

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى إسمطبولي

معسكر

Faculté des sciences et de la technologie

Département d'Electrotechnique

Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Eau

## THÈSE

Présentée par :

**DJEMAA Benzerga**

Pour l'obtention du diplôme de :

**Doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle en Electrotechnique**

Spécialité : **Electrotechnique**

Option : **Electrostatique appliquée à l'environnement**

Intitulée de la thèse :

**Contribution à l'étude de la stérilisation par  
plasma**

Soutenue le :13/12/2020 à 10h14

Présenté devant le jury composé de :

M. CHERGUI Moulay Idriss	Professeur à l'Université M.S. de Mascara	«Président»
M. BENMIMOUN Youcef	Professeur à l'Université M.S. de Mascara	«Directeur de Thèse»
M. OUIDIR Rabah	Professeur à U.S.T.O ,MB Oran	«Examineur»
M. BENARBA Bachir	M.C.A à l'Université M.S. de Mascara	«Examineur»
M. AFIF Benamer	M.C.A à l'Université M.S. de Mascara	«Examineur»
M. BEKKARA Mohamed Fethi	M.C.B à l'Université M.S. de Mascara	«Invité»

Année Universitaire : 2019/2020



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma très chère mère*

*Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*A mon très cher père (رحمه الله) qui nous a quitté en 2001*

*A toute ma famille, mes amis et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

# Remerciement

Je remercie avant tout DIEU le tout puissant الله de sa grâce infinie pour moi, pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a donnée durant toutes ces longues années d'études et de travail pour que je puisse arriver à ce stade.

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du laboratoire LSTE en collaboration avec le laboratoire de biologie de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara.

J'aimerais en premier lieu exprimer ma profonde reconnaissance au Professeur Youcef BENMIMOUN qui m'a encadré en cours de ces années de thèse et surtout pour la confiance qu'il m'a accordée et la liberté d'action qu'il m'a octroyée. Je tiens à le remercier chaleureusement pour sa gentillesse, son soutien et pour l'ensemble de ces encouragements surtout dans les moments de doute et les conseils précieux qu'il m'a promulgués tout au long des années de ma formation.

J'exprime en deuxième lieu mes vifs remerciements et ma profonde gratitude à Monsieur BEKKARA Mohamed Fethi, docteur à l'université Mustapha Stambouli de Mascara pour son soutien, ses directives, ses idées. J'ai beaucoup apprécié ses avis éclairés. Je le salue chaleureusement.

Je tiens à remercier très chaleureusement tous les membres du jury qui ont porté une très grande attention à mon travail et qui ont accepté de le juger.

Monsieur le docteur CHERGUI Moulay Idriss à l'Université de Mustapha Stambouli de Mascara, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de cette thèse. Je suis très reconnaissant pour ses qualités professionnelles et scientifiques.

Messieurs: le professeur OUIDIR Rabah, de l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran, le docteur BENARBA Bachir, maître de conférences à l'Université Mustapha Stambouli de Mascara, et le docteur AFIF Benamer, maître de conférences à l'Université Mustapha Stambouli de Mascara d'avoir accepté de juger mon travail.

J'adresse mes remerciements également à Leila MEKHOLOUFI et Amel BAATOUICHE, membres du laboratoire de biologie de l'Université de Mascara, l'enseignant Slimane MOKRANI de l'Université de Mascara en tout pour son disponibilité son soutien et son aide pour effectuer les tests microbiologiques dans ce travail.

## Remerciement

---

Je tien enfin à saluer tous mes amis, proches, et collègues doctorant(e)s et tous les chercheurs de laboratoire (LSTE) avec qui j'ai passé d'agréables moments. Je leur souhaite une bonne chance et bonne continuation.

Je remercie aussi toutes les personnes qui ont contribué à ce travail de près ou de loin.

Je tiens tout particulièrement à remercier toute ma famille pour son soutien moral et pour l'appui inconditionnel qu'elle m'a toujours apporté, à mon père(رحمه الله) qui nous a quitté en 2001. Un remerciement particulier, à l'être le plus cher dans ma vie, à celle qui m'a donné la vie, celle qui s'est sacrifiée durant de longues années, celle qui a tant donné... sans jamais rien demander en revanche.... Les mots s'épuisent maman ! Mais même en remplissant des pages entières, je demeurerai ingrat à ton égard. Je te dis tout simplement que tu es la perle qui orne ma vie et que ma réussite est la tienne!

<b>Dédicaces.....</b>	<b>i</b>
<b>Remerciement.....</b>	<b>ii</b>
<b>Table des matière.....</b>	<b>iv</b>
<b>Abréviations.....</b>	<b>ix</b>
<b>Listes des figures.....</b>	<b>x</b>
<b>Listes des tableaux.....</b>	<b>xiv</b>
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Notions générales sur les décharges à plasma.....</b>	<b>4</b>
<b>I.1. Introduction.....</b>	<b>4</b>
I.2. Introduction aux plasmas.....	4
I.2.1. Historique.....	4
I.2.2. Caractéristiques des plasmas et leur classification.....	5
I.2.3. Paramètres et grandeurs caractéristiques d'un plasma.....	5
I.2.3.1. Libre parcours moyen.....	5
I.2.3.2. Longueur de debye.....	6
I.2.3.3. Fréquence de plasma.....	6
I.2.3.4. Potentiel plasma.....	7
I.2.3.5. Potentiel flottant.....	7
I.2.3.6. Neutralité.....	7
I.2.3.7. Densité de charges et degré d'ionisation.....	7
I.2.3.8. La température électronique $T_e$ .....	8
I.3. Classification des plasmas.....	9
I.3.1. Les Plasmas froids.....	9
I.3.2. Les plasmas thermiques (arc électrique).....	10
I.3.3. Les Plasmas chauds.....	10
I.4. Différentes techniques de génération d'un plasma froid.....	10
I.4. 1. Les plasmas micro-ondes.....	10
I.4.2. Les plasmas radio-fréquences.....	11
I.4.3. Les plasmas par faisceau d'électron.....	11
I.5. Les plasmas froids à la pression atmosphérique.....	11
I.5.1. Décharge couronne.....	13

I.5.1.1. Architecture de la décharge couronne.....	13
I.5.1.2. Processus de formation de la décharge couronne.....	13
I.5.1.3. Types de décharge couronne.....	15
I.5.1.3.1. Décharge couronne positive.....	15
I.5.1.3.2. Décharge couronne négative.....	16
I.5.1.4. Streamers.....	17
I.5.2. Décharge à barrière diélectrique : DBD.....	17
I.5.2.1. Principe de fonctionnement.....	18
I.5.2.2. Configurations typiques.....	19
I.6. Applications industrielles.....	21
I.6.1. Génération d’ozone.....	21
I.6.2. Les excilampes.....	23
I.6.3. Traitement de surfaces.....	23
I.6.4. Applications médicales.....	23
<b>I.7. Conclusion.....</b>	<b>23</b>
<b>Chapitre II : Notions sur les microorganismes et les procédés de</b>	<b>24</b>
<b>stérilisation.....</b>	
<b>II.1. Introduction.....</b>	<b>25</b>
II.2. Classification et structures des bactéries.....	25
II.3. Notions élémentaires sur la stérilisation.....	29
II.3.1. La désinfection.....	29
II.3.2. Le nettoyage.....	30
II.3.3. Le rinçage.....	31
II.3.4. Le conditionnement.....	31
II.4. Méthodes de stérilisations conventionnelles.....	31
II.4.1. Procédés physiques de stérilisation.....	31
II.4.1.1. Stérilisation par la chaleur sèche (Poupinel).....	32
II.4.1.2. Stérilisation par rayonnements.....	33
II.4.2. Procédés chimiques de stérilisation.....	36

II.4.2.1. Stérilisation chimique.....	36
II.4.2.2. Stérilisation par les gaz.....	37
II.4.3. Procédés physico-chimiques.....	38
II.4.3.1. Stérilisation par la chaleur humide (Autoclave).....	38
II.5. Intérêt des plasmas froids dans le cadre de la stérilisation.....	41
II.5.1. Intérêt des plasmas dans la stérilisation de matériaux thermosensibles.....	42
II.5.2. Plasma et durée de cycle.....	42
II.5.3. Plasma et toxicité des méthodes de stérilisation.....	42
II.5.4. Plasma et ATNC.....	43
<b>II.6. Conclusion.....</b>	<b>43</b>
<b>Chapitre III : Interactions plasma / microorganismes.....</b>	<b>44</b>
III.1. Introduction.....	45
III.2. Stérilisation par plasma froid des dispositifs médicaux.....	45
III.2.1. État de l'art.....	45
III.2.2. Composition chimique des plasmas froids.....	46
III.2.3. Interaction plasma-surface de polymères.....	47
III.2.4. Interaction plasma-microorganismes.....	48
III.2.5. Interaction microorganisme-polymère.....	48
III.2.6. Mécanismes d'inactivation des microorganismes par plasma.....	50
III.2.6.1 Effet de la chaleur.....	51
III.2.6.2. Effet des rayonnements UV.....	51
III.2.6.3. Effet du champ électrique et des espèces chargées.....	52
III.2.6.4. Effet des espèces réactives.....	53
III.2.6.5. L'effet du peroxyde d'hydrogène produit par le plasma.....	54
III.2.7. Evaluation de la stérilisation par les courbes de survie.....	55
<b>III.3. Conclusion.....</b>	<b>56</b>
<b>Chapitre IV : Application de la décharge couronne en courant continu pour la stérilisation.....</b>	<b>57</b>

<b>IV.1. Introduction.....</b>	<b>58</b>
IV.2. Objectif.....	58
IV.3. Choix des bactéries à stériliser.....	58
IV.3.1. Présentation générale des bactéries à stériliser.....	59
IV.4. Matériels et méthodes.....	61
IV.4.1. Protocole expérimental.....	65
IV.5. Etude paramétrique sur l'efficacité d'inactivation des bactéries.....	67
IV.5.1. Effet du temps de traitement sur E. coli.....	67
IV.5.1.1. Effet de la température sur la charge.....	69
IV.5.2. Effet de la haute tension appliquée.....	69
IV.5.3. Effet de la distance inter-électrodes.....	71
IV. 5.4. Effet du temps sur la Bactérie Bacillus Subtilis.....	73
IV.5.5. Effet de la polarité.....	75
IV. 5.6. Stérilisation de la surface.....	75
<b>IV.6. Conclusion.....</b>	<b>76</b>
<b>Chapitre V : Stérilisation par la décharge couronne en courant alternatif :</b>	
<b>configuration Torche à plasma.....</b>	<b>77</b>
<b>V.1. Introduction.....</b>	<b>78</b>
V.2. Réalisation du dispositif expérimental du plasma.....	78
V.2.1. Torche à plasma.....	78
V.2.2. Le générateur haute tension.....	80
V.3. Etude paramétrique du plasma sur les bactéries.....	82
V.3.1. Protocole expérimental.....	82
V.3.2. Installation expérimentale.....	83
V.3.3. Effet du temps de traitement.....	84
V.3.4. Effet de la haute tension appliquée.....	85
V.3.5. Effet de la distance entre la torche et l'échantillon.....	86
V.3.5.1. Torche ouverte.....	86
V.3.5.2. Torche fermée.....	88

V.3.6. Effet du débit d'air.....	90
<b>V.4. Conclusion.....</b>	<b>91</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>93</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>95</b>

DBD : Décharge A Barriere Diélectrique

APPJs : Atmosphérique Pression Plasmas Jets

UV : Ultraviolets

VUV : Vacuum ultraviolet

ATNC : Agent Transmissibles Non Conventionnels

UFC : Unités Formant Colonies

CFU : Colony Forming Unit

COV : Composés Organiques Volatils

RGB: Red, Green, Blue

E. coli: Escherichia coli

APC: Argon Plasma Coagulator

ADN: Acide Désoxyribonucleique

N.A.S: Niveau Assurance De Stérilité

LCG : Liquid Chemical Germicides

OE<sub>T</sub> : Oxide d'éthylène

RF: Radio Fréquence

CASING: Crosslinking via Activates Species of Inert Gases

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène

RNS : Espèces Réactives de l'Azote

OH : Radical Hydroxyle

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

MEB : Microscope Électronique à Balayage

Figure I.1 Evolution de l'état de la matière avec la température .....	4
Figure I.2 Evolution de la température électronique $T_e$ et de la température du gaz $T_g$ en fonction de la pression.....	8
Figure I.3 Configuration d'une décharge couronne type Pointe-Plan (a) et d'une décharge à barrière diélectrique DBD (b).....	12
Figure I.4. Architecture de la décharge couronne.....	13
Figure I.5. Amorce de la décharge.....	14
Figure I.6. Avalanche électronique.....	14
Figure I.7. Schéma représentatif de la décharge couronne continue positive en géométrie fil-plan.....	15
Figure I.8.Schéma représentatif de la décharge couronne continue négative en géométrie fil-plan.....	16
Figure I.9. Schéma de développement de la décharge par avalanches photo ionisantes...	17
Figure I.10. Configuration classique d'une DBD.....	18
Figure I.11. Principe de fonctionnement d'une DBD.....	19
Figure I.12. Différentes configurations de réacteurs à DBD.....	20
Figure I.13. Configurations des électrodes coplanaires (ACC) et la matrice (ACM) des afficheurs à écran plasma. Les couches du diélectrique ne sont pas représentées ici.....	22
<hr/>	
Figure II.1. Schéma d'une cellule procaryote(a) et d'une cellule eucaryote(b).....	25
Figure II.2. Les principaux éléments constituant une cellule bactérienne.....	27
Figure II.3. Les parois des bactéries Gram (+) et des bactéries Gram (-) .....	28
Figure II.4. Photographie d'une étuve sèche de Poupinel pour la stérilisation des instruments.....	32
Figure II.5. Photos de l'autoclave de Chamberland (a) et d'un autoclave moderne (b)...	38
Figure II.6. Représentation d'un stérilisateur plasma.....	41
<hr/>	
Figure III.1. Schéma montrant la différence entre un gaz neutre et un état plasma.....	47
Figure III.2. Les différents types d'interactions mis en jeu lors de l'adhésion bactérienne et de la formation d'un bio film sur un biomatériau.....	49
Figure III.3. Exemple de calcul du temps de réduction décimale D à partir d'une courbe de survie.....	56
Figure III.4. Différents modèles de courbes de survie pouvant être observés lors d'une stérilisation par des procédés plasmas.....	57

---

Figure IV.1. Plan de l'étude.....	58
Figure IV.2. Photographie par microscope électronique à balayage (MEB) de la bactérie E-coli.....	59
Figure IV.3. Photographie par microscope électronique à balayage (MEB) d'un exemple de bactérie de type Bacillus atrophaeus.....	60
Figure IV.4. Schéma globale du banc expérimental.....	61
Figure IV.5. Disposition des échantillons dans le réacteur de stérilisation.....	61
Figure IV.6. Auto transformateur.....	62
Figure IV.7. Deux alimentations haute tension à polarité négative et positive.....	62
Figure IV.8. Voltmètre électrostatique.....	63
Figure IV.9. Micro-Ampèremètre.....	63
Figure IV.10. Système de décharge pointe -plan.....	63
Figure IV.11. Caractéristiques courant/tension de la décharge couronne pour les deux polarités.....	64
Figure IV.12. Bec bunsen.....	64
Figure IV.13. Photographie d'une goutte liquide E. coli et sa densité optique mesuré par le spectromètre.....	65
Figure IV. 14. Schéma de principe de la stérilisation pointe -plan.....	66
Figure IV.15. Schéma des différentes manipulations pour le dénombrement des cellules.....	67
Figure IV.16. Variation du nombre des colonies en fonction du temps de traitement en polarités négative <b>(a)</b> et positive <b>(b)</b> .....	68
Figure IV.17. Photographie de la variation du nombre des colonies en fonction du temps de traitement en polarités négative <b>(c)</b> et positive <b>(d)</b> .....	68
Figure IV.18. Variation de la température sur la charge en fonction du temps par la négative.....	69
Figure IV. 19. Variation du nombre de colonies en fonction de la tension appliquée en polarité négative.....	70
Figure IV. 20. Photographie de la variation du nombre de colonies en fonction de la tension appliquée en polarité négative.....	70
Figure IV. 21. Caractéristique courant -distance de la polarité négative.....	71
Figure IV .22. Variation du nombre des colonies en fonction de la distance inter-	

électrodes en polarité négative.....	72
Figure IV .23. Photographie de la variation du nombre des colonies d'E. Coli en fonction de la distance inter-électrodes polarité négative.....	73
Figure IV.24. Variation du nombre des colonies de Bacillus en fonction du temps de traitement en polarités négative <b>(a)</b> et positive <b>(b)</b> .....	74
Figure IV.25. Photographie variation du nombre des colonies du Bacillus en fonction du temps de traitement par la polarité négative <b>(c)</b> et positive <b>(d)</b> .....	74
Figure IV.26. Comparaison entre les polarités négative et positive après 6 min de traitement.....	75
Figure IV.27. Photographie de stérilisation d'E. Coli sur la surface de la gélose.....	75
Figure IV.28. Photographie du champ de stérilisation sur la surface après 5 min de traitement en polarités négative <b>(e)</b> et positive <b>(f)</b> .....	76
<hr/>	
Figure V.1. Schéma du torche réalisée (a) et sa photographie (b) en absence de la décharge Couronne.....	79
Figure V.2. Photographie de la source du plasma utilisée dans la stérilisation.....	79
FigureV.3. Forme de signal de sortie haute tension et du courant.....	80
Figure V.4. (a) Schéma d'alimentation haute tension, (b) photographie du générateur réalisé.....	81
Figure V.5. Photographie de la densité optique mesurée par le spectromètre.....	82
Figure V.6. Photographie du dépôt de l'échantillon (lame de verre) sous la torche de stérilisation.....	83
Figure V.7. Installation expérimentale du système de stérilisation réalisé.....	83
Figure V.8. Evolution du nombre de bactéries vivantes E. Coli (a) et Bacillus subtilis (b) en fonction du temps de traitement par plasma.....	84
Figure V.9. Photographie de la charge bactérienne E. Coli (c), Bacillus subtilis (d) en fonction du temps de traitement par plasma.....	85
Figure V.10. Evolution du nombre de bactéries en fonction de la haute tension appliquée.....	86
Figure V.11. Photographie de dispositif de stérilisation par une torche ouverte sans injection d'air.....	87
Figure V.12. Evolution du nombre de bactéries en fonction de la distance torche/échantillons (torche ouverte).....	87

---

Figure V.13. Photographie de la charge bactérienne en fonction de la distance torche/échantillons (torche ouverte).....	88
Figure V.14. Photographie de dispositif de stérilisation par une torche fermée.....	88
Figure V.15. Evolution du nombre des bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la distance torche/échantillons (torche fermé).....	89
Figure V.16. Photographie de la variation en fonction de la distance torche/échantillons (torche fermé).....	89
Figure V.17. Photographie de l'installation utilisée pour l'injection d'air à l'entrée de la torche.....	90
Figure V.18. Evolution du nombre de bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la débit d'air.....	90
Figure V.19. Photographie de la variation des colonies d'E. Coli en fonction du débit d'air.....	91

Tableau I.1. Caractéristiques principales des plasmas chauds et froids..... 10

---

Tableau II.1. Comparaison entre une cellule procaryote et une cellule eucaryote..... 26

Tableau II.2. Les principaux désinfectants utilisés, leurs utilisations et leurs  
précautions d'emploi..... 30

Tableau II.3. Couples temps / température utilisables en chaleur sèche..... 33

Tableau II.4. Quelques paramètres de stérilisation par la chaleur humide..... 39

---

# *Introduction générale*

# Introduction générale

De nombreuses infections post-opératoires résultent d'une contamination contractée dans les hôpitaux. Ces infections sont des complications de gravité variable pouvant aller jusqu'à la mort lors de septicémies ou de toxi-infections, et s'accompagnant dans le meilleur des cas d'une majoration du coût de l'intervention et du suivi. Dans tous les cas, il est possible, par des mesures per et post-opératoires simples et bien codifiées de limiter le risque d'infection nosocomiale. La stérilisation des instruments chirurgicaux fait partie de ces mesures préventives. L'état stérile est défini par l'absence de microorganisme vivant et la probabilité d'avoir une unité non stérile inférieure à  $10^{-6}$ . La stérilisation est l'opération permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes portés par des milieux inertes contaminés [1].

Il existe différentes méthodes de stérilisation, les techniques utilisant des températures de traitement élevées et les techniques utilisant des températures ambiantes ou quasi-ambiantes, dites « à froid ».

Les techniques de stérilisation usuelles utilisées dans les établissements de santé ont généralement recours à des procédés diversifiés utilisant la chaleur (sèche ou humide), des produits chimiques (liquides ou gaz), des rayonnements ionisants et non ionisants ( $R\gamma$ , X et les UV) ou encore divers autres procédés physiques. Bien qu'elle soit la méthode de stérilisation la plus fréquemment employée et qui constitue actuellement la référence en termes d'efficacité, la stérilisation par la chaleur humide (Autoclave), vu les hautes températures utilisées, ne convient cependant pas aux nouveaux dispositifs médicaux à base de polymères thermosensibles.

Les procédés de stérilisation chimiques ayant recours à l'utilisation de gaz sont plus efficaces que les techniques d'immersion dans les solutions chimiques (le glutaraldéhyde, le formaldéhyde ou l'acide peracétique) qui sont considérées plutôt comme des techniques de désinfection et non de stérilisation. Cependant, ces techniques utilisent des gaz relativement toxiques tel que l'oxyde d'éthylène qui nécessite des installations de coûts très élevés et la prise de grandes précautions pour la préservation de la santé des manipulateurs d'une part et induit des effets de vieillissement accélérés des matériaux polymériques traités d'autre part.

Au vu des inconvénients rencontrés dans les techniques de stérilisation conventionnelles, notamment pour les dispositifs à base de matériaux thermosensibles, le développement de nouvelles techniques de stérilisation s'avère primordiale. A cet effet, un intérêt est porté depuis près de deux décennies à l'utilisation des plasmas froids dans la

stérilisation. En effet, les plasmas froids créés dans différents gaz à basse pression ou à pression atmosphérique d'amplitude variant de quelques centaines de volts à quelques kV peuvent générer à des températures proches de l'ambiante, de multitudes espèces hautement biocides en partant de gaz ne présentant aucun danger pour le manipulateur (tel que l'oxygène, l'azote, l'hydrogène ou tout simplement l'air atmosphérique)

Dans ce contexte et afin de comprendre les mécanismes d'interaction entre les décharges électriques à pression atmosphérique non thermiques et les microorganismes vivants, nous nous sommes concentrés sur l'étude du rôle des différents composants du plasma à décharge couronne dans le processus d'inactivation des bactéries à la surface.

A cet effet, le travail de cette thèse s'intéresse d'une part au développement de dispositifs de stérilisation par plasma à pression atmosphérique et d'autre part à la détermination des conditions optimales pour leur utilisation dans l'inactivation de microorganismes vivants pouvant contaminer des dispositifs médicaux.

Par conséquent, pour déterminer les performances des dispositifs à réaliser, l'étude de l'efficacité du plasma pour l'inactivation de microorganismes vivants devrait donc être menée sur des bactéries de propriétés différentes. L'ensemble des résultats que nous avons obtenus dans le cadre de ce travail de recherche ont été rassemblés dans un manuscrit que nous avons structuré en cinq chapitres.

Le **premier chapitre** présente une synthèse bibliographique sur les plasmas froids à basse pression et à pression atmosphérique et les méthodes de leurs générations. Les notions générales sur les différentes décharges électriques et leurs mécanismes sont brièvement abordés.

Le **deuxième chapitre** est consacré à des notions générales sur les microorganismes utilisés dans ce travail et les principes de base sur la stérilisation.

Le **troisième chapitre** est dédié aux différentes interactions entre les plasmas et leurs mécanismes d'inactivation des microorganismes.

Le **quatrième chapitre** sera consacré à la présentation des résultats de l'étude de l'effet des paramètres de la décharge électriques en courant continu (pointe -plan) à pression atmosphérique sur l'efficacité de la stérilisation. Ces effets seront étudiés sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

## **Introduction générale**

---

Dans le **dernier chapitre**, nous avons présenté un second dispositif de stérilisation des bactéries par une seconde méthode, une torche à plasma a été réalisée au niveau de laboratoire LSTE de l'université M.S de Mascara. Les résultats de l'effet des paramètres de la décharge électrique à courant alternatif à pression atmosphérique sur l'efficacité de stérilisation de deux types de bactéries sont présentés.

Enfin, une synthèse de ces résultats sera résumée dans une conclusion générale qui présentera également les différentes perspectives possibles à ce travail.

# *Chapitre I*

## *Notions générales sur les décharges à plasma*

## I.1. Introduction

L'objectif de ce premier chapitre est la présentation d'une courte synthèse bibliographique sur la description des plasmas et leurs applications, ensuite nous avons expliqué les concepts fondamentaux de différentes décharges créées à pression atmosphérique utilisées telles que les décharges couronnes et les décharges DBD, leurs configurations, leurs principes de fonctionnement, et enfin leurs applications.

## I.2. Introduction aux plasmas

### I.2.1. Historique

C'est en 1928 que le terme Plasma (du grec « matière informe ») a été introduit pour la première fois par le physicien Américain Ivring Langmuir [2] lors de son travail sur des oscillations présentes dans des gaz ionisés. Ce terme a été utilisé pour désigner - dans les tubes à décharge - certaines régions équipotentielles contenant autant d'ions que d'électrons et constituant alors un gaz ionisé électriquement tout en étant neutre mais néanmoins conducteur. Pour Langmuir, cet ensemble d'ions et d'électrons qui se trouvent dans un même milieu ressemble conceptuellement au plasma sanguin qui représente la partie liquide dans laquelle se déplacent les cellules sanguines et les hormones à travers le système circulatoire. Les propriétés uniques de ce plasma amènent les scientifiques à le considérer comme étant le quatrième état de la matière, faisant suite dans l'échelle des températures aux trois états traditionnels : solide, liquide et gaz (Fig. I.1).



Figure I.1 Evolution de l'état de la matière avec la température [42].

Accomplir expérimentalement la transformation entre ces quatre états, est un exercice difficile, voir impossible, à cause de l'énorme différence de température requise, pour passer de l'état solide jusqu'au l'état plasma.

A partir des années 1960, le procédé plasma envahi les domaines modernes de l'optique, microélectronique, optoélectronique et la spintronique modernes. Si au début des années 2000, les plasmas ont été appliqués dans le domaine de la télévision à travers la généralisation des écrans des téléviseurs plasmas et d'autres domaines technologiques tels que, la propulsion spatiale, la combustion, l'énergie, le traitement de surfaces.

## **I.2.2. Caractéristiques des plasmas et leur classification**

Les plasmas existent sous plusieurs formes et représentent plus de 99 % de la matière de l'univers ; ils peuvent être divisés en deux grandes catégories : les plasmas naturels représentés par les étoiles, les nébuleuses, les quasars, les pulsars, les queues de comètes, les milieux interstellaires, l'ionosphère, les vents solaires et également les phénomènes météorologiques tels que les éclairs et les aurores boréales qui correspondent à des émissions lumineuses de plasmas.

Les plasmas artificiels ou industriels qui sont aujourd'hui omniprésents dans tous les domaines d'applications sont généralement générés par des décharges électriques. On trouve leur utilisation dans divers domaines comme l'éclairage (lampes à Néons), les écrans à plasma, l'industrie des matériaux (élaboration de couches minces, traitement de tout type de surface) et le médical (stérilisateurs à lampes UV, ionisateurs, ...).

Pour distinguer les différents types de plasmas artificiels, plusieurs paramètres peuvent être pris en compte, comme la longueur de Debye  $\lambda_D$ , le degré d'ionisation  $\alpha$  et la température électronique  $T_e$  (qui représente parfois l'énergie électronique  $kT_e$ , avec  $k$  : la constante de Boltzmann).

## **I.2.3. Paramètres et grandeurs caractéristiques d'un plasma**

### **I.2.3.1. Libre parcours moyen**

Le libre parcours moyen ( $\lambda$ ) est la distance qu'une particule (*électron, ion, neutre, etc.*) se déplaçant entre deux collisions, due à la nature statistique des collisions, il a une distribution spécifique. Il peut généralement être décrit par l'équation suivante :

$$\lambda = \frac{1}{\pi(r_1 + r_2)^2 N} \quad [I. 1]$$

Où  $r_1$ ,  $r_2$  sont les rayons des particules en collisions;  $N$  est la densité du nombre de la particule (nombres de particules par unité de volume). C'est pourquoi les plasmas se font

généralement à basse pression. En abaissant la pression et en diminuant  $N$ , on a donc un libre parcours moyen plus grand. Cela permet aux particules d'avoir plus de temps pour être accélérées par le champ électrique entre les collisions et ainsi fournir un plus grand transfert d'énergie lors de la collision. Ceci facilite l'ionisation et l'obtention d'un état plasma stable.

### I.2.3.2. Longueur de Debye

Un milieu plasma préserve sa neutralité électronique, suite aux différentes forces électrostatiques, sur une échelle spatiale définie par la longueur de Debye ( $\lambda_D$ ), c'est la distance d'écrantage du potentiel d'un ion positif par le nuage des électrons qui l'entourent. Cette longueur définit le seuil au-dessus duquel l'individualité des particules disparaît, et l'ensemble des particules est perçu comme un nuage électronique. Cette longueur est donnée empiriquement par la formule suivante :

$$\lambda_{De} = 6.9 \sqrt{\frac{T_e(K)}{n_e}} \quad [I. 2]$$

Où:  $\lambda_{De}$  est la longueur de Debye en [cm] et  $n_e$  est la densité électronique en [cm<sup>-3</sup>].

Un gaz ionisé est considéré comme un plasma si sa longueur de Debye est beaucoup plus petite que les dimensions physiques du plasma et si le nombre de particules dans la sphère de Debye est plus grand que l'unité.

### I.2.3.3. Fréquence de plasma

La fréquence de plasma est un caractère collectif du comportement des particules chargées. Considérons une densité de charge électronique recouvrant parfaitement une densité de charge ionique, et supposons également que les ions très lourds sont immobiles, si par une brève perturbation externe il y a un déplacement du nuage électronique par rapport au nuage ionique, les électrons vont retourner à leur position initiale et vont osciller autour de leur position d'équilibre à une fréquence caractéristique appelée la fréquence plasma, cette dernière est donnée par :

$$f_{pe} = \frac{1}{\pi} \sqrt{\left(\frac{e^2 n_e}{\epsilon_0 m_e}\right)} = 8980 \sqrt{n_e} \quad [I. 3]$$

Où:  $f_{pe}$  est la fréquence de plasma électronique en [Hz] et  $m_e$  est la masse électronique.

#### **I.2.3.4. Potentiel plasma**

Le potentiel plasma est le potentiel dont lequel se porte un plasma dans les zones stationnaires qui sont loin des charges d'espace près des électrodes ; ainsi au milieu de l'espace inter-électrodes loin des gaines électrostatiques, le potentiel électrique est constant, il s'agit du potentiel plasma noté  $V_p$ . Il sert souvent de référence dans les études du plasma de décharge électrique.

#### **I.2.3.5. Potentiel flottant**

Le potentiel flottant est le potentiel qui va atteindre un corps étranger isolé électriquement plongé dans un plasma. Il est toujours inférieur au potentiel plasma. Puisque les électrons sont plus rapides que les ions ils arriveront plus vite à la surface provoquant ainsi une accumulation de charges négatives (différence de mobilité entre les électrons et les ions). Une gaine va donc se former autour du corps qui va avoir tendance à repousser les électrons et à attirer les ions jusqu'à l'établissement d'un équilibre entre les flux de ces deux espèces. Le potentiel flottant  $V_f$  est donné par la formule suivante :

$$V_f = \frac{KT_e}{2e} \ln\left(\frac{m_i}{2.25m_e}\right) \quad [I.4]$$

Où:  $V_f$  est le potentiel flottant en [V],  $KT_e$  l'énergie électronique en [joule],  $m_i$  la masse ionique [kg],  $m_e$  la masse électronique [kg] et  $e$  la charge de l'électron en [Coulomb][4].

#### **I.2.3.6. Neutralité**

La première des caractéristiques d'un plasma est d'être quasiment neutre. Cette quasi neutralité est réalisée lorsque la densité des particules chargées est suffisante. Dans ce cas, les particules se répartissent de façon à neutraliser localement le milieu. Si une particule s'éloigne de sa position, les particules environnantes exercent sur elle une force de rappel. Ceci donne naissance à la notion d'oscillation plasma [5].

#### **I.2.3.7. Densité de charges et degré d'ionisation**

La neutralité du plasma n'est vérifiée que si la densité des particules chargées est suffisamment importante [6]. La densité ( $n$ ) est définie comme le nombre de particules par unité de volume ( $\text{cm}^{-3}$ ), et ce pour chaque espèce (électrons, ions, neutre). Un paramètre

intéressant pour caractériser le plasma est son taux d'ionisation  $\alpha$  donné par la relation suivante [7] :

$$\alpha = \frac{n_e}{n_e + n_0} \quad [I.5]$$

Où:  $n_e$  est le nombre d'électrons par unité de volume et  $n_0$  le nombre de neutres par unité de volume.

### I.2.3.8. La température électronique $T_e$

La température du plasma est définie comme la moyenne des énergies de translations des particules dans la décharge, Étant donné la différence de masses qui existe entre les électrons et les espèces lourdes [8], on entend souvent parler de plusieurs températures: la température électronique  $T_e$ , la température ionique  $T_i$  et la température des neutres  $T_n$ . L'existence de ces différentes températures est due à la grande différence de masses entre les électrons et les autres particules lourdes (ions et neutres), ce qui crée deux systèmes, chacun dans son propre équilibre thermodynamique.

La température électronique  $T_e$  des électrons (qui est la température absolue en kelvins (K)), est souvent considérée comme la température la plus importante pour déterminer et démontrer les phénomènes dans le plasma. En effet, les électrons sont les agents les plus actifs pour l'ionisation du gaz et la création de radicaux ( $T_e \gg T_i > T_n$ ). La température électronique  $T_e$  est influencée par la pression du gaz tout autant que la température globale du gaz  $T_g$  [9] (Fig. I.2).

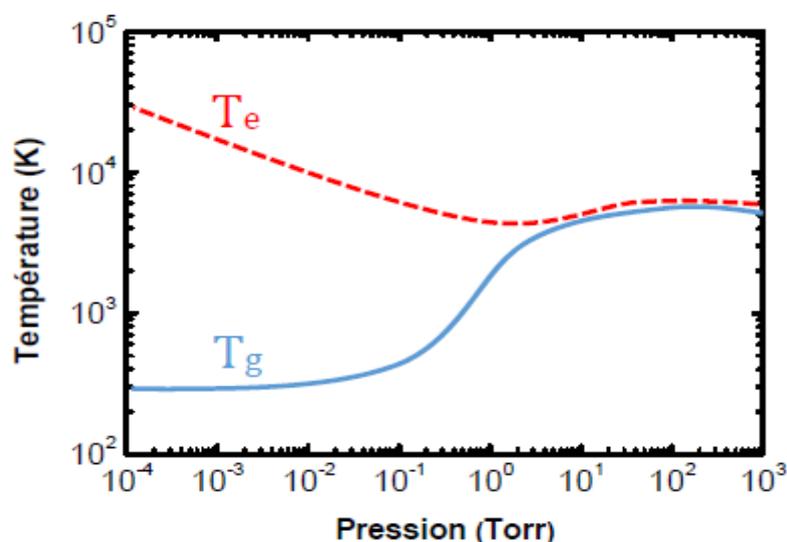


Figure I.2 Evolution de la température électronique  $T_e$  et de la température du gaz  $T_g$  en fonction de la pression [10].

La connaissance de la valeur de la température électronique permet de subdiviser les plasmas froids en deux catégories :

**a. Les plasmas froids thermiques :** Dans ce type de plasmas, la densité électronique est très élevée, ce qui augmente le nombre de collisions entre les particules et par conséquent provoque une élévation de la température des particules lourdes qui est à son tour proche de celle des électrons (environ 10 000 K). Dans ce cas, toutes les espèces sont à l'équilibre thermodynamique (les espèces neutres, les ions et les électrons sont à la même température : celle du gaz  $T_g$ ). Les arcs et les torches à plasmas qui sont utilisées dans l'industrie pour la découpe et la soudure, sont des exemples de ce type de ces plasmas thermiques.

**b. Les plasmas froids non thermiques :** Dans ce type de plasmas appelés également plasmas en hors équilibre thermodynamique, les collisions entre les électrons et les autres particules sont trop rares pour permettre un équilibre thermique. Dans ce cas, la température des particules lourdes (entre 300 et 1000 K) est très inférieure à celle des électrons  $T_e$  ; la température du gaz est proche de la température ambiante alors que celle des électrons est très élevée (entre 10<sup>4</sup> et 10<sup>5</sup> K) et suffisante pour permettre un taux élevé de collisions inélastiques. La majeure partie de l'énergie injectée est alors convertie en réactivité chimique et non pas en énergie thermique [9]. Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons à ce type de plasmas froids.

### I.3. Classification des plasmas

A partir des paramètres ci-dessus, il est possible alors de distinguer et classier les différents plasmas en fonction de la densité électronique, de l'énergie électronique et de la longueur de Debye (Hollahan et Bell, 1974) [11,12]. Il ressort donc de ce qui précède qu'on peut conclure les classifications des différents plasmas qui sont

- Les plasmas froids
- Les plasmas thermiques (arc électrique)
- Les plasmas chauds

**I.3.1. Les Plasmas froids :** ce type de plasma est caractérisé par une faible ionisation et ainsi par un degré d'ionisation  $\alpha \leq 10^{-4}$  et une faible densité d'électrons (inférieure à 10<sup>19</sup> m<sup>-3</sup>) ; la

température des ions et des neutres est de l'ordre de la température ambiante ( $T_i \approx T_n = 100-1000 \text{ K}$ ) alors que la température électronique  $T_e$ , est de l'ordre de  $10^4$  à  $10^5 \text{ K}$ .

**I.3.2. Les plasmas thermiques (arc électrique) :** Le gaz est presque totalement ionisé ce qui engendre un équilibre thermique, dont la pression est comprise entre une et plusieurs atmosphères, la température des électrons, des ions et des neutres étant comprises entre  $5.000\text{K}$  et  $50.000 \text{ °K}$  [13]. Les spécificités de ce type de milieu sont alors utilisées dans de nombreuses applications: synthèse réactive, éclairage, soudure, découpe, dépôt, disjoncteur, projection.

**I.3.3. Les Plasmas chauds :** ce type de plasma est fortement ionisé et la valeur de son degré d'ionisation est beaucoup plus élevée que celle d'un plasma froid ( $\alpha$  très proche de 1). Le milieu est constitué en grande partie d'ions et d'électrons, avec une densité électronique élevée. Cette caractéristique rend les transferts d'énergie entre les électrons et les autres particules meilleurs ; dans ce cas, la température des particules lourdes ( $T_i$ ,  $T_n$  est proche de celle des électrons  $T_e$  et s'élève à plusieurs centaines de milliers de kelvins (plasmas de fusion, les étoiles et le soleil). Dans les plasmas chauds, le milieu est totalement ionisé et la température interne atteint jusqu'à 15 millions de kelvins (cas du soleil).

Le tableau I.1 donne les caractéristiques principales des plasmas chauds et froids [10].

Tableau I.1 : Caractéristiques principales des plasmas chauds et froids

	<b>Plasmas Chauds</b>	<b>Plasmas Froids</b>
Densité électronique $n_e$ [ $\text{m}^{-3}$ ]	$10^{21}-10^{26}$	$<10^{19}$
Température électronique $T_e$ [K]	$\geq 10^4$	$10^4-10^5$
Température des ions $T_i$ [K]	$T_i = T_e$	$T_i = T_g$
Température des neutres $T_n$ [K]	$T_n = T_e$	$T_n = T_g$
Température du gaz $T_g$ [K]	$T_g = T_e$	$300-10^3$

## I.4. Différentes techniques de génération d'un plasma froid

### I.4. 1. Les plasmas micro-ondes

Les techniques plasmas micro-ondes ont recours à des générateurs délivrant l'énergie sous la forme de pulses haute tension hyperfréquence (généralement  $2,46 \text{ GHz}$ ). La puissance impulsionnelle va généralement de quelques kilowatts à quelques mégawatts, pour une

intensité d'une centaine d'ampères. Plusieurs choix de réacteurs peuvent être faits suivant l'utilisation envisagée (plus la pression est basse, plus le volume plasma est étendu). Les plasmas micro-ondes peuvent être obtenus à des pressions allant de  $10^{-4}$  torrs à la pression atmosphérique. Pour augmenter la densité électronique, les parois de l'enceinte peuvent être tapissées d'aimants permanents [14,15].

#### **I.4.2. Les plasmas radio-fréquences**

Les ensembles dits radio-fréquences fonctionnent avec une alimentation électrique sinusoïdale dont la fréquence est de 13,56 MHz (fondamentale) ou une de ses harmoniques (27,12 et 40,68 MHz). Ces systèmes comportent d'un générateur, un appareil d'adaptation d'impédance et réacteur. Les générateurs utilisés sont de type amplificateurs (technologie transistorisée pour des puissances restituées jusqu'à 5000 W, utilisation de tubes à vide pour des valeurs supérieures), tandis que l'horloge est pilotée par quartz (grande précision et stabilité de la tenue en fréquence). La géométrie du réacteur dépend quant à elle du procédé de traitement envisagé [16,17]. Le couplage entre le réacteur et l'alimentation électrique peut être de type capacitif (le gaz à ioniser est situé entre deux électrodes planes ou cylindriques) ou inductif (le réacteur est placé dans l'axe d'un solénoïde). L'adaptation en impédance permet, de son côté, d'optimiser le transfert d'énergie au milieu ionisé en égalisant les impédances de sortie du générateur ( $50 \Omega$  utilisé) [18,19].

#### **I.4.3. Les plasmas par faisceau d'électrons**

L'utilisation de faisceaux d'électrons pour le traitement plasma d'effluents gazeux est apparue au Japon dans les années 70 et s'est développée avec notamment la dépollution des oxydes de soufre, d'azote et des COV (HAP, toluène, méthanol, éthylène [20,21]). Ce type de plasma utilise des électrons de haute énergie qui permettent d'obtenir de grandes quantités d'espèces actives et donc de traiter de forts débits de gaz.

### **I.5. Les plasmas froids à la pression atmosphérique**

La plupart des plasmas froids non thermiques créés en laboratoires sont générés par des décharges électriques. Les plasmas de laboratoire les plus étudiés jusqu'à maintenant sont les plasmas créés sous vide où il y a peu de collisions. L'application de ces plasmas touche divers domaines et notamment le domaine de la micro et de la nano électronique, comme le

dépôt de films minces entrant dans la fabrication de capteurs ou de composants microélectroniques (tels que les circuits intégrés et les microprocesseurs). Toutefois, pour certaines applications, le vide constitue un obstacle vu le coût élevé des systèmes de vide qui nécessitent une enceinte confinée avec des sas pour maintenir le vide. À cet effet, beaucoup d'études sont menées pour tenter de créer des plasmas à des pressions atmosphériques [22,23]; ces derniers, en plus de leur réalisation à de faibles coûts, sont caractérisés souvent par une forte réactivité. Néanmoins, pour créer un plasma à la pression atmosphérique il est nécessaire d'appliquer une forte tension entre deux électrodes. La valeur de cette tension doit être supérieure à une tension minimale appelée tension de claquage  $V_b$ . Cependant, la forte valeur de cette tension conduit souvent à la formation d'un arc entre les électrodes, ce qui constitue un effet indésirable dans beaucoup d'applications et mène donc à faire face à de nouveaux défis. Pour surmonter ce problème, plusieurs configurations de réacteurs et/ou d'électrodes ont été développées afin de générer un plasma froid non thermique à la pression atmosphérique avec des valeurs de tension raisonnables qui éviteraient d'avoir trop de collisions entre les espèces et ainsi l'élévation de la température du gaz. Parmi ces configurations, nous citons les décharges corona où le plasma reste confiné autour d'une électrode (Fig. I.3a), les plasmas pulsés et les décharges plasmas à barrière diélectriques (DBD) (Fig. I.3b). Contrairement aux autres décharges directes classiques où le plasma est créé à travers le gaz entre deux électrodes, dans les décharges plasmas DBD, les réacteurs présentent la particularité d'avoir au moins une de leurs électrodes recouvertes d'un matériau diélectrique.

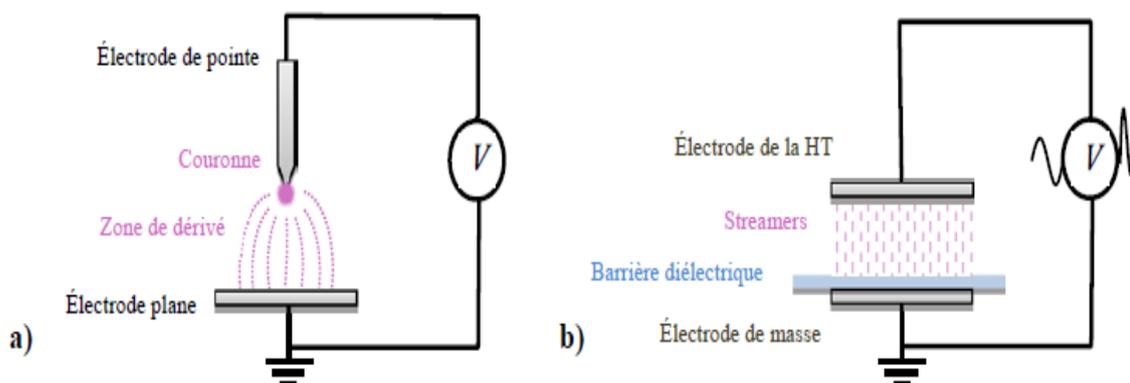


Figure I.3 Configuration d'une décharge couronne type Pointe-Plan (a) et d'une décharge à barrière diélectrique DBD (b).

## I.5.1. Décharge couronne

### I.5.1.1. Architecture de la décharge couronne

On rencontre généralement ce type de décharge à la pression atmosphérique. Elle est caractérisée par un courant faible ( $\approx 10^{-6}$  A) et se développe localement sous un champ électrique non uniforme. Ce type de décharge est initié par un claquage de type "streamer". Pour créer une décharge couronne, on procède généralement à l'application d'une tension de valeur suffisante entre deux électrodes tel que celles montrées dans la figure I.4, cela entraîne une répartition de l'espace inter-électrodes en deux régions. La première région voisine de l'électrode couronne où le champ électrique est intense est le siège d'ionisation du gaz, c'est la région de plasma de couronne.

Le reste de l'espace inter-électrodes constitue la deuxième région où le champ électrique est faible, c'est la zone de dérive mono polaire. Selon le type de polarité de l'électrode couronne les charges créées par collisions dérivent vers l'électrode collectrice sous l'effet du faible champ en constituant ainsi un dépôt de charge spatiale mono polaire [23-24].

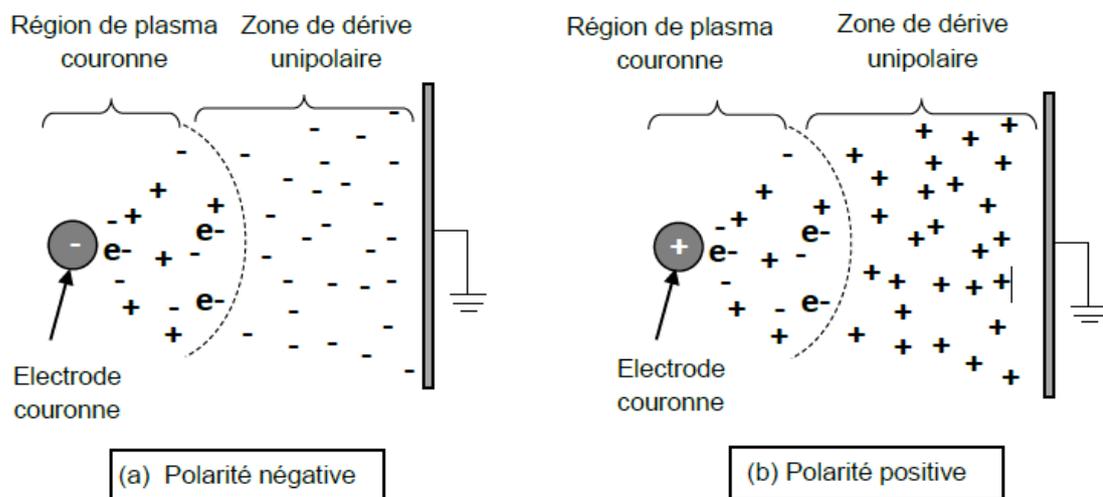


Figure I.4. Architecture de la décharge couronne.

### I.5.1.2. Processus de formation de la décharge couronne

Au niveau microscopique, le processus de ce phénomène ne diffère pas suivant le type de décharge (Positive ou négative). On peut énumérer trois étapes pour le décrire.

#### a). Amorçage de la décharge

Un photon ou un autre événement extérieur s'impose pour ioniser une molécule donnée du gaz environnant l'électrode active. De par-là, un ion positif avec un électron seront libérés, Fig. (I.5):

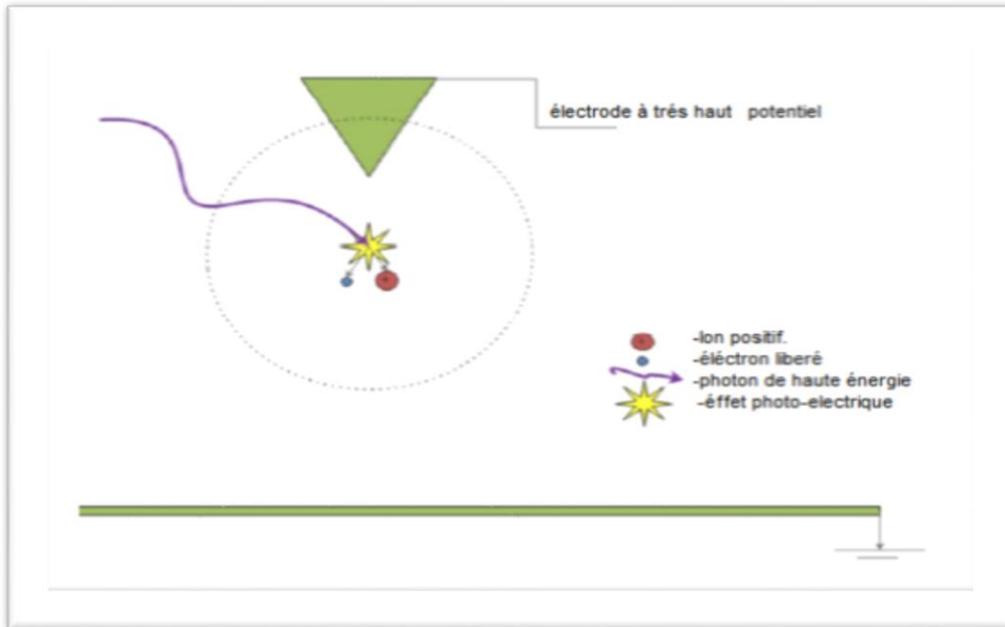


Figure I.5. Amorçage de la décharge [25].

**b). Multiplication et avalanche :**

Au voisinage de l'électrode active réside un champ électrique très intense qui crée sur les particules libérées dont les charges ne comportant pas une même polarité, une force électrique qui va leur engendrer un mouvement cinétique de sens opposé Fig. (I.6).

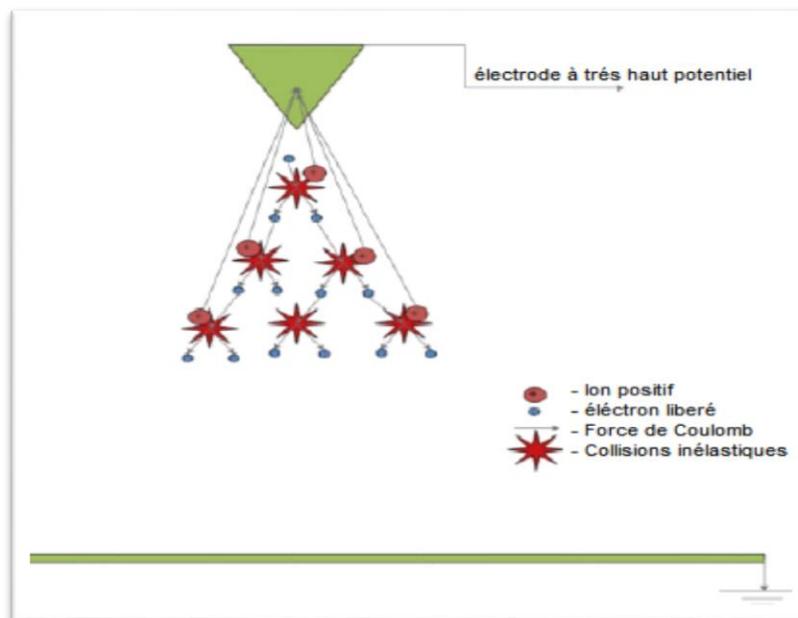


Figure I.6. Avalanche électronique [25].

**c). Phase de la recombinaison et maintien de la décharge :**

Dans cette phase, un courant électrique s'établit dans la géométrie inter-électrode suite au mouvement d'attraction des ions créés vers la seconde électrode non active.

### I.5.1.3 Types de décharge couronne

Deux types de cette décharge sont à énumérés. En raison de signe de polarité appliquée au niveau de l'électrode active, on peut différencier deux modèles : « monopolaire et bipolaire ». Et si on dit bipolaire, c'est qu'on fait allusion à une décharge dite positive et négative sur une certaine fréquence ou période. Si la polarité est positive, la décharge sera donc positive. Dans le cas inverse, elle sera négative.

#### I.5.1.3.1. Décharge couronne positive

La figure (I.7) montre un système d'électrodes en géométrie fil-plan, où l'électrode active portée au haut potentiel est le fil (anode) qui est suspendu d'une certaine hauteur  $H$  du plan (cathode) qui constitue l'électrode passive puisque cette dernière est mise à la terre. En alimentant l'électrode active positivement, on osera donc la création d'une décharge continue positive. En sachant que le champ électrique est plus intense sur la périphérie de l'anode, des électrons seront produits par photo-ionisation et seront accélérés, attirés vers le fil, et autour de celui-ci, se développe alors une région de forte ionisation (zone en pointillé). Les ions positifs ainsi créés seront repoussés par l'anode, sous l'effet des forces de Coulomb, jusqu'à une distance du fil (inférieure au millimètre) au-delà de laquelle le champ électrique est trop faible ( $< 30 \text{ kV/cm}$  dans l'air à pression atmosphérique) et ne permet plus la création d'ions positifs.

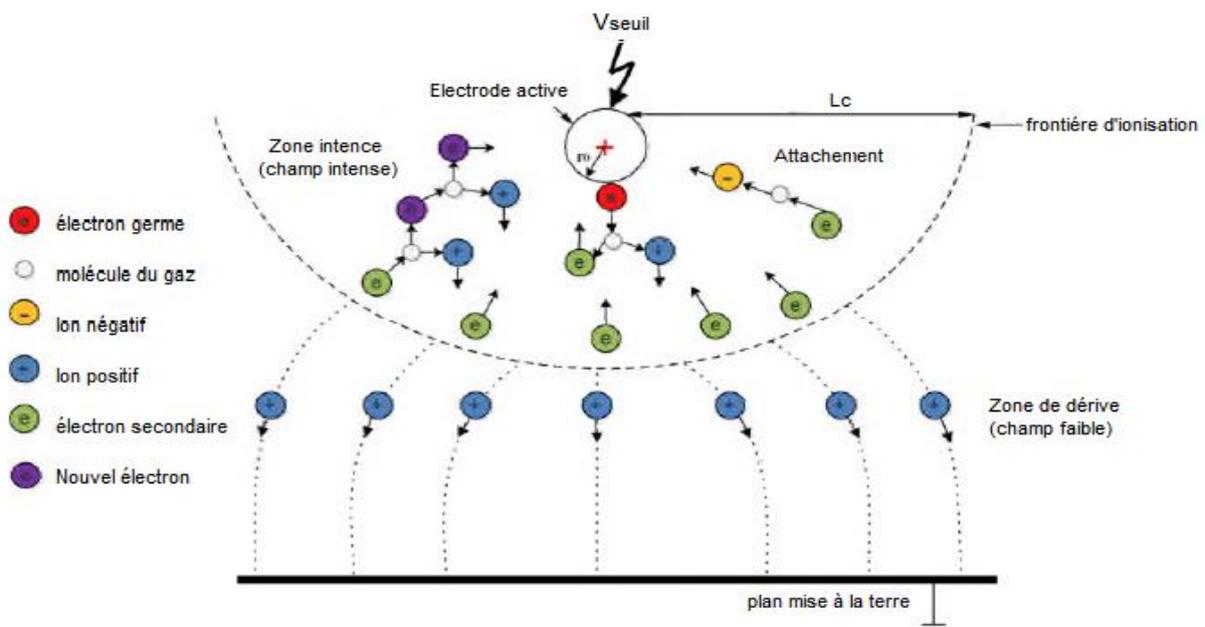


Figure I.7. Schéma représentatif de la décharge couronne continue positive en géométrie fil-plan [25].

Les ions positifs migrent donc vers la cathode (le plan). Cette zone unipolaire, puisqu'il n'y a que des ions positifs, est appelée région de « dérive ». Pour cette décharge, il y a avancement des streamers qui se propagent en quelque sorte comme une extension de l'anode. D'après les modélisations de LOISEAU et al [25], la décharge est composée d'une phase de propagation du streamer (durée de la propagation de 50 ns à la vitesse de 210 m/s) et d'une phase de restauration pendant laquelle les ions dérivent. Ces deux phases forment un cycle de fréquence de 10 kHz. Le courant de décharge n'est donc pas continu, mais correspond à une succession de phénomènes transitoires [25].

### I.5.1.3.2. Décharge couronne négative

Dans le cas où le fil est porté à un potentiel négatif, il y a toujours création d'électrons par photo-ionisation et apparition de la zone d'ionisation autour du fil. Goldman et Sigmond en 1982 [25] expliquent que les ions positifs alors créés reviennent rapidement à la cathode, fig. (I.8). Seuls les ions négatifs créent par attachement dans une zone où le champ est plus faible peuvent migrer vers le plan. De plus, lorsque la tension appliquée dépasse un seuil, il y a une transition à l'arc. Le courant de cette décharge est dû à des impulsions de Trichel ou la fréquence qui dépend de la tension appliquée. Ces impulsions sont régulières et sont dues au champ électrique qui s'affaiblit au voisinage de la cathode. Les ions négatifs empêchent en effet la multiplication des avalanches électroniques. Une fois ces ions migrés vers l'anode, de nouvelles avalanches apparaissent. L'intervalle entre deux pics de courant, impulsions de Trichel, dépend donc du temps nécessaire aux ions négatifs à atteindre l'anode.

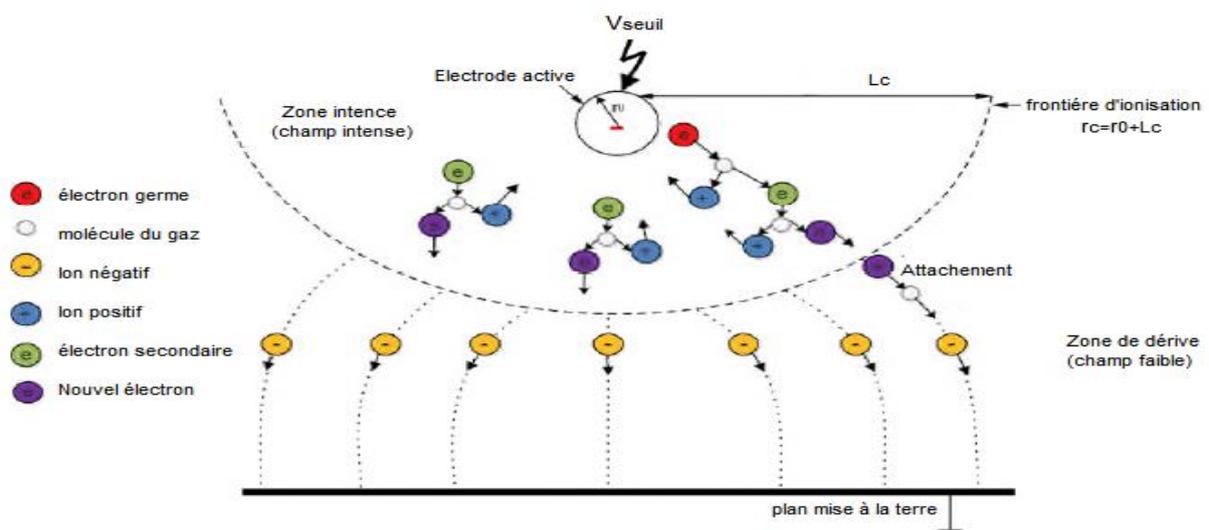


Figure I.8. Schéma représentatif de la décharge couronne continue négative en géométrie fil-plan [25].

#### I.5.1.4. Streamers

Dans la théorie de Townsend, les processus d'émission cathodique jouent un rôle fondamental dans l'amorçage de la décharge autonome. Cette théorie ne peut cependant expliquer les temps de développement de la décharge mesurés ( $10^{-9}$  à  $10^{-7}$  s) dans le cas d'intervalles inter-électrodes importants et de pressions élevées. Ces temps sont beaucoup plus faibles que ceux nécessaires à l'apparition d'effets secondaires à la cathode conditionnant le passage des décharges non autonomes en autonomes ( $10^{-5}$  à  $10^{-4}$  s). Aussi, la tension d'apparition de l'étincelle dans les grands intervalles ne dépend-t-elle pas du matériau de la cathode contrairement à ce qui est prévu par la théorie de Townsend.

Pour expliquer le mécanisme de développement des décharges dans les grands intervalles, L. B. Loeb et J. M. Meek [26] ont proposé un modèle dans lequel la photo ionisation résultant des phénomènes d'excitation et de recombinaison dans l'intervalle inter-électrodes et la charge d'espace sont à la base du développement de la décharge (Figure I.9).

Selon ce modèle, la décharge se développe sous forme d'un canal très conducteur appelé streamer (canal de plasma) [27].

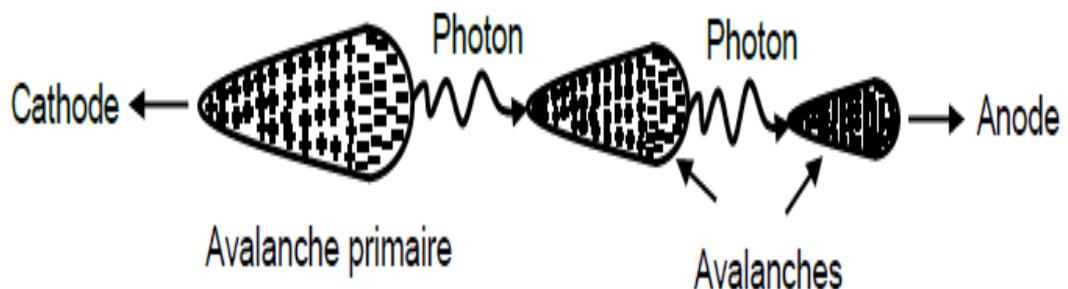


Figure I.9. Schéma de développement de la décharge par avalanches photo ionisantes.

#### I.5.2. Décharge à barrière diélectrique : DBD

Les décharges couronnes dans l'air sont considérées comme l'une des méthodes les plus simples pour la génération des plasmas froids. Cependant, ces décharges couronnes ont un inconvénient majeur qui limite leurs utilisations. En effet, la formation d'importantes charges d'espace peuvent transformer la décharge en arcs électriques. Si ces arcs sont suffisamment énergétiques, ils peuvent devenir dangereux pour le matériel. Ainsi, pour limiter l'apparition de tels phénomènes, une solution simple consiste à disposer entre les deux électrodes un matériau diélectrique tel que montré dans la figure I.10.

Le diélectrique permet de limiter l'énergie de la décharge et d'éviter ainsi le passage à l'arc. On retrouve dans la littérature plusieurs travaux sur ce type de décharge nommée de ce fait « décharge à barrière diélectrique » ainsi que sur leurs applications. Citons par exemple les travaux de Massines *et al.* [28] et Zouzou *et al* [29-30]. On note ainsi la multiplication des études sur l'utilisation d'une tension impulsionnelle pour générer les DBD à pression atmosphérique et leur intégration dans le domaine de la précipitation électrostatique [31-33].

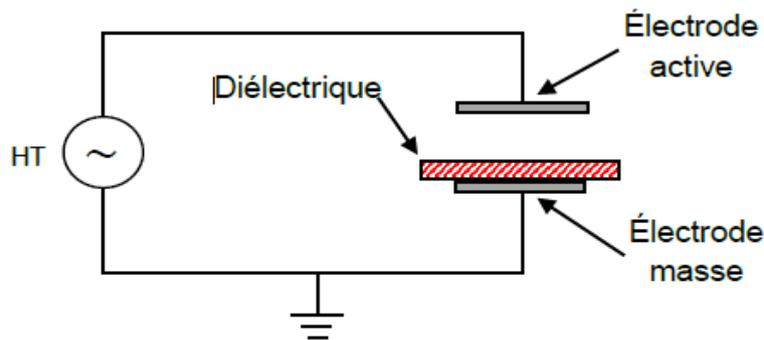


Figure I.10. Configuration classique d'une DBD.

### I.5.2.1. Principe de fonctionnement

Lorsqu'on applique une tension suffisamment élevée entre les électrodes, le claquage du gaz conduit à la formation d'un canal conducteur, c'est-à-dire une micro-décharge (figure I.11 (a)). Cette micro-décharge peut être représentée par le schéma équivalent de la figure I.11 (d). Le diélectrique se comporte comme l'isolant d'un condensateur  $Cd$ , dont les armatures sont d'un côté la décharge et de l'autre l'électrode. Par la suite, nous noterons  $V_s$  la tension de source appliquée sur la cellule de décharge,  $V_g$  la tension aux bornes du gaz et enfin  $V_d$  la tension aux bornes du diélectrique. Le passage du courant induit une accumulation de charges sur la surface du diélectrique en vis-à-vis du canal de décharge, cela se traduit par une augmentation de la tension  $V_d$  et cause une chute de la tension  $V_g$  appliquée sur le gaz, ce qui conduit à l'extinction de la décharge.

Ainsi, la micro-décharge est bloquée bien avant d'avoir atteint un degré d'ionisation suffisant pour transiter en régime d'arc. Tant que la tension appliquée augmente, des micro-décharges s'initient à de nouvelles positions car la présence de charges résiduelles sur le diélectrique diminue le champ électrique appliqué sur le gaz aux positions où des micro-décharges se sont déjà développées (figure I.11 (b)).

Au changement de polarité (figure I.11 (c)), les charges précédemment déposées à la surface du diélectrique permettent un claquage du gaz sous un champ plus faible que lors de

la première phase :  $V_g = V_s - V_d$ . La fonction essentielle du diélectrique consiste à limiter le transit vers le régime d'arc et à favoriser une répartition uniforme des micro-décharges sur tout l'espace inter-électrodes [32-34].

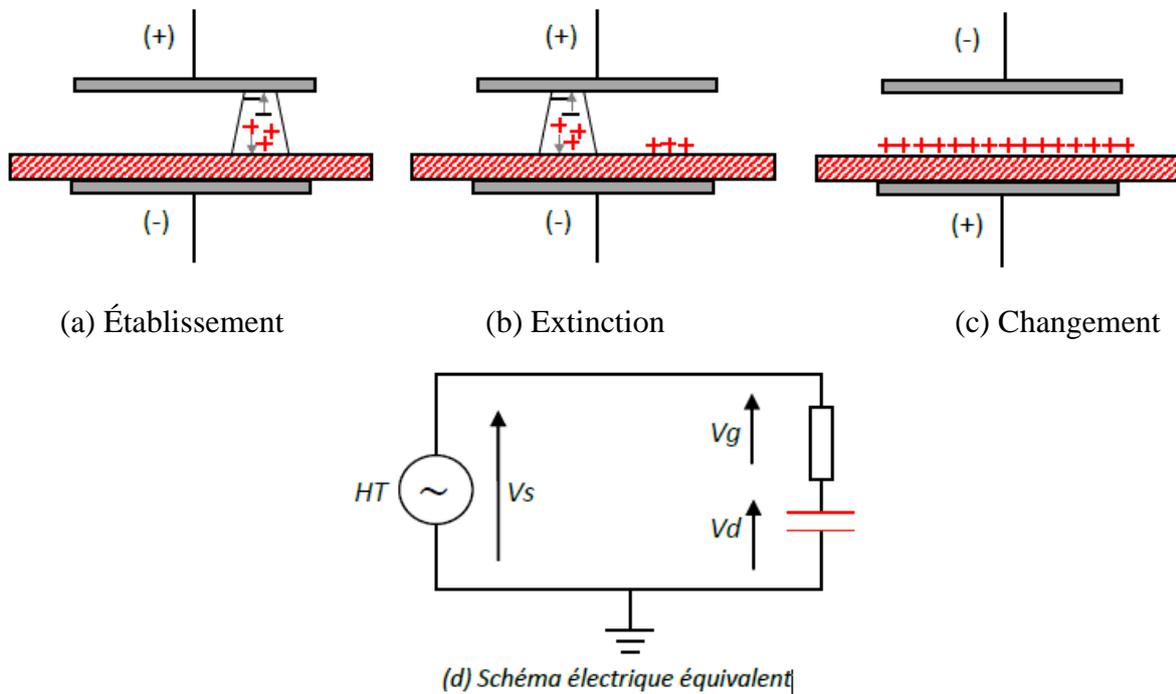


Figure I.11. Principe de fonctionnement d'une DBD [34].

### I.5.2.2. Configurations typiques

Les configurations classiques des réacteurs DBD sont cylindriques ou planes comme schématisé sur la figure I.12 où l'on distingue également les DBD surfaciques et coplanaires. Les diélectriques couramment utilisés sont le verre, le quartz, la céramique et les polymères. Suivant l'application visée, les configurations planaires (figure I.12 (a)) sont utilisées pour les applications de traitement de surfaces, tandis que les cylindriques (figure I.12 (b) et (c)) sont plus adaptées aux traitements des gaz.

Habituellement, les décharges à barrière diélectrique opèrent dans un mode filamentaire : des micro-décharges d'environ 100  $\mu\text{m}$  de diamètre sont distribuées de façon aléatoire sur la surface de l'électrode. Toutefois l'homogénéité de la décharge aura une grande importance pour les applications de traitement de surface si l'on souhaite obtenir un traitement uniforme, c'est pourquoi de nombreuses études ont été réalisées sur l'obtention d'une telle décharge [35-36].

Cependant, on peut signaler que même si la décharge n'est pas totalement homogène, mais que la densité de filaments est suffisamment grande, le mode filamentaire permet un traitement quasi homogène. De nouvelles possibilités s'ouvrent donc au milieu industriel.

En particulier, le traitement des fibres, des tissus ou des films est très prometteur car il est possible d'envisager des traitements en continu, par défilement du matériau à traiter dans l'espace inter-électrodes [32] [37, 38].

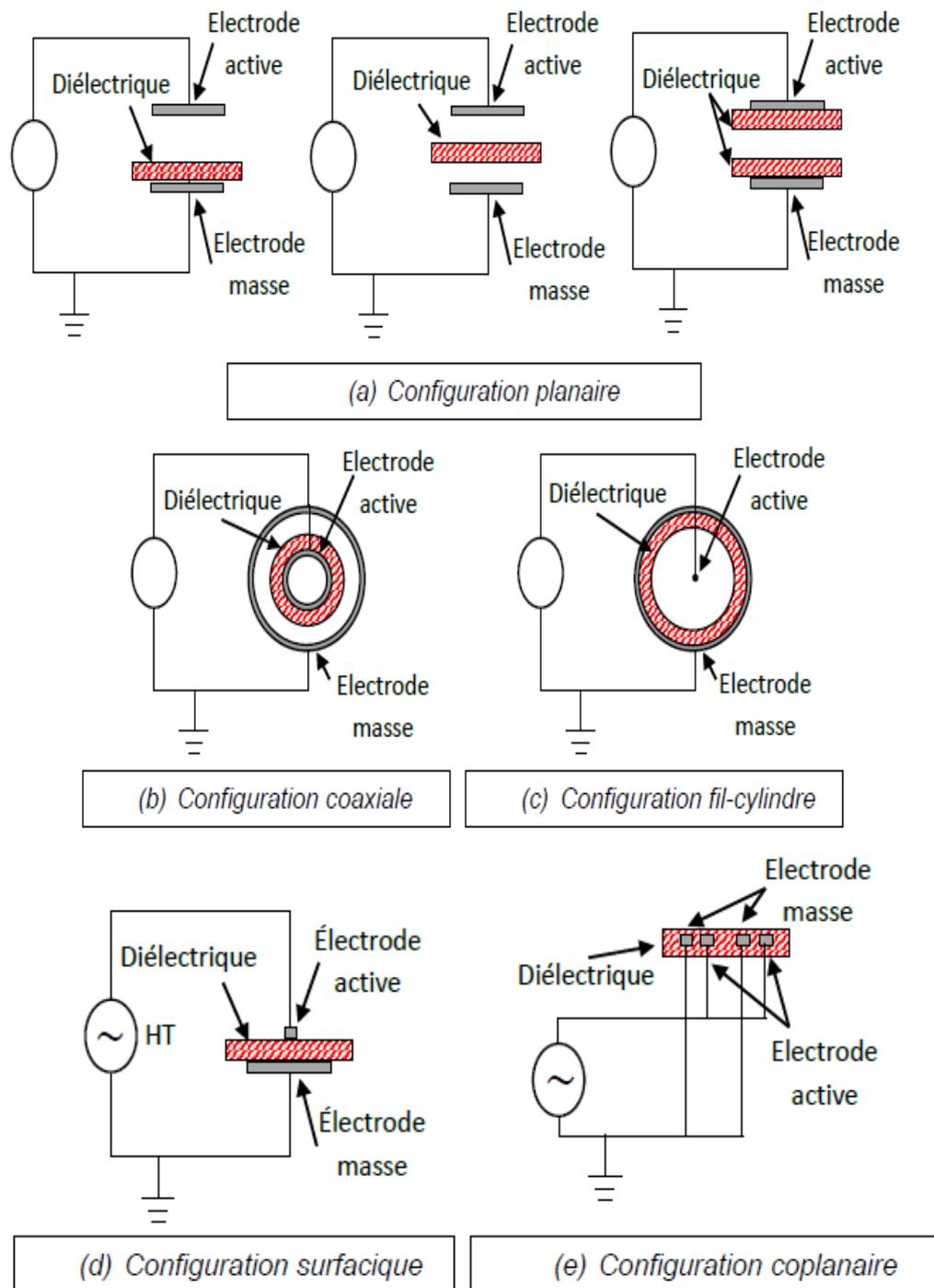


Figure I.12. Différentes configurations de réacteurs à DBD [32] [38].

## I.6. Applications industrielles

### I.6.1. Génération d'ozone

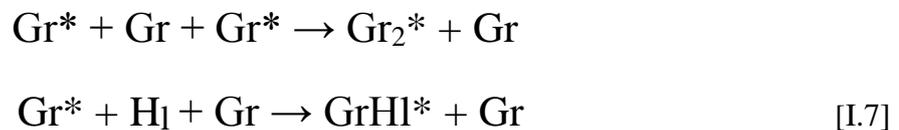
La génération d'ozone par une DBD est l'une des méthodes les plus puissantes et populaires pour le traitement de l'eau et de l'air. Elle a été la première application des plasmas DBD pour la désinfection des eaux. La formation de l'ozone ( $O_3$ ) à partir d'un plasma DBD dans l'air ou dans l'oxygène est réalisée par la réaction chimique suivante [39] :



Avec  $M$  : une molécule d'oxygène ou une molécule d'azote si c'est l'air qui est utilisé. L'ozone étant chimiquement actif, il est capable d'inactiver efficacement les microorganismes, ce qui a permis de l'utiliser dès le départ pour la désinfection de l'eau à grande échelle. La génération d'ozone par les DBD a permis également le traitement de l'air notamment les composés organiques volatils (COV).

### I.6.2. Les excilampes

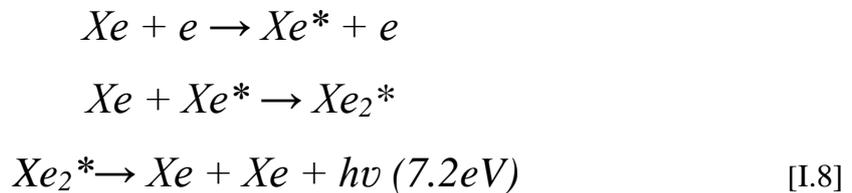
Les excilampes sont des lampes à base de décharges DBD créées dans certains gaz rares et des halogènes. Des rayons UV sont produits par ces décharges à travers l'émission de photons par la dissociation de deux types particuliers de molécules appelées les excimères (contraction de "Excited" et "Dimer") ou les exciplexes (contraction de "Excited" et "complex"). Ces molécules se forment suite à des collisions à trois corps, respectivement selon les réactions suivantes [40] :



Où: Gr représente un atome de gaz rare et Hl un atome d'halogène.

La molécule excitée formée par les deux atomes excités du gaz rare est appelée « excimère ». Sa durée de vie est assez faible et lors de son retour sur un état fondamental

dissociatif, elle émet un rayonnement UV avec une longueur d'onde dépendant de la nature du gaz. Un exemple de la formation d'un excimère à base du xénon (Xe) est donné par les réactions suivantes :



L'une des applications récentes des excilampes est les afficheurs à écran plasma qui utilisent le rayonnement VUV (Vacuum ultraviolet) à xénon pour exciter le phosphore. Le principe d'un afficheur à écran plasma est basé sur l'émission des rayonnements UV à travers un mélange de gaz rare (*Xe-Ne* ou *Xe-Ne-He*) qui se trouve entre deux verres plats séparés par un gap d'environ 100  $\mu\text{m}$ . Une matrice d'électrodes couverte par des couches fines de diélectrique de 20  $\mu\text{m}$  à 40  $\mu\text{m}$  d'épaisseur est posée sur chaque lame de verre.

Deux géométries des électrodes sont disponibles dans le commerce, la matrice (ACM) et la structure coplanaire (ACC) (FigI.13).

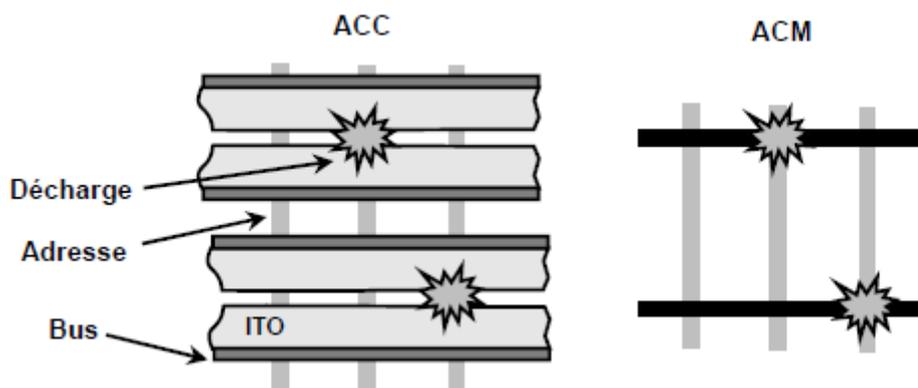


Figure I.13. Configurations des électrodes coplanaires (ACC) et la matrice (ACM) des afficheurs à écran plasma. Les couches du diélectrique ne sont pas représentées ici [40].

Le rayonnement UV excite dans chaque cellule les revêtements phosphoriques internes en rouge, vert, ou bleu (RGB) rendant chaque cellule comme une lampe fluorescente miniaturisée. Ces cellules de décharges sont regroupées en triplet RGB ou quadruplet RGBR de couleurs. Un afficheur à grande dimension peut comporter 1280 par 1024 points.

### **I.6.3. Traitement de surfaces**

Un traitement de surface d'un matériau a pour objectif de lui conférer de nouvelles propriétés de surface, tout en conservant ses propriétés volumiques de base. L'utilisation des plasmas DBD pour les traitements de surface couvre un large spectre d'applications tels que la modification des propriétés de la surface du matériau, l'amélioration des propriétés d'adhésion et/ou de mouillabilité, le traitement des textiles, le traitement de polymères, les dépôts de couches minces, le nettoyage de surfaces et la désinfection et stérilisation. Tous ces traitements peuvent être résumés en trois types de procédés plasma de traitement de surface : la gravure (ou ablation) où un matériau est enlevé, le dépôt où un matériau est ajouté et l'activation où des liaisons non satisfaites sont créées sur la surface du matériau traité.

### **I.6.4. Applications médicales**

Les applications biomédicales du plasma ont été limitées jusqu'à la dernière décade aux plasmas thermiques utilisés pour la cautérisation et la dissection, et utilisés pour l'électrochirurgie pour dessécher le tissu en le traversant par un courant électrique. D'autres types d'applications biomédicales des plasmas basés toujours sur des températures élevées locales sont ensuite apparus, tel que le coagulateur à plasma d'argon (APC) pour la cautérisation et la dévitalisation des tissus. Parmi les applications chirurgicales du coagulateur à plasma d'argon on trouve la chirurgie de la peau, la chirurgie des tumeurs du cerveau, la gastroentérologie, la chirurgie du sein, l'endoscopie bronchologique, la gynécologie, la chirurgie viscérale et l'urologie. Cependant, les plasmas thermiques interagissent avec les tissus vivants, principalement par la chaleur, ce qui dans certains cas n'est pas souhaitable, voir contre indiqué.

Les plasmas froids non thermiques créés à la pression atmosphérique, tels que les décharges DBD, grâce à leur fonctionnement à des températures proches de l'ambiante et leur capacité à produire des radicaux, des ions, des électrons, des UV et un champ électrique, ont permis ces dernières années le développement de nouvelles applications en biomédicale [41]. Parmi les applications les plus étudiées, nous citons la coagulation du sang, le traitement de cellules cancéreuses, la cicatrisation des plaies, l'odontologie et la stérilisation.

## **I.7. Conclusion**

Ce premier chapitre a fait l'objet d'une étude bibliographique sur les plasmas en général, nous avons insisté sur les décharges électriques à la pression atmosphérique utilisées

dans le domaine médical. Nous avons d'abord évoqué quelques généralités sur les plasmas générés par décharge couronne et plasma, leurs caractéristiques, les principes généraux leurs configurations courantes et les différentes applications industrielles et médicales. Dans ce chapitre, nous avons introduit les concepts de base qui nous semblent importants à la compréhension de la suite de nos travaux.

***Chapitre II***  
***Notions sur les***  
***microorganismes et les***  
***procédés de stérilisation***

## II.1. Introduction

Dans ce chapitre nous rappellerons quelques notions sur les microorganismes vivants et leurs constituants ainsi que sur la stérilisation en biomédical et ses principes. Les différentes méthodes de stérilisation conventionnelles seront présentées ainsi que leurs avantages et leurs inconvénients.

## II.2. Classification et structures des bactéries

Les microorganismes sont généralement classés en fonction de l'organisation de leurs cellules en deux types : les procaryotes et les eucaryotes. Les procaryotes possèdent une structure relativement simple caractérisée par l'absence de noyau et d'organites alors que les eucaryotes se caractérisent par une organisation cellulaire plus évoluée tels que les champignons, les algues, les protozoaires et les levures (Fig. II.1.) [43].

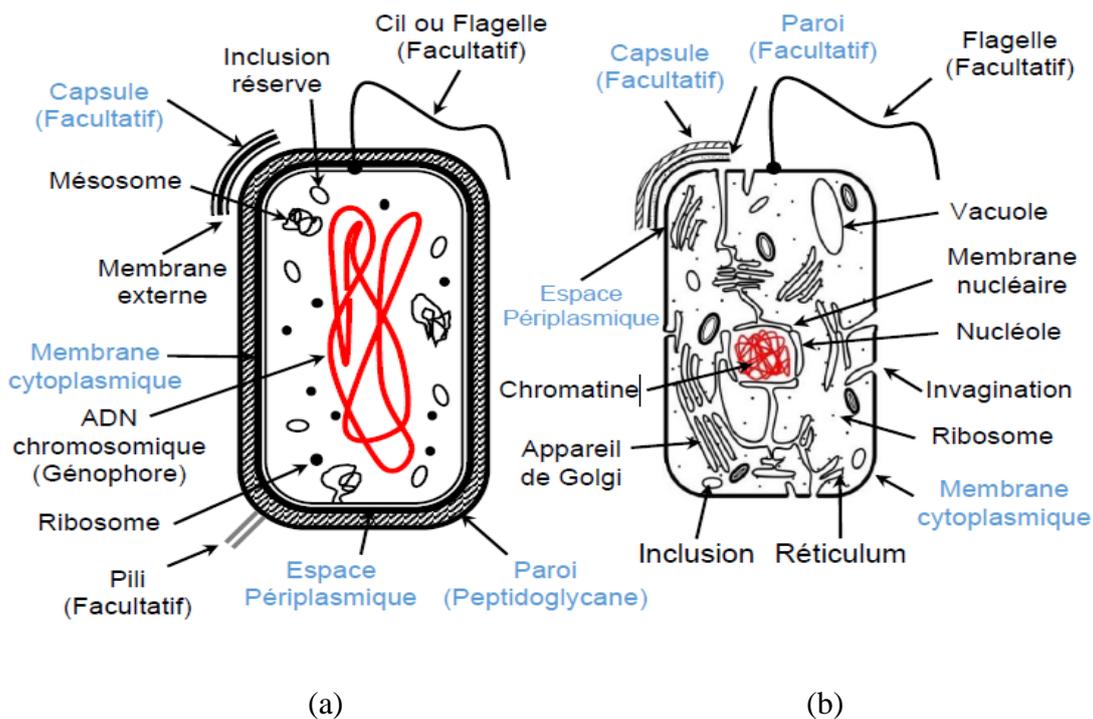


Figure II.1. Schéma d'une cellule procaryote(a) et d'une cellule eucaryote(b) [43].

Les principales différences entre ces deux classes de microorganismes sont récapitulées dans le tableau II.1

Tableau II.1. Comparaison entre une cellule procaryote et une cellule eucaryote [43].

	Procaryote	Eucaryote
Compartmentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Habituellement un seul compartiment interne délimité par une membrane qui s'oppose à un compartiment externe.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Un compartiment principal (délimité par une membrane) et un compartiment externe comprenant souvent une paroi.</li> <li>○ De nombreux sous compartiments internes permettant une division du travail du vivant.</li> </ul>
Contenu plasmique	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pas d'organites.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nombreux organites (mitochondries, vacuoles, ...)</li> </ul>
Matériel génétique	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pas de noyau délimité par une enveloppe et jamais de chromosome lors de la division cellulaire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Noyau délimité par une double membrane ou enveloppe cellulaire et chromosomes apparaissant lors de la division cellulaire</li> </ul>

Dans le cadre de l'étude de cette thèse, nous nous sommes intéressés aux bactéries de type procaryotes. Ces microorganismes unicellulaires ont des tailles variables (typiquement entre 0,5 et 10  $\mu\text{m}$  de longueur) et différentes géométries : sphériques (coques), bâtonnets (bacilles) ou de formes intermédiaires (coccobacilles, hélicoïdales). Toutefois, un certain nombre d'éléments dans la structure bactérienne restent commun, tels que la paroi qui donne sa forme à la bactérie, la membrane qui assure les échanges avec l'extérieur, un chromosome unique qui contient les caractères héréditaires sous forme de gènes et commande la synthèse des protéines, les ribosomes qui sont le support de la synthèse protéique, le cytoplasme qui est un semi-liquide gelé et riche en substances de réserve et enzymes de synthèse [44]. La figure II.2 représente les principaux éléments constituant une cellule bactérienne.

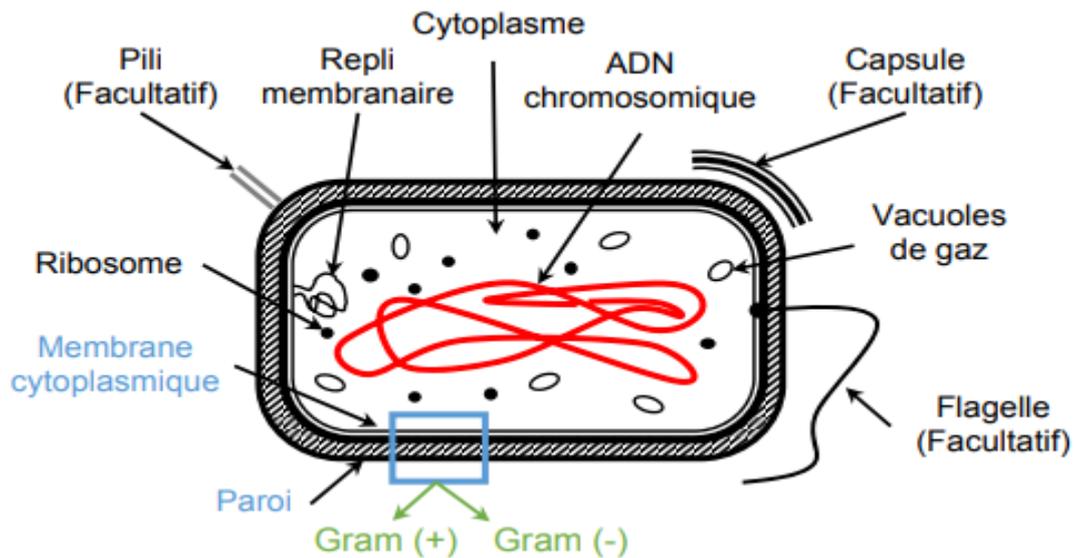


Figure II.2. Les principaux éléments constituant une cellule bactérienne [45].

Les cellules bactériennes sont composées principalement d'eau qui représente 70 à 90 % du poids de la bactérie, le reste de la composition varie en quantités d'une espèce à l'autre et des conditions de culture. Parmi ces composants, on trouve par exemple entre 30 à 60 % de protéines, 9,1 % de lipides, 15 % d'acides nucléiques dont 3 % d'ADN, 10 à 13 % de matières minérales, 3,4 % de lipopolysaccharides, 2,5 % de peptidoglycane [46]. En plus de ces éléments s'ajoutent le soufre ainsi que d'autres ions tels que  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Na^{+}$  présents en faibles quantités.

Toutes les cellules bactériennes, à l'exception des mycoplasmes, sont enveloppées par une paroi ; cette structure complexe qui diffère dans la composition chimique, permet de diviser les bactéries en deux grands groupes à l'aide d'une technique de coloration simple : les bactéries à Gram (+) et les bactéries à Gram (-). Cette paroi protectrice en contact avec le milieu extérieur, possède des propriétés antigéniques et contient des sites récepteurs pour certains virus (bactériophages) ; elle protège la cellule de la pression osmotique et permet également de donner à la cellule sa forme et sa rigidité. Dans la plupart des bactéries, la rigidité de la paroi est liée à la présence d'un polymère (le peptidoglycane ou muréine) qui contient des osamines et des acides aminés [47].

La figure II.3 montre les différences dans la paroi entre les bactéries Gram (+) et les bactéries Gram (-) [48, 49].

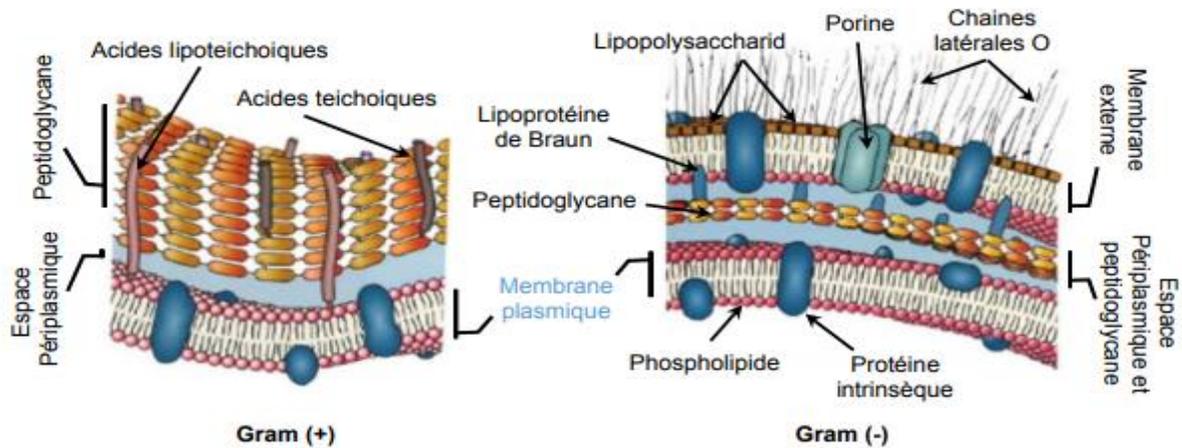


Figure II.3. Les parois des bactéries Gram (+) et des bactéries Gram (-).

Dans le cas des bactéries Gram (+), la paroi est constituée de plusieurs couches de muréine (peptidoglycane), formant un réseau homogène compact de 20 à 80 nm d'épaisseur située à l'extérieur de la membrane cytoplasmique, ainsi que des acides teichoïques qui se greffent sur le peptidoglycane (30 à 50 %), telles que les polysides ou des protéines.

Dans le cas des bactéries Gram (-), la paroi est plus complexe et contient une seule couche de muréine de faible épaisseur (aux alentours de 3 nm), entourée d'une membrane externe de 7 à 8 nm d'épaisseur riche en protéines, lipides et glucides. Cette dernière est généralement asymétrique et est composée d'une double couche de phospholipides, mais elle contient également des lipoprotéines qui la lient à la muréine et un lipopolysaccharide externe [50]. Le rôle principal de la membrane est de limiter l'entrée et la sortie des constituants, elle empêche les grosses molécules mais laisse passer les petites à travers des porines. Elle possède également des propriétés antigéniques et peut être toxiques (endotoxines LPS de Salmonella).

Les bactéries vivent seules ou peuvent former des associations complexes en s'attachant aux surfaces et en formant des agrégats appelées biofilms. D'autre part, lorsque les conditions deviennent défavorables (appauvrissement du milieu en éléments nutritifs ou changement dans les conditions physico-chimiques), certaines bactéries (en particulier les bactéries à Gram (+)) ont le pouvoir de se transformer en petites unités ovales ou sphériques dotées d'une résistance très élevée ; elles adoptent alors des structures spéciales appelées spores ou endospores [51]. Ce phénomène appelé sporulation, se rencontre principalement chez deux genres de bactéries : les Clostridium et les Bacillus. Ces dernières qui provoquent la maladie du charbon, sont très largement étudiées ces derniers temps. Cependant, dès que les

conditions de vie redeviennent favorables, les spores peuvent à nouveau germer (étape de la germination). Les spores sont beaucoup plus difficiles à tuer que les formes végétatives correspondantes et sont considérés comme les microorganismes les plus résistants à la chaleur sèche et à la chaleur humide, ainsi qu'aux agents chimiques et aux rayonnements ionisants.

### **II.3. Notions élémentaires sur la stérilisation**

La stérilisation est le processus qui consiste à détruire toute forme de vie de microorganismes présents sur un support. Cependant, il est impossible de stériliser à 100 % ; après toute opération de stérilisation et quelle que soit la méthode utilisée, il persistera toujours quelques microorganismes vivants impossibles à détecter. Pour cela, un niveau d'assurance de stérilité (N.A.S.) indiquant le degré d'assurance avec lequel un dispositif ou autre est rendu stérile par le procédé considéré a été fixé. Ainsi, un support ou un milieu est dit stérile lorsque la probabilité théorique de trouver un microorganisme viable est égale ou inférieure à 1 pour  $10^6$  microorganismes viables, initialement présents avant le processus de stérilisation [43].

Dans les établissements de santé et notamment dans les blocs de chirurgie, la stérilisation est un impératif pour la réussite de tout acte chirurgical. Elle concerne aussi bien les instruments utilisés pour l'acte chirurgical que le lieu ou les salles où ces actes sont réalisés. Le niveau de sécurité dans une stérilisation est beaucoup plus élevé que celui d'une désinfection. En effet, bien que toutes les deux fassent intervenir des processus physiques ou chimique amenant à l'élimination de microorganismes, une désinfection se limite à l'élimination de microorganismes ou virus présents au moment de l'opération [43].

Un processus de stérilisation comprend en réalité plusieurs étapes successives amenant chacune à un nombre de microorganismes encore viables plus faible que permet l'étape précédente, tout en facilitant les processus mis en jeu dans l'étape suivante. La qualité de stérilisation dépend donc directement de ces étapes qui sont : la décontamination, le nettoyage, le rinçage, le séchage et enfin le conditionnement [43].

#### **II.3.1. La désinfection**

La désinfection implique l'utilisation de liquides désinfectants. Le choix du désinfectant le plus approprié dépend du résultat recherché. Certains sont efficaces dans la destruction modérée de micro-organismes alors que d'autres sont capables d'éliminer tous les germes, y compris les spores. Dans le tableau II.2 sont présentés les désinfectants importants

utilisés et leurs utilisations.

Tableau II.2 : Les principaux désinfectants utilisés, leurs utilisations et leurs précautions d'emploi [52].

AGENT	INDICATIONS	PROPRIETES DESINFEC- TANTES	PROPRIETES ANTISEPTIQUES	MECANISME D'ACTION	PRECAUTION D'EMPLOI
Alcool Isopropyl d'alcool (50%- 70%) Ethanol (70%)	Nettoyage focal ; Préparation d'un site d'injection	Bonnes	Très bonnes	Dénaturation des protéines, arrêt du métabolisme et lyse cellulaire	Corrosif ; volatil
Produits chlorés Hypochlorite (eau de javel)	Nettoyage des sols et des pailles	Bonnes	Valables	Relargage de chlorure libre et d'oxygène	Inactivée par les débris organiques, corrosif sur le métal
Produits iodés Iodophores (7,5%) Solution Scrub	Nettoyage des sols foncés et colorés et des pailles	Bonnes	Bonnes	Iodination et oxydation de la plupart des molécules	Attention aux tissus
Glutaraldéhyde 2% solution alcaline	Désinfection des instruments délicats	Bonnes, stérilise	Aucune	Alkylation des protéines et des acides nucléiques	Attention aux tissus ; forte odeur (bien rincer les instruments avant utilisation)

### II.3.2. Le nettoyage

Cette opération vise à éliminer toutes traces de salissures sur la surface ou dans le volume de l'objet biomédical afin de minimiser la contamination et faciliter ensuite la stérilisation. Le nettoyage peut se faire en frottant l'objet avec des détergents.

### **II.3.3. Le rinçage**

Elle se fait après le nettoyage. Réalisé avec une eau déminéralisée voire osmosée, il permet l'élimination de toutes traces résiduelles de désinfectant ou détergents restées après l'opération de décontamination et de nettoyage. Le séchage permet l'élimination de la surface de l'objet médical et de son volume tout milieu humide qui pourrait favoriser la prolifération. Cette étape est indispensable surtout si l'objet n'est pas destiné à être réutilisé de suite.

### **II.3.4. Le conditionnement**

Le conditionnement a pour but d'une part de conserver le niveau minimum de contamination atteint après les opérations précédentes (décontamination jusqu'au séchage), et d'autre part de permettre le passage de l'agent stérilisant pour effectuer l'opération de stérilisation et de maintenir et conserver après l'état stérile.

## **II.4. Méthodes de stérilisations conventionnelles**

Les procédés de stérilisation sont rencontrés à une grande échelle dans le domaine industriel et à une échelle beaucoup plus petite dans le milieu hospitalier. La stérilisation dans les hôpitaux concerne les équipements et dispositifs réutilisables antérieurement utilisés et à un degré moindre, tout matériel ou objet médical dont le niveau de stérilisation est mis à un moment donné de son stockage ou déplacement en doute. Les procédés de stérilisation les plus connus peuvent être classés en trois catégories et ce, selon la nature de l'agent stérilisant et son action sur les microorganismes [43] :

- Procédés purement physiques (agents stérilisants : par exemple la chaleur sèche et les radiations).
- Procédés chimiques (agents stérilisants : les gaz et les liquides).
- Procédés physico-chimiques (agents stérilisants : par exemple la chaleur humide).

### **II.4.1. Procédés physiques de stérilisation**

Il existe plusieurs moyens physiques de stérilisation, les plus connus étant la chaleur sèche et la chaleur humide, mais parmi ces moyens on trouve aussi les radiations (gamma ou micro-ondes).

### II.4.1.1. Stérilisation par la chaleur sèche (Poupinel)

Le procédé consiste à stériliser des instruments à la pression atmosphérique en les plaçant dans un four appelé Poupinel (nom de son inventeur) (Fig. II.4). L'air dans ce four est chauffé entre 175 et 200 °C pendant une période souvent supérieure à 1 heure. A ces températures, l'action de l'oxygène et de l'azote de l'air avec la chaleur sèche produite par le four induit une destruction des microorganismes par la déshydratation et les réactions d'oxydation et de dénaturation des protéines qui les constituent.



Figure II.4. Photographie d'une étuve sèche de Poupinel pour la stérilisation des instruments [43].

*Avantage :*

- Accessible à tous car le coût est peu élevé (four de capacité satisfaisante), c'est le mode de stérilisation le plus répandu.

*Inconvénients :*

- Procédé long (le four n'atteint pas immédiatement les 170°C requis : il faut donc en moyenne placer les instruments 1h30 au four).
- Procédé réservé à la stérilisation des instruments métalliques et des compresses.
- La stérilisation du linge par cette méthode le fragilise très vite, ce qui lui fait perdre ses qualités de barrière vis-à-vis des germes.

-Pas d'indication sur l'homogénéité de la température.

-L'air est un mauvais conducteur de chaleur, les objets sont comme isolés par un coussin d'air, ils ne sont donc pas toujours portés à une température suffisante. Ce défaut de conduction de chaleur est par ailleurs aggravé lors de surcharge du four, ou lorsque les charges sont mal réparties [53].

-Il a été clairement démontré que le four Poupinel est inefficace sur les ATNC [54].

L'efficacité de ce procédé dépend directement du couple temps/température [55,56]. Comme le montre le tableau II.3, plus la température du four est élevée, moins la durée nécessaire pour avoir une stérilisation est importante.

Tableau II.3. Couples temps / température utilisables en chaleur sèche [57].

Temps [h]	24	4	3	2.5	2	1	0.5
Température [°C]	125	140	140	150	160	170	180

Malgré sa simplicité, cette méthode est actuellement abandonnée (voir interdite). En effet, elle présente de nombreuses contre-indications comme une importante durée pour atteindre la stérilisation et l'utilisation de températures relativement élevées limitant son utilisation aux objets à base de métaux et de verre ou céramique. Par ailleurs, la stérilisation par la chaleur sèche reste inefficace vis-à-vis des Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC).

#### **II.4.1.2. Stérilisation par rayonnements**

Les radiations sont un moyen sûr et efficace de stérilisation des dispositifs médicaux, et ne nécessitent le contrôle que d'un seul paramètre : la dose de radiation [53]. Cette technique présente l'avantage de pouvoir produire des objets stériles immédiatement utilisables ainsi que des objets conditionnés dans leur emballage définitif en vue d'une commercialisation [58].

### **a). Rayonnements ionisants**

De nombreux procédés de stérilisation mis en œuvre et se basant sur l'utilisation des températures relativement élevées montrent certaines limites concernant le traitement des matériels thermosensibles. C'est pourquoi un intérêt a été porté au recours à des procédés de stérilisation utilisant les rayonnements.

En effet, ces derniers peuvent être produits à basse température et il est connu que les microorganismes sont sensibles aux radiations ionisantes (les rayonnements  $\beta$  (électrons accélérés), les rayonnements gamma  $\gamma$  et les rayonnements X) ainsi qu'aux radiations non ionisantes (les rayonnements UV). Les radiations ionisantes désactivent le microorganisme soit directement par l'altération de ses molécules vitales telles que l'ADN et/ou indirectement par la détérioration de certaines de ses molécules biologiques non fondamentales.

#### **a).1. Les rayonnements $\beta$**

La stérilisation par rayonnements  $\beta$  a été envisagée dès les années 1930 par D. A. Charlesby [59] et le premier accélérateur a été commercialisé dans les années 1950 par Johnson & Johnson. L'action des rayons  $\beta$  se consacre principalement près de la surface du microorganisme. Actuellement, les électrons accélérés sont issus de générateurs ou d'accélérateurs électriques de haute puissance. L'énergie de ces rayonnements peut atteindre 10 MeV.

#### **a).2. Les rayonnements gamma ( $\gamma$ )**

Les rayonnements gamma sont des rayonnements électromagnétiques de grande énergie libérée par la désintégration des noyaux d'éléments radioactifs (les plus courants sont le cobalt 60 et le césium 137). Contrairement aux rayonnements  $\beta$  dont l'action se focalise principalement près de la surface, les rayonnements  $\gamma$  possèdent une action beaucoup plus pénétrante dans le volume du corps traité, ce qui fait qu'ils constituent les rayonnements les plus utilisés pour la stérilisation. Bien qu'ils permettent la stérilisation à température ambiante, les procédés de rayonnements gamma restent néanmoins très coûteux à mettre en œuvre pour une structure hospitalière. Par ailleurs, des normes de sécurité draconiennes sont imposées au personnel manipulant les équipements à cause de l'effet dangereux des rayonnements gamma sur la santé humaine. A cet effet, ce procédé est utilisé généralement dans l'industrie pour la stérilisation de certains dispositifs et objets médico-chirurgical à usage unique.

### **a).3. Les rayonnements X :**

Les rayons X sont générés en utilisant un accélérateur de faisceaux d'électrons qui convertit un faisceau d'électrons fortement accélérés en photons après le bombardement électronique d'une cible métallique d'un matériau de haute densité tels que le tungstène, l'acier ou le tantale. Les rayonnements X sont des photons avec des propriétés similaires aux  $R\gamma$  émis par le cobalt-60.

*Avantages :*

- Cette méthode ne génère pas une chaleur excessive, on peut donc stériliser du matériel thermosensible [58].
- La technique de stérilisation par radiations ionisantes peut atteindre des temps de fonctionnement extrêmement courts.

*Inconvénients :*

- La pénétration des rayons dans la charge est hétérogène, on ne peut utiliser cette technique que pour des objets homogènes, ou de faible épaisseur.
- Quel que soit le type de radiation utilisé, il existe un effet bouclier important à prendre en compte (surtout pour les objets métalliques).

Il existe beaucoup de limitations et de complexités dans l'utilisation des radiations ionisantes. Ce manque de souplesse de la méthode la contraint pour l'heure au domaine industriel.

## **b. Rayonnements non ionisants**

### **b).1. Les rayons ultraviolets (UV)**

Les rayons ultraviolets (UV) sont des radiations nonionisantes se situant dans le spectre électromagnétique entre les rayons X et la lumière visible. Le spectre UV se décompose en quatre parties dont la partie entre 230 et 260 nm représente la gamme de rayonnements UV la plus efficace [60]. Les rayons ultraviolet sont utilisés depuis plus d'un siècle et sont reconnus comme un excellent agent biocide. En effet, les UV pénètrent les membranes cellulaires des bactéries pour endommager ensuite leur ADN et ainsi les désactivant. Cependant, sur un agrégat de bactéries, les UV ne peuvent pénétrer sur de

longues distances et ils n'affectent pas les couches inférieures des bactéries de l'agrégat car ces dernières sont protégées par les couches superficielles des bactéries. A cet effet, les radiations UV ne sont pas considérées comme pouvant mener à la stérilisation d'objets médicaux.

## **II.4.2. Procédés chimiques de stérilisation**

### **II.4.2.1. Stérilisation chimique**

L'action de stérilisation des solutions chimiques se fait selon différents mécanismes d'action, parmi lesquels l'attaque de l'acide nucléique, la dénaturation des protéines, la rupture des membranes et l'inhibition du métabolisme des cellules du microorganisme. De nombreux liquides appelés LCG (pour Liquide Chemical Germicides) permettent l'inactivation de divers microorganismes. Ces liquides contiennent certains agents chimiques comme les composés phénoliques (phénol ...), les alcools (éthanol ...), les composés halogénés (iode, iodophore, chlore ...) et les aldéhydes (glutaraldéhyde).

Toutefois, la plupart de ces LCG ne sont que des désinfectants de haut niveau et seules les solutions composées de glutaraldéhyde et de chlorhexidine ont de réelles vertus stérilisantes. Il existe d'autres agents chimiques qui peuvent être utilisés sous forme de vapeurs tels que l'oxyde d'éthylène et le formaldéhyde.

La plupart des solutions commerciales utilisées pour la stérilisation et la désinfection de matériel difficile à stériliser par les autres méthodes (tels que l'endoscope ou l'arthroscopie (optique, connectique, caméra)) ou exceptionnellement pour stériliser un instrument de chirurgie dont on a besoin en urgence [61], contiennent en plus des inhibiteurs de la corrosion, une solution de glutaraldéhyde à 2 %.

En pratique, les instruments sont complètement immergés pendant une heure dans ces solutions. Avant tout contact avec le tissu vivant, ils doivent être soigneusement rincés, séchés puis stérilisés avant d'être utilisés le plus rapidement possible. Cependant, le procédé de stérilisation par immersion dans une solution présente certains inconvénients. Ainsi les solutions de glutaraldéhyde sont irritantes et peuvent engendrer des hypersensibilités chez des individus qui y sont régulièrement exposés. Des gants doivent être portés systématiquement pour retirer les objets de bains de glutaraldéhyde. La toxicité par inhalation est rare, mais il est recommandé de travailler dans des lieux bien ventilés.

### II.4.2.2. Stérilisation par les gaz

Les procédés de stérilisation par les gaz présentent l'avantage d'être compatibles avec les instruments et objets biomédicaux à base de matériaux thermosensibles et/ou ne pouvant pas supporter les conditions d'humidité et de pression utilisées pour la stérilisation à la vapeur ou à la chaleur sèche.

L'oxyde d'éthylène (OEt) est l'un des gaz les plus utilisés et les plus étudiés de tous les agents chimiques susceptibles d'être employés en stérilisation. Ce gaz qui agit par la substitution d'une fonction chimique par une autre (alkylation), possède une activité bactéricide reconnue. Il diffuse rapidement et pénètre facilement dans les objets à stériliser qui peuvent ainsi être emballés [62]. C'est un procédé basse température (55 °C) dont lequel presque tous les matériaux peuvent être stérilisés ; il est notamment actif à température ambiante, ce qui autorise son utilisation sur des matériaux qui ne supporteraient pas la chaleur humide ou sèche [63] à l'image des moteurs électriques [61].

*Avantages :*

- Procédé économique et simple. Il est fongicide, bactéricide et sporicide.
- Permet la stérilisation de matériaux fragiles

*Inconvénients :*

- Cycles longs.
- Appareillage coûteux.
- Toxicité non nulle pour l'utilisateur.
- Inefficace contre les ATNC.

Son activité nécessite un minimum d'eau. Elle augmente avec la température : les installations permettant une humidification de l'air ainsi qu'un chauffage sont nettement plus complexes que les installations de base .

La stérilisation à l'oxyde éthylène est peu répandue du fait de sa toxicité, du coût de l'appareillage et du temps nécessaire (il est à noter que face à la durée des cycles, il est souvent nécessaire de disposer de matériel de rechange, car un instrument ne peut être utilisé qu'une fois par jour lorsqu'on le stérilise par cette méthode).

Ainsi, comme les plastiques irradiés contenant des polymères chlorés, le caoutchouc et le plastique peuvent être abîmés par des dépôts de condensation lors de leur exposition à ce gaz et ainsi, on ne peut les stériliser par ce procédé.

Par ailleurs, l'oxyde d'éthylène est un gaz inflammable, explosif et toxique, ce qui nécessite de nombreuses et contraignantes précautions pour son stockage. Bien que la durée pour l'obtention d'une stérilisation par l'OEt varie de 1 à 6 heures, cependant, il est nécessaire de laisser le matériel désorbe après le processus de stérilisation pendant plusieurs jours avant de pouvoir l'utiliser [64], ce qui rend ce processus relativement long. De plus, les prions sont résistants à ce mode de stérilisation.

Il faut rappeler par ailleurs, qu'il y a d'autres gaz utilisés pour la stérilisation. Parmi ces gaz citons le dioxyde de chlore largement utilisé comme agent stérilisant sur des produits telles que les lentilles de contact, la vapeur de formaldéhyde qui présente un coût de revient et un temps de désorption plus faibles que ceux de l'OEt mais avec également une faible pénétration de l'agent stérilisant, l'ozone qui possède des applications limitées du fait de son instabilité et de la difficulté qu'il y a à générer de l'ozone pur.

En dernier lieu, cette méthode est considérée comme moins fiable que la chaleur humide, donc recommandée uniquement pour les objets ne pouvant être stérilisés en autoclave [58].

### II.4.3. Procédés physico-chimiques

#### II.4.3.1. Stérilisation par la chaleur humide (Autoclave)

La stérilisation à la chaleur humide est la méthode la plus ancienne en milieu hospitalier ; le premier stérilisateur à vapeur a vu le jour vers 1879 par Charles Chamberland (Fig. II.5a).



Figure II.5. Photos de l'autoclave de Chamberland (a) et d'un autoclave moderne (b)

Lorsque les dommages dus à la chaleur et à l'humidité ne représentent pas un problème pour le matériel à stériliser, cette méthode constitue certainement le procédé des stérilisations de référence, le plus fiable et le plus facile à contrôler et surtout le plus répandu en milieu hospitalier où elle est utilisée dans 90 % des cas pour sa fiabilité, son faible coût et son non toxicité.

Le principe de fonctionnement de l'autoclave consiste à établir un équilibre entre la température et la pression afin d'obtenir une vapeur d'eau de température élevée. L'action conjuguée de la vapeur d'eau et de la température (température supérieure à 120 °C) provoque la dénaturation puis la mort des microorganismes (bactéries, virus...) présents sur et/ou dans le matériel (y compris les Agents Toxiques Non Contaminant, comme le prion, si un cycle spécifique est réalisé).

Seules trois paramètres sont à prendre en compte lors de stérilisation à l'autoclave [63-65] :

- La pression,
- La température
- Le temps de stérilisation.

Le cycle de stérilisation le plus performant prévoit une température de 134 °C pendant au moins 18 minutes, à une pression de 3 bars. Le tableau II.4 présente quelques exemples des valeurs de ces trois paramètres utilisés pour la stérilisation par la chaleur humide.

Tableau II.4. Quelques paramètres de stérilisation par la chaleur humide [63].

	Température [°C]	Temps [min]	Pression [bars]
Caoutchouc et matériel thermosensible	125	20	1.3
Cycle de stérilisation instrument ou linge	134	10	2.1
Cycle « prion » : service de neurochirurgie, ORL-OPH	134	18	2.1

*Avantages :*

- La chaleur humide a une excellente action sur les bactéries, spores, virus, champignons et même les ATNC : c'est la référence en termes de fiabilité.

- Pas de production de résidu toxique.
- La rapidité de stérilisation et la possibilité de stériliser presque tout le matériel chirurgical : linge, bistouris électriques, drains en caoutchouc, moteurs pneumatiques... que l'on ne peut stériliser au four Poupinel.

*Inconvénients :*

- Le prix d'achat (de 3000 euros à 20000 euros), ce dernier dépend du volume de la chambre de stérilisation, des fonctions de contrôle du cycle. Il faut de toute façon choisir un autoclave qui effectue un séchage en fin de cycle : cette fonction permettant une fois la stérilisation achevée d'obtenir un matériel sec.
- Cette méthode ne tolère aucune imprécision lors de son utilisation. En effet, l'air doit être éliminé en intégralité de l'enceinte. Si de l'air est mélangé à la vapeur d'eau, cette dernière n'est plus saturante et on ne peut atteindre les mêmes températures qu'avec de la vapeur d'eau seule. Ceci est à l'origine d'un non-respect des conditions efficaces de stérilisation. De plus, comme nous l'avons vu précédemment, l'air est un isolant thermique, sa présence est donc un frein aux transferts de chaleur.
- Il existe de nombreuses contraintes légales lors de l'installation d'un autoclave d'une capacité supérieure à 25L ou pour une utilisation supérieure à 2,5 bars [56].
- Toutes les surfaces à stériliser doivent être exposées à la vapeur. La présence de poches d'air, l'utilisation de contenants hermétiques ou la présence de corps gras à la surface des matériaux sont les principales restrictions à la stérilisation par autoclave.
- Un autoclave est un matériel qui peut présenter des pannes occasionnelles : il faut s'assurer avant tout achat de la rapidité d'intervention du service après-vente.
- En pratique vétérinaire, le volume de la chambre de stérilisation des autoclaves abordables est souvent faible, ce qui limite la stérilisation de linge.

Cette méthode convient aux métaux et aux alliages compatibles avec la vapeur d'eau saturée, au verre, au caoutchouc, à certaines matières plastiques modernes ; elle permet de stériliser les instruments et le matériel massifs, le matériel de forme creuse à une ou deux ouvertures et les objets poreux (textiles, non-tissés). Mais elle ne convient pas à certains matériaux thermosensibles ou thermolabiles qui peuvent être respectivement dégradés ou déformés par la température [66]. Elle ne convient pas non plus aux polymères hydrolysables facilement dégradables par l'eau telle que les polyesters, polyglycoliques ou polylactiques. En plus, ce mode de stérilisation est corrosif pour certains métaux.

En conclusion, l'autoclave est un moyen de stérilisation peu répandu à l'heure actuelle en pratique vétérinaire, pourtant le seul intéressant pour la stérilisation du linge réutilisable.

## **II.5. Intérêt des plasmas froids dans le cadre de la stérilisation.**

La stérilisation par plasma est la destruction de tous les micro-organismes (bactéries et spores) présents sur un support. Les supports dont il est question sont surtout les objets (par exemple instruments chirurgicaux, aiguilles, cathéters...) destinés à être en contact avec les champs stériles ou avec le système vasculaire. Le résultat est l'état stérile, état qui est conservé par un conditionnement particulier.



Figure II.6. Représentation d'un stérilisateur plasma [67].

### **II.5.1. Intérêt des plasmas dans la stérilisation de matériaux thermosensibles**

Les techniques de référence à chaleur sèche ou humide sont incompatibles avec de nombreuses nouvelles technologies utilisant des matériaux thermosensibles (endoscopes, fibroscopes, polymères, matériel électronique...).

Dans les procédés de technologie plasma actuellement testés, on utilise le flux de post décharge, qui contient des molécules neutres actives et des UV. Dans cette zone de post décharge, la température ambiante n'excède pas 50°C et les molécules présentes ne dégradent pas les matériaux à stériliser. (La zone de décharge n'est pas utilisée, les ions et les électrons qui représentent l'essentiel de la matière à cet endroit sont beaucoup trop agressifs pour le matériel, de plus, il y règne une température qui peut dépasser les 500°C) [68].

### **II.5.2. Plasma et durée de cycle.**

Si les techniques à chaud autorisent des cycles relativement courts (en moyenne une quarantaine de minutes pour la chaleur humide, et un peu moins de deux heures pour la chaleur sèche), les temps augmentent considérablement quand on utilise certains procédés à basse température (24h pour une stérilisation au moyen de trioxyméthylène). Les premiers essais sur des machines industrielles utilisant la technique plasma ont des durées de cycles proches des procédés de stérilisation à haute température, soit un peu plus d'une heure.

Dans le procédé STERRAD, le cycle complet comprend cinq phases (vide, injection de peroxyde d'hydrogène, diffusion du gaz, activation, vidange) pour une durée de 75 minutes environ. Le procédé Plaszyte est comparable au procédé STERRAD, tant dans la forme que dans la durée de son cycle, seul le mélange gazeux est différent [70].

### **II.5.3. Plasma et toxicité des méthodes de stérilisation.**

Le chef de file des agents utilisés dans les techniques à froid est l'oxyde d'éthylène. Ce gaz présente l'inconvénient d'être extrêmement toxique pour le patient comme l'environnement. Les techniques utilisant des pastilles de troximéthylène sont elles aussi toxiques.

Les techniques utilisant des bains froids de glutaraldéhyde ne sont pas satisfaisantes, en effet ce produit très toxique pour les tissus implique un rinçage avec une solution stérile de sérum physiologique, les manipulations successives des instruments ainsi stérilisés sont un frein à une garantie optimale de l'état stérile.

Dans le cas des plasmas, le peroxyde d'hydrogène concentré utilisé est irritant pour la peau et peut causer de sérieuses blessures aux yeux par contact direct. Une fois vaporisé, il est irritant pour les yeux, le nez, la gorge et les poumons. Des procédés de sécurité ont donc été incorporés aux systèmes de stérilisation utilisant la technologie plasma afin d'éviter au manipulateur d'être en contact avec les produits actifs. Le peroxyde d'hydrogène est concentré dans une cartouche scellée sur laquelle se trouve un indicateur de fuite. Cette cartouche est placée dans l'enceinte de stérilisation, et ce n'est qu'une fois l'enceinte refermée et verrouillée que le gaz est libéré. Le processus de stérilisation s'effectuant à une pression inférieure à la pression atmosphérique, les fuites sont hautement improbables. A aucun moment l'utilisateur ne peut donc être en contact avec le produit. A la fin du cycle, tout le peroxyde d'hydrogène a été transformé en eau, oxygène et dioxyde de carbone.

La technologie plasma présente donc l'avantage de ne laisser persister aucun résidu dangereux ou toxique [69].

#### **II.5.4. Plasma et ATNC.**

Avec l'émergence de maladies provoquées par des ATNC (Agents Transmissibles Non Conventionnels) prions de la forme classique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob et nouveaux variants, les techniques à basse température et basse pression montrent leurs limites, en effet seuls les procédés de stérilisation à chaleur humide à 134°C pendant 18 minutes sont à l'heure actuelle reconnus comme efficaces.

Les espèces neutres présentes dans la zone de post-décharge stérilisent par une action dite de gravure. Par ce phénomène, les molécules actives désintègrent atome par atome les constituants de l'agent pathogène. Ce mode d'action laisse présager une activité sur les ATNC.

Il est à noter que l'efficacité sur les ATNC n'a pas encore été évaluée et que la technique plasma ne peut pour le moment être recommandée pour cette utilisation [70].

## **II.6. Conclusion**

Dans ce chapitre nous avons rappelé dans une première étape les constituants cellulaires des microorganismes vivants en général et des bactéries étudiées dans ce travail (bactérie E-coli et bactérie Bacillus Subtilis) en particulier.

Les techniques de stérilisation usuelles voient leurs limites mises en lumière dans les conditions de stérilisation des instruments thermosensibles. En effets, les techniques

reconnues efficaces sont pour la plupart des techniques à haute température, qui s'avèrent inutilisables dans le cadre d'une stérilisation de matériel endoscopique par exemple.

Les techniques à froid développées pour pallier à ce problème ont l'inconvénient d'être très toxique, de plus elles s'avèrent peu efficaces dans les de cas stérilisation de matériel contaminés par des ATNC.

# *Chapitre III*

## *Interactions*

*plasma / microorganismes*

### **III.1. Introduction**

Dans ce chapitre nous rappellerons quelques notions sur stérilisation par plasma froid et état de l'art. Les différentes interactions seront présentées ainsi que leurs mécanismes d'inactivation des microorganismes, ensuite nous avons cités les agents responsables composés le plasma et leurs rôles dans la stérilisation des bactéries.

### **III.2. Stérilisation par plasma froid des dispositifs médicaux**

Les nombreux inconvénients inhérents à chacun des moyens de stérilisation conventionnels présentés dans le chapitre précédent a fait apparaître la nécessité de développer de nouveaux procédés de stérilisation pouvant pallier à ces différents problèmes. L'utilisation des plasmas froids dans la stérilisation semble pouvoir apporter des solutions vues leurs fonctionnement à température ambiante, leurs facilités et compatibilités avec les matériaux en utilisant des agents stérilisant stables, non toxiques et contrôlables.

#### **III.2.1. État de l'art**

Bien que les décharges électriques dans les gaz ont été exploitées dès le XIX<sup>e</sup> siècle par Siemens dans la production d'ozone pour la désinfection de l'eau, il a fallu attendre cependant jusqu'en 1968 pour que le premier rapport sur le plasma comme agent stérilisant a été décrit par Menashi [71]. Ce dernier était le premier à déposer un brevet pour l'inactivation de microorganismes à l'aide d'une décharge Corona pulsée, basée sur l'utilisation d'une excitation radio fréquence (RF) et de l'argon à pression atmosphérique pour stériliser la surface intérieure de fioles. Par la suite, en 1970 Baier et De Palma s'en inspirèrent en utilisant le plasma d'argon pour le nettoyage des surfaces. En 1972, l'un des premiers systèmes de stérilisation employant des gaz à base de chlore, de brome ou d'iode a été développé par Leland et al., pour le traitement des surfaces en verre, en céramique ou pour les instruments thermosensibles [72].

En 1976, Fraser et al., ont développés un dispositif radiofréquence permettant de traiter par plasma l'intérieur et l'extérieur de pièces cylindriques [73] et en 1980 Boucher puis Bithell (1982) ont montré la possibilité d'une stérilisation par une décharge électrique dans un gaz approprié ou dans un mélange de gaz [74, 75]. Depuis, le nombre de travaux publiés sur le sujet ne cesse d'augmenter rapidement [76, 77].

De nombreux brevets ont été déposés, proposant des plasmas utilisant des gaz tels que l'oxygène pur, le peroxyde d'hydrogène, le glutaraldéhyde, l'argon, l'oxyde nitrique ou les mélanges d'oxygène, d'azote, d'hydrogène et de gaz inertes [78,79].

Suite à certains de ces brevets, deux stérilisateur utilisant le plasma froid à basse pression ont été commercialisés : le STERRAD par les laboratoires Johnson et Johnson et le PLAZLYTE® par les laboratoires AbTox [80]. Toutefois, il convient de rappeler ici que les deux stérilisateur n'utilisent pas un procédé plasma proprement dit, dans lequel les espèces biocides sont issues d'un gaz non stérilisant suite à une décharge électrique, mais utilisent des gaz réactifs qui possèdent déjà une action germicide, le peroxyde d'hydrogène pour le STERRAD et la vapeur d'acide peracétique pour le PLAZLYTE.

Cependant il est à noter que la décharge ou la phase plasma qui se fait par une excitation radio fréquence pour le premier et par une excitation micro-ondes d'un mélange de  $H_2$  et  $O_2$  à faible pression pour le deuxième, ne sert ici qu'à arrêter le processus d'oxydation des gaz utilisés. Cela a créé de nouveaux défis pour le développement d'un procédé de stérilisation par plasma froid basé sur de nouveaux concepts. Actuellement, l'utilisation des plasmas atmosphériques dans le cadre de la stérilisation représente l'une des alternatives récentes les plus prometteuses vue son milieu riche, non seulement en espèces chimiquement réactives, mais aussi en photons notamment ceux reconnus pour leur action biocide. Cette technique offre une très grande variété de configurations.

Cependant, les mécanismes mis en jeu dans les procédés de stérilisation par ce type de plasma restent toujours complexes et peu connus, ce qui explique le nombre de travaux et d'études de plus en plus nombreux menés actuellement en vue de comprendre comment les différentes espèces du plasma sont créées et comment elles interagissent avec les microorganismes et les surfaces stérilisées.

### **III.2.2. Composition chimique des plasmas froids**

Dans un plasma froid, on trouve des électrons et des ions des deux types de charges, des radicaux libres, des espèces actives, des états moléculaires excités, des atomes libres et des photons de diverses énergies allant de l'UV à l'infrarouge lointain (Fig. III.1).

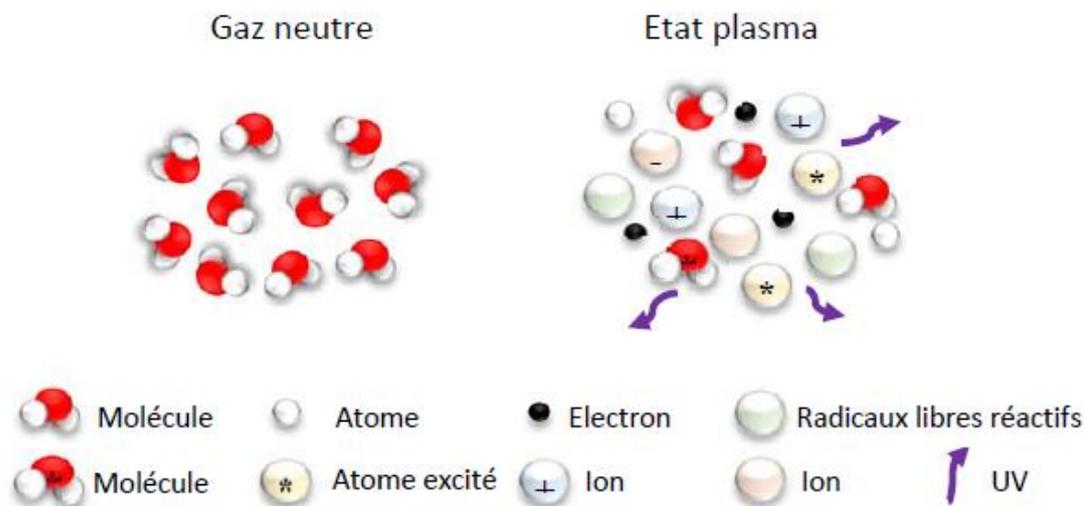


Figure III.1 : Schéma montrant la différence entre un gaz neutre et un état plasma.

Dans un plasma créé dans l'air, on trouve différentes particules tels que les électrons, les ions négatifs et positifs et les états excités ( $N_2(A)$ ,  $O_2(A)$ ). Certaines de ces espèces ont des durées de vie relativement courtes (de l'ordre de la microseconde comme c'est le cas pour les états excités du type  $N_2(A)$ ,  $O_2(A)$ , ...) alors que d'autres ont des durées de vie moyennes (une centaine de microsecondes comme celles des radicaux ( $O(^3P)$ ) ou relativement longues (quelques millisecondes telles que celle de l'ozone et les oxydes d'azote) [81]. Notons que parmi les espèces créées dans le plasma, les radicaux sont considérés comme les plus importants dans le domaine de la chimie du plasma ; ils présentent un intérêt majeur pour les applications nécessitant une action d'oxydation avancée de composés notamment le traitement des polymères.

### III.2.3. Interaction plasma-surface de polymères

Les interactions issues du bombardement de la surface des polymères par les espèces énergétiques créées au sein du plasma sont souvent dominées par les radicaux, les ions et les photons et permettent un traitement non agressif de surfaces sans les chauffer significativement [82]. Ces espèces énergétiques qui mènent essentiellement à des modifications surfaciques peuvent réagir avec les chaînes carbonées de surface conduisant ainsi à la rupture des liaisons covalentes (coupure des chaînes macromoléculaires) et à la formation de radicaux libres qui forment à leurs tours des groupements chimiques fonctionnels dépendant de la nature de la phase gazeuse lors de leurs réactions avec les espèces actives du plasma.

L'ensemble des interactions plasma / matériaux polymères modifie la surface de plusieurs manières comme :

- Le décapage ou l'ablation de couches superficielles de la surface. Les procédés de stérilisation reposent en grande partie sur ce processus [83].
- La réticulation de la surface. Ce processus consiste en un embranchement de molécules et/ou de fragments de molécules entre elles, suite à des ruptures de certaines de leurs liaisons chimiques par le bombardement des espèces du plasma. Comme généralement on a recours à des gaz inertes pour faire une réticulation, ce phénomène a été désigné dans certains travaux par le terme CASING (pour Crosslinking via Activates Species of Inert Gases) [84].
- La modification de la composition chimique de la surface par son exposition à des plasmas réactifs d'oxygène ou contenant des espèces azotées ( $N_2$ ,  $N_2-H_2$ ,  $NH_3$ ). Cette interaction amène au greffage de fonctions polaires qui permettent l'amélioration de façon importante l'adhésion, la mouillabilité et la biocompatibilité [85,86].

#### **III.2.4. Interaction plasma-microorganismes**

La stérilisation des microorganismes dans un procédé plasma résulte des interactions de ces derniers avec les différentes espèces créées dans le plasma. Dans les décharges plasmas créées dans l'air à la pression atmosphérique, on trouve la présence de composés oxygénés métastables comme  $O_3$ ,  $NO$  et  $NO_x$  [87, 88]. La présence par ailleurs de l'humidité dans une décharge favorise la création des radicaux tel que  $HO^\bullet$ . La nature et la densité des espèces actives créées par les processus collisionnels impliqués, jouent un rôle important dans la destruction des microorganismes et notamment l'altération des composants externes des cellules bactériennes (les membranes cellulaires). Cependant, à la pression atmosphérique, le rôle du rayonnement UV reste assez modeste [89], contrairement aux plasmas basse pression dans une enceinte sous le vide dans lesquels les rayonnements UV sont considérés comme un agent stérilisant important dans le plasma [90].

#### **III.2.5. Interaction microorganisme-polymère**

Les interactions microorganismes - surface des matériaux, des tissus animaux, végétaux et plus particulièrement les interactions bactéries / polymère, contrôlent en grande partie le degré de contamination éventuelle de la surface du matériau [91]. Cette

contamination est fonction du pouvoir d'adhésion des bactéries sur la surface du polymère. L'adhésion des microorganismes à une surface se fait selon deux étapes : la phase d'accueil (phase primaire) et la phase de verrouillage (phase secondaire) (Fig. III.2) [92, 93].

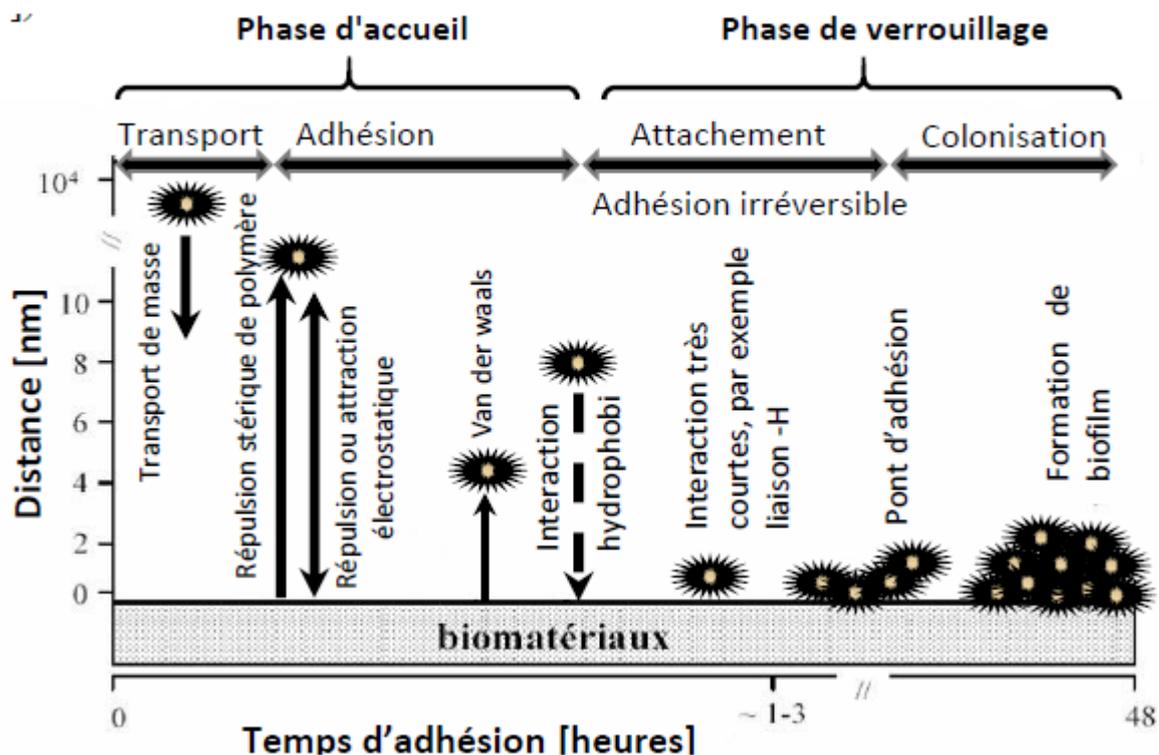


Figure III.2 Les différents types d'interactions mis en jeu lors de l'adhésion bactérienne et de la formation d'un bio film sur un biomatériau [94].

Pendant la première étape d'adhésion initiale, grâce à diverses forces d'entraînements, les bactéries viennent près de la surface du matériau. Leur adhérence dépend des différentes interactions de courte portée (attraction, répulsion) tels que les interactions de Van Der Waals, électrostatiques et hydrophobes. Dans la deuxième étape, l'adhésion bactérienne devient beaucoup plus lente que l'adhésion initiale. Lorsque le milieu où se trouve la bactérie présente des conditions favorables pour la survie et la prolifération de cette dernière, une multiplication cellulaire de ces bactéries se produit, amenant à la formation d'un biofilm qui constitue en quelque sorte une protection contre l'action de nombreux agents antibactériens [95]. L'adhésion bactérienne sur des surfaces est influencée par différents facteurs liés principalement à la nature des microorganismes, au milieu environnant et au matériau même constituant le support (substrat). Parmi les facteurs liés aux microorganismes, citons la taille

et la géométrie de la bactérie, sa charge de surface (dans la plupart des cas on a une charge négative) et son hydrophobicité. Dans ce dernier cas, il est généralement admis que les bactéries hydrophobes adhèrent plus aux surfaces hydrophobes et que les bactéries hydrophiles adhèrent plus aux surfaces hydrophiles [96].

Parmi les facteurs liés à l'environnement dans lequel se trouvent les bactéries, la température, le pH du milieu, le caractère hydrophile ou hydrophobe de la surface du support, la composition chimique de la surface de ce dernier ainsi que la concentration de la bactérie dans ce milieu ont une importante incidence sur l'adhésion [97].

Ainsi, une concentration bactérienne élevée dans le milieu favorise une adhésion bactérienne plus rapide [98].

### **III.2.6. Mécanismes d'inactivation des microorganismes par plasma**

Les plasmas froids à la pression atmosphérique produisent différents types de particules telles que les espèces réactives (atomes et/ou molécules neutres et/ou excités) et les espèces chargées (électrons, ions +/-, champs électrique) ainsi que des rayonnements UV. Ces espèces et rayonnements peuvent intervenir dans la destruction de microorganismes vivants à travers des processus chimiques amenant à une oxydation de la membrane de la bactérie par les particules réactives, des processus physiques suite au bombardement des bactéries par les espèces chargées (ions, électrons) et à travers une action des rayonnements UV issus du plasma avec le matériel génétique des microorganismes amenant à son altération [99-101]. Notons que dans certains cas, le plasma peut générer de la chaleur pouvant éventuellement jouer un rôle dans le processus de désactivation des microorganismes vivants.

L'efficacité de stérilisation de bactéries par un plasma dépend de plusieurs paramètres de fonctionnement de ce plasma tels que le mélange et le débit du gaz utilisé, l'énergie et le type d'excitation électrique, le type de microorganismes à stériliser et la nature du support contaminé ainsi que le mode de traitement par le plasma utilisé (mode de traitement par plasma direct (mode décharge) dans lequel les microorganismes sont placés dans la zone de décharge ou le mode de traitement par plasma indirect (mode post-décharge) où les microorganismes sont traités hors de la zone de la décharge plasma) [43].

A cause de la présence dans un plasma de divers particules et rayonnements en même temps, la connaissance du mécanisme exacte et/ou des espèces responsables de l'inactivation

reste difficile. Dans ce qui suit nous rappellerons l'effet des principaux acteurs composants le plasma intervenant dans les processus de désactivation des microorganismes.

### **III.2.6.1 Effet de la chaleur**

Dans le cas des plasmas froids à la pression atmosphérique, la contribution de la chaleur et le rayonnement UV dans la destruction des bactéries est insignifiante [102]. Cependant, certaines décharges DBD et en particulier les décharges à caractère filamentaire, en raison de la non-uniformité des électrodes ou des conditions particulières des électrodes (l'humidité, la saleté, la conductivité de surface, etc.), ont une température proche de l'ambiante mais peuvent être caractérisées par des températures élevées localisées dans l'espace et le temps au niveau des micro décharges (pouvant atteindre plusieurs centaines de degrés). Cette augmentation locale de la température peut parfois apporter une contribution à la stérilisation [103].

### **III.2.6.2. Effet des rayonnements UV**

Il est connu que le plasma est une source de rayonnement UV de plusieurs longueurs d'ondes qui peuvent être efficaces pour la stérilisation. Trois gammes de longueurs d'onde UV caractérisées par des pouvoirs de pénétration et des effets biologiques différents peuvent particulièrement être mises en évidence [100] :

- les UV-A de longueurs d'ondes de 315 à 400 nm, représentent la gamme la moins agressive et la plus répandue autour de nous, c'est celle qui a le moins d'énergie et par conséquent la moins destructive.
- les UV-B de longueurs d'onde de 280 à 315 nm est une gamme des rayons ultraviolets qui nous entourent et qui sont responsables de certains cancers de la peau en cas d'exposition exagérée. Ces rayons ont assez d'énergie pour attaquer les tissus biologiques, heureusement qu'une grande partie de cette gamme est bloquée par la couche d'ozone. Bien que cette gamme de longueur d'onde moyenne ait une activité biologique importante, elle possède toutefois un faible pouvoir de pénétration et l'efficacité de cette gamme de rayonnement dans la stérilisation est donc limitée.
- Les UV-C de longueur d'onde de 100 à 280 nm, possèdent une longueur d'onde plus courte. Par conséquent, les photons UV-C ont une énergie suffisante pour une reconstruction importante des molécules organiques et sont caractérisés par une

importante profondeur de pénétration. Ces rayonnements sont fortement absorbés par l'air, néanmoins quand ils entrent en collision avec les atomes d'oxygène ils peuvent produire de l'ozone.

Les photons UV-C sont donc considérés comme les plus efficaces parmi les rayonnements UV dans les processus de stérilisation, en particulier dans les procédés de stérilisation par plasma direct.

Il existe également une gamme des ultraviolets dite Vacuum ultraviolet (VUV) de longueur d'onde de 10 à 100 nm. Cette gamme possède une grande énergie, suffisante pour rompre les liaisons chimiques. Cependant, l'efficacité de cette gamme de rayonnement est limitée en stérilisation à cause de sa très courte profondeur de pénétration.

Pour évaluer l'effet des UV dans la stérilisation, D. Dobrynin et al. [100] avaient placé au-dessus de la surface contaminée à traiter une fenêtre en quartz (matériau transparent aux photons UV > 200 nm) et une fenêtre en MgF<sub>2</sub> (matériau transparent aux photons VUV > 140 nm) [104]. De cette façon les bactéries sont protégées de tout ce qui est créé dans le plasma, à l'exception des photons UV / VUV. Les résultats obtenus révèlent que l'action du rayonnement UV dans la stérilisation peut être négligée dans le cas des plasmas créés à la pression atmosphérique à cause du fait qu'une grande partie du rayonnement UV produit est en fait réabsorbée dans le volume de plasma et ne peut donc atteindre d'une façon significative les bactéries ou la surface à traiter [105]. Ce résultat a été également montré par M. Laroussi et al. [102] ainsi que d'autres auteurs [106].

En revanche, dans les plasmas à basse pression, les rayonnements UV sont considérés comme le facteur le plus important dans la stérilisation [107-109]. Avec des doses de plusieurs mJ/cm<sup>2</sup>, ils peuvent provoquer des dommages mortels pour la cellule à travers plusieurs mécanismes biologiques d'inactivation y compris la dimérisation de base thymine dans les brins d'ADN [81].

### **III.2.6.3. Effet du champ électrique et des espèces chargées**

Les décharges plasmas créent des particules chargées qui peuvent jouer un rôle important dans la stérilisation comme il est suggéré par certains auteurs [110, 111] et ce, par trois effets différents : l'effet du champ électrique induit par les particules chargées, l'effet biochimique directe des électrons et des ions et l'effet direct du bombardement ionique. L'effet direct du champ électrique sur l'inactivation des microorganismes (électroporation) dans les plasmas peut généralement être négligé ; cela a été démontré par E. Neumann *et al.* [112].

Cependant, les effets simultanés du champ électrique lié au mouvement collectif et le dépôt des particules chargées peuvent être importants.

La déposition de particules chargées amène à l'accumulation de charges électriques sur la surface externe de la membrane cellulaire, exposant cette dernière à des forces électrostatiques qui peuvent vaincre la résistance à la traction de la membrane et provoquer sa rupture [110, 113], cette rupture de la membrane cellulaire permet aux espèces réactives créées dans le plasma (tels que NO, OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>3</sub>), de pénétrer facilement dans le microorganisme et de le détruire [100].

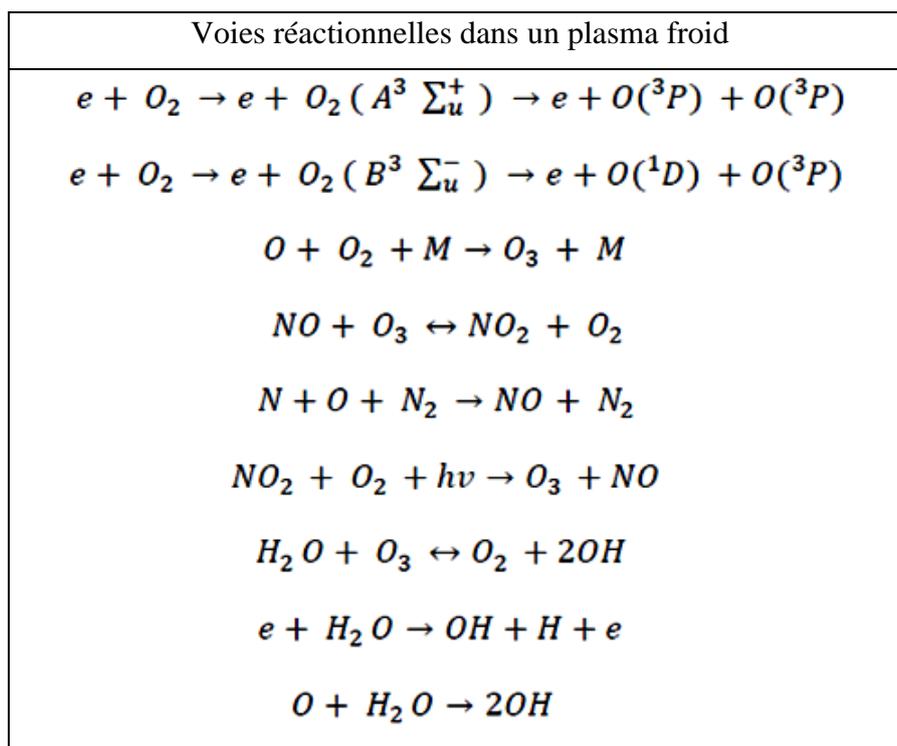
Le bombardement ionique des microorganismes peut provoquer la destruction de la couche lipidique de leur membrane ou causer d'autres dommages membranaires conduisant ainsi à leur inactivation. Cet effet est important dans le cas de traitement par plasma directe des microorganismes, plus particulièrement dans des plasmas à basse pression où sa contribution dans la stérilisation est significative lorsque les énergies des ions sont assez élevées.

Dans les décharges plasmas à pression atmosphérique où l'énergie des ions est relativement faible, l'effet du bombardement ionique peut être également important dans l'inactivation des bactéries. Les énergies moyennes du bombardement ionique dans les deux cas peuvent atteindre 0,3 à 0,7 eV. Bien que ces énergies ne puissent pas rompre des liaisons chimiques fortes, elles sont toutefois capables de rompre des liaisons d'hydrogène responsables de l'intégrité des couches lipidiques des membranes cellulaires. En plus des effets chimiques, les ions sont capables également de fournir une inactivation des microorganismes par d'autres effets tels que des effets mécaniques de bombardement et éventuellement des effets liés à la pression osmotique.

#### **III.2.6.4. Effet des espèces réactives**

Les décharges plasmas atmosphériques et plus particulièrement ceux créés dans l'air sont d'excellentes sources d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS), tels que l'oxygène atomique (O), l'ozone (O<sub>3</sub>), les radicaux hydroxyles (OH), l'azote atomique oxyde nitrique (NO) et d'autres fragments moléculaires excités et/ou réactifs [114]. Ces espèces réactives sont générées par différentes voies de collision, tels que l'impact d'excitation et de dissociation électronique.

Parmi les principales voies réactionnelles qui conduisent à la génération de ces espèces dans les plasmas d'air on a [102] :



Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) sont des espèces qui possèdent des propriétés intéressantes dans diverses applications, plus particulièrement leurs propriétés germicides dans le domaine de stérilisation. Certains auteurs ont souligné que ces espèces hautement réactives ont un impact direct sur les microorganismes, et surtout sur leurs membranes ultrapériphériques par gravure chimique [114]. Ces membranes constituées par des bicouches lipidiques présentent une composante importante en acides gras insaturés sensible aux attaques des radicaux hydroxyles (OH) [114]. M. Laroussi et al. [102] ont également suggéré que les ROS peuvent détruire les molécules protéiques qui se trouvent dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire des bactéries conduisant à leur destruction. Cela se fait par l'oxydation des chaînes linéaires d'acides aminés qui constituent essentiellement les protéines, et qui sont également sensibles à l'oxydation lorsqu'ils sont placés dans un environnement riche en espèces oxydantes.

### III.2.6.5. L'effet du peroxyde d'hydrogène produit par le plasma

En présence de molécules d'eau dans l'air ambiant, une certaine quantité de molécules OH est produite dans le plasma DBD. Bien que ce radical hautement réactif joue probablement un rôle clé dans le processus d'inactivation des bactéries, le produit de la recombinaison de deux des molécules OH polaires sur les centres de charge, une molécule de

peroxyde d'hydrogène, peuvent être relativement faciles de pénétrer la membrane cellulaire et provoquer plus tard des effets mortels (par exemple, des dommages mortels à l'ADN [117, 118]).

### III.2.7. Evaluation de la stérilisation par les courbes de survie

Dans la stérilisation de bactéries, et après la récupération et le comptage du nombre de survivants suite à l'exposition d'un échantillon de bactéries à une technique donnée de stérilisation (stérilisation par plasma froid dans notre cas), il devient possible alors de tracer une courbe de survie typique qui présente des graphiques du logarithme du nombre de bactéries vivants en UFC en fonction du temps de traitement. Une courbe de survie, suit souvent une loi de décroissance exponentielle selon la forme suivante [115] :

$$\frac{dN}{dt} = -K \cdot N(t) \quad \text{[III. 1]}$$

Où:  $N(t)$  représente le nombre de survivants au temps  $t$  et  $k$  la constante cinétique de décroissance.

Après intégration de cette équation, on obtient sur l'échelle logarithmique l'équation suivante :

$$\log_{10}\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -K' \cdot t \quad \text{[III. 2]}$$

Où:  $N_0$  est la concentration initiale et  $k'$  le "taux de mortalité" constant.

Selon la méthode ou le procédé de stérilisation utilisé, la courbe de survie peut être construite en première approximation par un ou plusieurs segments (lignes droites) communément appelés phases, qui reflètent les différentes cinétiques et peuvent permettre de dégager les mécanismes menant à l'inactivation des microorganismes [76, 109, 116]. Le temps de réduction décimale D (D-value en Anglais) est l'un des paramètres clé qui peuvent être déterminés à partir de ces courbes de survie et qui est largement utilisé dans les études de la stérilisation par plasma, Il représente le temps nécessaire pour réduire la population

bactérienne d'un ordre de grandeur, soit une diminution de 90 % de celle-ci. Il peut être exprimé comme suit :

$$D = \frac{t}{(\log N_0 - \log N_s)} \quad \text{[III. 3]}$$

Où  $t$  est le temps nécessaire pour détruire 90 % de la population initiale,  $N_0$  est la population initiale, et  $N_s$  est la population survivante [116].

Le temps de réduction décimale  $D = k^{-1}$  est donc exprimé en unité de temps depuis les courbes de survies portées sur des échelles semi-logarithmiques ; il est déterminé comme étant le temps nécessaire pour réduire une population d'un facteur 10 (1 décade ou 1  $\log_{10}$ ) (Fig. III.3).

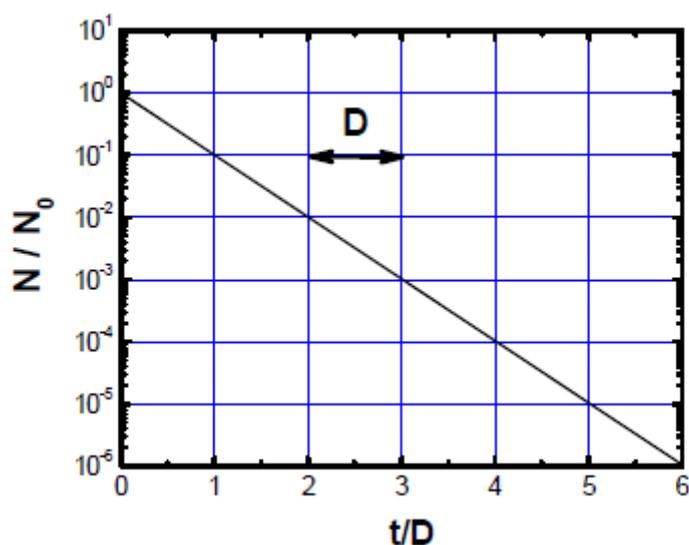


Figure III.3 Exemple de calcul du temps de réduction décimale  $D$  à partir d'une courbe de survie.

Les courbes de survie permettent l'étude de la cinétique d'inactivation (élimination des microorganismes) et donne un aperçu des mécanismes mis en jeu. Des études expérimentales menées sur la stérilisation par plasmas froids ont montré l'existence de différents modèles de courbes de survie dont lesquels la forme et le temps requis pour atteindre un Log 10 d'abattement ( $D$ -value) dépendent du type du micro-organisme traité, du milieu sur lequel les microorganismes sont disposés et du mode d'exposition (plasma direct ou plasma de post décharge).

On peut distinguer des courbes de survie à pente simple, à pente double et à multi-pentes (Fig. III.4).

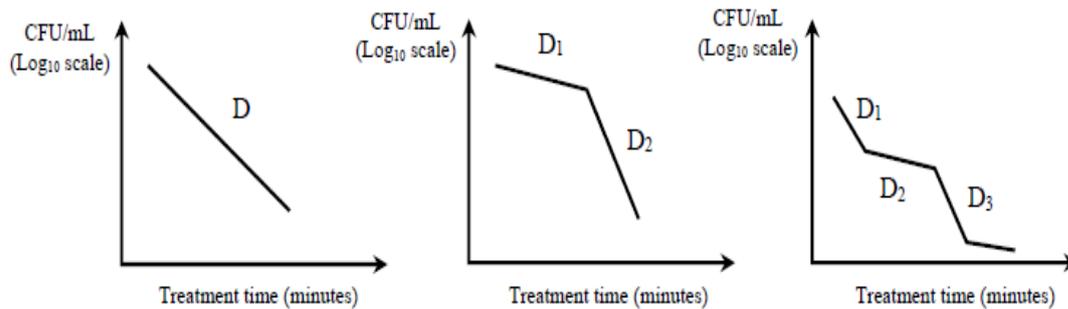


Figure III.4 Différents modèles de courbes de survie pouvant être observés lors d'une stérilisation par des procédés plasmas [102].

### III.3. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons rappelé dans une première étape des notions sur stérilisation par plasma froid en particulier. Nous avons ensuite donné quelques notions élémentaires sur les différentes interactions. Dans une deuxième étape, nous avons rappelé les différents mécanismes d'inactivation des microorganismes. Ainsi, puisque le plasma est un milieu réactif (contient plusieurs composés oxydant, radicaux, ions énergétiques...etc) ces derniers sont responsables de l'inactivation des bactéries. Toutes fois ces mécanismes sont complexes et nécessitent des études encore plus poussées.

# *Chapitre IV*

## *Application de la décharge couronne en courant continu pour la stérilisation*

## IV.1. Introduction

Dans ce chapitre nous présenterons les résultats de l'étude de stérilisation réalisée sur des microorganismes de type E. Coli et Bacillus subtilis. Cette étude nous permettra d'une part de fixer les paramètres adéquats à utiliser pour créer avec notre procédé un plasma à décharge couronne avec une configuration (pointe -plan) à pression atmosphérique dans l'air ayant les caractéristiques électriques prédéfinies et d'autre part, de déterminer les conditions optimales de création de la décharge permettant l'obtention d'un meilleur effet.

## IV.2. Objectif

Notre objectif est de voir l'effet de la décharge couronne configuration usuelle (pointe / plan) sur la stérilisation des échantillons infectés par deux types de bactéries. L'organigramme de la Figure IV.1 résume notre plan d'étude.

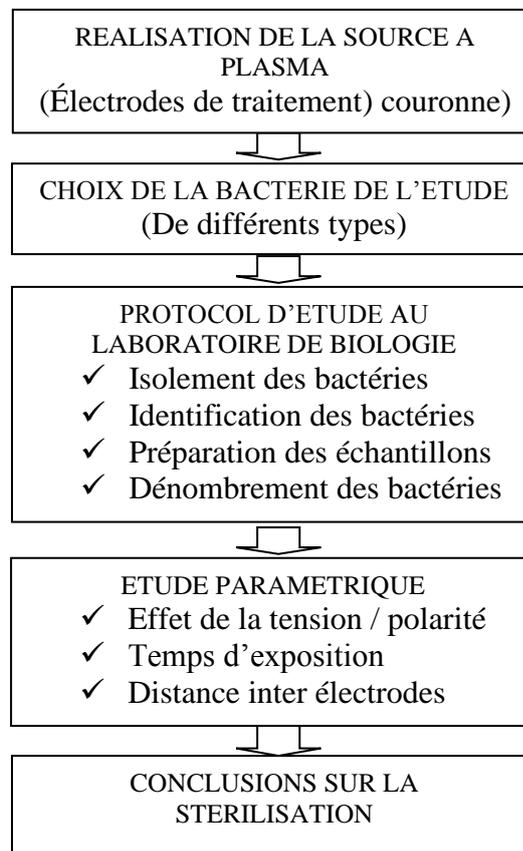


Figure IV.1. Plan de l'étude.

## IV.3. Choix des bactéries à stériliser

L'efficacité d'un système de stérilisation est basée sur le type des bactéries à stériliser, donc il faudrait tester l'action sur une bactérie à Gram (+) comme B. subtilis ou B. stearothermophilus et une bactérie à Gram (-) comme Escherichia coli afin de valider la

stérilisation par plasma [119]. Notre choix a été porté sur une bactérie *E. coli* à Gram (-) et *Bacillus subtilis* à Gram (+) qui occupent une place plus importante dans le développement des nouveaux dispositifs de stérilisation.

### IV.3.1. Présentation générale des bactéries à stériliser

*Escherichia coli* (*E. coli*) producteur de Shigatoxines est une bactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud. La plupart des souches sont inoffensives. Certaines en revanche, comme *E. coli* producteur de Shigatoxines, peuvent provoquer de graves maladies d'origine alimentaire. La transmission à l'homme passe principalement par la consommation d'aliments contaminés, comme de la viande hachée crue ou mal cuite, du lait cru, des légumes crus et des graines germées contaminés [120].

*E. coli* produit des toxines, appelées de type Shiga (Shiga like) en raison de leur ressemblance avec celles élaborées par *Shigella dysenteriae*. Elle se multiplie à des températures comprises entre 7 °C et 50 °C, la température optimale étant de 37 °C. Certaines souches se développent dans des aliments acides, jusqu'à un PH de 4,4, ainsi que dans les aliments dont l'activité de l'eau est au minimum de 0,95. La cuisson détruit *E. coli* producteur de Shigatoxines si l'aliment est cuit à cœur, la température atteignant au moins 70 °C en toute part [120]. La bactérie *E. coli* est un bacille en forme de bâtonnet (Fig. IV.2) de la famille des entérobactéries, aérobie, anaérobie facultative, mobile grâce à des flagelles, non sporulée.

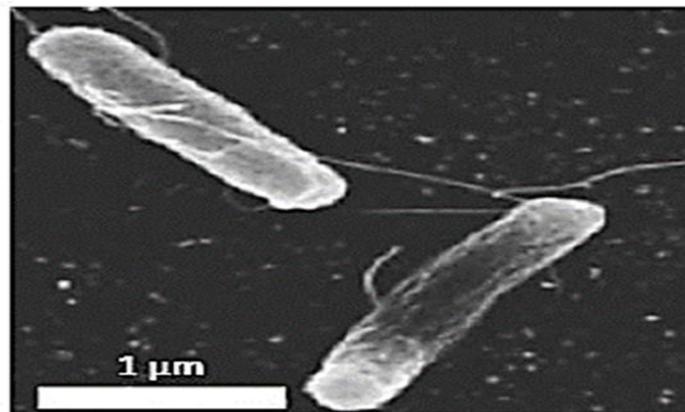


Figure IV.2. Photographie par microscope électronique à balayage (MEB) de la bactérie *E. coli* [121].

On observe dans les symptômes de l'infection à *E. coli* producteur de Shigatoxines des crampes abdominales et des diarrhées qui, dans certains cas, évoluent vers des diarrhées sanglantes (colite hémorragique). Il peut également y avoir de la fièvre et des vomissements.

La période d'incubation va de 3 à 8 jours avec une durée médiane de 3 à 4 jours. La plupart des patients guérissent en 10 jours mais, pour une petite proportion d'entre eux

(notamment les jeunes enfants et les personnes âgées), l'infection peut évoluer vers une forme potentiellement mortelle, comme le syndrome hémolytique et urémique (SHU). Celui-ci se caractérise par une insuffisance rénale aiguë, une anémie hémolytique et une thrombopénie.

On estime que, pour jusqu'à 10% des patients, l'infection à *E. coli* producteur de Shigatoxines peut évoluer en SHU, avec un taux de létalité de 3 à 5%. Globalement, ce syndrome est la cause la plus fréquente d'insuffisance rénale aiguë chez le jeune enfant. Il peut entraîner des complications neurologiques (convulsions, accidents cérébraux-vasculaires et coma) chez 25% des patients atteints et laisser des séquelles rénales chroniques, bénignes en général, chez 50% des survivants [120].

Les personnes atteintes de diarrhée sanglante ou de crampes abdominales sévères doivent consulter. Les antibiotiques n'entrent pas dans le traitement des patients souffrant d'une infection à *E. coli* producteur de Shigatoxines et ils pourraient même augmenter le risque d'évolution vers le SHU.

Les *Bacillus* sont des microorganismes anaérobies ou aéro-anaérobies comprenant au moins 36 espèces. Ce genre de microorganismes possède la capacité de produire et de synthétiser des spores (endospores), c.-à-d. des éléments ayant la forme d'une petite sphère. Munis de parois épaisses et résistantes, les *Bacillus* survivent à des environnements relativement agressifs et défavorables telles que des températures élevées.

À Gram positif ou à Gram variable, les espèces du genre *Bacillus* sont de forme bacilles, rectilignes ou presque, à extrémités carrées ou arrondies, de taille variable [122] pouvant aller de 0,5  $\mu\text{m}$  x 1,2  $\mu\text{m}$  à 2,5  $\mu\text{m}$  x 10  $\mu\text{m}$ ) (Fig. IV. 3).

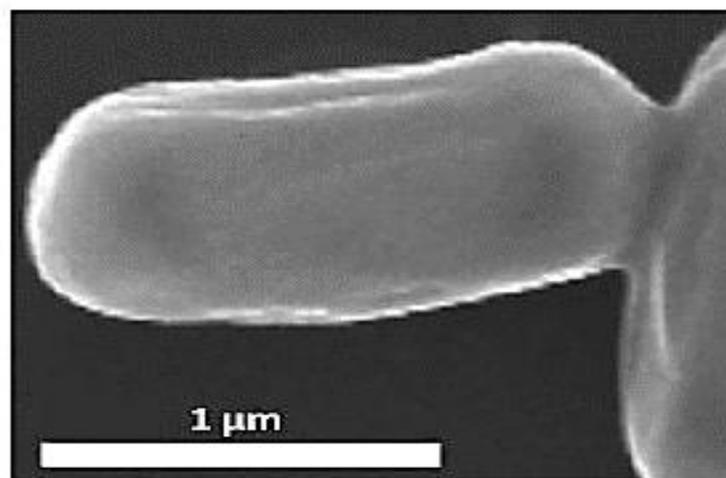


Figure IV.3. Photographie par microscope électronique à balayage (MEB) d'un exemple de bactérie de type *Bacillus atrophaeus* [122].

#### IV.4. Matériels et méthodes

La figure IV.4 et IV.5 représentent respectivement une schématisation du banc expérimentale que nous avons réalisé au laboratoire LSTE de l'université de Mascara ainsi que sa photographie.

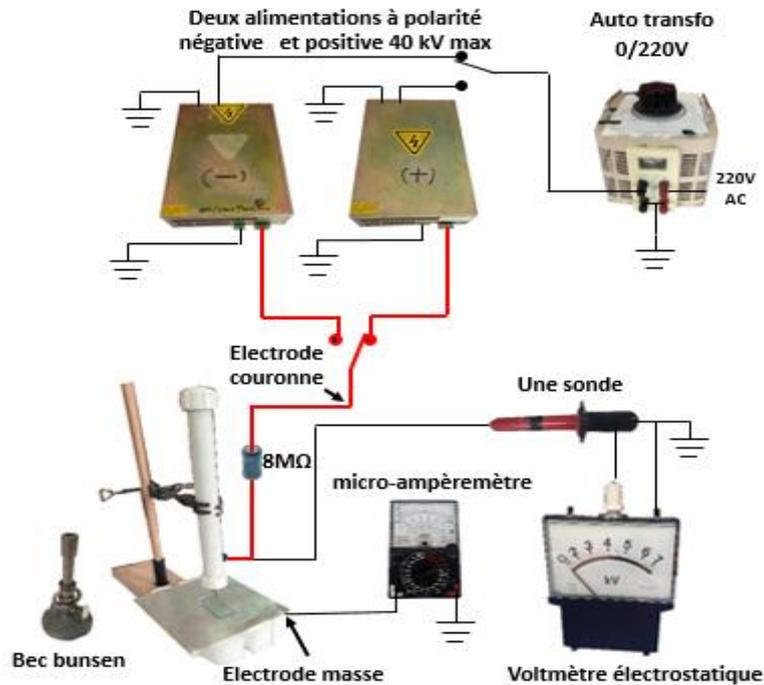


Figure IV.4. Schéma globale du banc expérimental.

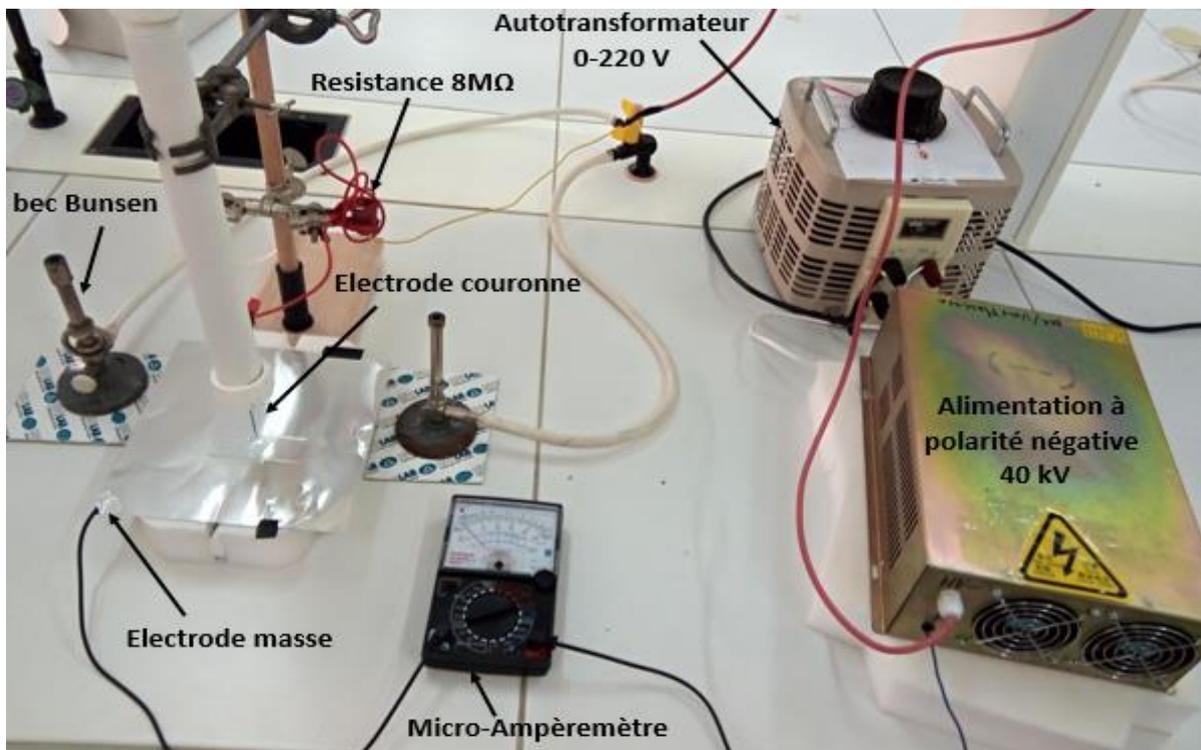


Figure IV.5. Disposition des échantillons dans le réacteur de stérilisation.

Le rôle de chaque composant du banc expérimental est détaillé comme suit :

**a) Un auto transformateur :**

Il délivre une tension qui varie de 0 jusqu'à 220V, il a pour rôle l'alimentation progressive des générateurs haute tension.



Figure IV.6. Auto transformateur.

**b) Générateurs de haute tension :**

Nous avons utilisé deux générateurs (à polarités négative et positive) pour générer une tension qui varie de 0 jusqu'à 40kV. L'intensité de courant peut atteindre 38 mA.



Figure IV.7. Deux alimentations haute tension à polarité négative et positive.

**c) Diviseur de tension :**

Pour la mesure des tensions des générateurs, nous avons utilisé un diviseur résistif comprenant une résistance  $R_g = 50 \text{ M}\Omega$  et une résistance  $R_p = 8 \text{ M}\Omega$ .

Ainsi le rapport de division est donné par la formule suivante :

$$U_{ht} = U_p \times (R_p + R_g / R_p) \quad (\text{IV.1})$$

$$U_{ht} = 7.25 U_p \quad (\text{IV.2})$$

**d) Voltmètre électrostatique**

Ce voltmètre est utilisé pour la mesure des tensions aux bornes de la résistance  $R_p$ . Etant donné que sa résistance interne est infinie ce dernier convient très bien pour la mesure.



Figure IV.8. Voltmètre électrostatique.

**e) Micro-ampèremètre :**

Il est branché entre le plan de masse de la configuration couronne et le générateur, qui permet de mesurer le courant de la décharge couronne récolté par le plan de masse.



Figure IV.9. Micro-Ampèremètre.

**f) Dispositif de décharge couronne :**

Ce dispositif est assemblé en configuration pointe / plan. C'est la source génératrice de plasma atmosphérique. C'est sur de plan de la Figure IV.10 où sera effectuée l'opération de stérilisation.



Figure IV.10. Système de décharge pointe -plan.

Grace au système de mesure constitué du diviseur et du microampèremètre, nous avons pu relever les caractéristiques courant/tension de la décharge couronne pour le cas des deux polarités en charge avec une distance entre les deux électrodes de 30 mm (Voir la figure IV.11) :

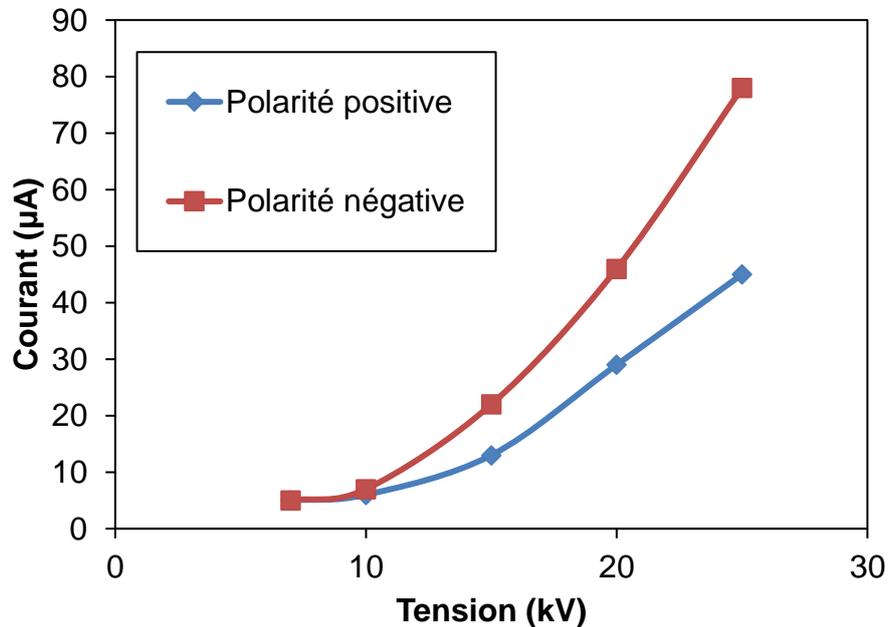


Figure IV.11. Caractéristiques courant/tension de la décharge couronne pour les deux polarités.

D'après la figure IV.11, on remarque que la décharge couronne en polarité négative fournit un courant plus élevé que la polarité positive dans les mêmes conditions.

**g) Deux becs Bunsen :**

Leur rôle est la création d'un espace stérile autour du plan de travail où nos essais sont effectués. Le rayon stérile va de 10 à 15 cm.



Figure IV.12. Bec bunsen.

**h) Résistance de charge :**

C'est une résistance de  $8M\Omega$ , elle est utilisée pour limiter le courant de la décharge couronne et permet d'éviter ainsi le régime d'arc.

### IV.4.1. Protocol expérimental

Afin de réaliser nos expériences, nous avons préparé une solution bactérienne d'E. Coli (Référence : ATCC 25922) dans un tube d'eau physiologique. La charge ou bien la densité optique doit être entre (0.4 et 0.5). Pour cela on utilise le spectromètre pour mesurer de la densité optique, Voir figure IV.13.



Figure IV .13. Photographie d'une goutte liquide E. coli et sa densité optique mesuré par le spectromètre.

Une suspension bactérienne contenant entre  $10^8$  et  $10^9$  cellules/ml est préparée à partir d'une cultureensemencée par une souche dans des boîtes de Pétri. A partir de cette suspension bactérienne, une même quantité (0.1 ml) a été déposée sur plusieurs lames de verre stériles à l'air libre et à une température ambiante. Dans chaque expérience, nous plaçons un échantillon (lames de verre contaminées) sur l'électrode inférieure connectée à la masse, espacée de l'électrode supérieure connectée à la haute tension par une distance variable (Fig. IV. 14). Nous exposons ensuite durant différentes périodes cette culture de microorganismes de type E-coli directement à un plasma d'air créé à la pression atmosphérique en utilisant deux sources de tension différentes. On varie la tension appliquée de 0 à 30 kV, alors que la durée d'exposition des bactéries au plasma est variée de 1 à 15 min.

Toutes les expériences ont été réalisées dans les conditions ambiantes (température et taux d'humidité respectivement d'environ 18 - 25 °C et ~40 %).

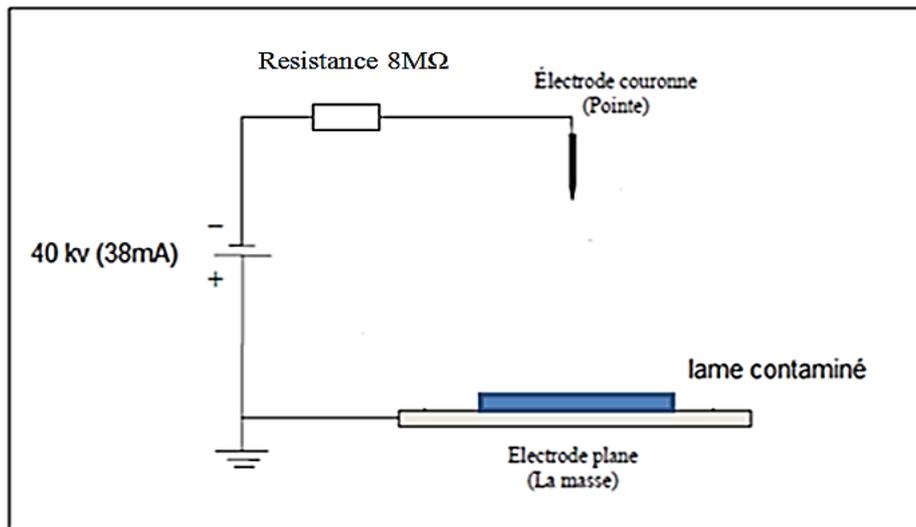


Figure IV. 14. Schéma de principe de la stérilisation pointe -plan.

Une fois le traitement par plasma effectué, nous retirons les échantillons du réacteur et nous plongeons l'échantillon traité dans un milieu physiologique. Puis on rend le milieu homogène grâce à un appareil mélangeur à vortex. Nous récupérons dans ce milieu les cellules ayant éventuellement survécu au traitement par plasma. La solution récupérée est placée dans des tubes à essai et servira par la suite pour la dilution décimale. Les échantillons dilués sont utilisés pour des dépôts sur des boîtes pétri remplies par un milieu de culture en utilisant une pipette pasteur (voir les étapes dans la figure IV.15). L'étalement sur le milieu de culture se fait avec un râteau d'une manière homogène.

La dernière phase consiste à mettre les boites dans un incubateur qui garde les conditions thermique et l'humidité stable pendant 48 h. Cet incubateur a pour rôle de fournir les conditions optimales pour la reproduction efficace des bactéries dans une courte durée. Les boîtes Pétri, une fois sorties de l'incubateur sont utilisées pour le dénombrement des colonies qu'ils contiennent. Cette mesure permet de donner des informations sur la concentration des microorganismes qui existent encore dans la solution contenue dans le tube à essai. Pour voir l'effet du traitement par plasma des échantillons n'ayant pas été exposés à la décharge plasma (échantillons témoins) et des échantillons ayant été exposés à un traitement par plasma (échantillons traités) sont comparés.

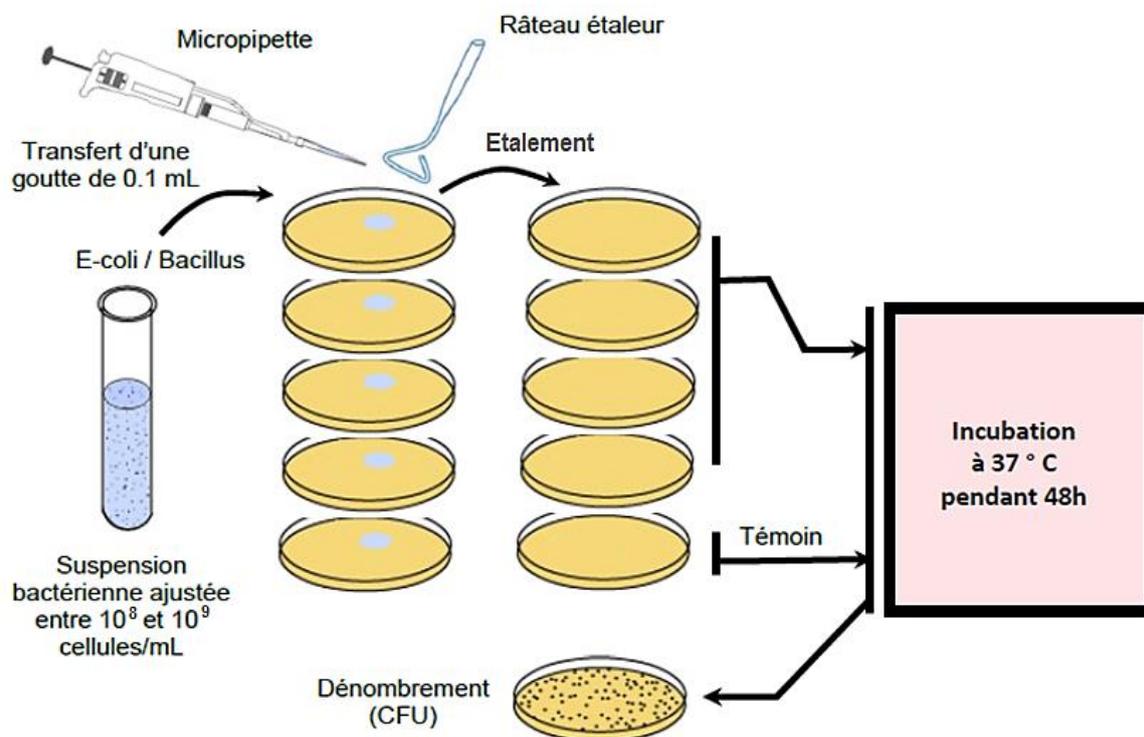


Figure IV.15. Schéma des différentes manipulations pour le dénombrement des cellules.

## IV.5. Etude paramétrique sur l'efficacité d'inactivation des bactéries

L'objectif principal de cette partie de notre travail est l'étude de l'effet des paramètres de la décharge à plasma d'air créée sous pression atmosphérique avec notre montage sur l'efficacité d'inactivation des deux types de bactéries sur un support inorganiques. Ces trois paramètres sont le temps de traitement, tension appliquée et la distance inter électrodes.

Signalons que durant toutes les études effectuées, toutes les manipulations de base (cultures bactérienne, transfert de bactéries, ...) sont effectuées dans la zone de protection d'un bec Bunsen, selon des techniques particulières afin d'éviter deux types de contamination : la contamination de la culture ou du produit par le manipulateur ou l'environnement et celle du manipulateur ou l'environnement par les microorganismes étudiés.

### IV.5.1 Effet du temps de traitement sur E. coli

La figure IV.16. (a) et (b) montrent respectivement l'effet de l'augmentation de la durée de traitement par un plasma créé dans l'air à la pression atmosphérique, sur la variation du nombre des colonies bactériennes vivantes prélevées après leur exposition à la décharge couronne en polarités négative et positive. Dans cette étude, nous avons fixé la distance inter-électrodes du réacteur plasma à 30 mm alors que la tension de la décharge plasma a été gardée constante et égale à 25 kV.

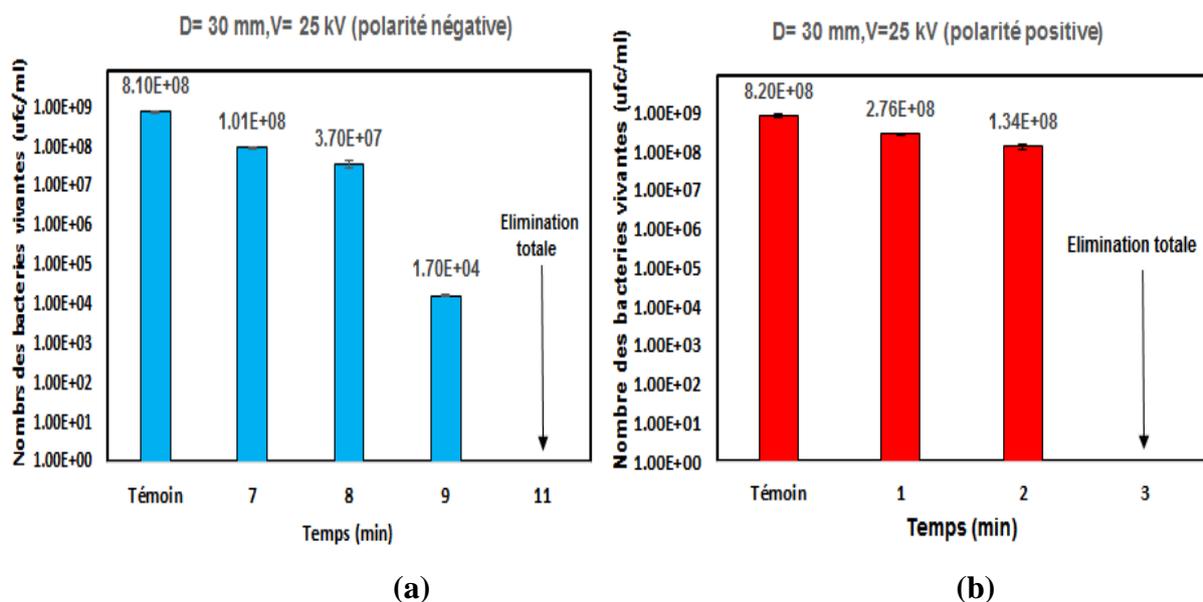


Figure IV.16. Variation du nombre des colonies d'E. Coli en fonction du temps de traitement en polarités négative (a) et positive (b).

Pour la polarité négative, le nombre des bactéries vivantes du témoin diminue moins rapidement atteignant 10 % pour une durée de 7 min. Ainsi, une réduction de plus de 50 % du nombre des bactéries vivantes du témoin est observée pour un temps d'exposition au plasma de 9 min. Cependant, on a complété toutes les bactéries vivantes du témoin pendant une durée de 11 min comme le montre La figure IV.17. (c). Par contre une diminution rapide du nombre des bactéries vivantes du témoin a été remarqué dans la stérilisation par la polarité positive atteint 0 % pour une durée de 3 min, figure IV.17. (d).

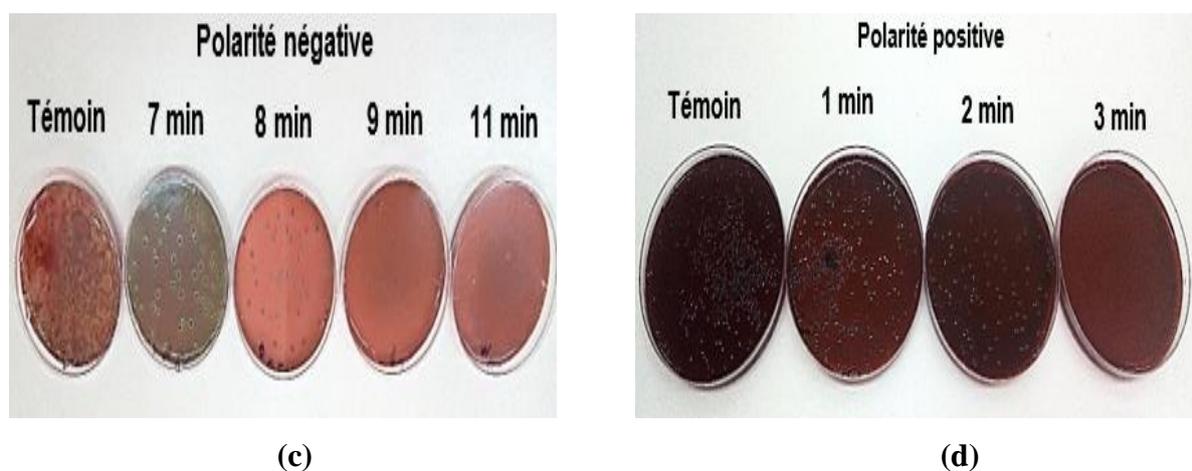


Figure IV.17. Photographie de la variation des colonies d'E. Coli en fonction du temps de traitement en polarités négative (c) et positive (d).

Cette réduction du nombre de bactéries serait due au temps de traitement long d'interaction des espèces chargées et/ou réactives avec la membrane extérieure de la cellule bactérienne. Ainsi qu'une bonne efficacité des espaces de la polarité positive que celle de la polarité négative [135]. Tandis que K. G. Kostov et al ont utilisés un plasma créé dans un réacteur DBD à l'air atmosphérique pur la stérilisation de surfaces contaminées par des bactéries de type E. Coli et de type Staphylococcus aureus, et ont montré qu'une tension appliquée de 20 kV à une fréquence de 60 Hz pendant 20 min est suffisante pour inactiver ces bactéries [123].

### IV.5.1.1 Effet de la température sur la charge :

Pour voir l'effet thermique sur la charge humide pendant la stérilisation, on a utilisé une sonde pour mesurer la température en fonction du temps de traitement de 12 min, la distance inter électrodes a été fixé par 30 mm, comme nous avons utilisé la polarité négative dans cette étude, Figure IV.18.

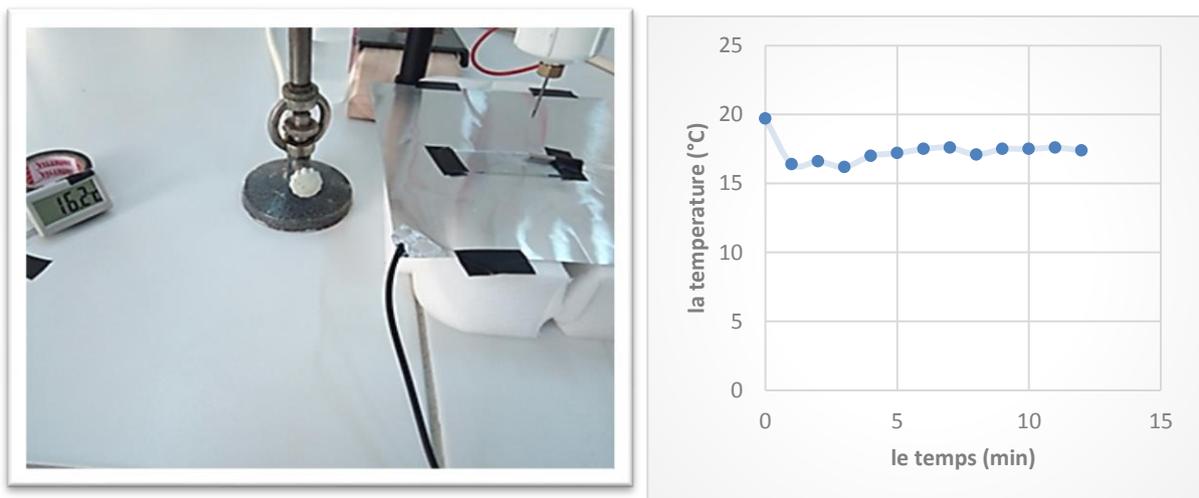


Figure IV .18. Variation de la température sur la charge bactérienne d'E. Coli en fonction du temps de traitement par la polarité négative.

La figure. IV .18 montre que durant le traitement des échantillons (lame préalablement contaminée par E. Coli), la température de la charge bactérienne varie entre 16.2° et 19.7°.

### IV.5.2. Effet de la haute tension appliquée

Afin d'étudier l'effet de la tension appliquée sur l'efficacité de stérilisation des plaquettes de verre préalablement contaminées par la bactérie E-coli en utilisant notre banc de décharge plasma en polarité négative, nous avons fixé l'espace entre les électrodes à 30 mm, les échantillons étant placés sur l'électrode inférieure. Les plaquettes de verre contaminées sont exposées ensuite durant 11 min à un plasma créé dans l'air à différentes valeurs de

tensions en polarité négative dans le domaine 13 ,17 et 21 kV. La densité optique de la solution contenant les microorganismes prélevés de la surface des plaquettes traitées par le plasma et placée dans la boîte Pétri, comme décrit dans le paragraphe précédent, est ensuite dénombrée.

La figure IV. 19 montre la variation du nombre des bactéries vivantes des échantillons traités par le plasma d'air en fonction de la tension appliquée en polarité négative. Une diminution du nombre des bactéries vivantes du témoin est observée dans la plage de tension explorée. Rappelons que plus la solution est concentrée, qu'elle absorbe plus de lumière et ainsi sa densité optique est plus élevée. Dans notre cas, la valeur de la densité optique de la solution bactérienne du témoin dans le tube d'essai est de 0.4, elle contient une grande concentration des microorganismes, comme le montre la figure IV.20.

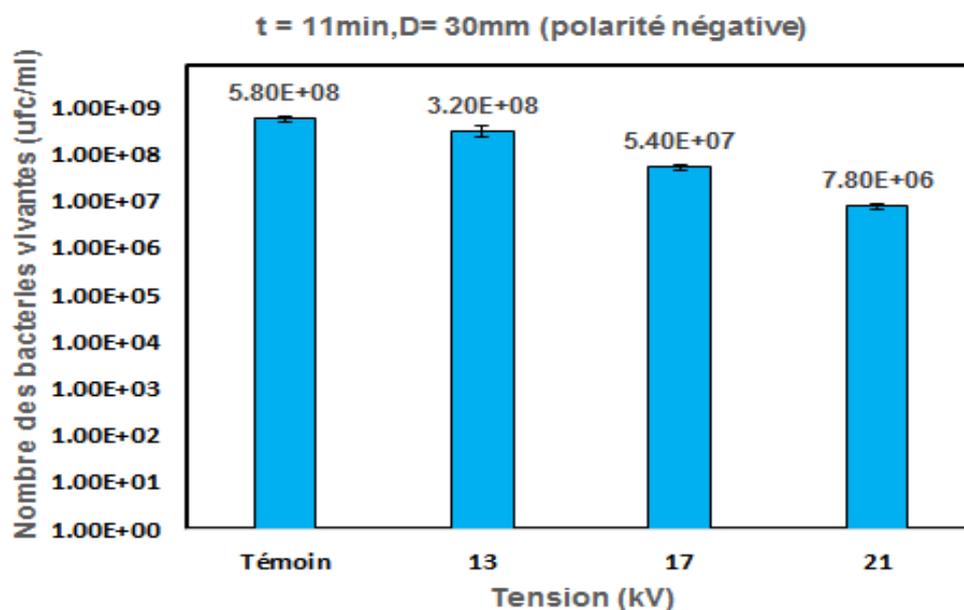


Figure IV. 19. Evolution du nombre des bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la tension appliquée en polarité négative.

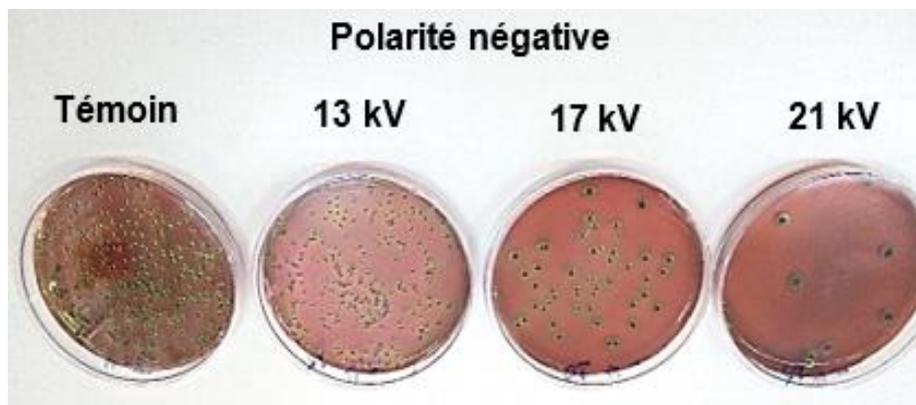


Figure IV. 20. Photographie de la variation des colonies d'E. Coli en fonction de la tension appliquée en polarité négative.

Histogramme de la figure IV.19 montre que la diminution la plus prononcée du nombre des bactéries vivantes du témoin est enregistrée entre 13 et 17 kV où sa valeur diminue de 73 %. Au-delà de cette plage de tension, la diminution du nombre des colonies devient moins prononcée, passant de la valeur de près de 63 % pour une tension appliquée de 21 kV. Cette forte diminution des colonies ayant été soumises au plasma dans une plage de tension 13-21 kV est due à une diminution de la concentration des cellules bactériennes restées viables sur la surface des lames de verre.

Il apparaît ainsi qu'une augmentation de la tension appliquée favorisera le développement des autres micro décharges (Streamers) sur l'échantillon en cours de traitement qui stimulerait la création plus des espèces chargées tout en augmentant l'accélération de ces derniers. Ces espèces chargées participent à la décontamination en produisant sous l'effet du champ électrique élevé, un bombardement plus intense des membranes externes des cellules bactériennes est en induisant ainsi un effet de la pulvérisation de la structure bactérienne [124,125].

### IV.5.3. Effet de la distance inter-électrodes

La figure IV.21 présente la caractéristique du courant d'électrode masse de polarité négative mesuré par un micro- Ampèremètre en fonction de la distance inter-électrodes, sachant que la tension appliquée est de 25 kV durant un temps de traitement de 11 min et en variant la distance entre 20 et 40 mm.

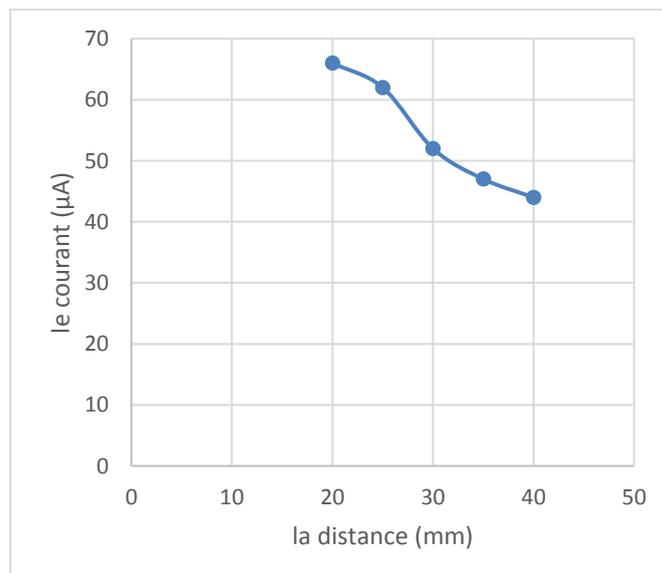


Figure IV. 21.Caractéristique courant -distance de la polarité négative.

On remarque que l'accroissement de la distance inter-électrodes provoque une diminution importante du courant de décharge.

L'effet de la variation de l'espace inter-électrodes dans lequel est créé la décharge plasma en polarité négative sur l'efficacité de stérilisation des échantillons est montrée sur la figure IV.22. Dans cette étude, nous avons fixé la tension à 25 kV et nous avons exposé les échantillons (plaquettes de verre préalablement contaminées par la bactérie E. Coli) au plasma créé dans l'air ambiant pendant une durée de 11 min, en faisant varier la distance inter-électrode de 25 à 40 mm. Nous avons ensuite dénombré les cellules bactériennes récupérées après chaque traitement par le plasma et ce pour chaque valeur de la distance inter-électrodes. Une augmentation de l'espace inter-électrodes de 35 à 40 mm conduit à une augmentation des colonies. Le nombre des bactéries vivantes du témoin diminue par 15% pour une distance inter-électrode de 40 mm, au voisinage de 30 % pour une distance inter-électrode de 35 mm et passe d'environ 0 % pour une distance inter-électrodes entre 25 et 30 mm, Comme le montre la figure IV.23.

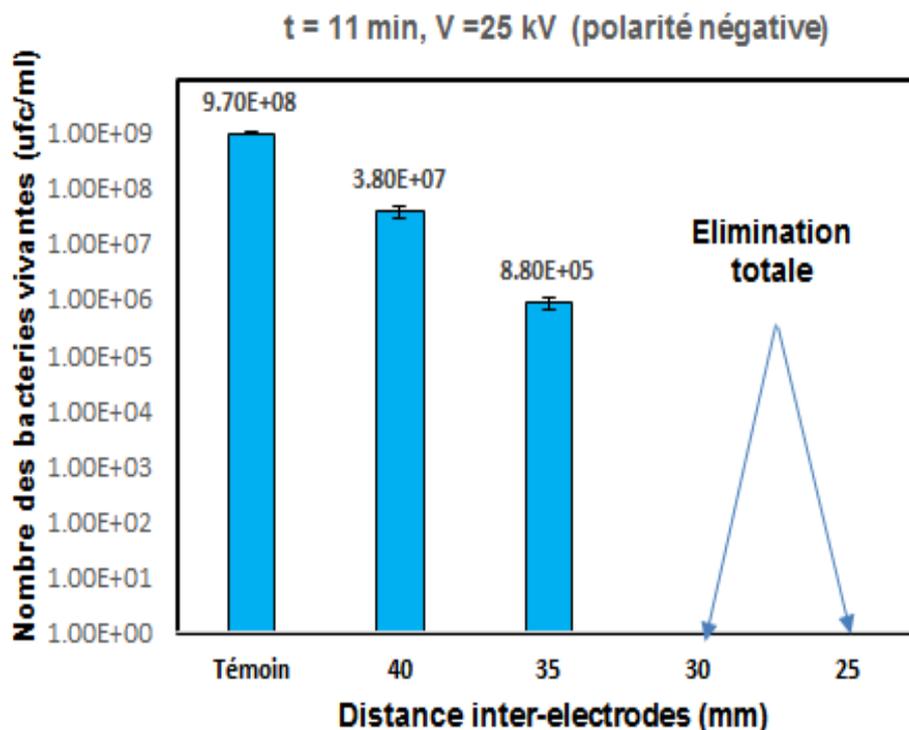


Figure IV .22. Evolution du nombre des bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la distance inter-électrodes en polarité négative.

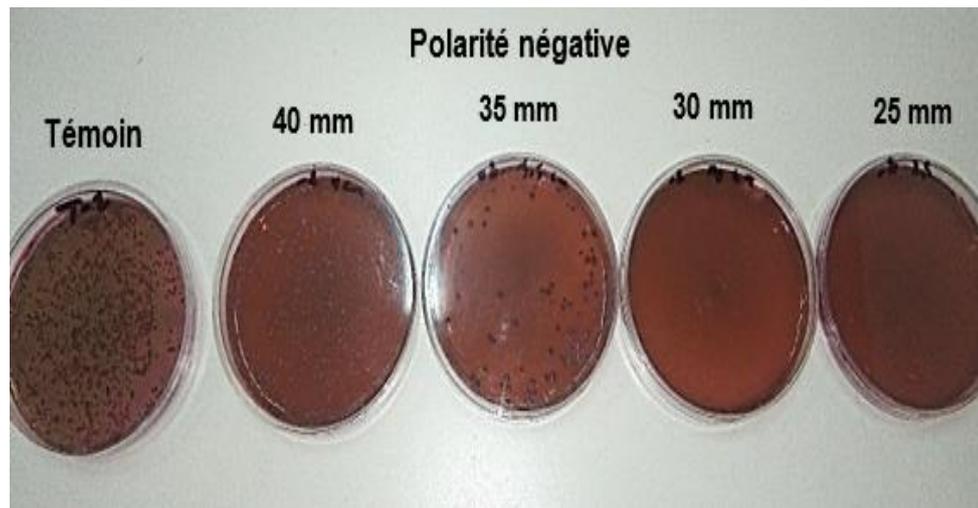


Figure IV .23. Photographie de la variation des colonies d'E. Coli en fonction de la distance inter-électrodes par la polarité négative.

Ce comportement est lié à une plus faible production de micro décharges dans l'espace inter-électrodes lorsque ce dernier augmente, à cause d'une augmentation du nombre de collisions entre les espèces du plasma eux-mêmes et/ou avec les molécules d'air dans l'espace de décharge. En effet, à pression atmosphérique, le libre parcours moyen des particules étant relativement faible comparé à celui des espèces créées dans une enceinte sous vide, plus la distance inter-électrodes est importante, plus la probabilité de collisions des espèces créées par la décharge plasma entre elles et/ou avec les molécules présentes dans l'air ambiant devient élevée. De plus l'augmentation de la distance inter-électrodes a pour effet de diminuer le champ électrique responsable de l'ionisation de l'air. Cela contribue aussi à la diminution de l'efficacité de la décharge dans l'inactivation des bactéries [43].

#### **IV. 5.4. Effet du temps sur la Bactérie *Bacillus subtilis***

La figure IV.24. (a) et (b) montrent l'effet de la variation du temps de traitement par plasma d'air sur l'efficacité de l'échantillon contaminé par la bactérie *Bacillus subtilis* en polarité négative et positive respectivement. Dans cette étude, nous avons fixé la distance inter électrode de 30 mm avec une tension appliquée de 25 kV pour des différentes durées de 20,30 et 40 min.

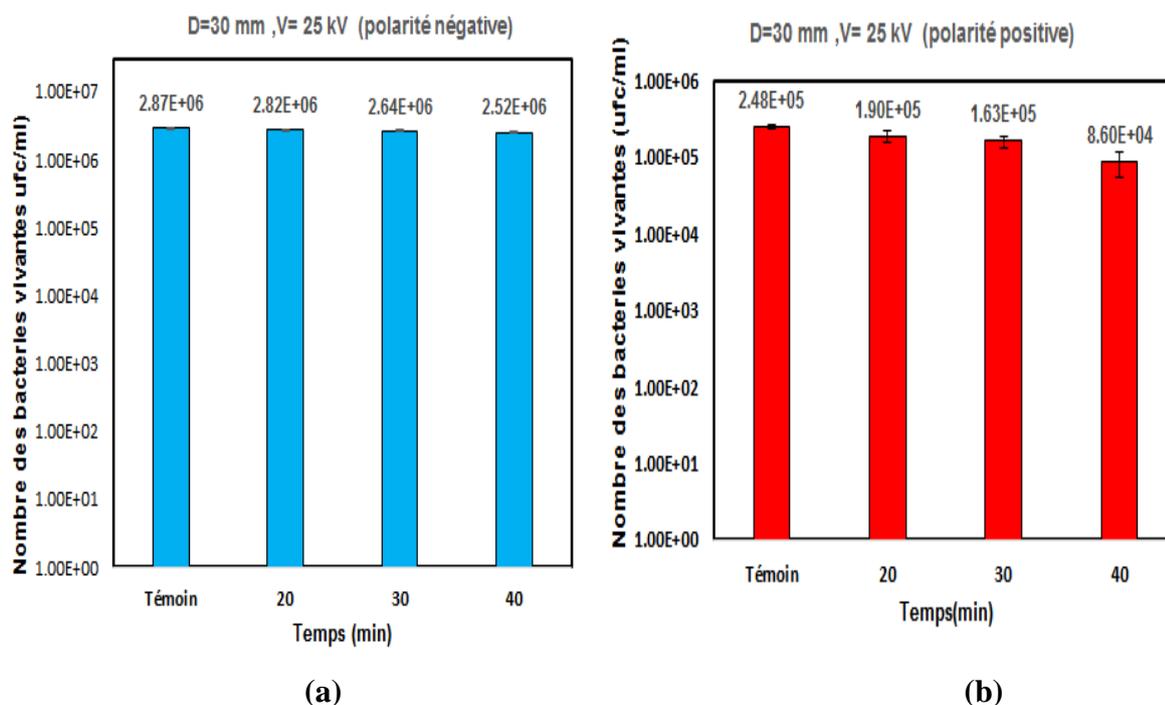


Figure IV.24. Evolution du nombre des bactéries vivantes du *Bacillus subtilis* en fonction du temps de traitement par la polarités négative (a) et positive (b).

La figure IV.25 (c), (d) présentent la photographie de la variation du nombre des colonies en fonction du temps de traitement par plasma. On remarque qu'après un temps de traitement plus long de 40 min, on a diminué seulement 12% du nombre des bactéries vivantes du témoin par la polarité négative et 65% par la polarité positive. Cette faible diminution peut être due à la haute sporulation et résistance de la bactérie *Bacillus subtilis* et sa physiologie.

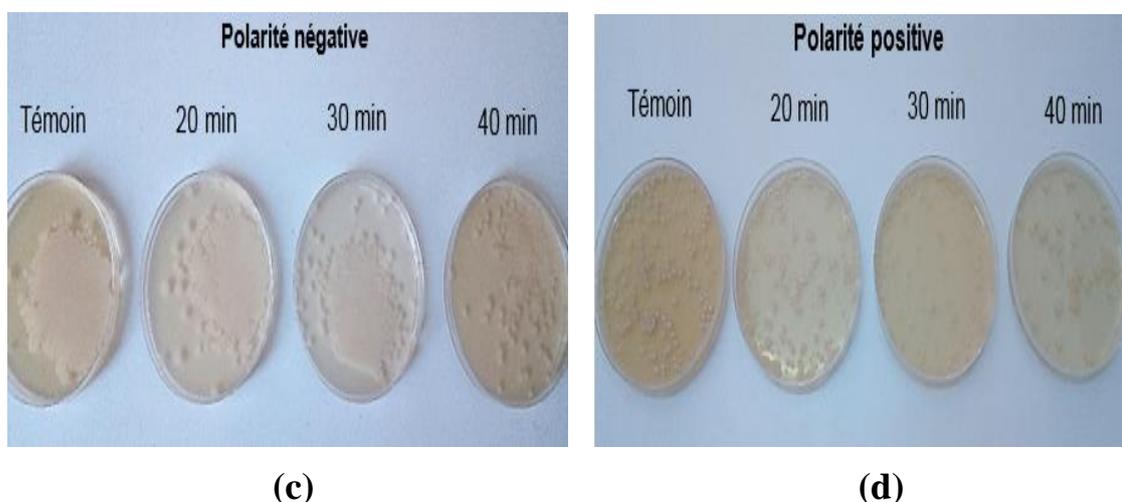


Figure IV.25. Photographie de la variation des colonies du *Bacillus subtilis* en fonction du temps de traitement par la polarité négative (c) et positive (d).

### IV.5.5. Effet de la polarité

La figure IV.26 montre une comparaison entre le nombre des colonies vivantes après l'exposition du plasma de la polarité négative et la polarité positive sur un support inorganique (lame en verre contaminée par E. coli). Dans ce test, on a exposé l'échantillon par plasma d'air créé à pression atmosphérique pour les mêmes conditions et les mêmes paramètres des deux types de polarités tels que, la distance inter-électrodes 30 mm, la tension appliquée 25 kV durant 6 min.

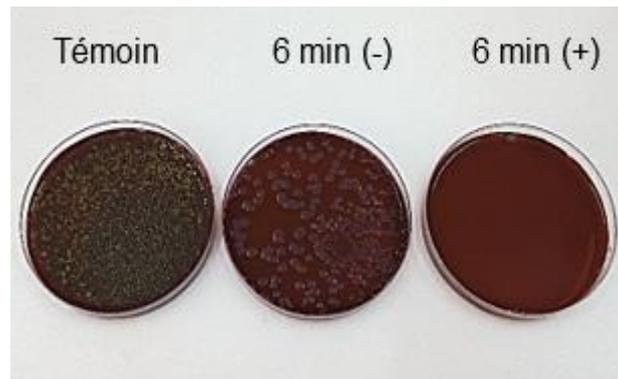


Figure IV.26. Comparaison entre les polarités négative et positive après 6 min de traitement

Donc, il est clair que les espèces chargés ou réactives responsables aux stérilisations sont légèrement plus efficaces par la polarité positive, ce qui confirme les résultats trouvés ci-dessus.

### IV. 5.6. Stérilisation de la surface

La figure IV.27 représente une photographie de la stérilisation d'E-coli sur la surface d'un milieu gélosé EMB coulé dans des boîtes de Pétri traitées par plasma d'air à pression atmosphérique par les deux polarités afin de déterminer la zone de traitement.

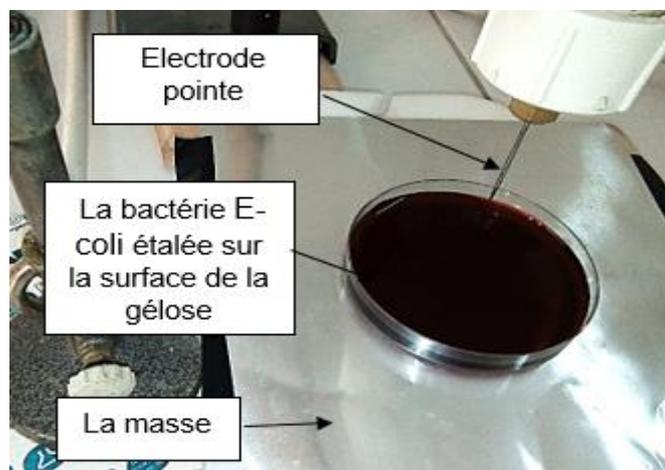


Figure IV.27. Photographie de stérilisation d'E. Coli sur la surface de la gélose.

L'interaction du plasma / bactéries sur la surface de la gélose étalée par E. Coli en polarité négative est plus clair et uniforme, le champ électrique forme une zone bien définie de stérilisation d'un diamètre de 20 mm Figure IV.28. (e), tandis que le phénomène d'interaction par la polarité positive est un peu compliquée, car le champ électrique non uniforme permet d'éliminer le pigment extérieur de la bactérie E. Coli sans stérilisation de la surface de la zone de la gélose. Figure IV.28. (f) .

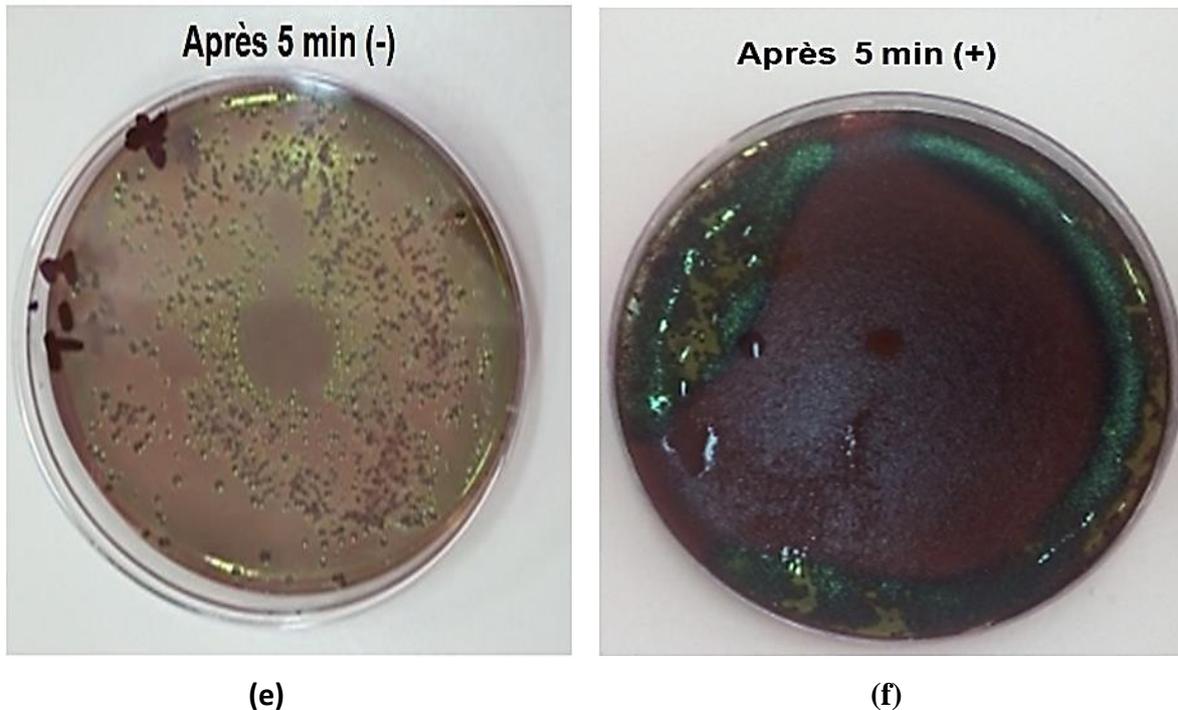


Figure IV.28. Photographie du champ de stérilisation sur la surface après 5 min de traitement en polarités négative (e) et positive (f).

## IV.6. Conclusion

Dans ce chapitre, et après avoir monté le dispositif expérimental que nous avons réalisé pour le traitement de microorganismes par un plasma créé à pression atmosphérique, nous avons rapporté les résultats expérimentaux sur l'inactivation des bactéries par le plasma froid obtenus. Ainsi nous avons déterminé l'efficacité d'inactivation du plasma créé par deux types de polarités à travers la détermination de la cinétique d'inactivation d'une bactérie à Gram (-) et l'autre à Gram (+) par une étude paramétrique.

Aussi, les paramètres optimaux de stérilisation peuvent être énumérés comme suit :

- 1- Un temps de stérilisation de 11 min pour la polarité négative et de 3 min seulement pour la polarité positive.
- 2- Une tension de 25 kV
- 3- Une distance inter-électrodes de 30 mm

- 4- Une stérilisation du substrat contaminé par des microorganismes de type E-coli a été obtenue pour une durée d'exposition au plasma de 11 min et il faut un temps plus important (plus de 40 min) pour la stérilisation des substrats contaminés par la bactérie *Bacillus subtilis*.

## *Chapitre V*

*Stérilisation par la décharge*

*couronne en courant*

*alternatif : configuration*

*Torche à plasma*

## **V.1. Introduction**

Une méthode de stérilisation a été utilisée dans ce chapitre en utilisant une torche à plasma que nous avons testé sur des microorganismes de type E-coli à Gram (-) et Bacillus subtilis à Gram (+). Des études paramétriques ont été effectuées pour voir l'efficacité de ce dispositif à plasma tels que le temps de stérilisation, la tension d'alimentation, le débit d'air et la distance entre la torche et l'échantillon à traiter afin de déterminer les conditions optimales permettant l'obtention d'un meilleur effet germicide pour utilisation de ce procédé.

## **V.2 Réalisation du dispositif expérimental du plasma**

Le plasma froid atmosphérique peut être présenté sous différentes formes tels que les décharges à barrière diélectrique (DBD) [126], les décharges couronnes [127] et les plasmas jets (APPJs pour Atmospheric Pressure plasmas Jets) [128]. Ils sont générés dans les conditions ambiantes tels que la pression atmosphérique, basse température et on utilise l'air comme gaz de travail sans recours à des équipements sous le vide utilisant des gaz plus chers comme l'hélium ou l'argon et permettant la création à pression atmosphériques des espaces réactifs hautement germicides. A cet effet, un intérêt a été porté ces dernières années de ce genre de plasmas dans la stérilisation des dispositifs biomédicaux et notamment aux plasmas à décharges couronnes qui sont obtenus en appliquant une haute tension de quelques kV à des fréquences de quelque kHz entre deux électrodes à plusieurs configurations.

Nous nous sommes intéressés à la réalisation d'un dispositif à plasma à pression atmosphérique qui sera ensuite utilisé pour développer une chambre de stérilisation appliquée au biomédical. Le dispositif que nous allons décrire dans le paragraphe suivant est constitué de deux parties essentielles : une torche à plasma à décharge couronne et un générateur haute tension fonctionnant en haute fréquence.

### **V.2.1. Torche à plasma**

La torche de stérilisation que nous avons réalisée est composée de deux électrodes :

L'électrode couronne mobile constituée de quatorze aiguilles pointes formant un cercle de 6 mm de diamètre centrées dans une électrode masse de forme cylindrique de 15 mm de diamètre raccordé avec un tube isolant de 100 mm de longueur pour la protection d'une part et afin d'orienter la circulation d'air à l'intérieur de la torche d'autre part. Les deux

électrodes configurées de telle sorte que la décharge couronne occupe tout l'espace inter électrodes circulaire comme le présente la figure V.1.

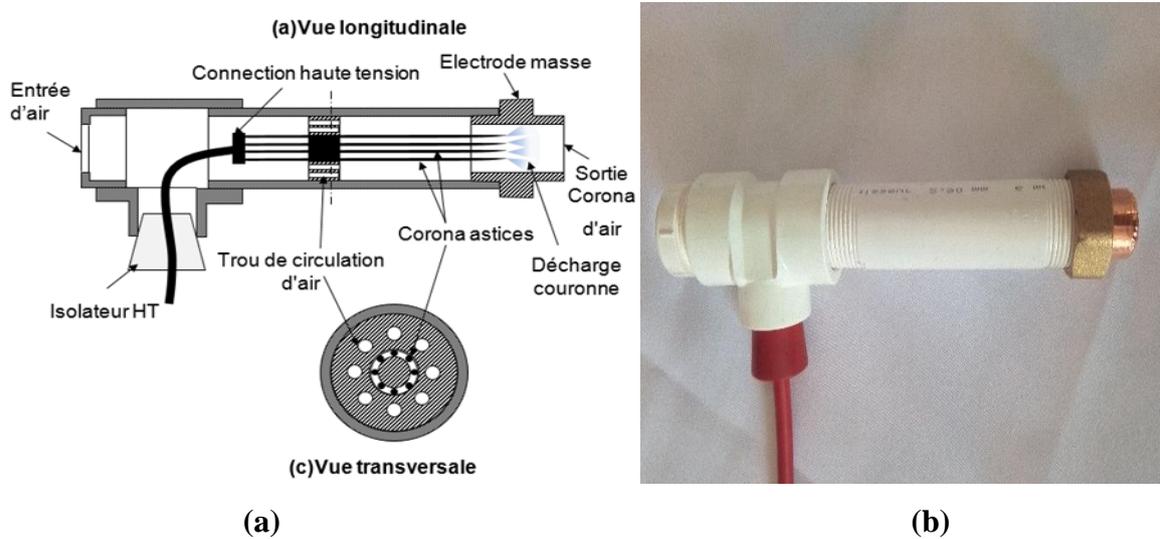


Figure V.1. Schéma du torche réalisée (a) et sa photographie (b) en absence de la décharge couronne.

Le plasma créé dans la torche est un plasma de décharge couronne en alternatif, la figure V.2 montre la décharge initiée depuis les pointes vers la paroi cylindrique de la torche qui fait office de masse. Le vent ionique généré dans la torche est éjecté vers l'extérieur d'une manière spontanée et qui sera utilisé pour la stérilisation.

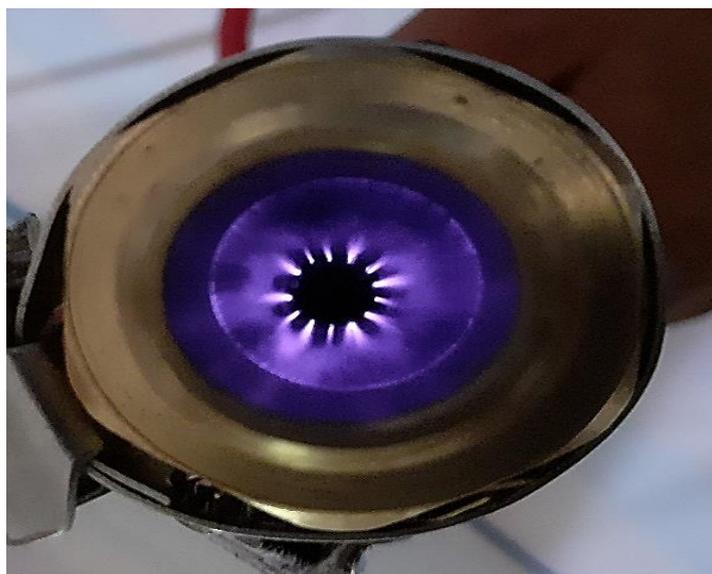


Figure V.2. Photographie de la source du plasma utilisée dans la stérilisation.

## V.2.2. Le générateur haute tension

Le fonctionnement du plasma à pression atmosphérique nécessite une excitation alternative ou impulsionnelle qui dépasse parfois le kilovolt [129]. Il est clair que les plasmas générés par des excitations impulsionnelles sont plus efficaces et plus puissants avec une consommation énergétique faible comparés à ceux générés par des excitations sinusoïdales [130 -132]. Les valeurs de tension très élevée peuvent créer des courtes impulsions répétitives qui son très efficaces dans la production des d'espaces plasma chargés et actifs chimiquement tels que les ions, les électrons, les radicaux, l'ozone ainsi que d'autres espaces énergétiques [132].

Dans ce travail nous avons réalisé un générateur haute tension capable de générer une tension de 11.5 kV avec une fréquence de 17 kHz. Nous avons utilisé un diviseur de tension adéquat (1/20000) pour la mesure de la tension de la décharge et une résistance non inductive en série avec la masse pour la mesure du courant de la décharge, nous avons pu ainsi relever le chronogramme courant/tension de la décharge avec un oscilloscope à mémoire. On observe que la tension et le courant de la décharge ont une forme impulsionnelle due principalement à la polarité positive. La figure V.3 montre la forme du Signal de sortie haute tension AC et le courant mesuré.

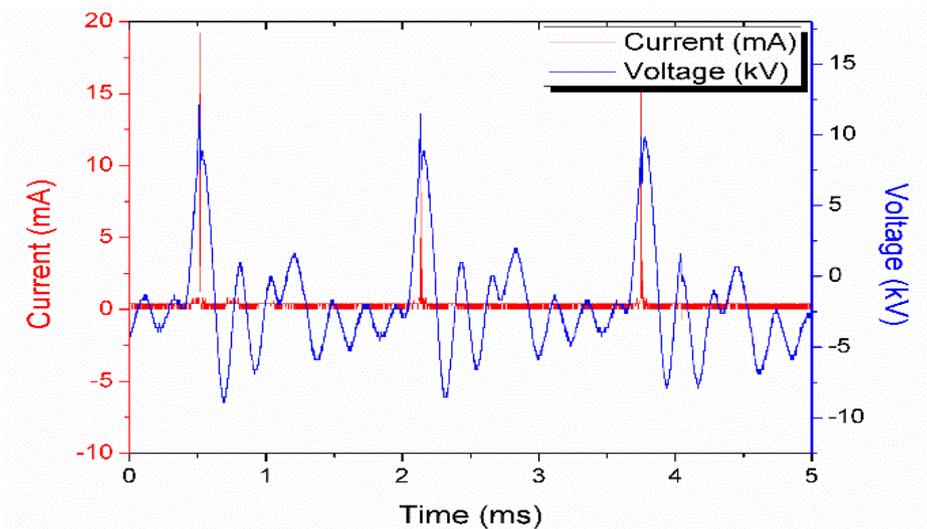


Figure V.3. Forme de signal de sortie haute tension et du courant

L'alimentation haute tension réalisée est basée sur le circuit de la bobine de Ruhmkorff [134]. L'idée principale consiste à alimenter une bobine par un courant continu qui sera interrompu périodiquement par un interrupteur.

La tension qui apparaît aux bornes de la bobine est donnée par la formule :

$$U_p = R_p \cdot I_p + L_p \frac{dI_p}{dt} - e \quad (V.1)$$

Où:

$U_p$ : Tension aux bornes de la bobine  $P$ .

$R_p$ : Résistance du fil de la bobine.

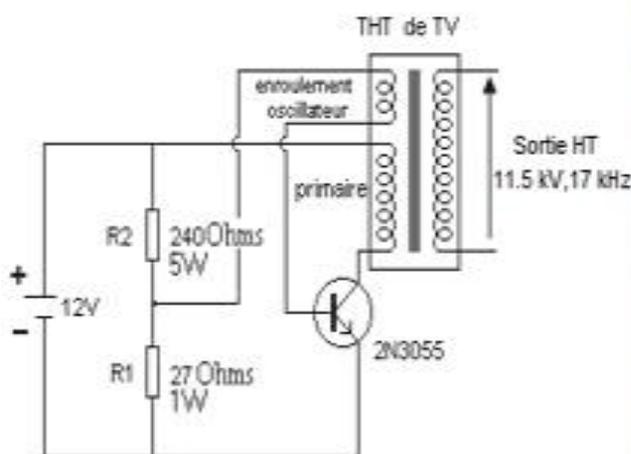
$I_p$ : Courant parcouru la bobine.

$L_p$ : Inductance de la bobine.

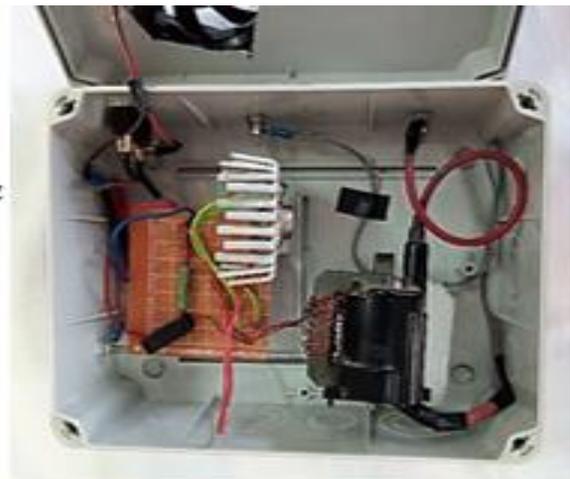
$e$  : Force contre électromotrice f.c.é.m.

Lors de l'interruption du courant dans la bobine le terme  $\frac{dI_p}{dt}$  tend vers l'infini. C'est-à-dire qu'on aura une surtension  $U_p$  très élevée.

Dans le schéma de la figure V.4 (a), nous avons utilisé comme bobine de Ruhmkorff le primaire d'un transformateur en ferrite. L'interrupteur utilisé est un transistor bipolaire commandé par un auto oscillateur composé d'un enroulement oscillateur et un diviseur de tension. Les impulsions haute tension générées aux bornes du primaire sont amplifiées d'avantage au secondaire afin d'obtenir des impulsions haute tension de l'ordre 11.5 kV avec une fréquence de 17 kHz à la sortie.



(a)



(b)

Figure V.4. (a) Schéma d'alimentation haute tension, (b) photographie du générateur réalisé

### V.3. Etude paramétrique du plasma sur les bactéries

Notre but est l'étude de l'effet des paramètres de la décharge plasma créée sous une pression atmosphérique d'air par la torche sur l'efficacité d'inactivation des bactéries E. Coli et Bacillus subtilis, à savoir le temps de traitement, la valeur de la tension appliquée, le débit d'air à l'entrée de la torche et la distance entre la torche et l'échantillon à traiter.

#### V.3.1. Protocol expérimental

Concernant l'étude de l'inactivation bactérienne, une suspension bactérienne avec une densité optique entre 0.4 et 0.5 mesurée par le spectromètre (Figure V.5) est préparée à partir d'une souche de bactérie E. Coli à gram (-). Une même quantité (0.1ml) a été déposée sur plusieurs lames de verre (70x20x2mm<sup>3</sup>) stérilisées à l'aide d'un four de Pasteur. Pour chaque expérience, nous plaçons deux échantillons (lame de verre contaminées) par une goutte de la solution bactérienne, le premier échantillon est exposé directement sous le plasma d'air (torche) créé à pression atmosphérique durant différentes périodes en utilisant une alimentation haute tension 11.5 kV de fréquence 17 kHz (Figure V.6)., le deuxième échantillon non traité posé comme témoin. Le débit du vent ionique dégage le flux plasmagène vers la goutte de la solution bactérienne liquide d'E. Coli. Après le traitement, plusieurs dilutions de la charge bactérienne traitée par plasma sont effectuées (jusqu'à 10<sup>-6</sup>), ensuite à partir de chaque dilution, des échantillons sont prélevés dans des boîtes de pétri et sont posés dans un incubateur à 37° pendant 24 h.



Figure V.5. Photographie de la densité optique mesurée par le spectromètre.

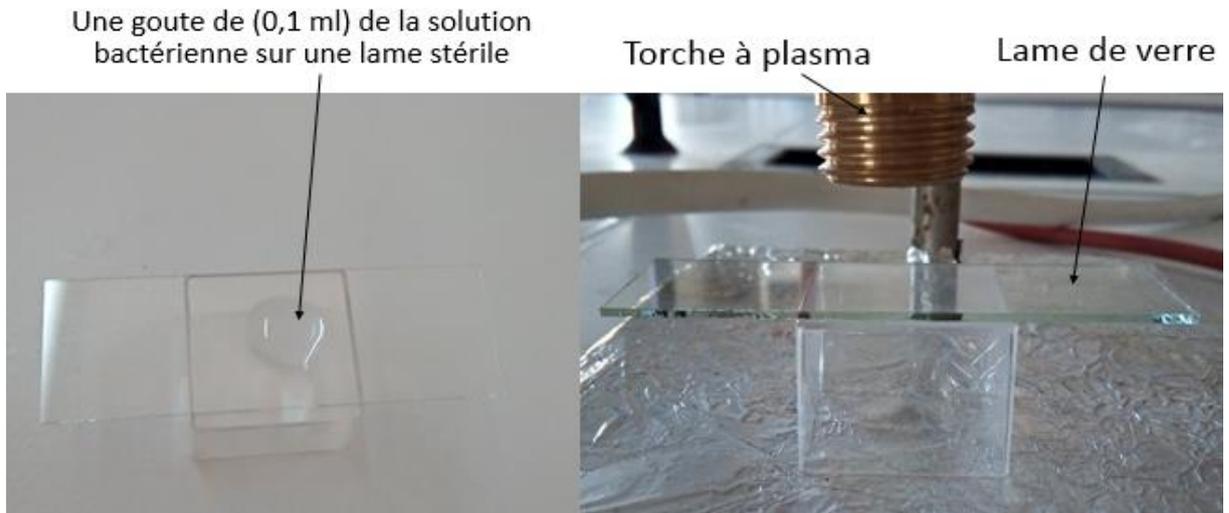


Figure V.6. Photographie du dépôt de l'échantillon (lame de verre) sous la torche de stérilisation.

### V.3.2. Installation expérimentale

La figure V.7 montre une photographie du système de stérilisation par plasma réalisé au laboratoire LSTE.

La torche est fixée par une pince sur un support afin qu'on puisse la déplacer verticalement. L'oscilloscope est relié au système de mesure à travers des sondes basse tension. Ce qui permet l'acquisition des signaux de tension et de courant.

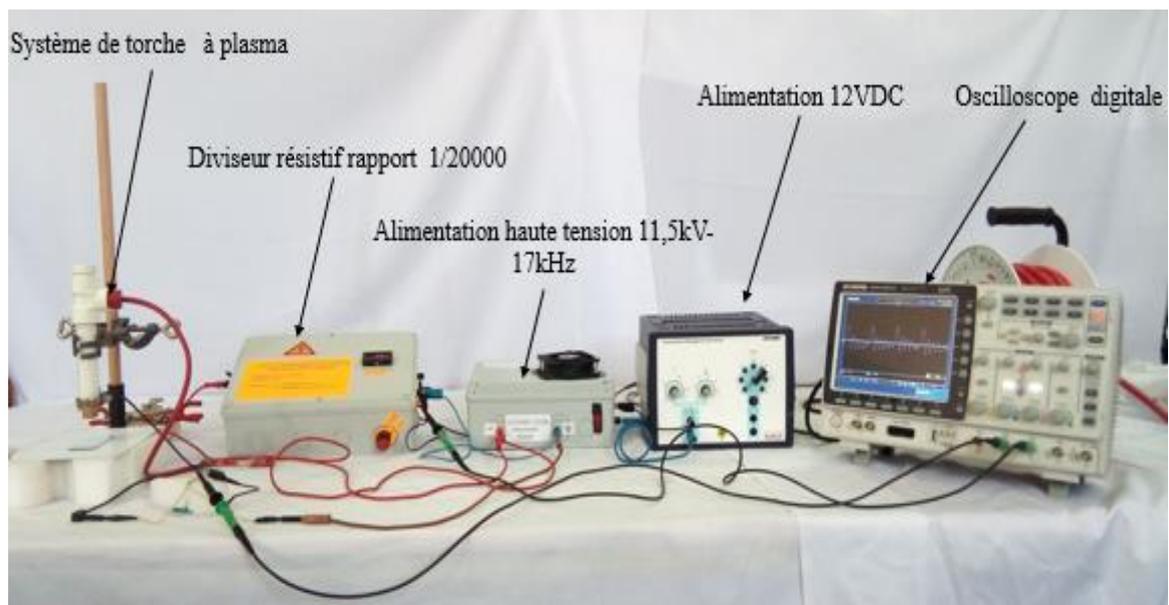


Figure V.7. Installation expérimentale du système de stérilisation réalisé.

### V.3.3. Effet du temps de traitement

Les figures V.8 (a) et (b) montrent l'augmentation de la durée de traitement par plasma créé dans l'air à pression atmosphérique, sur le nombre des bactéries *E. Coli* et *Bacillus subtilis* vivantes prélevées après leur exposition par plasma. Dans cette étude, nous avons fixé la distance entre la torche et l'échantillon à 12 mm, alors que la tension de la décharge plasma a été gardée constante égale à 11.5 kV pour les deux types de bactéries, la variation du temps de traitement entre 3 et 6 min pour *E. Coli* et 10 et 20 min pour *Bacillus subtilis*. Nous remarquons que le nombre des bactéries vivantes a diminué fortement après 4 mn d'exposition au plasma torche. Ainsi une réduction de 100 % du nombre des bactéries vivantes du témoin est observée pour un temps d'exposition au plasma de 5 min pour la bactérie *E. Coli* (figure V.9(c)), par contre une grande résistance a été enregistrée après 10 min de traitement par la bactérie *Bacillus subtilis*. Ainsi une réduction de 99.98% de nombre des bactéries de témoin après 20 min de traitement (figure V.9(d)).

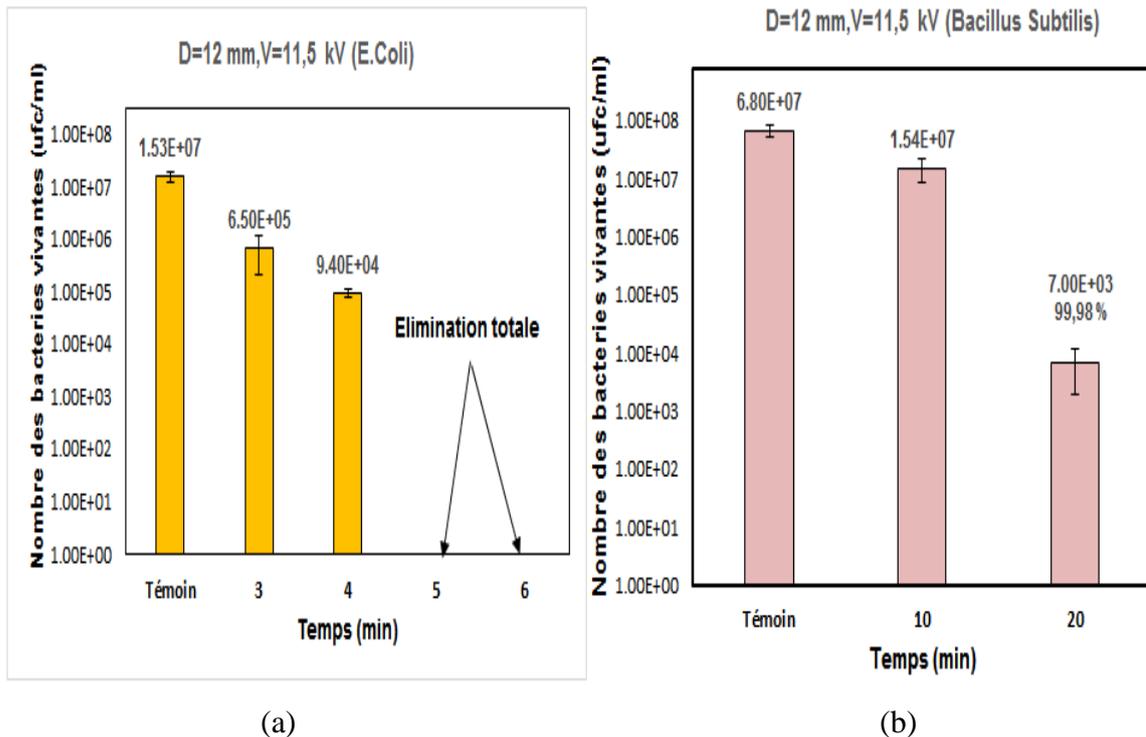


Figure V.8. Evolution du nombre des bactéries vivantes d'*E. Coli* (a) et *Bacillus subtilis* (b) en fonction du temps de traitement par plasma

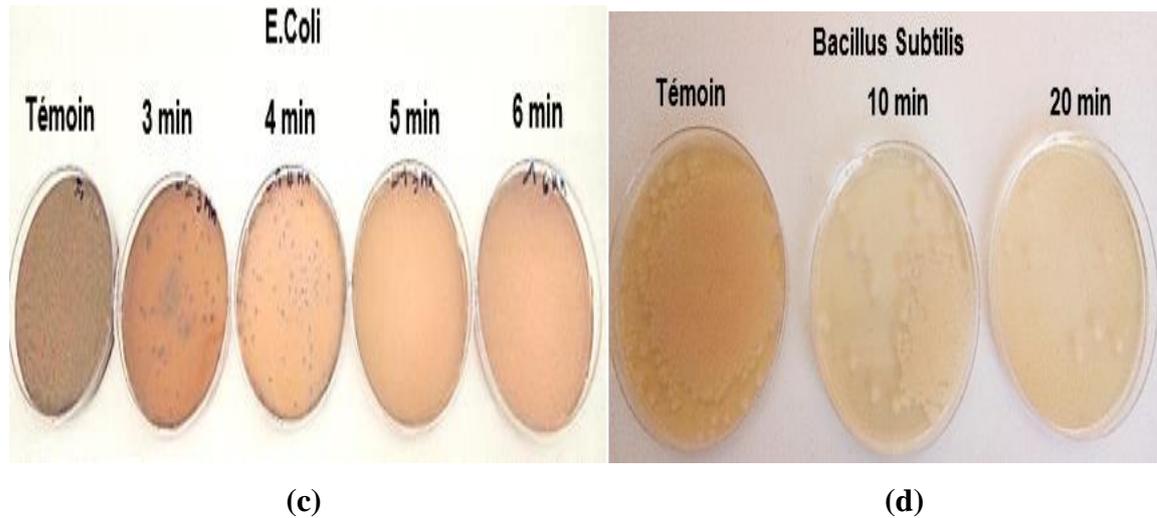


Figure V.9. Photographie de la variation des colonies d'E. Coli (c), Bacillus subtilis (d) en fonction du temps de traitement par plasma

Cette forte diminution des bactéries vivantes peut être expliquée par le fait qu'une augmentation de temps d'exposition de l'échantillon contaminé au plasma torche donne suffisamment aux espèces actives des plasmas pour interagir chimiquement et/ou physiquement avec la structure bactérienne, conduisant à leur destruction totale. Cette assertion est supportée par plusieurs résultats des recherches effectués par K. G. Kostov et al [135]. D'autre part la consommation des éléments chimiques constituent les bactéries par les espèces réactives créées dans le plasma [136,137]. Toutefois certaines études ont rapporté qu'un temps d'exposition plus long avec une concentrations d'ozone importante sont nécessaire pour achever l'inactivation des microorganismes [138]. La différence du temps de traitement entre les deux bactéries est due généralement à la différence dans leurs structure cellulaire respectivement et notamment dans leur membrane externe, elle est plus résistante pour la bactérie Bacillus subtilis à Gram (+).

### V.3.4. Effet de la haute tension appliquée

Pour étudier l'effet de la haute tension appliquée, les bactéries E. coli ont été exposées au plasma de la décharge couronne créé dans l'air pour trois différentes valeurs de tension 4.5 kV, 8.5 kV et 11.5 kV. Les autres paramètres ont été fixés, tel que le temps de traitement de 5 min et la distance entre la torche et la lame contaminée à 20 mm

La Figure V.10 présente la variation des nombres des bactéries vivantes de l'échantillon traité par plasma torche créé à une pression atmosphérique d'air en fonction de la haute tension appliquée après incubation des échantillons qui permet aux bactéries de se multiplier et ainsi de voir s'il y a eu lieu une stérilisation ou non. Une diminution des nombres de bactéries vivantes du témoin d'environ 38 % sous une tension appliquée de 11.5 kV.

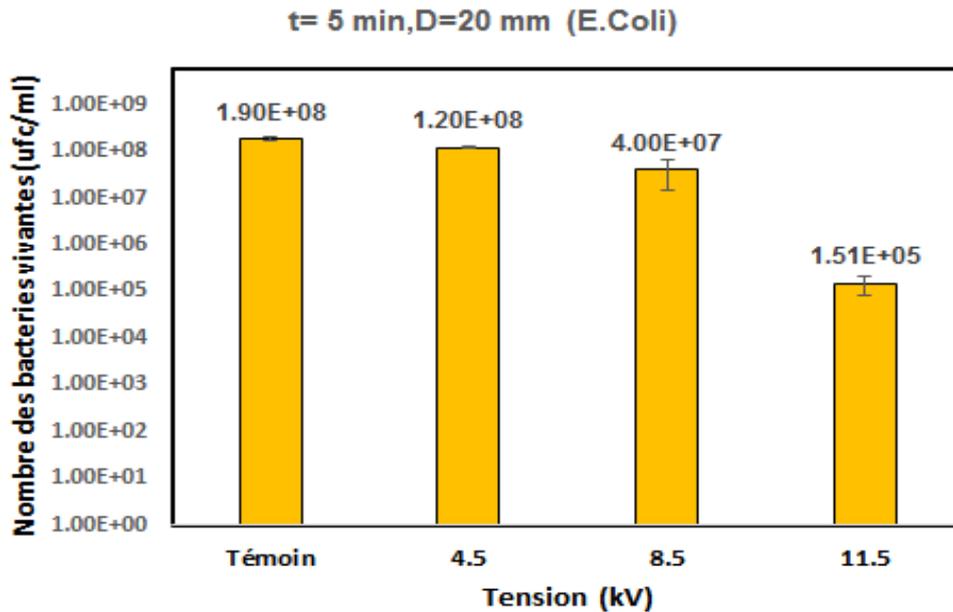


Figure V.10. Evolution du nombre de bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la haute tension appliquée

Il est clair que l'augmentation de la tension d'alimentation affecte positivement sur la stérilisation d'échantillon, cela revient au fait que plus la tension augmente plus le plasma devient énergétique et réactif. En effet, les décharges à plasma créées dans l'air favorisent la création de plusieurs espèces chimiquement réactives comme l'ozone ( $O_3$ ), les radicaux hydroxyles (OH), l'oxygène atomique et d'autres espèces moléculaires [139,140].

### V.3.5. Effet de la distance entre la torche et l'échantillon

Dans ce test, nous avons exposé les bactéries E. Coli au plasma pour différentes distances entre la torche et les échantillons avec deux essais : torche fermée et torche ouverte et sans injection de l'air :

#### V.3.5.1. Torche ouverte

La figure V.11 présente le système utilisé pour la stérilisation des échantillons (lames contaminées par E. coli) par une torche ouverte en haut sans injection d'air.

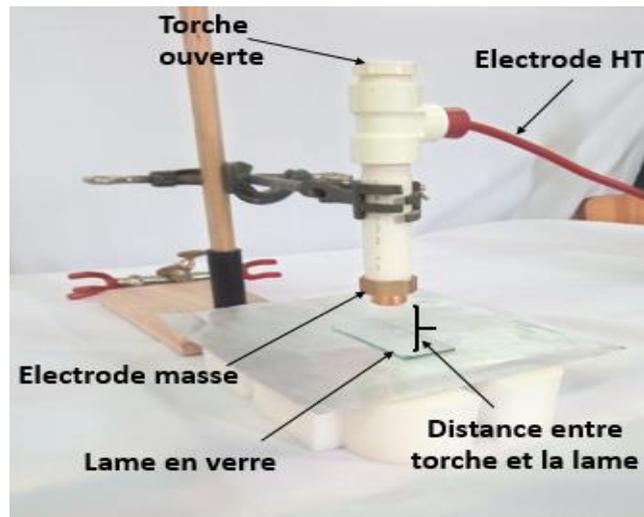


Figure V.11. Photographie de dispositif de stérilisation par une torche ouverte sans injection d'air

L'effet de la variation de la distance entre la torche (ouverte) et l'échantillon à traiter sur l'efficacité de la stérilisation est présentée sur la figure V.12. Dans cette étude, nous avons fixé la tension appliquée à une valeur de 11.5 kV et nous avons exposé les échantillons (lames en verre préalablement contaminées par E. coli) au plasma créé dans l'air par la torche pendant une durée de 5 min en faisant varier la distance entre 10 et 25 mm. Nous avons ensuite dénombré les colonies des boîtes de Pétri de chaque distance après le traitement par plasma torche figure V.13.

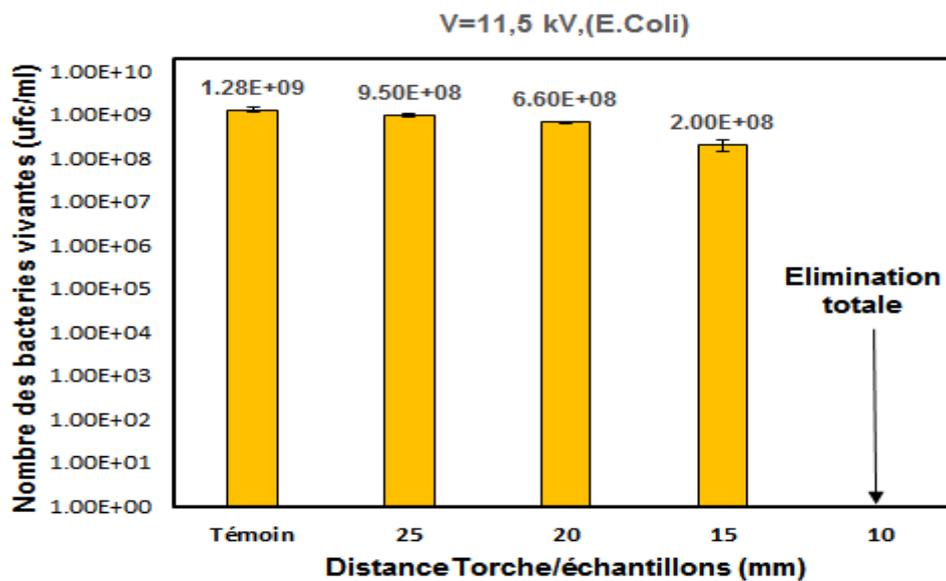


Figure V.12. Evolution du nombre de bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la distance torche/échantillons (torche ouverte)

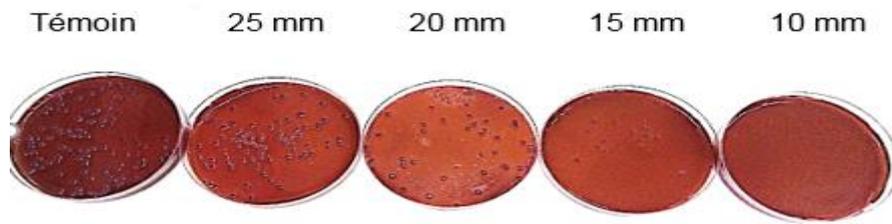


Figure V.13. Photographie de la variation des colonies d'E. Coli en fonction de la distance torche/échantillons (torche ouverte)

On constate que l'augmentation de la distance influe négativement aussi sur le nombre de bactéries. On remarque aussi que la distance de 10 mm avec une durée de 5 min achève la stérilisation totale de  $1.2 * 10^9$  (ufc/ml) avec une torche ouverte. En effet, à la pression atmosphérique plus la distance entre la torche et l'échantillon est importante plus l'arrivée du vent ionique à la lame contaminée est très faible, ce phénomène est dû à la collision multiple entre les espèces créées par la décharge plasma entre elles et /ou avec les molécules présentes dans l'air ambiant (oxygène, azote ...) devient élevée ce qui diminue fortement l'énergie des espèces créées par la torche à plasma et ne leur permet pas de participer à l'ionisation de nouvelles espèces, ce qui diminue la probabilité d'interaction des membranes des cellules bactériennes avec ces espèces .

### V.3.5.2. Torche fermée

La figure V.14 présente le système utilisé pour la stérilisation des échantillons (lames contaminées par E. coli) par une torche fermée en haut.

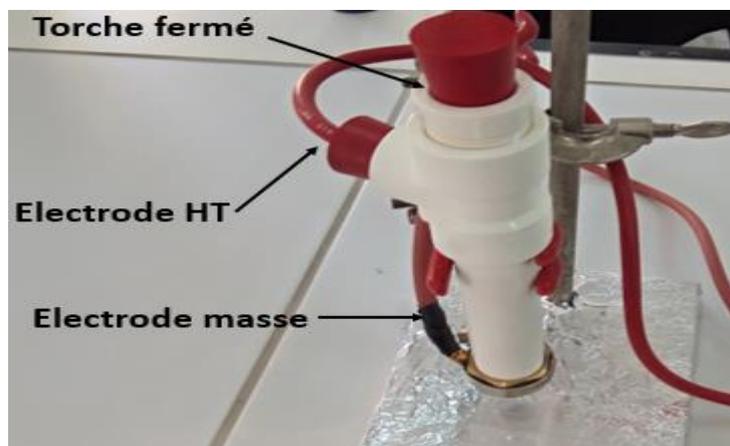


Figure V.14. Photographie de dispositif de stérilisation par une torche fermée

La Figure V.15 présente l'effet de la variation de la distance entre la torche (fermé) et l'échantillon à traiter sur la stérilisation des échantillons. Lors de ce test, on garde la tension appliquée 11.5 kV avec un durée de 5 min et on varie la distance entre 4 et 20 mm.

On remarque que la distance de 4 mm avec une durée de 5 minutes termine la stérilisation totale de  $8.9 \times 10^8$ (ufc/ml) avec une torche fermée (Figure V.16).

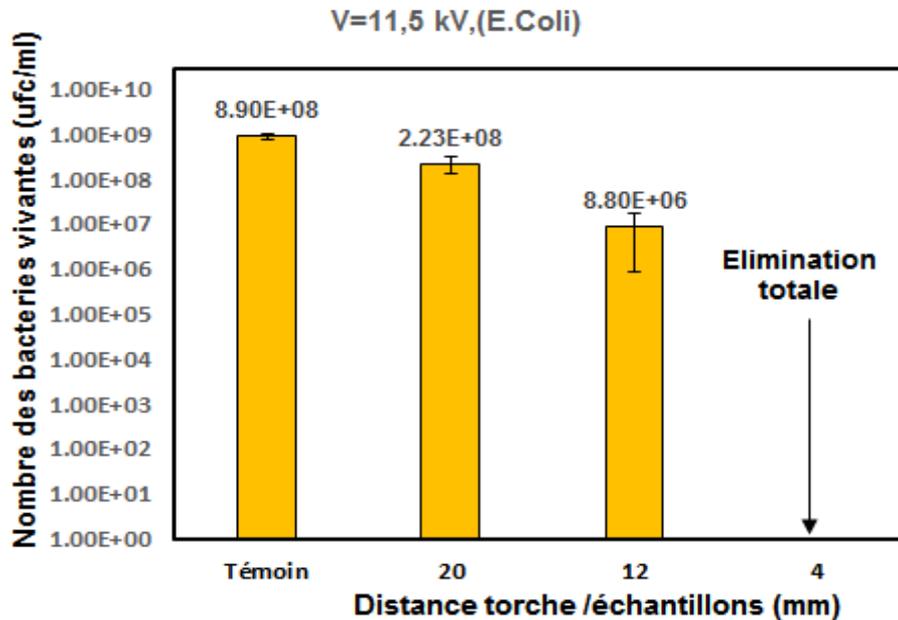


Figure V.15. Evolution du nombre de bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la distance torche/échantillons (torche fermé)

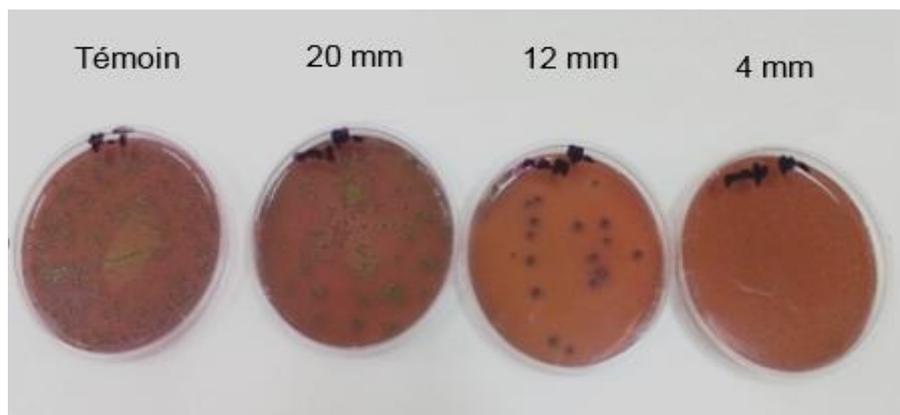


Figure V.16. Photographie de la variation des colonies d'E. Coli en fonction de la distance torche/échantillons (torche fermé)

La configuration de la torche ouverte est meilleure que celle fermée, en effet si on ferme complètement l'entrée d'air dans la torche, il faudra rapprocher d'avantage la torche à l'échantillon contaminé afin d'éliminer les microorganismes.

### V.3.6. Effet du débit d'air

La figure V.17 montre l'installation utilisée pour l'injection d'air à l'entrée de la torche. On utilise une pompe à vide afin de respirer et refouler l'air pur (non contaminé) dans la torche à travers un débitmètre maximum 8 (l/min) qui permet de mesurer la variation du débit dans la torche.

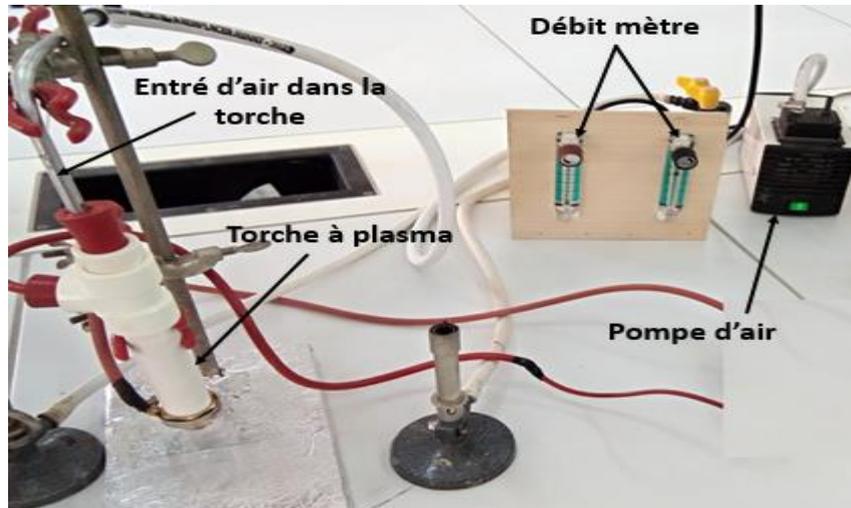


Figure V.17. Photographie de l'installation utilisée pour l'injection d'air à l'entrée de la torche

L'effet de la variation de débit d'air sur l'efficacité de la stérilisation des échantillons par plasma torche à pression atmosphérique est présenté sur la figure V.18. Nous nous sommes intéressés dans cette étude de savoir si ce débit du flux gazeux influe sur la stérilisation d'E. Coli. On a fixé la tension à 11.5 kV, la distance entre la torche et l'échantillon est de 12 mm et on varie le débit d'air entre 2 et 8 m/l durant 5 min.

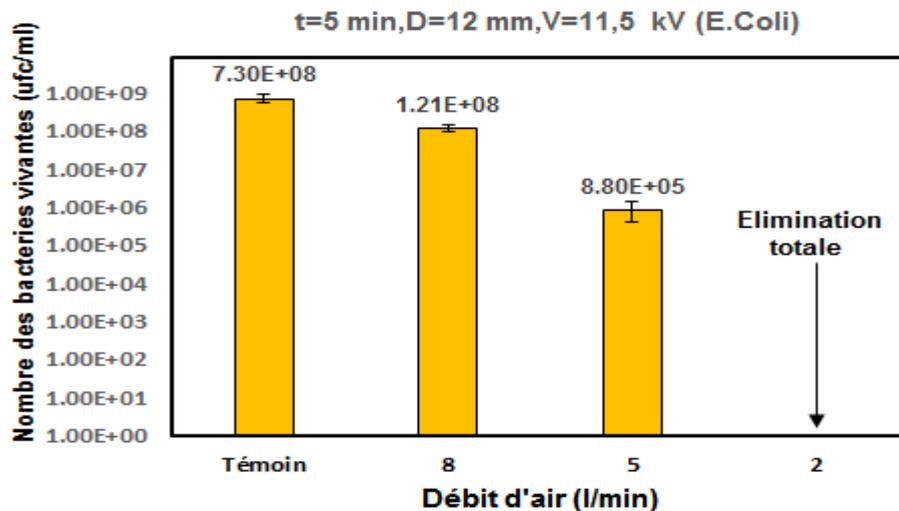


Figure V.18. Evolution du nombre des bactéries vivantes d'E. Coli en fonction de la débit d'air

D'après les résultats, on constate que l'accroissement du débit affecte négativement sur le nombre de bactéries. En effet, un faible débit de 2 l/min avec une durée de traitement de 5 min complète la stérilisation totale de  $8 \times 10^8$  (ufc/ml) de la charge bactérienne du témoin (Figure V.19).

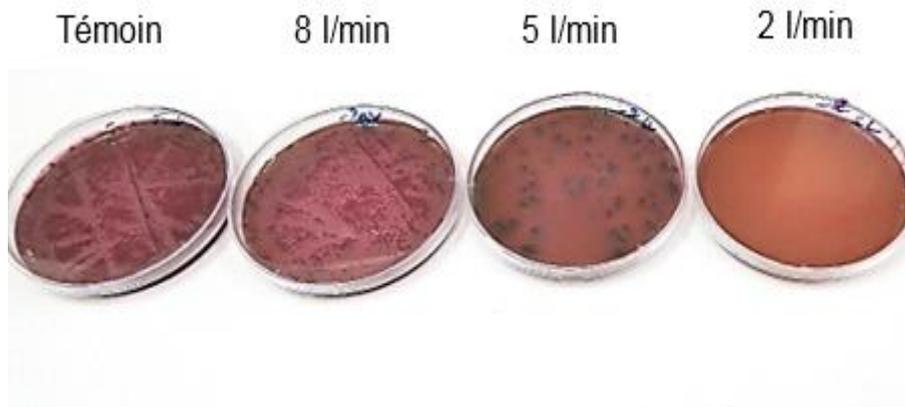


Figure V.19. Photographie de la charge bactérienne en fonction du débit d'air

Il apparaît donc que l'augmentation de débit d'air est accompagnée par une augmentation de nombres des bactéries vivantes dans l'échantillon, cela peut être expliqué par le temps d'ionisation qui est très rapide et le séjour du gaz est faible dans la torche. Ce comportement est lié à une plus faible production des espèces chargées et/ou chimiquement réactives dans la torche lorsque le débit d'air augmente.

#### **V.4. Conclusion**

Après avoir réalisé le dispositif expérimental constitué d'une torche à plasma à pression atmosphérique pour la stérilisation des bactéries, nous avons rapportés les résultats expérimentaux et nous avons aussi déterminés l'efficacité du plasma créé par notre torche pour la stérilisation et inactivation des deux types de microorganismes Gram (-) et Gram (+). Une bonne stérilisation des substrats inorganiques contaminés par des charges importantes des microorganismes de type E. coli a été obtenue pour un temps de traitement de 5 min et il nécessitait 20 min pour stériliser 99.98 % des substrats contaminés par la bactérie Bacillus subtilis et ceci sans d'utilisation de système pompage d'air dans la torche.

# *Conclusion générale*

# Conclusion générale

L'objectif principale de ce travail concerne la conception et l'optimisation d'un procédé de stérilisation des échantillons contaminés par des microorganismes, pour cela nous avons réalisé deux dispositifs de stérilisation à plasma froid. La première méthode utilise une source à plasma atmosphérique à base de décharge couronne en courant continu par deux polarités négative et positive en configuration pointe / plan, en raison de sa simplicité de mise en œuvre et de la disponibilité du gaz plasmagène (l'air), l'autre méthode utilise une torche à plasma basée sur une décharge couronne en courant alternatif à pression atmosphérique. Nous avons utilisé deux types de bactéries E. Coli à (Gram -) et Bacillus subtilis à (Gram+).

Les principaux résultats peuvent être énumérer dans les points suivants :

- Une stérilisation du substrat contaminé par des microorganismes de type E-coli a été obtenue pour une durée d'exposition au plasma de 11 min et il fallait un temps de traitement plus important (plus de 40 mn) pour la stérilisation des substrats contaminés par la bactérie Bacillus subtilis.
- Les espèces chargées et/ou réactives induites à l'aide d'une source en C-C à polarité positive est légèrement plus efficace que la polarité négative dont le temps de traitement pour une inactivation totale des bactéries est de 3 min pour E-coli, et une inactivation de 65 % de Bacillus Subtilis pour un temps de traitement de 40 min, malgré que le courant de décharge couronne en polarité négative est plus élevé que celle en polarité positive.
- Il s'est avéré que la stérilisation et l'interaction entre la décharge électrique et les bactéries n'est pas linéaire
- Une stérilisation par la torche à jet de plasma a été achevée pour un temps de traitement de 5 min pour les bactéries de type E. coli, alors qu'il nécessitait 20 min pour stériliser 99.98 % des substrats contaminés par la bactérie Bacillus subtilis et ceci sans recours à un système pompage d'air dans la torche.
- La stérilisation par décharge électrique en polarité négative sur la surface est uniforme et beaucoup plus claire qu'en polarité positive

Dans les deux derniers chapitres, nous avons tiré plusieurs conclusions expérimentales sur la stérilisation par la décharge couronne qui suscitent beaucoup d'espoir. Ainsi, les paramètres optimaux de stérilisation ont été obtenus pour un temps de stérilisation de 11 min

## **Conclusion générale**

---

en polarité négative et de 3 min seulement pour la polarité positive, une tension optimale de 25 kV et une distance inter-électrodes de 30 mm.

En fin nos perspectives d'avenir consistent à étudier d'avantage l'effet de la stérilisation l'étude de la densité des espèces responsables de la stérilisation séparément par un spectre d'émission optique est définir leurs rôles dans le mécanisme d'interaction plasma/microorganismes. L'objectif est de réaliser un système d'une enceinte de traitement optimale qui soit efficace pour l'élimination des bactéries des deux types (Gram+ et Gram -).

### Références bibliographiques

- [1] A. Ricart, “Apport des technologies plasmas dans la stérilisation médicale”, La revue trimestrielle du réseau ECRIN, **55**, (2006). pp.20-21.
- [2] A. M. Pointu, J. Perrin and J. Jolly, “Plasmas froids de décharge”, Les techniques de l’ingénieur, Dossier D 2830, (1998).
- [3] E. Pfender, « Thermal plasma technology: Where do we stand and where are we going », Plasma Chem. Plasma Proc., 19: 1-31, (1999).
- [4] M. Calafat, « Formation de poudres dans des décharges d'acétylène en Plasma Micro-onde Multipolaire excité à la résonance cyclotronique électronique répartie. Etude des nanocomposites carbone-carbone et leurs applications », thèse de doctorat, université Toulouse III - Paul Sabatier, pp. 1-179, 2008.
- [5] A. Bogaerts, E. Neyts, R. Gijbels, J. V. Mullen « Gas discharge plasmas and their applications », ELSEVIER, Spectrochimica Acta Part B 57, 609–658, (2002).
- [6] J-L. Delacroix, « physique des plasmas », Inter Edition, ETCNRS Edition p 5, (1994).
- [7] P. Seimandi, « Modélisation mathématique et numérique de décharges couronnes pour le contrôle d’écoulements », Thèse doctorat de l’université de Toulouse, (2010).
- [8] P. Fauchais, « Understanding plasma spraying », Journal of Physics D (Applied Physics), 37, 86, (2004).
- [9] O. Eichwald, M. Yousfi, A. Hennad and M. D. Benabdessadok, “Coupling of chemical kinetics, gas dynamics and charged particle kinetics models for the analysis of NO reduction from flue gases”, J. Appl. Phys., 82 (10), (1997), pp. 4781-4794.
- [10] C. Tendero, C. Tixier, P. Tristant, J. Desmaison and P. Leprince, “Atmospheric Pressure Plasmas: A Review”, *Spectrochimica Acta Part B*, 61, (2006), pp. 2-30.
- [11] J-L. Raimbault, « Introduction à la Physique des Plasmas », Master 1 Physique Appliquée et Mécanique, Université Paris-Sud 11, (2011).
- [12] N. Braithwaite « Introduction to gas discharges », Plasma Sources Sci. Tech., vol. 9, pp. 517-527, (2000).
- [13] J.L. Delcroix, A. Bers, « Physique des plasmas », volume I et II, publié dans InterEditions/CNRS Editions, (1994).
- [14] C.L. Hartz, J.W. Bevan, M.W. Jackson & B.A. Wofford, « Innovative surface wave plasma reactor technique for PFC abatement », Environ. Sci. Technol, vol. 32, pp. 682-687, (1998).

- [15] M. Baeva, H. Gier, A. Pott, J. Uhlenbusch, J. Höschele & J. Steinwandel, «Pulsed microwave discharge at atmospheric pressure for NO<sub>x</sub> decomposition», *Plasma Sources Sci. Technol*, vol.11, pp.1-9, (2002).
- [16] J.R. Hollahan et A.T. Bell, «Techniques and applications of plasma chemistry». Wiley interscience, Battins Lane, 403, (1974).
- [17] M. Abdel-Salam and D. Wiitanen, «Calculation of Corona Onset Voltage for Duct-Type Precipitators », *IEEE Transactions on Industry Applications* 29 (2), 274-280, (1993).
- [18] Y-F. Wang, W-J. Lee, C-Y. Chen & L-T. Hsieh, «Reaction mechanisms in both a CHF<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>/Ar and CHF<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>/Ar radio frequency plasma environment», *Ind. Eng. Chem. Res*, vol.38, pp.3199-3210, (1999).
- [19] CH. Tsai, W-J. Lee, C-Y. Chen & W-T. Liao, « Decomposition of CH<sub>3</sub>SH in a RF plasma reactor: reaction products and mechanisms», *Id. Eng. Chem. Res*, vol.40, 2384-2395, (2001).
- [20] B.M. Penetrante, M.C. Hsiao, B.T. Merritt, G.E. Vogtlin, A. Kuthi, C.P. Burkhart & J.R. Bayless, « Comparison of pulsed corona and electron beam processing of hazardous air pollutants», *Oxid. Technol*, vol.2, n°2, pp.299-305, (1997).
- [21] B.M. Penetrante, M.C. Hsiao, B.T. Merritt, G.E. Vogtlin, A. Kuthi, C.P. Burkhart & J.R. Bayless, «Identification of mechanisms for decomposition of air pollutants by non-thermal plasma processing», *Plasma Sources Sci. Technol*, vol.6, pp.251-259, (1997).
- [22] A. Schütze, J. Y. Jeong, S. E. Babayan, J. Park, G. S. Selwyn and Robert F. Hicks, «The Atmospheric Pressure Plasma Jet: A Review and Comparison to Other Plasma Sources», *Transactions on Plasma Science*, 26, (1998), pp. 1685-1694.
- [23] BENMIMOUN Y., MILOUDI K., (2019), *Techniques de la Haute Tension*, Editions NPU, ISBN: 978-9947-78-053-4, 113 p..
- [24] M. Abdel-Salam, Z. Al-Hamouz, « Analysis of monopolar ionized field as influenced by ion diffusion », *Industry Applications IEEE Transactions on*, 31, pp. 484-493, 1995.
- [25] B. Mohand Arezki, « étude de la décharge couronne en géométrie fil – plan », *Master en génie électrique*, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, (2016).
- [26] A. Fridman, « Plasma Chemistry », Cambridge University press UK, pp.1-978, 2008.
- [27] L. B. Loeb, J. M. Meek, « The Mechanism of the Electric Spark », Stanford University press, pp.1-188, 1940.
- [28] F. Massines, A. Rabehi, P. Decomps, R.B. Gadri, P. Ségur et C. Mayoux, « Experimental and theoretical study of a glow discharge at atmospheric pressure controlled by dielectric barrier», *Journal of Applied Physics*, 83, No 6, pp. 2950-2957, 1998.

- [29] N. Zouzou et E. Moreau, « Effect of a filamentary discharge on the particle trajectory in a plane-to-plane DBD precipitator », *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 44, No 285204, pp. 1-6, 2011.
- [30] N. Zouzou, B. Dramane, E. Moreau and G. Touchard, « EHD Flow and Collection Efficiency of a DBD-ESP in Wire-to-Plane and Plane-to-Plane Configurations », *IEEE Transactions on Industry Applications*, 47, No 1, pp. 336-343, 2011.
- [31] R. Gouri, « Optimisation électrique et géométrique d'un électrofiltre à barrière diélectrique en configuration fil-tube carré - application aux particules submicroniques », Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, pp.1-142, 2012.
- [32] A.C. Aba'aNdong, « Décharges à barrière diélectrique pulsées de volume et de surface appliquées à la précipitation électrostatique et à la régénération de surface », Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, pp.1-187, 2014.
- [33] W. C. Wang, P. C. Jiang, S. Zhang, L. Jia, D. Z. Yang, K. Tang and Z. J. Liu, « An uniform DBD plasma excited by bipolar nanosecond pulse using wire-cylinder electrode configuration in atmospheric air », *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 122, pp. 107-112, 2014.
- [34] U. Kogelschatz, « Dielectric barrier discharges: Their history, discharge physics and industrial applications », *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 23, No 1, pp. 1-46, 2003.
- [35] F. Massines, G. Gouda, N. Gherardi, M. Duran, et E. Croquesel, « The role of dielectric barrier discharge atmosphere and physics on polypropylene surface treatment », *Plasmas and Polymers* 6, pp. 35-49, 2001.
- [36] D. Trunec, A. Brablec, et F. Stastny, « Experimental study of atmospheric pressure glow discharge », *Contributions to Plasma Physics*, 38, pp. 435-445, 1998.
- [37] F. Leroux, C. Campagne, A. Perwuelz, et L. Gengembre, « Polypropylene film chemical and physical modifications by dielectric barrier discharge plasma treatment at atmospheric pressure », *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008.
- [38] E. Lecoq. « Traitement préventif antifongique du pin maritime par post-décharge DBD à la pression atmosphérique et étude de l'action directe des post-décharges sur les champignons de bleuissement du bois ». *Material chemistry*. Université de Pau et des Pays de l'Adour, pp.1-269,2009.
- [39] M. Bourdet, "Recherche d'optimisation énergétique d'un réacteur plasma froid de traitement d'effluents gazeux charge en COV à pression atmosphérique", Thèse de doctorat, Supélec, France, (2012).
- [40] U. Kogelschatz, "Silent discharges for the generation of ultraviolet and vacuum ultraviolet excimer radiation", *Pure & Appl. Chem.*, 62 (9), pp. 1667-1674, (1990).

## Références bibliographiques

---

- [41] M. A. Djibrilla, “Éléments de conception d'un générateur électrique pour l'alimentation d'un dispositif à décharge à barrière diélectrique”, Thèse de doctorat, Université de Toulouse, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, (2001).
- [42] R.D. MEDINA, “ Alimentation de puissance d'une lampe exciplexe à décharge à barrière diélectrique, en vue du contrôle du rayonnement”, Thèse de doctorat, Université de Toulouse, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, (2008).
- [43] Lyes BENTERROUCHE, “Investigations sur l’application des plasmas froid dans la stérilisation” Thèse de doctorat, université des frères Mentouri, Constantine, (2015).
- [44] B. Veron, [http://www.microbiologie-medicale.fr/microbiologie\\_générale/structure\\_bactérienne.html](http://www.microbiologie-medicale.fr/microbiologie_générale/structure_bactérienne.html) ; page consultée le 25 Janvier 2019.
- [45] M.Larpent-Gourgaud and J.-P. Larpent, “Mémento technique de microbiologie”, 3<sup>ème</sup> Edition : TEC & DOC (ed.), France, Paris, (1997), pp. 109-173.
- [46] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.1.2.html> ; pageconsultée le 25 Janvier 2019.
- [47] [http://www.ecosociosystemes.fr/cellule\\_bacterienne.html](http://www.ecosociosystemes.fr/cellule_bacterienne.html) ; page consultée le 30 Janvier2019.
- [48] L. M. Prescott, J. P. Harley and D. A. Klein, “Microbiologie”, DeBoeck Université (ed.), Belgium, Bruxelles, (1995), pp. 40-69.
- [49] <http://www.univ-ubs.fr/ecologie/cellbacter.html> ; page consultée le 05 Février 2019.
- [50]<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.1.2.5.html> ; pageconsultée le 07 Février 2019.
- [51] M. Faure, “Purification de l’air ambiant par l’action bactéricide de la photo catalyse”, Thèse de doctorat, Université de Nancy, France, (2010).
- [52] FOSSUM TW, SEIM III HB. Principles of surgical asepsis and sterilization and disinfection. In: FOSSUM TW, HEDLUND CS, HULSE DA et al. Small animal surgery. 2<sup>nd</sup> ed. St Louis: Mosby, 2002, 1-10.
- [53] GARDES JC. L’infection en chirurgie orthopédique. Cahiers de la Société Française de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (SOFOT), 1990, n°37,47-57.
- [54] AXIENCE. Formation « Hygiène et désinfection » vétérinaire (Documentation technique) Axience, Pantin (France), 2003.
- [55] BRUNOD F. La stérilisation. Note interne hôpital Purpan, Toulouse. 1997.
- [56] LEGEARD F, DUHAUTOIS B. Désinfection et stérilisation. Encyclopédie vétérinaire, Paris : Elsevier, 1997, 2007p.

## Références bibliographiques

---

- [57] F. Legeard and B. Duhautois, “Désinfection et stérilisation”, Encyclopédie vétérinaire, Paris : Elsevier, (1997), doi : 10.1016/S1283-0828(97)14884-0.
- [58] CLEM MF. Sterilization and antiseptics in: AUER JA, Equine surgery, Philadelphia: WB Saunders, 1992,102-110.
- [59] D. A. Charlesby, “Atomic Radiation and Polymers”, Pergamon Press., London, Oxford, (1960), p.335.
- [60] N. Philip, B. Saoudi, M. C. Crevier, M. Moisan, J. Barbeau and J. Pelletier, “Therespective roles of UV photons and oxygen atoms in plasma sterilization at reduced gaspressure: the case of N2-O mixtures”, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **30**, (2002), pp. 1429-1436.
- [61] T. W. Fossum, C. S. Hedlund, D. A. Hulse, A. L. Johnson, H. B. Seim, M. D. Willardand G. L. Carroll, “Small Animal Surgery”, 2nd ed. Mosby, St. Louis, (2002), pp. 1-10.
- [62] S. L. Mitchell and R. L. Berg, “Sterilization In: SLATTER D. Textbook of smallanimal surgery”, 3ième ed. Philadelphia: W. B. Saunders, (2003), pp. 155-162.
- [63] F. Brunod, “La stérilisation”, Note interne hôpital Purpan, Toulouse, (1997).
- [64] R. E. Baier, J. M. Carter, S. E. Sorensen, A. E. Meyer, B. D. MCGowan and S. A. Kasprzak, “Radiofrequency Gas Plasma (Glow Discharge) Disinfection of DentalOperative Instruments, Including Handpieces”, *J. Oral Implantol.*, **18**, (1992), pp. 236-242.
- [65] Note de l’Institut de santé publique, “Modalités de validation et de contrôle des autoclaves dans le cadre de l’inactivation des déchets résultants d’utilisation confinéesd’organismes génétiquement modifiés et/ou pathogène”, éditeur responsable : Dr.J. Peeters(Bruxelles),adresseurl:[http://www.biosafety.be/CU/PDF/Autoclave\\_SBB\\_D2011\\_250\\_5\\_39\\_FR.pdf](http://www.biosafety.be/CU/PDF/Autoclave_SBB_D2011_250_5_39_FR.pdf) ; consultée le15 Mai 2019.
- [66] E. Postaire, “Les matières plastiques à usage pharmaceutique : propriétés générales etbiotechniques”, 2<sup>ème</sup> éd. Editions Médicales Internationales, Paris, (1991), p.546.
- [67] AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire de Produits de Santé). Information sur l’utilisation du stérilisateur Sterrad® (Johnson & Johnson) à l’hôpital pour la stérilisation des dispositifs médicaux réutilisables non autoclavables, les alertes sanitaires, le 19 mai 2004, [<http://agmed.sante.gouv.fr/htm/alertes/filalert/dmo040509.pdf>], page consulté le 25 janvier 2019).
- [68] M. Moisan. Barbeau, S. Moreau, J. Pelletier, M. Tabrizian, L.H. Yahia, «Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms”, *Internal Journal of Pharmaceutic*, 2001, 226, 1-21.
- [69] MITCHELL SL, BERG RL. Sterilization In: SLATTER D. Textbook of small animal

## Références bibliographiques

---

surgery. 3<sup>ed</sup>. Philadelphia: WB Saunders, 2003, 155-162.

[70] Antoine COUDERT, « TECHNIQUE DE STERILISATION PAR LES PLASMAS FROIDS », thèse pour l'obtention de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de Médecine de Créteil, Paris, France 2007.

[71] W. P. Menashi, "Treatment of surfaces", US Patent N°3 383 163, (1968).

[72] L. E. Ashman and W. P. Menashi, "Treatment of surface with low pressure plasmas", US Patent N° 3 701 628, Oct. 31, (1972).

[73] S. J. Fraser, R. B. Gillette and R. L. Olson, "Sterilizing process and apparatus utilizing gas plasma", US Patent N° 3 948 601, Apr. 6, (1976).

[74] R. M. G. Boucher, "Seeded gas plasma sterilization method", US Patent N°4 207 286, (1980).

[75] R. M. Bithell, "Package and sterilizing process for same", US Patent N°4 321 232, (1982).

[76] M. Moisan, J. Barbeau, S. Moreau, J. Pelletier, M. Tabrizian and L'H. Yahia, "Low temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms", *Int. J. Pharm.*, **226** (1-2), (2001), p.1.

[77] V. Monna, "Réactivité des décharges en flux dans les mélanges de gaz pour le traitement des surfaces", Thèse de doctorat, Université Toulouse III, (2002).

[78] R. M. G. Boucher, "State of the art in gas plasma sterilization", *Med Device & Diagn Ind*, **7**, (1985), pp. 51-56.

[79] P. A. Martens and D. L. Rainwater, "Plasma water vapor sterilizer apparatus", US Patent 5.753.196, (1998).

[80] J. C. Darbord and C. Chopard, "Bonnes pratiques de Stérilisation-Désinfection", [http://www.cefh-ceps.com/sterilisation/bd\\_ste/ste25.htm](http://www.cefh-ceps.com/sterilisation/bd_ste/ste25.htm) ; page consultée le 10 Février 2015.

[81] A. Fridman and G. Friedman, "Plasma medicine", A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, (2013), Drexel University, Philadelphia, p.343.

[82] R. Agostino, P. Capezzuto, G. Bruno and F. Cramarossa, "Mechanism of etching, polymerization and deposition in R.F. (radio frequency) discharges", *Pure Appl. Chem.*, **57** (9), (1985), pp. 1287-1298.

[83] M. Moisan, J. Barbeau and J. Pelletier, "La stérilisation par plasma : méthodes et mécanismes", *Le Vide : science, technique et applications*, (2001), **299**, pp. 15-28.

[84] M. Laroussi, "Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State of the Art", *Plasma Process. Polym.*, **2** (5), (2005), p.391.

- [85] C.-M. Chan, T.-M. Ko and H. Hiraoka, "Polymer surface modification by plasmas and photons", *Surf. Sci. Rep.*, **24**, (1996), p.1.
- [86] H. W. Herrmann, I. Henins, J. Park and G. S. Selwyn, "Decontamination of chemical and biological warfare (CBW) agents using an atmospheric pressure plasma jet (APPJ)", *Phys. Plasma*, **6** (5), (1999), pp. 2284–2289
- [87] M. Laroussi, J. P. Richardson and F. C. Dobbs, "Effects of non-equilibrium atmospheric pressure plasmas on the heterotrophic pathways of bacteria and on their cell morphology", *Appl. Phys. Lett.* **81**, (2002), p.772.
- [88] V. Yu. Bazhenov, A. V. Ryabtsev, I. A. Soloshenko, V. A. Khomich, V. V. Tsiolko, A. I. Shchedrin, A. I. Kuzmichev, V. I. Kryzhanovsky and I. L. Mikhno, "Kinetic processes in a plasma Barrier Discharge on atmospheric air: Influence of water vapor on biological activity of generated medium", *Ukr. J. Phys.*, **48** (1) (2003) pp. 27-31.
- [89] I. O. Soloshenko, V. A. Khomich, V. V. Tsiolko, I. L. Mikhno, A. I. Shehedrin, A. V. Ryabtsev and V. Y. Bashenov, "Experimentd and theoretical investigation of cold sterilization of medical instmments by plasma DC glow discharge", 14th International Symposium on Plasma Chemistry (ISPC14), 2–6 August (1999), Prague, Czech Rep.
- [90] M.-N. Bellon-Fontaine and A. Vernhet, "Adhésion de particules et de microorganismes aux surfaces solides", In *Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bioindustries*, Leveau J.-Y. and Bouix M. (1999), Technique & documentation, Lavoisier : Paris, Londres, New York, p.25.
- [91] Y. H. An and R. J. Friedmann, "Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces", *J. Biomed. Mater. Res.*, **43** (3), (1998), pp. 338–348.
- [92] K. C. Marshall, "Mechanisms of Bacterial Adhesion at Solid-Water Interfaces in Bacterial Adhesion: Mechanisms and Physiological Significance", (eds D.C. Savage and M. Fletcher), Plenum Press, New York, (1985), p.133.
- [93] K. Vacheethasane and R. E. Marchant, "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.
- [94] J. Tsibouklis, M. Stone, A. A. Thorpe, P. Graham, V. Peters, R. Heerlien, J. R. Smith, K. L. Green and T. G. Nevell, "Preventing bacterial adhesion onto surfaces: the lowsurface-energy approach", *Biomaterials*, **20** (13), (1999), p.1229.

- [95] A. H. Hogt, J. Dankert and J. Feijen, “Adhesion of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* to a hydrophobic biomaterial”, *Journal of general microbiology*, **131** (9), (1985), p.2485.
- [96] H. Yuehuei, A. Richard and J. Friedman, “Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces”, *Journal of Biomedical Materials Research*, **43** (3), (1998), p.338.
- [97] Y. Liu, “Adhesion kinetics of nitrifying bacteria on various thermoplastic supports”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **5**, (1995), p.213.
- [98] F. Sohbatzadeh, A. H. Colagar, S. Mirzanejhad and S. Mahmodi, “*E. coli*, *P. aeruginosa*, and *B. cereus* Bacteria Sterilization Using Afterglow of Non-Thermal Plasma at Atmospheric Pressure”, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **160**, (2010), pp. 1978–1984.
- [99] T. G. Klämpfl, G. Isbary, T. Shimizu, Y.-F. Li, J. L. Zimmermann, W. Stolz, J. Schlegel, G. E. Morfill and H.-U. Schmidt, “Cold Atmospheric Air Plasma Sterilization against Spores and Other Microorganisms of Clinical Interest”, *Applied and Environmental Microbiology*, **78** (15), (2012), pp. 5077–5082.
- [100] D. Dobrynin, G. Fridman, G. Friedman and A. Fridman, “Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue”, *New Journal of Physics*, **11**, (2009), p.115020.
- [101] M. Laroussi, “Nonthermal decontamination of biological media by atmospheric pressure plasmas: review, analysis, and prospects”, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **30** (4), (2002), pp. 1409-1415.
- [102] M. Laroussi and F. Leipold, “Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure”, *International Journal of Mass Spectrometry*, **233**, (2004), pp. 81–86.
- [103] M. K. Boudam and M. Moisan, “Synergy effect of heat and UV photons on bacterial spore inactivation in an N<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> plasma-afterglow sterilizer”, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **43**, (2010), p.295202.
- [104] Y. P. Baydarovtsev, V. N. Vasilets and A. N. Ponomarev, “The influence of gas nature on the rate of radical accumulation in teflon during low pressure glow discharge treatment”, *Russ. J. Chem. Phys.*, **4**, (1985), pp. 89–96.
- [105] E. A. Sosnin, E. Stoffels, M. V. Erofeev, I. E. Kieft and S. E. Kunts, “The Effects of UV Irradiation and Gas Plasma Treatment on Living Mammalian Cells and Bacteria: A Comparative Approach”, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **32**, (2004), pp. 1544-1550.

- [106] M. Laroussi, “Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma” *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **24** (3), (1996), pp. 1188–1191
- [107] M. K. Boudam, M. Moisan, B. Saoudi, C. Popovici, N. Gherardi and F. Massines, “Bacterial spore inactivation by atmospheric-pressure plasmas in the presence or absence of UV photons as obtained with the same gas mixture”, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **39**, (2006) p.3494.
- [108] M. Moisan, J. Barbeau, M. C. Crevier, J. Pelletier, N. Philip and B. Saoudi, “Plasma sterilization. Methods mechanisms”, *Pure Appl. Chem.*, **74**, (2002), pp. 349–58.
- [109] M. Laroussi, D. A. Mendis and M. Rosenberg, “Plasma interactions with microbes”, *New J. Phys.*, **5** (1), (2003), p.41
- [110] E. Stoffels, Y. Sakiyama and D. B. Graves, “Cold atmospheric plasma: charged species and their interactions with cells and tissues”, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **36**, (2008) pp. 1441–1457.
- [111] E. Neumann, A. E. Sowers and C. A. Jordan, “Electroporation and Electrofusion in Cell Biology”, (ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, (2001).
- [112] D. A. Mendis, M. Rosenberg and F. Azam, “A note on the possible electrostatic disruption of bacteria”, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **28**, (2000), p.1304.
- [113] T. C. Montie, K. Kelly-Wintenberg, J. R. Roth, “An overview of research using the one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP) for sterilization of surfaces and materials”, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **28** (1), (2000), p. 41-50.
- [114] O. Cerf, “Tailing of survival curves of bacterial spores”, *Journal of Applied Bacteriology*, **42**, (1977), pp. 1-19.
- [115] M. Laroussi and F. Leipold, “Mechanism of inactivation of bacteria by an Air plasma”, 14 th International Colloquium on plasma processes (CIP 2003) In: Le Vide: Sci., Tech. Applic (numéro special: actes des colloques), (2003), pp. 107-113.
- [116] S. S. Block, “Sterilization”, in: Encyclopedia of Microbiology, J. Lederberg, Ed., Academic Press, San Diego, Vol. **4**, (1992), p.87.
- [117] J. Imlay, S. Chin and S. Linn, “Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction *in vivo* and *in vitro*”, *Science*, **240**, (1988), 640–2
- [118] E.S. Henle and S. Linn, “Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide”, *J. Biol. Chem.* **272**, (1997), 19095–8
- [119] A. Coudert, “Technique de stérilisation par les plasmas froids”, Thèse de doctorat vétérinaire, 'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, France, (2007).

- [120] "Escherichia coli (E. coli)", Organisation Mondiale de la Santé O.M.S, <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> , page consultée le 02 juin 2018
- [121] Q. S. Yu, C. Huang, F.-H. Hsieh, H. Huff and Y. Duan, "Bacterial Inactivation Using a Low-Temperature Atmospheric Plasma Brush Sustained with Argon Gas", *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, **80** (1), (2006), pp. 211-219.
- [122] J. Opretzka, J. Benedikt, P. Awakowicz, J. Wunderlich and A. Von Keudell, "The role of chemical sputtering during plasma sterilization of *Bacillus atrophaeus*", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **40** (9), (2007), pp. 2826–2830.
- [123] K. G. Kostov, V. Rocha, C. Y. Koga-Ito, B. M. Matos, M. A. Algatti, R. Y. Honda, M. E Kayama and R. P. Mota, "Bacterial sterilization by a dielectric barrier discharge (DBD) in air", *Surface & Coatings Technology*, **204**, (2010), pp. 2954–2959.
- [124] D. Dobrynin, G. Fridman, G. Friedman and A. Fridman, "Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue", *New j.Phys.*, **11**, (2009), p.115020.
- [125] I. Arana, P. Santorum. A. Muela, "Chlorination and ozonation of waste-water: comparative analysis of efficacy through the effect on *Escherichia coli* membranes", *J. Appl. Microbiol.*, **86** (5), (1999), pp. 883–888.
- [126] H. Ayan, G. Friedman, D. Staack, A. F. Gutsol, V. N. Vasilets, A. A. Fridman and G. Friedman, "Heating Effect of Dielectric Barrier Discharges for Direct Medical Treatment" *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **37** (1), (2009), pp.113-120.
- [127] D. Dobrygin, G. Friedman A. Fridman and A. Starikovskiy "Inactivation of bacteria using dc corona discharge: role of ions and humidity" *New j. phys.*, **13**, (2011). pp1367-2630.
- [128] W.-S Kang, Y.-C. Hong, Y.-B Hong, J.-H Kim and H. S. Uhm, "Atmospheric-pressure cold plasma jet for medical applications", *Surface & coatings technology* ,**205**, (2010), pp. S418-S421.
- [129] S. Petit-Boileau, "Préparation de surface du PET avant métallisation : étude et comparaison des procédés laser excimère et plasma hors- équilibre", Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, France, (2003).
- [130] M. G. Kong and X.T. Deng "Electrically efficient production of a diffuse nonthermal atmospheric plasma", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **31**(1), (2003), pp.7-18.
- [131] J. L. Walsh and M.G. Kong, "Contrasting characteristics of pulsed and sinusoidal cold atmospheric plasma jets", *Appl. Phys. Lett.*, **88**, (2006), p.171501.

- [132] E. Panousis, N. Merbahi, F. Clément, A. Recard, M. Yousfi, L. Papageorghiou, J. Loiseau, O. Eichwald, B. Held and N. Spyrou, “Atmospheric pressure dielectric barrier discharges under unipolar and bipolar HV excitation in view of chemical reactivity in afterglow conditions” , *IEEE Trans. Plasma Sci.*,**37**, (2009), pp.1004-1015.
- [133] N. Georgescu “High voltage pulsed, cold atmospheric plasma jets: electrical characterization”, *Romanian Reports in physics*, **60** (4), (2008), pp.1025-1032.
- [134] Norman H. [Schneider](#), Ruhmkorff Induction Coils: Their Construction, Operation and Application, New York, Spon & Chamberlain; London, E. & F. N. Spon. ( 1896) 183 p, accessed May 02, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.066>  
<https://archive.org/details/ruhmkorffinduct00schngoog/page/n5/mode/2up>
- [135] G. Xu, G. Zhang, X. Shi, Y. Ma, N. Wang and Y. Li, “Bacteria inactivation using DBD plasma jet in atmospheric pressure argon”, *Plasma Science and Technology*,**11**(1), (2009), pp.83-89.
- [136] K.G. Kostov, V. Rocha, C. Y. Koga-Ito, B. M. Matos, M. A. Algatti, R. Y. Honda, M. E. Kayama and R. P. Mota, “Bacterial sterilization by a dielectric barrier discharge (DBD) in air”, *Surface & coatings technology* ,**204**, (2010), pp. 2954-2959.
- [137] M. Laroussi, “Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State-of-the-Art”, *Plasma Processes and Polymers*,**2** (5), (2005), pp.391-400.
- [138] A. Mahfoudh, M. Moisan, J. Séguin, J. Barbeau, Y. Kabouzi and D. Kéroack, “Inactivation of vegetative and sporulated bacteria by dry gaseous ozone”, *Ozone: Sci. Eng.* **3** (3), (2010), pp.180-198.
- [139] L. F. Gaunt, B. Beggs and G. E. Georghiou, “Bactericidal Action of the Reactive Species Produced by Gas-Discharge Nonthermal Plasma at Atmospheric Pressure: A Review”, *IEEE Trans. Electr. Insul.*, **34**, (2006), pp.1257-1269.
- [140] X. P. Lu, T. Ye, Y. G. Cao, Z. y. Sun, Q. Xiong, Z. Y. Tang, Z.L. Xiong, J. Hu, Z. H. Jiang and Y. Pan, “The roles of the various plasma agents in the inactivation of bacteria”, *J. Appl. phys.*,**104**, (2008),p.053309.

## Résumé :

En milieu hospitalier, pour assurer une qualité de soins optimale et pour lutter contre les contaminations, la stérilisation est essentielle pour tous les matériaux et dispositifs destinés à être en contact avec l'organisme. Dans ce contexte, nous avons réalisé deux dispositifs de stérilisation à plasma froid, la première méthode utilise une géométrie pointe-plan avec deux alimentations continues en polarités négative et positive à pression atmosphérique, la deuxième méthode utilise une torche à jet plasma alimentée par une source de tension alternative à haute fréquence à pression atmosphérique. Nous avons effectué les tests sur deux types de bactéries E-coli à (Gram -) et Bacillus Subtilis à (Gram+). L'efficacité de la stérilisation des bactéries a été étudiée et les résultats ont montrés que les espèces chargées et/ou réactives induites à l'aide d'une source en C-C en polarité positive est plus efficace qu'en polarité négative dont le temps de traitement pour une inactivation totale des bactéries est de 03 min pour E-coli, tandis qu'une inactivation de 65 % de Bacillus subtilis est de 40 min et une stérilisation par la torche à jet de plasma a été achevée durant 5 min pour les E. coli, alors qu'il nécessitait 20 min pour stériliser 99.98 % pour la bactérie Bacillus subtilis.

## Abstract

In a hospital environment, to ensure care optimal quality and to fight against contamination, sterilization is essential for all materials and devices intended to come into contact with the body. In this context, we have produced two cold plasma sterilization devices, the first method uses a point-plane geometry with two continuous power supplies in negative and positive polarities at atmospheric pressure, the second method uses a plasma jet torch supplied by a source high frequency alternating voltage at atmospheric pressure. We performed the tests on two types of bacteria E-coli to (Gram -) and Bacillus Subtilis to (Gram +). The sterilization efficiency of bacteria was studied and the results showed that the charged and / or reactive species induced using a DC source with positive polarity is more efficient than with negative polarity, the time of which treatment for total bacterial inactivation is 03 min for E-coli, while 65% inactivation of Bacillus subtilis is 40 min and sterilization by plasma jet torch was completed for 5 min for E. coli, while it required 20 min to sterilize 99.98% for Bacillus subtilis bacteria.

## المخلص

في المستشفيات، لضمان الجودة المثلى للرعاية ولمكافحة التلوث، يعد التعقيم ضروريًا لجميع المواد والأجهزة التي تهدف إلى ملامسة الجسم. في هذا السياق، قمنا بإنتاج جهازي تعقيم بالبلازما الباردة، الطريقة الأولى تستخدم هندسة نقطة مع اثنين من إمدادات الطاقة المستمرة في القطبين الموجب والسالب عند الضغط الجوي، والطريقة الثانية تستخدم شعلة البلازما النفائة التي يوفرها مصدر الجهد المتناوب عالي التردد عند الضغط الجوي. أجرينا الاختبارات على نوعين من البكتيريا (E. Coli Gram -) و (Bacillus subtilis Gram +). تمت دراسة كفاءة تعقيم البكتيريا وأظهرت النتائج أن الأنواع المشحونة و / أو المتفاعلة باستخدام مصدر تيار مستمر ذات قطبية موجبة هي أكثر كفاءة من القطبية السالبة، وقتها العلاج الكامل البكتيري هو 03 دقيقة لـ E-coli، في حين أن 65٪ تعطيل لـ Bacillus subtilis هو 40 دقيقة والتعقيم بواسطة شعلة البلازما النفائة اكتمل لمدة 5 دقائق لـ E-coli، بينما تطلب الأمر 20 دقيقة لتعقيم 99.98٪ من البكتيريا Bacillus subtilis.