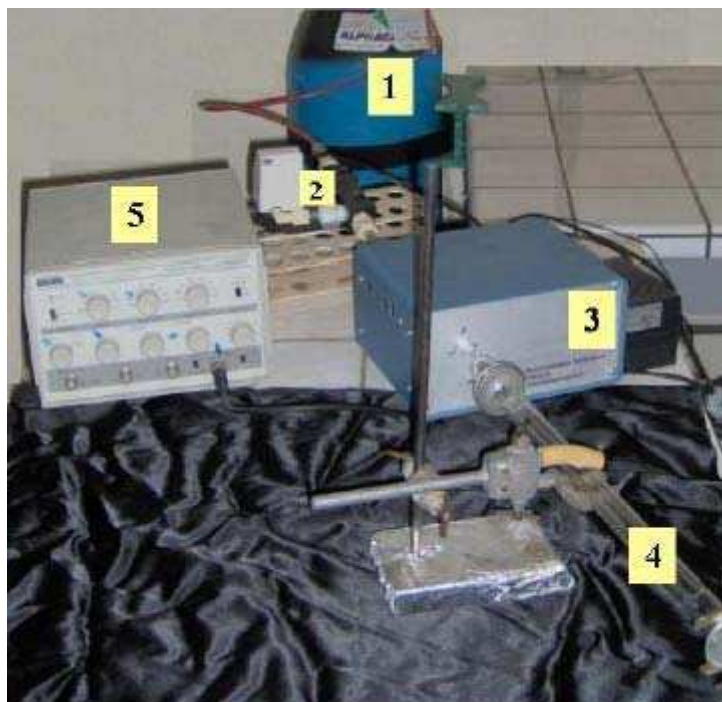


Figure IV.4: Vue générale du système de production de plasma froid

IV.2.2 Caractéristiques de la décharge plasma et des espèces actives créées

La décharge électrique a lieu à pression atmosphérique dans de l'azote pur. Des décharges successives de type couronne sont produites dans l'enceinte du plasma entre deux aiguilles. Pour cela il est nécessaire de générer des signaux alternatifs impulsionnels. La décharge électrique est de faible puissance (15 W), le voltage entre les deux aiguilles est de quelques dizaines de kV et la fréquence de l'ordre de quelques dizaines de kHz [127].

Le dispositif permet d'avoir un taux de dissociation des molécules de diazote en azote atomique qui est relativement élevé. La concentration en azote atomique au niveau de la source du plasma est en effet de l'ordre de $0,5 \cdot 10^{15} \text{ cm}^{-3}$. Le plasma génère ainsi un flux très riche en atomes d'azote qui se propagent en outre sur de grandes distances dans des tubes de petits diamètres (Brevet n° 2004 US patent Application : 10/610158), bien qu'il ait été montré que l'inverse de la concentration en azote atomique augmentait linéairement avec la distance à la source [128], en raison des phénomènes de recombinaison. Ceci est dû notamment au débit du gaz plasma qui est très élevé, de l'ordre de 40 L/min. Le spectre d'émission du gaz à une vingtaine de centimètres de la décharge montre la présence d'azotes atomiques, de N_2 mais aussi d'autres produits issus de la recombinaison de l'azote atomique avec des impuretés contenues dans le milieu, notamment avec des hydrocarbures et des espèces oxygénées : on note ainsi la présence de NH , CN et de NO .

IV.2.3 Efficacité du procédé de stérilisation

L'efficacité du procédé a été étudiée en utilisant des suspensions de spores de type *Bacillus Stearothermiphillus* avec un nombre de spores initial de l'ordre de 2.10^5 . Le nombre de microorganismes est réduit de 1 à 2 log en 15 min [129] et après 30 minutes de traitement, il reste sur les supports traités 6.10^2 spores. L'ajout de dioxygène dans le gaz du plasma permet d'augmenter le pouvoir bactéricide du plasma : en présence de mélange N_2/O_2 ($1 : 2.5.10^{-5}$), le nombre de bactéries chute après traitement à 1.10^2 . Ces résultats restent cependant pour l'instant insuffisants pour parler réellement de stérilisation, même s'il existe un effet décontaminant certain.

IV.2.4 Les enceintes et les porte-échantillons

Les enceintes de traitement plasma avec leurs porte-échantillons ont été réalisées entièrement en quartz pour éviter toute interaction avec le plasma. Elles ont été conçues au cours de cette thèse en collaboration avec le verrier de la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry, M. Stéphane Louis.

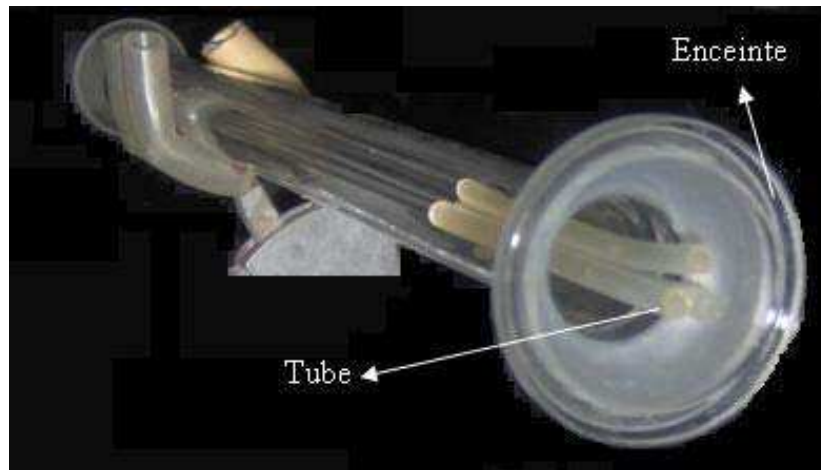
Nous avons travaillé principalement avec deux enceintes :

1^{ère} enceinte

Elle permet de soumettre au traitement plasma, trois tubes de Pellethane[®] longs de 30 cm (Figure IV.5). Il s'agit d'un tube creux en quartz, long de 37 cm à l'intérieur duquel se trouvent trois tiges en quartz fixées symétriquement par rapport à l'axe horizontal du support et donc par rapport au flux de gaz. Les cathéters peuvent être alors enfilés sur les tubes (Figure IV.6), et leur extrémité bouchée par un bouchon en quartz. Cette disposition permet de traiter exclusivement la surface extérieure des tubes.



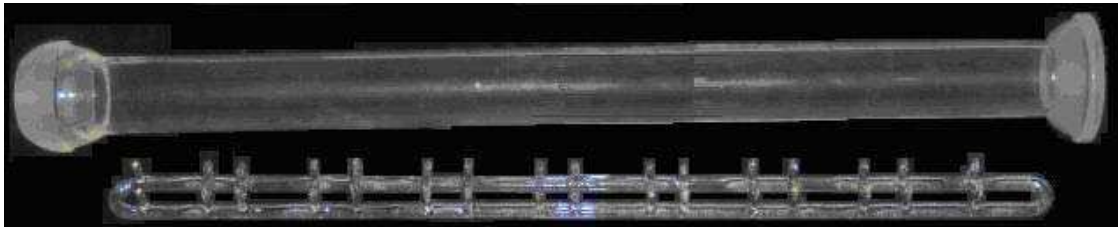
Figure IV.5 : Première enceinte de traitement plasma
(Longueur=37 cm, diamètre intérieur=1,5 cm, Volume= 75 cm³)



*Figure IV.6 : Entrée de la première enceinte
(trois tubes sont partiellement enfilés sur les tiges support)*

2^{ème} enceinte

La seconde enceinte a la même forme que la première ; il s'agit d'un tube creux dans lequel on peut glisser un porte-échantillons. Le porte-échantillons permet de fixer huit morceaux de cathéters (longs de 3 cm) (Figure IV.7). Les tubes sont alors posés au niveau de leurs extrémités sur des fourches en U, distantes de 3 cm et suffisamment étroites pour les maintenir fixes même avec un fort débit de gaz (Figure IV.8).



*Figure IV.7 : Seconde enceinte de traitement plasma avec son porte-échantillons
(Longueur = 33 cm, diamètre intérieur = 2 cm, Volume = 90 cm³)*

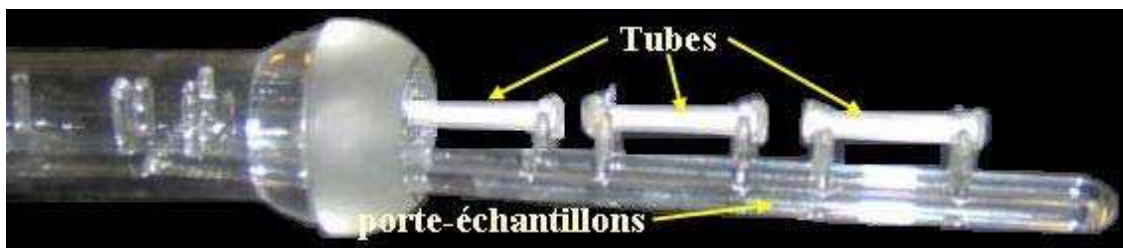


Figure IV.8 : 2^{ème} enceinte avec des tubes sur le porte-échantillons

Nous avons utilisé cette enceinte seulement pour les tests qui concernent l'adhésion bactérienne. Les tubes de PU étant soudés aux deux extrémités, le traitement ne concerne alors dans ce cas que l'extérieur du tube.

IV.3 Techniques d'extraction

Tout polymère, même de grade médical, contient des extractibles pouvant être entre autres des additifs. Afin de mettre en évidence la présence de ces additifs et plus particulièrement des antioxydants, nous avons dû faire appel à des techniques d'extraction afin de les séparer de leur matrice polymère. Dans cette étude, nous avons choisi l'extraction par dissolution-précipitation. Le principe de cette méthode est de dissoudre le matériau polymère à chaud et sous agitation magnétique dans un solvant approprié, puis de le faire précipiter avec un non solvant. C'est un procédé rapide, facile à mettre en place et qui présente des rendements d'extraction relativement élevés de l'ordre de 75 à 80 %.

Dans un premier temps, le polymère (environ 5 g précisément pesés), découpé en petits morceaux est mis à chauffer à reflux dans un ballon à fond plat dans 50 mL de tétrahydrofurane THF (grade HPLC, Carlo Erba) sous agitation et à une température relativement peu élevée ($< 50^{\circ}\text{C}$) durant 35 minutes. Dès que la dissolution du matériau est complète, 250 mL de méthanol froid (grade HPLC, Carlo Erba) sont versés lentement sur la solution maintenue sous agitation ce qui permet de reprécipiter les chaînes polymères tout en conservant les extractibles en solution. La solution ainsi obtenue est ensuite filtrée sur papier filtre, le précipité étant rincé plusieurs fois au méthanol. La solution récupérée est alors évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C . Le résidu sec obtenu contient les extractibles du polymère dont les additifs.

IV.4 Mise en stabilité des polymères

IV.4.1 Milieux liquides

Afin de mettre en évidence la stabilité des échantillons exposés ou non au plasma dans des milieux liquides et afin de suivre l'évolution des additifs dont les antioxydants dans ces milieux, nous avons incubé des portions de polymère longues de 1 cm à température

constante (37°C) et pour des temps d'incubation compris entre 2 jours et 2 mois dans deux solutions différentes :

- 1- du sérum physiologique que nous avons préparé à partir de chlorure de sodium (NaCl : 9‰), en dissolvant 1,8 g de NaCl dans 200 mL d'eau distillée ;
- 2- du méthanol (grade HPLC, Carlo Erba) : comme l'évolution dans le sérum physiologique est très lente, nous avons également choisi ce solvant car il possède un plus grand pouvoir extractant vis-à-vis des additifs.

IV.4.2 Milieux à température et humidité contrôlées

Nous avons étudié l'influence du stockage de Pellethane[®] avec différentes conditions de température et d'humidité relative (HR).

Les cathéters de PU (témoins et traités au plasma) ont été découpés en morceaux de façon à obtenir des tubes de 2 à 3 cm de longueur et ont été stockés dans des dessiccateurs bien fermés. Pour effectuer un stockage à température contrôlée, une étuve à régulation électronique et effet Pelletier (Memmert, IPP 500) a été utilisée.



Figure IV.9 : Dessiccateur utilisé pour le stockage des PU

La vue générale de notre dessiccateur (Jencons Leighton Buzzard, England) est représentée sur la Figure IV.9. Dans ce dessiccateur les deux parties sont séparées par un plateau métallique ; ce dessiccateur possède en outre un robinet permettant de faire et casser le vide dans l'enceinte.

Les échantillons de PU se trouvent dans la partie supérieure des dessiccateurs au-dessus du plateau. La partie inférieure contient les solutions salines saturées qui permettent de réguler le taux d'humidité dans l'enceinte. Un thermomètre / Hygromètre (CONTROL

COMPANY) permet de contrôler température (0 à 50°C, précision $\pm 2^\circ\text{C}$) et taux d'humidité (2 à 98 % HR, précision $\pm 5\%$ HR) au sein de l'enceinte (Figure IV.10).

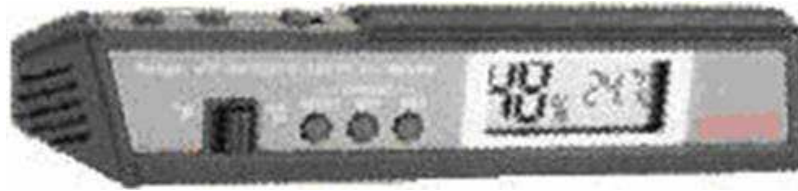


Figure IV.10 : Thermo-hygromètre utilisé pour contrôler la température et l'humidité

Nous avons étudié les conditions de conservation suivantes :

Stockage à 25°C, sous vide

Chaque fragment de cathéter a été stocké dans un sachet plastique spécialement conçu pour être mis sous vide (Reber, MILORD Family) composé de trois couches, 2 couches externes en polyéthylène et une couche interne de polyamide (Figure IV.11) ; les échantillons de PU ont été enrobés dans du papier absorbant pour éviter les contacts et donc les interactions avec le sachet plastique, puis le sachet a été mis sous vide et scellé grâce à une machine soudeuse à aspiration (Reber, MILORD Family). Le dessiccateur contenant ces sachets a lui aussi été placé sous vide.

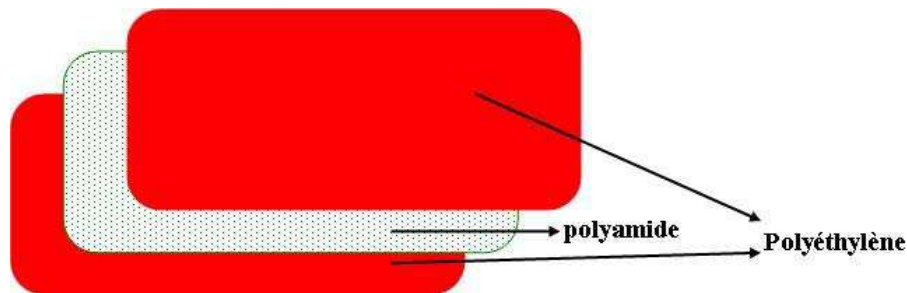


Figure IV.11 : Structure du sachet plastique utilisé pour le stockage sous vide

Stockage à 25°C et 45°C, à des taux d'humidités relatives différents

Le gel de silice, qui est un absorbant d'humidité, a été utilisé pour réaliser un environnement sec. Pour fixer les autres taux d'humidité, des solutions saturées en sels ont été utilisées. Les humidités relatives des solutions saturées des sels en fonction de la température ont été rapportées par Nyqvist [130].

Le Tableau IV-2 représente les différentes conditions de stockage en fonction de l'HR et de la température.

<i>Tableau IV-2 : Conditions de stockage en fonction de l'HR et de la température</i>		
Température	HR	Milieu
25°C	Inférieure à 5 %	gel de silice ($\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$)
	proche 60 %	solution saturée de bromure de sodium (NaBr)
	proche 75 %	solution saturée de chlorure de sodium (NaCl)
	proche 90 %	solution saturée de nitrate de potassium (KNO_3)
45°C	proche 75 %	solution saturée de chlorure de sodium (NaCl)

IV.5 Techniques de caractérisation

Afin d'évaluer les éventuelles modifications induites par le gaz plasma sur le matériau polymère, différentes techniques expérimentales ont été employées.

L'analyse physico-chimique permet de détecter d'éventuelles modifications structurales des matériaux. Les variations de la structure du matériau peuvent entraîner des modifications de la capacité d'adhésion des bactéries sur le polymère. Ces dernières seront évaluées par des tests d'adhésion.

IV.5.1 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie IR est une technique qui permet d'identifier des molécules organiques ou minérales et d'analyser les groupes fonctionnels présents. Le rayonnement électromagnétique qui interagit avec la molécule étudiée (10^{-6} à 10^{-4} m) est à l'origine de transitions vibrationnelles. Les molécules absorbent en effet à certaines fréquences caractéristiques l'énergie des radiations émises. Il en résulte ainsi un spectre de bandes, chacune des bandes étant caractéristique de la vibration d'une liaison chimique donnée. Dans notre cas, cette technique va nous permettre de mettre en évidence des dégradations éventuelles des chaînes telles que des scissions au niveau des fonctions éther et uréthane, et l'apparition de groupements caractéristiques d'une oxydation des chaînes (groupes hydroxyle, hydroperoxyde ou carbonyle). Dans certains cas, elle pourra s'avérer utile pour mettre en évidence la présence de certains additifs contenus dans le polymère et pour caractériser

l'organisation structurale du polymère (notamment la séparation de phases entre segments rigides et souples au moyen de l'étude des liaisons H).

L'analyse est réalisée à l'aide d'un spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR). Deux appareils ont été utilisés :

- un spectrophotomètre FTIR Perkin Elmer Spectrum 2000 ;
- un spectrophotomètre FTIR Perkin Elmer Spectrum One.

Les spectres obtenus correspondent à la moyenne de 8 acquisitions, avec une résolution de 4 cm^{-1} . La gamme spectrale étudiée va de 4000 cm^{-1} à 600 cm^{-1} . Le blanc est fait sur l'air.

Deux types de mesures ont été réalisés :

- Une analyse de surface (entre 1 et 2 μm de profondeur d'analyse environ) réalisée à l'aide d'un dispositif spécifique pour une mesure en réflexion totale atténuée (ATR). L'échantillon est mis au contact d'un cristal, de telle façon que le faisceau subisse une ou plusieurs réflexions totales à l'interface échantillon/cristal. Seule une onde évanescente est alors absorbée par l'échantillon sur quelques micromètres d'épaisseur et la différence entre le faisceau incident et réfléchi donne le spectre FTIR. Dans notre cas, nous avons utilisé un cristal ATR diamant mono réflexion (golden Gate – Specac).
- Une analyse par transmission : toute l'épaisseur de l'échantillon est traversée par le faisceau. Afin que l'intensité des bandes ne soit pas saturée, l'épaisseur maximale des films doit être de l'ordre 100 μm environ. Pour cela, des films de polymère ont été utilisés après dissolution préalable du polymère dans le THF.

L'analyse des tubes est réalisée sur la surface extérieure du tube par ATR. L'analyse des additifs est réalisée par ATR sur les poudres directement pressées à la surface du cristal.

IV.5.2 Analyse thermique

IV.5.2.1 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La calorimétrie différentielle à balayage est une méthode d'analyse permettant la caractérisation des propriétés thermiques des matériaux. Le principe de cette technique consiste à mesurer la variation du flux de chaleur entre deux capsules, l'une contenant la

référence (capsule vide), et l'autre contenant l'échantillon, soit en isotherme en fonction du temps, soit lors d'un balayage en température. Toute transition sur l'échantillon (endo- ou exothermique) entraîne en effet une différence de température entre la référence et l'échantillon. Cette différence de température permet alors de calculer la différence de flux de chaleur entre la référence et l'échantillon, soit directement dans le cas d'une DSC à flux de chaleur (four unique), soit indirectement par compensation de la différence de température par l'apport d'une énergie électrique dans le cas d'une DSC à compensation de puissance (deux fours distincts pour l'échantillon et la référence). Il est possible, par cette technique, de déterminer les températures de fusion et de cristallisation et les températures de transition vitreuse des matériaux ainsi que les quantités de chaleur mises en jeu lors de ces transitions. Cette technique a été utilisée afin de déterminer le degré d'organisation de la phase rigide du PU et les températures de transition vitreuse des phases rigides et souples. Toute transition du 1^{er} ordre (fusion ...) se traduit par un pic sur le thermogramme, pic dont l'aire est proportionnelle à la quantité de matière impliquée et à l'enthalpie de la transition. Suivant l'endo ou l'exothermicité de la transition, le pic sera vers le haut ou vers le bas (le sens endo et exothermique sera indiqué sur le thermogramme). La transition vitreuse se traduit par un saut dans la ligne de base car elle résulte d'une variation de la capacité calorifique de l'échantillon (C_p).

L'appareil est une DSC 7 Perkin Elmer (DSC à compensation de puissance) ; l'étalonnage a été effectué avec de l'indium et de l'étain. Afin d'obtenir des résultats reproductibles, les échantillons analysés par DSC doivent avoir approximativement la même masse [131]. Dans notre cas, les masses étaient comprises entre 8 et 15 mg. Des capsules en aluminium de 50 μ L de volume, non-hermétiques, ont été utilisées. Le gaz vecteur utilisé est de l'azote. Afin d'obtenir un bon contact entre la capsule et l'échantillon, le tube a été découpé en petits morceaux présentant des surfaces de l'ordre du millimètre carré. Ces morceaux sont représentatifs de tout le volume de l'échantillon car nous avons découpé en morceaux une section du tube (longueur proche du millimètre) suivant des axes parallèles à l'axe longitudinal du cathéter.

L'échantillon est soumis au cycle thermique suivant :

1. montée en température de 45°C à 230°C à 20°C/min.
2. refroidissement de 230°C à 45°C à 20°C/min.
3. montée en température de 45°C à 230°C à 20°C/min.

Nous avons limité notre étude aux hautes températures. En effet on verra par la suite que les transitions thermiques du Pellethane[®] sont majoritairement situées dans ce domaine de température.

Avant de les exploiter, nous avons pris soin de soustraire la contribution correspondant au signal de la ligne de base enregistré dans les mêmes conditions avec des capsules vides.

IV.5.2.2 Courants thermostimulés (TSC)

Cette technique permet d'avoir accès à des informations concernant la morphologie des matériaux en étudiant leur mobilité moléculaire.

Cette analyse thermique a initialement été utilisée pour l'étude des défauts ponctuels dans les cristaux isolants et semi-conducteurs. Depuis les années 1970, elle a été largement appliquée aux matériaux macromoléculaires - polymères amorphes ou semi-cristallins ; synthétiques ou biologiques - ainsi qu'aux petites molécules et liquides polaires. Les matériaux étudiés peuvent ainsi être de natures diverses : films, poudres, liquides, gels, pastilles sans aucune préparation préalable puisque des électrodes adaptées aux différentes morphologies sont disponibles. La faible fréquence équivalente (10^{-4} - 10^{-2} Hz) du TSC lui confère une bonne résolution et une bonne sensibilité.

L'appareil utilisé est une TSC de SETARAM Instrumentation (groupe KEP Technologies).

L'échantillon a été découpé en une rondelle de diamètre d'environ de 0.5 cm et placé entre deux électrodes dans une enceinte hermétique. Avant toute mesure, un vide primaire (0.05 mbar) est appliqué dans cette enceinte, suivi par un remplissage à l'hélium sec (surpression de 1100 mbar). Cette étape préalable a pour but de créer une atmosphère parfaitement inerte dans cette chambre et de s'assurer ainsi de la reproductibilité de la mesure.

A une température donnée T_p (100°C), un champ électrique statique E_p (100 V/mm) est appliqué durant un temps t_p (2 min) suffisamment long pour permettre aux diverses entités mobiles du matériau de s'orienter suivant le champ (Figure IV.12). L'échantillon est ensuite figé grâce à un refroidissement rapide jusqu'à une température T_0 (-150°C) à laquelle la mobilité dipolaire est négligeable. À T_0 , le champ électrique est supprimé, l'échantillon est alors court-circuité et maintenu à température constante pendant un temps t_0 afin d'éliminer les charges libres de surface.

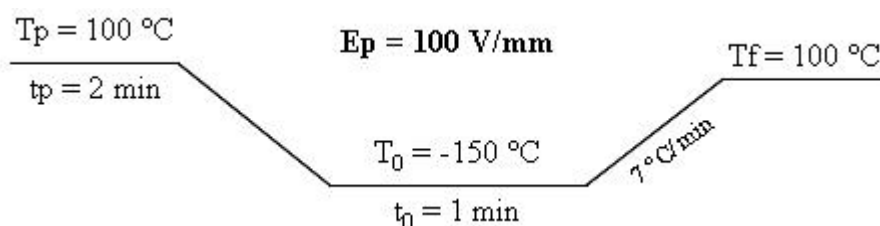


Figure IV.12 : Programme et paramètres appliqués lors de l'analyse TSC

La relaxation progressive et séquentielle des entités précédemment orientées, peut être observée lors d'une remontée linéaire de la température (jusqu'à $T_f = 100^\circ\text{C}$ à une vitesse de 7°C/min). Le retour à l'équilibre des entités précédemment orientées donne lieu à un courant de dépolarisation (I_d) qui est enregistré, en fonction de la température, à l'aide d'un électromètre de haute sensibilité (10^{-15} A).

Chaque pic de courant de dépolarisation peut être associé à un mode de relaxation particulier caractérisé par sa position en température $T_{\max}$, son intensité $I_{\max}$ et par sa largeur à mi-hauteur.

La dépendance en température des temps de relaxation élémentaires est obtenue, sans hypothèse préalable, permettant ainsi de préciser l'origine moléculaire du processus observé.

IV.5.2.3 Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'ATG est l'association de la pesée continue d'une substance avec la variation linéaire de la température en fonction du temps. Cette méthode doit son développement à la réalisation d'une électrobalance de haute sensibilité et permet d'étudier les étapes intermédiaires de la dégradation thermique des matériaux ainsi que la présence d'espèces volatiles au sein de ces matériaux (eau, solvants ...). Les mesures sont réalisées sous balayage d'azote.

Dans le cadre de notre étude, l'ATG permet de mettre en évidence des différences éventuelles entre les PU témoins et ceux stérilisés par plasma.

L'appareillage utilisé est la TGA 7 Perkin Elmer pilotée par le logiciel Pyris.

Le chauffage est effectué de 40°C à 600°C à une vitesse de 20°C/min .

IV.5.3 Techniques séparatives

IV.5.3.1 Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

Parmi les techniques chromatographiques dont la phase mobile est un liquide, la chromatographie liquide haute performance (HPLC) est la plus connue.

L'HPLC permet une analyse des additifs présents dans les matériaux plastiques étudiés. Cette analyse chromatographique est une analyse séparative qui permet d'identifier et de doser les constituants du mélange injecté. Elle sépare les composés (dans notre cas les additifs) selon leur polarité. Nous avons utilisé la chromatographie à polarité de phases inversées: la phase stationnaire est apolaire (colonne de silice greffée par une longue chaîne carbonée, en C18 par exemple) et la phase mobile est polaire. Dans cette étude, l'analyse par HPLC est faite après extraction des additifs du polymère. Le résidu sec résultant de l'extraction est repris par du solvant et est injecté. Dans le cas où le cathéter de Pellethane[®] a été incubé dans un milieu liquide, la solution d'incubation est analysée d'une manière analogue : la solution est évaporée et le résidu sec est repris dans du solvant. Chaque solution est injectée trois fois pour une meilleure reproductibilité des résultats. Dans notre cas, le résidu sec est repris dans 1 mL de THF et 1 mL d'acétonitrile, puis filtré sur un filtre téflon millipore (0,45 μ m). Les antioxydants présents sont identifiés par comparaison avec l'analyse dans les mêmes conditions de standards appartenant à la liste positive de la Pharmacopée Européenne [132]. Ils sont ensuite quantifiés après réalisation d'une courbe d'étalonnage obtenue à partir de 5 solutions de concentrations différentes choisies dans le même domaine de concentration que la solution analysée. Ces solutions étalons sont réalisées dans du THF.

Nous avons utilisé deux systèmes :

- le premier se compose d'un passeur d'échantillons (AS 1000 TSP), d'un injecteur (AS 1000 Spectra-Physics), d'une pompe (P 4000 Spectra SYSTEM), et d'un détecteur UV (UV 1000 TSP) réglé à une longueur d'onde λ de 280nm, correspondant au maximum d'absorption des antioxydants phénoliques recherchés ;
- le deuxième se compose d'un passeur d'échantillons (AS 1000 TSP), d'un injecteur (AS 3000 Spectra SYSTEM), d'une pompe (P 1000 Spectra SYSTEM) et d'un détecteur UV (UV 6000 TSP) à longueur d'ondes variables (barrette de diodes).

20 μ L de solution à analyser sont injectés sur la colonne. Les colonnes utilisées sont de deux types : une colonne de type Modulo-cart QS Nucleosil 5 C18 150X4.6 mm (Interchrom) et une colonne LiChrocart 250-4 RP select B (5 microns) Lichrosphere (Interchrom). Le débit de la pompe est de 1 mL/min. On a travaillé soit en phase acétonitrile (ACN) pure (ultra grade, ChromanormTM pour HPLC, Prolabo) en utilisant la colonne C18, soit en utilisant l'autre colonne avec un gradient linéaire composé de trois phases A, B et C, développé au laboratoire pour l'identification des additifs autorisés par la Pharmacopée

Européenne (cf. Tableau IV-3 et Tableau IV-4). L'ensemble est piloté par le logiciel ChromQuest™ (TSP) permettant par ailleurs l'acquisition et le traitement des données.

Tableau IV-3 : Composition (pourcentage volumique) des différentes phases du gradient

phase	Acétonitrile	Méthanol	THF	Eau	Acétate d'éthyle
A	20 %	20 %	17,1 %	28,6 %	14,3 %
B	14,3 %	14,3 %	57,1 %	14,3 %	-
C	-	-	100 %	-	-

Tableau IV-4 : Description du gradient

t (min)	A	B	C
0	100 %	0 %	0 %
15	100 %	0 %	0 %
60	0 %	100 %	0 %
70	0 %	0 %	100 %
80	0 %	0 %	100 %

IV.5.3.2 Chromatographie d'exclusion stérique (CES)

Aussi appelée GPC (Chromatographie à Perméation de Gel), elle permet de séparer les molécules suivant leur taille. La technique repose sur une séparation par effet stérique. La principale différence entre l'instrumentation pour HPLC et celle pour CES réside dans le logiciel d'acquisition / traitement des données, et dans le choix des colonnes. Dans le cas de la CES, le polymère, préalablement dissout est élué par un solvant. Un jeu de colonnes contenant un matériau poreux inerte est utilisé. Plus les molécules sont petites, plus elles peuvent cheminer longtemps à travers la porosité de la phase stationnaire et plus leur temps d'élution est important. Les chaînes sont repérées en sortie de colonne par un détecteur (réfractomètre, détecteur UV ...). On obtient alors un chromatogramme où chaque pic représente une distribution de masse donnée. La largeur de ce pic est fonction de la dispersion des masses au sein de la distribution.

Par cette méthode, les différentes masses molaires moyennes du polymère peuvent ainsi être déterminées. Le temps d'élution est en effet fonction du volume hydrodynamique

V_H de la molécule, c'est-à-dire fonction de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ des chaînes et de leur masse M ($V_H \propto M [\eta]$). On peut notamment calculer :

- La masse molaire moyenne en poids (M_w).
- La masse molaire moyenne en nombre (M_n).
- L'indice de polydispersité en masse ($I_p = M_w / M_n$), qui est caractéristique de l'homogénéité en masse de la distribution.

Le calcul des masses nécessite la réalisation d'une courbe d'étalonnage à partir de standards de masse connue possédant une distribution de masse étroite. Les standards doivent avoir dans l'absolu la même structure que le polymère étudié car le temps de rétention dépend du volume hydrodynamique V_H . En pratique, on utilise bien souvent des standards de polystyrène et les masses sont alors données en équivalent polystyrène.

Cette technique permet de mettre en évidence des scissions de chaînes (diminution des masses molaires moyennes) et des recombinaisons de chaînes ou branchements (augmentation des masses molaires moyennes) qui pourraient se produire suite au traitement plasma. Elle permet aussi de mettre en évidence la migration des composés de faible masse molaire tels que les oligomères et les additifs, migration qui pourrait se produire suite à la mise en stabilité du matériau dans des solutions d'incubation.

Une pompe (HP Hewlett Packard, Series 1050) et une valve d'injection Rheodyne équipée d'une boucle d'injection de 20 μ L sont utilisées. La séparation des composés est réalisée au moyen d'un jeu de trois colonnes : on a ainsi utilisé deux colonnes mixed-B de porosité 10 microns et de taille 300*7.5 mm (Polymer Laboratories) et une colonne de 100 $\text{\AA}$ de porosité 10 microns et de taille 300*7.5 mm (Polymer Laboratories). Ces colonnes sont thermostatées à 30°C par un four (Shimadzu CTO 10A). L'éluant utilisé est du THF avec un débit de 1 mL/min. Le détecteur est un détecteur UV (Jasco UV-1575) réglé à 254 nm (longueur d'onde d'absorption maximale pour le PU utilisé). Le polymère est préalablement dissout dans du THF (ultra grade, ChromanormTM pour HPLC, Prolabo) à une concentration de 1mg/mL. Les solutions d'incubation sont injectées après évaporation du solvant d'incubation et reprise avec 1 mL de THF. Un étalon interne, le toluène, est ajouté aux solutions à raison de 20 μ L dans 5 mL de solution, afin de pouvoir réajuster les temps de rétention. Les gammes d'étalonnage sont faites à partir de standards de polystyrène (Polymer Laboratories) de masses molaires connus allant de 580 à 7500000 g/mol. L'acquisition se fait au

moyen du logiciel Azur (Datalys) et le traitement des résultats par le logiciel Cyrus (Polymer Laboratories).

IV.5.4 Analyse de surface

IV.5.4.1 Microscopie optique

Nous avons travaillé sur un microscope BX 60 OLYMPUS avec moniteur et imprimante SONY, nous avons choisi deux grossissements (10 X et 40 X). Cette analyse nous a permis de mettre en évidence l'aspect de surface des tubes de Pellethane®.

IV.5.4.2 Microscopie à force atomique (AFM)

L'AFM caractérise la topographie et les propriétés physiques à l'échelle nanométrique. Les images de surface obtenues sont proches de la résolution atomique mesurant les forces atomiques à la surface de l'échantillon. Le principe se base sur les interactions entre l'échantillon et une pointe montée sur un cantilever (Figure IV.13). Les forces électrostatiques de Van der Waals, capillaires, magnétiques et ioniques, permettent d'obtenir des images de la surface de l'échantillon.

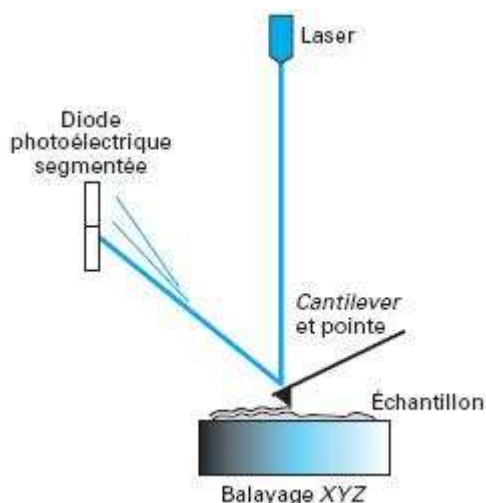


Figure IV.13 : Principe du microscope à force atomique

Par l'AFM, on peut contrôler la dimension et mesurer la rugosité.

Le travail a été réalisé avec un microscope AFM en mode contact (Molecular Imaging PicoScan, Scanner 100 μm) qui correspond à un fonctionnement au voisinage du mur répulsif du potentiel. En mode contact, on peut effectuer les balayages de l'échantillon perpendiculairement à l'axe du cantilever. Ce mode est cependant facile à utiliser, rapide et il

est souvent couplé à des mesures simultanées de frottement, d'adhérence ou de raideur de contact [133].

IV.5.4.3 Microscopie à balayage (MEB)

Le microscope électronique à balayage (encore appelée SEM : Scanning Electron Microscopy) est un appareil pouvant fournir rapidement des informations sur la morphologie et la composition chimique d'un objet solide (s'il est équipé d'une sonde EDAX).



Figure IV.14 : Vue générale de l'Appareil MEB LEO 1530

Les échantillons ont été analysés en MEB par Mme Besnard (UMR CNRS 8612, Faculté de pharmacie, Châtenay-Malabry) au Centre d'étude de chimie métallurgique (15 rue Georges Urbain, 94407 Vitry sur Seine). Le microscope utilisé est un MEB LEO 1530 avec canon à effet de champ type GEMINI (Figure IV.14). Les échantillons ont été fixés sur le support (scotch carbone double face) et recouverts partiellement de laque d'argent puis métallisés au moyen d'un métalliseur CRESSINGTON 208 HR. Cette analyse nous a permis d'affiner l'étude de l'aspect de surface des tubes de Pellethane[®] par rapport à la microscopie optique.

IV.5.4.4 Spectroscopie des photoélectrons (XPS)

La spectroscopie XPS (encore appelée ESCA : Electron Spectroscopy for Chemical Analysis) est une technique quantitative d'analyse élémentaire et d'analyse chimique qui permet d'étudier les énergies de liaison des éléments présents sur la surface d'un matériau. Il est ainsi possible d'analyser la composition de surface (nature et concentration des atomes présents), et de déterminer l'environnement des atomes de surface (fonctions chimiques). Elle est basée sur la photo émission d'électrons émis par les atomes cibles de la surface analysée bombardée par des photons X monochromatiques, d'énergie $h\nu$. L'énergie absorbée par la matière permet d'exciter les électrons de cœur. L'énergie cinétique E_c de ces photons est analysée et permet de déterminer des énergies de liaison E_b ($E_b = h\nu - E_c$), caractéristiques d'une couche électronique donnée pour un élément donné. La profondeur analysée est inférieure à 10 nm, et cette technique est peu ou pas destructive.

Le spectre XPS est constitué d'une succession de pics qui correspondent à des énergies de liaison E_b , et qui sont caractéristiques des différents éléments présents. Tous les atomes peuvent donc être détectés en XPS, à l'exception de l'hydrogène qui ne possède pas de niveaux de cœur. Un exemple de spectre XPS des pics 1s des éléments de la deuxième rangée du tableau périodique est présenté dans la Figure IV.15.

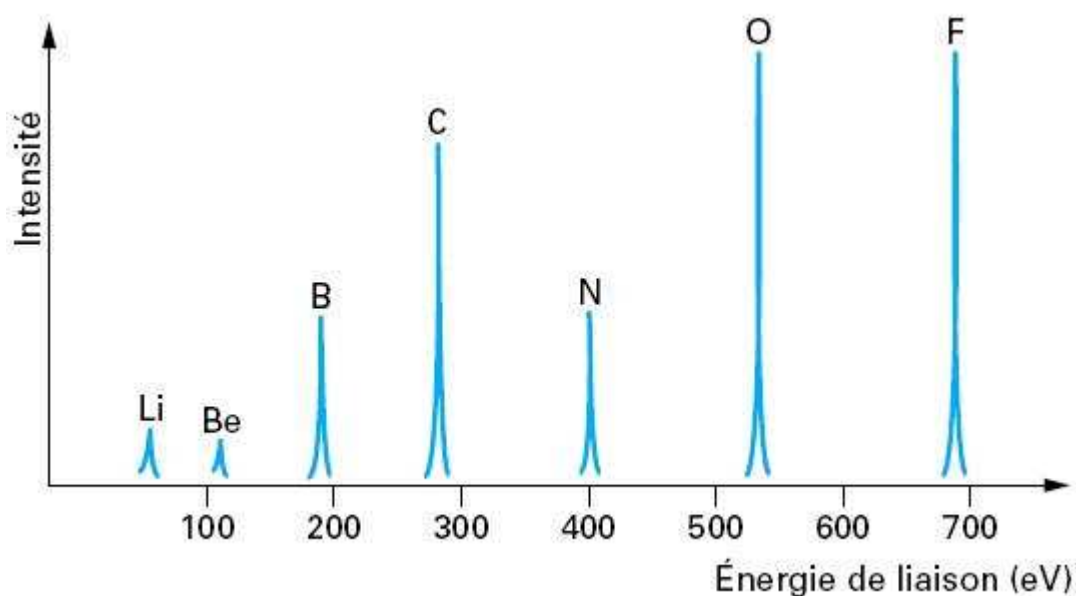


Figure IV.15 : Pics 1s des éléments de la deuxième rangée du tableau périodique

On observe des séries de pics correspondant aux éléments présents, chaque pic étant caractéristique de la couche électronique dont sont issus les photoélectrons. Ce spectre

global (spectre de survol) permet d'étudier la composition de surface. Les variations d'énergie d'orbitales de l'ordre de quelques eV observées par rapport aux éléments isolés (ce qui constitue le déplacement chimique) dépendent des liaisons chimiques établies par l'atome émetteur (Figure IV.16). Ce déplacement permet de déterminer la nature des groupements fonctionnels car il est caractéristique de la nature et du nombre d'éléments entourant l'atome. Pour déterminer ces groupements chimiques, il est souvent nécessaire de réaliser une déconvolution des différents pics présents.

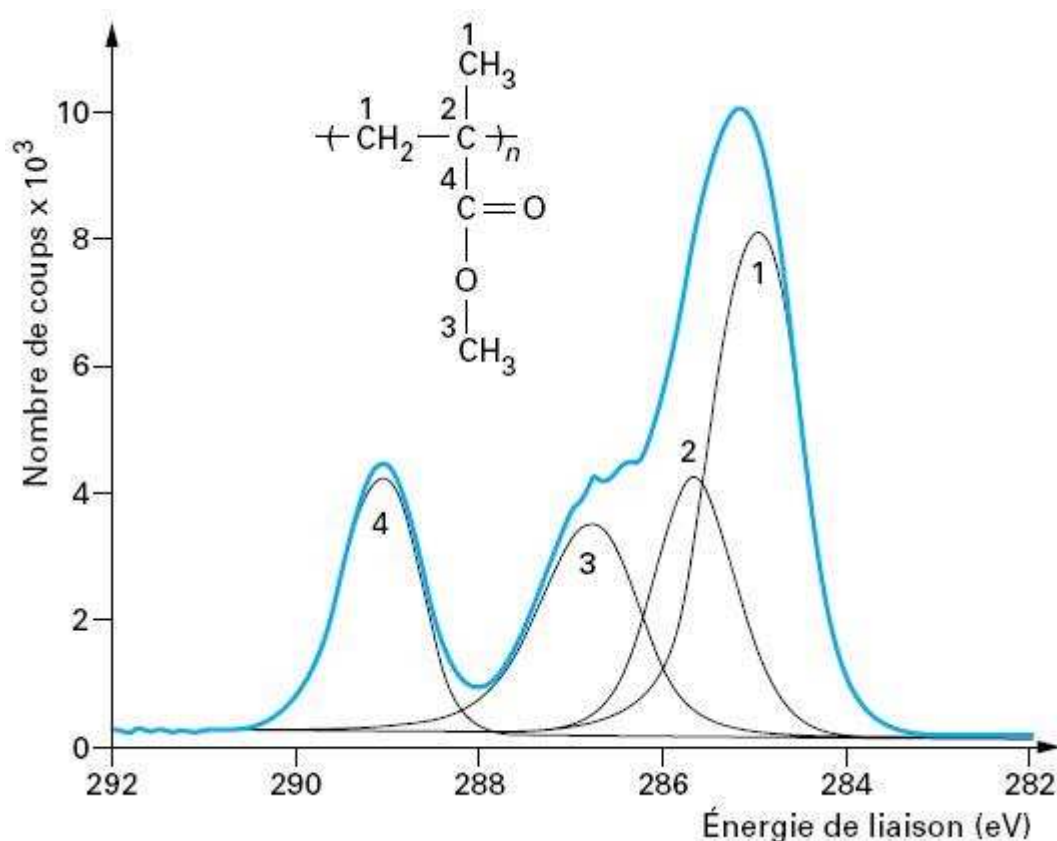


Figure IV.16 : Illustration d'un déplacement ESCA secondaire induit par un groupement en position β dans le spectre $C1s$ du PMMA résolu en quatre composantes.

L'analyse XPS se fait sous vide poussé (10^{-9} - 10^{-10} mbar) et l'appareillage est constitué d'une source de rayons X (anode en aluminium ou magnésium bombardée pour un faisceau d'électrons de haute énergie), d'un analyseur permettant de mesurer l'énergie des photos électrons émis, et d'un système de détection des électrons (multiplicateur). Il est possible de modifier la position de l'échantillon et de réaliser des analyses à différents angles entre l'analyseur et la surface de l'échantillon : ceci permet de faire varier la profondeur analysée. Pour analyser les surfaces isolantes comme les polymères il faut en outre équiper

l'appareil d'un canon à électrons (Flood Gun) qui permet de compenser les charges positives créées par la photoémission.

Afin de mieux comprendre les phénomènes de surface engendrés par le traitement plasma, nous avons mené une étude par XPS afin de mettre en évidence les éléments présents à la surface du polyuréthane. Nous nous sommes intéressés aux raies 1s du carbone, de l'oxygène et de l'azote, car ce sont les principaux éléments constitutifs du Pellethane®.

Afin de corréler les résultats d'XPS avec ceux obtenus par MEB et par mesure d'angles de contact, nous avons analysé différents échantillons :

- le tube (lot 2004) non traité qui servira de référence ;
- les tubes lavés à l'eau déminéralisée et à l'éthanol dans le but de caractériser la surface des échantillons analysés par MEB ;
- les tubes traités 40 minutes au plasma (40 L/min) puis analysés par XPS 3 heures et 3 jours après le traitement plasma, dans le but de comprendre l'évolution de l'hydrophobie de surface observée par mouillabilité.

Conditions opératoires

L'appareil utilisé est un LEYBOLD LHS 10 (Figure IV.17), situé à l'Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (UMR 8182) sur le Campus de la Faculté d'Orsay. Il est équipé d'une source de Magnésium, filtrée par une feuille en aluminium, laissant passer des photons d'énergie 1253,6 eV (raie $K\alpha$). La rampe de balayage en énergie est calibrée par rapport aux raies $4f^{7/2}$ de l'or (84 eV) et $2p^{3/2}$ du cuivre (932,7 eV). La surface analysée est de quelques mm² et la profondeur analysée est de 3 fois la longueur d'onde. L'angle d'analyse est de 90°. Le vide est d'environ 10⁻⁸ Pascal.

Les échantillons ont été coupés dans leur longueur pour obtenir une lanière de quelques millimètres de large, afin de pouvoir la fixer sur le support à l'aide de clips métalliques.

L'acquisition a été réalisée avec une constante en énergie de passage de 50 eV sur les raies C1s, O1s et N1s. L'énergie de référence du C1s a été prise à 285 eV, correspondant au pic du C1s d'un hydrocarbure [134]. Cette valeur permet de corriger les autres énergies de liaison. Pour les raies du carbone C1s et de l'oxygène O1s, 20 scans ont été réalisés alors que pour la raie de l'azote N1s, 60 scans ont été enregistrés.

Les spectres obtenus ont été déconvolués par des fonctions mathématiques appelées « voigt » ayant une contribution lorentzienne et gaussienne. Le logiciel de décomposition utilisé est Peak FitTM (version 4.0) de SPSS Science.



Figure IV.17 : Vue générale de l'Appareil ESCA LEYBOLD LHS10

L'analyse quantitative, permettant de calculer le nombre d'atomes, fait appel à l'aire du pic i (ou son intensité relative notée I_i). Elle est reliée à la quantité d'atomes excités par unité de surface (N_i) et à la section efficace (σ_i) de l'électron analysé, au nombre de scans (n), au libre parcours moyen des photoélectrons (λ) et au facteur de transmission du spectrophotomètre (τ) selon l'Equation IV-1, avec σ_i égale à 1 pour le C1s, à 1,77 pour le N1s et à 2,85 pour l'O1s. Le facteur τ dépend de la perte d'énergie et est comparé à l'étalon (or).

$$I_i = N_i \times \sigma_i \times n \times \lambda \times \tau$$

Equation IV-1

IV.5.4.5 Mesures d'angles de contact

La mouillabilité est déterminée par la mesure de l'angle de contact (Θ) d'une goutte de liquide déposée à la surface d'un matériau (Figure IV.18).

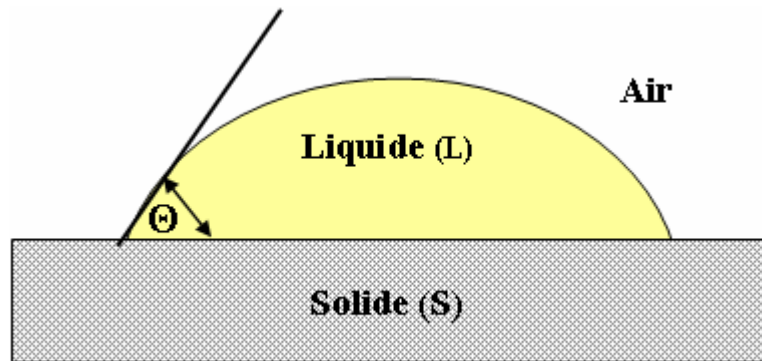


Figure IV.18 : Angle de contact d'un liquide sur une surface solide

Cette méthode permet d'évaluer la polarité de la surface et donc de déterminer si le traitement plasma a un effet sur cette propriété. Pour un liquide mouillant hydrophile, plus l'angle de contact est grand, plus la surface du polymère est hydrophobe. Par contre, plus l'angle de contact est petit, plus la surface du polymère est hydrophile.

Le matériel utilisé pour réaliser cette mesure est un goniomètre System G40 (Krüss®) associé au logiciel Drop Shape Analysis DSAv1.80 (Figure IV.19).



Figure IV.19 : Vue générale du système G40 (Krüss®)

L'étude des propriétés de mouillabilité a été réalisée par mesure de l'angle à l'avancée (30 secondes après le dépôt de la goutte de liquide) et de l'angle au recul (30 secondes après le retrait d'une partie du liquide de la goutte). Trois liquides, choisis en fonction de leur polarité, ont été utilisés :

1. Le diiodométhane (CH_2I_2 , Merck Schuchardt OHG), qui est un liquide orangé ;
2. L'éthylène glycol ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, E. Merck Darmstadt), qui est un liquide translucide ;
3. L'eau purifiée par osmose inverse sur Milliro 6+ [®] (Millipore) puis bidistillée.

La goutte est déposée sur le tube de Pellethane[®], et ceci dix fois pour chaque échantillon. Une option dans le logiciel permet de sélectionner une ligne de base courbe.

IV.6 Tests d'adhésion des bactéries

IV.6.1 Préparation des supports

Les tests sont réalisés sur des tubes (supports) de PU qui ont été découpés en morceaux de 3 cm de longueur. Comme ces échantillons doivent être immergés dans des milieux de culture et ne doivent pouvoir subir de colonisation que sur la face externe du tube, la seule traitée par le plasma, une préparation spéciale des échantillons a été nécessaire. Afin de lester les échantillons et d'éviter leur flottaison, les tubes découpés ont été remplis de microbilles de verre. Afin que seule la surface externe du tube soit testée, les extrémités ont été soudées grâce à un pressage à chaud.

Avant les tests d'adhésion, ces supports sont décontaminés par immersion dans une solution de RBS 25 (Labosi, Elancourt) qui est un détergent alcalin, selon le protocole de décontamination suivant :

- mise en contact des échantillons avec une solution de RBS 25 à 2 % V/V pendant 10 minutes. Les échantillons sont fréquemment agités pendant ce temps de contact ;
- élimination de la solution de RBS 25 ;
- rinçage des tubes 5 fois à l'eau distillée chaude, puis 5 fois à l'eau distillée froide. L'eau utilisée est stérile (20 minutes à l'autoclave à $120 \pm 1^\circ\text{C}$) ;
- séchage des tubes sur du papier filtre stérile sous la hotte à flux laminaire ;
- conservation des tubes dans des flacons propres et stériles.

Une partie de ces tubes est ensuite soumise au plasma froid, l'autre partie non traitée sert de témoin.

Un autre type de support également a été utilisé : le polypropylène (PP) afin d'étudier l'influence du traitement plasma sur la capacité des bactéries à adhérer sur ce support.

IV.6.2 Tests d'adhésion

Les bactéries utilisées pour préparer la suspension bactérienne sont issues d'un deuxième repiquage sur des pentes de gélose Trypticase Soja Agar (TSA) (Merck) à 24 heures d'intervalle (température d'incubation de $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$).

Une suspension bactérienne titrant de 1 à 3.10^{+8} bactéries/mL est préparée dans un diluant tryptone sel (titre correspondant à 60 % de lumière transmise en tubes de 18 mL de diamètre (longueur d'onde de 620 nm)). Afin de dénombrer la suspension bactérienne, des dilutions décimales de 10^{-1} à 10^{-7} ont été effectuées et un dénombrement dans la masse d'un milieu gélosé TSA est réalisé pour les dilutions 10^{-6} et 10^{-7} (1 mL de dilution par boîte et 2 boîtes par dilution) (Annexe 1).

IV.6.2.1 Protocole d'adhésion

Chaque essai comprend un échantillon témoin et un échantillon ayant été traité par plasma.

Les échantillons sont introduits dans des tubes à hémolyse stériles (un échantillon par tube) contenant 3 mL de suspension bactérienne titrant de 1 à 3.10^{+8} bactéries /mL et incubés à température ambiante ($\approx 20^{\circ}\text{C}$) pendant un temps de contact noté t. Quatre temps de contact sont étudiés : 10 minutes, 30 minutes, 1 heure et 24 heures.

A la fin du temps de contact t, les échantillons sont récupérés, rincés dans le diluant tryptone sel par trempage successif dans trois bains, afin d'éliminer les bactéries non adhérentes.

Les échantillons rincés sont introduits dans 10 mL de diluant tryptone sel et les bactéries adhérentes sont mises en suspension par action des ultra-sons (bain à ultra-sons, Elma) pendant 1 minute puis homogénéisation pendant 1 minute à l'aide d'un agitateur de type vortex.

Après dilutions décimales (10^{-3} et 10^{-4}), la suspension obtenue est dénombrée par ensemencement dans la masse d'un milieu gélosé TSA. Les colonies sont comptées après 48 heures d'incubation à $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ et le nombre d'UFC (Unités Formant Colonies) par support est calculé.

IV.6.2.2 Traitement statistique des résultats

L'analyse statistique utilisée est le test de Student en séries appariées qui permet d'évaluer la différence entre (Annexe 3) :

- les échantillons témoins et les échantillons traités au plasma ;
- les échantillons traités 40 min au plasma et les échantillons traités 100 min au plasma.

Chapitre V : Caractérisation des cathéters de Pellethane[®] avant traitement plasma

Sommaire

V.1 Caractérisation de la structure physico-chimique de la matrice polymère de polyuréthane (PU)	111
V.1.1 Nature des chaînes polymères	111
V.1.2 Organisation des chaînes polymères	111
V.1.3 Distribution des masses molaires	123
V.2 Caractérisation des additifs contenus dans les cathéters	124
V.2.1 Antioxydants phénoliques	124
V.2.2 Lubrifiant	127
V.3 Caractérisation de la surface des cathéters	135
V.3.1 Mouillabilité	135
V.3.2 Aspect de la surface	137
V.3.3 Effet des hétérogénéités de surface et de la rugosité du cathéter	144
V.3.4 XPS	145
V.4 Conclusion	151

V.1 Caractérisation de la structure physico-chimique de la matrice polymère de polyuréthane (PU)

V.1.1 Nature des chaînes polymères

Cette caractérisation a été effectuée en spectroscopie IR, en ATR directement sur la surface du cathéter (analyse d'une épaisseur de quelques micromètres) et en transmission sur des films obtenus par coulage après dissolution du polymère dans du THF.

Les spectres ATR des tubes du PU non traité (témoin) entre 4000 et 600 cm^{-1} sont représentés sur la Figure V.1. Cette analyse a été enregistrée en 2006 sur les lots de PU de 1999, 2004 et 2006. Les bandes ont été indexées en utilisant comme référence la publication de McCarthy [135]. Les principales fréquences des vibrations de PU obtenues sont rapportées dans le Tableau V-1. Elles confirment le caractère polyéther uréthane aromatique du composé étudié.

V.1.2 Organisation des chaînes polymères

On a vu dans la partie bibliographique que le polyuréthane est un polymère segmenté constitué de segments rigides ou souples, plus ou moins miscibles et plus ou moins organisés. Nous avons caractérisé cette organisation en utilisant des techniques thermiques et spectroscopiques.

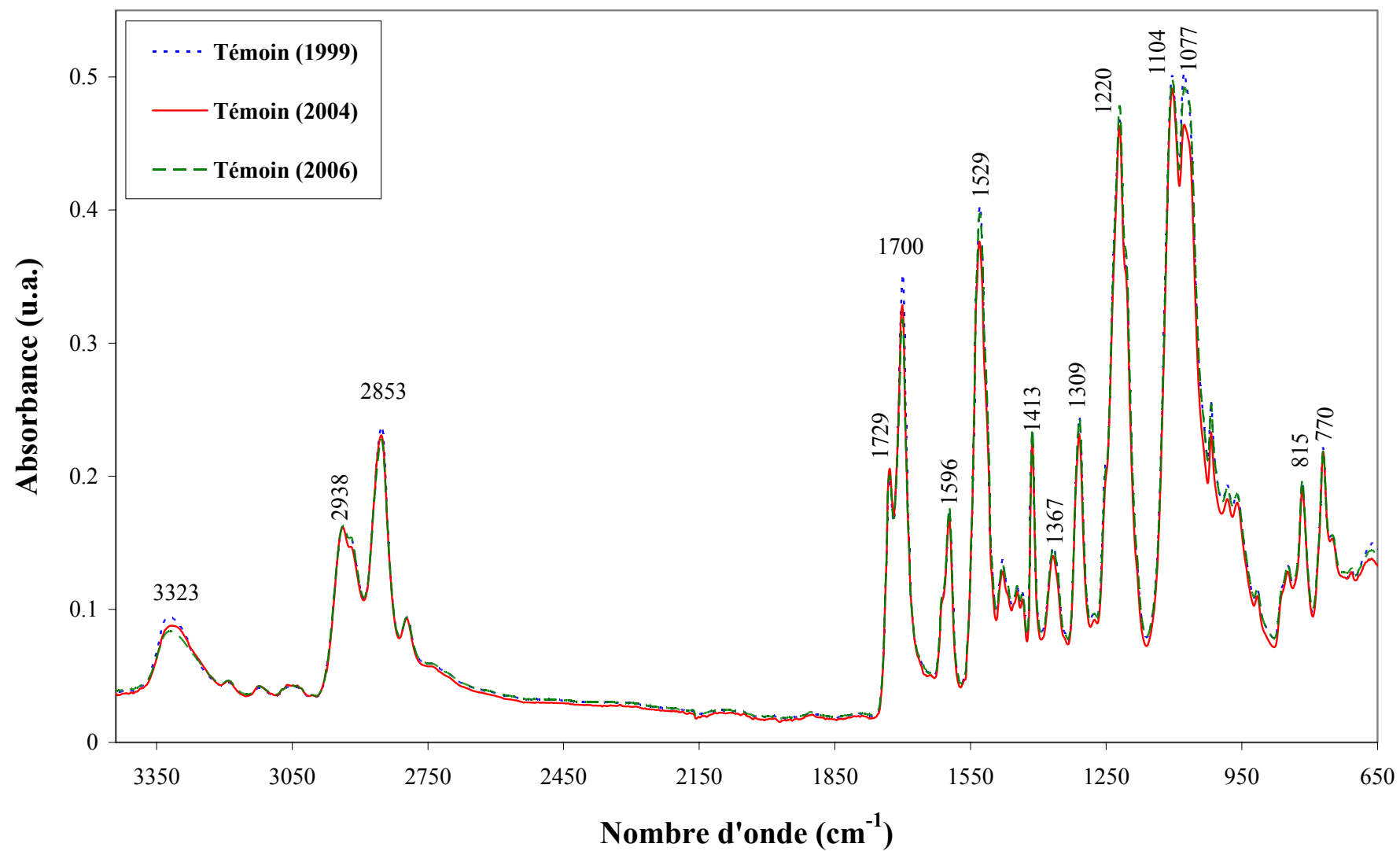


Figure V.1 : Spectre IR (ATR) des cathéters de Pellethane®

*Tableau V-1 : Principales fréquences des vibrations caractéristiques du Pellethane®
2363-80AE*

Fréquences (cm⁻¹) McCarthy	Fréquences (cm⁻¹) observées	Attribution des fréquences
<i>770</i>	<i>770</i>	<i>γ O-C-O</i>
<i>815</i>	<i>816</i>	<i>γCH benzène</i>
<i>983</i>	<i>982</i>	<i>ν_s COC</i>
<i>1056 sh</i>		<i>νCOC uréthane</i>
1083	1077	ν COC+ ν_s COC
1112	1103	ν_aCOC éther
1208 sh		tCH ₂
1227	1219	νCN
1251 sh		wCH ₂
<i>1279</i>	<i>1278</i>	<i>δCH₂+wCH₂</i>
1311	1309	δ NH uréthane + ν CN + δ CH benzène
1368	1367	w α_c CH ₂
1414	1413	ν CC cycle
<i>1446</i>	<i>1446</i>	<i>δCH₂</i>
1468		δ CH ₂
<i>1481</i>	<i>1479</i>	<i>δCH₂ + wNH + δNH uréthane + νCN</i>
1535	1529	δNH + νCN
1598	1596	ν CC cycle + δ NH aromatique
1611 sh		ν C=C cycle
<i>1691 sh</i>		<i>νC=O lié par liaison H</i>
1703	1700	νC=O uréthane lié par liaison H
1731	1729	ν C=O uréthane libre
<i>2797</i>	<i>2796</i>	<i>$\nu_s \alpha$CH₂</i>
2859	2853	$\nu_a \alpha$CH₂ + $\nu_s \beta$CH₂
2922 sh		$\nu \beta$ CH ₂
2941	2938	$\nu_a \beta$ CH ₂
<i>3280 sh</i>		<i>νNH lié par liaison H (C-O éther)</i>
<i>3329</i>	<i>3323</i>	<i>νNH lié par liaison H (C=O)</i>

ν : vibration d'élongation δ : vibration de déformation dans le plan, γ : vibration de déformation hors du plan, w : wagging, t : twisting, a : antisymétrique, s : symétrique. En gras les bandes de forte intensité, en italique celles de faible intensité, sh : épaulement

V.1.2.1 Analyse spectroscopique par FTIR

La spectroscopie infrarouge nous a permis de caractériser les liaisons hydrogène qui sont déterminantes pour la séparation de phase entre segments rigides et segments souples. Ces liaisons peuvent en effet se former soit entre deux segments rigides en liant la fonction carbonyle d'un uréthane à la fonction amide d'un autre uréthane, soit entre un segment souple et un segment rigide en liant le N-H de l'uréthane à l'oxygène d'un groupement éther [136-138] (Figure V.2). Si les liaisons sont majoritairement du premier type, alors la séparation de phases sera marquée. En revanche, les liaisons hydrogène du second type permettront de mélanger segments rigides et segments souples.

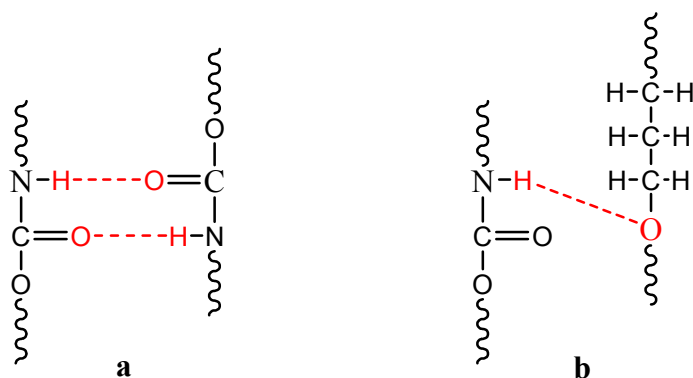


Figure V.2 : Les différents types de liaisons hydrogène possibles entre les chaînes de PU. a) entre segments rigides b) entre segments souple et rigide

Ces deux types de liaisons peuvent être caractérisés par IR en suivant l'évolution de la vibration d'élongation des N-H et des C=O [35, 139-141]. La fréquence associée à la vibration d'élongation de la fonction N-H libre est de 3460 cm^{-1} , alors que pour un groupement N-H impliqué dans une liaison hydrogène elle est comprise entre 3330 et 3200 cm^{-1} . Dans le cas de liaisons hydrogène de type $\text{N}-\text{H}---\text{O}=\text{C}$, la vibration d'élongation des N-H sera localisée à 3330 cm^{-1} , alors que dans le cas de liaisons entre segments souples et rigides ($\text{N}-\text{H}---\text{O}-\text{C}$), cette vibration se trouvera à 3295 cm^{-1} [35]. Si la séparation de phase est restreinte, en raison du faible nombre de liaisons $\text{N}-\text{H}---\text{O}=\text{C}$, on aura par ailleurs une bande à 1700 cm^{-1} d'intensité relativement faible puisque cette dernière est associée aux C=O liés par liaison hydrogène [136].

Sur ce spectre ATR (Figure V.1) nous observons une bande à 1700 cm^{-1} relativement intense. D'après la littérature, le coefficient d'extinction de la bande à 1700 cm^{-1} ne peut excéder celui de la bande à 1730 cm^{-1} de plus de 20 % (cette dernière fréquence correspondant aux fonctions C=O libres de l'uréthane) [142]. Certains auteurs considèrent

même que ces coefficients peuvent être considérés comme égaux car les différences sont peu significatives [139, 143]. Ceci nous indique le pourcentage de liaisons uréthanes impliquées dans des liaisons segment rigide/segment rigide. En effet, la seule autre possibilité de liaison entre segments rigides pourrait provenir d'une liaison du N-H avec le deuxième oxygène de la fonction uréthane. Cependant cette hypothèse émise par Boyarchuk [137] n'a pas été mise en évidence et nous n'en tiendrons pas compte ici. Comme le rapport d'absorbance (A) des bandes correspondant aux uréthanes liées et libres $A_{1700}/(A_{1730}+A_{1700})$ vaut 2/3, alors on peut considérer que le pourcentage de liaisons segment rigide/ segment rigide est compris entre 50 et 66 %. L'étude de la vibration d'élongation N-H (autour de 3300 cm^{-1}) nous indique la quasi absence de fonction N-H libres (ceci avait déjà été remarqué par d'autres études sur des PU similaires [139]) ; celles-ci sont donc impliquées soient dans des liaisons avec des C=O, soit avec des C-O-C. Le caractère large du motif N-H observé indique la présence de plusieurs bandes associées aux N-H et est cohérente avec l'existence de deux bandes à 3300 et 3295 cm^{-1} d'intensités relativement équivalentes. Il est à noter que le coefficient d'absorption est dépendant de la force de la liaison hydrogène formée et qu'il n'est pas forcément évident de voir la fonction N-H libre en raison de fortes différences de coefficients d'absorption par rapport aux groupements N-H liés [35].

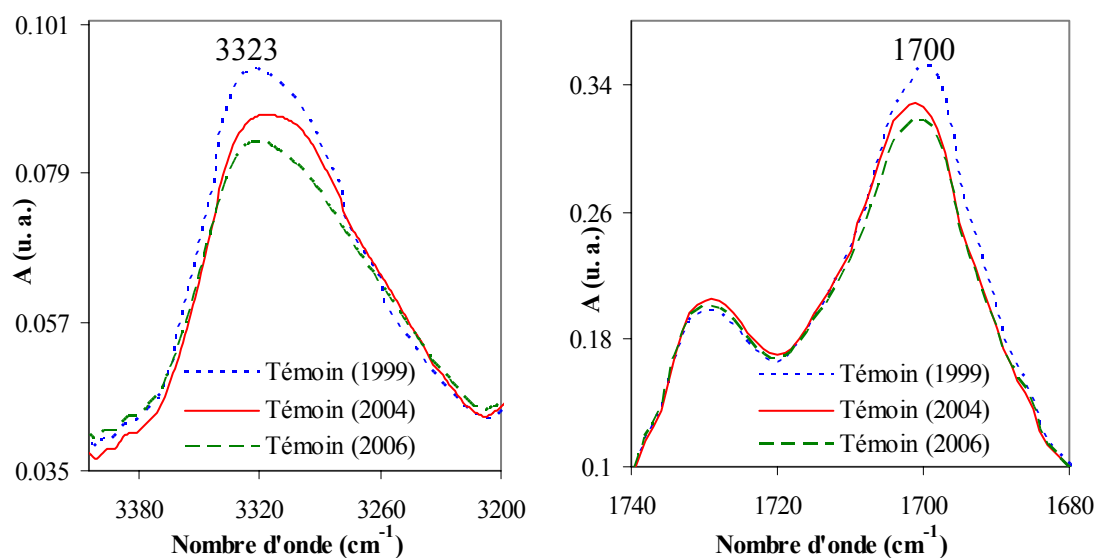


Figure V.3 : Agrandissement de la Figure V.1 pour les bandes associées aux fonctions liées C=O (1700 cm^{-1}) et NH (3323 cm^{-1})

On peut remarquer grâce à cette étude FTIR un effet du vieillissement du matériau sur la séparation de phase. L'intensité des bandes à 1700 cm^{-1} (C=O lié) et 3323 cm^{-1} (N-H

liés aux C=O) augmente avec l'ancienneté du lot (Figure V.3). Ceci indique qu'au cours du temps la séparation de phase entre segments souples et segments rigides tend à augmenter.

V.1.2.2 ATG

Cette analyse permet de suivre la dégradation thermique des matériaux. Dans le cas d'un polymère segmenté, il est possible d'observer différents paliers de dégradation dont l'intensité relative peut être corrélée à la fraction de chaque composé dans le polymère. Concernant un polymère comme le polyuréthane, nous nous attendons donc à l'existence de deux étapes successives. Herrera et al. [144] ont montré sur des polyéthers à base de MDI dégradés dans l'azote, que la première étape de dégradation résultait de la scission des liaisons uréthanes (fort dégagement de CO₂) alors que la seconde étape était plutôt liée à la dégradation des polyols.

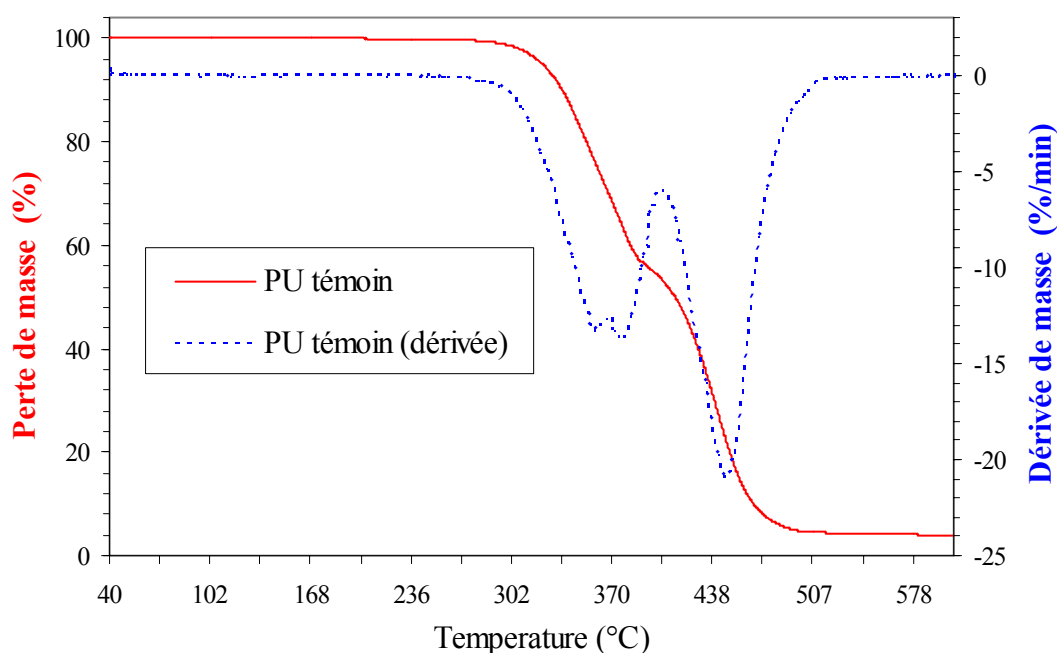


Figure V.4 : Thermogramme ATG et courbe dérivée associée, pour le cathéter de Pellethane®

La Figure V.4 donne le thermogramme du cathéter de Pellethane® (la courbe dérivée est donnée en pointillés). Lors d'un chauffage à 20°C/min, nous pouvons observer trois étapes successives de dégradation. La première se situe autour de 360°C. Elle est ensuite suivie de deux autres étapes à 380°C et 460°C respectivement. Nous remarquons que le Pellethane® est totalement dégradé pour les températures supérieures à 550°C. Les deux premières étapes sont très proches et seulement visibles sur la courbe dérivée. Nous n'avons

pas d'explication concernant l'existence d'une étape supplémentaire. Peut-être s'agit-il d'une étape associée à la dégradation d'oligomères.

Chaque mesure a été effectuée sur cinq échantillons témoins du PU. Le Tableau V-2 représente les pourcentages de perte de masse associés à chaque étape de dégradation pour deux lots de cathéters de Pellethane®. Nous n'avons pas noté d'effet important du vieillissement sur l'intensité des différentes étapes de dégradation.

<i>Tableau V-2 : Pourcentages de perte de masse associés à chaque étape de dégradation des témoins (analyses réalisées en 2004)</i>		
	PU (1999)	PU (2004)
Perte de masse (%) 1 ^{ère} étape	22 ± 2	21 ± 2
Perte de masse (%) 2 ^{ème} étape	25 ± 2	26 ± 2
Perte de masse (%) 3 ^{ème} étape	52 ± 1	50 ± 3

V.1.2.3 DSC

Les analyses thermiques par calorimétrie différentielle à balayage déterminent l'état d'organisation de molécules dans un matériau, en permettant de caractériser les ségrégations des phases, les états cristallins et amorphes. La DSC a permis de mettre en évidence l'existence d'endothermes de faible intensité. Ces multiples endothermes sont typiques du polyuréthane. Ils peuvent être dus à différents phénomènes tels que la rupture de liaisons hydrogène, la « fusion » de domaines plus ou moins ordonnés, la dégradation du polymère ... La taille et la position de ces endothermes dépendent de nombreux facteurs comme la composition du PU [145], la longueur des segments souples [146], le procédé de mise en forme (température, recuit, vitesse de refroidissement) [147-149]. Initialement, la plupart des endothermes furent attribués à des ruptures de liaisons hydrogène entre segments rigides (endotherme à haute température) ou entre segments souples et segments rigides (endotherme à basse température) [145], mais des études ultérieures ont rapidement montré qu'ils dépendaient principalement du degré d'organisation des segments rigides du polyuréthane [33, 150]. Trois endothermes caractéristiques ($T_I < 100^\circ\text{C}$, $T_{II} : 140\text{-}200^\circ\text{C}$, $T_{III} : > 200^\circ\text{C}$) ont ainsi été mis en évidence par Seymour et Cooper sur des polyéthers et polyesters uréthanes Figure V.5.

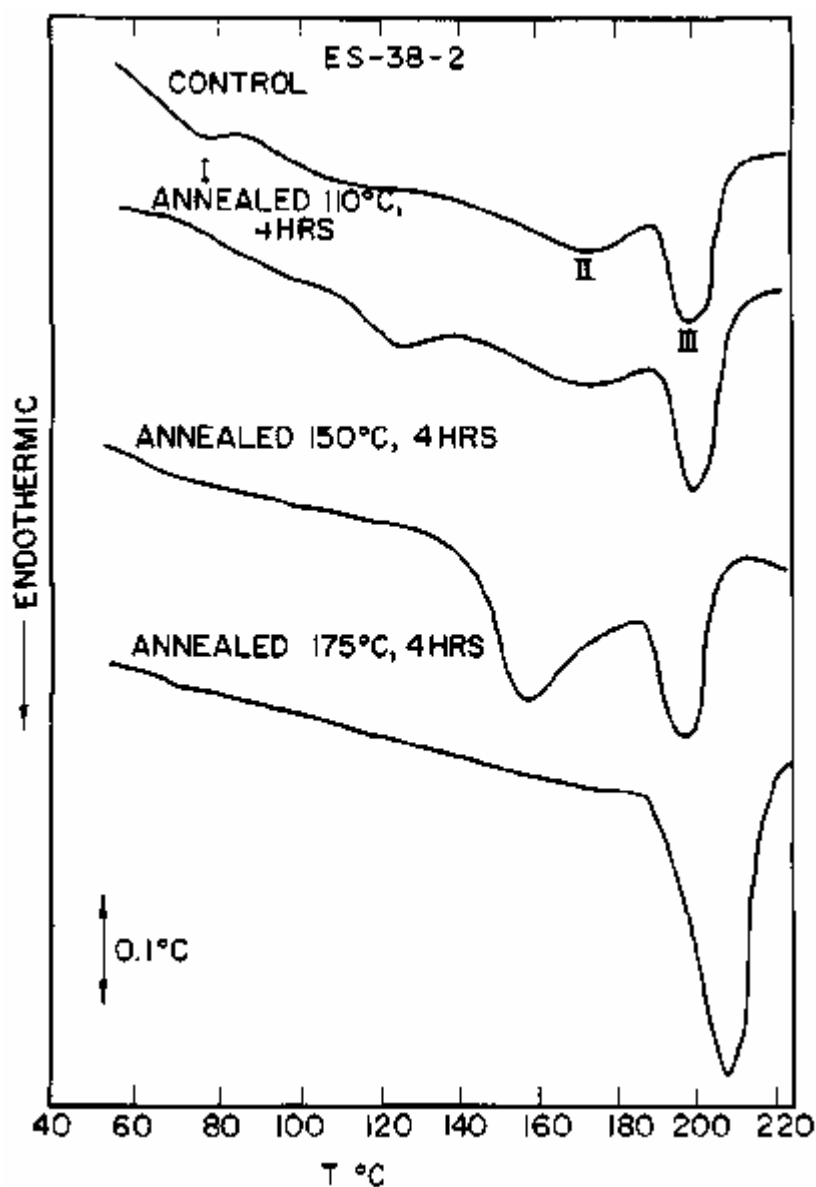


Figure V.5 : Thermogrammes de PU à base de MDI et de polyester montrant les trois domaines T_I , T_{II} , T_{III} pour un échantillon ayant subi différents traitements thermiques (recuit [« annealed »] ou non [« control »] 4h à différentes températures) [33]

Ceux apparaissant à plus basse température (T_I) correspondent ainsi aux ordres à plus courtes distances tandis que ceux apparaissant à haute température peuvent être associés à de vrais domaines cristallins (T_{III}). T_{II} est associé, soit à la destruction de domaines de segments rigides non cristallins mais ordonnés à relativement longue distance (domaines paracristallins), soit à un phénomène de mixtion entre des domaines souples et rigides du polyuréthane (Figure V.6). Cette mixtion peut en outre impliquer la destruction préalable de domaines de segments rigides ordonnés. Les phénomènes de mixtion ont été mis en évidence au moyen d'analyses SAXS et DSC par Koberstein et Leung sur des polyétheruréthanes (MDI/BD/Polyoxypropylène) [151, 152]. Saiani a montré quant à lui dans certains cas la

présence de deux endothermes proches, mais présentant des sommets de pic différents (T_M et T_{MMT}) et correspondant respectivement à la fusion d'une structure ordonnée formée par des segments rigides (T_M) puis à la mixtion de segments rigides et souples (T_{MMT}) [153, 154].

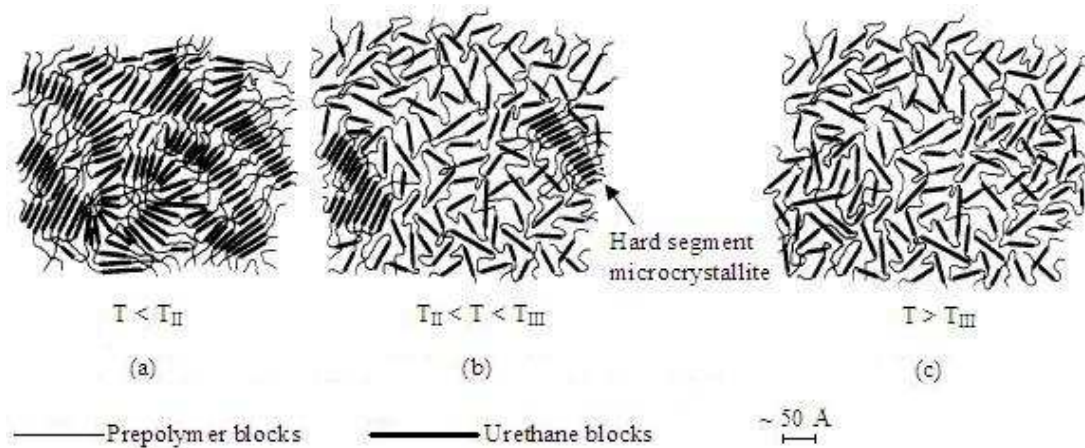


Figure V.6 : Représentation schématique de la morphologie en fonction de la température. a) en dessous de T_{II} , b) entre T_{II} et T_{III} , c) au dessus de T_{III} .

En trait noir épais les blocs uréthanes constituant les segments rigides [152]

Des analyses menées par Martin et al. sur des PU de type MDI/BDO/PTMG de différentes teneurs en PTMG, recuits 10 h à différentes températures, ont permis par ailleurs de mettre en évidence jusqu'à cinq endothermes distincts [31, 32]. Ces endothermes correspondent au passage d'états plus ou moins ordonnés à des états désordonnés des segments rigides de différentes longueurs. Le premier endotherme T_1 (50-70°C) est dû essentiellement aux unités de type MDI. Les endothermes suivants (T_2 : 100-180°C, T_3 : 190-210°C, T_4 : 211-219°C, T_5 : 222-230°C) correspondent à la fusion des domaines de segments rigides impliquant l'extenseur de chaînes BDO et les unités MDI en différentes proportions. Ces segments rigides seront ainsi dans chacun des domaines, essentiellement sous la forme suivante : $MDI_n BDO_{n-1}$ (où n est le numéro de l'endotherme). Il est à noter que T_2 peut aussi être associée à la fusion de plus longs segments mais qui se trouveraient dans un état paracristallin. Les températures T_1 et T_2 sont caractéristiques de structures où la séparation de phases entre segments souples et rigides est moins marquée.

Il est important de souligner que T_1 , qui dépend beaucoup des conditions de recuit (temps et température de recuit) [151], a été associé par Chen et al. à la présence d'une relaxation enthalpique due au vieillissement physique des zones vitreuses amorphes rigides [155, 156]. Cet endotherme se produit en effet au niveau d'une température de transition vitreuse T_g des segments rigides. Cette température de transition vitreuse a été mise en

évidence pour des PU à base de MDI et BDO par Chen au moyen d'une analyse DSC et par Koberstein au moyen d'une analyse TMA [157].

Le thermogramme du Pellethane[®] étudié est représenté sur la Figure V.7.

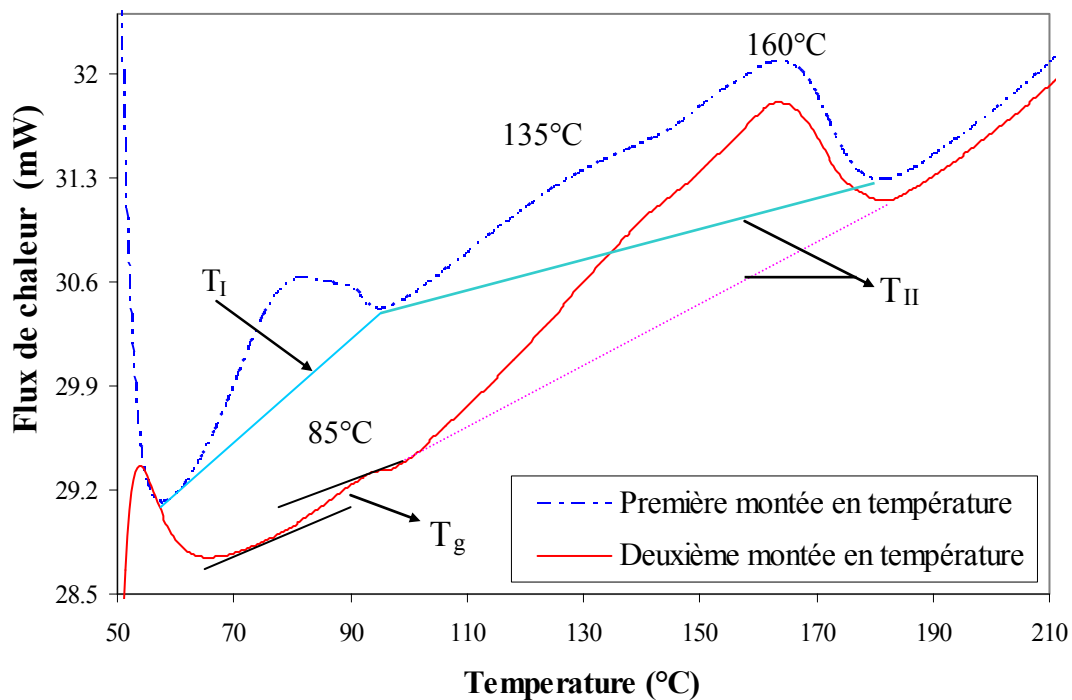


Figure V.7 : Thermogramme DSC du cathéter de Pellethane[®] ($V=20^{\circ}\text{C}/\text{min}$)

Les endothermes sont assez faibles en intensité. Nous pouvons observer un premier endotherme entre 55 et 95°C, pouvant correspondre à l'endotherme T_I , puis un large motif endothermique, constitué de plusieurs endothermes successifs entre 100 et 190°C. Les endothermes situés dans cette zone font apparaître nettement deux pics, le premier autour de 135°C, le second autour de 160°C. Nous avons essayé de séparer ces deux pics en travaillant à différentes vitesses de balayage (2, 5, 10, 20, 30°C/min) : à 2°C/min, la sensibilité est trop faible, et c'est à peine si l'on distingue les différents phénomènes endothermiques. Entre 5 et 30°C/min, l'allure des endothermes reste la même, mais une vitesse de 20°C/min permet d'avoir le meilleur compromis entre sensibilité et résolution. Après refroidissement à une vitesse identique à celle de la chauffe, nous avons enregistré le flux de chaleur correspondant à une seconde montée en température effectuée dans les mêmes conditions (Figure V.7). L'allure des endothermes qui se produisent entre 100 et 190°C est relativement identique et nous observons que le premier endotherme (T_I) disparaît mais on voit alors relativement

nettement autour de 85°C un saut de ligne de base correspondant à une variation de capacité calorifique C_p de l'échantillon et qui est caractéristique d'une transition vitreuse.

D'après ce qui est décrit dans la littérature, nous pouvons associer T_I à une relaxation enthalpique et la T_g observée à celle des segments rigides. Notons que des mesures DSC réalisées à basse température sur nos échantillons [44] avaient montré par ailleurs l'existence d'une T_g à -45°C associée aux segments souples. T_{II} peut correspondre à la destruction d'arrangements paracristallins et/ou au phénomène de fusion/mixtion observé par Saiani et Kobertstein. Il est à noter que les enthalpies associées aux endothermes sont relativement dispersées en particulier pour le premier endotherme qui disparaît après une première montée en température (Tableau V-3).

<i>Tableau V-3 : Enthalpies des endothermes du cathéter de Pellethane[®]</i>		
	Enthalpie (J/g) PU témoin (1999)	Enthalpie (J/g) PU témoin (2004)
1 ^{ère} montée pic 1 (80°C)	1,9 ± 0,6	1,1 ± 0,3
1 ^{ère} montée pic 2 (100-190°C)	8,0 ± 0,4	7,4 ± 0,2
2 ^{ème} montée pic 2 (100-190°C)	8,4 ± 0,4	7,6 ± 0,5

Les mesures ont à chaque fois été réalisées sur six échantillons témoins du PU. Nous avons travaillé sur deux types de lots Pellethane[®], un lot ancien datant de 1999 et un lot récent datant de 2004 (les manipulations ont été réalisées en 2004). Les résultats obtenus sont similaires et ne permettent pas de mettre en évidence d'effet important du vieillissement.

V.1.2.4 Analyse par TSC

Nous avons utilisé cette technique afin de caractériser les relaxations des chaînes polymères pouvant se produire en dessous de 50°C. La TSC permet de détecter des relaxations qui ne seraient pas forcément visibles en DSC. La température de polarisation utilisée est de 100°C et se trouve donc à la fois au dessus de la T_g des segments souples (-46°C) et au dessus de celle des segments rigides (85°C). Segments rigides et souples peuvent donc tous deux se réorienter sous l'effet du champ avant que la structure ne soit figée par un brusque refroidissement à -150°C.

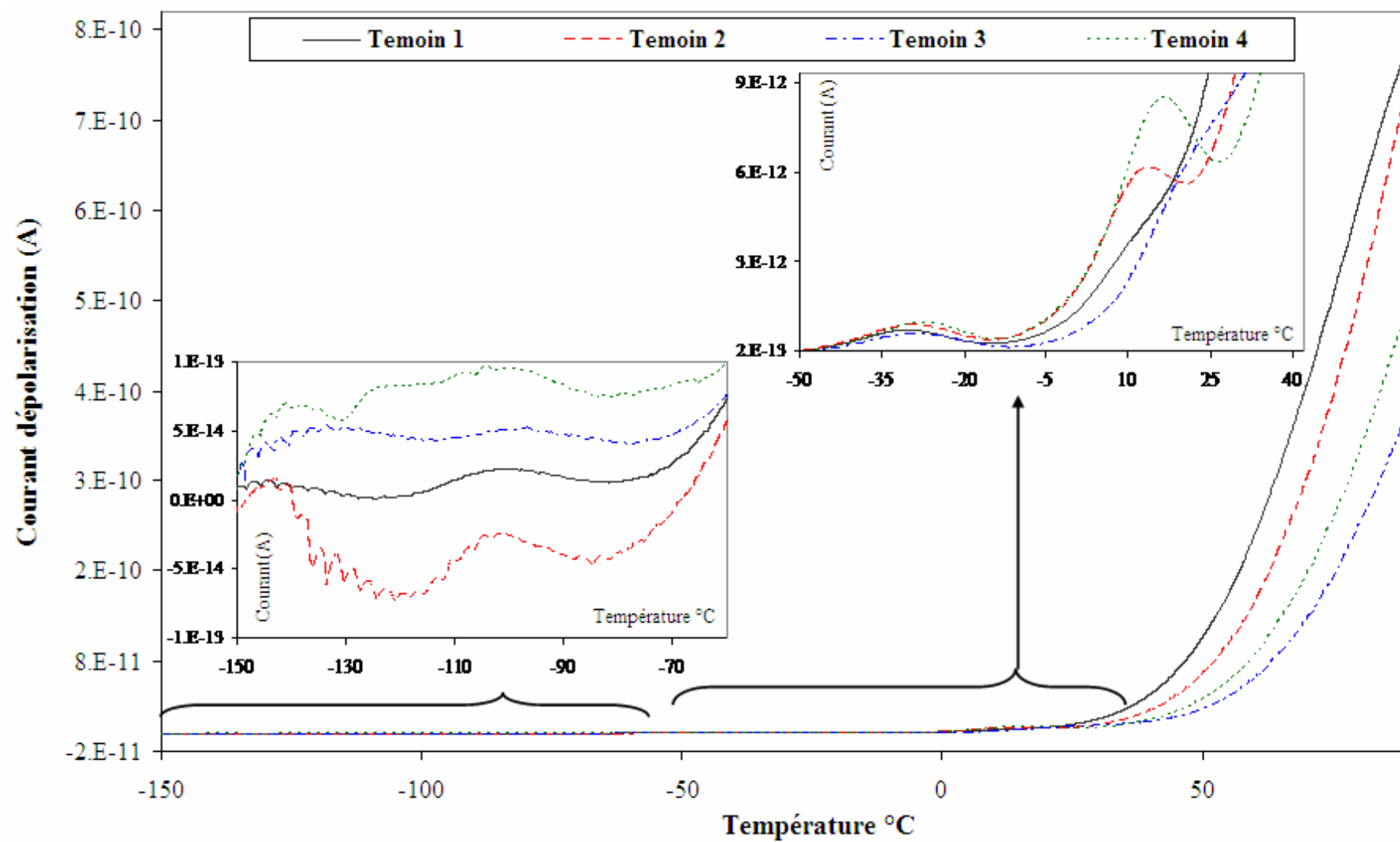


Figure V.8 : Analyse TSC pour les cathéters de PU témoins

Lors du chauffage progressif de l'échantillon, à chaque fois que des groupements initialement figés peuvent se réorienter, il se produit un courant de dépolarisation, caractéristique d'une relaxation du composé.

A basse température, on peut mettre en évidence une relaxation d'intensité relativement faible, plus ou moins marquée suivant les échantillons témoins analysés, qui présente un pic de courant autour de -100°C . Ensuite on observe sur tous nos échantillons une relaxation un peu plus marquée qui débute autour de -45°C (sommet du pic de courant autour de -29°C) et qui est à corrélérer à la température de transition vitreuse des segments souples (-46°C en DSC). Ces deux pics peuvent être associés à des mouvements locaux non coopératifs (relaxations γ et β) [158].

Enfin, sur la majorité des échantillons une troisième relaxation, plus ou moins marquée et dont le sommet de pic se situe autour de 15°C , est observée (Figure V.8). La forte augmentation du courant de dépolarisation au dessus de 50°C est certainement due au démarrage d'un pic associé à une relaxation α et au domaine de transition vitreuse des segments rigides [158].

V.1.3 Distribution des masses molaires

La CES est particulièrement adaptée à la détermination de l'hétérogénéité structurale comme la distribution en masse molaire ou le degré de branchement des polymères.

Le chromatogramme d'exclusion stérique pour le Pellethane[®] est donné dans la Figure V.9. On obtient une unique distribution correspondant à l'échantillon avec un pic centré autour de 17 minutes, le pic élué autour de 28 minutes correspond au toluène ajouté à l'échantillon injecté pour corriger les variations de débit qui peuvent se produire entre les différentes injections.

Les essais ont été réalisés sur trois échantillons. Les masses molaires moyennes et l'indice de polymolécularité du Pellethane[®] ont été calculés après établissement d'une courbe de calibration avec des standards de polystyrène et sont données en équivalent polystyrène dans le Tableau V-4.

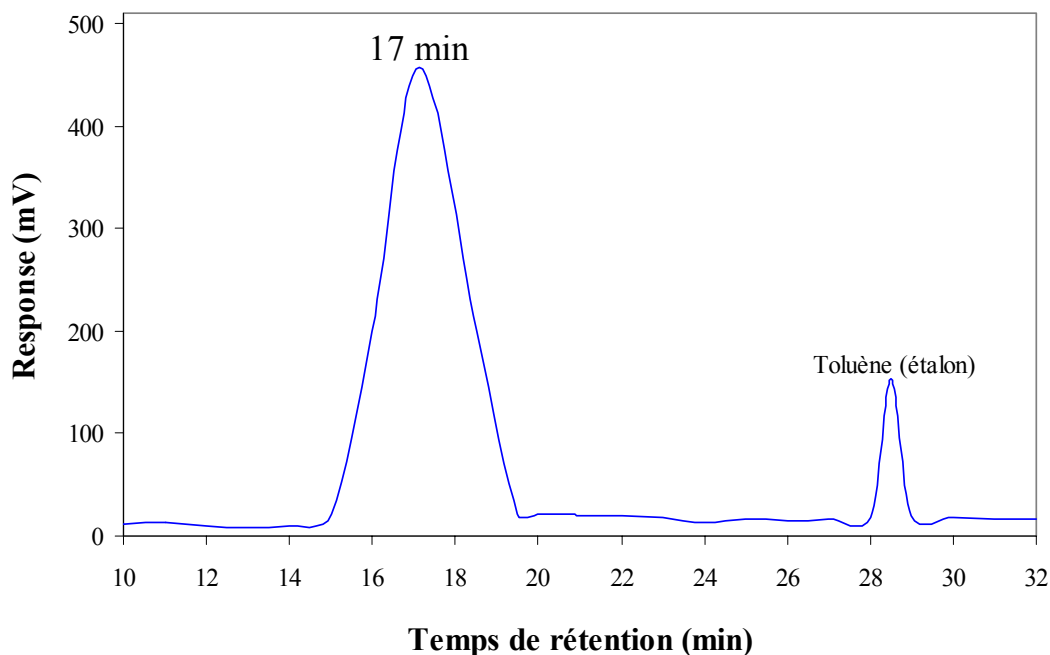


Figure V.9 : Chromatogramme CES du cathéter de Pellethane®

Tableau V-4 : Masses molaires moyennes en nombre et en masse et indice de polymolécularité du cathéter de Pellethane®		
M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	I_p
$74\,000 \pm 2000$	$143\,000 \pm 3000$	$1,92 \pm 0,1$

V.2 Caractérisation des additifs contenus dans les cathéters

V.2.1 Antioxydants phénoliques

Nous avons extrait les additifs par une méthode de dissolution précipitation. Les résidus secs, repris par 2 mL du mélange de solvants (1mL THF + 1mL acétonitrile) ont ensuite été analysés en chromatographie liquide au moyen d'un détecteur UV à 280 nm (fréquence donnant une forte absorption pour des composés aromatiques et notamment les antioxydants phénoliques). Le chromatogramme obtenu à partir du PU témoin et d'une phase mobile constituée d'acétonitrile pure (Figure V.10) montre la présence de nombreux pics répartis régulièrement entre 0 et 25 min.

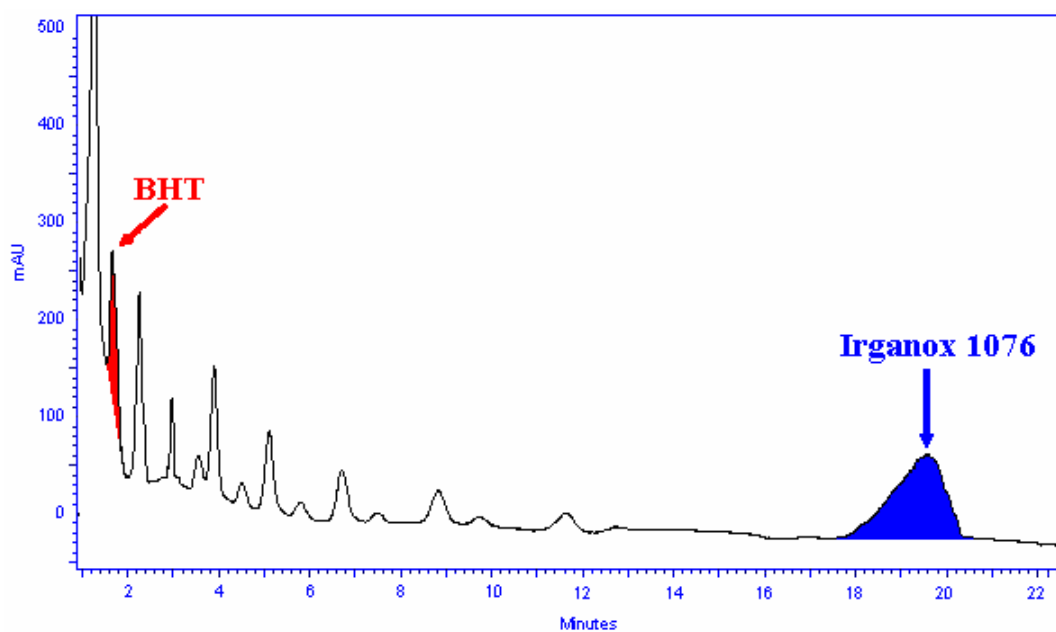


Figure V.10 : Chromatogramme d'une solution d'extraction de PU témoin. (Phase acétonitrile pure)

Tableau V-5 : Formules chimique des BHT et Irganox 1076 [®]	
BHT Butyl Hydroxy Toluene $C_{15}H_{24}O$	
Irganox 1076[®] $C_{35}H_{62}O_3$	

Des solutions des différents antioxydants autorisés au niveau réglementaire dans les applications médicales, ont été préparées et analysées dans les mêmes conditions expérimentales : il a ainsi été possible d'attribuer deux de ces pics (grisés sur la Figure V.10) à la présence de deux antioxydants phénoliques, à savoir le BHT (Butyl Hydroxy Toluene) et l'Irganox 1076® (Tableau V-5).

Les autres pics peuvent résulter de produits de dégradations des additifs et surtout de la présence de différents oligomères de Pellethane® (lui aussi aromatique) dans les solutions d'extraction. Ceci a été confirmé par la réalisation de la même analyse avec une détection à 250 nm, qui correspond cette fois-ci à un maximum d'absorption pour le polyuréthane étudié : ces pics voient alors leur intensité fortement augmenter. Notons qu'il existe un pic particulièrement gênant au niveau de celui de l'Irganox 1076®, qui est responsable de l'allure dissymétrique du pic associé à l'Irganox 1076® sur le chromatogramme de la Figure V.10. Afin d'effectuer notre quantification sans être gêné par la présence de ces pics d'oligomères, nous avons travaillé avec le gradient (Figure V.11) décrit dans la partie expérimentale (cf IV.5.3.1 ; p.94).

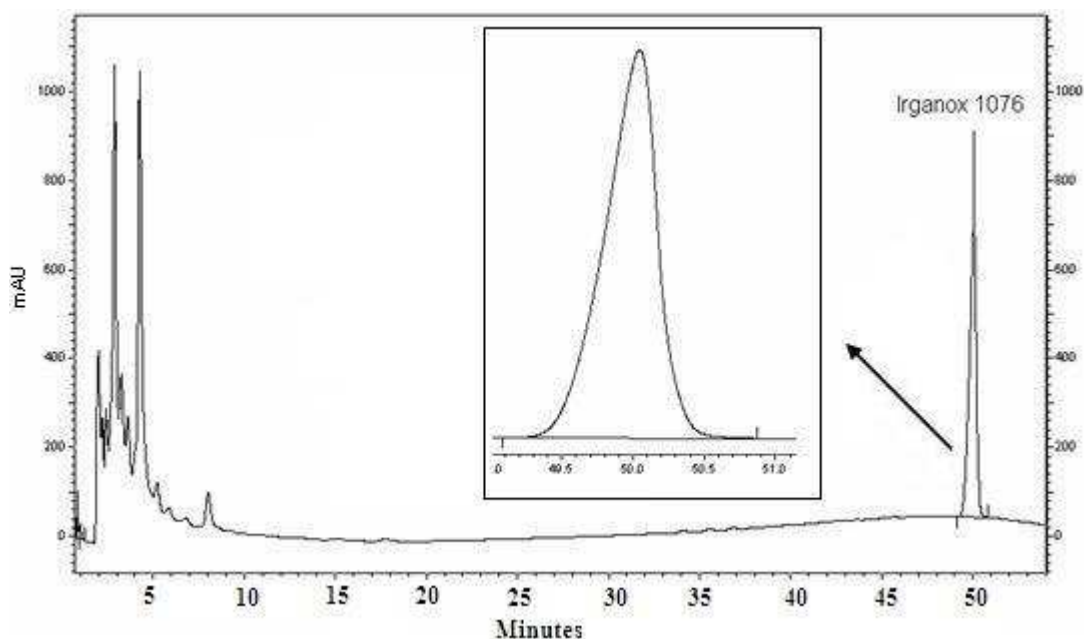


Figure V.11 : Chromatogramme d'une solution d'extraction de PU témoin. (Phase gradient)

Après identification, des gammes d'étalonnage ont été réalisées afin de déterminer la teneur en antioxydants dans le matériau. Nous donnons dans le Tableau V-6 les teneurs en BHT et en Irganox 1076® pour les lots de Pellethane® fabriqués en 1999 et en 2004 (l'analyse a été réalisée en 2004). En raison de la structure du BHT et de sa faible teneur, il

est possible que sa présence résulte de la dégradation d'une partie de l'Irganox 1076[®] ajouté au polymère. Le BHT peut également être un résidu de synthèse de l'Irganox 1076[®]. En effet si l'on compare les structures de ces deux additifs, on constate que le BHT correspond au groupement phénolique que l'on trouve dans l'Irganox 1076[®].

Ces essais ont été réalisés sur trois échantillons et avec trois injections pour chaque échantillon. Nous pouvons assurer que les quantités des additifs sont supérieures pour le lot de PU fabriqué en 2004, ce qui est logique puisque que le plus ancien a pu être davantage sujet à des dégradations oxydatives. L'antioxydant ajouté au polymère afin de prévenir l'oxydation des chaînes a ainsi été plus consommé pour le lot de 1999.

<i>Tableau V-6 : Concentrations d'additifs dans les PU témoins</i>		
	PU témoin (1999)	PU témoin (2004)
BHT (ppm)	61 ± 4	78 ± 4
Irganox 1076 [®] (ppm)	2060 ± 90	2280 ± 110

V.2.2 Lubrifiant

Le bis éthylène stéaramide (BES) est un lubrifiant qui est utilisé dans la fabrication des tubes de Pellethane[®] (Figure V.12). Nous n'avons pas entrepris de mettre au point une méthode HPLC pour identifier et quantifier sa teneur dans le matériau. Sa présence nous a été révélée par l'analyse des spectres ATR-FTIR après incubation du matériau dans un solvant ayant un fort pouvoir extractible comme le méthanol.

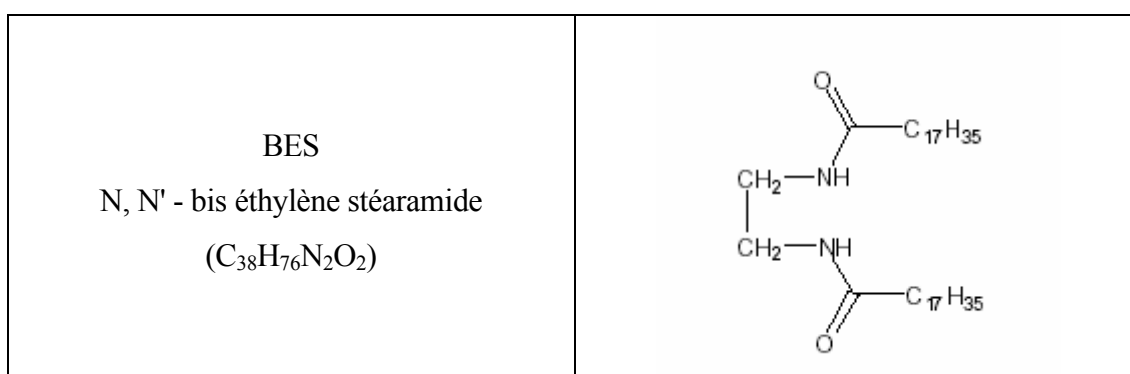


Figure V.12 : Formule chimique du BES

Les spectres IR pour le BES, le PU initial et le PU incubé 10 jours dans le méthanol sont représentés dans la Figure V.13. Nous pouvons observer après incubation la croissance

de bandes à 3296 (ν N-H), 2915, 2848 (ν C-H) et 1634 (ν C=O) cm^{-1} qui correspondent à des bandes du lubrifiant. Ceci indique que le BES est présent dans le matériau et qu'il tend à migrer vers la surface pour être extrait par le solvant.

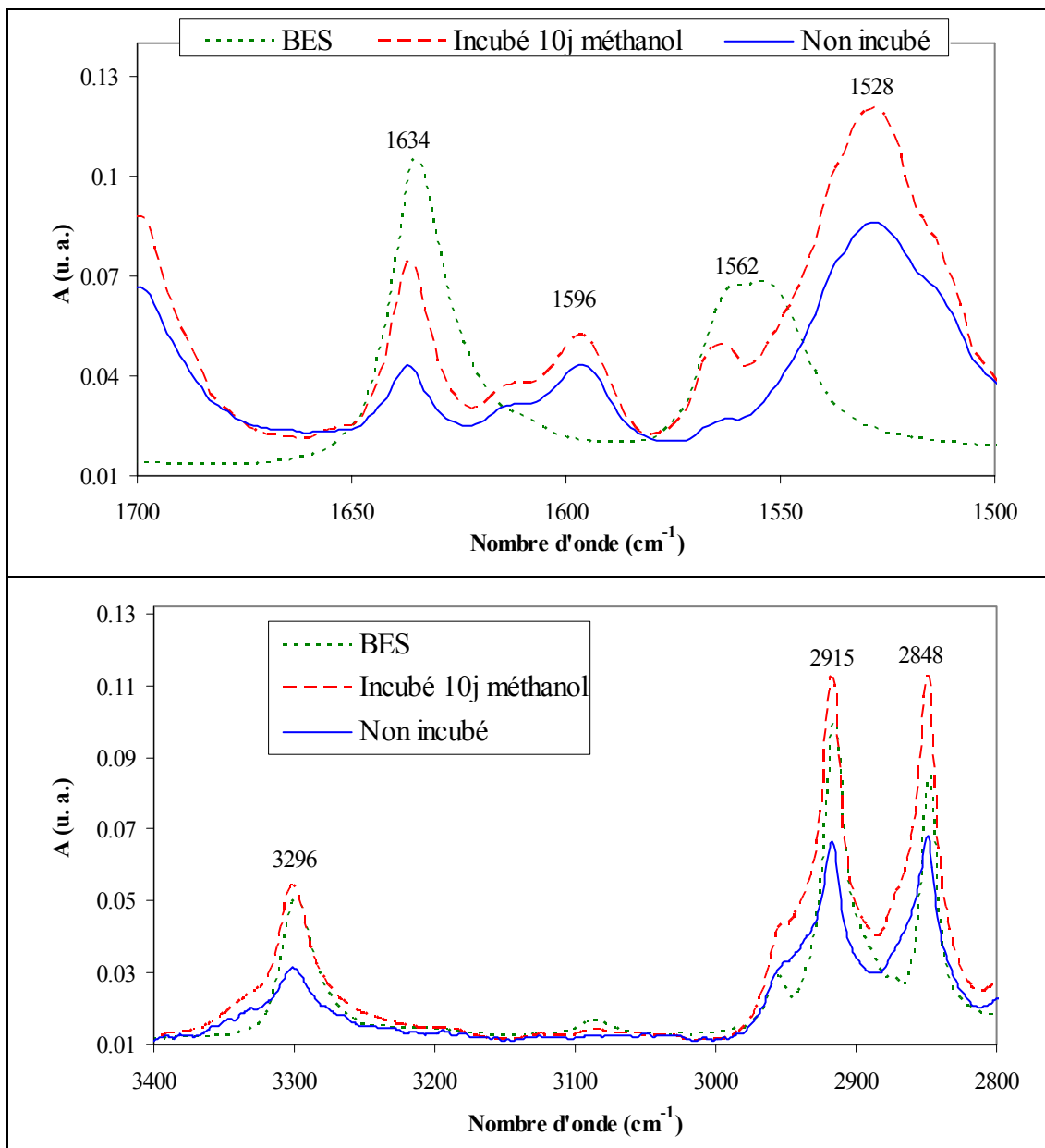


Figure V.13 : Spectre IR (ATR) du BES et des PU incubés et non incubés

Afin d'estimer la teneur en lubrifiant, nous avons décidé de développer et de mettre au point la méthode suivante :

- extraction du lubrifiant par chauffage à reflux de cathéters de Pellethane[®] dans de l'éthanol, en utilisant 10 g de polymère dans 250 mL d'éthanol ;

- récupération de la solution d'extraction puis du résidu sec par évaporation ; la solution d'extraction et la solution de rinçage des morceaux de PU à l'éthanol a été récupéré et évaporée partiellement à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis le liquide résiduel a été évaporé dans un cristalliseur préalablement pesé ;
- purification du résidu sec par solubilisation des oligomères de PU par ajout de THF ;
- récupération de la partie insoluble par centrifugation (10 min, 4000 tr/min) et de la partie soluble après évaporation du surnageant.

Le BES a été caractérisé par spectroscopie infrarouge et par DSC. En DSC, lors du premier chauffage, deux pics de fusion sont observés à 107 et 144°C (Figure V.14). Lors du deuxième chauffage, on obtient par contre un pic de fusion unique dont le début de la fusion est proche de 142°C.

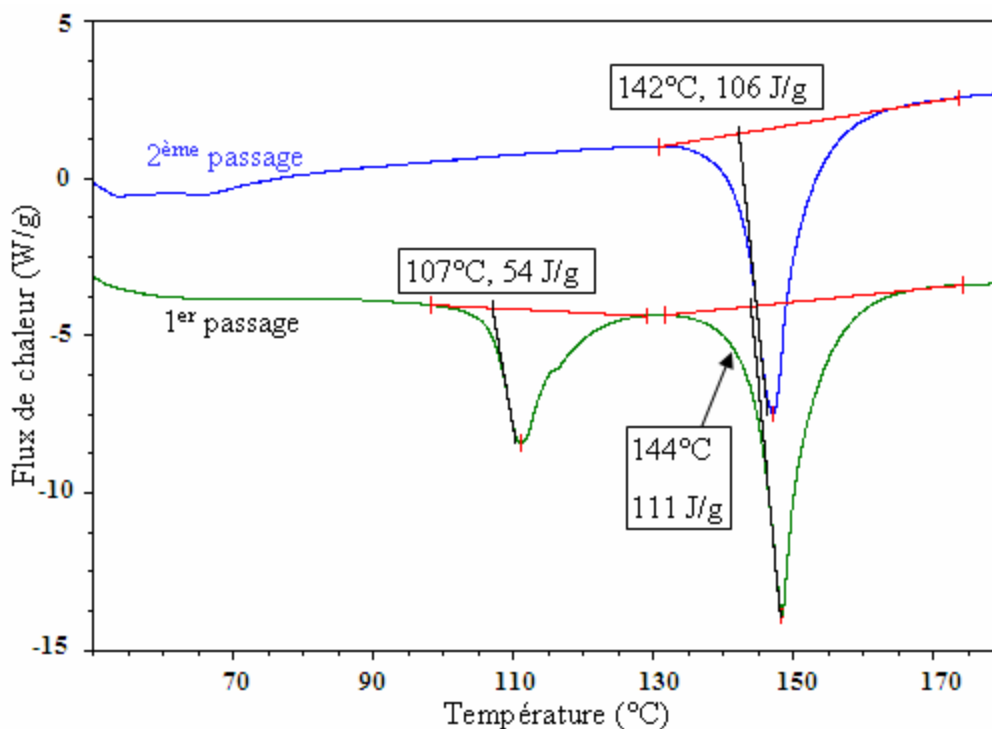


Figure V.14 : Thermogramme du BES – Première et deuxième montée en température

Afin de déterminer le temps d'extraction suffisant pour extraire le lubrifiant de la matrice polymère nous avons effectué un suivi en FTIR-ATR des bandes de lubrifiant dans le polymère. Au cours du temps, on voit en effet ces bandes croître au fur et à mesure que le lubrifiant migre vers la surface et est extrait par l'éthanol ; puis l'intensité des bandes diminue avec la disparition de l'additif du cœur et de la surface du matériau. Quand ces bandes ne sont plus visibles, nous avons considéré que la quasi-totalité du lubrifiant était

extrait de la matrice polymère. Cette étude nous a fait choisir un temps d'extraction de 48 heures.

L'analyse ATR du résidu sec obtenu après extraction montre la présence conjointe d'oligomères de PU et de BES (Figure V.15) ; la présence d'oligomères est notamment mise en évidence par les bandes caractéristiques des vibrations d'élongation $\nu(\text{C-O-C})$ des éthers et des uréthanes autour de 1100 cm^{-1} et $\nu(\text{C=O})$ des uréthanes à 1700 et 1730 cm^{-1} .

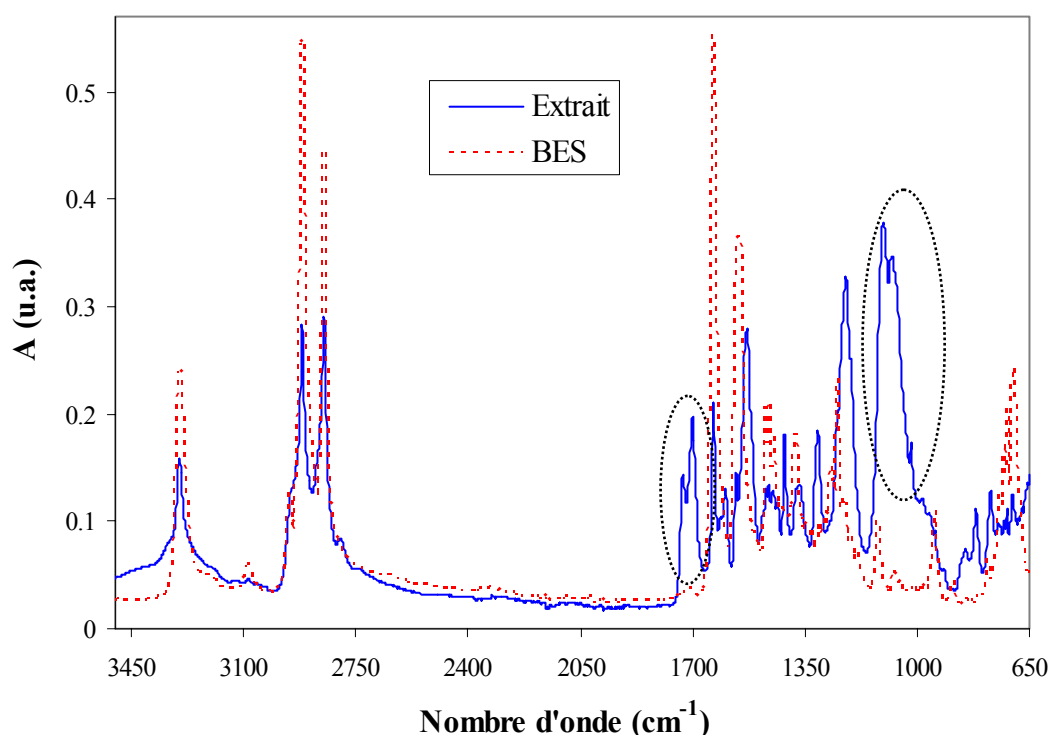


Figure V.15 : Spectres FTIR-ATR du BES et de l'extrait obtenu après chauffage à reflux dans l'éthanol. Encerclés, les motifs correspondants aux vibrations d'élongation $\nu(\text{C=O})$ et $\nu(\text{C-O-C})$ du polyuréthane

En DSC, on observe au premier passage un thermogramme analogue à celui du BES (deux pics de fusion à 107 et 137°C), mais le deuxième passage présente un thermogramme différent : au lieu d'un pic fin de fusion à 142°C , deux pics sont observés : l'un à 64°C , et un second majoritaire très large dont le sommet se situe à 139°C : ceci est révélateur de la présence d'impuretés dans le BES (Figure V.16).

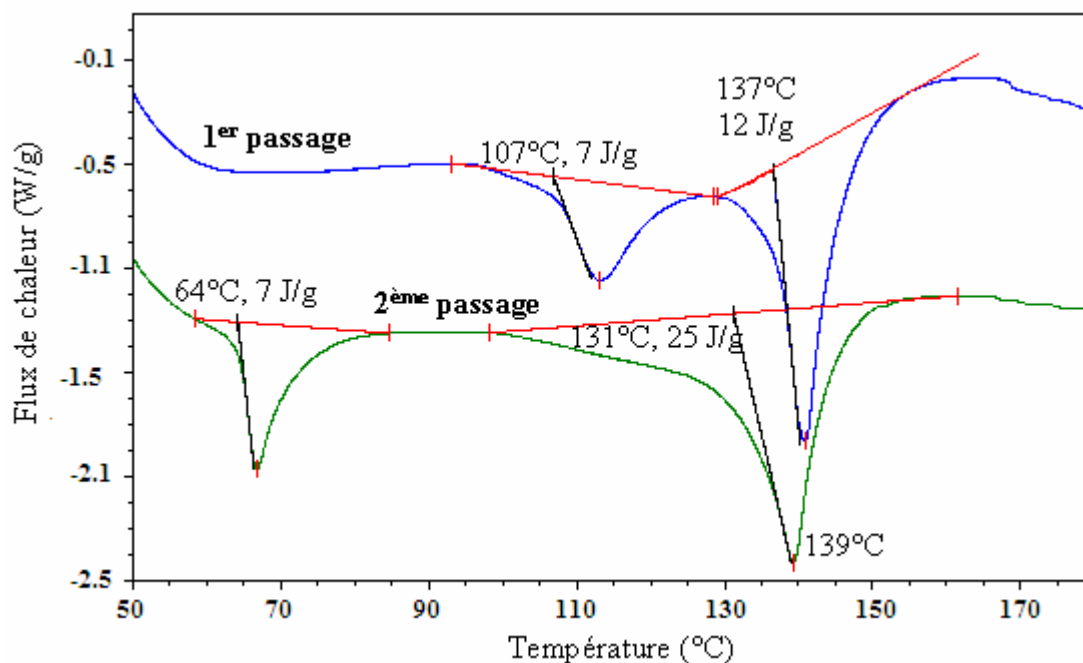


Figure V.16 : Thermogramme de l'extrait sec.

Première et deuxième montées en température

Il s'est donc avéré nécessaire de purifier le produit en solubilisant les oligomères de PU extraits, par ajout de THF au résidu sec. Le surnageant a été séparé du résidu insoluble par centrifugation. L'analyse du résidu insoluble montre un spectre FTIR quasi identique au BES (Figure V.17). Quelques variations nous indiquent cependant encore la présence d'impuretés (zones cerclées sur le spectre IR de la Figure V.17). La présence d'impuretés est confirmée par le thermogramme du résidu sec. On observe encore au deuxième passage la présence de deux pics de fusion pour le BES au lieu d'un pic unique. Ce premier pic est certainement dû à une cristallisation du BES, mais en présence d'impureté. Le second pic, dont la fusion commence à 140°C et qui correspond au pic de fusion pour du BES pur, est par contre beaucoup plus fin qu'avant purification (Figure V.18) et est beaucoup plus intense que celui de l'extrait sec non purifié.

L'analyse de la fraction soluble dans le THF après évaporation de ce dernier montre que cette fraction est quasi exclusivement constituée d'oligomères de PU (Figure V.19). Cependant on observe encore la présence de traces de BES (bande apparente à 1640 cm^{-1} notamment).

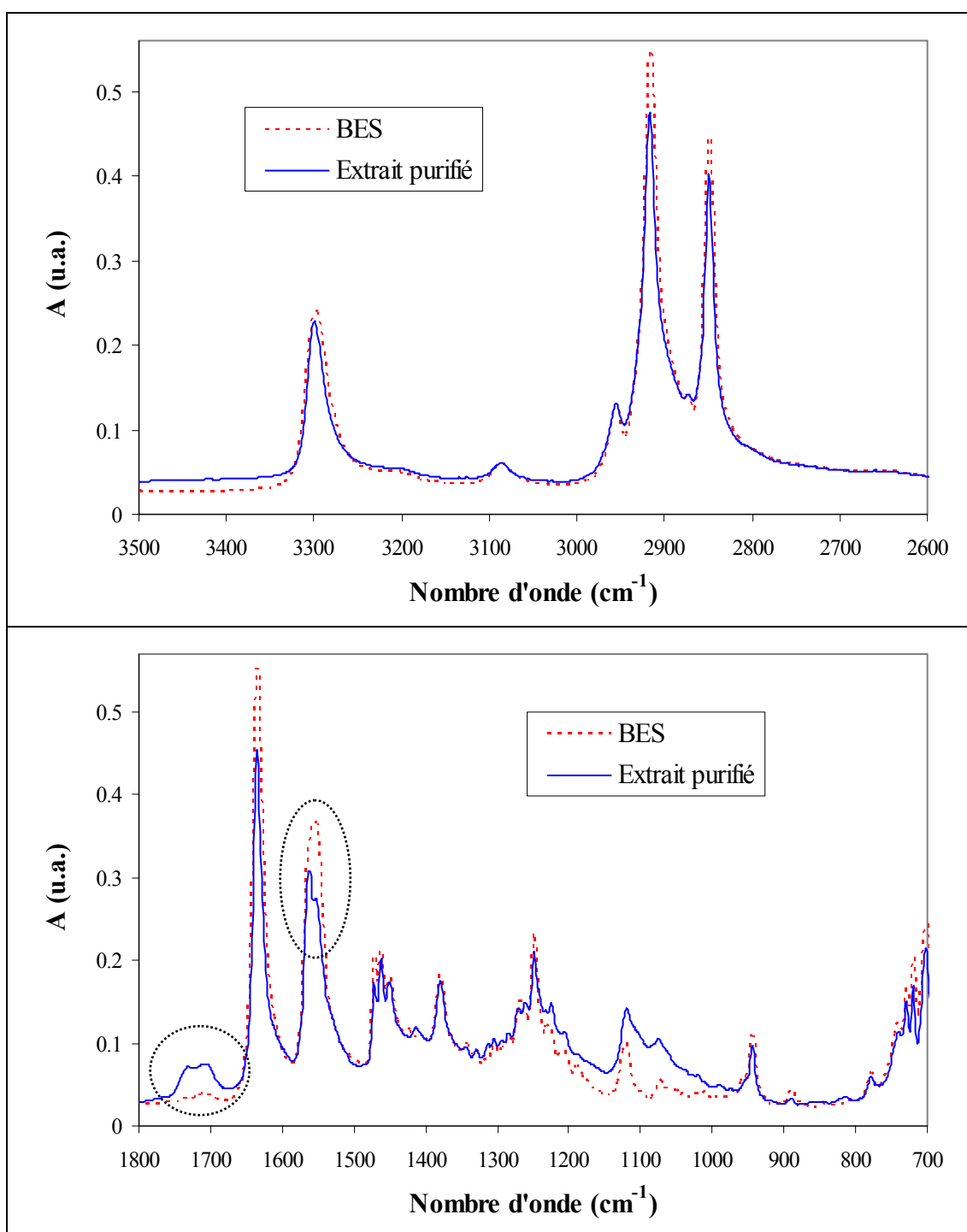


Figure V.17 : Spectres FTIR-ATR du BES et de l'extrait purifié. Encerclés, les motifs correspondants à d'éventuelles impuretés

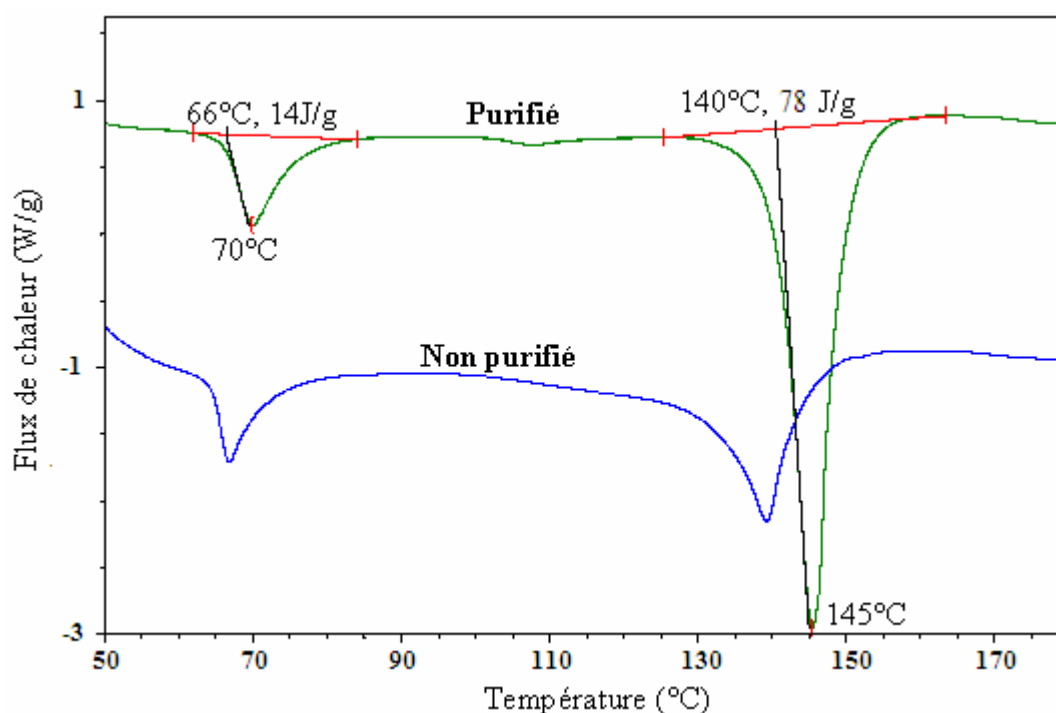


Figure V.18 : Thermogrammes de l'extrait sec purifié et non purifié lors de la deuxième montée en température

Nous avons calculé la teneur en BES en utilisant la masse du résidu sec après purification (Tableau V-7). D'après ce qui précède, la teneur trouvée ne nous donnera qu'un ordre de grandeur. Il conviendrait d'optimiser la méthode d'extraction et de purification pour avoir des résultats plus quantitatifs. La teneur du BES dans le polymère est de l'ordre de 0.25 %.

Tableau V-7 : Teneur en BES dans le PU		
	Extraction 1	Extraction 2
m polymère	10 g	10 g
m résidu sec non purifié	324 mg	223 mg
m résidu sec purifié	28mg	18 mg
Teneur en BES dans le PU	0,28 %	0,18 %

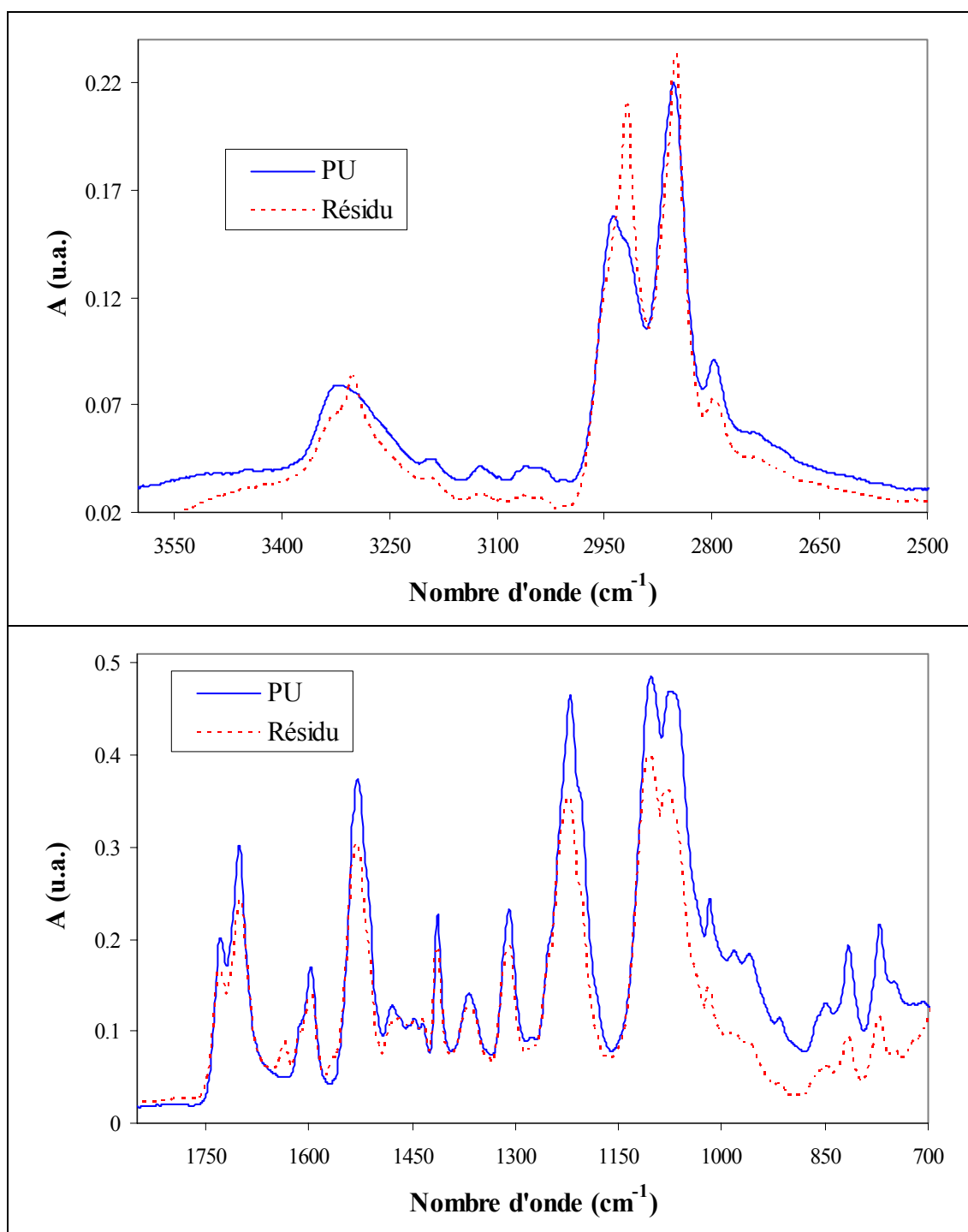


Figure V.19 : Spectres FTIR- ATR du PU et du résidu solubilisé dans le THF

V.3 Caractérisation de la surface des cathéters

V.3.1 Mouillabilité

La mouillabilité décrit le comportement des liquides sur des corps solides. Les études de mouillabilité sont importantes, car elles permettent de mesurer des variations de l'état de surface et notamment des énergies de surface après traitement.

Dans le cadre de cette étude, nous avons tout d'abord choisi trois liquides qui ont des coefficients de tension superficielle différents et qui ne réagissent pas avec le tube du PU, que ce soit chimiquement (dégradation) ou physiquement (gonflement, dissolution).

Les trois liquides retenus sont : l'eau, le diiodométhane et l'éthylène glycol. Leurs valeurs de coefficients de tension superficielle (σ_L) sont reportées dans le Tableau V-8.

<i>Tableau V-8 : Tension de surface pour les trois liquides choisis [159] à 20°C</i>			
Liquide	Coefficient de tension de surface (mN/m)		
	dispersive σ_L^d	polaire σ_L^p	Somme σ_L
Eau	21,8	51,0	72,8
Diiodométhane	50,8	0,0	50,8
Ethylène glycol	30,9	16,8	47,7

Ces liquides ont été employés pour la mesure de l'angle de contact (noté Θ) sur les tubes du PU. L'eau est un liquide de caractère majoritairement polaire (σ_L^p élevé) et le diiodométhane est un liquide apolaire ($\sigma_L^p=0$) tandis que l'éthylène glycol est plutôt considéré comme un liquide mixte (Tableau V-8). Les résultats des mesures des angles de contact des liquides sur le tube du PU témoin ont été reportés dans le Tableau V-9. Ils résultent d'une moyenne effectuée sur 10 mesures. D'après ces mesures, la surface du cathéter apparaît plutôt comme hydrophobe.

<i>Tableau V-9 : Angles de contact des liquides avec les cathéters de Pellethane®</i>			
	Eau	Diiodométhane	Ethylène glycol
Θ (°)	96 ± 4	60 ± 4	81 ± 4

La mouillabilité est décrite quantitativement avec l'indication de l'angle de contact d'une goutte de liquide (L) déposée à la surface d'un matériau solide (S) (cf. Figure IV.18 ; p.104). Cet angle (Θ) dépend seulement des énergies de surface du liquide (σ_L) et du corps

solide (σ_s). L'équation de Young (Equation V-1) est valable. Avec, σ_{SL} , l'énergie de la zone frontalière entre le liquide et le solide et σ_c , la tension de surface critique [160].

$$\cos\Theta = (\sigma_s - \sigma_{SL}) / \sigma_L = \sigma_c / \sigma_L \quad \text{Equation V-1}$$

Trois cas généraux apparaissent pour l'angle de contact Θ :

- $\Theta = 0^\circ$: le liquide s'étale à la surface de solide ($\sigma_c = \sigma_L$) ;
- $0^\circ < \Theta < 90^\circ$: le liquide s'étale plus ou moins à la surface du solide ;
- $\Theta > 90^\circ$: le liquide perle à la surface de solide ($\sigma_s < \sigma_{SL}$).

L'énergie de surface du solide (σ_s) se divise en une composante polaire (σ_s^p) et une composante apolaire (dispersive) σ_s^d (Equation V-2). De même, l'énergie de surface du liquide (σ_L) est égale à la somme d'une contribution d'énergie polaire σ_L^p et d'une contribution d'énergie dispersive σ_L^d (Equation V-3).

$$\sigma_s = \sigma_s^d + \sigma_s^p \quad \text{Equation V-2}$$

$$\sigma_L = \sigma_L^d + \sigma_L^p \quad \text{Equation V-3}$$

La fraction polaire pour une surface solide (σ_s^p / σ_s %) est le rapport de la composante polaire (σ_s^p) sur l'énergie de surface totale (σ_s) exprimé en pourcentage.

En utilisant les valeurs obtenues dans le Tableau V-9 et après application de la relation de Young et de la modélisation d'Owens (Annexe 2), nous avons calculé cette énergie (Tableau V-10).

Nous constatons que la composante dispersive de l'énergie de surface du tube témoin est prédominante.

Tableau V-10 : Energie de surface du PU témoin			
composante polaire σ_s^p (mJ/m ²)	composante dispersive σ_s^d (mJ/m ²)	énergie de surface σ_s (mJ/m ²)	fraction polaire σ_s^p / σ_s %
1,2 ± 1	24,2 ± 1,5	25,4 ± 2,0	4,6 ± 1,6

V.3.2 Aspect de la surface

Nous avons réalisé des images sur la surface externe (Figure V.20) en microscopie optique (a) et électronique à balayage (b, c et d). Ces images montrent la présence d'amas en surface, qui peuvent prendre l'aspect de globules (diamètre de 50-500 nm) ou d'aiguilles (longueur de 1-10 microns). Il faut noter que nous avons pu observer une certaine hétérogénéité de surface : la répartition des aiguilles par rapport aux globules est inhomogène et la concentration est variable d'un échantillon à l'autre. Ces amas peuvent provenir de l'exsudation d'additifs en surface du cathéter au cours du temps. Comme ces manipulations ont été réalisées en mai 2006 sur un lot datant de 2004, nous avons réalisé des essais en parallèle sur un lot de cathéters mis en forme en 2006 afin de voir l'effet du vieillissement du matériau sur cet état de surface. Nous avons observé en microscopie optique que les deux lots présentent des amas en surface. Cependant il semblerait que ces amas soient davantage sous forme d'aiguilles pour le lot le plus ancien (Figure V.20.a).

On peut noter qu'en microscopie optique la surface des deux lots semble très différente avec un aspect très lisse pour le lot de 2006. Ceci est dû à l'état de surface du cathéter qui est différent entre les lots avec ou sans ligne ORX. Le lot de 2004 est plus granuleux alors que ceux de 2006 et 1999 sont beaucoup plus lisses. Cette observation peut se faire visuellement ainsi qu'au toucher des tubes. Cette différence provient d'une différence au niveau du procédé d'extrusion.

Sur les clichés MEB correspondants au lot de 2004, la concentration en aiguilles est très grande et très peu d'amas globulaires sont observés (clichés 1 à 5 de la Figure V.20.c). Les aiguilles les plus grosses semblent posées à la surface. Selon les endroits, on peut observer des amas allongés qui semblent correspondre à l'association d'aiguilles. Le grandissement de telles structures met en évidence l'aspect ordonné et cristallin de ces structures (clichés 3 et 4 de la Figure V.20.d). Alors que la majorité des aiguilles semblent posées en surface, certaines semblent émerger de la matrice, voire se situer juste en-dessous de la surface (cliché 8 de la Figure V.20.d).

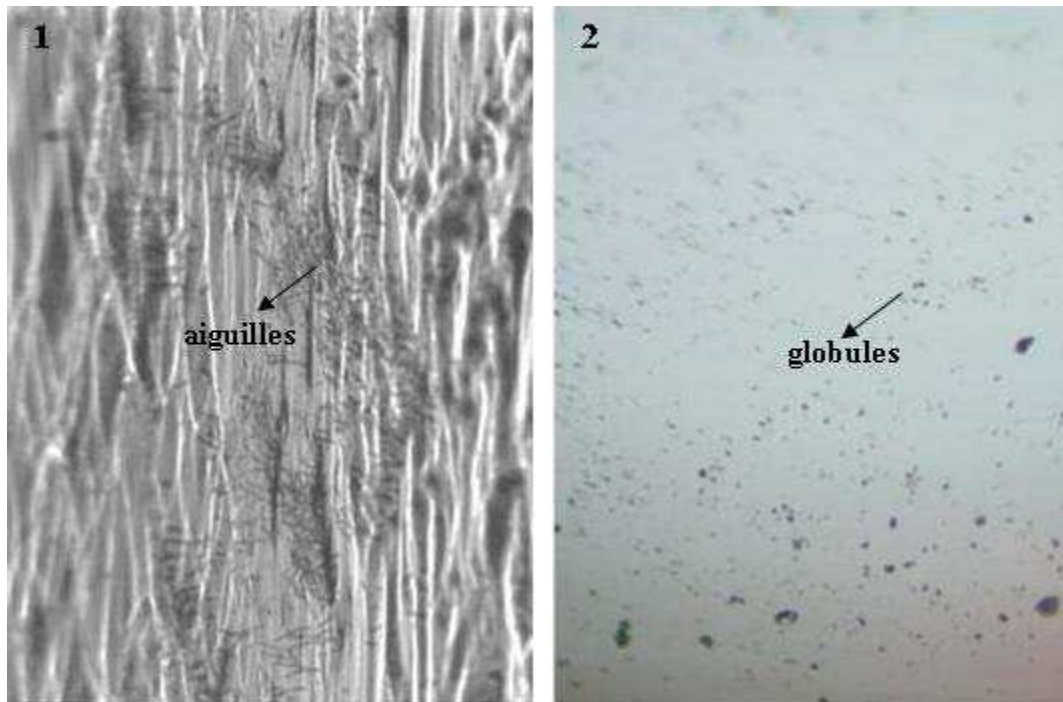


Figure V.20.a : Microscopie optique de la surface de cathéters de Pellethane[®] témoins. (grandissement x10) 1) lot de 2004 2) lot de 2006

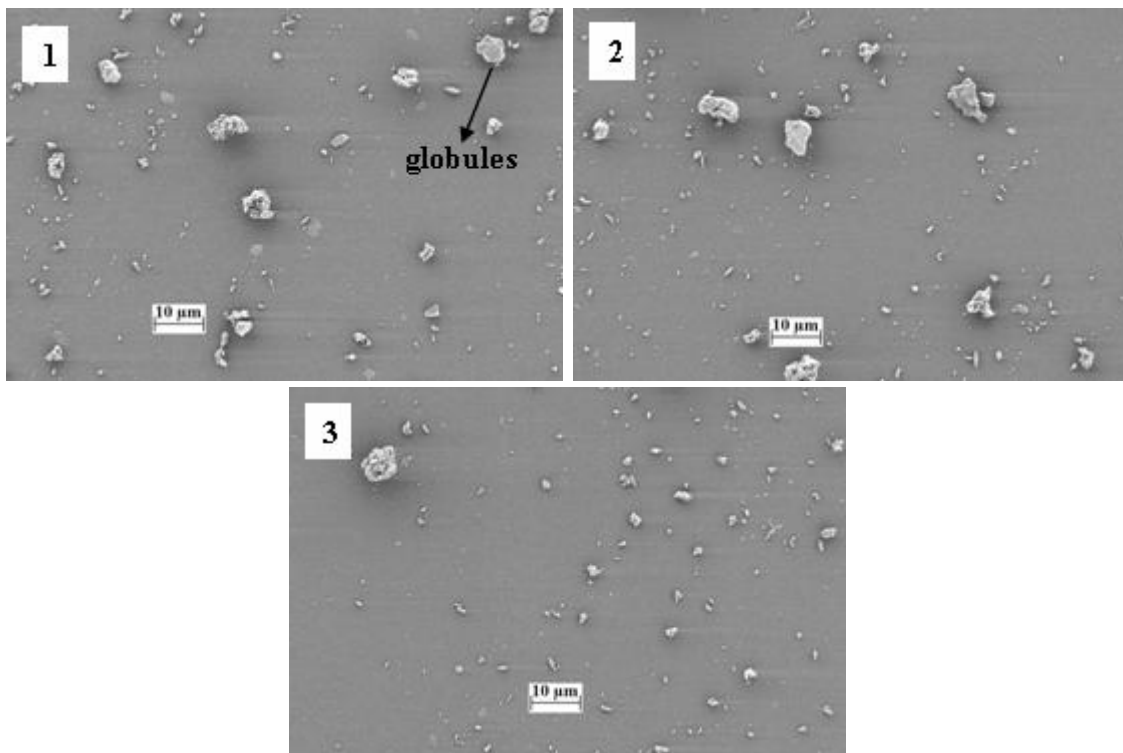


Figure V.20.b: Images MEB de la surface de cathéters de Pellethane[®] témoins. Lot de 2006 – grandissement x 1000

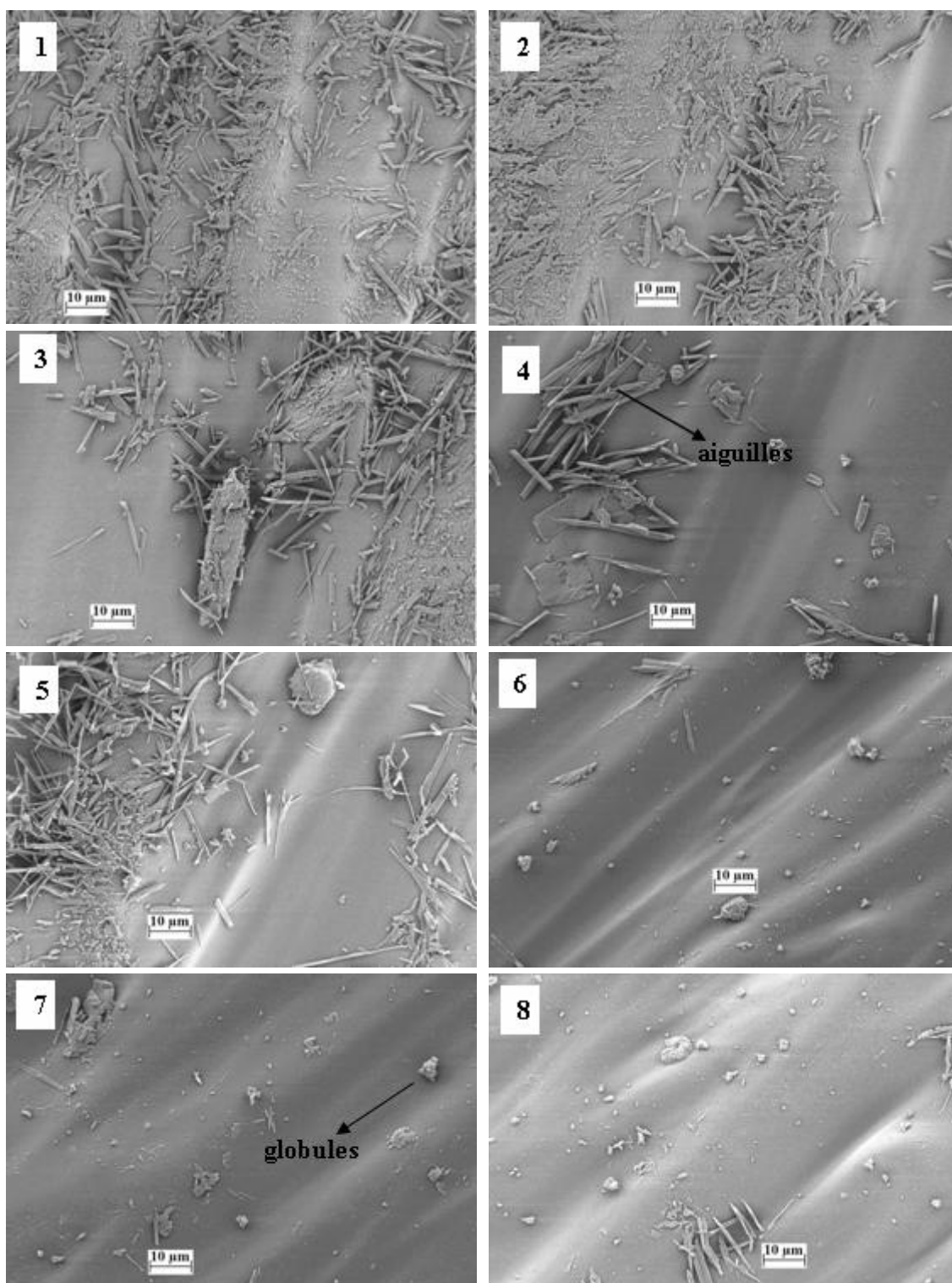


Figure V.20.c : Images MEB de la surface de cathéters de Pellethane[®] témoins. Lot de 2004 – grandissement x 1000

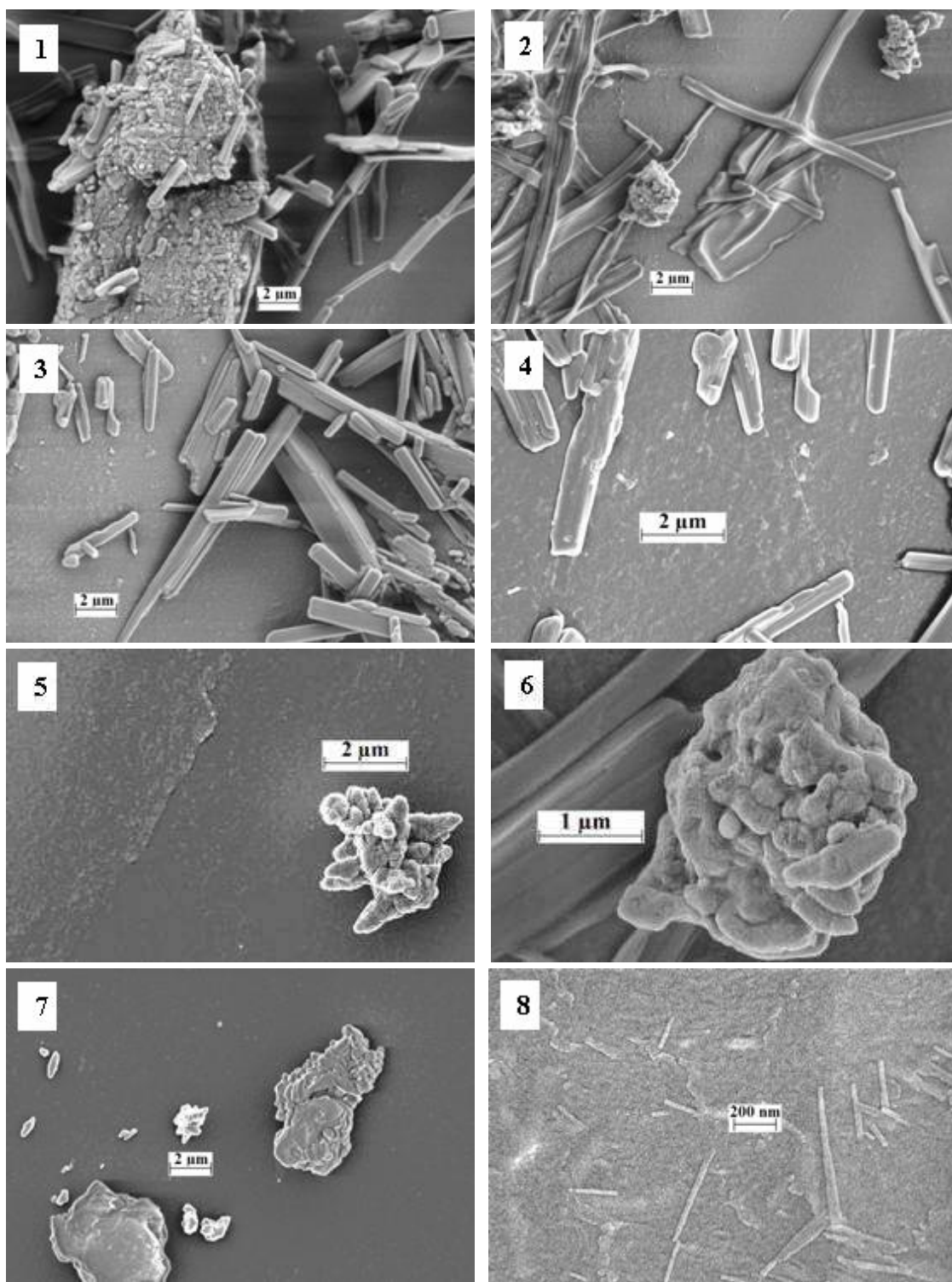


Figure V.20.d : Cliché 1 et 2 : Amas globulaires et aiguilles lot de 2004 - grandissement x 5000 ; clichés 3 et 4 : aiguilles lot de 2004 – grandissement x 5000 (3) et x 10 000 (4) ; clichés 5 et 6 : globules lot de 2004 – grandissement x 10 000 (5) et x 25 000 (6); cliché 7 : globules lot de 2006 – grandissement x 5000 ; cliché 8 : aspect de la surface du matériau sur une zone sans amas de surface – lot de 2004 – grandissement x 50 000

D'autres amas plus globulaires sont cependant observés sur le lot de 2004 (clichés 6 à 8 de la Figure V.20.c et clichés 1 et 2 de la Figure V.20.d) et le fort grandissement de ces objets met en évidence la cohésion de petites structures entre elles (clichés 5 et 6 de la Figure V.20.d). Ces structures globulaires sont prédominantes sur le lot de 2006 (Figure V.20.b et cliché 7 de la Figure V.20.d).

Afin d'avoir une idée de la topographie de la surface, une analyse AFM a été menée sur la surface extérieure du cathéter de Pellethane[®]. Elle montre la présence d'amas de surface de l'ordre du micromètre, qui apparaissent nettement sur l'image dans la Figure V.21.

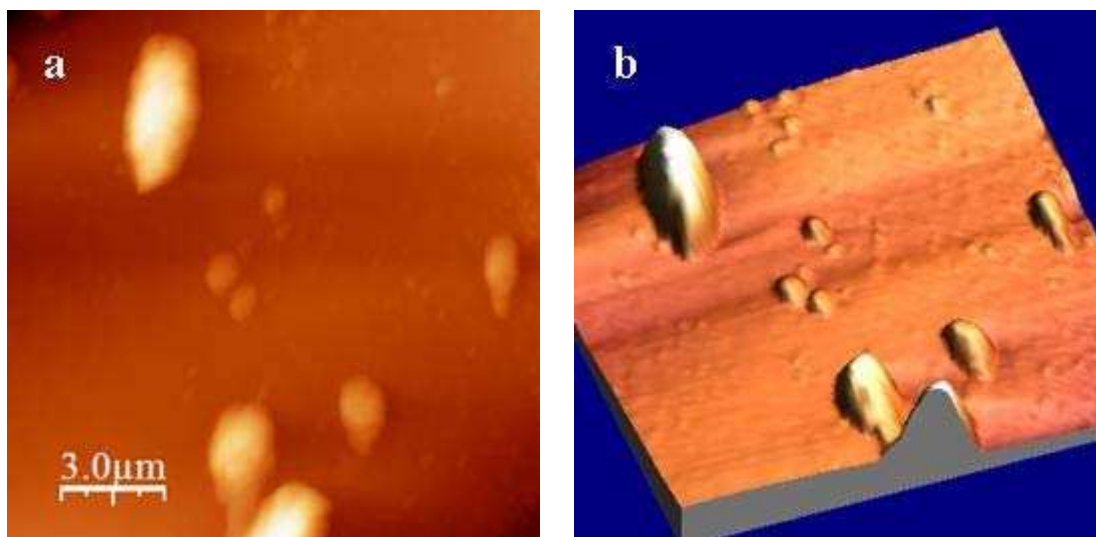


Figure V.21 : Image AFM de la surface externe du cathéter
a) 2 dimensions b) 3 dimensions

Nous avons cherché à identifier ces amas en comparant ces clichés à ceux des poudres d'additifs potentiellement présents dans le matériau, à savoir un lubrifiant, le BES, et deux antioxydants, le BHT et l'Irganox 1076[®]. Les clichés sont donnés dans la Figure V.22.a, mais ils ne permettent pas d'identifier clairement les amas présents sur la surface du polymère. Ce résultat était prévisible car on s'attend à ce que la structure de ces additifs sous forme de poudre isolée soit différente de celle de ces mêmes additifs une fois ceux-ci incorporés à la matrice polymère au moment de la transformation mécanique.

Afin d'analyser ces structures, nous avons donc tenté de les éliminer de la surface. Pour cela, nous avons placé des échantillons de tube dans un bécher contenant du méthanol sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Après un tel traitement, une disparition des

amas en surface est observée sur les lots de 2004 et 2006. Ceci est visible à la fois en microscopie électronique (Figure V.22.b) et microscopie optique (Figure V.22.c).

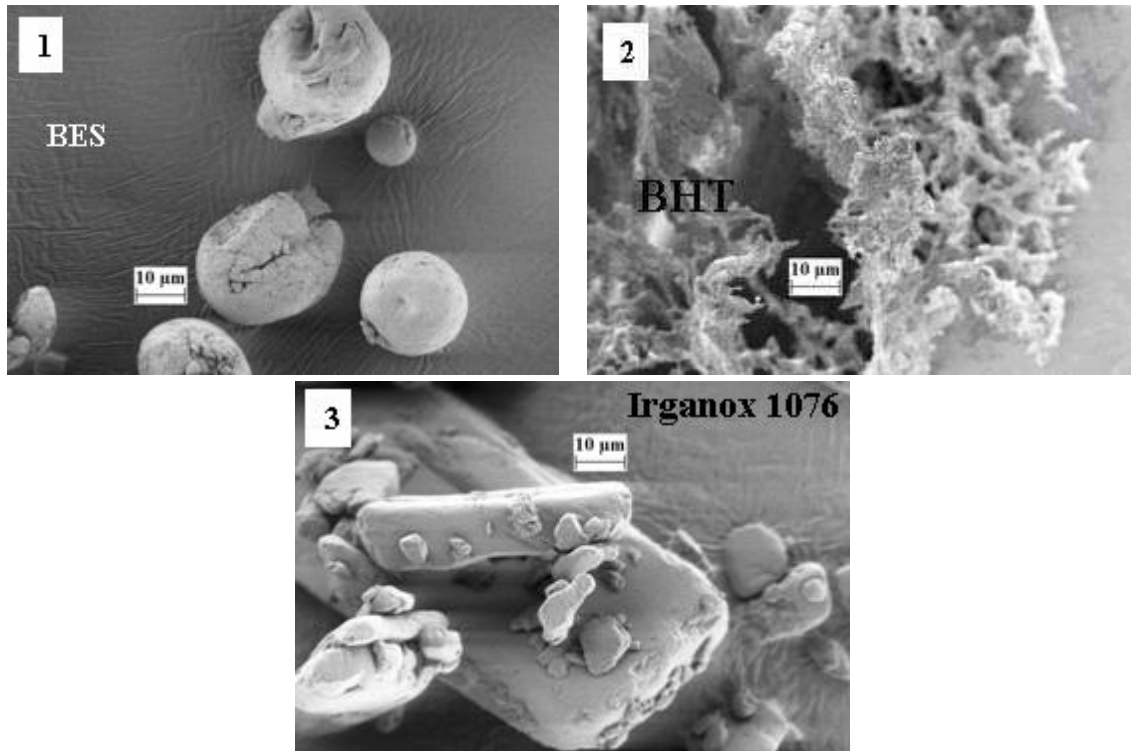


Figure V.22.a : Clichés MEB des additifs utilisés dans le Pellethane[®]
grandissement x 1000 1) BES 2) BHT 3) Irganox 1076[®]

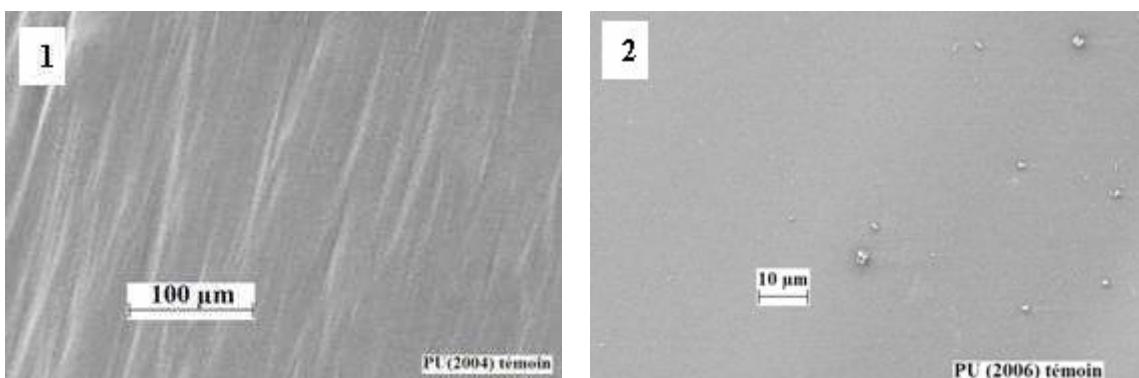


Figure V.22.b : Clichés MEB de la surface des cathéters de Pellethane[®] témoins après nettoyage au méthanol
1) Lot de 2004 – grandissement x 250
2). Lot de 2006 – grandissement x 1000

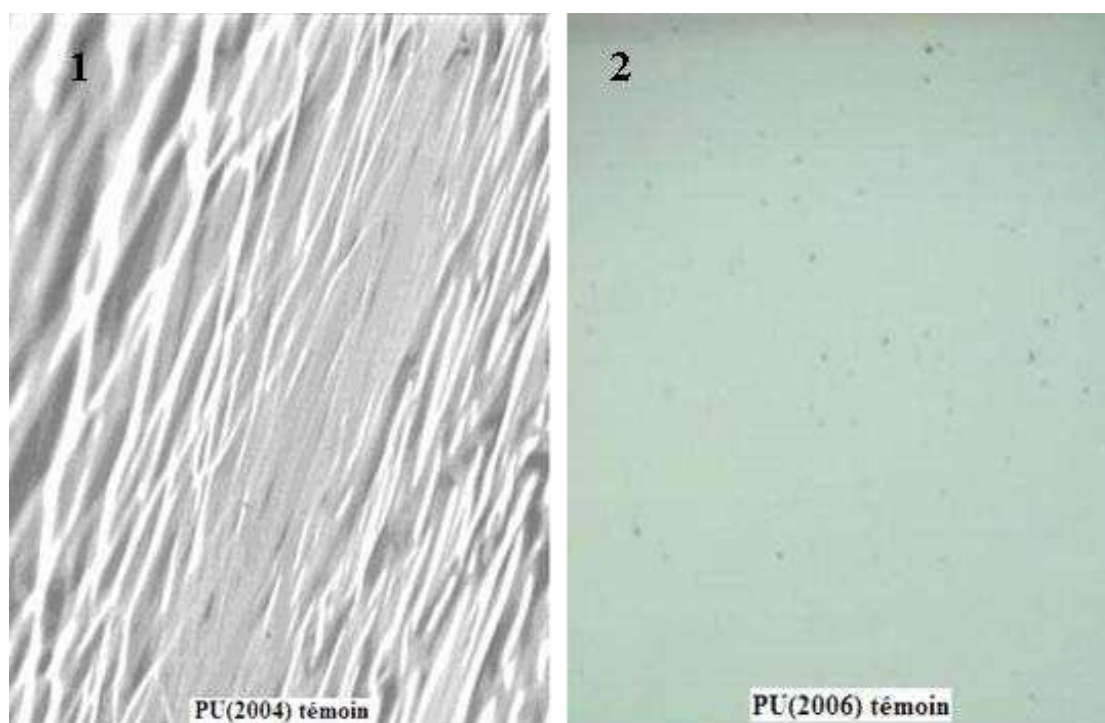


Figure V.22.c : Microscopie optique de la surface de cathéter de Pellethane® témoins après nettoyage au méthanol (grandissement x 10) 1) lot de 2004 2) lot de 2006

Le méthanol de nettoyage qui contient les amas extraits de la surface par le nettoyage a été analysé par HPLC (en utilisant comme phase mobile l'acétonitrile). Cette analyse révèle la présence d'Irganox 1076® (Figure V.23).

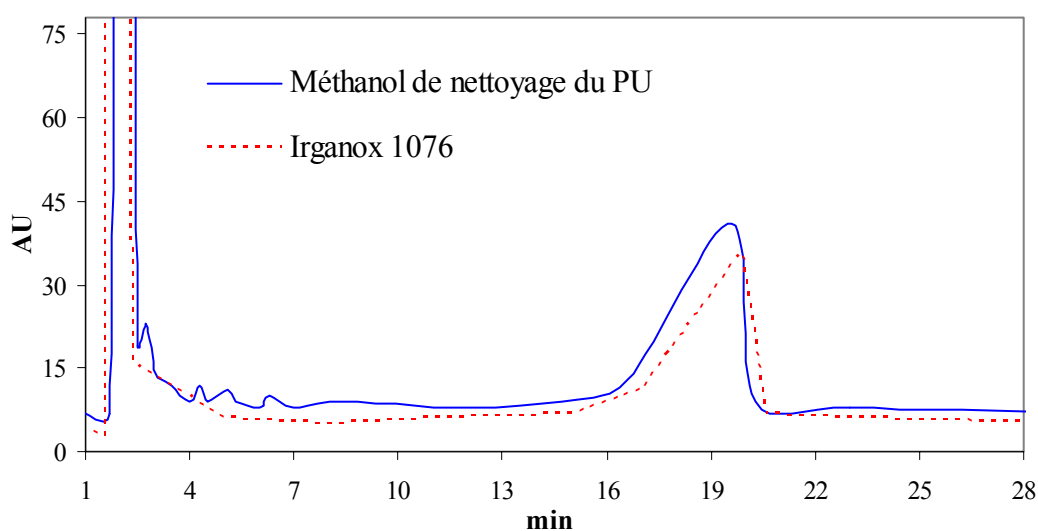


Figure V.23 : Chromatogrammes d'une solution de méthanol de nettoyage du PU témoin et celui d'une solution d'Irganox 1076® (Détection UV à 280 nm) – colonne C18

V.3.3 Effet des hétérogénéités de surface et de la rugosité du cathéter

Nous avons mis en évidence par microscopie optique que les lots de Pellethane[®] avec ou sans bande ORX présentaient des textures et rugosités de surface différentes. Par ailleurs nous avons vu par MEB que la géométrie et la concentration des amas d'antioxydants s'exsudant sur la surface du matériau, évoluaient avec le vieillissement du matériau : ainsi pour le lot fabriqué en 2006, on observe des petits amas essentiellement globulaires alors que pour le lot fabriqué en 2004 des globules mais aussi des paquets d'aiguilles sont observés. Nous avons voulu voir si le lot 2006 avec bande ORX et le lot 2004 sans bande ORX présentaient des comportements différents en terme de mouillabilité (analyses réalisées au même temps). En effet, la micro-texture de la surface est connue pour avoir une influence sur le caractère hydrophobe du matériau, entraînant un phénomène appelé « *effet super-hydrophobe* ». Ceci peut s'expliquer par deux théories : celle de Wenzel [161] qui considère que le liquide épouse la rugosité de la surface ou celle de Cassie [162] qui considère que le liquide repose seulement sur les crêtes de la rugosité (effet Fakir). Dans le premier cas, plus fréquemment rencontré dans le cas des surfaces peu rugueuses et modérément hydrophobes, l'hydrophobie apparente d'une surface hydrophobe sera accentuée, car, en augmentant la surface réelle de contact avec la goutte de liquide, on provoquera, par compensation, une contraction de cette goutte à la surface du matériau. L'hystérésis de mouillage observée au retrait est alors très importante, car en se résorbant, la goutte laisse des micro-textures pleines de liquide, défauts sur lesquels le front de liquide va s'accrocher, ce qui se traduira par un angle au recul très faible. Dans le second cas, qui décrit mieux la majorité des surfaces très texturées, ce sont les interactions de la goutte avec l'air contenu dans la rugosité qui vont accentuer l'effet hydrophobe. L'hystérésis de mouillage sera alors très faible. Nous comparons dans notre cas une surface texturée (lot 2004) à une surface relativement lisse (lot 2006), présentant en outre, toutes deux des amas en surface. Les valeurs d'énergie de surface trouvées avant traitement sont similaires et sont respectivement de 25,5 et 27,5 mJ/m² pour les lots 2004 et 2006. On peut donc dire que l'aspect texturé ou non du tube ne joue pas ici sur les valeurs de l'énergie de surface. Par ailleurs, le vieillissement du matériau qui résulte en une géométrie un peu différente au niveau des amas d'antioxydants présents en surface, ne semble pas avoir non plus d'impact sur les résultats de mouillabilité.

V.3.4 XPS

Nous avons analysé le tube témoin non traité ainsi que des tubes ayant subi différents types de nettoyage : nettoyage à l'eau déminéralisée ou à l'éthanol afin de corréler la composition chimique de la surface aux résultats trouvés dans la littérature (couche de BES) et aux observations faites précédemment, notamment en microscopie.

La décomposition des spectres XPS a été réalisée pour tous les spectres de la même façon, en soustrayant la ligne de base et en fixant comme pic majoritaire celui correspondant au carbone des hydrocarbures. Les Figure V.24, Figure V.25 et Figure V.26 donnent des exemples de déconvolution sur les C1s, O1s et N1s.

A partir de l'enveloppe brute, on lisse le spectre et on le déconvolue. On constate que 4 pics sont nécessaires pour déconvoluer le spectre du C1s (Figure V.24). Le plus intense, référencé sous le numéro 1, (52 % de l'aire totale) correspond aux carbones CH_2 hydrocarbures (CH_2)_n. Après correction en énergie, il se situe à 285,0 eV [134]. Le second pic (référéncé 2), ayant une aire relative de 25 %, correspondrait aux amines (liaisons $\text{N}-\text{C}$) et se situe à 285,9 eV. Le troisième pic (référéncé 3), d'aire relative de 15 %, correspondrait aux carbones des fonctions de type $\text{C}-\text{O}$ (les énergies de liaison des fonctions esters ($\text{C}=\text{O})-\text{O}-\text{C}$ et éthers $\text{C}-\text{C}-\text{O}$ ne peuvent être distinguées ici) ; il est situé à 286,8 eV. Enfin, le dernier pic, référencé 4, est très large et son intensité relative est très faible (8 %) ; il correspondrait aux carbones portant la fonction carbonyle dans le groupement ester ($(\text{C}=\text{O})-\text{O}-\text{C}$) et il est situé à 289,2 eV.

Par la suite, pour comparer les aires des pics des différentes déconvolutions du C1s, nous donnerons directement les aires relatives obtenues.

On constate que deux pics sont nécessaires pour déconvoluer le spectre du O1s (Figure V.25). Le plus intense, référencé sous le numéro 1, (94 % de l'aire totale) correspond aux atomes oxygènes du groupement éther ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$)_n. Après correction en énergie, il se situe à 532,8 eV. Le second pic (référéncé 2), ayant une aire relative de 6 %, correspondrait aux oxygènes du groupement carbonyle de l'ester ($\text{N}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}$) et se situe à 529,7 eV.

Dans le cas de l'azote (Figure V.26), bien qu'un plus grand nombre de scans ait été réalisé que pour les C1s et O1s, la résolution n'est pas très bonne. La décomposition ne se fait qu'avec un seul pic, centré sur 400,2 eV, et qui correspond aux azotes de l'ester ($\text{N}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}$).

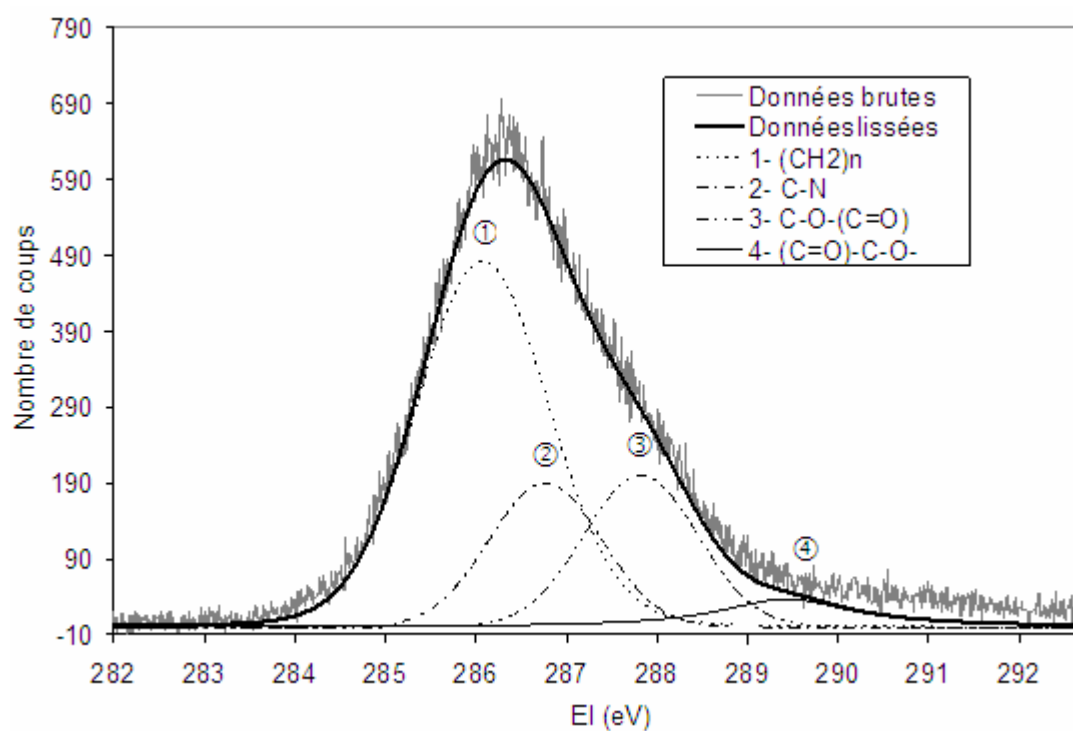


Figure V.24 : Déconvolution du spectre C1s non corrigé en énergie, du tube non traité

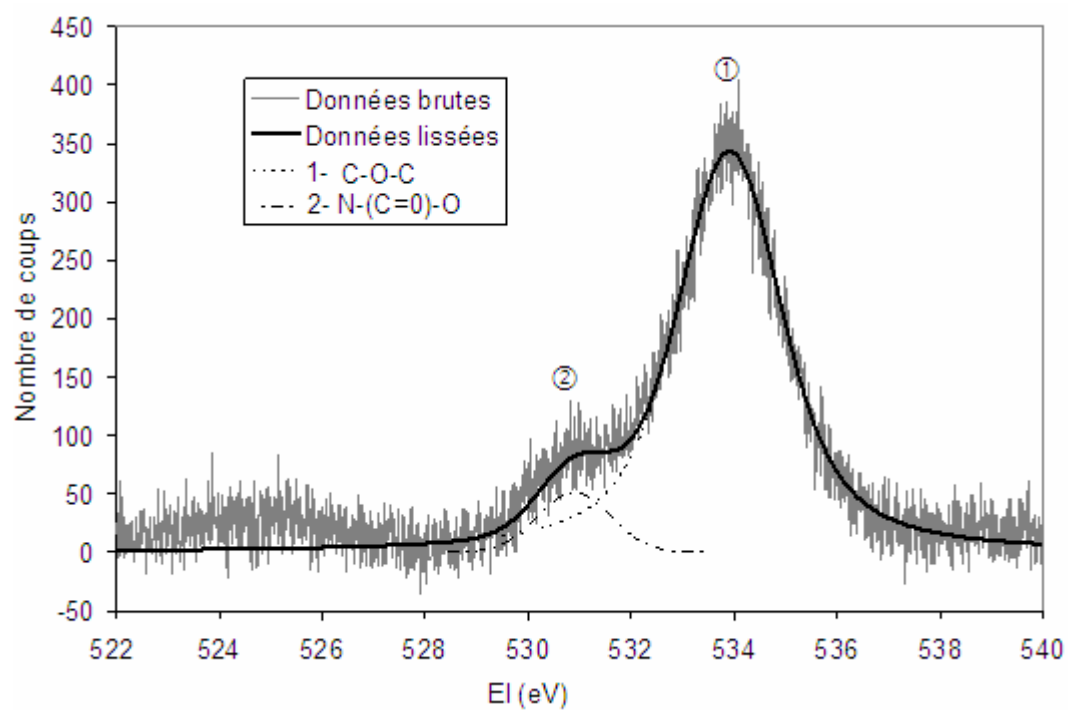


Figure V.25 : Déconvolution du spectre O1s non corrigé en énergie, du tube non traité

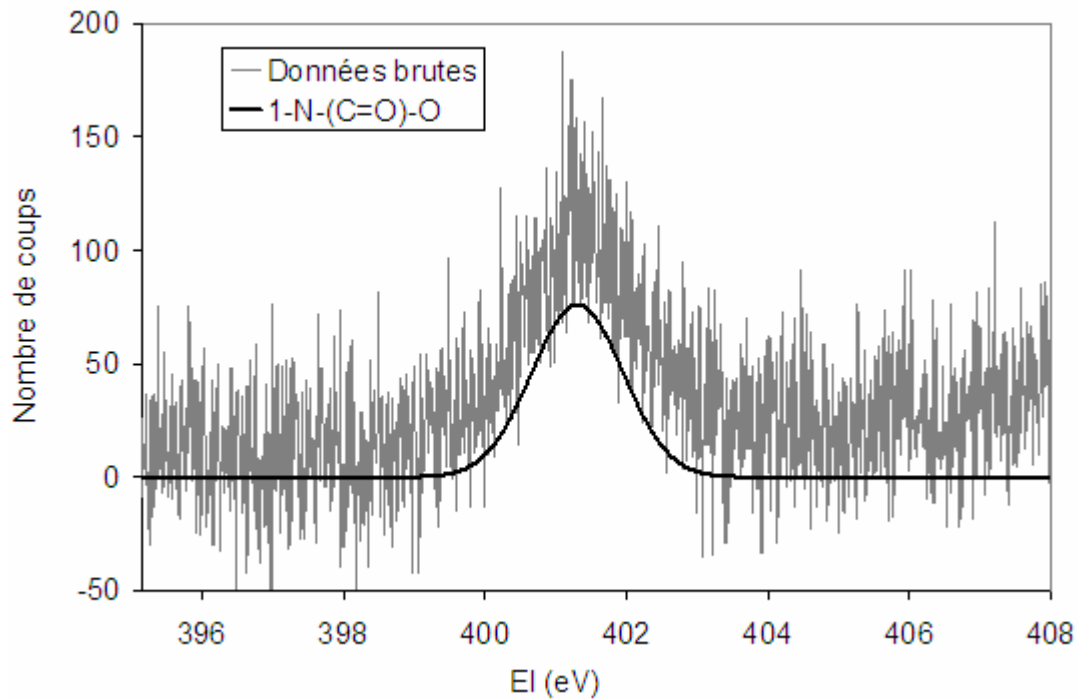


Figure V.26 : Déconvolution du spectre $N1s$ non corrigé en énergie, du tube non traité

La résolution des spectres n'étant pas maximale, les spectres bruts apparaissent donc parfois bruités. Aussi, par la suite, pour plus de clarté, nous comparerons uniquement les données lissées (Figure V.27).

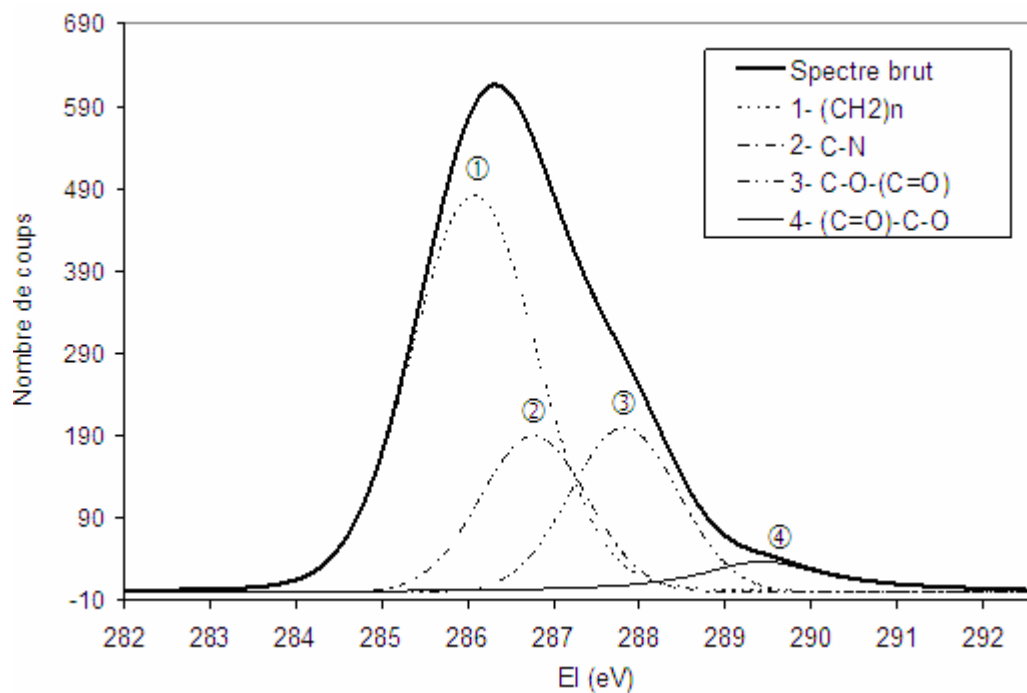


Figure V.27 : Déconvolution du spectre $C1s$ corrigé en énergie, du tube non traité par plasma

Si l'on considère la formule du Pellethane[®] 2383- 80AE (cf. Figure I.6 ; p.33) ; on a donc l'enchaînement simplifié suivant : [extenseur – MDI – (PTMG)_n – MDI]_m.

En considérant que le PTMG utilisé dans la synthèse est de masse égale à 1000 g/mol, cela signifie que le nombre *n* de répétitions du groupement : -(CH₂CH₂CH₂CH₂O)_n- de masse égale à 72 g/mol, est égal à 14 (soit 1000/72).

Dans le Tableau V-11 le nombre d'atomes de carbone, oxygène et azote pour les différents constituants sont regroupés.

<i>Tableau V-11 : Nombre théorique d'atomes de carbone, oxygène et azote pour les différents constituants du Pellethane[®]</i>			
Nom du segment	Nombre total de C	Nombre total d'O	Nombre total de N
Extenseur	4	1	0
2x(MDI)	30 (2 x 15)	8 (2 x 4)	4 (2 x 2)
PTMG	56 (4 x 14)	14 (1 x 14)	0
Nombre total d'atomes	90	23	4

On obtient un total de 117 atomes pour le Pellethane[®] étudié, soit un rapport théorique du nombre d'atomes de C sur celui d'O de : $C/O = 90/23 \approx 4$ et un nombre théorique d'atomes de C sur celui de N de : $C/N = 90/4 \approx 23$.

Le Tableau V-12 regroupe les nombres d'atomes calculés à partir des spectres d'XPS pour les différents échantillons de Pellethane[®]. Si l'on compare maintenant ces rapports expérimentaux avec le rapport théorique trouvé précédemment, on constate que l'on a le même ordre de grandeur pour le rapport C/O. En revanche, le rapport C/N théorique qui est d'environ 23 passe à environ 40 pour le rapport expérimental.

<i>Tableau V-12 : Nombres d'atomes calculés à partir des spectres XPS pour les différents échantillons</i>					
Echantillon	Nombre d'atomes			Rapport expérimental	
	O1s	C1s	N1s	C/O	C/N
Tube non traité	22	86	2	4	40
Tube lavé à l'eau	22	84	2	4	48
Tube lavé à l'alcool	14	93	3	6	31

D'après les expériences complémentaires réalisées pour caractériser la surface du matériau, nous avons pu mettre en évidence la présence de lubrifiant BES et d'antioxydant Irganox 1076[®] en surface. Comme la profondeur d'analyse de l'XPS est extrêmement faible, on peut supposer que la couche analysée prenne en compte ces additifs. Aussi, nous avons fait le même genre de calcul pour ces deux composés (Tableau V-13).

<i>Tableau V-13 : Rapports C/O et C/N pour les additifs BES et Irganox[®] 1076</i>		
Additif	C/O	C/N
BES	19	19
Irganox [®] 1076	12	Non défini

On constate cette fois-ci que c'est le rapport C/O qui ne correspond plus au rapport expérimental. On peut supposer que l'on a une contribution partielle de ces additifs, ou bien que la formule théorique du polyuréthane n'est pas respectée, en surface tout du moins (à cause des réarrangements des segments en fonction de l'environnement physico-chimique du polymère). Il est cependant difficile de conclure quant à ces rapports, d'autant que la résolution des spectres des N1s notamment, est mauvaise : l'incertitude sur ces calculs est donc grande.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'effet du nettoyage à l'eau ou à l'alcool (Figure V.28).

La seule différence, visible sur ce graphe, apparaît pour l'échantillon nettoyé à l'alcool, que ce soit au niveau des raies du C1s, du O1s ou du N1s. En effet, le rapport d'intensité du pic des C1s d'hydrocarbures (référence 1 sur la Figure V.24 ; p.146) par rapport aux autres pics des C1s (références 2, 3 et 4) est plus grand. Dans le cas du O1s, la contribution du pic de l'ester est fortement diminuée, et dans le cas du N1s, l'intensité du pic est augmentée.

Si l'on compare ces résultats avec ceux de la microscopie, il semble effectivement que seul le nettoyage à l'alcool ait un effet sur la surface du matériau. Si l'on considère que l'on a des antioxydants en surface, on devrait avoir une contribution des raies des fonctions esters diminuée (notamment en ce qui concerne le pic de l'ester au niveau des raies O1s) après nettoyage. De même, le rapport C/N devrait diminuer (l'Irganox 1076 ne contient pas d'azote).

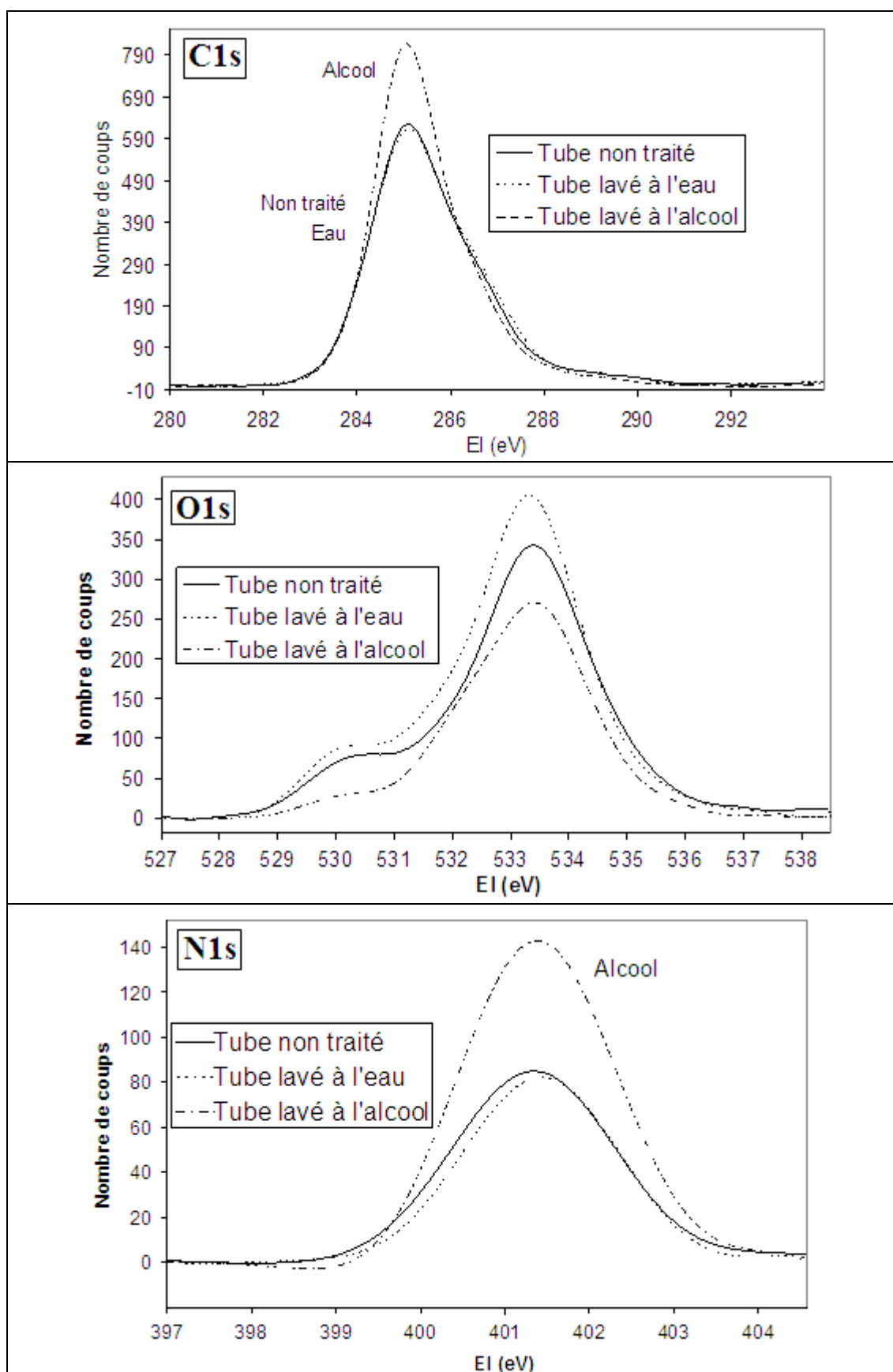


Figure V.28 : Comparaison des spectres C1s, O1s et N1s, corrigés en énergie, des échantillons témoin, nettoyé à l'eau ou à l'alcool

V.4 Conclusion

La caractérisation physico-chimique de la matrice polymère a mis en évidence un matériau présentant une micro-séparation de phases relativement marquée et une faible organisation structurale au sein des segments rigides. Nous pouvons noter la présence de deux additifs en proportions relativement importantes : un lubrifiant (BES) et un antioxydant phénolique (Irganox 1076[®]). Cette étude a par ailleurs mis en évidence une évolution du matériau au cours du temps : les antioxydants (Irganox 1076[®] + BHT) sont consommés, la micro-séparation de phases s'accroît et on observe en surface du matériau une exsudation de l'antioxydant un peu plus marquée pour les lots les plus anciens. Mais, le point le plus marquant de cette caractérisation initiale de nos cathéters est sans nul doute l'état de la surface, qui apparaît comme très complexe, et très éloigné du modèle de la surface « idéale ».

Tout d'abord la surface du polymère n'est pas exempte d'une certaine rugosité, qui est même relativement importante pour le lot de 2004. Cette rugosité est due au procédé de mise en forme lors de l'extrusion de ces tubes et à l'échelle du tube, elle est relativement homogène. En outre, la présence d'amas en surface du matériau, de concentrations et géométries très variables suivant les zones considérées, augmente encore l'hétérogénéité de la surface, à la fois du point de vue chimique et du point de vue de la topologie de surface (existence de zones avec de fortes anfractuosités avec des amas dont les tailles et géométries peuvent fortement varier ...). La caractérisation des modifications engendrées par le traitement plasma sur une telle surface s'annonce donc déjà comme complexe. Suivant l'échelle recouverte par la technique d'analyse, il est possible que les structures physiques ou chimiques observées par les différentes techniques d'analyse ne soient en effet pas toujours comparables. En outre, tous les calculs de mouillabilité s'appuient sur un modèle de surface idéale : les résultats doivent donc être ici relativisés. Cependant, un point rassurant est l'absence de forte disparité des résultats de mouillabilité : la dispersion des résultats reste faible, ce qui indique très certainement que les fortes hétérogénéités de surface observées sont moyennées, la rugosité étant certainement largement recouverte par la goutte déposée. De même, aucune différence au niveau de la mouillabilité des tubes fabriqués en 2006 et 2004 n'est visible alors que ces tubes sont macroscopiquement (texture du tube due à la filière d'extrusion) et microscopiquement (géométrie des amas de surface) très différents.

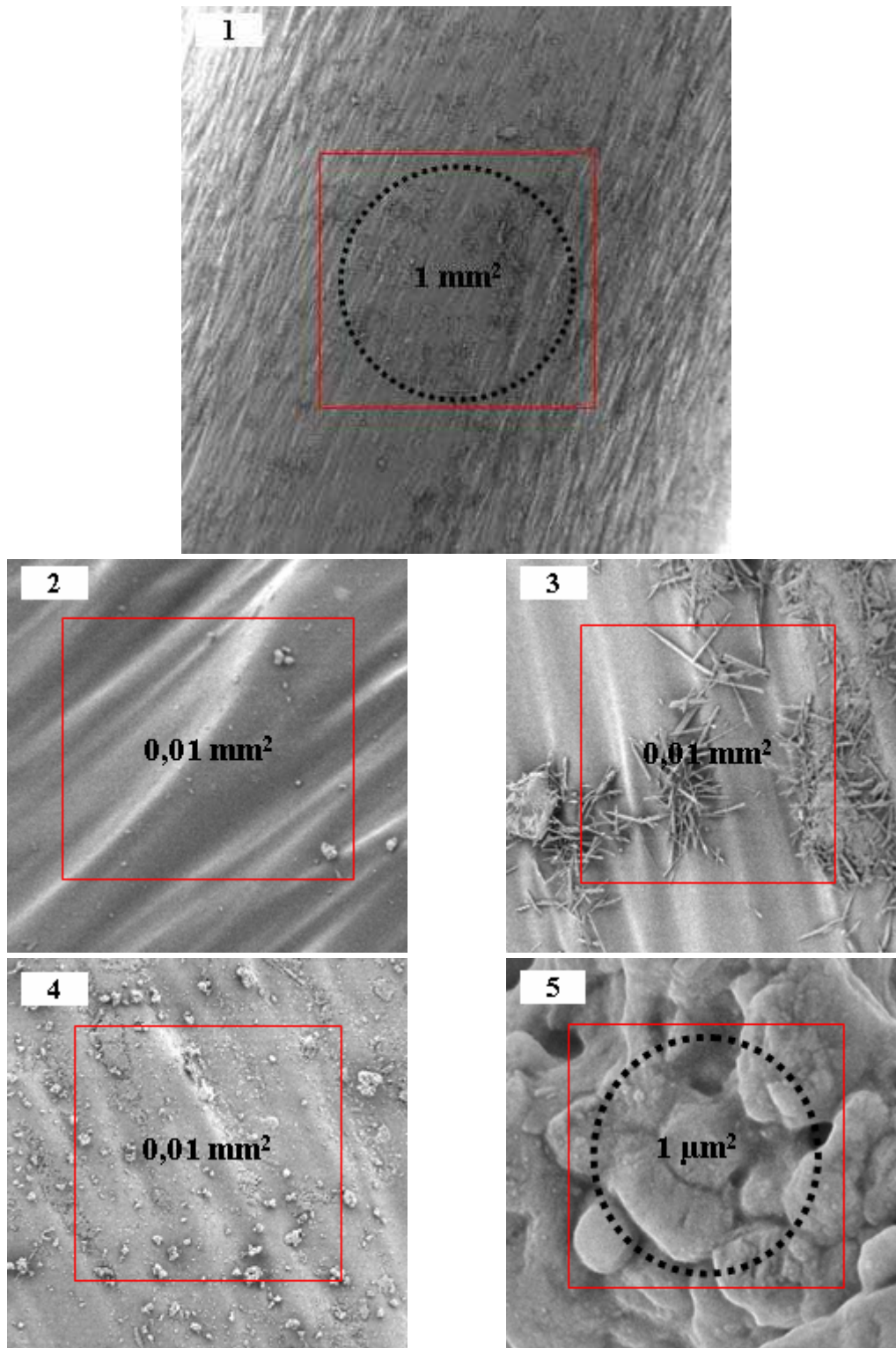


Figure V.29 : Aspect de la surface à différentes échelles :
 1) de l'ordre du mm : la taille de la surface d'une goutte déposée pour une étude de mouillabilité a été représentée par un cercle noir
 2, 3, 4) de l'ordre de la dizaine de micromètres carré
 5) zoom sur un amas d'antioxydant avec une échelle de l'ordre du micromètre carré ; en noire la taille d'une bactérie de staphylocoque

Afin d'illustrer cette structure multi-échelles, nous avons choisi quelques clichés de MEB représentatifs de l'état de surface (Figure V.29) : à l'échelle du millimètre carré (cliché 1), on voit très bien la micro-texture du tube (lot 2004) et l'on devine la présence d'amas de surface : à cette échelle de l'ordre du millimètre carré qui est à peu près celle de la goutte déposée lors de l'étude de mouillabilité et la surface balayée lors de notre analyse XPS, on a finalement une certaine homogénéité de la surface analysée. A l'échelle de la dizaine de micromètre carré, la surface devient beaucoup plus hétérogène avec des amas plus ou moins répartis sous formes de paquets (clichés 2, 3 et 4). Ces amas peuvent présenter en outre à l'échelle du micromètre (un micromètre est à peu près la taille d'une spore de staphylocoque) de nombreuses anfractuosités (cliché 5).

Il convient de noter que notre surface présente aussi des hétérogénéités dans l'épaisseur de l'échantillon (Figure V.30), qui ne seront pas perçues de la même manière suivant la technique d'analyse utilisée : la mouillabilité mettra en évidence des modifications à l'échelle de la monocouche atomique, l'analyse XPS permettra de voir des modifications sur 3 à 15 couches atomiques, alors qu'en FTIR-ATR, la surface sera analysée sur une épaisseur de plusieurs micromètre.

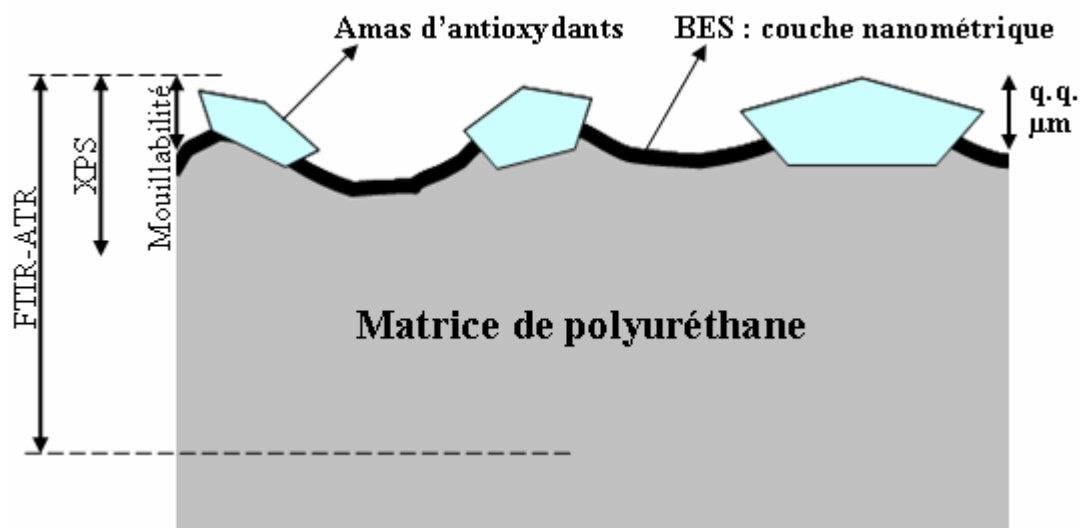


Figure V.30 : Représentation schématique de la surface du tube de PU (section du tube)

Chapitre VI : Effets du traitement plasma sur le matériau

Sommaire

VI.1 Caractérisation de l'enceinte de post décharge	157
VI.1.1 Température dans la zone de post décharge	157
VI.1.2 Espèces chimiques présentes dans la zone de post décharge	158
VI.2 Modifications des cathéters de Pellethane® en volume	159
VI.2.1 Analyse thermique	159
VI.2.2 Analyse spectroscopique	165
VI.2.3 Evolution des masses molaires par CES	167
VI.2.4 Teneur en antioxydants phénoliques	167
VI.2.5 Comportement comparé durant l'incubation	168
VI.2.6 Conclusion	174
VI.3 Modifications engendrées sur la surface du matériau	175
VI.3.1 Mouillabilité	175
VI.3.2 Microscopies	178
VI.3.3 Effet d'un éventuel film de BES (lubrifiant) en surface du matériau	180
VI.3.4 Nettoyage des surfaces	181
VI.3.5 XPS	184
VI.3.6 Conclusion	186
VI.4 Effets des différents paramètres du traitement plasma	186
VI.4.1 Reproductibilité et homogénéité du traitement au plasma	187
VI.4.2 Influence du nombre de traitements plasma successifs	188
VI.4.3 Effet du débit d'azote	189
VI.4.4 Effet du temps de traitement	192
VI.4.5 Conclusion	195

VI.5 Evolution de la surface après traitement plasma	195
VI.5.1 Comportement dans des milieux de température et d'humidité contrôlées	196
VI.5.2 Milieux liquides	211
VI.6 Effets du traitement sur l'adhésion bactérienne	215
VI.6.1 Effet du plasma sur l'adhésion	215
VI.6.2 Etude cinétique de l'adhésion	216
VI.6.3 Effet du temps de traitement sur l'adhésion	217
VI.6.4 Effet du vieillissement après le traitement	218
VI.6.5 Effet du traitement plasma sur l'adhésion : cas du polypropylène	219
VI.7 Conclusion sur les modifications de surface du matériau	220

VI.1 Caractérisation de l'enceinte de post décharge

VI.1.1 Température dans la zone de post décharge

Nous avons étudié les variations de température dans la zone de post décharge du plasma en mesurant la température sur toute la longueur du porte-échantillons utilisé pour traiter nos tubes (cf. Figure IV.5 ; p.85). Cette mesure a été réalisée au moyen d'un thermomètre digital (ERTCO-EUTECHNICS, MODEL 4400) équipé d'une sonde sensible (Figure VI.1). Cette sonde, longue de 20 cm, a été introduite dans l'enceinte de façon à mesurer la température à différentes distances de la source de la décharge.



Figure VI.1 : Thermomètre (ERTCO-EUTECHNICS, MODEL 4400)

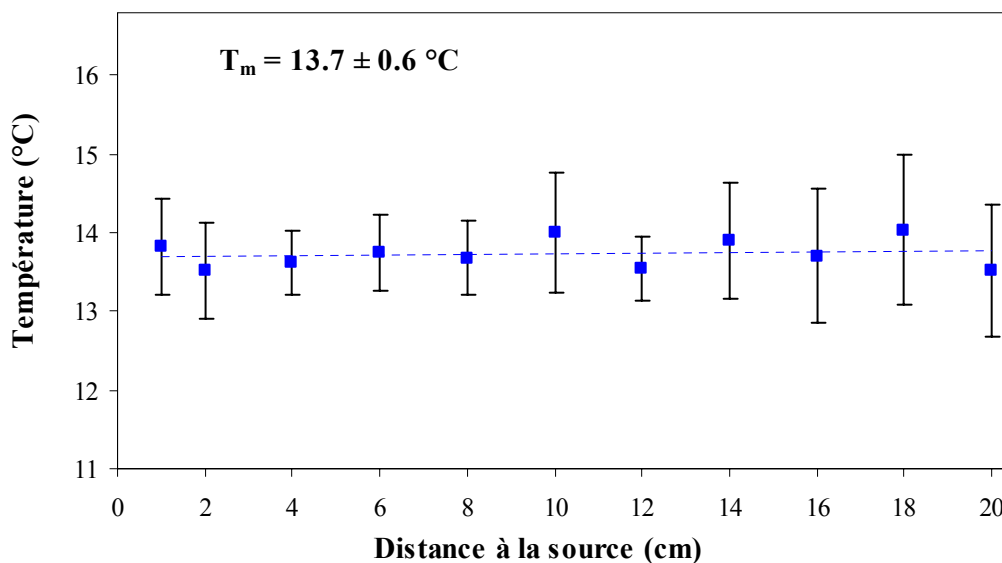


Figure VI.2 : Evolution de la température dans la zone de post décharge en fonction de la distance à la source de la décharge d'azote à pression atmosphérique

Nous avons trouvé que la température ne dépendait pas de la distance à la source de la décharge (la pièce dans laquelle se trouvait l'enceinte étant à une température d'environ 18°C) (Figure VI.2).

VI.1.2 Espèces chimiques présentes dans la zone de post décharge

L'analyse spectrale a été réalisée à l'aide d'un spectromètre UV-visible muni d'une fibre optique de 400 μm de diamètre. Le spectre des longueurs d'onde mesurables s'étale de 200 à 800 nm. La fibre optique est placée en sortie de réacteur (≈ 5 cm) et est dirigée vers la décharge au travers d'une lentille de quartz. Les spectres d'émission sont obtenus pour le gaz d'azote (40 L/min) dans la zone de post décharge après qu'il ait subi la décharge électrique, et ce, en l'absence d'échantillon. L'acquisition des spectres a lieu pendant 1 seconde et les courbes présentées correspondent à des moyennes réalisées sur cinq spectres consécutifs.

Les spectres d'émission obtenus pour les deux réacteurs présentent tous les raies caractéristiques du second positif de l'azote. Le spectre observé dans la Figure VI.3 est conforme à ce qui avait été obtenu sur des plasmas similaires au LPGP. Le résultat de réaction de l'azote atomique pur avec des impuretés (eau, O_2 et C_nH_m) donne des bandes correspondant à : NO_γ , NO_β , NH et CN [129].

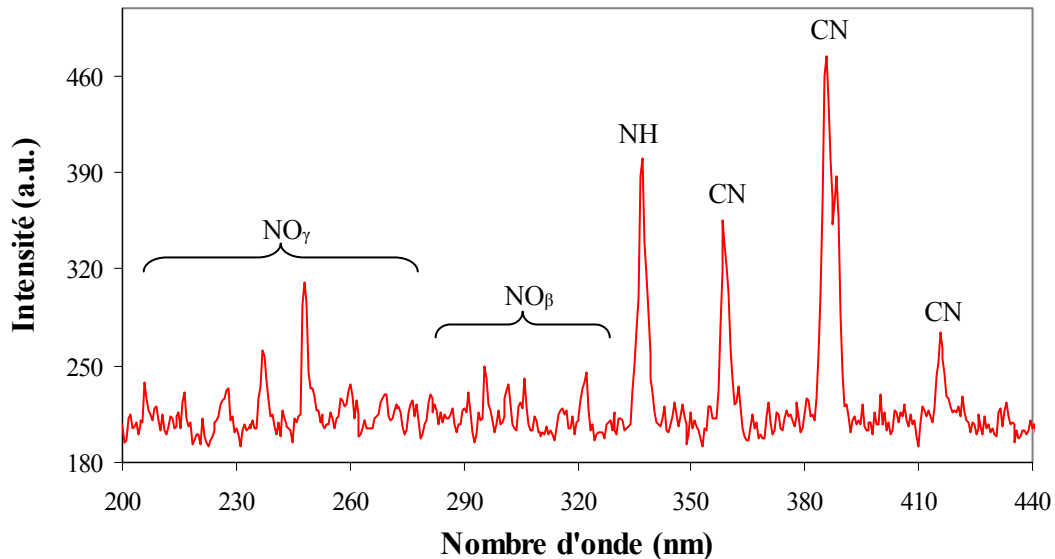


Figure VI.3 : Spectre d'absorption du gaz plasma d'azote utilisé

VI.2 Modifications des cathéters de Pellethane® en volume

Ces analyses ont été réalisées pour des temps de traitements compris entre 20 et 150 min et pour un débit de gaz de 40 L/min. Ces analyses ont été faites juste après traitement. Le comportement des échantillons traités a été comparé à celui d'un échantillon témoin non traité.

VI.2.1 Analyse thermique

VI.2.1.1 ATG

Cette analyse nous permet de voir si le traitement plasma a un effet sur la dégradation thermique du Pellethane®.

Les analyses ont été réalisées en 2004 à la fois sur les tubes qui ont été fabriqués en 1999 (temps d'exposition au plasma compris entre 20 et 60 min) et en 2004 (temps d'exposition au plasma de 150 min). Les pourcentages de perte de masse correspondant aux trois étapes de dégradation du cathéter traité au plasma sont représentés sur la Figure VI.4. Chaque mesure a été effectuée sur trois échantillons différents.

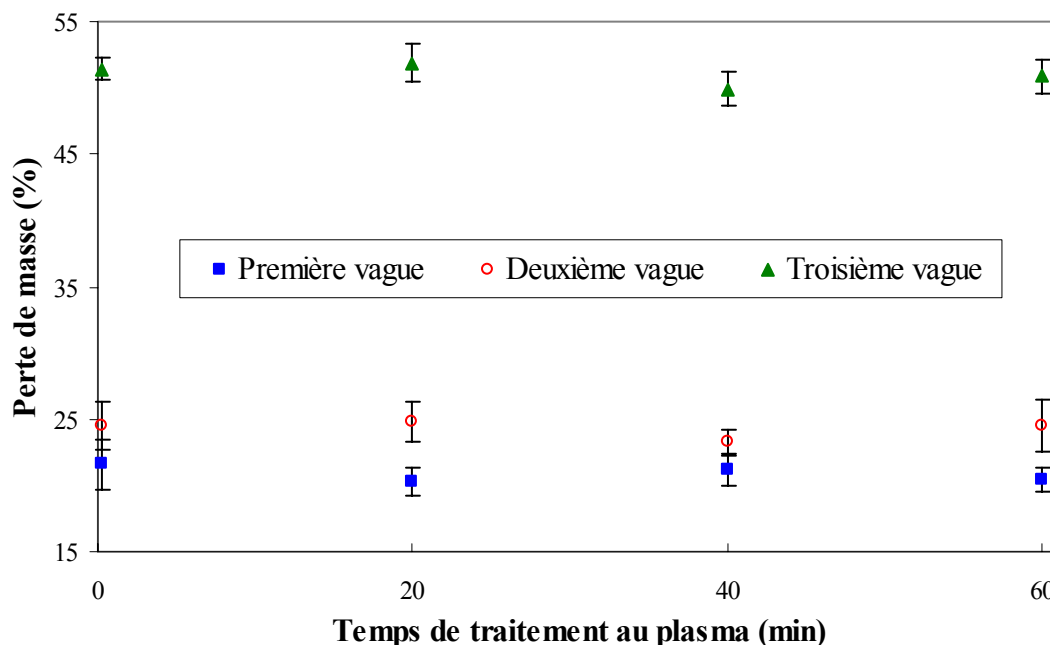


Figure VI.4 : Perte de masse associée aux trois étapes de dégradation des PU (1999) en fonction du temps d'exposition au plasma

On constate que les pourcentages de perte de masse des cathéters traités au plasma et des cathéters témoins (cf. Tableau V-2 ; p.117) sont relativement identiques : les deux premières étapes ont une amplitude similaire, de l'ordre de 25 % tandis que le troisième pourcentage de perte de masse avoisine les 50 %. La dégradation est totale après 540°C.

VI.2.1.2 DSC

Ces expériences ont été réalisées en 2004, avec un débit de gaz de 40 L/min, pour différents temps d'exposition :

- 20, 40, 60 min pour les cathéters appartenant au lot de 1999 ;
- 150 min pour les tubes du lot de 2004.

Les mesures ont été réalisées sur trois échantillons soumis au même traitement.

La Figure VI.5 représente la comparaison pour les deux premières montées en température (vitesse 20°C/min, de 45°C à 230°C) d'un échantillon de PU traité 150 min au plasma et d'un échantillon témoin.

On constate que les thermogrammes des deux échantillons de PU sont relativement identiques, et ce pour les deux montées en température, ce qui nous indique une absence de modification de l'organisation structurale du matériau (organisation des segments rigides, caractère miscible des segments rigides et souples) : que l'échantillon soit traité ou non, des endothermes similaires sont observés entre 100 et 190°C, et l'on note la même température de transition vitreuse pour les segments rigides dans les deux cas.

Si l'on étudie l'évolution des valeurs des enthalpies des différents endothermes en fonction du temps de traitement au plasma, aucune modification significative n'est observable (Figure VI.6). Ces résultats sont identiques quelle que soit la position de la portion de cathéter analysée dans la zone de post décharge, c'est à dire quel que soit son éloignement à la source du plasma (Figure VI.7).

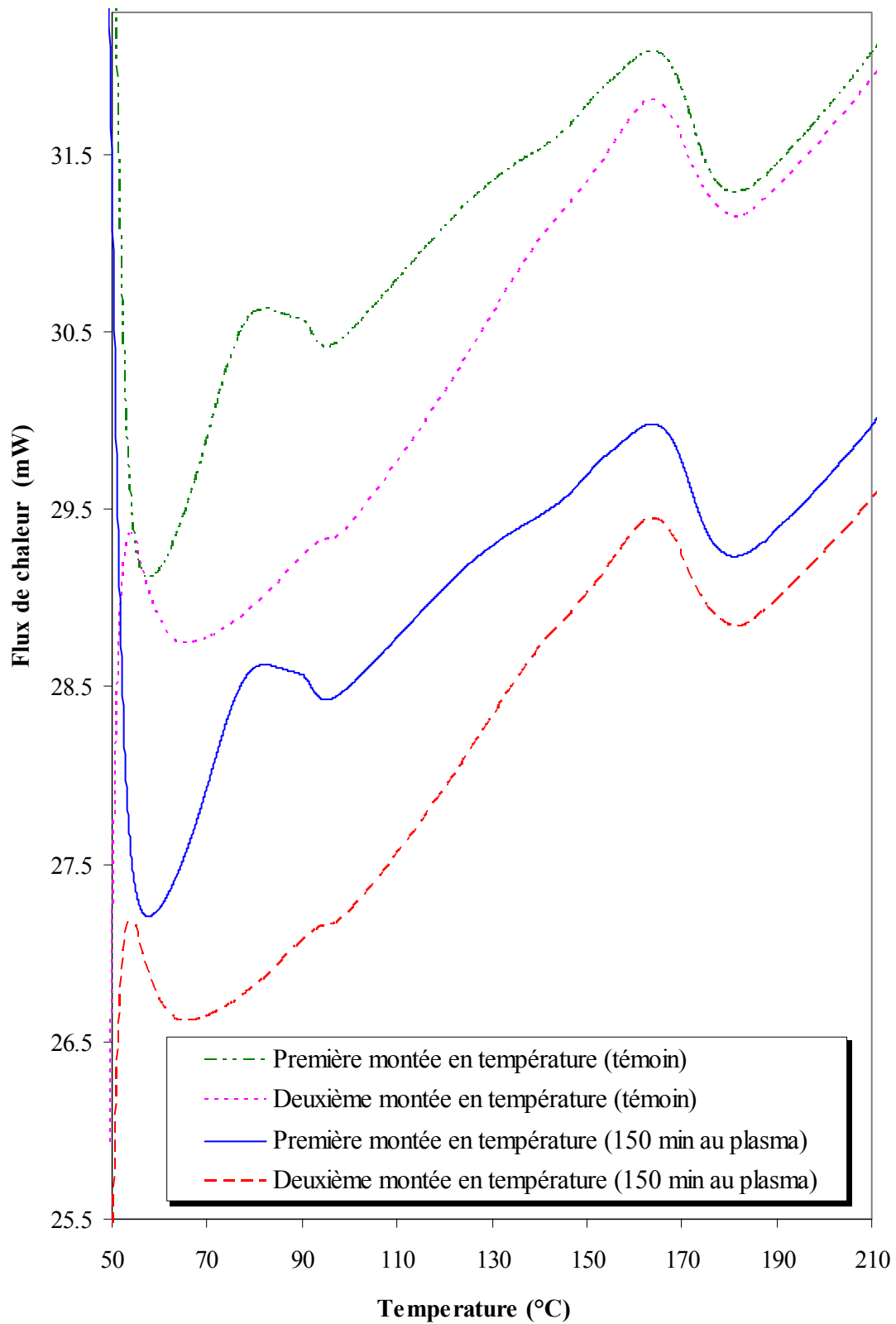


Figure VI.5 : Comparaison des thermogrammes (DSC) des PU témoin et traité 150 min au plasma

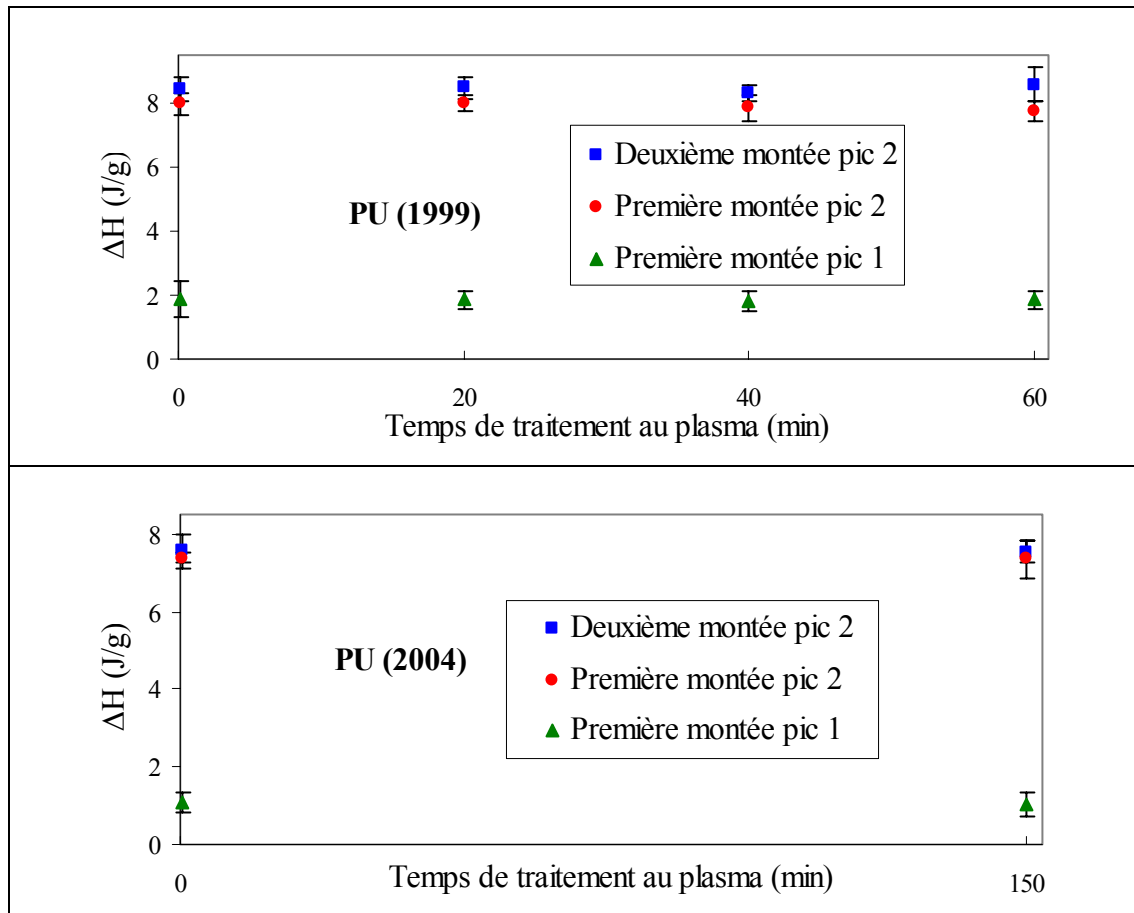


Figure VI.6 : Enthalpies des endothermes des PU (1999 et 2004) en fonction du temps d'exposition plasma

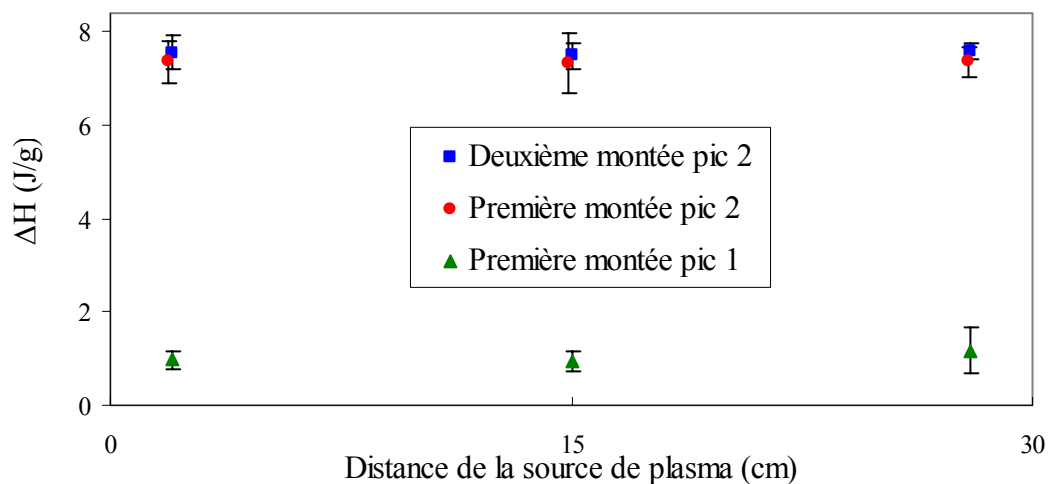


Figure VI.7 : Enthalpies des endothermes de PU traité 150 min au plasma en fonction de la distance à la source de la décharge

VI.2.1.3 TSC

Les relaxations observées en TSC ne sont pas modifiées par le traitement plasma (Figure VI.8). Après traitement plasma, on note toujours la présence des relaxations suivantes :

- une relaxation à -100°C ;
- une relaxation à -29°C ;
- une relaxation à 18°C .

Ces relaxations présentent en outre des courants de dépolarisation analogues avant et après traitement.

VI.2.1.4 Conclusion

Ces différentes techniques d'analyse thermique nous ont permis de montrer que le traitement plasma n'entraîne aucune modification significative de l'organisation structurale du matériau.

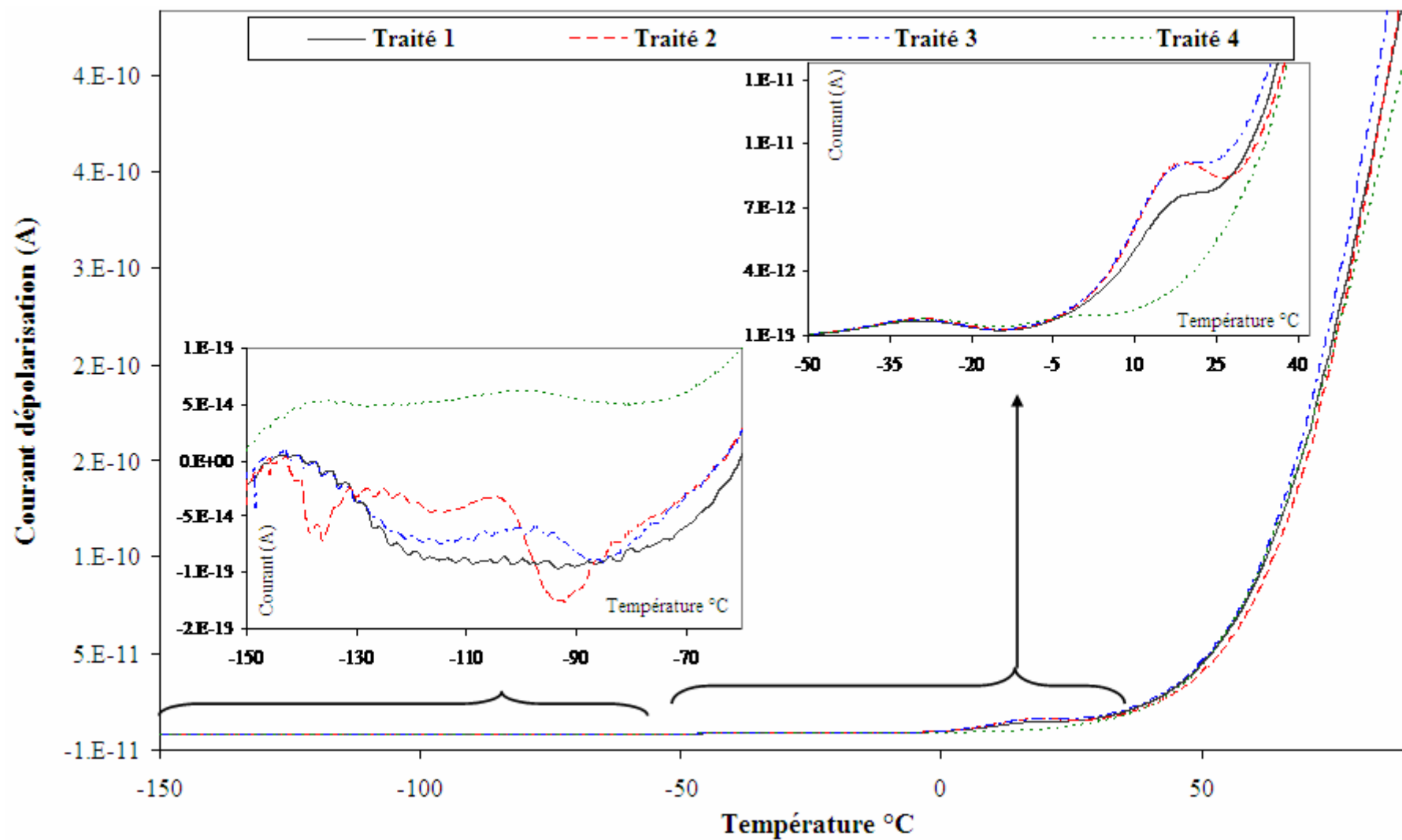


Figure VI.8 : Analyse TSC pour les cathéters de PU traités au plasma

VI.2.2 Analyse spectroscopique

Les analyses précédentes nous ont montré l'absence de modification des propriétés physiques en volume. Nous avons voulu vérifier dans un second temps que cela se traduisait par une absence de modifications chimiques. Par spectroscopie FTIR, nous avons cherché à mettre en évidence lors du traitement plasma, s'il y avait dégradation des chaînes, et modification des liaisons hydrogène entre fonctions uréthane et éther, ainsi que l'effet du traitement sur le lubrifiant contenu dans le polymère (BES).

Les tubes du PU ont été traités au plasma 20, 40, 60 et 150 min (débit de gaz de 40 L/min). S'il y a dégradation des chaînes, une oxydation peut se produire au niveau des groupements éther, ce qui se traduit par une diminution de l'intensité de la bande associée à la vibration d'élongation des groupements C-O-C [136, 163]. Il en résulte alors la formation de produits de dégradations (formates avec bandes caractéristiques situées à 1140 et 1725 cm^{-1}) ainsi qu'une dégradation au niveau des groupements uréthane en raison des radicaux formés lors de la première oxydation. Cette dégradation se traduit alors par une diminution de l'intensité des bandes concernant la fonction uréthane (bandes à 1730, 1700, 1534 et 1225 cm^{-1} notamment) [35, 141]. La modification des liaisons hydrogène se traduit quant à elle par une variation du rapport des intensités des bandes à 1700 et 1730 cm^{-1} qui sont respectivement associées aux fonctions C=O liées et libres.

Afin de mettre en évidence ces éventuelles modifications, nous avons étudié l'évolution de l'intensité des bandes à 1100, 1700 et 1730 cm^{-1} par rapport à celle d'une bande à 1414 cm^{-1} associée avec une vibration C-C du cycle aromatique dont l'intensité n'est pas censée évoluer avec les différentes modifications précédemment citées. Ce rapport nous permet de nous affranchir des variations d'intensité dues au contact des échantillons avec le cristal ATR. La Figure VI.9 regroupe les différents résultats et montre que les chaînes ne subissent pas de dégradation majeure et que les liaisons hydrogène ne sont pas non plus modifiées par le traitement plasma.

Par ailleurs, en soustrayant le spectre des tubes non traités de celui des tubes traités, les seules modifications –extrêmement faibles– observées concernent les bandes du lubrifiant contenu dans le polymère. Après soustraction du spectre du témoin, des bandes correspondant à celles du BES apparaissent : comme l'analyse est effectuée par ATR, on peut dire que le traitement favorise une légère concentration de ce composé près de la surface (exsudation ou migration dans une zone proche de la surface) mais au vu de la très faible intensité des bandes (0,015), cet effet reste limité (Figure VI.10).

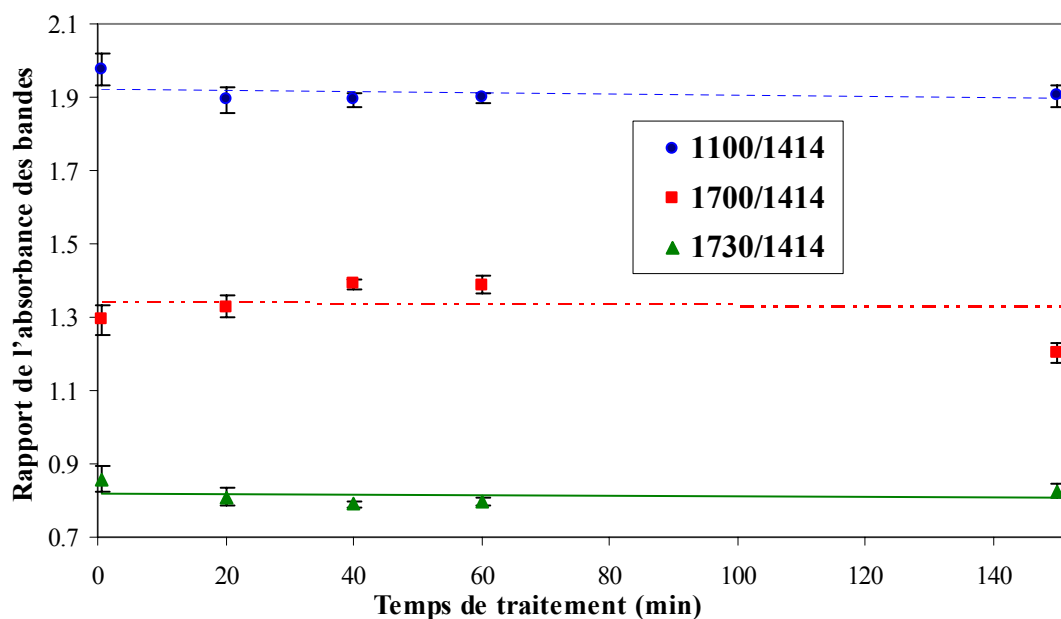


Figure VI.9 : Evolution des rapports d'intensité des bandes des spectres IR des cathéters de Pellethane® avec le temps de traitement au plasma

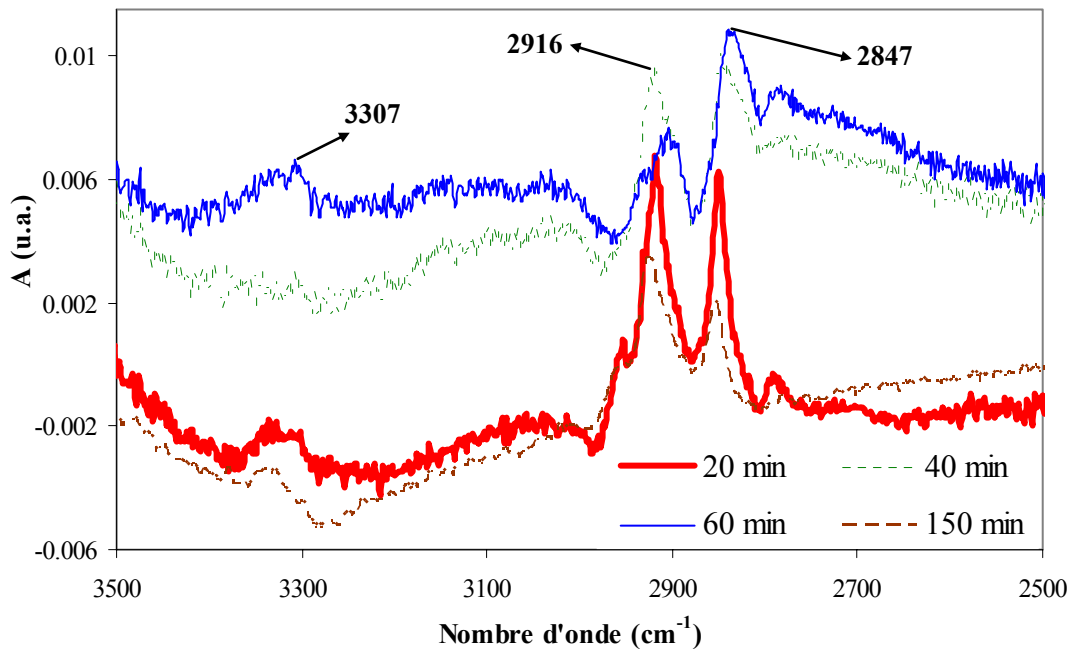


Figure VI.10 : Spectres ATR-FTIR d'échantillons traités au plasma après soustraction du spectre de l'échantillon non traité. Les flèches indexent les bandes du BES

VI.2.3 Evolution des masses molaires par CES

Les masses molaires moyennes et l'indice de polymolécularité des PU témoin et traités 40 minutes au plasma (débit de gaz 40 L/min) sont représentés dans le Tableau VI-1.

<i>Tableau VI-1 : Masses molaires moyennes et indice de polymolécularité des PU témoin et PU traités 40 min</i>			
	M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	I_p
PU témoin	74 300 ± 1700 g/mol	143 000 ± 3000 g/mol	1,92 ± 0,04
PU 40 min	74 800 ± 1500 g/mol	143 500 ± 1000 g/mol	1,92 ± 0,02

Les essais ont été réalisés sur trois échantillons. Les masses molaires ne sont pas modifiées par le traitement, ce qui confirme l'absence de dégradation des chaînes par scission au sein du matériau ainsi que l'absence de branchement durant le traitement.

VI.2.4 Teneur en antioxydants phénoliques

De la même façon que pour l'échantillon témoin, nous avons calculé les teneurs des deux antioxydants (BHT et Irganox 1076®) dans les cathéters de Pellethane® après traitement plasma. Ces analyses ont été réalisées en 2004 sur les lots de 1999 et 2004 et sur des échantillons traités pendant 20, 40, 60 (lot 1999) et 150 min (2004) en utilisant un débit de gaz de 40 L/min. L'évolution des teneurs en BHT et en l'Irganox 1076® avec le temps de traitement sont consignées sur la Figure VI.11. Ces essais ont été réalisés sur trois échantillons et avec trois injections pour chaque échantillon. Cette analyse montre que les antioxydants présents dans la matrice polymère ne sont pas dégradés par le traitement plasma, et ce, quel que soit le temps de traitement.

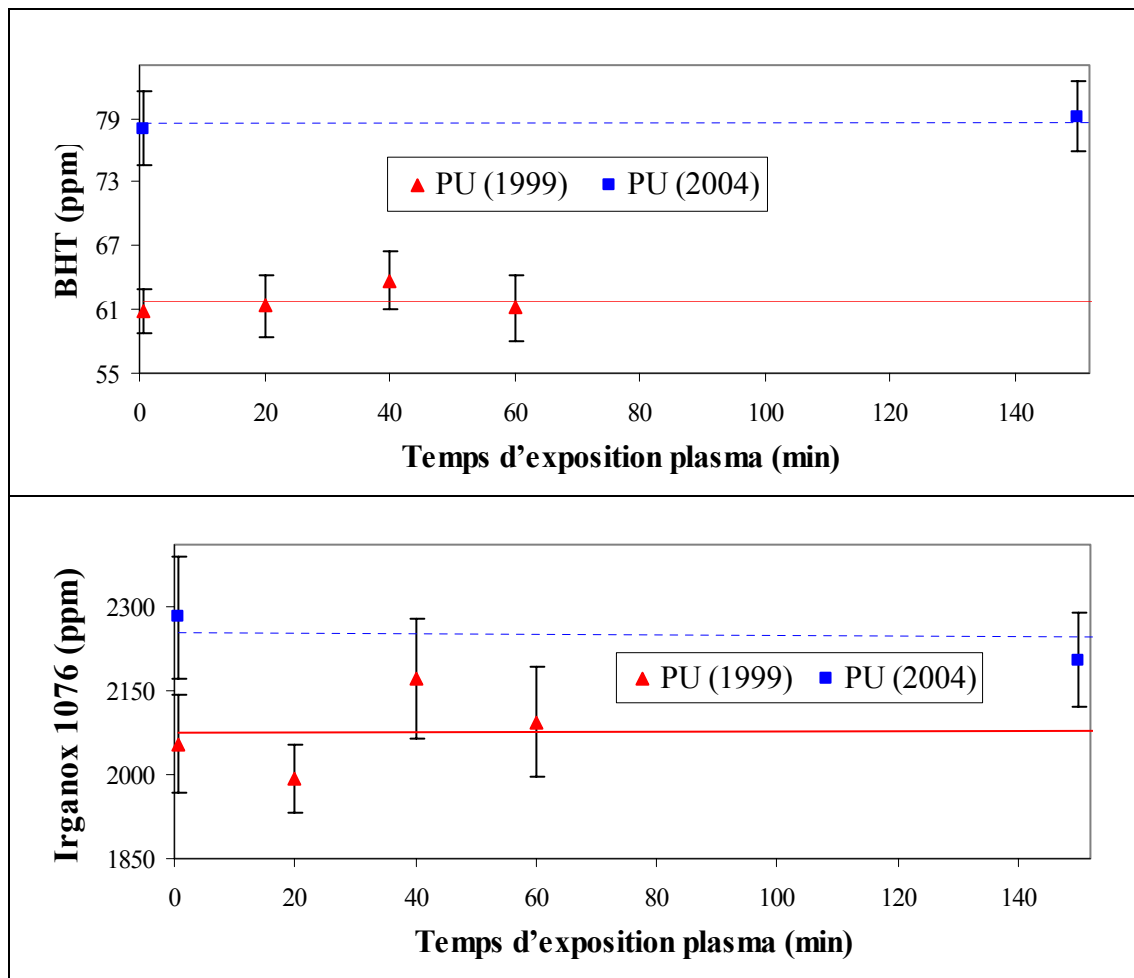


Figure VI.11 : Concentration des additifs (BHT et Irganox 1076®) dans les cathéters en fonction du temps d'exposition au plasma

VI.2.5 Comportement comparé durant l'incubation

L'étude de l'incubation des tubes en milieu méthanol ou aqueux (sérum physiologique) a été mise en œuvre afin de vérifier qu'il n'y avait pas d'effet du traitement, en particulier au niveau de la nature et des taux de composés relâchés par le matériau dans ces milieux liquides. Cette incubation a été menée à 37°C. Le méthanol a été choisi pour son fort pouvoir d'extraction comparé au sérum physiologique, qui est, par contre, plus proche des liquides susceptibles d'être en contact avec le tube de polyuréthane durant son utilisation. Plusieurs points intéressants ont été mis en évidence par cette étude. Tout d'abord il est à noter que le comportement des échantillons, qu'ils soient traités ou non est généralement très similaire. On observe dans les deux cas les phénomènes suivants :

1) une exsudation rapide en surface du lubrifiant contenu dans le polyuréthane, le bis-éthylène stéaramide (BES).

Ce phénomène a été mis en évidence par FTIR-ATR et a été suivi en regardant l'évolution d'une des bandes caractéristiques de l'amide à 1636 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$) par rapport à une bande du polymère (1596 cm^{-1}).

Quand le taux de BES en surface ou proche de la surface augmente, alors on observe à la fois une diminution d'intensité des bandes caractéristiques du polymère et une augmentation d'intensité des bandes associées au BES (3299 , 2917 , 2849 et 1636 cm^{-1}) (Figure VI.12).

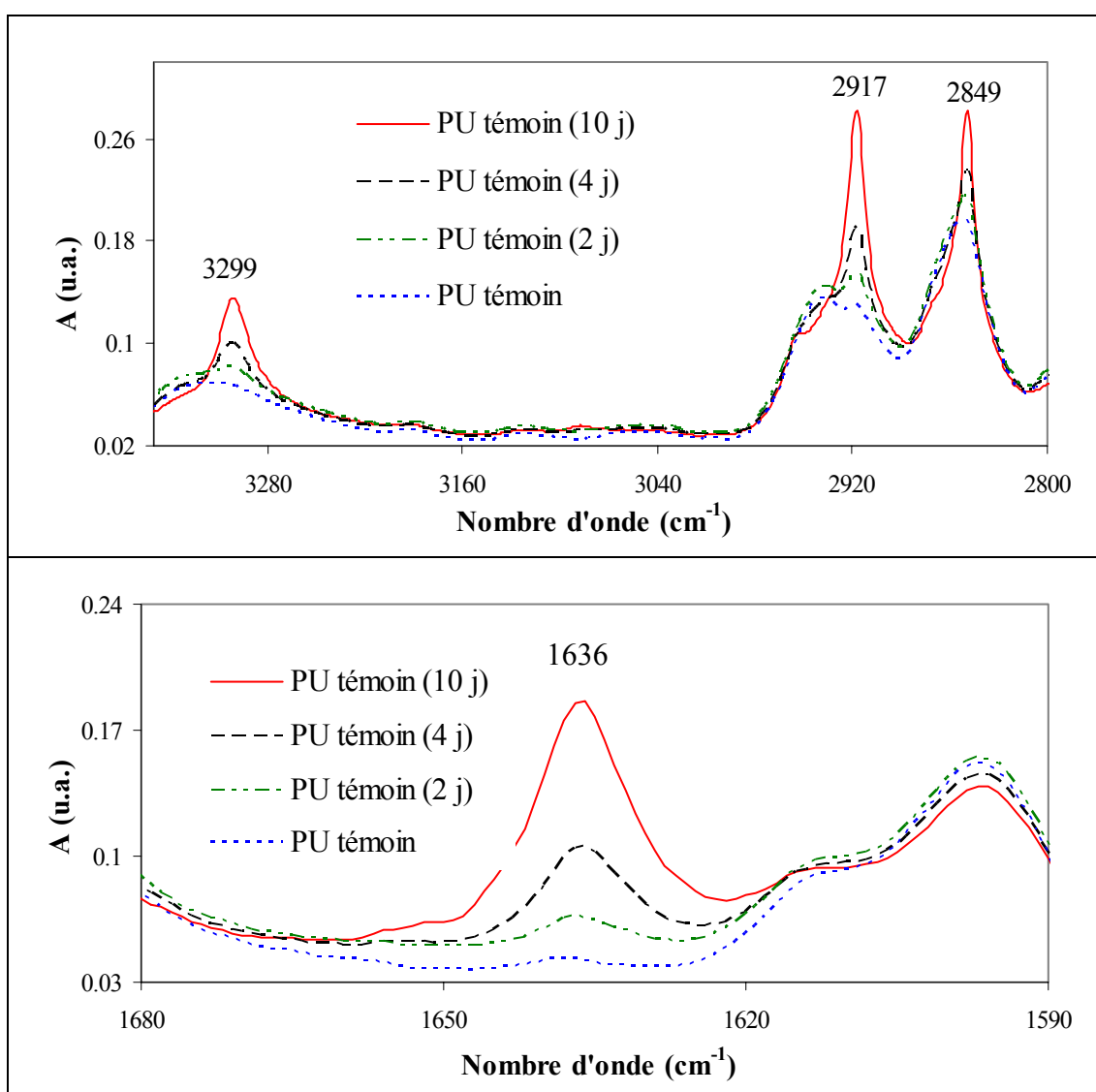


Figure VI.12 : Spectres ATR du PU témoin après incubation entre 2 et 10 jours dans le méthanol à 37°C

Dans le méthanol, on constate une augmentation rapide du taux de BES en surface les dix premiers jours de stockage. Pour un temps de stockage de 30 jours, le rapport des absorbances $1636/1596\text{ cm}^{-1}$ est augmenté d'un facteur cinq par rapport à ce qui est observé à deux jours de stockage, puis ce rapport semble décroître ensuite (Figure VI.13). La disparition progressive des bandes associées au BES indique certainement l'extraction quasi-totale du BES par le méthanol. Si l'on compare les incubations faites dans le sérum physiologique et le méthanol (Figure VI.13), on constate que le phénomène d'exsudation du BES est beaucoup plus important pour un stockage des cathéters dans le méthanol en raison certainement du meilleur pouvoir extractant de ce solvant. On peut par ailleurs noter que ce phénomène est assez hétérogène comme le suggère la forte dispersion des résultats.

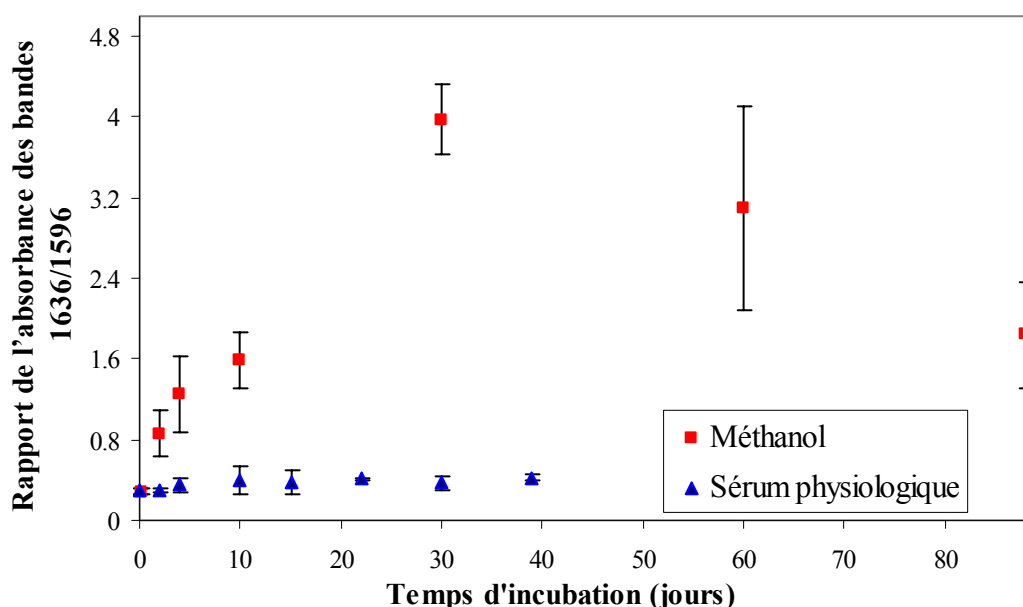


Figure VI.13 : Comparaison de l'évolution de la bande à 1636 cm^{-1} en fonction du temps d'incubation dans le sérum physiologique et le méthanol (pour un échantillon non traité). L'intensité de cette bande a été rapportée à celle d'une bande du PU (1596 cm^{-1})

Si l'on compare le comportement d'un échantillon de PU non traité à celui d'un traité 40 minutes au plasma, on remarque que ce phénomène d'exsudation semble moindre pour l'échantillon traité ; cependant en raison de la forte dispersion des résultats, l'écart n'est pas réellement significatif (Figure VI.14).

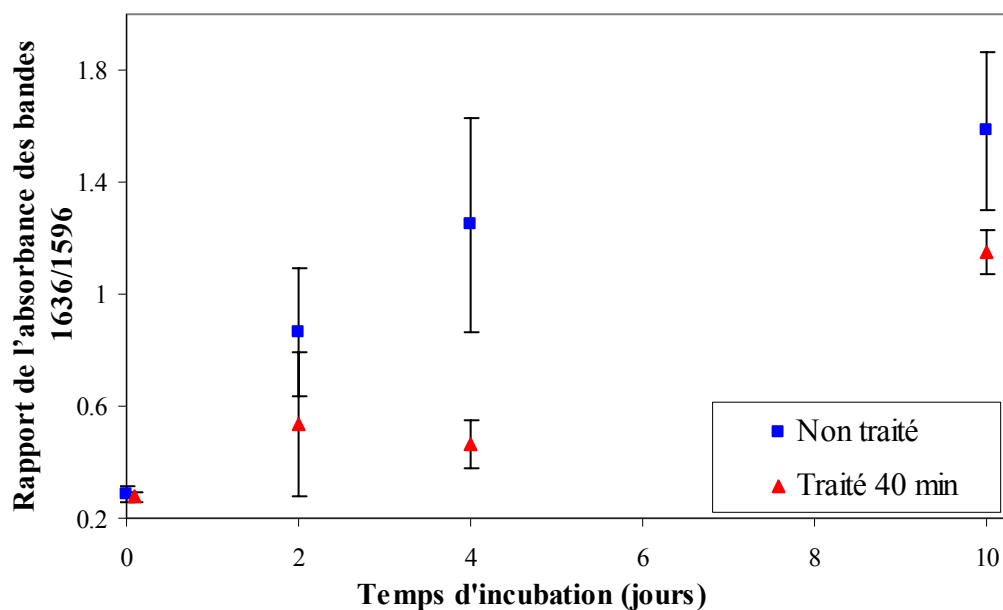


Figure VI.14 : Evolution de la bande à 1636 cm^{-1} avec le temps d'incubation dans le méthanol pour un échantillon traité et non traité au plasma.

L'intensité de cette bande a été rapportée à celle d'une bande du PU (1596 cm^{-1})

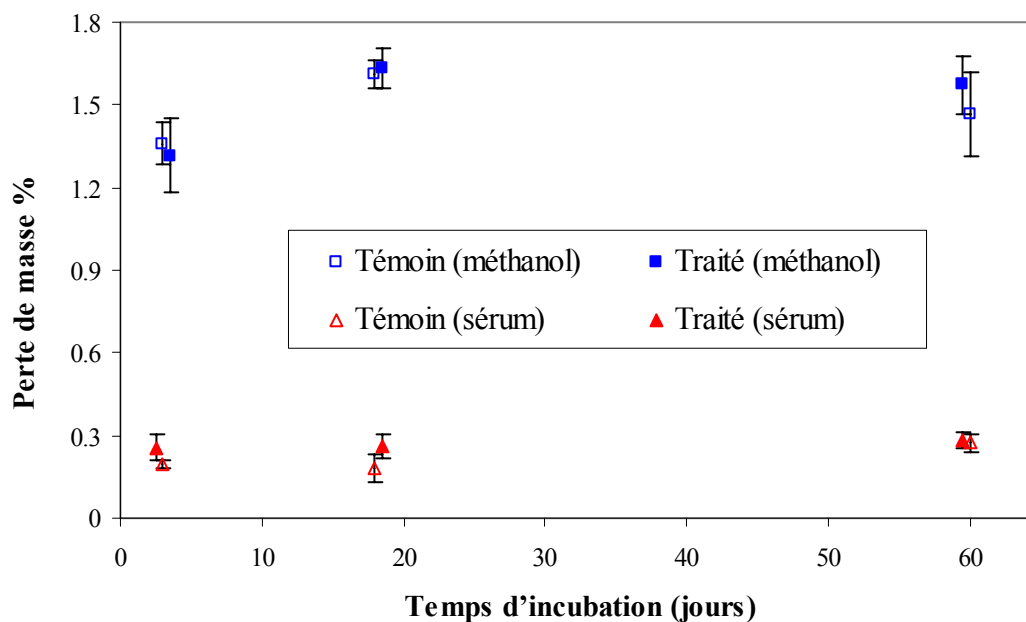


Figure VI.15 : Perte de masse (%) du cathéter de PU en fonction du temps d'incubation dans le sérum physiologique ou le méthanol pour des échantillons non traités et traités 40 minutes au plasma

2) une perte de masse du matériau

Cette perte de masse est très rapide puis se stabilise. Elle correspond à la migration dans la solution d'incubation d'oligomères et d'additifs (lubrifiant, antioxydants ...). Elle a été mesurée par pesée en utilisant la microbalance de l'ATG (Figure VI.15). Cette perte de masse est plus importante dans le méthanol ($\approx 1,5\%$) que dans le sérum physiologique ($\approx 0,25\%$). Par contre le traitement plasma n'a aucun effet sur cette perte de masse. Il est à noter que les valeurs trouvées dans le méthanol concordent avec celles trouvées par Ratner et al. [164].

3) une migration rapide des antioxydants du polymère (BHT et Irganox 1076®) du matériau dans le méthanol.

Les résultats sont analogues pour l'échantillon traité ou non traité au plasma. Cette étude a été menée par chromatographie liquide à polarité de phases inversée (RP HPLC) sur les solutions d'incubation. Le phénomène de migration est très rapide dans le méthanol car la totalité des antioxydants du PU migre au bout de deux jours d'incubation (la teneur trouvée pour les solutions correspond en effet à la quantité d'antioxydant mesurée dans l'échantillon de PU avant incubation). La teneur en BHT pour le matériau traité est légèrement supérieure à celle pour le matériau non traité. Cependant cette différence n'est pas significative. On observe en outre avec le temps une décroissance rapide du taux d'Irganox 1076® dans la solution d'incubation, ce qui montre une dégradation progressive de ce dernier dans le méthanol (Figure VI.16). Aucun pic associé aux produits de dégradations éventuels n'est cependant détecté pour une détection effectuée en UV à 280 nm. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de manière directe de migration dans le milieu aqueux : aucun pic caractéristique des antioxydants n'est en effet trouvé sur les chromatogrammes correspondant aux solutions de sérum physiologique ; on observe cependant après extraction des extractibles du matériau, une décroissance de 400 ppm en Irganox 1076® dans le polymère après une durée de 55 jours d'incubation. Ceci tendrait à indiquer l'existence d'une migration des antioxydants en milieu aqueux, plus lente que dans le méthanol, et suivie d'une dégradation de ces derniers. Dans ce cas la dégradation serait le moteur de la migration des antioxydants car ceux-ci sont très faiblement solubles en milieu aqueux. Ce phénomène de dégradation qui cause une disparition progressive des antioxydants en milieu aqueux a été constaté pour d'autres polymères décrits dans la littérature, contenant des antioxydants phénoliques dont l'Irganox 1076® [165-167].

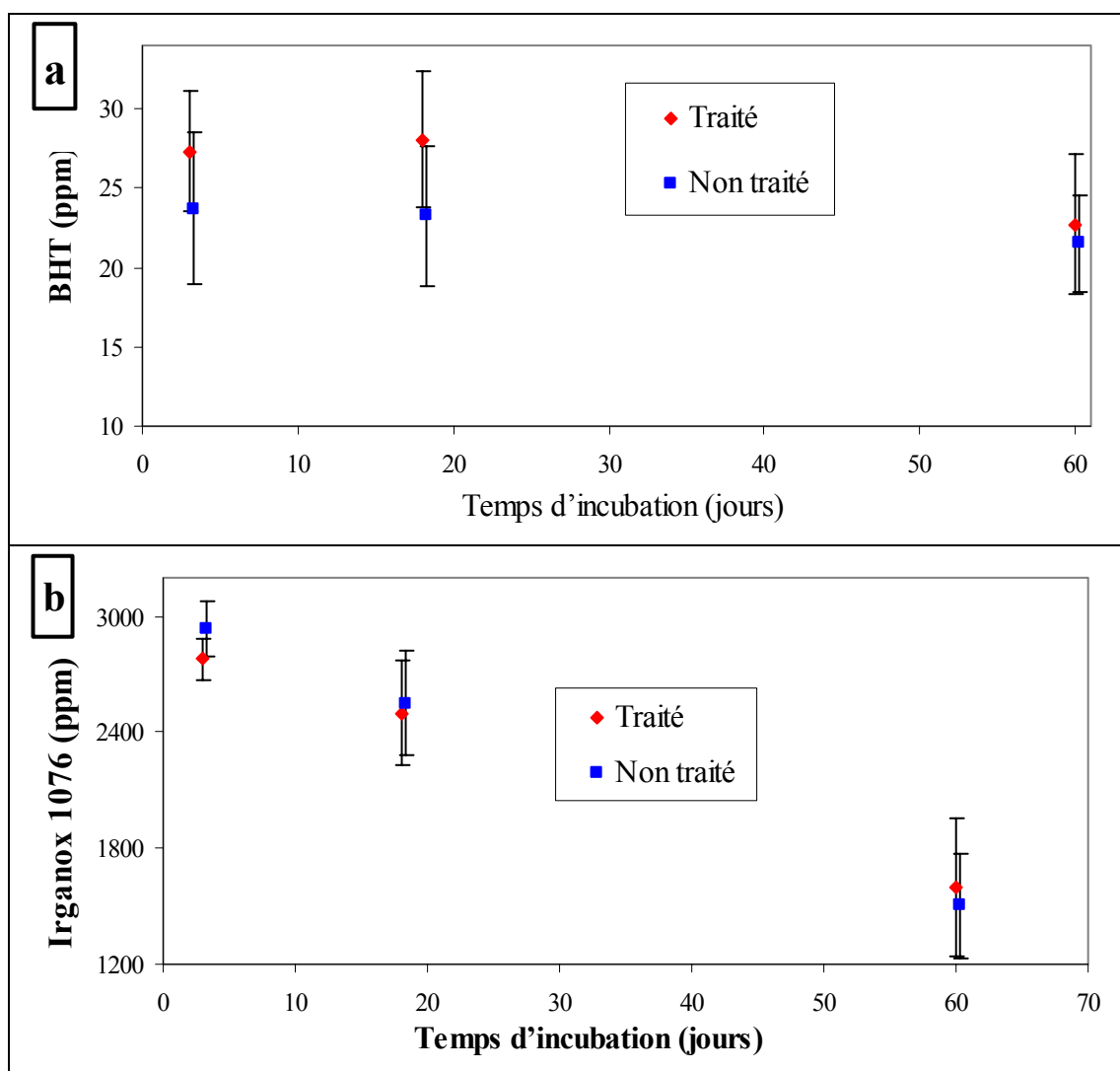


Figure VI.16 : Evolution de la teneur en antioxydants dans les solutions d'incubation (méthanol) en fonction du temps d'incubation **a) BHT** **b) Irganox 1076®**

4) la migration d'oligomères dans le méthanol (CES)

On observe pour les oligomères ayant migré en solution, une distribution assez complexe et large (Figure VI.17), avec des chaînes ayant des masses variant entre de 200 à 30 000 g/mol. Ces derniers correspondent aux oligomères résiduels et ne sont pas issus d'une dégradation du matériau durant l'incubation. L'analyse des masses du matériau incubé ne permet pas en revanche, de mettre en évidence de modification majeure de la distribution qui caractérise le polymère. Les phénomènes de migration sont là encore très rapides et n'évoluent plus après 2 jours d'incubation. Ces phénomènes sont identiques pour l'échantillon traité et non traité (Figure VI.18).

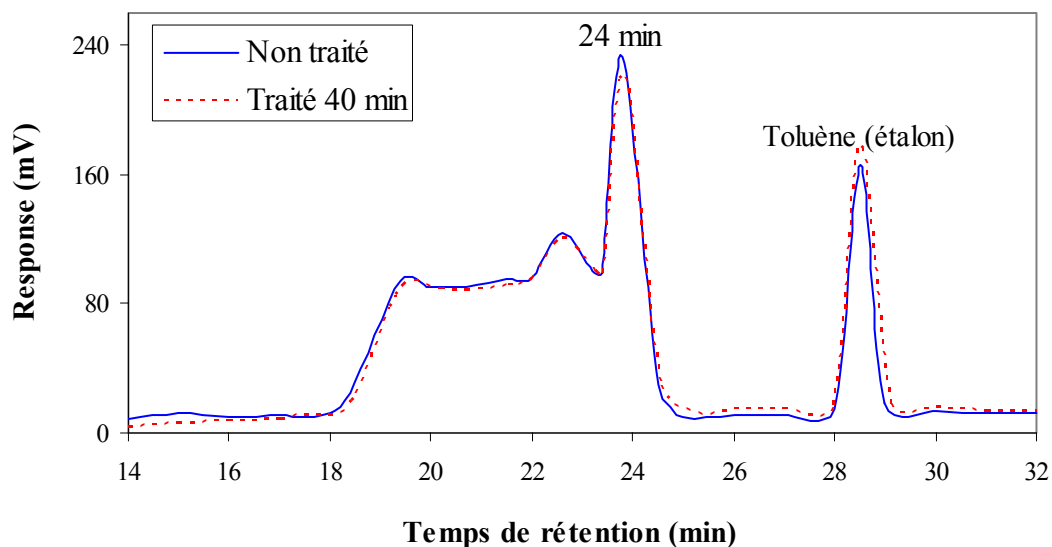


Figure VI.17 : Chromatogramme CES des oligomères ayant migré dans le méthanol pour un échantillon traité et non traité au plasma ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

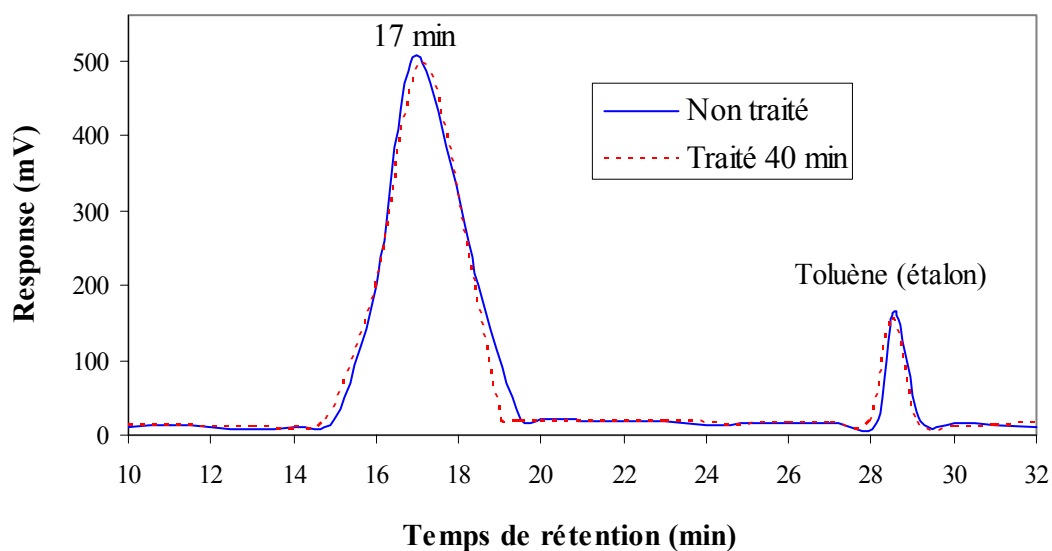


Figure VI.18 : Chromatogramme CES du cathéter incubé dans le méthanol pour un échantillon traité et non traité au plasma ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

VI.2.6 Conclusion

Cette étude montre que la matrice polymère n'est pas modifiée par le traitement plasma : l'organisation des chaînes polymères, leurs masses molaires restent identiques. Aucune dégradation n'a été mise en évidence sur les chaînes polymères ni sur les antioxydants contenus dans la matrice polymère. En outre, le traitement plasma ne modifie ni le taux, ni la

nature des espèces relâchées dans les milieux d'incubation étudiés (sérum physiologique et méthanol).

VI.3 Modifications engendrées sur la surface du matériau

Nous avons vu que le traitement plasma n'était responsable d'aucune dégradation du matériau. Ceci n'est pas surprenant car les traitements plasma sont connus pour n'affecter essentiellement que la surface du matériau traité.

La mise en évidence de l'influence d'un traitement de surface sur la biocompatibilité d'un matériau n'est pas une tâche aisée : elle requiert en effet de nombreuses mises à l'épreuve du matériau traité dans des environnements biologiques variés (cultures cellulaires, expériences animales, expériences cliniques humaines). Afin de caractériser les surfaces, de nombreuses techniques sont utilisées dont l'analyse chimique de surface (XPS), et l'observation de la mouillabilité de surface (mesure de l'angle de contact de divers liquides). Dans le cadre de ce travail, nous avons cherché à caractériser les modifications engendrées à la surface par le traitement plasma, puis à en évaluer les conséquences en terme de biocompatibilité en réalisant l'étude de l'adhésion d'une souche bactérienne (*Staphylococcus aureus*) sur nos échantillons traités au plasma. La plupart de ces analyses ont été réalisées pour des temps de traitement de 40 minutes et pour un débit de gaz de 40 L/min. Les mesures ont été effectuées juste après traitement. Le comportement des échantillons traités a été comparé à celui d'un échantillon témoin non traité. La justification du choix des temps et débit de traitement fera l'objet d'une partie spécifique (cf. VI.4 ; p.186).

Il convient de rappeler avant d'aborder cette partie que nous avons, dans le cas du cathéter de PU, mis en évidence une surface relativement complexe en terme de rugosité et d'homogénéité (présence d'amas d'antioxydants en surface ...). Il conviendra donc de garder à l'esprit, que nous sommes loin d'avoir une surface modèle, et que tous les résultats et notamment des calculs d'énergie de surface, doivent être replacés dans ce contexte.

VI.3.1 Mouillabilité

Le traitement plasma a un effet non négligeable sur la mouillabilité. Les photographies ci-dessous montrent le comportement d'une goutte d'eau déposée sur la surface du cathéter avant et après traitement. On voit que la surface traitée présente une meilleure mouillabilité à l'eau avec un angle de contact plus faible pour ce liquide Figure VI.19.

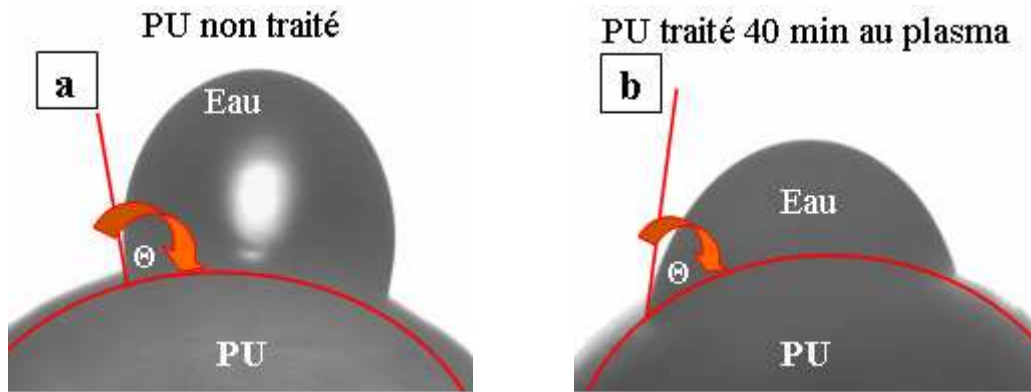


Figure VI.19 : Goutte d'eau déposée sur un cathéter de Pellethane®
 a) PU non traité b) PU traité 40 minutes

Le même phénomène est observé avec les deux autres liquides choisis (diiodométhane et éthylène glycol) pour faire les mesures d'angle de contact. Le Tableau VI-2 donne les angles de contact (Θ) avec les trois liquides, l'énergie de surface (σ_s) et la fraction polaire (σ_s^p/σ_s) pour les PU témoin et traité 40 min au plasma.

L'énergie de surface et la fraction polaire de cette énergie augmentent. Globalement, la surface devient plus polaire, plus hydrophile après le traitement. Ceci a été observé d'une manière générale par d'autres auteurs sur le polyuréthane traité par des plasmas d'azote [168-176].

Tableau VI-2 : Comparaison des angles de contact et de l'énergie de surface entre les tubes des PU traités et non traités			
	Liquides	Témoin	PU traité 40 min
Θ (°)	eau	96 ± 4	54 ± 3
	diiodométhane	61 ± 4	41 ± 4
	éthylène glycol	81 ± 4	47 ± 3
Energie de surface σ_s (mJ/m ²)		$25,4 \pm 2,1$	$47,4 \pm 2,0$
Fraction polaire σ_s^p/σ_s (%)		$4,6 \pm 1,6$	$34,9 \pm 0,7$

Pour expliquer cette modification, il est possible d'évoquer différents facteurs, qui peuvent intervenir de manière conjointe. Wilson [168] a notamment étudié les variations de mouillabilité sur des systèmes relativement analogues au nôtre (un polyuréthane exposé à un plasma de N₂) et a montré que les modifications suivantes étaient induites par le traitement plasma :

- greffage de fonctions azotées (démontré par analyse XPS) ;
- décapage des domaines les plus hydrophobes (polyéthers) en surface (visible en XPS et AFM) ;
- modification de la rugosité de surface (visible en AFM).

Ces modifications sont le fait des espèces actives générées par le plasma : le plasma est un milieu relativement complexe. Suite à la décharge, des ions N_2^+ , N^+ , des électrons, des radiations UV ainsi que des N_2 à l'état excité et de l'azote atomique sont formés. Toutes ces espèces sont réactives et peuvent interagir avec la surface suivant de multiples schémas réactionnels. Dans notre cas, comme nous travaillons dans la zone de post décharge, la concentration en espèces chargées sera relativement faible, et les principales espèces réactives seront les azotes atomiques. Il a été montré par Wagner et al. [177] que dans ce cas, les fonctions greffées étaient des groupements de type imine (groupement $C=N$).

D'autres facteurs que ceux précédemment cités, peuvent être envisagés dans notre cas, comme notamment une évolution de l'état de propreté de surface : les cathéters utilisés ne sont pas stériles et rien n'exclut la présence d'un biofilm initial ou d'autres contaminants de surface qui seraient modifiés ou détruits, partiellement ou totalement, par le traitement plasma. Dans le cas du polyuréthane, on sait en outre que sa polymérisation conduit à la production significative d'oligomères et de produits de faibles masse molaires qui sont connus pour influencer la composition à la surface (les PU ont généralement une distribution de masse relativement large et des réactions parallèles lors de la synthèse entraînent la formation d'allophanates et de structures biuret). L'extraction de ces composés du polymère au moyen de différents solvants montre, en effet, la présence d'oligomères riches en segments souples, d'allophanates, d'amides monosubstituées et de lubrifiants utilisés lors des mises en forme du matériau par extrusion [178] qui sont tous des composés pouvant facilement migrer en surface et modifier les propriétés superficielles du matériau. Pour le polyuréthane Biomer[®], il a montré que la surface est ainsi recouverte avec un film de polyéther et que pour certains lots la surface est polluée par des additifs [134]. Pour le Pellethane[®], Ratner et Briggs [164, 179] ont mis en évidence une fine couche de lubrifiant BES en surface par ESCA ou SIMS. Il est donc possible que le traitement affecte ces composés présents à la surface, et notamment dans le cas de notre matériau, les antioxydants dont nous avons mis en évidence la présence en surface du tube par microscopie optique et électronique.

Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués, des manipulations complémentaires (XPS, microscopie ...) ont été mises en œuvre.

VI.3.2 Microscopies

Les images obtenues par microscopie optique sur les échantillons de cathéter de Pellethane[®] traités, sont données dans la Figure VI.20. Celles obtenues par MEB sont présentées dans la Figure VI.21.

Si l'on compare ces images avec celles obtenues avant traitement (cf. Figure V.20 ; p.138) on ne note aucune différence significative. Les amas ne sont pas éliminés par le traitement et les structures d'aiguilles et de globules sont visibles avec toujours une prédominance nette des aiguilles pour le lot de 2004.

Le même résultat est visible par AFM (Figure VI.22).

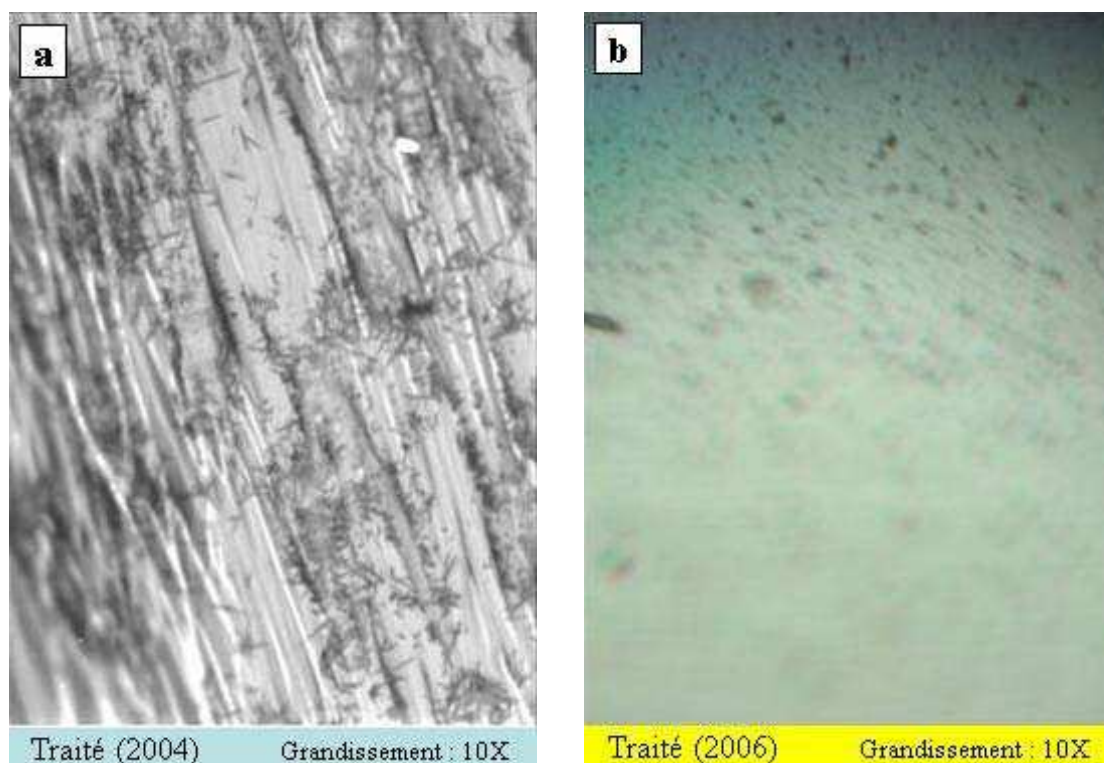


Figure VI.20 : Microscopie optique pour des PU traités 40 min au plasma
a) lot 2004 b) lot 2006

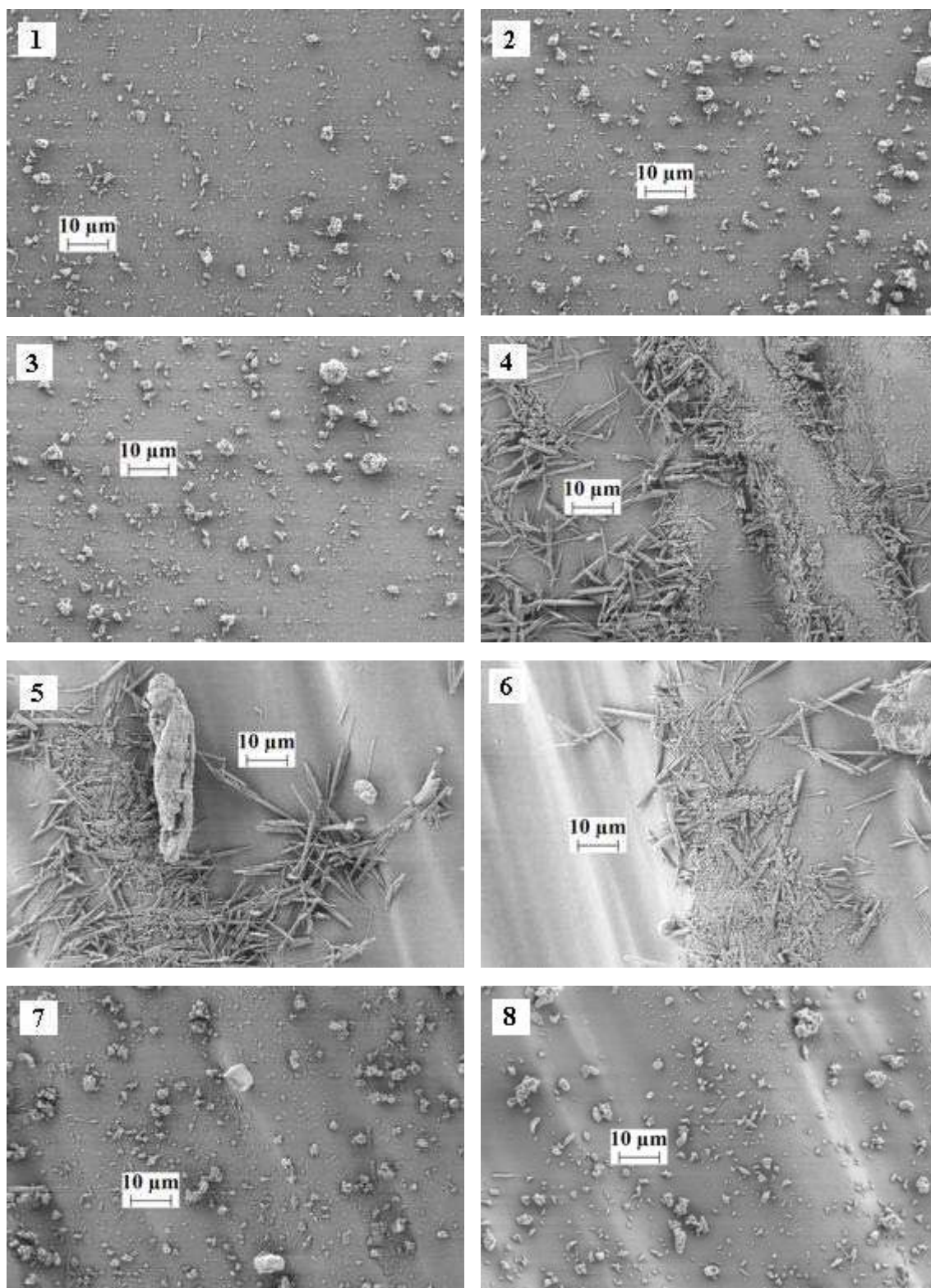


Figure VI.21 : Images MEB de la surface de cathéters de Pellethane[®] traités 40 minutes au plasma

Clichés 1 à 3 : lot de 2006 – clichés 4 à 8 : lot de 2004.(grandissement x 1000)

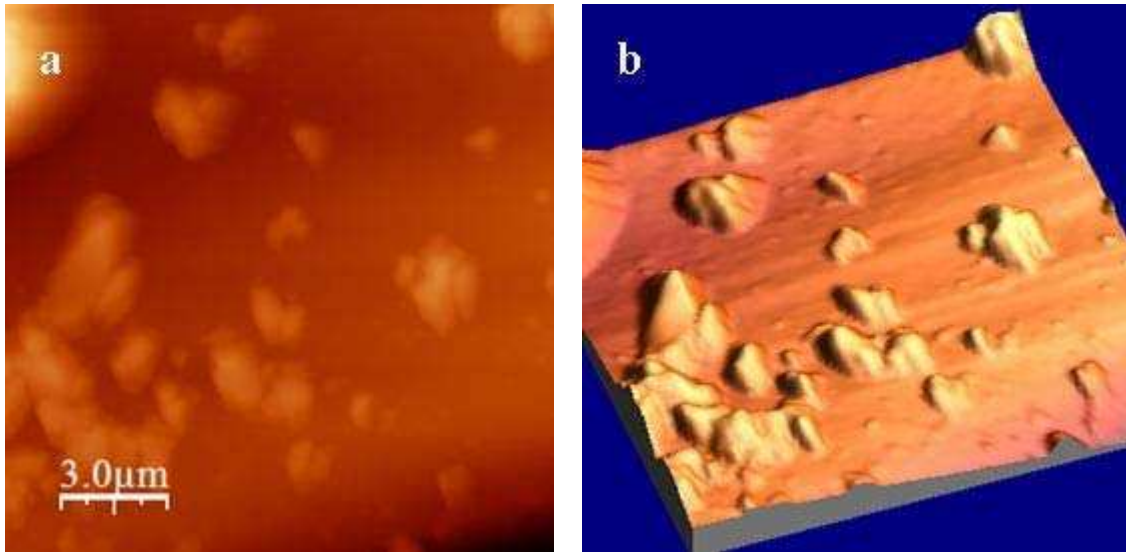


Figure VI.22 : Image AFM du PU traité 40 min

a) deux dimensions b) trois dimensions

VI.3.3 Effet d'un éventuel film de BES (lubrifiant) en surface du matériau

Ratner et al. ont [164] montré sur des échantillons de Pellethane[®] que l'interface avec l'air était en fait constituée d'une fine couche de lubrifiant BES. Afin de connaître le comportement du lubrifiant seul en terme de mouillabilité, nous avons réalisé à partir de la poudre de BES déposée sur une plaque de verre (type lame de microscope), des films de lubrifiant. Ces films ont été obtenus par fusion de la poudre de BES ($T_f = 140^\circ\text{C}$) au moyen d'une plaque chauffante sur laquelle était déposée la lame de verre. Nous avons ensuite étudié la mouillabilité de l'interface entre le film de BES formé et l'air en choisissant l'eau et le diiodométhane comme liquides de mouillage. L'énergie de surface des films non exposés au traitement plasma est de $25 \pm 2 \text{ mJ/m}^2$ soit une valeur analogue à celle obtenue pour la surface du cathéter dans les mêmes conditions de mesure ($25 \pm 2 \text{ mJ/m}^2$). Les plaques de verre recouvertes de BES ont été soumises à un traitement plasma analogue à celui effectué sur les cathéters de polyuréthane (40 minutes de traitement avec un débit d'azote de 40 L/min) mais en utilisant une chambre de traitement constituée d'un réacteur cylindrique (1500 cm^3) muni d'un porte-lame (Figure VI.23). A l'issue du traitement, la surface du BES devient plus hydrophile. L'énergie de surface est alors de $40 \pm 2 \text{ mJ/m}^2$, soit des valeurs proches de celles obtenues avec le cathéter dans les mêmes conditions ($42 \pm 2 \text{ mJ/m}^2$).

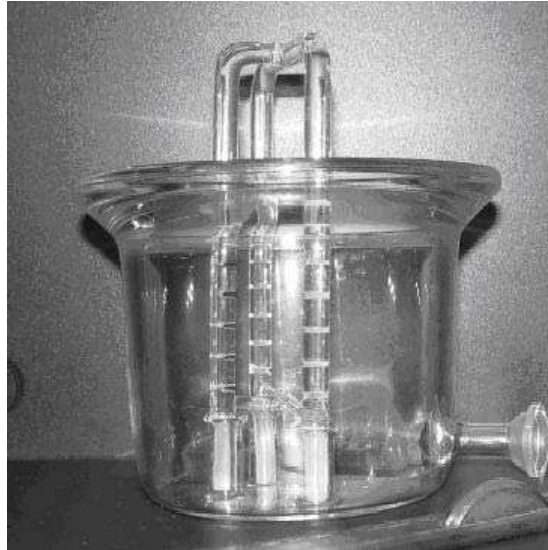


Figure VI.23 : Enceinte utilisée pour le traitement des lames recouvertes de BES (le réacteur a été photographié ouvert sans son couvercle avec le porte lame positionné en son centre)

Le comportement de la surface du cathéter est donc cohérent avec la présence d'une couche fine de BES à la surface de ce cathéter. Si cette couche de BES est présente sur la surface du cathéter, les variations de mouillabilité observées ne peuvent donc être expliquées par le décapage de cette couche de lubrifiant, puisque que ces mêmes variations sont aussi observées dans le cas où il n'y a que du BES.

VI.3.4 Nettoyage des surfaces

Afin de savoir si l'état de propreté de surface est susceptible de jouer un rôle dans les modifications de mouillabilité observées, différents nettoyages ont été mis en œuvre.

- un nettoyage à l'éthanol, susceptible de modifier la surface initiale du matériau en plus de détruire un éventuel biofilm. Ce nettoyage est effectué à température ambiante de la manière suivante : les tubes du PU ont été rincés 5 fois à l'éthanol et séchés sur papier absorbant.
- un nettoyage au RBS suivant un processus de décontamination utilisé pour des tests en microbiologie (cf. IV.6.1 ; p.105).
- un nettoyage à l'eau (les tubes du PU ont été rincés 5 fois à l'eau, et séchés sur papier absorbant).

Les angles de contact ont été mesurés pour les échantillons suivants : PU témoin, PU témoin nettoyé, PU traité, PU traité au plasma puis nettoyé et PU nettoyé puis traité.

Les résultats de mesures des angles de contact avec les nettoyages à l'éthanol, à l'eau et au RBS sont présentés, respectivement, dans les Figure VI.24, Figure VI.25 et Figure VI.26.

Les énergies de surface et les fractions polaires correspondantes sont regroupées dans les Tableau VI-3 et Tableau VI-4.

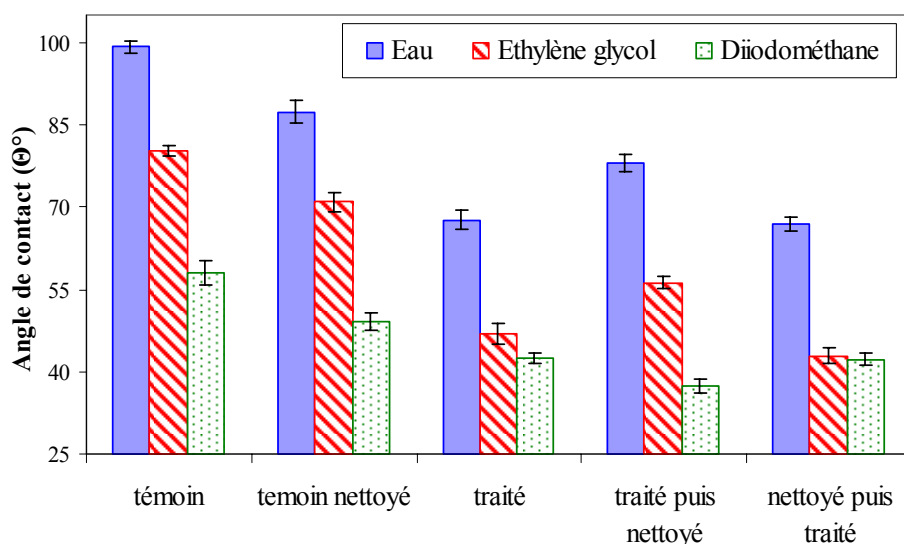


Figure VI.24 : Angles de contact pour les PU nettoyés à l'éthanol

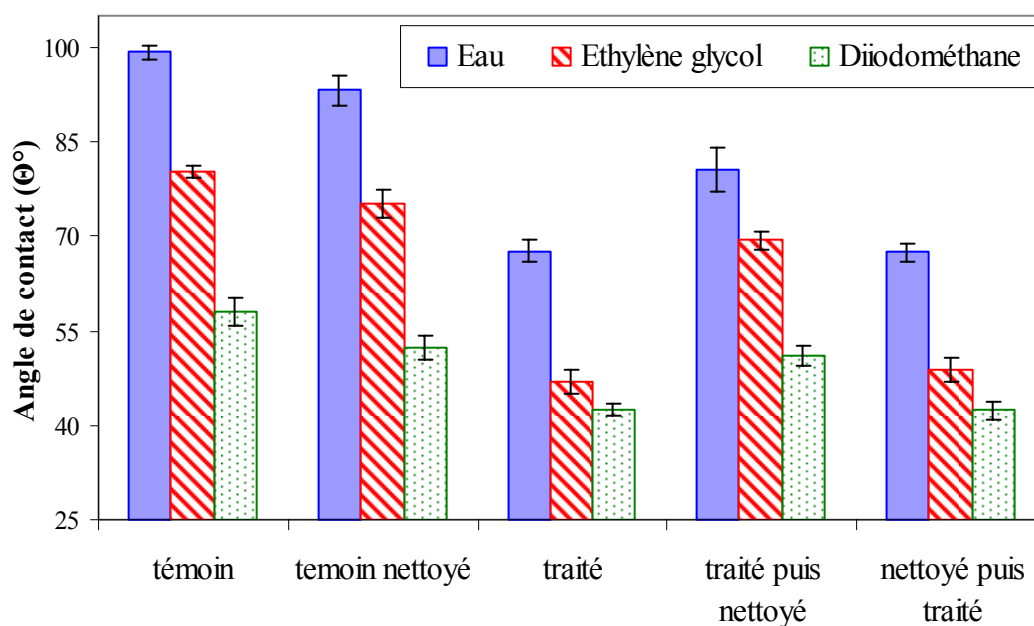


Figure VI.25 : Angles de contact pour les PU nettoyés à l'eau

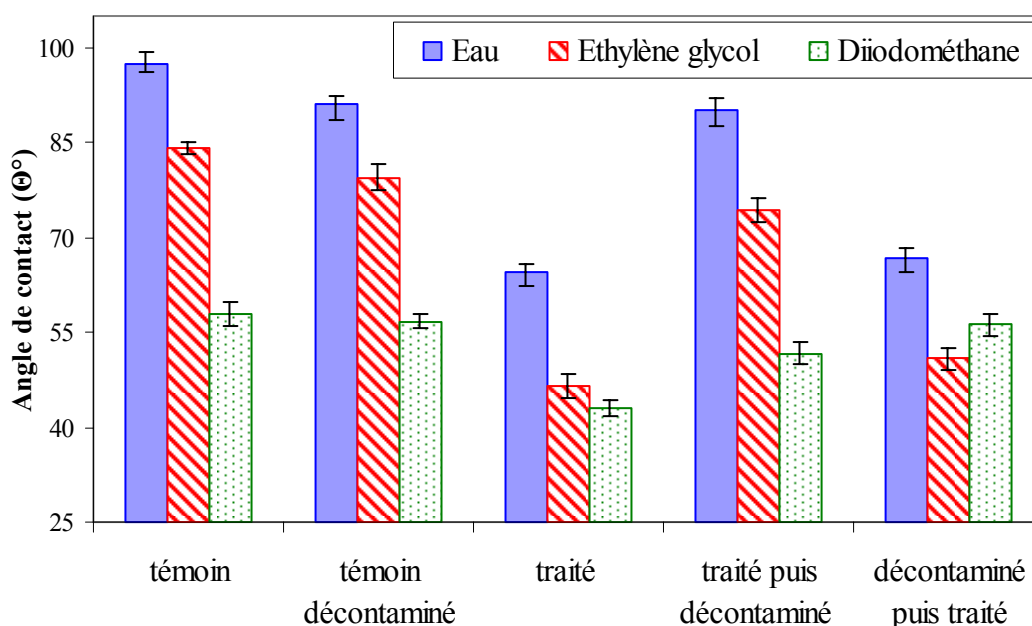


Figure VI.26 : Angles de contact pour les PU décontaminés au RBS

Tableau VI-3 : Energie de surface du PU

Energie de surface (mJ/m ²)	Témoin	Témoin nettoyé	Traité	Nettoyé puis traité	Traité puis nettoyé
Ethanol	26,8 ± 2,4	32,0 ± 2,8	42,6 ± 4,0	43,7 ± 4,2	39,9 ± 2,9
Eau	26,8 ± 2,3	29,9 ± 2,7	42,6 ± 4,1	42,2 ± 4,1	32,4 ± 3,1
RBS	25,6 ± 2,4	27,1 ± 2,5	43,4 ± 4,2	39,0 ± 3,2	30,2 ± 2,7

Tableau VI-4 : Fractions polaires

Fraction polaire σ_s^p / σ_s (%)	Témoin	Témoin nettoyé	Traité	Nettoyé puis traité	Traité puis nettoyé
Ethanol	2,0 ± 1,0	7,0 ± 3,0	21,3 ± 3,2	21,4 ± 3,2	10,0 ± 2,2
Eau	2,0 ± 0,9	4,0 ± 1,4	21,3 ± 3,3	21,7 ± 3,4	14,4 ± 2,4
RBS	3,2 ± 1,2	7,5 ± 2,9	24,8 ± 3,5	32,0 ± 4,2	5,8 ± 1,6

Nous remarquons que le nettoyage modifie légèrement l'état de surface avant traitement plasma, assez faiblement avec les nettoyages aqueux, un peu plus fortement avec l'éthanol ; dans tous les cas, l'énergie de surface et la fraction polaire augmentent avec une mouillabilité accrue des trois liquides utilisés (eau, diiodométhane et éthylène glycol). Il faut noter que l'éthanol est capable d'extraire les antioxydants qui ont été observés en

microscopie à la surface du matériau, et que ceci peut avoir bien sûr une influence sur les mesures de mouillabilité. Que la surface soit nettoyée ou non, on obtient quasiment les mêmes résultats en ce qui concerne les effets du traitement, sauf pour le nettoyage au RBS, pour lequel on observe un effet du traitement moindre (le RBS est un détergent alcalin qui contient des fonctions phosphates).

Par ailleurs nous avons étudié l'effet d'un nettoyage de la surface après traitement plasma. Le nettoyage avec une solution aqueuse relativement chaude tend à annihiler nettement l'effet du traitement (cas du nettoyage au RBS). Si on attribue une partie des variations de mouillabilité au greffage de fonctions azotées lors du traitement plasma, cet effet du nettoyage pourrait être attribué à une hydrolyse partielle de ces fonctions greffées par le traitement.

A la vue de ces résultats, l'effet du plasma ne peut être par ailleurs attribué à la seule destruction d'un biofilm à la surface du matériau.

VI.3.5 XPS

Afin de mettre en évidence les modifications chimiques engendrées à la surface par le traitement plasma (notamment le greffage de fonctions azotées), nous avons réalisé des spectres XPS avant et après traitement (Figure VI.27).

De la même façon que pour le lavage à l'alcool, on constate que la différence entre ces spectres réside dans le fait que le pic correspondant aux énergies de liaison du C1s des CH₂, est augmenté par rapport à celui de l'ester. Il semble donc que le plasma ait pour effet d'« enlever » en surface les fonctions polaires.

Nous n'avons pu mettre en évidence de greffage de fonctions azotées.

Le Tableau VI-5 regroupe donc les résultats des nombres d'atomes calculés selon les différents échantillons de Pellethane®.

<i>Tableau VI-5 : Nombres d'atomes calculés à partir des spectres XPS pour les PU traités et non traités</i>					
Echantillon	Nombre d'atomes			Rapport expérimental	
	O1s	C1s	N1s	C/O	C/N
Tube non traité	22	86	2	4	40
Tube traité plasma (J0)	18	84	2	5	40

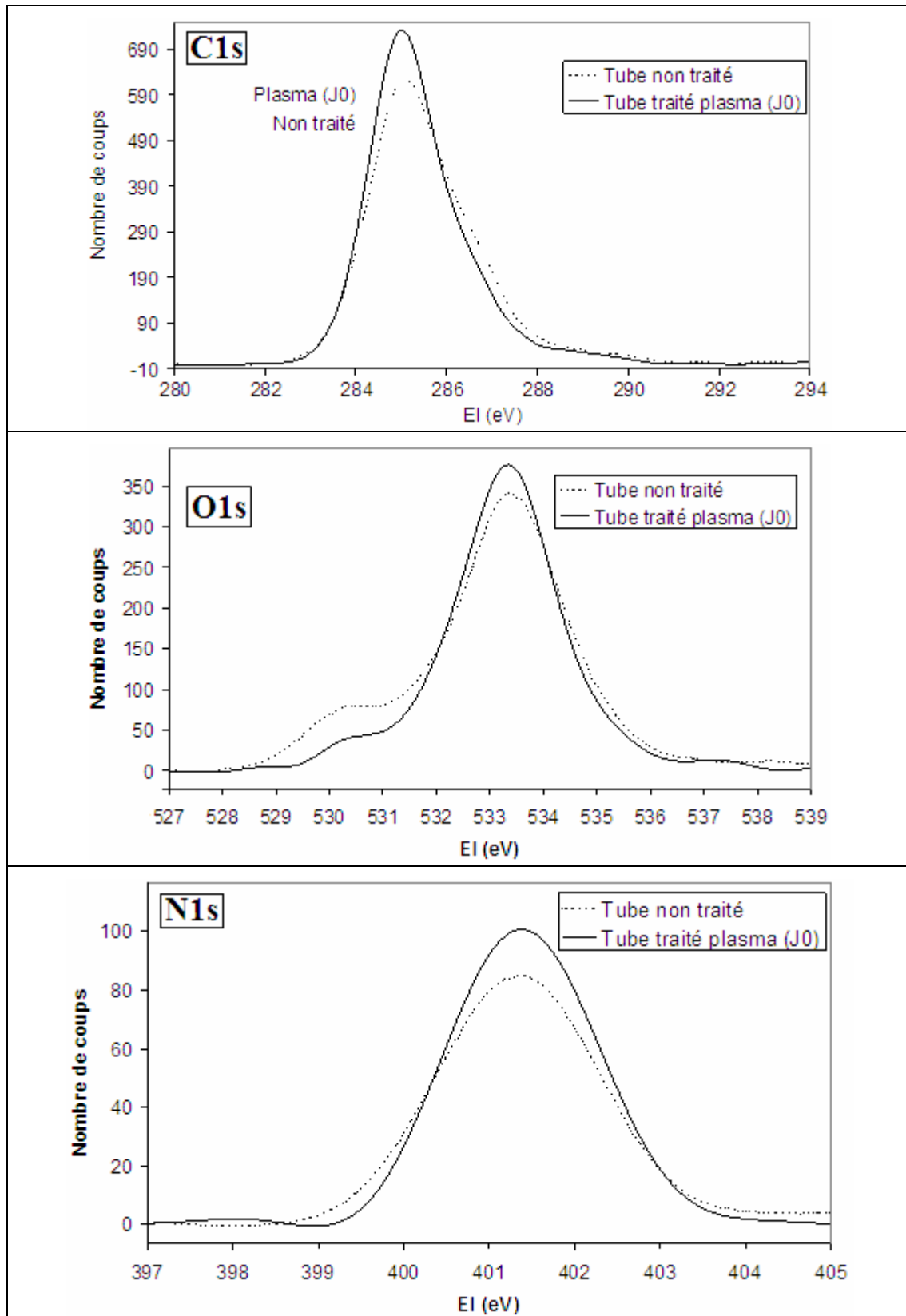


Figure VI.27 : Comparaison des spectres C1s, O1s et N1s, corrigés en énergie, des échantillons témoin et traités plasma (40 minutes, 40 L/min) et analysés 3h après le traitement

VI.3.6 Conclusion

Suite à cette étude, nous ne pouvons expliquer les variations de mouillabilité par un phénomène de décapage de la surface. En effet, nous avons montré que :

- les amas de surface, constitués en majorité d'Irganox 1076[®] sont toujours présents après le traitement ;
- les variations de mouillabilité observées ne peuvent s'expliquer par l'élimination de la couche de BES ;
- les nettoyages préalables de surface ne permettent pas d'obtenir des valeurs d'énergie de surface équivalentes à celles obtenues après traitement plasma. Elles révèlent certes une surface un peu moins hydrophobe après nettoyage, mais toujours plus hydrophobe que la surface non nettoyée et traitée au plasma. En outre les mouillabilités des surfaces traitées au plasma avec ou sans nettoyage préalable restent relativement proches.

L'explication des variations de mouillabilité par le greffage de fonctions azotées plus hydrophiles en surface paraît donc la plus plausible, même si nous n'avons pu la mettre en évidence par les mesures XPS réalisées en raison de la mauvaise résolution sur le matériau. Ce type de greffage suite à un traitement par plasma d'azote, est rapporté à plusieurs reprises dans la littérature, que ce soit pour des échantillons de polyuréthane, ou pour des échantillons à base d'autres polymères [177, 180, 181]. Cette hypothèse permet, en outre, d'expliquer le comportement de la surface nettoyée par des solutions aqueuses et notamment par des solutions aqueuses chaudes (cas du nettoyage au RBS). Dans ce cas, on retrouve, en effet, pour la surface traitée puis nettoyée une hydrophobie de la surface proche de celle de la surface initiale, alors que la mise en contact avec un milieu aqueux devrait au contraire favoriser un état de surface plutôt hydrophile. Une hydrolyse des fonctions azotées greffées permettrait d'expliquer ce type de comportement.

VI.4 Effets des différents paramètres du traitement plasma

Nous avons vu que la surface était modifiée par le traitement. Ces analyses ont été cependant réalisées sur un tube de PU, à un débit de gaz plasma précis (40 L/min) et pour des temps de traitement de 40 minutes. Mais quelle est l'importance du temps de traitement, du débit de gaz plasma sur les effets de ce traitement ? Ces effets sont-ils reproductibles d'un traitement

à l'autre ? Qu'entraîne la réalisation de plusieurs traitements successifs, ce qui sera le cas en milieu hospitalier ? Nous avons tenté de répondre à ces questions en suivant l'évolution de la mouillabilité en fonction de ces différents paramètres. La mouillabilité s'est en effet, révélée le paramètre le plus sensible et le plus discriminant pour mettre en évidence les effets du traitement plasma.

VI.4.1 Reproductibilité et homogénéité du traitement au plasma

Pour étudier l'homogénéité et la reproductibilité du traitement au plasma, nous avons exposé des tubes de PU au plasma pendant 40 minutes avec un débit de gaz de 40 L/min.

Pour vérifier l'homogénéité du traitement sur l'ensemble du cathéter, des mesures d'angle de contact ont été effectuées sur toute la longueur des tubes (à 1, 6, 11, 20 et 29 cm de la source du plasma) (Figure VI.28). Ceci a été effectué pour trois séries de trois tubes, afin de vérifier la reproductibilité du traitement plasma.

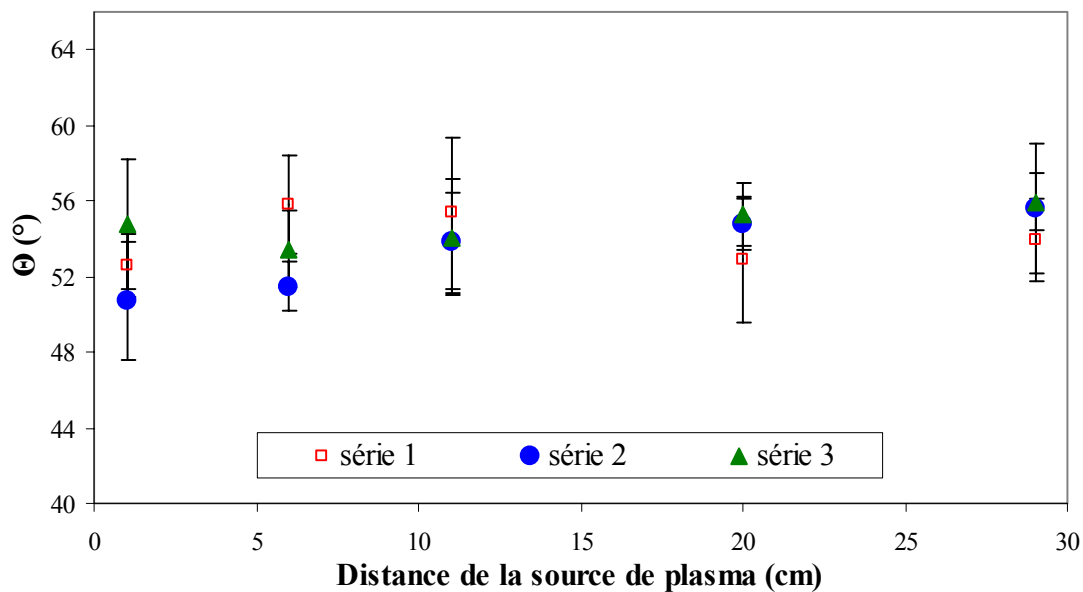


Figure VI.28 : Evolution des angles de contact en fonction de la distance à la source de plasma pour l'eau et pour trois séries identiques ($t=40$ min, $d=40$ L/min)

Pour les trois séries, les angles de contact et donc l'énergie de surface ont des valeurs très proches sur toute la longueur du tube (Figure VI.29). On peut donc dire que le traitement est reproductible et qu'il est homogène sur une longueur de 30 cm au moins.

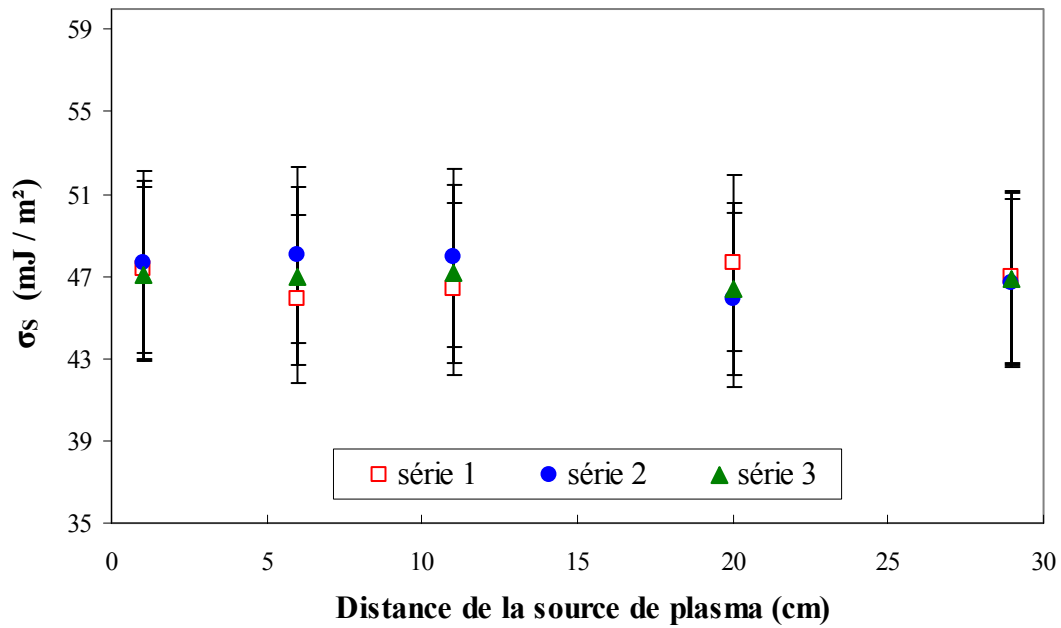


Figure VI.29 : Evolution des énergies de surface en fonction de la distance à la source de plasma ($t=40$ min, $d=40$ L/min) pour trois séries identiques

VI.4.2 Influence du nombre de traitements plasma successifs

Afin d'étudier l'influence de la réalisation de traitements plasma successifs sur le Pellethane[®], nous avons traité des tubes pendant 40 minutes à un débit de 40 L/min, en réalisant cinq traitements successifs. Entre chaque cycle de traitement, les tubes ont été stockés soit 24 heures à l'air à 25°C (2 séries réalisées), soit dans de l'eau distillée à 25°C (1 série), c'est-à-dire dans deux milieux de stockage potentiels en environnement hospitalier pour les gaines d'endoscope.

L'énergie de surface calculée après chaque traitement plasma est représentée sur la Figure VI.30. Le fait de réaliser plusieurs cycles de traitements successifs n'a aucun effet sur les variations de la mouillabilité. Les conditions de stockage n'ont, dans ce cas, pas d'influence.

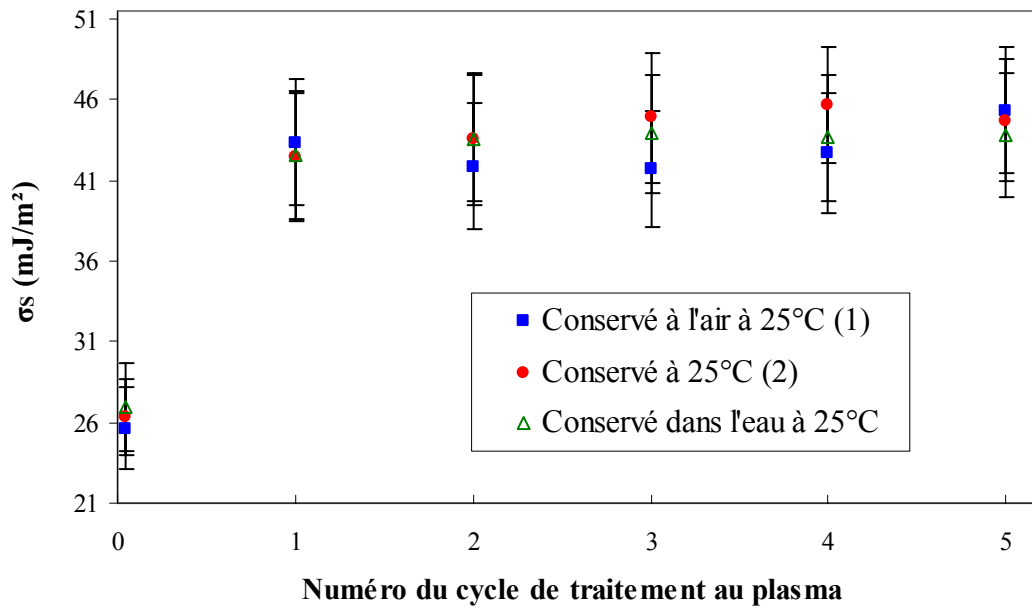


Figure VI.30 : Modification des énergies de surface lors de la répétition des cycles de traitement plasma

VI.4.3 Effet du débit d'azote

Le but de cette expérience est d'étudier l'influence du débit de N_2 sur l'homogénéité du traitement du tube de PU. Initialement un débit de 40 L/min avait été fixé par le LPGP.

Dans cette étude, nous avons exposé les tubes de PU au gaz plasma selon les conditions suivantes :

- un temps d'exposition de 40 minutes ;
- des débits d'azote différents : 5, 10, 20, 30 et 40 L/min.

Les mesures ont été effectuées sur les tubes placés à 1, 5, 10, 15, 21 et 29 cm de la source du plasma.

A partir de la mesure des angles de contact, nous avons calculé l'énergie de surface des tubes de PU. La Figure VI.31 représente pour chaque débit de gaz cette énergie de surface en fonction de la distance à la source.

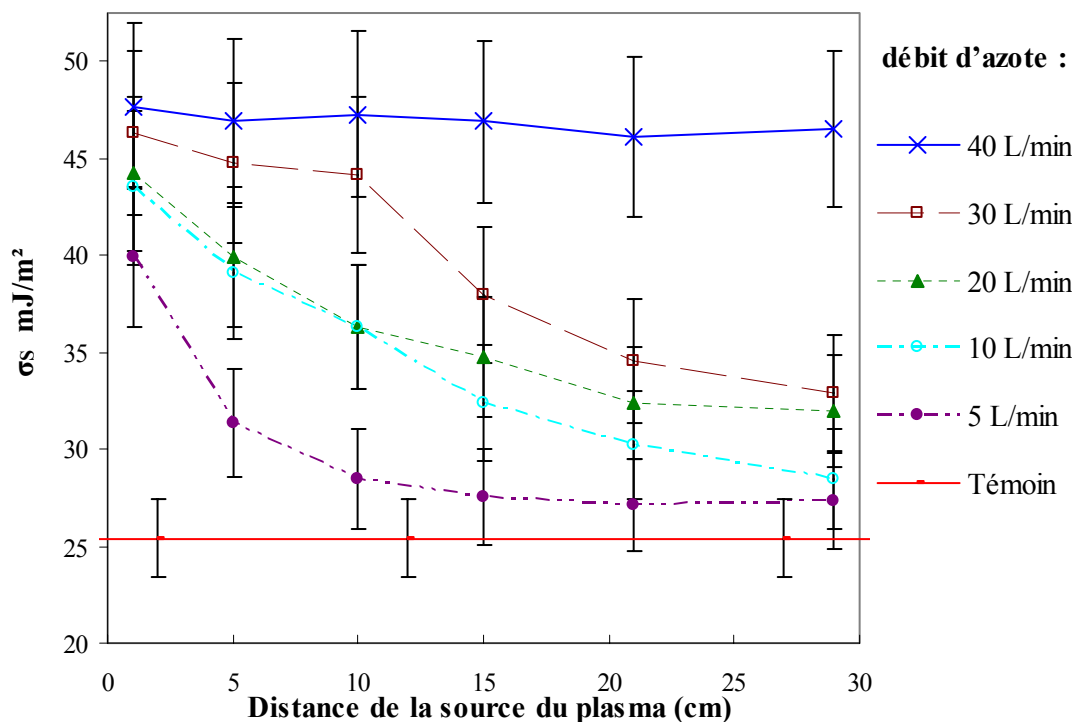


Figure VI.31 : Evolution des énergies de surface du PU en fonction de la distance à la source du plasma pour différents débits de gaz

L'étude à un débit de 40 L/min a montré que le traitement était homogène sur toute la longueur du tube (cf. Figure VI.29 ; p.188). Les résultats présentés dans la Figure VI.31 montrent qu'il n'en est pas de même pour des débits plus faibles. Nous remarquons en effet, pour des débits de 5, 10, 20 et 30 L/min, une influence significative de la distance à la source sur les valeurs d'énergie de surface. Pour les débits compris entre 30 et 40 L/min, l'effet du traitement plasma reste relativement important sur les premiers centimètres du tube mais devient moindre dès que l'on s'éloigne suffisamment de la source de la décharge. Pour les débits plus faibles, l'effet de la décharge sur la surface du tube chute très rapidement dès les premiers centimètres de tube traité. Par ailleurs, on peut constater que, d'une manière générale, quelle que soit la distance à la source, plus le débit est faible, moins la surface est modifiée. Ce phénomène s'accroît quand la distance à la source augmente. Pour de débit suffisamment faibles (5 L/min) et des distances à la source suffisamment grandes (> 10 cm), l'effet du traitement plasma peut même devenir négligeable.

Ces résultats peuvent s'expliquer : en effet, à faible débit, les espèces actives ont le temps de se recombiner dès les premiers centimètres de l'enceinte de post décharge, ce qui n'est pas le cas aux forts débits comme 40 L/min. Les espèces actives dans la zone de post décharge sont les azotes atomiques, qui sont issus de la dissociation du diazote par la

décharge plasma. Ces azotes atomiques sont donc responsables des modifications engendrées sur la surface du matériau et donc (théoriquement) des variations d'énergie de surface par rapport à un échantillon non traité. Cependant ces espèces peuvent se recombiner dans le volume de l'enceinte de post décharge et perdre ainsi leur réactivité vis-à-vis de la surface du matériau. Il a, en effet, été montré par l'équipe du LPGP [128] que la concentration d'azote atomique $[N]$ dans un tube placé dans la zone de post décharge dépend de l'éloignement à la source Z (Figure VI.32) et qu'elle peut s'exprimer sous la forme de l'Equation VI-1 (où a et b sont des constantes).

$$1/[N] = a + b.Z$$

Equation VI-1

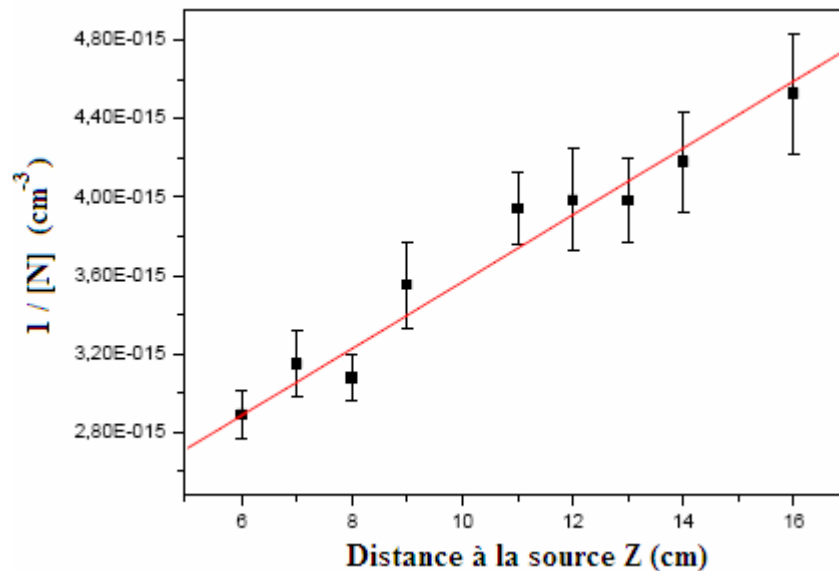


Figure VI.32 : Evolution de l'inverse de la concentration atomique en fonction de la distance à la source pour un débit de gaz de 40 L/min [128]

La constante b est inversement proportionnelle à la vitesse du gaz et donc au débit de gaz fixé. Plus le débit est important, plus le coefficient b est faible, et donc plus la concentration d'azote atomique à un Z donné est grande. Une plus grande concentration en azote atomique augmente les chances de modifier la surface et donc de modifier l'énergie de surface du matériau. En outre, si l'on s'intéresse aux variations de l'énergie de surface en fonction du volume de gaz V (donc du nombre n d'azotes atomiques qui vaut $[N]V$ mis en contact avec la surface durant le traitement pour un Z fixé, on s'aperçoit (Figure VI.33) que l'énergie de surface est proportionnelle à V ($Z < 30$ cm).

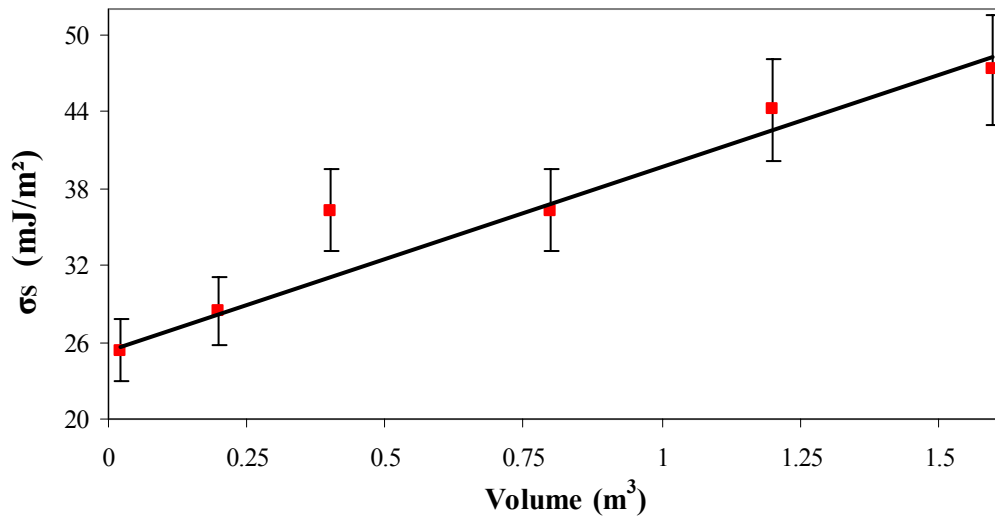


Figure VI.33 : Evolution du volume de gaz (V) en fonction de l'énergie de surface à 10 cm de la source ($V=\text{débit} \times \text{temps d'exposition}$)

Cette étude nous montre donc que le débit de 40 L/min doit être le débit minimum à appliquer afin de garantir un traitement homogène sur l'ensemble du tube. Ce débit étant déjà élevé, nous n'avons pas réalisé d'essais pour de plus forts débits (pour effectuer 5 traitements de 40 min à 40 L/min, une bouteille de diazote de 9,4 m³ est nécessaire). Pour de potentielles applications à des gaines d'endoscopes dont la longueur minimale est de 30 cm, il faudra donc vérifier que ce débit suffit toujours pour traiter de manière homogène toute la surface de la gaine.

VI.4.4 Effet du temps de traitement

Dans cette étude, nous avons maintenu le débit de gaz à 40 L/min et nous avons traité les tubes au plasma sur plusieurs temps d'exposition (5, 10, 20, 30, 40, 100 et 150 min).

Nous avons mesuré l'angle de contact des liquides déposés à la surface du tube de PU pour chaque temps de traitement au plasma (Figure VI.34). Quel que soit le liquide étudié, nous pouvons observer que l'angle de contact diminue lorsque le temps d'exposition au plasma augmente, et ce, jusqu'à atteindre une valeur minimum.

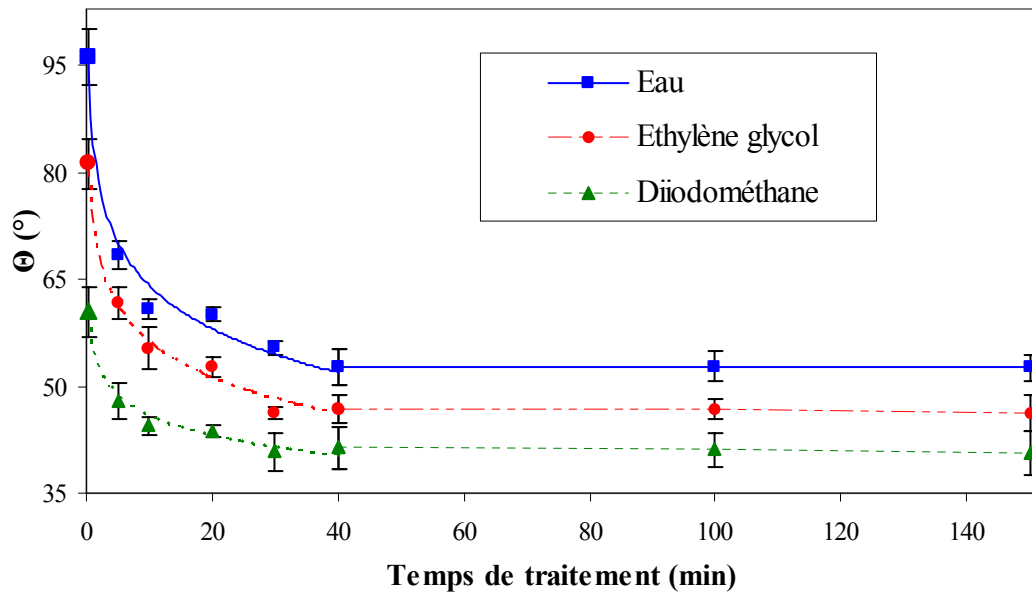


Figure VI.34 : Evolution de l'angle de contact des trois liquides sur la surface du PU en fonction du temps de traitement au plasma

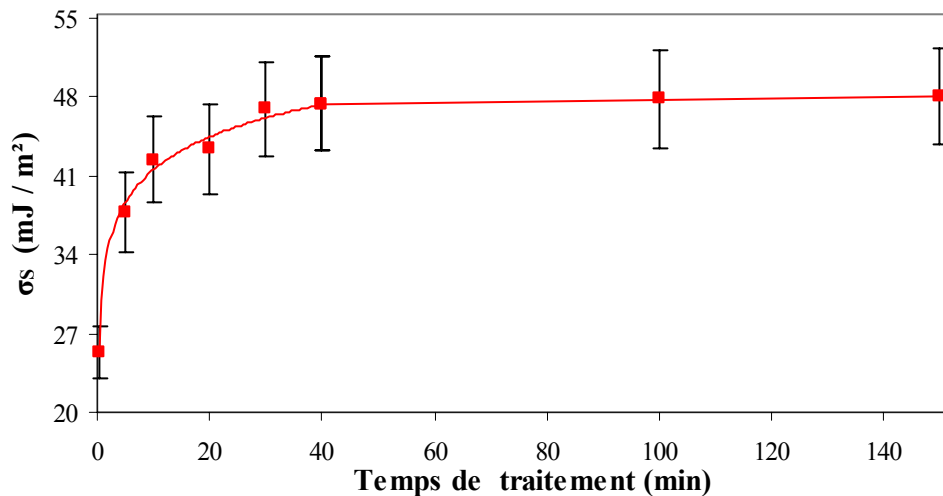


Figure VI.35 : Evolution de l'énergie de surface du PU en fonction du temps de traitement

Nous pouvons noter que la diminution de l'angle de contact est très importante pour les temps de traitement courts (< 10 min), mais que pour les temps supérieurs à 40 minutes il n'y a plus d'évolution de l'angle de contact. Le profil d'évolution de cet angle étant identique pour les trois liquides : l'énergie de surface (Figure VI.35) et la fraction polaire (Figure VI.36) augmentent avec le temps de traitement avant de se stabiliser après 40 min.

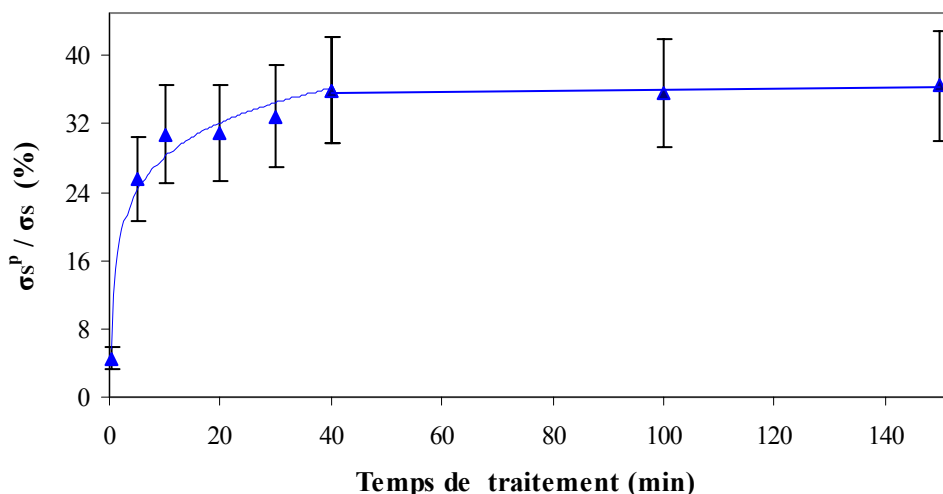


Figure VI.36 : Evolution de la fraction polaire en fonction du temps de traitement

L'absence de modifications ultérieures après un certain temps de traitement (40 min) peut s'expliquer. Si les modifications engendrées résultent du greffage de fonctions azotées, il est possible qu'après un certain temps de traitement, tous les sites potentiels de greffage aient été utilisés et que même en augmentant la durée du traitement, on ne puisse plus faire évoluer ce taux. En outre, ce type de comportement, où les effets du traitement plasma finissent par atteindre un palier au bout d'un certain temps de traitement, a aussi été rapporté par Wagner et al. [177] pour des échantillons de polyéthylène traités par un plasma d'azote (puissance 50 W – plasma RF). Après 15 minutes de traitement, le pourcentage d'azote incorporé aux films de polyéthylène (calculé à partir d'analyse XPS et résultant du greffage de fonctions imine) n'évolue plus : il atteint un palier situé autour de 13 %. Cette première phase est associée à une forte décroissance, avec le temps de traitement, de l'angle de contact avec l'eau (augmentation très nette du caractère hydrophile de la surface avec un angle de contact avec l'eau qui chute de presque 40° après 10 minutes de traitement). Cet angle de contact se stabilise ensuite et n'évolue pratiquement plus avec le temps de traitement (une très légère décroissance est cependant observée, de l'ordre de 0,15°/minute de traitement, mais elle est associée, dans ce cas, avec une évolution de la morphologie de surface sous l'effet des électrons formés dans la décharge). Wagner explique ce phénomène de palier par une compétition entre, d'une part, le greffage de fonctions azotées et, d'autre part, le décapage de la surface par les ions créés par la décharge. Il s'appuie notamment sur les travaux de Foerch et al. [182] qui ont montré que, dans le cas d'un traitement par plasma d'azote, plus on s'éloigne de la source du plasma, plus le taux de greffage des fonctions azotées augmente et que ceci est à corrélérer avec le décapage de la surface par les ions de la

décharge, espèces chargées dont la concentration diminue fortement dès qu'on s'éloigne de la source de la décharge.

VI.4.5 Conclusion

Le traitement plasma est reproductible mais afin d'obtenir un traitement homogène sur l'ensemble du tube, il faut choisir des débits de gaz plasma de l'ordre de 40 L/min. Quant aux modifications engendrées par le traitement, elles n'évoluent plus passées 40 minutes de traitement. Nous réaliserons donc la majorité des études ultérieures en utilisant cette durée d'exposition.

VI.5 Evolution de la surface après traitement plasma

Les effets du plasma ne sont pas permanents. En fonction de l'environnement, du temps de traitement, de la nature du polymère traité et du type de gaz utilisé pour le traitement plasma [180, 183], l'état de la surface traitée peut évoluer voire revenir à son état initial d'avant traitement. Cette évolution est le fait, notamment, de la réorientation de certains groupements en surface pour atteindre une configuration énergétique plus favorable. Wilson et al. [168] ont étudié les effets du vieillissement sur des échantillons de polyuréthane (BDI/PTMG/BDO) après des traitements plasmas effectués à l'aide de différents gaz, dont l'azote. Suite au traitement par plasma d'azote, ils ont montré que la surface du PU, initialement plutôt hydrophobe, devenait plus hydrophile. Mais après un mois de stockage à l'air, les échantillons de polymère traités au plasma d'azote et stockés à l'air, tendaient à redevenir aussi hydrophobes qu'avant traitement, en raison de la disparition progressive de la surface des groupements polaires azotés greffés par le traitement plasma. Gerenser et al. [184] ont, par ailleurs, montré sur d'autres polymères (polystyrène, polyéthylène et polyéthylène téréphtalate), que le vieillissement après traitement plasma des échantillons suivait un processus en deux étapes : une première étape rapide suivie d'une seconde beaucoup plus lente. Dans le cas des plasmas d'azote, la première phase a été associée à l'hydrolyse des fonctions imines greffées lors du traitement plasma. Mais pour d'autres types de gaz, Gerenser et al. ont montré que cette phase peut résulter d'autres phénomènes : en particulier, dans le cas d'un stockage à l'air de l'échantillon traité, il est possible d'observer une adsorption relativement rapide de contaminants atmosphériques. La deuxième phase, plus lente, a pour moteur soit la réorganisation de la surface, soit la diffusion dans la masse

du polymère, d'espèces de faible masse molaire issues de la dégradation du matériau suite au traitement plasma (d'après Gerenser, les polymères traités avec N_2 ne connaîtraient pas une telle diffusion), soit, enfin, des mouvements macromoléculaires permettant une réorientation des groupements polaires [184, 185].

Nous avons donc cherché à estimer, dans nos conditions d'étude, l'effet du vieillissement après traitement plasma sur les cathéters de polyuréthane. Pour cela deux types de milieux ont été utilisés :

- des milieux à humidité relative (HR) et température (T) contrôlées (0 à 90 HR - 25°C et 45°C).
- des milieux liquides : méthanol et eau.

VI.5.1 Comportement dans des milieux de température et d'humidité contrôlées

Les angles de contact des liquides sur la surface des PU (témoins non traités et échantillons traités) ont été mesurés juste après traitement au plasma puis après différents temps de conservation (variant de quelques heures à plusieurs mois). Les énergies de surface et les fractions polaires ont été calculées pour chaque temps de stockage.

VI.5.1.1 Evolution des angles de contact et des énergies de surface après traitement

Nous avons suivi cette évolution durant plus de cinq mois pour un échantillon traité 40 minutes au plasma et stocké à 75 % d'humidité relative et à une température de 25°C. Le comportement durant le stockage a été comparé à celui d'un échantillon témoin non traité et stocké dans les mêmes conditions de température et d'humidité.

La Figure VI.37 montre l'évolution de l'angle de contact de l'eau avec la surface de tube traité et non traité. Il semble que l'angle de contact pour les tubes non traités (Tableau VI-6) ait une valeur constante (d'environ 95° avec l'eau). Au contraire, pour les échantillons traités, l'angle de contact augmente avec le temps t de stockage (Tableau VI-7) en suivant une loi de type puissance. Les valeurs des angles de contact tendent à rejoindre progressivement ceux des angles de contact des cathéters de PU témoin, même si au bout de 160 jours l'angle avec l'eau de contact n'est encore que de 87°. Un comportement similaire est observé avec les deux autres liquides utilisés pour l'étude de mouillabilité.

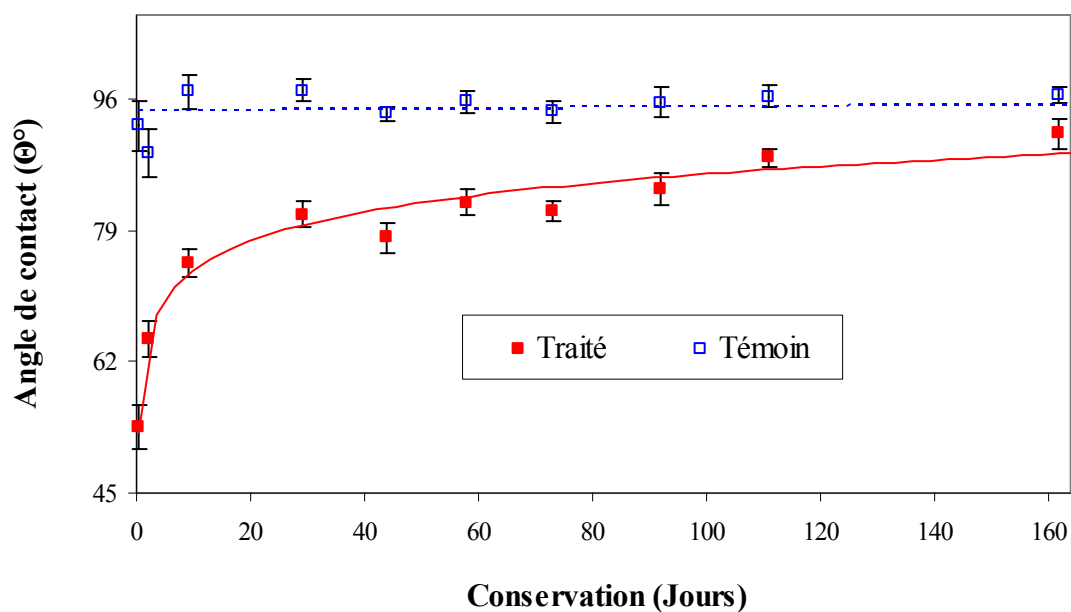


Figure VI.37 : Evolution des angles de contact de l'eau sur la surface des PU témoins et traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)

Temps de stockage (jours)	Angles de contact Θ (°)			Energies de surface (mJ/m ²)	Fractions polaires σ_p^s/σ_s (%)
	Eau	Diiodométhane	Ethylène glycol		
0	93 ± 3	61 ± 4	81 ± 2	25 ± 2,7	8,0 ± 1,2
2	89 ± 3	62 ± 2	81 ± 3	25,1 ± 1,6	9,7 ± 1,0
9	97 ± 2	61 ± 3	79 ± 2	25,9 ± 1,3	4,0 ± 0,6
29	97 ± 2	59 ± 2	81 ± 2	26,3 ± 1,2	3,3 ± 0,3
44	94 ± 1	57 ± 3	80 ± 1	26,9 ± 1,5	4,9 ± 0,6
58	96 ± 1	58 ± 3	81 ± 2	26,4 ± 1,5	4,2 ± 0,1
73	94 ± 1	57 ± 2	77 ± 2	27,7 ± 1,1	4,5 ± 0,2
92	96 ± 2	58 ± 2	78 ± 2	27,0 ± 1,2	4,1 ± 0,7
111	96 ± 1	57 ± 1	78 ± 2	27,6 ± 0,7	3,2 ± 0,5
162	97 ± 1	58 ± 1	80 ± 2	26,8 ± 1,0	3,4 ± 0,1

Tableau VI-7 : Angles de contact, énergies de surface et fractions polaires des PU traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)					
Temps de stockage (jours)	Angles de contact Θ (°)			Energies de surface (mJ/m ²)	Fractions polaires σ_p^S/σ_S (%)
	Eau	Diiodométhane	Ethylène glycol		
0	54 ± 3	41 ± 2	40 ± 3	48,9 ± 1,9	33,7 ± 1,4
2	65 ± 2	46 ± 2	58 ± 1	40,0 ± 1,5	27,7 ± 1,3
9	75 ± 2	47 ± 1	57 ± 2	37,6 ± 1,0	16,9 ± 1,3
29	81 ± 2	45 ± 1	65 ± 2	35,2 ± 0,9	10,6 ± 0,9
44	78 ± 2	47 ± 4	66 ± 1	34,7 ± 1,7	14,7 ± 0,1
58	83 ± 2	51 ± 2	70 ± 3	32,0 ± 1,5	12,2 ± 0,4
73	82 ± 1	47 ± 1	68 ± 2	33,9 ± 1,2	11,2 ± 0,5
92	84 ± 2	49 ± 1	71 ± 1	32,2 ± 0,9	9,6 ± 1,1
111	89 ± 1	49 ± 1	73 ± 2	31,5 ± 0,8	6,2 ± 0,5
162	92 ± 2	54 ± 2	76 ± 1	29,2 ± 0,8	5,5 ± 0,8

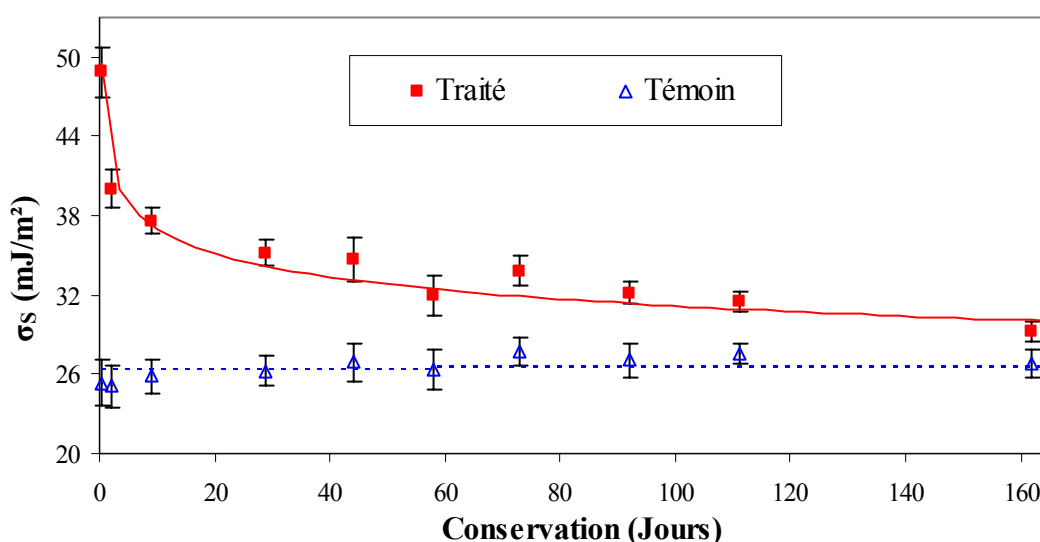


Figure VI.38 : Evolution des énergies de surface des PU témoins et traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)

L'évolution des énergies de surface et des fractions polaires, dont les valeurs sont obtenues par calcul à partir des mesures d'angle de contact, sont respectivement représentées sur la Figure VI.38 et la Figure VI.39. Les énergies de surface du témoin restent toujours voisines de 25 mJ/m² et les polarités des échantillons témoins sont faibles quel que soit le

temps de stockage (Tableau VI-6). En revanche, pour les échantillons traités, les fortes polarité et énergie de surface sont observées juste après traitement du cathéter diminuent avec le temps de stockage jusqu'à atteindre les valeurs obtenues pour le PU témoin.

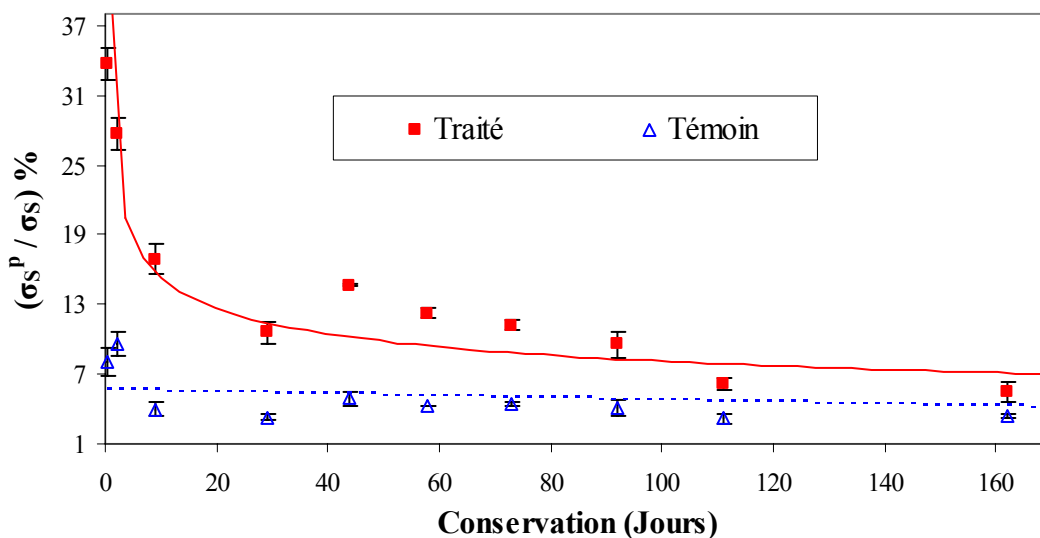


Figure VI.39 : Evolution des fractions polaires des PU témoins et traités en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)

Nous avons comparé notre cinétique aux courbes d'évolution de Gerenser [180] qui représentent l'évolution du taux d'espèces azotées incorporées à la surface de PET et de PS après traitement plasma à l'azote (suivie par XPS) en fonction du temps de stockage, pour des conditions de stockage (25°C et 40 % HR) assez proches des nôtres. Tout comme pour nos échantillons, une modification importante de la surface durant les tous premiers jours de stockage a été observée : en raison d'un phénomène d'hydrolyse des fonctions azotées greffées lors du traitement [181], la teneur en espèces azotées a chuté brutalement durant les premiers jours de stockage. Par la suite, la teneur en espèces azotées est restée stable au cours du temps. Ce processus peut être décrit par les deux équations suivantes (Equation VI-2 et Equation VI-3) [180].



La première réaction résulte en une perte d'atomes d'azote à la surface du polymère ; pour la seconde, comme R' peut être un fragment de chaîne polymère, le groupement NH_2 formé peut donc rester dans certains cas attaché à la chaîne polymère. La moindre polarité

des groupements carbonyle formés par rapport aux groupements imine greffés initialement permet d'expliquer les variations de mouillabilité que nous observons avec le temps de stockage.

Dans notre cas, nous avons, pour les angles de contact, une première phase rapide (pour des temps inférieurs à 9 jours) avec une modification importante de la mouillabilité, qui pourrait correspondre à cette première phase d'hydrolyse ; cependant, après cette première évolution rapide, notre surface continue d'évoluer, mais cette fois de manière relativement lente. Les évolutions plus lentes sont généralement expliquées par des phénomènes de réorientation des chaînes, qui se produisent afin que la surface présente une énergie de surface minimale. Dans notre cas, cette réorientation pourrait notamment concerner les groupements NH_2 attachés aux chaînes polymères et formés par hydrolyse de fonctions greffées imine non terminales. Afin de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu lors de ces deux phases d'évolution, des mesures ont été réalisées en XPS afin de connaître l'évolution de la chimie de surface, et nous avons étudié l'influence de différents paramètres de stockage sur l'évolution post traitement de la mouillabilité.

VI.5.1.2 Analyse XPS des surfaces stockées

Si l'on compare les spectres des échantillons traités au plasma, analysés quelques heures après traitement et 3 jours après traitement, on ne constate pas de différence si ce n'est sur la diminution de la contribution des O1s de l'ester trois jours après le traitement plasma (Figure VI.40 ; Tableau VI-8). Il est donc difficile de corréliser ces résultats avec ceux obtenus en mouillabilité qui montraient un net retour de la polarité de surface vers l'état initial après 48 heures de stockage.

<i>Tableau VI-8 : Nombres d'atomes calculés à partir des spectres XPS pour les PU traités</i>					
Echantillon	Nombre d'atomes			Rapport expérimental	
	O1s	C1s	N1s	C/O	C/N
Tube traité plasma (J0)	18	84	2	5	40
Tube traité plasma (J3)	17	88	2	5	41

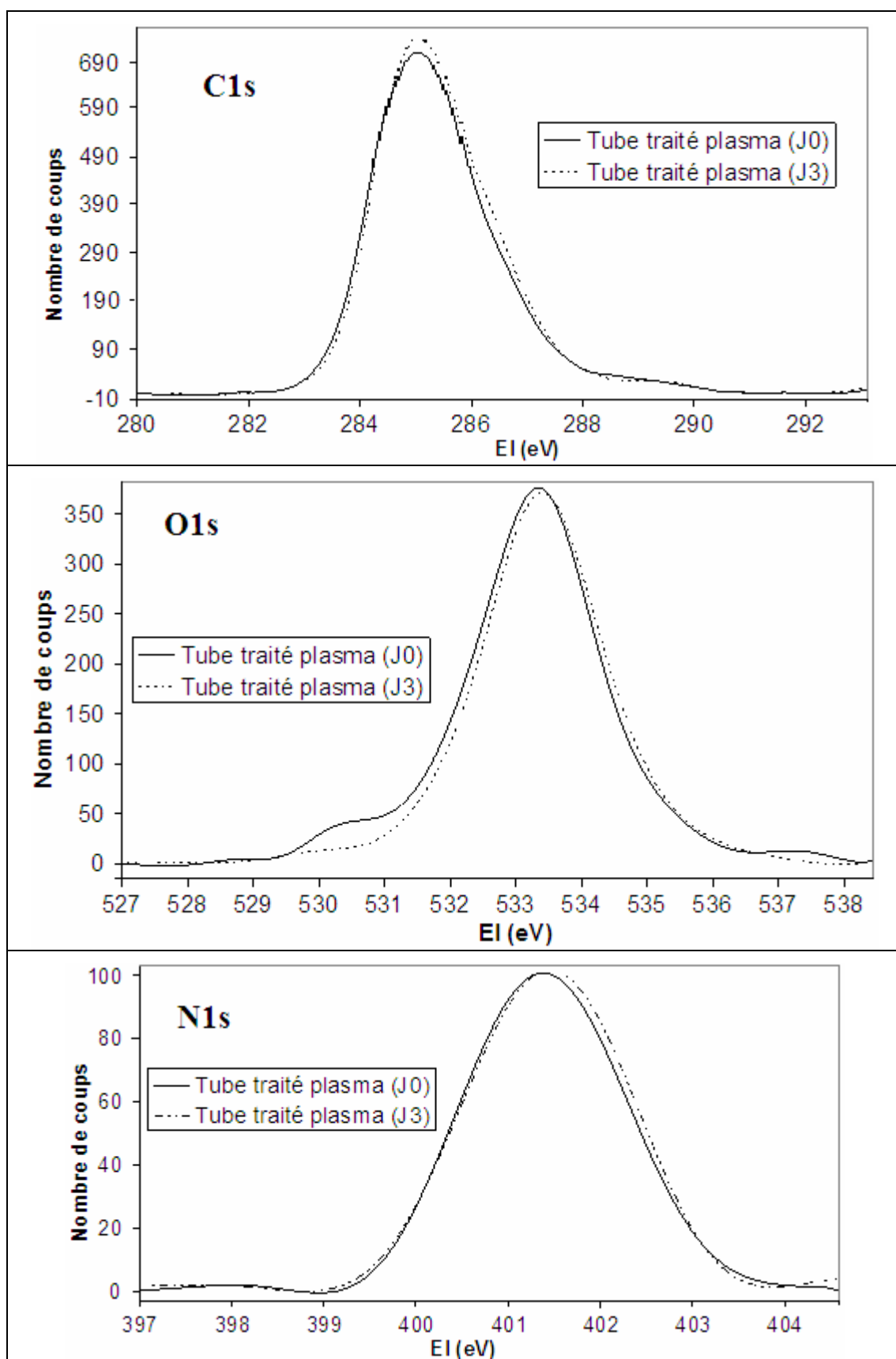


Figure VI.40 : Comparaison des spectres C1s, O1s et N1s, corrigés en énergie, des échantillons traités au plasma et analysés 3h et 3 jours après le traitement

VI.5.1.3 Effet du temps de traitement sur l'évolution post-traitement de la surface

Nous avons voulu vérifier si le temps de traitement avait un effet sur l'évolution post-traitement de la mouillabilité. Pour cela, nous avons utilisé deux temps d'exposition pour lesquels nous avons noté, au niveau de la mouillabilité et donc de l'énergie de surface, un effet important du traitement. Les échantillons ont ainsi été traités au plasma durant 40 et 100 minutes puis stockés dans des conditions d'humidité et de température contrôlées (75 % HR et 25°C).

Nous avons calculé à partir de nos mesures d'angles de contact, les énergies de surface (Figure VI.41) et les fractions polaires (Figure VI.42). Ces deux grandeurs tendent à rejoindre les valeurs obtenues pour le PU avant traitement (cf. Tableau V-10 ; p.136) et cette évolution est la même quel que soit le temps initial de traitement. Par la suite, nous comparerons donc des échantillons ayant subi 40 minutes de traitement plasma.

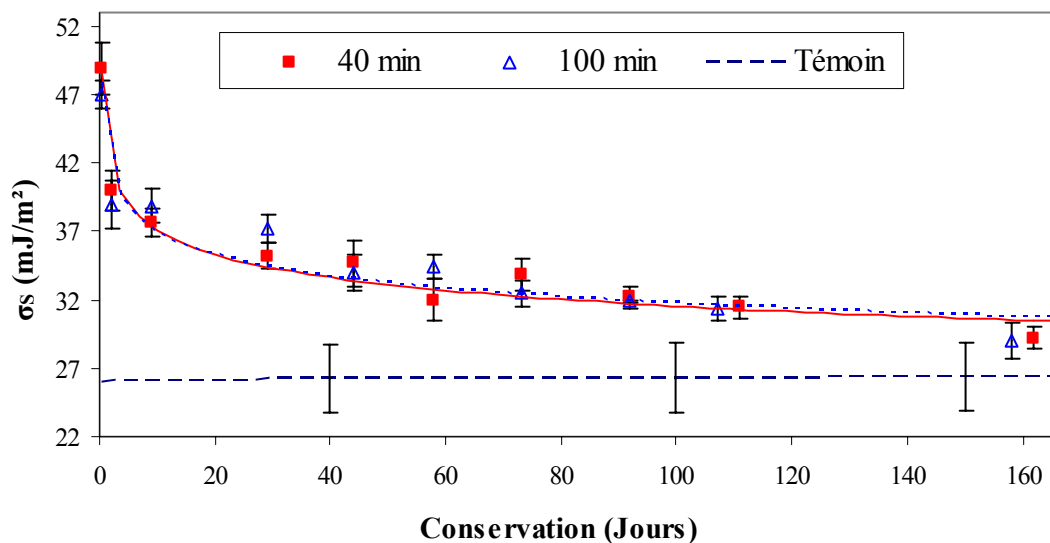


Figure VI.41 : Evolution des énergies de surface pour les PU traités 40 min et 100 min en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)

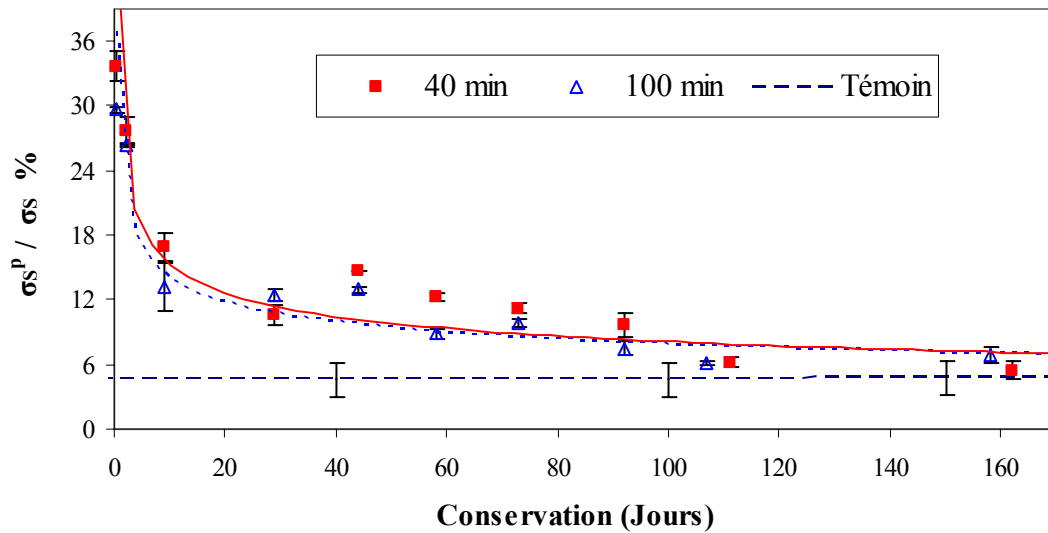


Figure VI.42 : Evolution des fractions polaires pour les PU traités 40 min et 100 min en fonction du temps de stockage (75 % HR et 25°C)

VI.5.1.4 Effet de la température de conservation

Pour étudier l'effet de la température sur les tubes du PU, nous avons conservé les échantillons témoins et traités à deux températures, 25 et 45°C. Un taux d'humidité de 75 % a été utilisé.

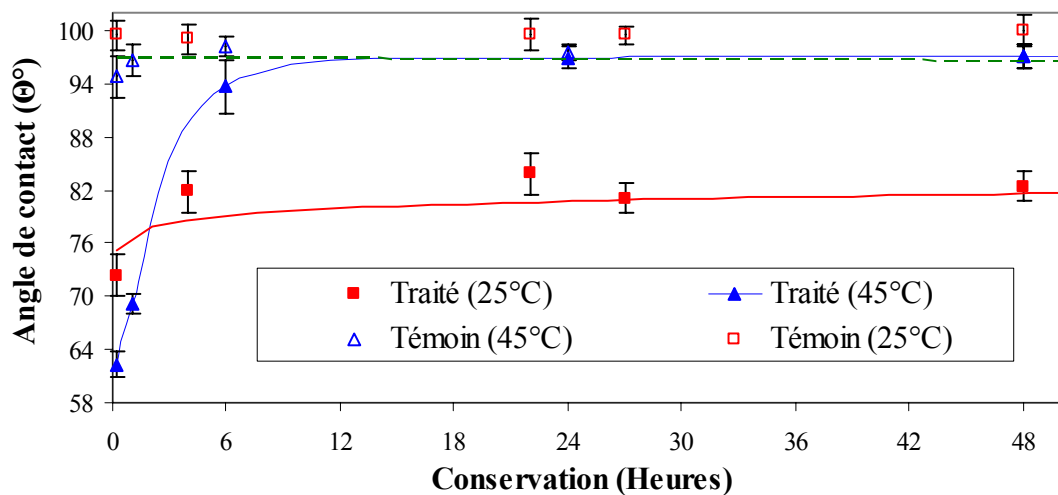


Figure VI.43 : Evolution des angles de contact de l'eau sur la surface des PU conservés à 25°C et 45°C (75 % HR)

La Figure VI.43 représente la cinétique d'évolution des angles de contact pour l'eau (les deux autres liquides présentent un comportement similaire). Nous observons une grande

différence de comportement au niveau de la cinétique entre les deux températures de stockage. La réversibilité du traitement pour les échantillons traités et conservés à une température de 45°C est très rapide, comparée à celle des échantillons conservés à 25°C (cf. Figure VI.37 ; p.197), et les angles de contact pour ces échantillons sont de nouveau similaires à ceux de l'échantillon non traité au bout de seulement 6 heures de stockage. Le même comportement est par conséquent observé pour l'évolution des énergies de surface (Figure VI.44) et des fractions polaires (Figure VI.45).

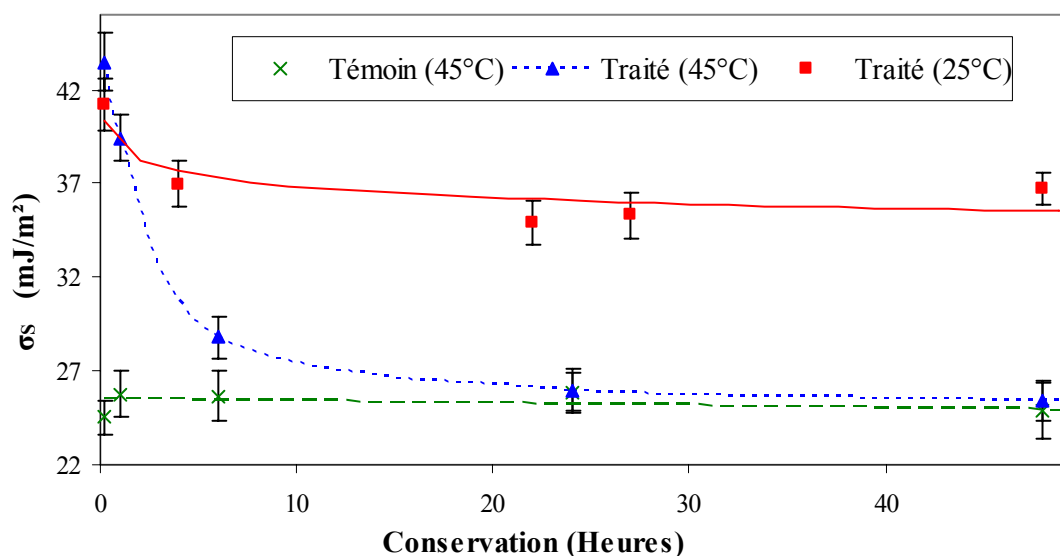


Figure VI.44 : Evolution des énergies de surface des PU conservés à 25°C et 45°C (75 % HR)

Il est connu que de nombreux phénomènes sont cinétiquement favorisés par une élévation de température et suivent une loi de type Arrhenius. Leur constante de vitesse k suit ainsi une loi de type $k = k_0 e^{-E_a/RT}$ où k_0 est une constante, E_a l'énergie d'activation, T , la température. L'effet de la température est extrêmement important dans notre cas et supposerait une énergie d'activation très élevée. Nous nous sommes ainsi demandé si cette cinétique ne pouvait pas être influencée par un changement de régime cinétique, changement qui serait le fait d'un phénomène de relaxation au niveau des chaînes de polymères. Yasuda et al. [186, 187] ont réalisé une étude sur l'impact des phénomènes de relaxation des chaînes polymères sur la cinétique de réorganisation des surfaces polymères. Cette étude a été menée dans différents milieux (eau et air) et sur différents polymères (PMMA, PE, PET, Nylon) en suivant l'évolution de la surface en fonction de l'environnement de la surface par des

mesures de mouillabilité. Le réarrangement de surface est à l'origine d'une évolution des angles de contact (Θ) dont la cinétique dépend d'une constante k .

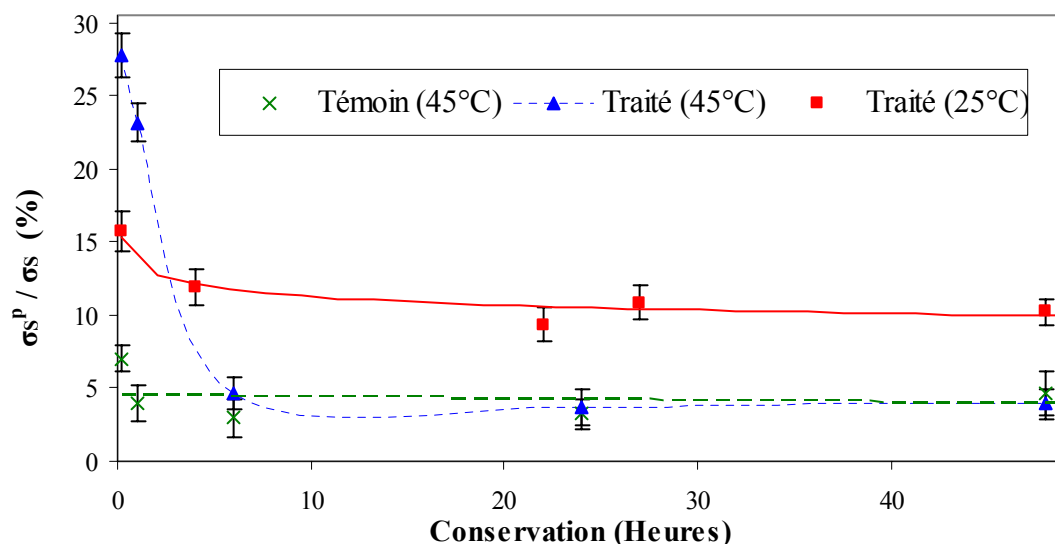


Figure VI.45 : Evolution des fractions polaires des PU conservés à 25°C et 45°C (75 % HR)

Yasuda et al. [188] ont montré cette constante k évolue avec la température de stockage. k suit ainsi un comportement de type Arrhenius, mais le tracé de $\log(k)$ avec $1/T$ montre une rupture de pente pour une température $T = T_s$. Pour des échantillons immergés dans un milieu aqueux cette température T_s est de 15°C et ce, quelle que soit la T_g du polymère (pour des T_g comprises entre -125°C et 105°C).

Pour des échantillons stockés à l'air ambiant, ce point de rupture se situe au niveau de la T_g du polymère. En milieu aqueux, ce n'est donc pas la mobilité moléculaire qui est en jeu dans les phénomènes de réorganisation mais plutôt l'état structural de l'eau en contact avec la surface du polymère. La température de 15°C correspond en effet à l'une des températures de Drost Hansen qui sont des températures de transition associées à l'eau adsorbée [189]. En revanche, pour des échantillons en contact avec l'air, la température T_s observée correspond à la température T_g des polymères étudiés et l'accélération des réarrangements de surface correspond alors à une brusque augmentation de la mobilité moléculaire.

Dans notre cas, nous avons mis en évidence par DSC l'existence de deux températures de transition vitreuse, la première correspondant aux segments souples autour de -45°C, la seconde associée aux segments rigides autour de 80°C. On ne peut cependant se

fonder sur la connaissance de la seule T_g du polymère pour expliquer les variations observées. En effet, cette transition concerne une mobilité de l'ensemble de la chaîne polymère, alors que les réarrangements de surface peuvent impliquer des mouvements beaucoup plus locaux de segments de chaînes et donc impliquer des relaxations à plus basse température (notamment les relaxations de type α , β , γ ...) : on conçoit en effet que des mouvements de type rotationnels peuvent suffire pour retourner des fonctions spécifiques vers l'extérieur ou l'intérieur de la surface. Afin de mettre en évidence ces phénomènes de relaxation, une étude du matériau a été menée en TSC. Cette étude a montré l'existence de relaxation des chaînes de PU à : -100, -30 et 18°C (cf. Figure V.8, p.122), relaxations qui ne peuvent *a priori* pas expliquer le caractère relativement abrupt des variations observées entre 25 et 45°C.

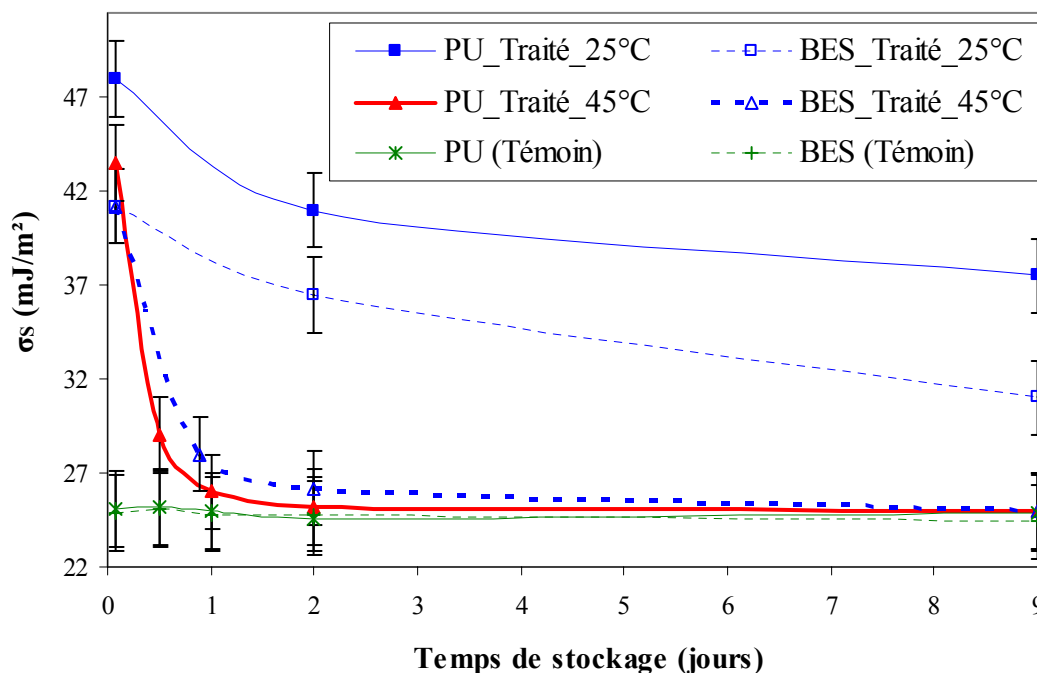


Figure VI.46 : Evolution des énergies de surface des cathéters de PU et des films de BES conservés à 25°C et 45°C (75 % HR)

Afin de conclure sur ces effets des relaxations de chaînes polymères, nous avons stocké des plaques de verre recouvertes de lubrifiant BES fondu et traitées préalablement 40 minutes au plasma. Nous avons vu dans un paragraphe précédent (VI.3.3 ; p.180) que le BES recouvre potentiellement la surface des cathéters et forme à sa surface une fine couche. Les mesures de mouillabilité sur les films coulés de BES seuls nous avaient montré que les énergies de surface de cette couche étaient identiques à celles trouvées pour la surface du

cathéter, que ce soit pour des échantillons comparés avant ou après traitement. Nous avons comparé le comportement d'un film de BES à celui d'un cathéter pour un stockage réalisé dans une enceinte à 75 % d'HR (stockage à 25°C et 45°C). Bien que les valeurs initiales d'énergie de surface pour le BES et le cathéter traités ne soient pas ici exactement semblables (les mesures n'ont pas toutes été réalisées dans les mêmes conditions), nous pouvons cependant observer le fait suivant : la cinétique, que ce soit celle observée pour le stockage à 45°C ou à 25°C, suit une évolution analogue à celle du cathéter stocké dans les mêmes conditions. La cinétique de réversibilité pour le BES est ainsi nettement accélérée par l'augmentation de la température de 25 à 45°C (Figure VI.46). On ne peut donc invoquer un effet spécifique de la relaxation des chaînes polymères sur l'accélération de la cinétique.

VI.5.1.5 Effet du taux d'humidité

Afin de mettre en évidence le rôle de l'humidité ambiante et de l'atmosphère de stockage, nous avons conservé des échantillons à 25°C mais à différents taux d'humidité. Les humidités choisies sont les suivantes : 90 %, 75 %, et 60 %. Par ailleurs un essai a été réalisé dans une enceinte contenant un dessicant (moins de 15 % HR) et un autre dans une enceinte tirée sous vide (l'HR est nulle).

On sait qu'un milieu aqueux tend à favoriser la présence en surface de structures polaires hydrophiles alors que sous vide, ou à l'air, ce sont les fonctions apolaires hydrophobes qui prédominent.

Dans un premier temps, nous avons ainsi étudié le comportement d'échantillons témoins et ce, pour des milieux secs à très humides afin de voir si la surface initialement hydrophobe du polymère pouvait évoluer vers une surface plus hydrophile. La Figure VI.47 représente les énergies de surface des PU témoins en fonction du temps de stockage pour différents taux d'HR.

Nous n'observons pas de variation significative de l'énergie de surface avec le temps de stockage quel que soit le taux d'humidité de l'enceinte de stockage. Il n'y a donc pas de grande évolution de la surface vers un état plus hydrophile même en milieu fortement humide.

Nous avons étudié, dans un second temps, l'effet de l'humidité sur la cinétique de réversibilité pour des échantillons traités 40 minutes au plasma. Si nous regardons la Figure VI.48 qui donne l'évolution de l'énergie de surface des échantillons traités 40 min par plasma puis stockés aux humidités choisies, nous constatons que :

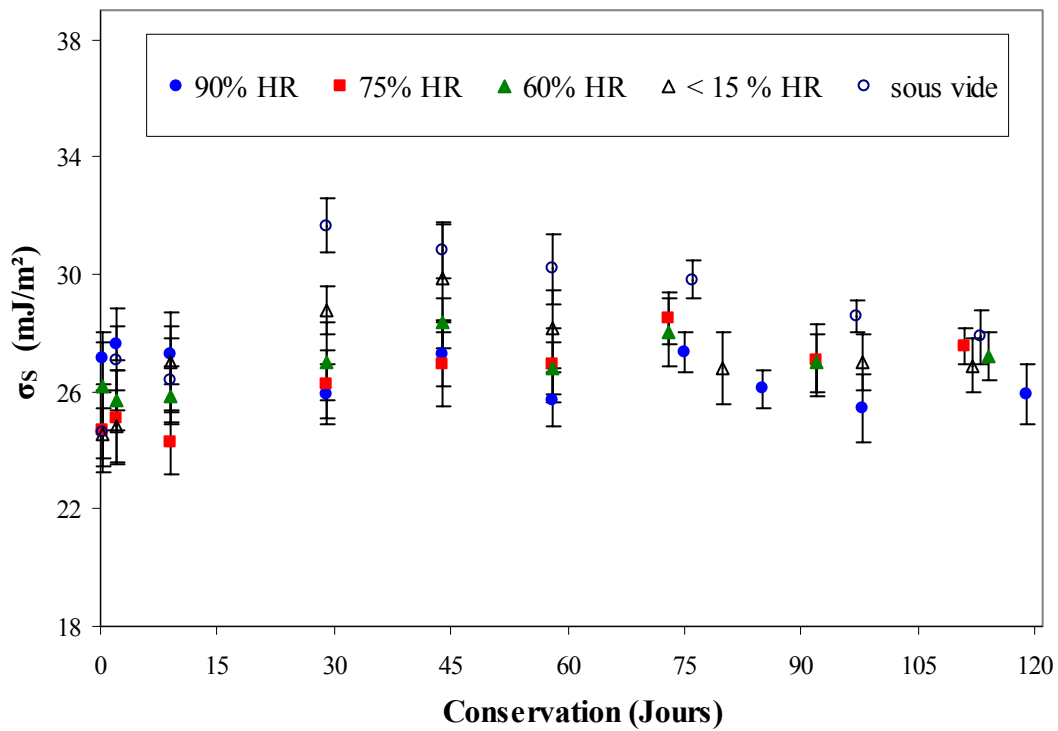


Figure VI.47 : Evolution des énergies de surface des PU témoins en fonction du temps de stockage pour différents taux d'HR (25°C)

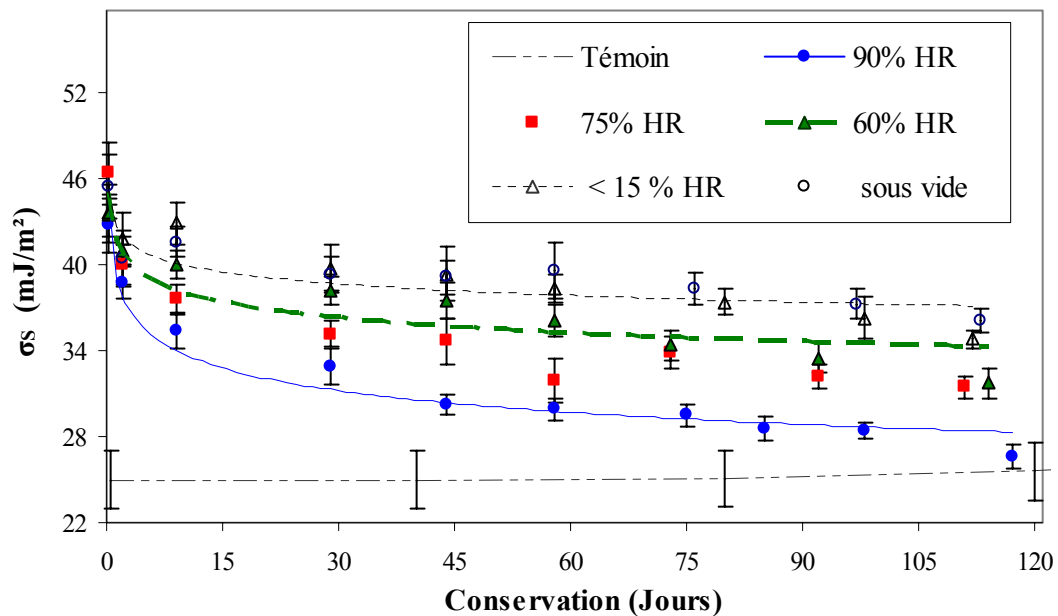


Figure VI.48 : Evolution des énergies de surface des PU traités en fonction du temps de conservation pour différents taux d'HR

- les valeurs évoluent en fonction du temps de stockage pour toutes les humidités relatives et, pour les taux d'humidité les plus élevés, tendent à atteindre au bout de 120 jours, les valeurs observées pour les échantillons avant traitement ;
- les échantillons conservés aux taux d'humidité les plus élevés présentent une cinétique de réversibilité plus rapide ;
- le fait que l'échantillon soit stocké sous vide n'a pas d'effet quand on le compare au cas d'un échantillon stocké sous air mais en présence d'un dessiccant.

Afin de mieux mettre en évidence l'effet du taux d'humidité nous avons représenté sur la Figure VI.49 les énergies de surface des échantillons de PU traités en fonction du taux d'humidité pour un même temps de stockage : des temps de stockage de 9, 29 et 58 jours ont été pris comme exemples représentatifs d'un temps court et de deux temps pour lesquels la cinétique d'évolution est relativement lente. Si on étudie ces graphes, on note que l'on a une rupture dans l'évolution de l'énergie de surface avec le taux d'humidité, avec deux portions de droites de pentes différentes (p1 et p2). Pour des taux d'humidité inférieurs ou égaux à 60 %, la cinétique de réversibilité est assez peu accélérée par l'augmentation du taux d'humidité (pente p1). En revanche, pour des taux d'humidité supérieurs, l'effet est nettement plus important (pente p2).

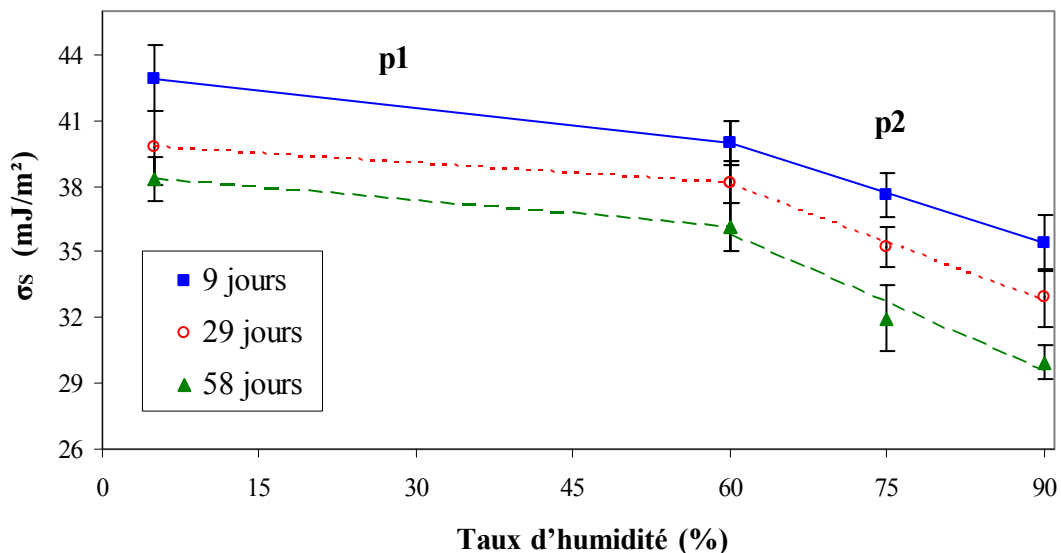


Figure VI.49 : Evolution des énergies de surface des PU traités en fonction du taux d'humidité après 9 jours, 1 et 2 mois de stockage à 25°C.

Si on calcule les pentes des deux portions de droite d'évolution des énergies de surface pour chaque temps de conservation, on obtient le résultat suivant (Figure VI.50) : la pente p1 qui correspond à l'évolution de l'énergie de surface pour des taux d'humidité inférieurs à 60 % semble être moins influencée par le temps de stockage que la pente p2 associée à l'évolution de l'énergie de surface pour les plus forts taux d'humidité. Ceci nous indique qu'en milieu relativement humide, les effets du taux d'humidité sur l'évolution post traitement deviennent encore plus importants aux longs temps de stockage. Pour des milieux relativement secs, les variations du taux d'humidité ont, par contre, peu d'effet sur l'évolution post traitement, que ce soit aux temps courts ou aux temps longs de stockage.

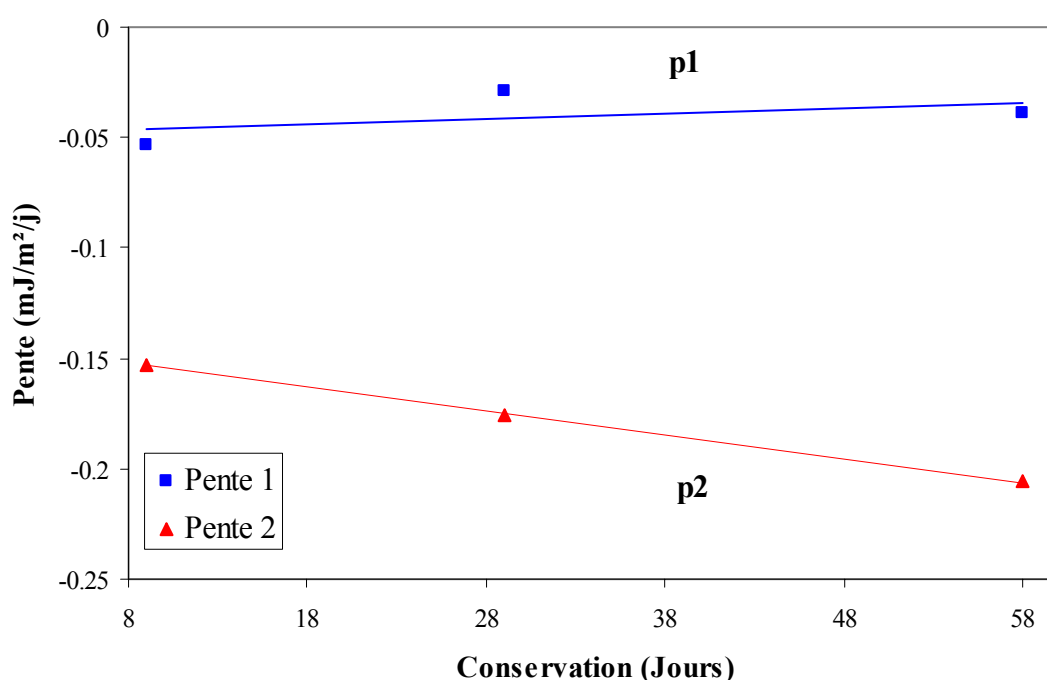


Figure VI.50 : Evolution des pentes p1 et p2 en fonction du temps de stockage.
Ces pentes correspondent aux pentes de l'énergie de surface en fonction du taux d'HR

Ce comportement en fonction de l'humidité n'est pas forcément celui attendu, car on aurait pu s'attendre à favoriser un état plus hydrophile de la surface en augmentant le taux d'humidité. En revanche, ce type de comportement pourrait s'expliquer avec l'hypothèse de greffage de fonctions azotées imine lors du traitement plasma. Ces fonctions imine sont susceptibles en effet de s'hydrolyser, ce phénomène étant favorisé par le fort taux d'humidité. Après cette hydrolyse, on trouve une surface plus hydrophobe qui se rapproche de la surface avant le traitement.

VI.5.2 Milieux liquides

VI.5.2.1 Incubation dans l'eau

Les échantillons (témoins et traités au plasma pendant 40 minutes) ont été stockés à température constante (25°C) pendant 3 mois dans de l'eau distillée. Les mesures ont été effectuées après essuyage de la surface.

L'évolution des angles de contact de l'eau sur la surface et des énergies de surface avec le temps de stockage est représentée sur les Figure VI.51 et Figure VI.52.

Pour les échantillons témoins, une évolution vers un état de surface plus hydrophile est cette fois-ci observée : les angles de contact avec l'eau diminuent nettement (98° à 75°) : l'énergie de surface passe de 27 mJ/m² à 34 mJ/m² après trois mois de stockage et on observe en parallèle une augmentation de la fraction polaire de plus de 15 % (Figure VI.53).

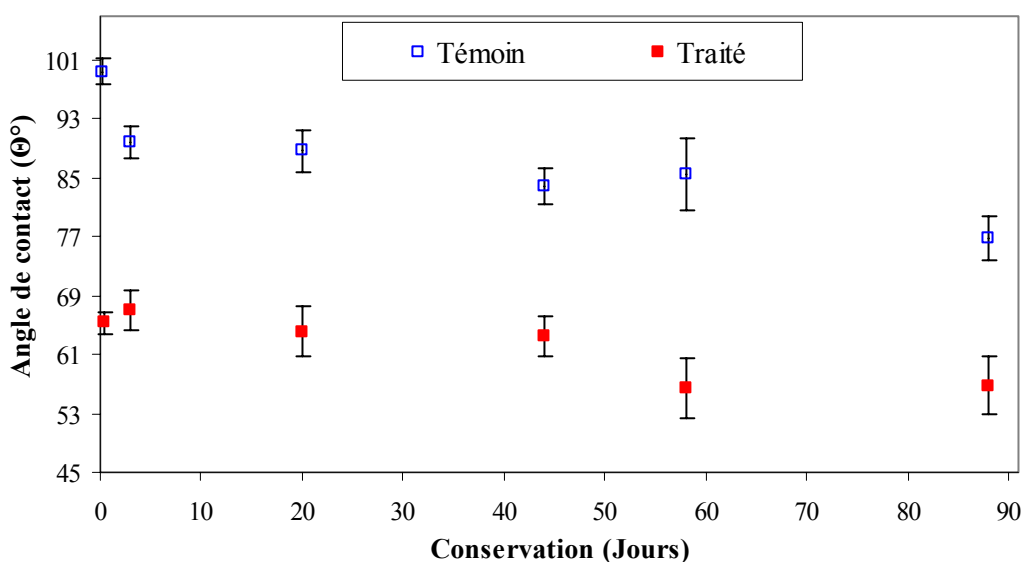


Figure VI.51 : Evolution des angles de contact de l'eau sur la surface des PU en fonction du temps de conservation dans l'eau

Pour l'échantillon traité 40 minutes au plasma, on n'observe pas d'évolution vers un état plus hydrophobe, contrairement à ce qui avait été observé pour les échantillons stockés dans des milieux contrôlés en humidité. Les angles de contact, l'énergie de surface et les fractions polaires évoluent assez peu et plutôt dans le sens d'un état de surface plus hydrophile : l'angle de contact avec l'eau passe de 65° à 55°, l'énergie de surface de 43 à 46 mJ/m² et la fraction polaire de 25 à 32 %. Le stockage dans l'eau provoque certainement un réarrangement des groupements de surface afin que le polymère présente une surface plus

hydrophile : ce phénomène masque très certainement les phénomènes éventuels d'hydrolyse des fonctions polaires greffées par le traitement plasma.

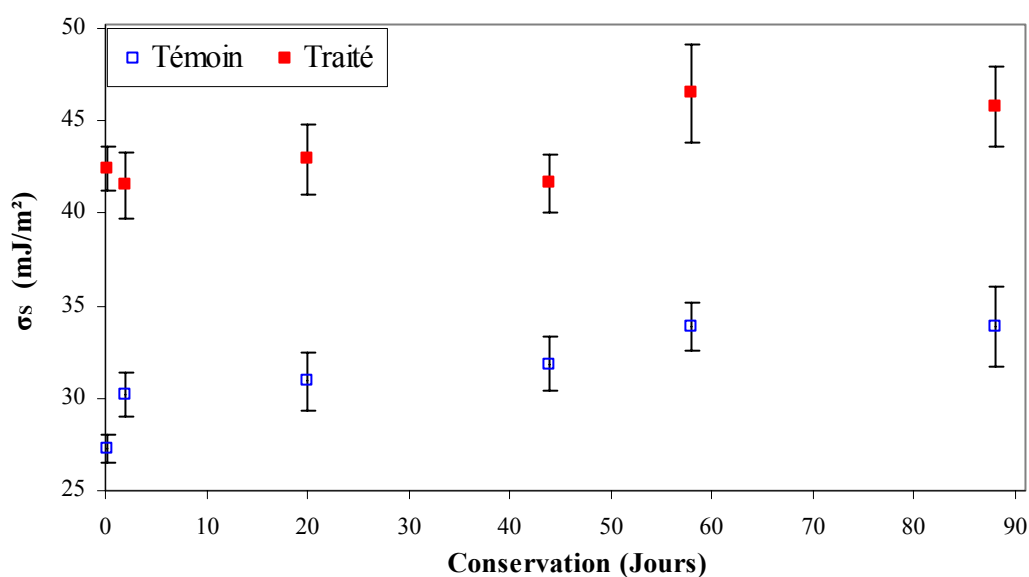


Figure VI.52 : Evolution des énergies de surface des PU en fonction du temps de conservation dans l'eau

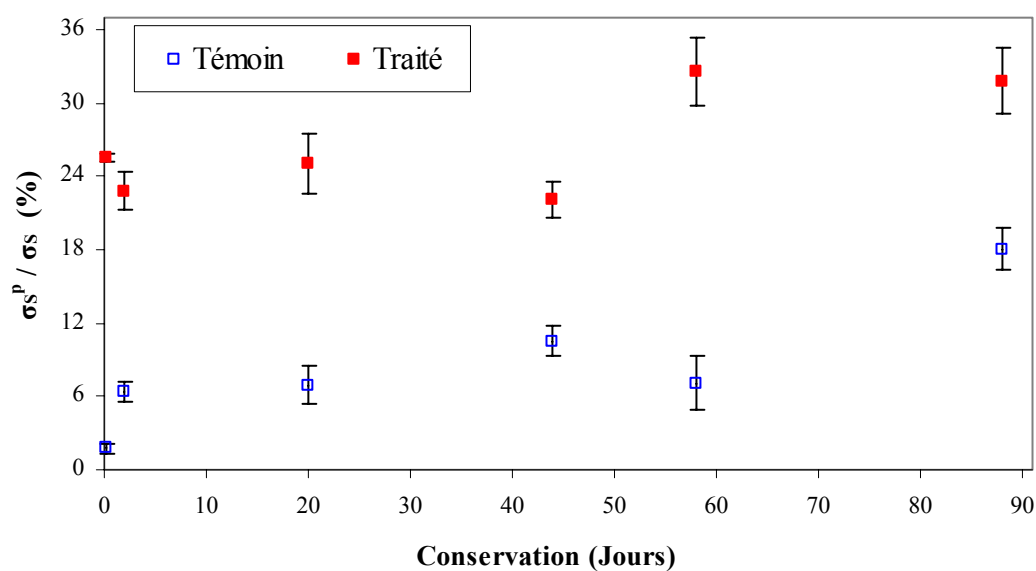


Figure VI.53 : Evolution des fractions polaires des PU en fonction du temps de conservation dans l'eau

VI.5.2.2 Incubation dans du méthanol

Les échantillons ont été incubés dans du méthanol sur des périodes de temps croissantes (2, 4 et 10 jours) dans une étuve à 37°C. Après incubation, les tubes ont été séchés à l'étuve (37°C) et nous avons étudié leur mouillabilité. Ce solvant est différent de l'eau à plusieurs égards. Bien qu'il puisse être considéré comme hydrophile en raison de son groupement OH, le méthanol a une constante diélectrique qui, à 25°C, est à peu près égale à la moitié de celle de l'eau, et une tension superficielle qui est, elle-aussi, bien plus faible (22,6 mN/m alors que celle de l'eau est de 72,8 mN/m).

C'est donc un solvant beaucoup moins polaire que l'eau et pour cette raison, il possède vis-à-vis des additifs (antioxydants, lubrifiant) et des oligomères présents dans la matrice de polyuréthane, un pouvoir d'extraction bien plus élevée que celui de l'eau. Nous avons d'ailleurs vu dans un précédent paragraphe (VI.2.5 ; p.168) qu'au bout de deux jours de stockage dans le méthanol une extraction totale des antioxydants et des oligomères était observée et que le lubrifiant présent en surface et dans le volume du matériau migrerait peu à peu depuis le cœur de la matrice vers la surface afin d'être extrait.

Les Figure VI.54 et Figure VI.55 représentent les énergies de surface et les fractions polaires des PU traités et non traités en fonction de la durée d'incubation dans le méthanol.

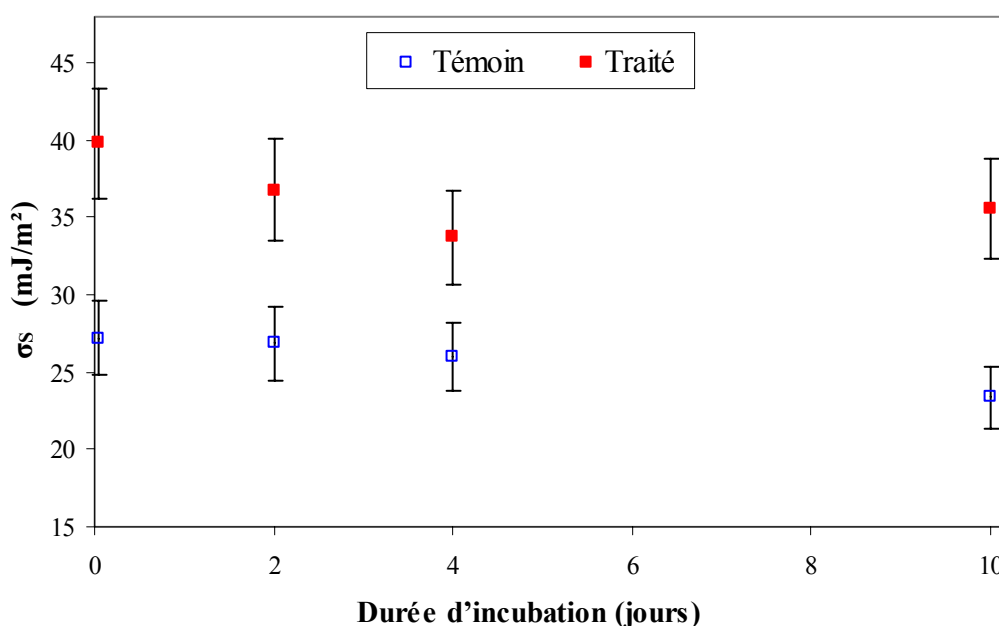


Figure VI.54 : Evolution des énergies de surface du PU traité et non traité en fonction de la durée d'incubation dans le méthanol

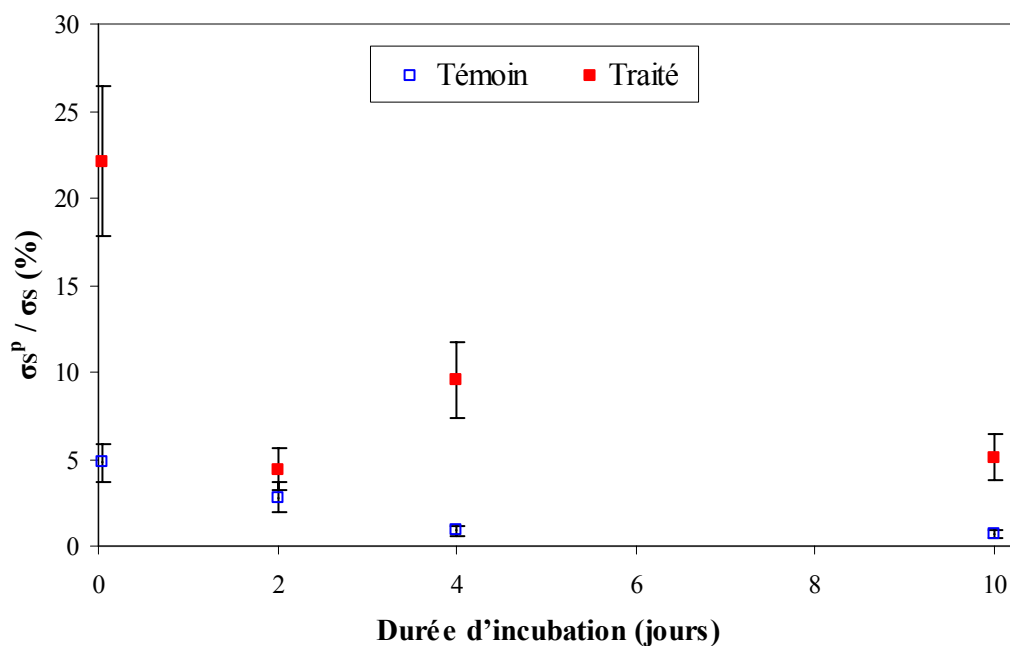


Figure VI.55 : Evolution des fractions polaires pour le PU traité et non traité en fonction de la durée d'incubation dans le méthanol

Nous avons observé des résultats assez peu homogènes pour les portions ayant été incubées dans le méthanol bien que la mesure de l'angle de contact ait été répétée dix fois sur chaque échantillon. La mouillabilité du témoin évolue peu, mais on observe toutefois une faible diminution de l'énergie de surface, qui est liée à une diminution de la composante polaire ; bien que modérée, cette diminution est assez significative : faible initialement (5 %), la composante polaire devient en effet quasi nulle. Pour le cathéter de PU traité, on note de façon beaucoup plus nette une évolution d'un état hydrophile vers un état plus hydrophobe : l'énergie de surface chute de manière plus conséquente avec une composante polaire à peu près diminuée d'un facteur 2. Pour expliquer ce comportement, différents facteurs peuvent être évoqués :

- la dégradation des fonctions imine greffées par le méthanol ;
- le réarrangement des groupements de surface vis-à-vis d'un environnement liquide possédant des composantes hydrophobes ;
- l'extraction progressive de la couche externe de BES qui a subi les modifications de surface : ce BES est remplacé par du BES provenant du cœur du matériau et qui exsude en surface, de manière plus ou moins homogène, ce qui pourrait expliquer la forte dispersion des résultats trouvés à la fois pour les échantillons traités et non traités.

VI.6 Effets du traitement sur l'adhésion bactérienne

La stérilisation par les gaz plasma doit répondre aux exigences concernant l'efficacité antimicrobienne et ne doit ni altérer le produit à stériliser, ni favoriser l'adhésion des bactéries à la surface du matériau. Cependant, compte tenu du caractère récent de ce mode de stérilisation, de nombreuses études sont encore nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors de la stérilisation, les modifications structurales induites sur les matériaux et leurs conséquences sur l'adhésion bactérienne à leur surface. Nous avons vu dans un paragraphe précédent (VI.3.1 ; p.175) que le traitement plasma utilisé modifiait la surface du cathéter en la rendant notamment plus polaire. Nous avons voulu voir dans ce dernier paragraphe quel était l'effet de ces modifications de surface sur l'adhésion d'une souche bactérienne donnée.

Nous avons choisi d'étudier l'adhésion de *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 (*S. aureus*) aux supports du Pellethane[®] avant et après le traitement et pour des temps de contact suspension bactérienne-support différents. Cette bactérie a été choisie car elle est rencontrée notamment en milieu hospitalier, où elle peut être à l'origine de problèmes d'infection grave (avec des difficultés thérapeutiques résultant de la multirésistance aux antibiotiques des souches hospitalières). Les résultats seront exprimés en Unités Formant Colonies/support (UFC/support).

VI.6.1 Effet du plasma sur l'adhésion

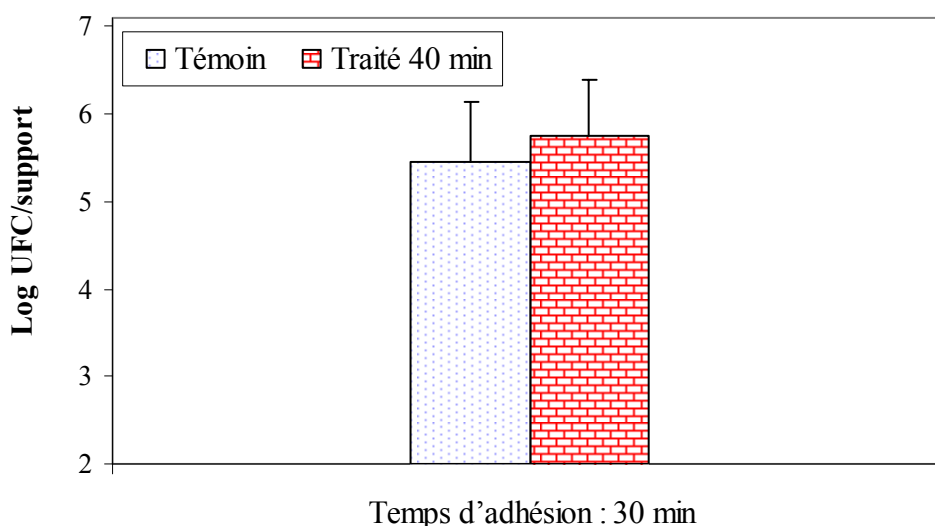
Pour étudier l'influence du traitement plasma sur la capacité des supports à permettre l'adhésion bactérienne. Nous avons comparé le comportement vis-à-vis de ce phénomène du support non traité et celui ayant subi un traitement plasma. Le temps de contact (suspension bactérienne - support) était de 30 min.

Les résultats des tests obtenus pour les PU stérilisés 40 minutes au plasma et les PU témoins sont regroupés dans le Tableau VI-9

La population bactérienne sur le PU traité est deux fois plus importante ($5,6 \cdot 10^5$ UFC/PU) que celle observée sur le PU témoin ($2,9 \cdot 10^5$ UFC/PU) (différence significative, $p < 0,05$) (Figure VI.56).

*Tableau VI-9 : Population adhérente de *S. aureus* aux PU témoins et aux PU traités 40 min au plasma*

Temps d'adhésion	Nombre d'essais	Témoin Log UFC/support	Traité 40 min Log UFC/support	Rapport des populations de PU : traité /témoin
30 min	16	5,46 ± 0,69	5,76 ± 0,63	2,00



*Figure VI.56 : Population adhérente de *S. aureus* aux PU témoins et aux PU traités 40 min (temps de contact = 30 min)*

VI.6.2 Etude cinétique de l'adhésion

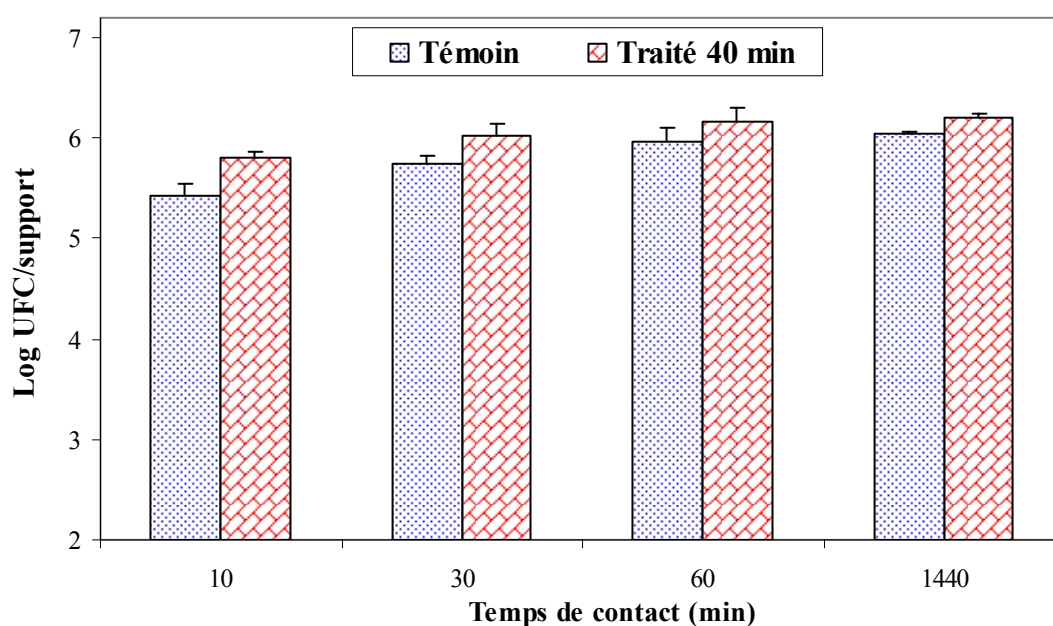
Pour étudier l'évolution de l'adhésion de bactéries *S. aureus* au support du Pellethane® en fonction du temps, nous avons choisi les essais qui ont été réalisés le même jour (nombre d'essais 6) et avec la même suspension mais pour différents temps de contact (10 min, 30 min, 60 min et 24 heures). L'étude cinétique a été effectuée sur les supports traités 40 min au plasma et sur les supports témoins (Tableau VI-10 ; Figure VI.57).

Le nombre de bactéries adhérentes augmente avec le temps de contact de 10 min à 1 h. Après 1 h de contact, la population adhérente tend à se stabiliser.

Dès 10 minutes de contact (suspension bactérienne – PU), l'adhésion est importante (au moins $2,6 \cdot 10^5$ UFC/PU témoin). Quel que soit le temps de contact, la différence de population entre le support témoin et le support traité est significative ($p < 0,05$). Pour les temps de contact 10 et 30 min la différence entre le PU témoin et le PU traité est plus importante que celle observée pour les temps d'adhésion plus longs.

*Tableau VI-10 : Population adhérente de *S. aureus* aux PU témoins et aux PU traités 40 min au plasma*

Temps d'adhésion	Témoin Log UFC/support	Traité 40 min Log UFC/support	Rapport des populations de PU : traité /témoin
10 min	5,42 ± 0,13	5,80 ± 0,07	2,40
30 min	5,75 ± 0,07	6,03 ± 0,12	1,91
60 min	5,96 ± 0,14	6,15 ± 0,15	1,55
24 H	6,04 ± 0,03	6,20 ± 0,05	1,44



*Figure VI.57 : Adhésion de *S. aureus* aux supports témoins et traités au plasma 40 min en fonction du temps de contact*

VI.6.3 Effet du temps de traitement sur l'adhésion

Nous avons étudié l'effet de la durée du traitement au plasma sur l'adhésion de *S. aureus* à la surface du polyuréthane traité.

Le temps de contact a été fixé dans ce test à 10 min, et deux temps de traitement ont été choisis (40 min et 100 min) ; les tests d'adhésion ont été répétés 6 fois.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau VI-11.

La population adhérente aux supports de PU traités au plasma 40 min est similaire à celle obtenue pour les supports de PU traités au plasma 100 min ($p = 0,25$).

L'allongement de la durée de traitement n'entraîne pas une modification plus importante de l'adhésion de *S. aureus* au PU.

Tableau VI-11 : Population adhérente de S. aureus aux supports de PU pour des temps de traitement 40 et 100 min

Temps d'adhésion	Traité 40 min Log UFC/support	Traité 100 min Log UFC/support	Rapport des populations de PU traité : 100 min /40 min
10 min	5,80 ± 0,07	5,84 ± 0,08	1,10

VI.6.4 Effet du vieillissement après le traitement

Dans ces tests nous avons étudié, après traitement au plasma, l'effet du temps de stockage sur l'adhésion bactérienne à la surface du PU (2 répétitions pour chaque test).

Les supports ont été traités 40 minutes au plasma et ils ont été conservés à 25°C (à l'abri de la lumière) dans des flacons stérilisés (scellés) ; nous avons choisi 30 min comme temps de contact support-suspension bactérienne.

Les tests ont été faits :

- le jour du traitement ;
- 2 jours après le traitement ;
- 29 jours après le traitement ;
- 58 jours après le traitement.

Les résultats sont représentés dans le Tableau VI-12.

Tableau VI-12 : Population adhérente de S. aureus aux PU témoins et aux PU traités

Temps de stockage	Témoin Log UFC/support	Traité 40 min Log UFC/support	Rapport des populations de PU : traité /témoin
0 j	5,68	5,83	1,40
2 j	5,95	6,11	1,45
29 j	5,97	6,10	1,35
58 j	5,94	5,97	1,1

La durée de stockage ne semble pas modifier la capacité d'adhésion de *S. aureus* aux échantillons traités. Immédiatement après traitement plasma et après 2 et 29 j de stockage, la

population adhérente est légèrement plus importante pour le PU traité que celle observée pour le PU témoin. Après 58 j de stockage, *S. aureus* adhère en quantité similaire sur le PU traité et sur le PU témoin (Figure VI.58).

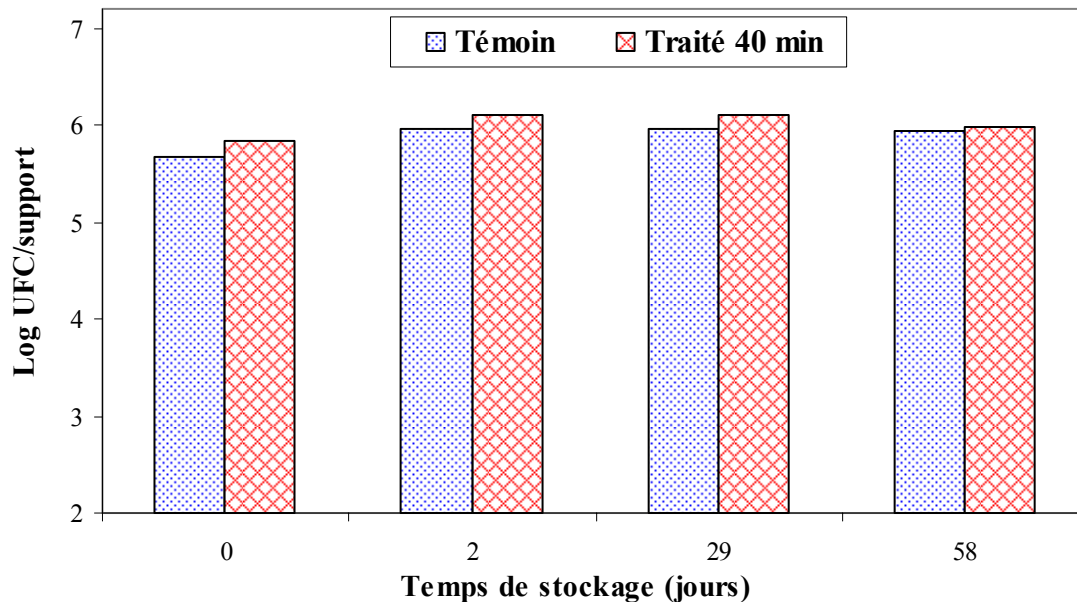


Figure VI.58 : Adhésion de *S. aureus* aux supports témoins et traités en fonction du temps de stockage des supports (le temps de contact est de 30 min)

VI.6.5 Effet du traitement plasma sur l'adhésion : cas du polypropylène

Nous avons étudié l'adhésion bactérienne sur la surface d'un film de PP, afin de voir s'il y a un effet du traitement sur l'adhésion bactérienne analogue à celui observé pour le PU étudié.

Dans ces tests les supports du PP ont été traités 40 minutes au plasma et le temps de contact avec la suspension bactérienne a été fixé à 30 minutes. Chaque test a été répété 5 fois.

Les résultats des tests d'adhésion bactérienne sont représentés dans le Tableau VI-13.

La population adhérente au PP traité est similaire à celle adhérente au PP témoin. Le traitement plasma sur ce type de support ne modifie pas la capacité d'adhésion de *S. aureus*.

*Tableau VI-13 : Population adhérente de *S. aureus* aux supports de PP témoins et aux supports de PP traités*

Temps d'adhésion	PP témoins Log UFC/support	PP traités 40 min Log UFC/support	Rapport des populations de PP : témoin/traité
30 min	5,30 ± 0,54	5,23 ± 0,48	1,17

VI.7 Conclusion sur les modifications de surface du matériau

Cette étude de la surface du matériau a montré les points suivants :

- la surface est modifiée par le traitement plasma ;
- les modifications sont importantes en terme de mouillabilité avec une surface qui devient plus polaire et plus hydrophile après traitement ;
- les modifications de mouillabilité ne sont pas permanentes : la surface tend à retrouver son état initial. La cinétique post traitement est fortement accélérée par une augmentation de la température (une augmentation de 20°C peut permettre un retour à l'état initial en 6 heures au lieu de 150 jours), et par l'humidité (plus particulièrement pour des taux supérieurs à 60 %) ;
- des modifications de l'adhésion bactérienne sur les supports sont observées. *S. aureus* adhère de façon plus importante au PU traité mais cette différence est trop faible pour avoir une répercussion au niveau clinique. L'adhésion des bactéries au PU traité pendant 40 min et 100 min est équivalente. L'allongement du temps de traitement ne modifie pas la capacité des bactéries à adhérer au support.

Pour expliquer les variations de mouillabilité et leur évolution après traitement, nous avons vu, en nous appuyant sur les résultats de la littérature, que le greffage de fonctions de type imine suivie de leur hydrolyse au cours du temps pouvait expliquer de manière satisfaisante ce phénomène, même si ce n'est pas forcément le seul phénomène mis en jeu lors du traitement plasma. Cependant, dans notre cas, en raison de problèmes de résolution de l'appareillage, ce greffage n'a pu être mis en évidence par XPS.

Le mécanisme d'adhésion des micro-organismes sur les surfaces est un phénomène complexe. De nombreux facteurs peuvent jouer un rôle dans l'adhésion : interactions

physico-chimiques, état de la surface du support, etc Nous avons observé que la variation d'énergie de surface avec le temps de stockage ne modifie pas le comportement au niveau de l'adhésion bactérienne, qui reste identique après stockage de l'échantillon à des temps différents. Par ailleurs, contrairement au PU pour lequel une légère modification de l'adhésion a été observée, le PP qui est un polymère hydrophobe, ne voit pas son adhésion bactérienne modifiée par le traitement plasma. Or, sur ce type de matériau, il a aussi été montré que le traitement par un plasma d'azote générerait un greffage de fonctions imines [177]. Si le greffage des fonctions azotées était la cause des variations d'adhésion bactérienne pour le PU, on devrait dans ce cas observer la même chose pour le PP.

Il en résulte qu'il faut certainement incriminer une autre modification du matériau suite au traitement plasma. Il faut en outre noter que la surface recouverte par la goutte de liquide utilisée pour mesurer la mouillabilité est de l'ordre du millimètre carré alors que celle vue par une bactérie est de l'ordre de micromètre carré. Dans le cadre de cette étude, nous avons pu mettre en évidence que la surface du matériau était relativement hétérogène suivant l'échelle à laquelle on se place, rugueuse, avec par endroit, des zones recouvertes ou non d'amas d'antioxydants (avec des objets de taille variant entre 0,05 et 10 micromètres, pouvant être regroupés pour former des zones d'amas d'antioxydants de plusieurs dizaines de micromètres). Les bactéries ont une taille telle que les multiples anfractuosités présentes à la surface du matériau et dues aux antioxydants en surface leur seront en partie accessibles et joueront certainement un rôle sur leur capacité d'adhésion à la surface du cathéter. Il se peut ainsi que les modifications engendrées à cette échelle par le traitement plasma soient responsables des faibles, mais significatives différences d'adhésion bactérienne entre les échantillons traités et non traités au plasma. Mettre en évidence ces modifications n'est pas aisé, notamment en raison de la grande hétérogénéité de la surface à cette échelle.

Conclusion générale et Perspectives

Le projet dans lequel s'inscrit cette étude avait pour objectif de valider l'utilisation d'une nouvelle décharge électrique permettant de stériliser du matériel médical thermosensible en milieu hospitalier. Une des applications visées était notamment la stérilisation du matériel d'endoscopie.

Le plasma étudié est une nouvelle décharge à base d'azote mise au point par le LPGP d'Orsay (Université Paris-Sud), décharge innovante qui présente l'avantage de pouvoir travailler à température et pression ambiante. Les études menées en parallèle de la notre sur le pouvoir stérilisant de ce plasma ont montré un effet essentiellement désinfectant. Cependant, le caractère bactéricide est fortement amélioré par l'ajout d'un peu de dioxygène au gaz de la décharge, et l'on peut donc espérer que l'optimisation du plasma permettra de s'approcher des caractéristiques d'une décharge stérilisante. Quoi qu'il en soit, cette désinfection est déjà en soi très intéressante pour l'application visant le matériel endoscopique car actuellement la procédure de nettoyage de ces endoscopes, qui est seulement une procédure de désinfection, est longue et surtout très complexe à mettre en œuvre. Par ailleurs, un des avantages de ce plasma, outre le fait qu'il fonctionne à pression et température ambiante, est sa capacité à propager les espèces actives de la décharge sur de très longues distances et dans des géométries difficiles d'accès (il a été montré dans un tube de 6 mm de diamètre que la décharge était active sur plus de 10 mètres), ce qui est un point particulièrement critique pour la décontamination du matériel endoscopique.

Pour notre part, nous avons choisi dans cette étude de nous intéresser aux effets du traitement sur l'extérieur de tubes de polyuréthane de grade médical, pour simuler les effets du traitement sur les gaines d'endoscope. Il est clair, étant donné la complexité de ces appareillages, que la validation des effets du plasma devra aussi être réalisée sur l'ensemble des constituants de l'endoscope, c'est-à-dire sur d'autres types de matériaux et de géométries, et notamment sur l'intérieur des canaux d'insufflation et d'aspiration.

Lors de cette étude nous avons validé que le plasma ne conduisait à aucune dégradation significative des cathéters de polyuréthane testés :

- les chaînes polymères ne subissent ni scission, ni réticulation ;
- le polymère n'est pas oxydé et les additifs contenus dans le matériau ne sont pas dégradés ;
- l'organisation des chaînes au sein de la matrice n'est pas altérée ;

- le comportement des migrants potentiels contenus dans les cathéters (additifs, oligomères) n'est pas modifié.

Bien qu'attendue, cette absence de dégradation dans le volume du matériau se devait d'être vérifiée. Les traitements plasma sont en effet connus pour affecter essentiellement la surface du matériau traité.

La technique qui permet de mettre en évidence de manière la plus significative les effets du traitement plasma est la mesure des angles de contact. Nous avons montré une nette augmentation de la polarité de surface suite au traitement, mais cet effet n'est pas permanent et disparaît au cours du temps : cette réversibilité se fait plus rapidement lorsque le milieu de stockage est suffisamment chaud et humide (45°C, 75 % HR). Ce type de comportement a déjà été observé par le passé sur d'autres polymères avec d'autres types de décharges à base d'azote et a été attribué à un greffage de fonctions imine, qui ensuite s'hydrolysent progressivement après traitement. Les autres modifications engendrées par le traitement à la surface du cathéter sont plus difficiles à mettre en évidence en raison du caractère particulièrement non idéal de la surface étudiée. Cependant, l'étude de cette surface brute était nécessaire afin de se rapprocher au plus près des conditions réelles d'utilisation du plasma sur des dispositifs commerciaux. Parmi les faits compliquant l'observation et l'interprétation des effets du plasma, on peut notamment citer :

- la rugosité intrinsèque de la surface du cathéter ;
- la présence de nombreuses aspérités sub-microniques (amas d'antioxydants ...) ;
- l'hétérogénéité chimique à la fois sur la surface et en profondeur (amas d'antioxydants, lubrifiant ...) ;
- les échelles d'observation différentes utilisées suivant les techniques (adhésion bactérienne, mouillabilité ...).

Les modifications de la rugosité de l'échantillon suite au traitement sont ainsi particulièrement difficiles à mettre en évidence.

Les essais d'adhésion ont montré que le traitement augmente légèrement l'adhésion des bactéries aux supports de PU. Cet effet reste certes suffisamment faible pour ne pas être rédhibitoire. L'allongement du temps de traitement ainsi que la durée de stockage n'affectent pas la capacité d'adhésion des bactéries.

Dans les perspectives de cette étude il apparaît donc important de pouvoir notamment éclaircir les questions suivantes :

- quels sont les effets du traitement sur l'adhésion bactérienne si on utilise des cathéters dont la surface a été préalablement nettoyée de ses amas de surface (nettoyage à l'alcool) ?
- les modifications de l'adhésion bactérienne suite au traitement sont-elles identiques pour des lots de cathéters présentant des textures différentes (lot 2006 et 2004) ?
- quel est l'effet du choix de la bactérie sur ce phénomène ? Est-il identique pour des bactéries de taille, charge, hydrophobie différentes ?
- la charge de surface du matériau, qui conditionne les interactions électrostatiques entre la bactérie et le support évolue-t-elle durant le stockage après traitement ?

Enfin, afin de pouvoir valider pleinement le greffage et l'hydrolyse de fonctions imine suite au traitement plasma, il est envisagé de faire des analyses par XPS haute résolution, celles réalisées durant ce travail ne nous ayant pas donné pleinement satisfaction en particulier en raison du manque de résolution sur l'atome d'azote.

Annexes

Annexe 1 : Milieux de culture nécessaires aux tests d'adhésion bactérienne

1- Le diluant tryptone sel : DS

Le diluant simple est de l'eau peptonée salée constituant un milieu favorable à la vie bactérienne et qui est utilisé notamment pour toutes les dilutions. Pour le préparer 1 g de bactotryptone et 8,5 g de NaCl sont introduits dans un ballon et 1 L d'eau déminéralisée est ajoutée progressivement tout en agitant manuellement jusqu'à dissolution. L'ensemble est ensuite réparti dans des petits flacons de verre (125 et 250 mL) et stérilisé à l'autoclave 15 minutes à $120^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

1- Le milieu gélosé Trypticase Soja Agar : TSA

Le milieu TSA est un milieu gélosé favorable au développement bactérien. Il est préparé par ajout de 5000 mL d'eau distillée à 200 g de Agar Caso[®] sous chauffage jusqu'à frémissement et sous agitation magnétique. Suite à la dissolution, la solution est répartie dans des petits flacons de verre (125 et 250 mL) et est stérilisé à l'autoclave 15 minutes à $120^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Annexe 2 : Evaluer les énergies de surface

Nous avons utilisé trois liquides pour mesurer l'angle de contact, l'eau (L1), le diiodométhane (L2) et l'éthylène glycol (L3). Le coefficient de tension superficielle d'un liquide L est égal à la somme de sa composante polaire σ_L^p et de sa composante dispersive σ_L^d (Équation 1).

$$\sigma_{Li} = \sigma_{Li}^p + \sigma_{Li}^d \quad \text{Équation 1}$$

Où : i = 1, 2 ou 3 (eau, diiodométhane ou éthylène glycol respectivement).

Il est également possible de déterminer les composantes polaire, σ_S^p , et dispersive, σ_S^d , de l'énergie de surface du tube de PU à partir de l'Équation 2.

$$\sigma_S = \sigma_S^p + \sigma_S^d \quad \text{Équation 2}$$

Avec ces trois liquides, la relation de Young s'écrit :

$$\sigma_{Li} \cdot \cos\Theta_i = \sigma_S - \sigma_{SLi} \quad \text{Équation 3}$$

Où : Θ_i est l'angle de contact mesuré pour le liquide Li avec le tube du PU et σ_{SLi} est le coefficient de tension interfaciale (PU/Li).

La modélisation d'Owens nous donne l'expression du coefficient de tension interfaciale σ_{SLi} .

$$\sigma_{SLi} = \sigma_S + \sigma_{Li} - 2(\sigma_S^d \cdot \sigma_{Li}^d)^{1/2} - 2(\sigma_S^p \cdot \sigma_{Li}^p)^{1/2} \quad \text{Équation 4}$$

En utilisant l'Équation 3 et l'Équation 4 on élimine ce terme :

$$\sigma_{Li}(1 + \cos\Theta_i) = 2(\sigma_S^d \cdot \sigma_{Li}^d)^{1/2} + 2(\sigma_S^p \cdot \sigma_{Li}^p)^{1/2} \quad \text{Équation 5}$$

Pour mettre en évidence les deux inconnues de cette équation, on peut la réécrire en remplaçant par A_i , B_i et C_i ($A_i = \sigma_{Li}(1 + \cos\Theta_i)$, $B_i = 2(\sigma_{Li}^d)^{1/2}$ et $C_i = 2(\sigma_{Li}^p)^{1/2}$) les termes connus (Équation 5) :

$$A_i = B_i(\sigma_S^d)^{1/2} + C_i(\sigma_S^p)^{1/2} \quad \text{Équation 6}$$

Dans l'Équation 6, nous avons les constantes suivantes :

i	1 (eau)	2 (diiodométhane)	3 (éthylène glycol)
σ_{Li} (mN/m)	72,8	50,8	47,7
σ_{Li}^p (mN/m)	51,0	0,0	16,8
σ_{Li}^d (mN/m)	21,8	50,8	30,9
B_i (mN/m)^{1/2}	9,3	14,3	11,1
C_i (mN/m)^{1/2}	14,3	0,0	8,2

Donc, nous avons une équation linéaire à deux inconnues (σ_s^d et σ_s^p) de forme suivante (Équation 7):

$$X = Y \cdot (\sigma_s^p)^{1/2} + (\sigma_s^d)^{1/2} \quad \text{Équation 7}$$

Où : $X = C_i / B_i$ et $Y = A_i / B_i$.

Grâce aux trois points ($i = 1, 2$ et 3), Nous pouvons tracer les variations de Y en fonction X , et cette fonction linéaire permet d'accéder aux constantes caractéristiques du solide étudié : $(\sigma_s^p)^{1/2}$ et $(\sigma_s^d)^{1/2}$. A partir de l'Équation 2 on obtient l'énergie de surface du PU (σ_s).

Annexe 3 : t-distribution

Pour l'analyse statistique (test de Student) des résultats d'adhésion bactérienne nous avons utilisé le tableau suivant qui donne la probabilité (P) en fonction de la t-distribution pour les degrés de liberté 3, 4, 5 et 15 [190].

- si **P < 0,05** on peut considérer que la différence entre les valeurs est **significative** ;
- si **P > 0,05** on peut considérer que la différence est **non significative**.

P	t (ddl = 3)	t (ddl = 4)	t (ddl = 5)	t (ddl = 15)
0,001	12,93	8,61	6,87	4,07
0,005	7,45	5,60	4,77	3,29
0,01	5,84	4,60	4,03	2,95
0,02	4,54	3,75	3,37	2,60
0,025	4,18	3,53	3,16	2,49
0,05	3,18	2,78	2,57	2,13
0,1	2,35	2,13	2,02	1,75
0,2	1,64	1,53	1,48	1,34
0,25	1,42	1,34	1,30	1,21
0,3	1,25	1,19	1,16	1,07
0,4	0,98	0,94	0,92	0,87
0,5	0,77	0,74	0,73	0,69
0,6	0,58	0,57	0,56	0,54
0,7	0,42	0,41	0,41	0,39
0,8	0,28	0,27	0,27	0,26
0,9	0,14	0,13	0,13	0,13

Références Bibliographiques

- [1] Directive 93/42/CEE du Conseil relative aux dispositifs médicaux. Journal officiel des Communautés européennes, 1993(N° L 169/1).
- [2] Williams D. F., Definitions in Biomaterials, In Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials (March 3-5 1986), Chester, England. 1987, Elsevier: New York.
- [3] Ratner B. D., Biomaterials Science: An Interdisciplinary Endeavor, In Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine. Ratner B. D., Hoffman A. S., Schoen F. J. and Lemons J. E. 1996, Academic Press: San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo and Toronto. p. 1.
- [4] Legeay G., Dorget M., Surets S., Rouault E. and Boccaccio G., Polymères & Surfaces pour Applications Biomédicales Caoutchoucs & Plastiques, 2004.Vol. N° 821: p. 1.
- [5] Ge S., Wang Q., Zhang D., Zhu H., Xiong D., Huang C. and Huang X., Friction and wear behavior of nitrogen ion implanted UHMWPE against ZrO₂ ceramic. Wear, 2003.Vol. 255(7-12): p. 1069.
- [6] Macdonald D. E., Deo N., Rapuano B., Stranick M. and Boskey A. L., Thermal and chemical modification of titanium-aluminumvanadium implant materials: effects on surface properties, glycoprotein adsorption, and MG63 cell attachment. Biomaterials, 2004.Vol. 25: p. 3135.
- [7] Spijker H., Busscher H. and Oeveren W. V., Influence of abciximab on the adhesion of platelets on a shielded plasma gradient prepared on polyethylene. Thrombosis Research, 2002.Vol. 108(1): p. 57.
- [8] Cui F.Z. and Luo Z.S., Biomaterials modification by ion implantation. Surface and Coatings Technology 1999.Vol. 112(1-3): p. 278.
- [9] Do Serro A. P., Fernandes A. C. and Saramago B., The influence of proteins on calcium phosphate deposition over titanium implants studied by dynamic contact angle analysis and XPS. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1997.Vol. 10(2): p. 95.
- [10] Rupp F., Scheideler L., Rehbein D., Axmann D. and Geis-Gerstorfer J., Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. Biomaterials, 2004.Vol. 25(7-8): p. 1429.
- [11] Sevastjanova N. A., Mansurova L. A., Dombrovska L. E. and Slutskii L. I., Biochemical characterization of connective tissue reaction to synthetic polymer implants. Biomaterials, 1987.Vol. 8(4): p. 242.
- [12] Système de gestion des marchés stratégiques, Agents de surface. Préparé pour : Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2002.
- [13] Guignot C., Irradiation de polyuréthannes par électrons accélérés : évolution moléculaire et supramoléculaire, incidence sur les extractibles et implication biomédicales. Thèse de Doctorat, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, Paris-sud 11, 2002.
- [14] Haesen G., Le Goff B. and Glaude Ph., Separation and determination of trace amounts of some plastic additives in dairy products. Microchimica Acta, 1981.Vol. 75(1-2): p. 25.
- [15] Depledge F., Risques organoleptiques pour l'aliment liés aux migrations, In L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation Bureau G. and Multon J.L. 1989, Technique et Documentation - Lavoisier, 2^{ème} édition: Paris. p. 57.
- [16] Lefaux R., Les matières plastiques dans l'industrie alimentaire. 1972, Paris: Publications techniques associées - Groupe de la Compagnie Française.

- [17] Yagoubi N., Etude analytique des polymères et de leurs principaux additifs incidence de la stérilisation par les rayonnements ionisants. Thèse de Doctorat, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, Université Paris-Sud 11, 1991.
- [18] Farhi R., Morel C. and Chéron J., Matières plastiques & adjuvants hygiène et sécurité. 3^{ème} ed. Vol. 231. 2006, Paris: Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS) ED 638.
- [19] Hinrichsen G., Polyurethane handbook (2nd ed.). Edited by Oertel G., Hanser Publishers, Munich 1993. Acta Polymerica, 1994.Vol. 45(5): p. 398.
- [20] Wang F., Polydimethylsiloxane modification of segmented thermoplastic polyurethanes and polyureas. Thesis of Doctor of Philosophy in Chemistry, The Faculty of the Virginia Polytechnic Institute, University of Virginia, 1998
- [21] Chandy T. and Sharma Cp., Biocompatibility and toxicological screening of materials. Dans Blood Compatible Materials and devices, Sharma CP & Szycher M. Technomic Publ. Co. Inc. Lancaster, 1991: p. 131.
- [22] Frisch K. C., Recent advances in the chemistry of polyurethanes. Rubber Chemistry and Technology, 1972.Vol. 45: p. 1442.
- [23] Brauman S. K., Mayorga G. D. and Heller J., Light stability and dis-coloration of segmented polyether urethanes. Annals of Biomedical Engineering, 1981.Vol. 9: p. 45.
- [24] Schollenberger C. S., Scott H. and Moore G. R., Polyurethane VC, a virtually Cross-linked elastomer. Rubber World, 1958.Vol. 137: p. 549.
- [25] Takakanov O. G., Nevskji L. V. and Beljakov V. K., Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia, 1968.Vol. 23: p. 193.
- [26] Guignot C., Apport des techniques analytiques dans l'étude des polyuréthanes à usage pharmaceutique et biomédical. Thèse d'exercice, Paris XI, 1998.
- [27] Weissermel K. and Arpe H.-J., Industrielle Organische Chemie, ed. 2nd. 1978, New York: Verlag Chemie, Weinheim. p. 400.
- [28] Chadwick D. H. and Hardy E. E., Isocyanates, Organic, In Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Parolla E.A., Coeman C., Comiskey C., Klingsberg A. and Reyen P. Van. 1967, Interscience Publishers 2nd ed.: New York. p. 45.
- [29] Allport D. C., Gilbert D. S. and Outterside S. M., MDI and TDI: Safety, Health and the Environment. Online ISBN: 0470865687, ed. 0471958123 Isbn.: 2003: Copyright© John Wiley & Sons, Ltd.
- [30] Petrovic Z.S. and Ferguson J., Polyurethane elastomers. Progress in Polymer Science, 1991.Vol. 16(5): p. 695.
- [31] Martin D. J., Meijs G. F., Gunatillake P. A., Mccarthy S. J. and Renwick G. M., The effect of average soft segment length on morphology and properties of a series of polyurethane elastomers. II. SAXS-DSC annealing study. Journal of Applied Polymer Science, 1997.Vol. 64(4): p. 803.
- [32] Martin D. J., Meijs G. F., Gunatillake P. A., Yozghatljan S. P. and Renwick G. M., The influence of composition ratio on the morphology of biomedical polyurethanes. Journal of Applied Polymer Science, 1999.Vol. 71(6): p. 937.
- [33] Seymour R. W. and Cooper S. L., Thermal analysis of polyurethane block polymers. Macromolecules, 1973 Vol. 6(1): p. 48.
- [34] Srichatrapimuk V. W. and Cooper S. L., Infrared thermal analysis of polyurethane block polymers. Journal of Macromolecular Science - Physics, 1978.Vol. B15: p. 267.
- [35] Lee H.S., Wang Y.K. and Hsu S.L., Spectroscopic analysis of phase separation behavior of model polyurethanes. Macromolecules, 1987.Vol. 20: p. 2089.

- [36] Typical Physical Properties of PELLETHANE. Thermoplastic Polyurethane Elastomers. Form No. 306-00183-0801X SMG. 2001, Printed in U.S.A.: The Dow Chemical Company.
- [37] Ulrich H. and Bonk H.W., Emerging biomedical application of polyurethane elastomers, In Polyurethane in biomedical engineering. H.Planck G.Egbers, I.Syré. 1984, Elsevier Science Publishers: Amsterdam. p. 165.
- [38] Sheikh N., The effect of radiosterilization on cytotoxicity of polyurethane film. Nuclear instruments and methods in physics research B, 2003.Vol. 208: p. 215.
- [39] Aggoune M., Chaluumeau M.-T., Duval H., Lamory J. and Landriu D., La désinfection des surfaces des locaux, ed. Pratiques Guide De Bonnes. Vol. 41. 2000: Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Interrégion (CCLIN) Paris Nord.
- [40] Zumofen M. and Logghe C., Recommandations en matière de stérilisation Vol. n° 7848/1. 2006, Bruxelles: Conseil supérieur d'hygiène
- [41] Aggoune M., Bardez C., Coureul M.-H., Farret D., Legros A., Lozano S., Millancourt D., Tosetti D. and Varlet S., Hygiène et prise en charge des dispositifs médicaux en consultation d'ophtalmologie, ed. Pratiques Guide De Bonnes. Vol. 38. 2000: Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Interrégion (CCLIN) Paris Nord.
- [42] Blech M. F. and Benoît F., La stérilisation des dispositifs médicaux, In Tirésias. 2001, Tirésias.
- [43] Adige S., Etude comparative des effets de la radiosterilisation et de la stérilisation par décharge plasma. Diplôme Universitaire, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, Université Paris 11, 2001.
- [44] Lopez N., Effets structuraux du traitement par les gaz plasma sur les matériaux polymères. Diplôme d'Etudes Approfondies de Pharmacotechnie et Biopharmacie, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, Université Paris-Sud 11, 2004.
- [45] Postaire E., Les matières plastiques à usage pharmaceutique : propriétés générales et biotechniques 2^{ème} ed. 1991, Paris : Editions Médicales Internationales. p. 546.
- [46] Chaigneau M., Stérilisation à l'oxyde éthylène conditionnement. C. R. Coll. sur stérilisation et conditionnement (Ass. Cond. et Santé). Paris, 1986: p. 7.
- [47] Holyoak R., Wang S., Liu Y. and Bunch T.D., Toxic effects of ethylene oxide residues on bovine embryos *in vitro* Toxicology, 1996.Vol. 108: p. 33.
- [48] Holy C. E., Cheng C., Davies J. E. and Shoichet M. S., Optimizing the sterilization of PLGA scaffolds for use in tissue engineering. Biomaterials, 2001.Vol. 22: p. 25.
- [49] Moyon C. and Moyon M., Produits et matériaux à stériliser, In La stérilisation en milieu hospitalier. Avane. 1989, CEHP, Labo. Sofabel-Orbel: St Ouen.
- [50] Hemmerich K. J., Polymer Materials Selection for Radiation-Sterilized Products. Medical Device & Diagnostic Industry Magazine, 2000.
- [51] Icre P., Stérilisation par les rayonnements ionisants et choix des matériaux (ASS. Cond. et Santé). C. R. sur Stérilisation et conditionnement, Paris, 1986: p. 32.
- [52] Ishigaki I. and Yoshii F., Radiation Effects on Polymer Materials in Radiation Sterilization of Medical Supplies. Radiation Physics and Chemistry, 1992.Vol. 39(6): p. 527.
- [53] Charlesby D.A., Atomic Radiation and Polymers. 1960, Oxford, London: Pergamon Press. p.335.
- [54] Sage M., Initiation à la prévention des risques professionnels. La radioprotection, 2003: p. 45.
- [55] Menashi W.P., Treatment of surfaces. US Patent 3 383 163, 1968.

- [56] Ashman L. E. and Menashi W. P., Treatment of surfaces with low pressure plasmas. US Patent 3 701 628, 1972.
- [57] Boucher(Gut) R.M., Seeded gas plasma sterilization method. US Patent 4 207 286, 1980.
- [58] Bithell R.M., Package and sterilizing process for same. US Patent 4 321 232, 1982.
- [59] Moisan M., Barbeau J., Moreau S., Pelletier J., Tabrizian M. and Yahia L. H., Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics*, 2001.Vol. 226(1-2): p. 1.
- [60] Goldman M. and Goldman A., Nature des espèces réactives formées par les décharges électriques dans les gaz à haute pression. *Journal of High Temperature Chemical Processes*, 1993.Vol. 2: p. 215.
- [61] Khalid M. N., Synthèse, caractérisation, stérilisation et étude des propriétés de réseaux à base de chitosane. Application à la libération contrôlée pour l'administration orale et comme enrobage pour des prothèses endovasculaires Thèse de Doctorat, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, Université Paris-Sud 11, 2002.
- [62] Jacobs P.T. and Lin S.M., Hydrogen peroxide plasma sterilization system. US Patent 4 643 876, 1987.
- [63] Boucher(Gut) R. M., State of the art in gas plasma sterilization. *Med. Device Diagnost. Indust.*, 1985.Vol. 7: p. 51.
- [64] Feichtinger J., Scultz A., Walker M. and Schumacher U., Sterilisation with low pressure microwaves plasmas. *Surface and coating technology*, 2003.Vol. 174-175: p. 564.
- [65] Ratner B. D., Chilkoti A. and Lopez G. P., Plasma Deposition, Treatment, and Etching of Polymers. Academic Press, 1990.Vol. Boston, MA.
- [66] Nelson C. L. and Berger T. J., Inactivation of microorganisms by oxygen gas plasma. *Current Microbiology*, 1989.Vol. 18: p. 275.
- [67] Fraser S. J., Gillette R. B. and Olsen R. L., Sterilizing process and apparatus utilizing gas plasma. US Patent 3 948 601, 1976.
- [68] Darbord J. C. and Chopard C., Bonnes pratiques de stérilisation- Désinfection. http://www.cefh-ceps.com/sterilisation/bd_ste/ste25.htm.
- [69] Feldman L. A. and Hui H. K., Compatibility of medical devices and materials with low-temperature hydrogen peroxide gas plasma, in *Medical Device & Diagnostic Industry Magazine*. 1997.
- [70] Johnson and Johnson, Sterrad® 100, 1^{ère} nouvelle en stérilisation. Johnson & Johnson Medical, 1993.
- [71] Circulaire DGS/VS2 - DH/EM1/EO1 n° 97672 du 20 octobre 1997. <http://www.hosmat.com/circulaires/textes97/97672.html>, 1997.
- [72] Krebs M.C., Bécasse P., Verjat D. and Darbord J.C., Gas-plasma sterilization: relative efficacy of thehydrogen peroxide phase compared with that of the plasma phase. *International Journal of Pharmaceutics* 1998.Vol. 160: p. 75.
- [73] Jobet-Hermelin I., Guilmin C., Royer N., Djenadi Z., Dagenel-Nguyen A. and Prugnaud J. L., Stérilisation par plasma de peroxyde d'hydrogène (Sterrad®). *Journal de pharmacie clinique*, 1996.Vol. 15: p. 55.
- [74] Widmer A. F., Francioli P. and Cavin F., Stérilisation au plasma: mise à jour, in *swiss-noso* ; <http://www.chuv.ch/swiss-noso/f74a1.htm>. 2000.
- [75] Crow S. and Smith J. H., Gas plasma sterilization. Application of space age technology. *Infection control and Hospital Epidemiology*, 1995.Vol. 16(8): p. 483.

- [76] Buisson P., Décontamination, désinfection et stérilisation du matériel arthroscopique. Sofarthro, ANNALES:
http://www.sofarthro.com/ANNALES/ANNALES_1998/CONFERENCES/buisson.htm, 1998.
- [77] Lerouge S., Tabrizian M., Wertheimer M. R., Marchand R. and Yahia L., Safety of plasma-based sterilization: surface modifications of polymeric medical devices induced by Sterrad and Plazlyte processes. Biomed Mater Eng, 2002.Vol. 12(1): p. 3.
- [78] Abtox(3m), Plazlyte® gas plasma sterilization system. Technical data monograph, 3M, 1996.
- [79] Smith C. A., Khoury J. M., Shields S. M., Roper G. J., Duffy R. E., Edelhauser H. F. and Lubniewski A. J., Unexpected corneal endothelial cell decompensation after intraocular surgery with instruments sterilized by plasma gas. Ophthalmology, 2000.Vol. 107(8): p. 1561.
- [80] Morre J., La radiostérilisation et ses applications au matériel médical à usage unique. Recueil Medicinal Veterinaire, 1975.Vol. 151,N°4: p. 231.
- [81] Pelletier J., La stérilisation par le procédé plasma. Agressologie, 1993.Vol. 33: p. 105.
- [82] Wertheimer M.R., Fozza A.C. and Ander A. Holl, Industrial processing of polymers by low-pressure plasmas: the role of VUV radiation. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 1999.Vol. 151: p. 65.
- [83] Subramanyam T. K., Schwefel R. and Awakowicz P., Plasma Sterilization and Correlation to Plasma Diagnostics. VIDE—Science Technique Applications, 2002.Vol. 57(303): p. 169.
- [84] Moisan M., Baril D., Barbeau J., Saoudi B. and Philip N., La stérilisation par plasma pourrait détruire les prions. Forum, Université de Montréal, 2001.Vol. vol 35, n°17.
- [85] Moreau S., Moisan M., Tabrizian M., Barbeau J., Pelletier J., Ricard A. and Yahia L.H., Using the flowing afterglow of a plasma to inactivate *Bacillus subtilis* spores: Influence of the operating conditions. Journal of Applied Physics, 2000.Vol. 88: p. 1166.
- [86] Médard N., Soutif J.C. and Poncin-Epaillard F., Characterization of CO₂ plasma treated polyethylene surface bearing carboxylic groups. Surface and coating technology, 2002.Vol. 160: p. 197.
- [87] Poletti G., Orsini F., Raffaele-Addamo A., Riccardi C. and Selli E., Cold plasma treatment of PET fabrics: AFM surface morphology characterisation. Applied surface science, 2003.Vol. 219(3-4): p. 311.
- [88] Dreux F., Marais S., Poncin-Epaillard F., Metayer M., Labbe M. and Saiter J. M., Water and toluene barrier properties of a PA 12 modified by a surface treatment using cold plasma. Materials Research Innovat, 2003.Vol. 7: p. 183.
- [89] Mozes N., The ways we study interfacial phenomena of living cells, In Adhésion des micro-organismes aux surfaces: biofilm, nettoyage, désinfection. Bellon-Fontaine M.-N. and Fourniat J. 1994, Technique & documentation, Lavoisier: Paris, Londres, New York. p. 4.
- [90] Vacheethasane K. and Marchant R. E., Non specific Staphylococcus epidermidis Adhesion: Contributions of Biomaterial Hydrophobicity and Charge, In Handbook of Bacterial Adhesion: Principles, Methods, and Applications. An Y. H. and Friedman R. J. . 2000, Humana Press Inc. p. 73.
- [91] Bellon-Fontaine M.-N. and Vernhet A., Adhésion de particules et de micro-organismes aux surfaces solides, In Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio-industries. Leveau J.-Y. and Bouix M. 1999, Technique & documentation, Lavoisier: Paris, Londres, New York. p. 25.

- [92] Characklis W. G., Process Analysis in microbial systems: biofilms as a case study, In Bazin M. Mathematics in microbiology, 1983, Academic Press: London. p. 171.
- [93] Characklis W. G., Turakhia M. and Zilver N., Transport and interfacial transfer phenomena, In Biofilms. Characklis W. G. and Marshall K. C. 1990, John Wiley & sons: New York. p. 265.
- [94] Marshall K. C., Adsorption and adhesion processes in microbial growth at interfaces. Advances in colloid and interface science, 1986.Vol. 25: p. 59.
- [95] James A. M., The electrical properties and topochemistry of bacterial cells. Advances in Colloid and Interface Science, 1982.Vol. 15(3-4): p. 171.
- [96] James A. M., Charge properties of microbial cell surfaces, In Microbial Cell Surface Analysis: Structural and Physicochemical Methods (Hardcover). Mozes N., Handley P. S., Busscher H. J. and Rouxhet P. G. 1991, John Wiley & Sons. p. 221.
- [97] Van-Oss C. J., Acid base interfacial interactions in aqueous media. Colloids and surfaces A: Physicochem. and engineering aspects 1993.Vol. 78: p. 1.
- [98] Absolom D. R, Lamberti F.V., Policovaz Z., Zing W., Van-Oss C. J. and Neumann A. W., Surface thermodynamics of bacterial adhesion. Applied and environmental microbiology, 1983.Vol. 46: p. 90.
- [99] Schneider R.P., Conditioning film-induced modification of substratum physicochemistry - Analysis by contact angles. Journal of Colloid and Interface Science, 1996.Vol. 182(1): p. 204.
- [100] Tsibouklis J., Stone M., Thorpe A. A., Graham P., Peters V., Heerlien R., Smith J. R., Green K. L. and Nevell T. G., Preventing bacterial adhesion onto surfaces: the low-surface-energy approach. Biomaterials, 1999.Vol. 20(13): p. 1229.
- [101] Bruinsma G. M., Rustema-Abbing M., Vries J., Busscher H. J., Van Der Linden M. L., Hooymans J. M. M. and Van Der Mei H. C., Multiple surface properties of worn RGP lenses and adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. Biomaterials, 2003.Vol. 24(9): p. 1663.
- [102] Yuehwei H., An Richard and Friedman J., Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. Journal of Biomedical Materials Research, 1998.Vol. 43(3): p. 338.
- [103] Hogt A. H. , Dankert J. and Feijen J., Adhesion of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* to a hydrophobic biomaterial. Journal of general microbiology, 1985.Vol. 131(9): p. 2485.
- [104] Dankert J, Hogt A.H. and Feijen J., Bacterial adhesion, colonization and infection. *CRC Crit Rev Biocomp.* Journal of Biomedical polymers, 1986.Vol. 2: p. 219.
- [105] Fletcher M., Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity. Chap 4, Adhesion to biomaterials, p.89-127 1996, New-York: Wiley-Liss.
- [106] Gottenbos B., Van Der Mei H. C., Busscher H. J., Grijpma D. W. and Feijen J., Initial adhesion and surface growth of *Pseudomonas aeruginosa* on negatively and positively charged poly(methacrylates). Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1999.Vol. 10(12): p. 853.
- [107] Ong Y.-L., Razatos A., Georgiou G. and Sharma M. M., Adhesion Forces between *E. coli* Bacteria and Biomaterial Surfaces Langmuir, 1999.Vol. 15(8): p. 2719.
- [108] Garry P., Andersen T., Venduvre J.L. and Bellon-Fontaine M.N., Influence de la rugosité de surfaces en polyuréthane sur l'adhésion de *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*, In Adhésion des micro-organismes aux surfaces : biofilm, nettoyage, désinfection. Bellon-Fontaine M.-N. and Fourniant J. 1994, Technique & documentation, Lavoisier: Paris, Londres, New York. p. 21.
- [109] Liu Y., Adhesion kinetics of nitrifying bacteria on various thermoplastic supports. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1995.Vol. 5: p. 213.

- [110] Bouix M., Leveau J.-Y. and Mescle J.-F., Importance des phénomènes microbiens dans les procédés alimentaires et biologiques, In Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio-industries. Leveau J.-Y. and Bouix M. 1999, Technique & documentation, Lavoisier: Paris, Londres, New York. p. 87.
- [111] Brisset L., Vernet-Garnier V., Carquin J., Burde A., Flament J.B. and Choisy C., Analyse *in vivo* et *in vitro* de l'aptitude à la colonisation microbienne des sondes urinaires. Pathologie et Biologie, 1996.Vol. 44(5): p. 397.
- [112] Merritt K. and Yuehuei H. A., Factors Influencing Bacterial Adhesion, In Handbook of Bacterial Adhesion- Principles, Methods, and Applications. Yuehuei H. A., Richard M. D. and Friedman J. 2000, Humana Press: Totowa, N.J.
- [113] Speranza G., Gottardi G., Pederzoli C., Lunelli L., Canteri R., Pasquardini L., Carli E., Lui A., Maniglio D., Brugnara M. and Anderle M., Role of chemical interactions in bacterial adhesion to polymer surfaces. Biomaterials, 2004.Vol. 25(11): p. 2029.
- [114] Dumitriu S. and Dumitriu-Medvichi C., Polymer Structure Properties, In Polymeric Biomaterials. Dumitriu S. 1994, Marcel Dekker Inc. p. 66.
- [115] Ludwicka A., Jansen B., Wadstrom T. and Pulverer G., Attachment of staphylococci to various synthetic polymers. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene [A], 1984.Vol. 256(4): p. 479.
- [116] Rasmussen K. and Ostgaard K., Adhesion of the marine bacterium *Pseudomonas sp.* NCIMB 2021 to different hydrogel surfaces. Water research, 2003.Vol. 37(3): p. 519.
- [117] Sodhi R. N. S., Sahi V. P. and Mittelman M. W., Application of electron spectroscopy and surface modification techniques in the development of anti-microbial coatings for medical devices. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, 2001.Vol. 121(1-3): p. 249.
- [118] James N. R. and Jayakrishnan A., Surface thiocyanation of plasticized poly(vinyl chloride) and its effect on bacterial adhesion. Biomaterials, 2003.Vol. 24(13): p. 2205.
- [119] Yousefi A. R., Ayhan H., Kisa U. and Piskin E., Adhesion of different bacterial strains to low-temperature plasma treated biomedical PVC catheter surfaces. Journal of biomaterials science. Polymer edition, 1998.Vol. 9(9): p. 915.
- [120] Gottenbos B., Van Der Mei H. C., Klatter F., Grijpma D. W., Feijen J., Nieuwenhuis P. and Busscher H. J., Positively charged biomaterials exert antimicrobial effects on gram-negative bacilli in rats. Biomaterials, 2003.Vol. 24(16): p. 2707.
- [121] Park J.H., Cho Y.W., Kwon I.C., Jeong S.Y. and Bae Y.H., Assessment of PEO/PTMO multiblock copolymer/segmented polyurethane blends as coating materials for urinary catheters: in vitro bacterial adhesion and encrustation behavior. Biomaterials, 2002.Vol. 23(19): p. 3991.
- [122] Flemming R. G., Capelli C. C., Cooper S. L. and Proctor R. A., Bacterial colonization of functionalized polyurethanes. Biomaterials, 2000.Vol. 21(3): p. 273.
- [123] Espersen F., Wurr M., Corneliussen L., Hog A. L., Rosdahl V. T., Frimodt-Moller N. and Skinhoj P., Attachment of staphylococci to different plastic tubes *in vitro*. Journal of medical microbiology, 1994.Vol. 40(1): p. 37.
- [124] Walckenaer E., Evaluation de l'impact d'un procédé de stérilisation par plasma sur les polymères par analyses chimiques et microbiologiques. Thèse d'exercice, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, Université Paris-sud 11, 2000.
- [125] Fauchère J.-L. and Avril J.-L., Bactériologie générale et médicale, ed. Ellipses. Vol. 365. 2002.
- [126] Pibiri M.-C., Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Institut des infrastructures, des ressources et de l'environnement, École polytechnique fédérale de Lausanne, 2005.

- [127] Ganciu M., Pointu A.M., Legendre B., Orphal J., Vervloët M., Touzeau M. and Yagoubi N., USPTO Patent Application, 10/610158. 2004.
- [128] Larbre J., Ganciu M., Pointu A.M., Touzeau M., Orphal J. and Verloet M. An atmospheric afterglow as source of flowing nitrogen atoms. in International Workshop on Cold Atmospheric Pressure Plasmas: Sources and Applications (CAPPSA). 2004,14-16 January. Ghent, Belgium. p. 93.
- [129] Pointu A.-M., Ricard A., Dodet B., Odic E., Larbre J. and Ganciu M., Production of active species in N₂-O₂ flowing post-discharges at atmospheric pressure for sterilization. Journal of Physics D: Applied Physics, 2005.Vol. 38(12): p. 1905.
- [130] Nyqvist H., Saturated salt solutions for maintaining specified relative humidities. International Journal of Pharmaceutics & Product Manufacturer, 1983.Vol. 4(2): p. 47.
- [131] Ehrenstein G. W., Praxis der Thermischen Analyse von Kunststoffen. 1998, Hanser Verlag, München. p.29.
- [132] Pharmacopée européenne, troisième édition. 1997 (mise à jour 2001), Strasbourg: Conseil de l'Europe.
- [133] Rivoal J.-C. and Frétiigny C., Microscopie à force atomique (AFM). R 1 394. 2005, Paris: ©Techniques de l'Ingénieur.
- [134] Tyler B.J., Ratner B.D., Castner D.G. and Briggs D., Variations between biomer lotsTM. I.significant differences in the surface chemistry of two lots of a commercial polyetherurethane. journal of biomedical materials research, 1992.Vol. 26(3): p. 273.
- [135] Mccarthy S.M., Meijs G.F., Mitchell N., P.A.Gunatillake, G.Heath, Brandwood A. and Schindhelm K., *In vivo* degradation of polyurethane: transmission FTIR microscopic characterization of polyurethane sectionned by microcryotomy. Biomaterials, 1997.Vol. 18: p. 1387.
- [136] Seymour R. W., Estes G. M. and Cooper S. L., Infrared study of segmented polyurethan elastomers I. hydrogen bonding. Macromolecules, 1970.Vol. 3(5): p. 579.
- [137] Boyarchuk Y. M., Rapport L. Y., Nikitin V. N. and Apukhtine N. P., Polymer Science USSR, 1965.Vol. 7: p. 859.
- [138] Dong A., Wan T., Feng S. and Sun D., IR Spectra Studies of Core-Shell Type Waterborne Polyacrylate-Polyurethane Microemulsions. Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics, 1999.Vol. 37: p. 2642.
- [139] Sung C.S.P. and Schneider N.S., Infrared study of hydrogen bonding in TDI based polyurethanes. Macromolecules, 1975.Vol. 8(1): p. 68.
- [140] Brunette C.M., Hsu S.L. and Macknight W.J., Hydrogen-bonding properties of hard-segment model: compounds in polyurethane block copolymers. Macromolecules, 1982.Vol. 15: p. 71.
- [141] Lee H.S., Wang Y.K., Macknight W.J. and Hsu S.L., Spectroscopic analysis of phase separation kinetiks in model polyurethanes. Macromolecules, 1988.Vol. 21: p. 270.
- [142] Barrow G. M., Conjugation and the intensity of the infrared carbonyl band. Journal of Chemical Physics, 1953.Vol. 21(11): p. 2008.
- [143] Coleman M. M., Lee K.H, Skrovanek D. J. and Painter P.C., Hydrogen Bonding in Polymers. 4. Infrared Temperature Studies of a Simple Polyurethane. Macromolecules, 1986.Vol. 19(8): p. 2149.
- [144] Herrera K.M., Matuschek G. and Kettrup A., Thermal degradation of thermoplastic polyurethane elastomers (TPU) based on MDI. Polymer Degradation and stability, 2002.Vol. 78: p. 323.
- [145] Seymour R. W. and Cooper S. L., DSC studies of polyurethane block polymers. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters, 1971.Vol. 9(9): p. 689.

- [146] Hesketh T. R., Bogart J. W. C. Van and Cooper S. L., Differential scanning calorimetry analysis of morphological changes in segmented elastomers. *Polymer Engineering & Science*, 1980.Vol. 20(3): p. 190.
- [147] Miller J. A., Lin S. B., Hwang K. K. S., Wu K. S., Gibson P. E. and Cooper S. L., Properties of polyether polyurethane block copolymers: effects of hard segment length distribution. *Macromolecules*, 1985.Vol. 18: p. 32.
- [148] Koberstein J.T. and Galambos A.F., Multiple melting in segmented polyurethane block copolymers. *Macromolecules*, 1992.Vol. 25: p. 5618.
- [149] Frick A. and Rochman A., Characterization of TPU-elastomers by thermal analysis (DSC) *Polymer Testing*, 2004.Vol. 23(4): p. 413.
- [150] Samuels S. L. and Wilkes G. L., The Rheo-Optical and Mechanical Behavior of a Systematic Series of Hard-Soft Segmented Urethanes. *Polymer Symposia C*, 1973.Vol. 43: p. 149.
- [151] Leung L.M. and Koberstein J.T., DSC annealing behavior of microphase separation and multiple endothermic behavior in polyether based polyurethane block copolymers. *Macromolecules*, 1986.Vol. 19: p. 706.
- [152] Koberstein J.T. and Russell T.P., Simultaneous SAXS DSC study of multiple endothermic behavior in polyether based polyurethane block copolymers. *Macromolecules*, 1986.Vol. 19: p. 714.
- [153] Saiani A., Daunch W. A., Verbeke H., Leenslag J. W. and Higgins J. S., Origin of Multiple Melting Endotherms in a High Hard Block Content Polyurethane. 1. Thermodynamic Investigation. *Macromolecules*, 2001.Vol. 34(26): p. 9059.
- [154] Saiani A., Rochas C., Eeckhaut G., Daunch W. A., Leenslag J. W. and Higgins J. S., Origin of Multiple Melting Endotherms in a High Hard Block Content Polyurethane. 2. Structural Investigation. *Macromolecules*, 2004.Vol. 37(4): p. 1411.
- [155] Chen T.K., Chui J.Y. and Shieh T.S., Glass transition behaviors of a polyurethane hard segment based on 4,4'-diisocyanatodiphenylmethane and 1,4-butanediol and the calculation of microdomain composition. *Macromolecules*, 1997.Vol. 30: p. 5068.
- [156] Chen T. K. , Shieh T. S. and Chui J. Y., Studies on the first DSC endotherm of polyurethane hard segment based on 4,4'-diphenylmethane diisocyanate and 1,4-butanediol. *Macromolecules (SCI)*, 1998.Vol. 31(4): p. 1312.
- [157] Koberstein J.T., Galambos A.F. and Leung L.M., Compression molded polyurethane block copolymers I. Microdomain morphology and thermomechanical properties. *Macromolecules*, 1992.Vol. 25: p. 6195.
- [158] Ledru J., Saiter J. M., Grenet J., Youssef B., Burel F. and Bunel C., Thermal characterization of polyurethane acrylate resins. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 1999.Vol. 58(1): p. 13.
- [159] Ström G., Fredriksson M. and Stenius P., Contact angles, work of adhesion, and interfacial tensions at a dissolving Hydrocarbon surface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1987.Vol. 119(2): p. 352.
- [160] Giasson S., Chapitre 1 : Surfaces et interfaces : Notions fondamentales CHM 3404, In *Surfaces, interfaces et colloïdes*. 2004, Université de Montréal. p. 15.
- [161] Wenzel R. N., Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Industrial and Engineering Chemistry*, 1936.Vol. 28(8): p. 988.
- [162] Cassie A.B.D. and Baxter S., Wetting of porous surfaces. *Transaction of the Faraday Society*, 1944.Vol. 40: p. 546.
- [163] Sreedhar B., Chattopadhyay D. K. and Swapna V., Thermal and surface characterization of polyurethane-urea clay nanocomposite coatings. *Journal of Applied Polymer Science*, 2006.Vol. 100(3): p. 2393.

- [164] Ratner B. D., Briggs D., Hearn M. J., Yoon S. C. and Edelman P. G., ESCA and static SIMS studies of polyurethane surfaces, In Surface characterization of biomaterials. Ratner B. D. 1988, Elsevier: Amsterdam.
- [165] Gandek T. P., Hatton T. A. and Reid R. C., Batch extraction with reaction: phenolic antioxidant migration from polyolefins to water. 2. Experimental results and discussion. Industrial and Engineering Chemistry Research, 1989.Vol. 28(7): p. 1036.
- [166] Schwöpe A. D., Till D. E., Ehntholt D. J., Sidman K. R., Whelan R. H., Schwartz P. S. and Reid R. C., Migration of BHT and Irganox 1010 from low-density polyethylene (LDPE) to foods and food-simulating liquids. Food and Chemical Toxicology, 1987.Vol. 25(4): p. 317.
- [167] Schwöpe A.D., Till D.E., Ehntholt D.J., Sidman K.R., Whelan R.H., Schwartz P.S. and Reid R.C., Migration of Irganox 1010 from ethylene-vinyl acetate films to foods and food-simulating liquids Food and Chemical Toxicology, 1987.Vol. 25(4): p. 327.
- [168] Wilson D. J., Rhodes N. P. and Williams R. L., Surface modification of a segmented polyetherurethane using a low-powered gas plasma and its influence on the activation of the coagulation system. Biomaterials, 2003.Vol. 24(28): p. 5069.
- [169] Chai J., Lu F., Li B. and Kwok D.Y., Wettability interpretation of oxygen plasma modified PMMA. Langmuir, 2004.Vol. 20: p. 10919.
- [170] Esena P., Riccardi C., Zanini S., Tontini M., Poletti G. and Orsini F., Surface modification of PET film by a DBD device at atmospheric pressure. surface and coating technology, 2005.Vol. 200: p. 664.
- [171] Carrino L., Moroni G. and Polini W., Cold plasma treatment of PP surface: a study on wettability and adhesion. journal of materials processing technology, 2002.Vol. 121: p. 373.
- [172] Mitchell S.A., Davidson M.R. and Bradley R.H., Improved cellular adhesion to acetone plasma modified polystyrene surface. journal of Colloid and interface science, 2005.Vol. 281: p. 122.
- [173] Lerouge S., Guignot C., Tabrizian M., Ferrier D., Yagoubi N. and Yahia L. H., Plasma based sterilization: Effect on surface and bulk properties and hydrolytic stability of reprocessed polyurethane electrophysiology catheters. Journal of biomedical materials research, 2000.Vol. 52: p. 774.
- [174] Baquey C., Palumbo F., Porte-Durrieu M.C., Legeay G., Tressaud A. and Agostino R. D., Plasma treatment of expanded PTFE offers a way to a biofunctionalization of its surface. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 1999.Vol. 151: p. 255.
- [175] Chu P. K., Chen J. Y., Wang L. P. and Huang N., Plasma-surface modification of biomaterials. Materials Science and Engineering R 2002.Vol. 36: p. 143.
- [176] Gorna K. and Gogolewski S., Molecular stability, mechanical properties, surface characteristics and sterility of biodegradable polyurethanes treated with low-temperature plasma. Polymer Degradation and Stability, 2003.Vol. 79(3): p. 475.
- [177] Wagner A. J., Fairbrother D. H. and Reniers F., A Comparison of PE Surfaces Modified by Plasma Generated Neutral Nitrogen Species and Nitrogen Ions. Plasmas and Polymers, 2003.Vol. 8(2): p. 119.
- [178] Ratner B.D. and Paynter R.W., Polyurethane surfaces: the importance of molecular weight distribution, bulk chemistry and casting conditions, In Polyurethanes in biomedical engineering. Planck H., Egbers G. and Syré I. 1984, Elsevier Science Publishers: Amsterdam. p. 41.
- [179] Briggs D., Analysis and chemical imaging of polymer surfaces by SIMS, In polymer surfaces and interfaces. Feast W.J. and Munro H.S. 1987, John Wiley and Sons. p. 33.

- [180] Gerenser L.J., XPS studies of in situ plasma-modified polymer surface. Journal of adhesion science and technology, 1993.Vol. 7(10): p. 1019.
- [181] Gerenser L. J., X-ray photoemission study of plasma. modified polyethylene surfaces. Journal of Adhesion Science and Technology, 1987.Vol. 1(4): p. 303.
- [182] Foerch R., Izawa J. and Spears G., A comparative study of the effects of remote nitrogen plasma,remote oxygen plasma, and corona discharge treatments on the surfaceproperties of polyethylene. Journal of Adhesion Science and Technology, 1991.Vol. 5(7): p. 549.
- [183] Wilson R., Evaluation of the Plazlyte Sterilization System at the Richmond Hospital, Richmond, B.C. J Healthc Mater Manage., 1994.Vol. 12(4): p. 37.
- [184] Gerenser L. J., Grace J. M., Apai G. and Thompson P. M., Surface chemistry of nitrogen plasma-treated poly(ethylene-2,6-naphthalate): XPS, HREELS and static SIMS analysis. Surface and Interface Analysis, 2000.Vol. 29(1): p. 12.
- [185] Briggs D., Rance D. G., Kendall C. R. and Blythe A. R., Surface modification of poly(ethylene terephthalate) by electrical discharge treatment. Polymer, 1980.Vol. 21(8): p. 895.
- [186] Yasuda H., Charlson E. J., Charlson E. M., Yasuda T., Miyama M. and Okuno T., Dynamics of surface property changes in response to changes in environmental conditions. Langmuir, 1991.Vol. 7(10): p. 2394.
- [187] Yasuda T., Okuno T. and Yasuda H., Contact angle of water on polymer surfaces. Langmuir, 1994.Vol. 10(7): p. 2435.
- [188] Yasuda T., Miyama M. and Yasuda H., Dynamics of surface configuration change of polymers in response to changes in environmental conditions. II. comparison of changes in air and in liquid water. Langmuir, 1992.Vol. 8(5): p. 1425.
- [189] Walter D.-H., Structure of water near solid interfaces. Industrial and Engineering Chemistry, 1969.Vol. 61(11): p. 10.
- [190] Fisher S. R. A. and Yates F., Distribution of t , In Statistical tables for biological, agricultural and medical research. Sixth. 1963, Oliver & Boyd Ltd. : Edinburgh, London. p. 46.

RESUME :

Les méthodes de stérilisation qui existent à l'heure actuelle ne sont pas universelles, ce qui nous conduit à développer, sans cesse des procédés innovants. La décharge électrique à pression atmosphérique (décharge plasma) est l'une des voies qui nous semble actuellement, intéressante et prometteuse à explorer dans le domaine de la stérilisation des matériaux plastiques à usage médical. En effet, les gaz plasma permettent de combiner un cycle rapide, peu coûteux et non toxique tout en ayant la possibilité d'y soumettre les matériaux thermosensibles que sont la plupart des biomatériaux. Il est en effet important que le procédé de stérilisation ne modifie pas la surface et la structure des dispositifs médicaux réutilisables afin de ne pas altérer leur fonctionnalité. A ce titre, l'impact du traitement par le plasma sur les biomatériaux semble généralement moins important que celui des autres méthodes de stérilisation.

Notre objectif est d'étudier la stabilité des matériaux polymères de type polyuréthane, très utilisés dans le domaine biomédical, lors d'un traitement de stérilisation par un plasma froid, préalablement développé et optimisé par le laboratoire de Physique des Gaz et des Plasmas d'Orsay. Ces polymères sont très fréquemment employés dans la fabrication des systèmes médicaux (dispositifs d'assistance cardiaque, pacemakers, cathéters, endoscopes, tubages endotrachéaux et d'oxygénation...) car ils possèdent de bonnes propriétés mécaniques, physiques et chimiques et biocompatibilité.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux éventuelles modifications de tubes à base de Pellethane[®], traités par plasma. Ces changements peuvent apparaître à deux niveaux : sur les propriétés du matériau et sur sa composition. C'est pourquoi différentes techniques analytiques ont été mises en œuvre telles que la DSC, ATG, GPC pour caractériser le matériau globalement, la spectroscopie FTIR-ATR, les mesures de mouillabilité, le MEB et la microscopie optique, pour évaluer les modifications de surface. Par ailleurs, l'évolution de la composition a été suivie par RP-HPLC afin d'évaluer la présence d'extractibles, et de mettre en évidence leur éventuelle diffusion, car ils constituent une source potentielle de cytotoxicité. Enfin, nous avons évalué l'effet de ces différentes propriétés physico-chimiques sur l'adhésion d'une souche bactérienne (*Staphylococcus aureus*) très largement impliquée dans les infections nosocomiales.

Mots clés :

Plasma, polyuréthane, Pellethane, mouillabilité, énergie de surface, RP-HPLC, DSC, ATG, FTIR, MEB et adhésion bactérienne.

Ecole Doctorale :

Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué ED 425
Université Paris-Sud 11

Pôle :

Pharmacotechnie et physico-chimie

Laboratoire d'accueil:

Matériaux et Santé EA 401
Faculté de Pharmacie

Responsables du projet :

Pr. N. YAGOUBI