

n-Aléph 157174

No d'ordre :

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRES ARTOIS

THESE

pour l'obtention du grade de

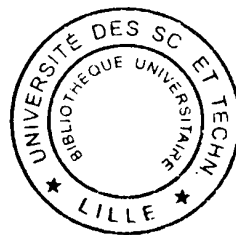
DOCTEUR EN BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES
option "MICROBIOLOGIE"

par

Pascal VANDEKERCKOVE

**POUVOIR ANTISEPTIQUE DE
CELLULOSES FONCTIONNALISEES PAR
DES AMMONIUMS QUATERNAIRES :
APPLICATIONS AU DEVELOPPEMENT
D'UN NOUVEAU "BIOTEXTILE"
A PROPRIETES ANTIMICROBIENNES**

- PARTIE CONFIDENTIELLE -



Présentée le 30 Octobre 1986 devant le Jury composé de :

Président : M. J. GUILLAUME, Professeur
Rapporteur : M. C. ROMOND, Professeur
Examineurs : M. R. TAILLIEZ, Professeur
M. J-C. CAZIN, Professeur
M. O. ROGUES, Directeur Technique Texunion
M. J. SAINGIER, Directeur de Recherche Texunion

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>MATERIEL ET METHODES</u>	1
1) <u>La fonctionnalisation de la cellulose</u>	2
1.1) <u>Principe du procédé de fonctionnalisation</u>	2
1.2) <u>Synthèse des agents de fonctionnalisation</u>	4
1.2.1) <u>Synthèse en une étape (voie directe)</u>	7
1.2.2) <u>Synthèse des sels en trois étapes</u>	7
1.3) <u>Traitement de la cellulose</u>	8
2) <u>Synthèse et fonctionnalisation industrielles</u>	9
2.1) <u>La synthèse des sels 6 et 36</u>	9
2.2) <u>Le foulardage</u>	12
3) <u>Les essais de résistance aux lavages</u>	14

<u>RESULTATS</u>	15
I. ACTIVITE ANTISEPTIQUE DES AMMONIUMS QUATERNAIRES LIBRES ET DES BIOTEXTILES	15
1) Structure chimique et pouvoir antiseptique	15
1.1) <u>Activité antiseptique des sels libres</u>	15
1.2) <u>Activité antiseptique des sels fixés</u>	18
2) <u>Activité antiseptique des sels de synthèse industrielle fixés</u>	20
2.1) <u>Les essais de fonctionnalisation industrielle</u>	21
2.2) <u>Les essais de fonctionnalisation au stade pilote</u>	23
2.2.1) <u>Etude de différents paramètres de fonctionnalisation</u>	24
2.2.2) <u>Conclusions</u>	28

II. LA RESISTANCE DES BIOTEXTILES AUX LAVAGES	30
1) Activité antiseptique après lavage par un détergent anionique	30
1.1) <u>Influence de différents paramètres de lavage</u>	30
1.2) <u>Activité antiseptique après lavage sans détergent</u>	32
1.3) <u>Activité antiseptique et capacité d'échange d'ions</u>	34
1.4) <u>Conclusions</u>	36
2) La régénération des biotextiles	37
2.1) <u>Le choix des différents bains de régénération</u>	37
2.2) <u>Activité antiseptique après régénération</u>	39
2.3) <u>Régénération en machine à laver</u>	41
2.3.1) <u>Régénération au chlorure de sodium</u>	42
2.3.2) <u>Régénération à la soude</u>	42
2.4) <u>Régénération par ultra-sons</u>	45
2.5) <u>Conclusions</u>	45
3) Résistance aux lavages itératifs	47
<u>CONCLUSION ET DISCUSSION</u>	50

TABLE DES ABBREVIATIONS

AATCC	: American Association of Textile Chemists and Colorists
AFNOR	: Association Française de Normalisation
ANRT	: Agence Nationale de la Recherche Technique
ANVAR	: Agence Nationale de Valorisation de la Recherche
AOAC	: Association of Official Analytical Chemists
APHA	: American Public Health Association
Carb	: Carbénicilline
CCM	: Concentration Critique Micellaire
CHR	: Centre Hospitalier Régional de Lille
CIP	: Collection de l'Institut Pasteur
Clt	: Chlortétracycline
CMB	: Concentration minimale bactéricide
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CRTM	: Centre de Recherche Textile de Mulhouse
CTT	: Chlorure de Triphényl Trétrazolium
DMSO	: Diméthyl Sulfoxyde
EDTA	: Ethylène Diamine TétraAcétate
FDA	: Food and Drug Administration
Gen	: Gentamycine
HR	: Humidité Relative de l'air
ICMD	: Industrie Chimique Mulhouse Dornach
IIPC	: Indice d'Irritation Primaire Cutanée
Kan	: Kanamycine
LPS	: Lipopolysaccharide
meq.	: milliéquivalent
MMHN	: Mycothèque du Museum d'Histoire Naturelle
Neo	: Néomycine
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
Oxt	: Oxytétracycline
Pi	: Phosphore inorganique
Pip	: Acide pipémidique
SDS	: Sodium Dodécyl Sulfate
SM	: Solution Mère
Str	: Streptomycine
Suf	: Sulfamides
TGEA	: Tryptone Glucose Extract Agar
u.f.c.	: unité formant colonie
USP	: United States Pharmacopeia

TABLE DES FIGURES

Figure -22- : Fonctionnalisation de la cellulose par des ammoniums quaternaires à motif époxy-propyl	3
Figure -23- : Schéma de synthèse de sels d'ammoniums quaternaires époxydés par voie directe	7
Figure -24- : Schéma de synthèse de sels d'ammoniums quaternaires époxydés en trois étapes	8
Figure -25- : Schéma d'un appareil de foulardage utilisé pour le traitement industriel des cotonnades	13
Figure -26- : Désorption des ammoniums quaternaires, déterminée par la méthode des ions picrates, après rinçages à l'eau adoucie (80°C)	22
Figure -27- : Capacité d'échange d'ions picrates de tissus traités (sel 6 ₃ à 15 g/kg) en fonction du nombre de lavages	49

TABLE DES TABLEAUX

Tableau -LIV- : Composition chimique des ammoniums quaternaires à motif époxy-propyl : groupes I et II	5
Tableau -LV- : Composition chimique des ammoniums quaternaires à motif époxy-propyl : groupes III et IV	6
Tableau -LVI- : Rendements moyens de la fonctionnalisation de celluloses de coton par les différents sels époxydés ...	9
Tableau -LVII- : Réactifs utilisés pour la fabrication des sels d'ammoniums quaternaires époxydés 6 et 36	12
Tableau -LVIII- : Concentrations Minimales Inhibitrices moyennes des sels d'ammoniums quaternaires libres, vis-à-vis de cinq souches microbiennes	16
Tableau -LIX- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées par des sels d'ammoniums quaternaires vis-à-vis de <u>Staphylococcus aureus</u> CIP 7625	19
Tableau -LX- : Activité antiseptique du biotextile de synthèse industrielle (sel 6 ₃ , 30 g/kg de coton), vis-à-vis de <u>Staphylococcus aureus</u> CIP 7625	21
Tableau -LXI- : Principaux paramètres de celluloses fonctionnalisées au stade pilote et en laboratoire	25
Tableau -LXII- : Activité antiseptique de tissus traités selon différentes méthodes et divers sels vis-à-vis de <u>Staphylococcus aureus</u> CIP 7625 et de <u>Escherichia coli</u> CIP 7624	26
Tableau -LXIII- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées après lavage par un détergent anionique, vis-à-vis de <u>Staphylococcus aureus</u> CIP 7625	31

Tableau -LXIV- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées après lavage sans détergent vis-à-vis de <u>Staphylococcus aureus</u> CIP 7625	33
Tableau -LXV- : Activité antiseptique et capacité d'échange d'ions de celluloses traitées par le sel 6 ₃	35
Tableau -LXVI- : Bains de régénérations utilisées après lavage pour récupérer l'activité antiseptique des biotextiles	38
Tableau -LXVII- : Essais de régénération après lavage de l'activité antiseptique de textiles traités (15 g/kg)	40
Tableau -LXVIII- : Essais de régénération après lavage de l'activité antiseptique de textiles traités (sel 6 ₃ à 15 g/kg), par des solutions de NaCl à plusieurs concentrations et à différentes températures de bain	43
Tableau -LXIX- : Essais de régénération de l'activité antiseptique après lavage, de textiles traités (sel 6 ₃ à 15 g/kg) par NaOH 0,5 N (20°C) à différents temps de contact et avec ou sans "acidage"	44
Tableau -LXX- : Essais de régénération de l'activité antiseptique après lavage, de textiles traités (sel 6 ₃ à 15 g/kg) par NaOH 0,5 N (20°C) avec agitation mécanique ou ultra-sonication	46
Tableau -LXXI- : Activité antiseptique de tissus traités (sel 6 ₃ 15 g/kg) après plusieurs lavages à 95°C suivi d'une régénération à la soude (20 g.l ⁻¹)	48
Tableau -LXXII- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées par foulardage avec le sel 6 ₃ (15 g/kg), vis-à-vis de souches microbiennes de références	51

INTRODUCTION

Les travaux réunis dans ce fascicule font l'objet d'un dépôt de brevet ou ont été placés sous confidentialité, à la demande de DMC, maître d'oeuvre du projet "Textilyse". La partie confidentielle du mémoire s'articule en trois chapitres :

- Le chapitre "matériel et méthodes" est un résumé sommaire des travaux de recherche de M. JOLY. Il traite du procédé de fonctionnalisation, de la synthèse des sels d'ammoniums quaternaires et de leur formule chimique. Nous y avons ajouté les méthodes de traitement industriel et les protocoles des essais de lavage.

- Le chapitre "activité antiseptique des ammoniums quaternaires libres et des biotextiles" concerne, en premier lieu, les résultats et les commentaires concernant l'activité antiseptique en relation avec la structure chimique des ammoniums quaternaires. Il rassemble ensuite les essais de synthèse à l'échelon industriel et au stade pilote. Différents paramètres capables de modifier la qualité du traitement sont étudiés.

- Le chapitre "la résistance des biotextiles aux lavages" concerne l'influence des produits de lavage sur le pouvoir antiseptique des biotextiles. Différentes méthodes de lavage et bains de régénération du pouvoir antiseptique sont testées.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

Le procédé de fabrication, qui a permis la fixation d'ammoniums quaternaires sur des fibres de coton, a été mis au point au laboratoire de Chimie Organique III de l'Université de Nancy I par M. JOLY, sous la direction de Monsieur le Professeur GROSS. Ce travail a été entrepris à l'initiative de M. CHRIST, Président Directeur Général de la Filature de La Gosse, et de M. SAINGIER, Directeur des Recherches à Texunion. Nous résumons dans ce chapitre les travaux de M. JOLY (1982), dont le procédé et la synthèse de certains agents de fonctionnalisation ont fait l'objet d'un dépôt de brevet (JOLY 1981). Les différentes synthèses industrielles des sels 6 et 36 ont été effectuées par ICMD (Industrie Chimique Mulhouse Dornach). L'essai de traitement industriel du coton a eu lieu à l'usine DESCAMPS d'Erquinghem. Le traitement sur appareil "pilote" et les essais de lavages ont été réalisés au CRTM (Centre de Recherche Textile de Mulhouse).

1) La fonctionnalisation de la cellulose

1.1) Principe du procédé de fonctionnalisation

La technique, mise en oeuvre pour la fixation des ammoniums quaternaires sur la fibre de coton, est un procédé dit de "fonctionnalisation" de la molécule de cellulose : il s'agit de fixation de nouveaux radicaux sur cette macromolécule. La réaction chimique utilisée aboutit à la création d'une liaison éther entre un groupement époxyde, fixé sur une molécule d'ammonium quaternaire, et une fonction alcool primaire de la cellulose. La réaction s'effectue en milieu aqueux et en présence d'ions OH^- , pour ioniser la cellulose. Elle se poursuit selon le schéma présenté dans la figure -22-. Cette réaction est utilisée dans de nombreux procédés d'ennoblissement textile. Les applications principales de la réactivité des ammoniums quaternaires à motif époxy, ont pour objet l'amélioration de l'affinité tinctoriale des textiles et l'obtention de colorants très rémanents. Lorsque des ammoniums quaternaires sont impliqués dans des réactions de fonctionnalisation, le terme de "quaternisation" de la fibre textile est souvent utilisé.

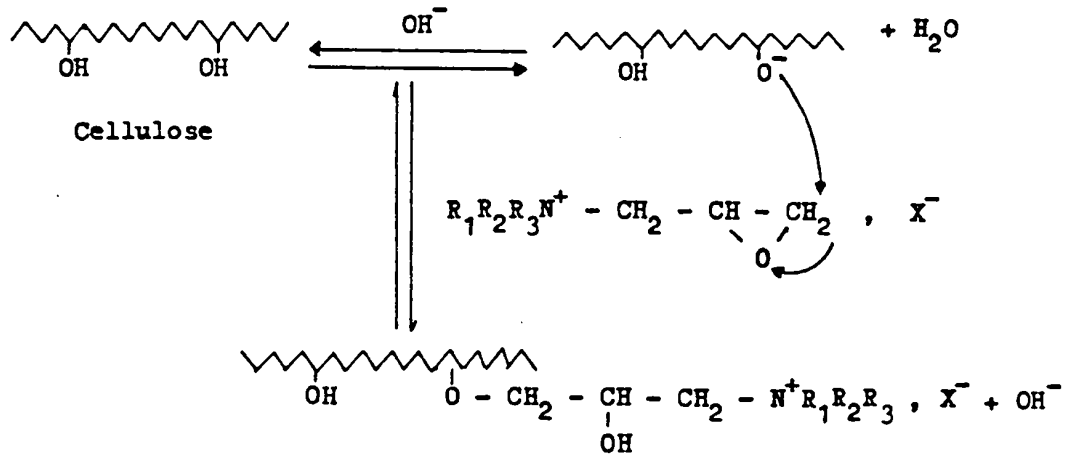


Figure -22- : Fonctionnalisation de la cellulose par des ammoniums quaternaires à motif époxy-propyl

L'idée originale du procédé de M. JOLY, réside dans l'utilisation de sels d'ammoniums quaternaires, pouvant conférer à la cellulose un caractère bactéricide ou bactériostatique. Par ce procédé, nous avons voulu créer un textile antimicrobien à bioactivité fixe dont les caractéristiques seraient à la fois un prix de revient faible et une résistance importante aux lavages. Le principal intérêt de la méthode réside, en effet, dans la permanence du traitement des fibres de cellulose : Les molécules d'ammonium quaternaire sont fixées par liaison de covalence aux fibres cellulosiques du coton. Il est donc possible d'obtenir un biotextile qui possède une grande résistance aux lavages. Ainsi ce biotextile serait susceptible d'être employé à grande échelle. En effet, la plupart des textiles à effet antimicrobien, résistent mal aux lavages et les biotextiles, qui possèdent des propriétés rémanentes, coûtent en général trop cher (VAIL 1982). Enfin les apprêts antimicrobiens, utilisant des ammoniums quaternaires, sont rapidement éliminés par les détergents, de sorte qu'il est nécessaire de renouveler l'application fréquemment pour conserver le pouvoir antiseptique.

1.2) Synthèse des agents de fonctionnalisation

Si l'on se réfère à la littérature, on s'aperçoit que les ammoniums quaternaires antiseptiques possèdent tous une chaîne aliphatique d'au moins 8 atomes de carbone. Les formules comportent souvent un radical benzyl substitué ou non par le chlore (DOMAGK 1935, WYSOCKI 1970, PAULUS 1971, WALLHAUSSER 1974, RIEDMANN 1984 ...). La synthèse des sels a été orientée de telle sorte que ils comportent au moins un de ces substituants. Cette étude permet, par la suite, de combiner sur une même molécule les radicaux les plus actifs.

Parallèlement, des dérivés quaternaires de deux amines peu étudiées (morpholine et pipéridine) ont été synthétisés dans l'espoir que ces sels possèdent des propriétés antiseptiques, à cause de leur structure hétérocyclique.

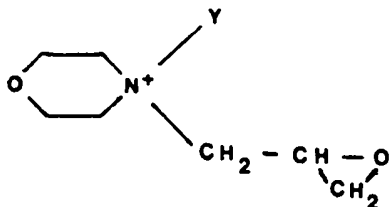
Enfin M. JOLY n'a volontairement utilisé que des produits de base disponibles en quantités industrielles ou facilement synthétisables, pour la synthèse des sels. Des produits finis trop onéreux auraient été incompatibles avec une application possible du procédé à large échelle.

Une cinquantaine de molécules ont été synthétisées. 19 ont finalement été retenues pour les tests antimicrobiens. Les critères de sélection ont été le rendement de synthèse, le taux d'époxyde obtenu et le rendement à la fonctionnalisation (JOLY 1982). Les 19 molécules choisies sont répertoriées dans les tableaux -LIV- et -LV-. Ces sels, qui possèdent tous la fonction réactive époxy-propyl, ont été classés en quatre groupes :

- Groupe I "sels de morpholinium" :
No 2, 29, 30, 32, 33 et 35 (tableau -LIV-)
- Groupe II "sels de pipéridinium" :
No 26 et 28 (tableau -LIV-)
- Groupe III "sels d'ammonium diéthylés" :
No 20, 21, 22, 23, 24 et 25 (tableau -LV-)
- Groupe IV "sels d'ammonium alkylés" :
No 6, 8, 10, 36 et 37 (tableau -LV-)

Certains sels, notamment ceux du groupe IV, sont hygroscopiques et doivent être conservés à l'abri de l'humidité de l'air dans une enceinte contenant de l'hydroxyde de potassium.

GROUPE I : Sels dérivés de la morpholine



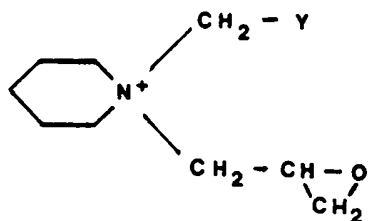
Le radical Y est un groupement méthyl :

Sel 2 : Chlorure de N-(époxy-2,3 propyl) N-méthyl morpholinium

Le radical Y est un groupement benzyl parfois substitué :

Sel <u>29</u> :	Bromure de N-(époxy-2,3 propyl)	N-benzyl morpholinium
Sel <u>30</u> :	"	"
Sel <u>32</u> :	"	N-2,6 dichlorobenzyl morpholinium
Sel <u>33</u> :	"	N-2,4 " "
Sel <u>33</u> :	"	N-3,4 " "
Sel <u>35</u> :	"	N-(4-nitro benzyl) morpholinium

GROUPE II : Sels dérivés de la pipéridine

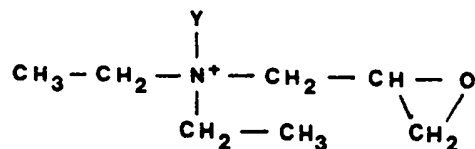


Le radical Y est un groupement benzyl substitué :

Sel <u>26</u> :	Bromure de N-(époxy-2,3 propyl)	N-2,6 dichlorobenzyl pipéridinium
Sel <u>28</u> :	"	"
		N-(4-nitro benzyl) pipéridinium

Tableau -LIV- : Composition chimique des ammoniums quaternaires à motif époxy-propyl : groupes I et II

GROUPE III : Sels d'ammonium diéthylés



Le radical Y est un groupement benzyl parfois substitué :

Sel 20 : Bromure de N-(époxy-2,3 propyl) N-benzyl N,N-diéthyl ammonium

Les sels suivants sont substitués par 2 atomes de chlore en position :

Sel 21 : N-2,6 dichlorobenzyl

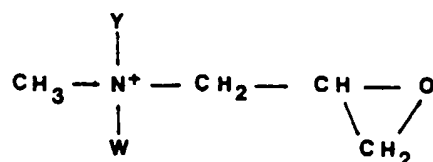
Sel 22 : N-2,5 "

Sel 23 : N-2,4 "

Sel 24 : N-3,4 "

Sel 25 : N-3,5 "

GROUPE IV : Sels portants une chaîne aliphatique



Le radical W est un groupement alkyl en C₁₂, C₁₄ ou C₁₆.

Sel <u>6</u> : Y = méthyl	W = dodécyl
Sel <u>8</u> : Y = méthyl	W = tétradécyl
Sel <u>10</u> : Y = méthyl	W = hexadécyl
Sel <u>36</u> : Y = benzyl	W = dodécyl
Sel <u>37</u> : Y = 2,6 dichlorobenzyl	W = dodécyl

Tableau -LV- : Composition chimique des ammoniums quaternaires
à motif époxy-propyl : groupes III et IV

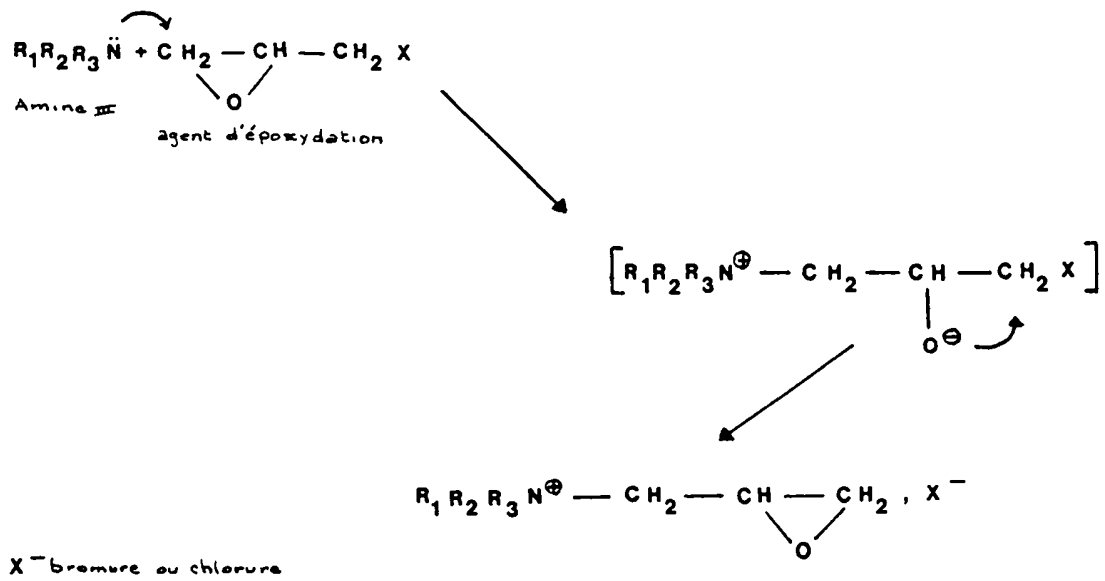


Figure -23- : Schéma de synthèse de sels d'ammoniums quaternaires époxydés par voie directe

1.2.1) Synthèse en une étape (voie directe)

Les sels 2, 6, 8, et 10 sont synthétisés à partir d'une amine tertiaire (morpholine : sel 2 ; amine aliphatique : sels 6, 8 et 10) que l'on fait réagir avec l'agent de quaternisation portant la fonction époxyde (épichlorhydrine : sel 2 ou épibromhydrine : sels 6, 8, et 10). Le schéma réactionnel de la synthèse est présenté dans la figure -23-.

La réaction se déroule en milieu aqueux. Le sel obtenu est un chlorure si l'on utilise de l'épichlorhydrine et un bromure si l'on se sert de l'épibromhydrine. Cette voie de synthèse est la plus économique, mais n'autorise pas la synthèse de molécules comportant un groupe benzyl.

1.2.2) Synthèse des sels en trois étapes

Tous les autres sels ont été fabriqués de cette manière. Cette voie de synthèse met à profit la très grande réactivité de l'épichlorhydrine sur les amines secondaires. On obtient ainsi une amine tertiaire qui est mise en présence d'un excès de soude pour fermer l'époxyde. L'étape suivante consiste à quaterniser cette amine époxydée par un agent d'alkylation. Le schéma réactionnel entier se trouve représenté figure -24-.

Après la fonctionnalisation, le tissu est rincé par débordement à l'eau froide, suivi de deux rinçages à l'eau distillée bouillante et de deux rinçages à l'eau distillée froide. Avant séchage, les échantillons sont rincés une fois avec de l'alcool éthylique.

Les essais de fonctionnalisation sont menés en milieu aqueux en présence d'ions hydroxydes (NaOH 15 %, 20°C, pH 13), qui jouent un rôle de catalyseur de la réaction. Les traitements sont réalisés dans des Erlen-Meyers, sous agitation, pendant 24 heures. Les rendements varient de 20 à 77 %, ainsi qu'on peut le voir sur le tableau -LVI-. Si l'on s'intéresse à l'influence de la chaîne grasse, on s'aperçoit que le rendement décroît rapidement lorsque l'on passe de 12 à 16 atomes de carbone. Il n'a pas été possible d'obtenir des sels ayant une chaîne à 18 atomes de carbone.

La présence du groupement benzyl n'entraîne une augmentation du rendement de fixation que lorsqu'il est lui-même substitué par le chlore. M. JOLY a par ailleurs constaté que les sels de bromure et de chlorure sont plus réactifs que les sels d'iodure. La structure des fibres n'est quasiment pas affectée par le traitement. Le degré de polymérisation de la cellulose reste inchangé. Les fils perdent toutefois environ 12 % de résistance initiale à la traction.

2) Synthèse et fonctionnalisation industrielles

Deux sels ont fait l'objet de synthèse industrielle (6 et 36). Si les sels ont été obtenus par voies de synthèse identiques, certaines modifications ont dû être apportées quand à l'origine des réactifs de base et à la nature des solvants. Le traitement du coton ne s'est également plus fait dans les mêmes conditions.

2.1) La synthèse des sels 6 et 36

Plusieurs lots de sels 6 ont été préparés. Nous avons appelé 6₁ le sel synthétisé en laboratoire selon la méthode décrite auparavant. Le sel 6₂ a été préparé de la même manière, mais en utilisant des produits de base moins onéreux. L'épibromhydrine a été remplacée par de l'épichlorhydrine. Cette dernière est, de surcroît, plus communément disponible auprès des fournisseurs.

groupe	sel	R %	groupe	sel	R %
	<u>2</u>	37		<u>20</u>	35
	<u>29</u>	32		<u>21</u>	32
I	<u>30</u>	44	III	<u>22</u>	48
	<u>32</u>	53		<u>23</u>	43
	<u>33</u>	57		<u>24</u>	47
	<u>35</u>	22		<u>25</u>	40
	<u>26</u>	51		<u>6</u>	56
II	<u>28</u>	20	IV	<u>8</u>	43
				<u>10</u>	24
IV	<u>36</u>	77		<u>37</u>	55

Tableau -LVI- : Rendements moyens de la fonctionnalisation de celluloses de coton par les différents sels époxydés

R : Rendement en pourcentage de sels fixés.

La deuxième modification concerne la qualité des amines grasses. Pour les synthèses de laboratoire, les préparations sont très riches en dodécyl-diméthylamine. Le lot 6₂ a été préparé à partir d'un mélange d'amines tertiaires comportant une majorité de produits en C₁₂ et des composés allant de C₈ à C₁₈. En effet, les amines ont été obtenues à partir d'huiles végétales, de sorte que la répartition moyenne des chaînes grasses des ammoniums quaternaires du lot 6₂ est :

- C ₈ : 3 %	- C ₁₀ : 6 %	- C ₁₂ : 55 %
- C ₁₄ : 20 %	- C ₁₆ : 10 %	- C ₁₈ : 6 %

On dit que la préparation de sel 6₂ est du chlorure de coco diméthyl 2,3-époxypropyl ammonium. Etant donné les différences de rendement à la fonctionnalisation entre les divers constituants, il est impossible de connaître la proportion exacte de molécules en C₁₂ qui se fixent sur le coton.

Les lots 6₃, 6₄ et 6₅ sont des préparations véritablement industrielles (produits et synthèse). Pour ces lots, on a de nouveau utilisé des amines grasses très riches en dodécyl-diméthylamine (> 95 %). Les lots 6₃ et 6₄ sont préparés à partir d'épichlorhydrine et le lot 6₅ à partir d'épibromhydrine. Pour ces trois lots, il a été nécessaire d'effectuer la réaction en présence d'un solvant organique, afin que le produit ne prenne pas en masse, auquel cas il eût été impossible de le récupérer. Deux solvants ont été employés : le 1,2-dichloro éthane (lots 6₃ et 6₅) et le diméthylsulfoxyde ou DMSO (lot 6₄). On obtient ainsi une solution de sel 6 dans un mélange d'eau et de dichloroéthane ou DMSO à 35 %. La fonctionnalisation est effectuée avec ces préparations en l'état, car il est impossible d'éliminer le solvant.

Le sel 36 a été synthétisé une fois à l'échelon industriel (sel 36i). Le sel 36i est préparé en trois étapes, comme au laboratoire, à partir d'épibromhydrine. Les amines secondaires utilisées ont été purifiées pour obtenir des préparations riches en méthyl dodétylamine. La quaternisation a été faite en présence de 1,2-dichloroéthane, l'acétonitrile ayant été jugé trop dangereux. Il s'agit donc également d'une solution dans du dichloroéthane à 35 %.

sel	solvant	% C ₁₂	agent époxydation
6 ₁	eau	C ₁₂ >95 %	épibromhydrine
6 ₂	eau	C ₁₂ 55 %	épichlorhydrine
6 ₃	dichloréthane	C ₁₂ >95 %	épichlorhydrine
6 ₄	D. M. S. O.	C ₁₂ >95 %	épichlorhydrine
6 ₅	dichloréthane	C ₁₂ >95 %	épibromhydrine
36	acétonirile	C ₁₂ >95 %	épibromhydrine
36i	dichloréthane	C ₁₂ >95 %	épibromhydrine

Tableau -LVII- : Réactifs utilisés pour la fabrication des sels d'ammoniums quaternaires époxydés 6 et 36

Les différents lots de sels synthétisés au laboratoire et industriellement, ainsi que les réactifs qui ont servi à leur élaboration, sont indiqués dans le tableau -LVII-.

2.2) Le foulardage

Le traitement du coton aux stades industriels et pilotes s'est fait en utilisant le système du foulardage, très employé en teinturerie. La figure -25- donne une représentation schématique du type d'appareil utilisé ("foulard"). La pièce de coton circule dans un bain où elle s'imprègne de la solution de traitement. Au sortir du "foulard", le tissu est enroulé puis stocké sous film plastique, pour maintenir l'humidité. L'ensemble est laissé sur roule tournante pendant 24 heures au terme desquelles, il est déroulé pour les rinçages ultimes et le séchage.

Le coton utilisé pour les traitements par foulardage, est un tissu écru, blanchi à froid et désencollé par les usines DESCAMPS. Il sert habituellement de base à la confection de draps 100 % coton. Son poids est d'environ 13,5 mg/cm² de tissu.

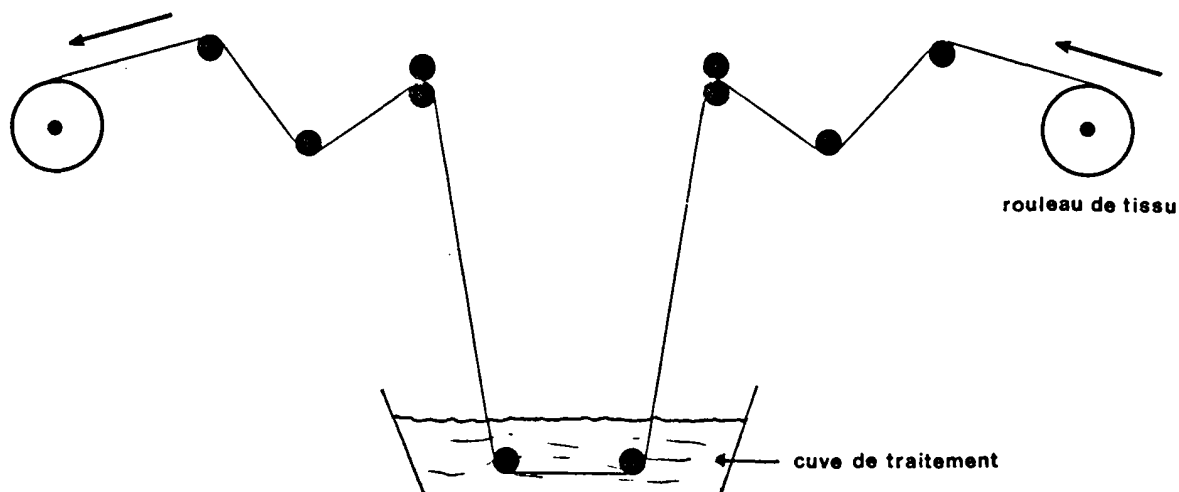


Figure -25- : Schéma d'un appareil de foulardage utilisé pour le traitement industriel des cotonnades

Le tissu a été utilisé directement (type "D") ou après blanchiment supplémentaire par le CRTM (type "M"). Le coton "M" est ainsi plus hydrophile que le coton "D". Seuls les sels G_3 , G_4 et G_5 ont servi dans les traitements de foulardage. L'appareil d'Erquinghem est un "foulard" capable de traiter plusieurs km de tissu par heure. Celui du CRTM est un appareil pilote de laboratoire BENZ.

Lorsque le traitement est achevé les tissus sont lavés abondamment. Pour les essais industriels, le tissu a été lavé à 102°C , avec de l'eau courante, après neutralisation à l'acide acétique. Les traitements stade "pilote" ont subis les rinçages suivants, effectués avec une machine à laver de laboratoire de type PETER :

- 2 x 36s à 90°C par de l'eau distillée
- 1 x 36s à 60°C par de l'eau distillée
- 1 x 36s à 20°C en présence d'acide acétique (5 ml/l)
- 1 x 36s à 20°C par de l'eau distillée

Les traitements à l'acide acétique ont pour but de neutraliser la soude qui sert de catalyseur à la réaction. Les rapports de bain ont été de 1/50. Les tissus sont séchés à température ambiante.

3) Les essais de résistance aux lavages

Tous les essais ont été effectués au CRTM avec des tissus traités par les sels 6_a, 6₄ et 6₅.

Les lavages ont été effectués avec une machine à laver de type WASCATOR FOM 71, selon la norme NF G 07-136. La composition de la lessive est normalisée :

- Tripolyphosphates	43,8 %
- Sulfate de sodium (Na ₂ SO ₄)	21,0 %
- Silicate de sodium	16,5 %
- Alcoyl benzène sulfonate (11,5 C en moyenne) ..	8,0 %
- Savon de sodium	3,5 %
- Alcool de SUIS éthoxylé (14 grts éthoxy)	2,9 %
- Silicate de magnésium	1,9 %
- Carboxyméthylcellulose	1,2 %
- Eau (H ₂ O)	0,8 %
- E.D.T.A.	0,2 %
- Azurant optique	0,2 %

Les lavages s'effectuent à 92°C avec 2,4 g.l⁻¹ de lessive. Le volume de bain de lavage est de 5,25 l/kg de linge (rapport de bain 1/5,25). Le volume de rinçage est de 7 l/kg. Dans certains essais, il a été ajouté au lavage 0,6 g.l⁻¹ de perborate de sodium. Ce dernier entre, en effet dans la composition de nombreuses lessives. Enfin, les tissus ont pu être javellisés à l'avant-dernier rinçage, à raison de 0,04 g.l⁻¹ de chlore actif. Les tissus sont séchés à l'air ambiant et repassés au fer à 150°C.

Certains lavages ont été effectués au laboratoire de microbiologie. Nous avons utilisé une lessive du commerce (SKIP), à 95°C, avec pré-lavage et lavage. Nous avons suivi les conseils du fabricant pour les doses de lessive et de Javel. 50 lavages itératifs ont été faits de cette manière.

Les essais de régénération des biotextiles ont été nombreux et divers. Nous avons préféré exposer les méthodes employées, une par une, dans la partie résultats.

RESULTATS
ET
COMMENTAIRES

I. ACTIVITE ANTISEPTIQUE DES AMMONIUMS QUATERNAIRES LIBRES ET DES BIOTEXTILES

1) Structure chimique et pouvoir antiseptique

Nous allons commenter dans ce paragraphe les résultats, obtenus avec les ammoniums quaternaires solubles et fixés, présentés dans la partie générale du mémoire, au chapitre "ELABORATION ET CARACTERISATION DU BIOTEXTILE". Le pouvoir antiseptique des sels n'avait alors pas été commentés en relation avec leur structure chimique. La raison en est que celle-ci est confidentielle.

1.1) Activité antiseptique des sels libres

Nous avons reporté dans le tableau -LVIII-, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) moyenne de chaque sel, vis-à-vis de cinq souches microbiennes.

Les composés du groupe IV ont été les plus efficaces (CMI moyennes inférieures à $6 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$). Ils sont les seuls à posséder une chaîne aliphatique. Les composés 6, 8 et 10 ne diffèrent entre-eux que par la longueur de la chaîne grasse. Nous avons ainsi constaté que le groupement dodécyl (C_{12}) confère une plus grande activité germicide que les radicaux en C_{14} ou en C_{16} . Cet ordre (C_{12}) C_{14}) C_{16}) est globalement respecté pour tous les germes testés sauf pour la bactérie Streptococcus faecalis (C_{16}) C_{12}) C_{14}). Les sels 36 et 37 (chaîne en C_{12}) sont plus actifs que le sel 6. Deux explications peuvent être avancées. D'une part, la présence d'un radical benzyl augmente leur solubilité : nous avons vu dans les généralités que ce facteur joue parfois un rôle important (DAMODARAN 1952, KOSTENBAUDER 1977). D'autre part, ces mêmes radicaux benzyl accentuent le caractère amphiphile des molécules. Il existe en effet une relation étroite entre le pouvoir antiseptique et la densité électronique au voisinage de l'atome d'azote (CELLA 1952, KOURAI 1985b).

Les composés des groupes I, II et III sont beaucoup moins efficaces, avec des CMI moyennes variant de 1300 à plus de $3000 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Les sels issus de la morpholine ou de la pipéridine sont tous peu actifs les uns autant que les autres.

groupe	sel	CMI	groupe	sel	CMI
I	<u>2</u>	3450	III	<u>20</u>	2700
	<u>29</u>	3112		<u>21</u>	2873
	<u>30</u>	3037		<u>22</u>	2119
	<u>32</u>	2522		<u>23</u>	2011
	<u>33</u>	1828		<u>24</u>	1326
	<u>35</u>	3150		<u>25</u>	1584
II	<u>26</u>	2869	IV	<u>6</u>	1,16
	<u>28</u>	2737		<u>8</u>	5,19
				<u>10</u>	5,61
IV	<u>36</u>	0,38		<u>37</u>	0,44

Tableau -LVIII- : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) moyennes des sels d'ammoniums quaternaires libres, vis-à-vis de cinq souches microbiennes (CMI exprimées en $\mu\text{g. ml}^{-1}$)

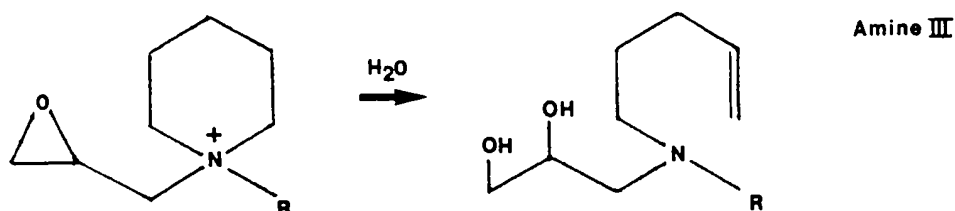
Souches utilisées :

- Staphylococcus aureus CIP 7625
- Escherichia coli CIP 7624
- Pseudomonas aruginosa CIP 76110
- Streptococcus faecalis CIP 5855
- Candida albicans CHR

Nous avons pu, cependant, remarquer que les sels possédant un cycle benzénique substitué en 3,4 (sels 33 et 24) ou en 3,5 (sel 25) par deux atomes de chlore, sont sensiblement plus actifs que leurs homologues. Ainsi les isomères, dont les atomes de chlore sont en position para de l'azote quaternaire, présentent une meilleure efficacité. Ces observations recourent celles de KOURAI (1985b), effectuées avec des noyaux pyridiniques. Enfin, la présence du groupement NO_2 en position para n'améliore pas l'activité des sels 28 et 35.

Il nous a paru intéressant, à la lecture de ces résultats, d'introduire dans une même molécule, un radical benzyl substitué en 3,4 par deux atomes de chlore et un radical dodécyl. Ce composé s'est malheureusement révélé peu soluble, interdisant la mesure de son activité et son emploi ultérieur pour la fonctionnalisation.

Lors des tests de CMI, les sels des groupes I et II se sont montrés peu résistants aux traitements thermiques. Il est possible qu'ils subissent un début d'élimination avec rupture de l'hétérocycle et formation d'une amine tertiaire biologiquement inactive :



Le groupement époxy-propyl ne semble pas avoir d'effet inhibiteur. En effet la fonction époxy n'est pas stable à 120°C et s'ouvre. L'absence de différences d'activités antiseptiques entre les sels non traités à la chaleur et les sels traités (groupes III et IV) le confirme. Les sels, qui ont servi aux tests toxicologiques, avaient également été portés à 120°C car la fonction époxy est connue pour sa toxicité.

1.2) Activité antiseptique des sels fixés

Au terme des expérimentations pour la sélection des molécules présentant la meilleure efficacité antiseptique, les sels 6, 8, 36 et 37 ont été choisis pour les essais de fonctionnalisation. Le sel 10 a été abandonné en raison de son rendement de fixation relativement faible (voir tableau -LVI-) et de son Indice d'Irritation Primaire Cutanée élevé (tableau -XXII-). Il convenait, néanmoins, de vérifier que les sels d'ammoniums quaternaires les plus actifs à l'état solubles, étaient également les plus actifs après leur fixation. Cette étude a été menée avec des celluloses traitées par les sels 20, 30 et 8, les deux premiers étant peu actifs. Nous avons utilisé les deux méthodes de détermination de l'activité antiseptique (tableau -LIX-).

Les résultats ont révélé une grande différence d'activité chez les celluloses traitées aux sels 20 ou 30, selon que l'une ou l'autre méthode est employée. Alors qu'avec la méthode du contact agité, elles ont présenté une certaine activité antibactérienne, les molécules 20 et 30 fixées sont apparues totalement inactives avec la méthode AATCC. Cette différence peut être imputée à un artefact dû à la méthode du contact agité. En effet, dans cette dernière méthode, on mesure la quantité de bactéries présentes dans le milieu surnageant et non le nombre de bactéries présentes sur le tissu. Or, selon toute probabilité, les bactéries sont adsorbées par les textiles fonctionnalisés. La proportion de bactéries en suspension dans le milieu doit donc diminuer progressivement, sans que pour autant elles soient inhibées. Cette observation a déjà été faite par HATTORI en 1972. Celui-ci a utilisé une résine échangeuse d'anion, greffée par un ammonium quaternaire simple (chlorure de tétraméthylammonium), pour fixer des cellules bactériennes. Il a pu suivre la croissance des cellules adsorbées sur la résine. Ces dernières avaient même un taux de croissance plus élevé que celui des cellules libres. Pour notre part, nous avons pu montrer par la méthode AATCC que les bactéries adsorbées étaient tuées. Nous estimons que pour les ammoniums quaternaires solubles, comme pour les ammoniums quaternaires insolubles, l'obtention d'une bonne activité antiseptique est toujours en corrélation avec la présence d'une chaîne aliphatique d'au moins 8 atomes de carbone. Leur mode d'action doit donc être tout à fait similaire.

celluloses	N ₀	N ₆	N ₂₄
<u>méthode du contact agité</u>			
témoin	1,4.10 ⁴	7,7.10 ²	3,3.10 ³
sel 20 (34 g/kg)	"	1,9.10 ²	70
sel 30 (55 g/kg)	"	3,4.10 ²	1,1.10 ²
sel 8 (36 g/kg)	"	0	0
<u>méthode A.A.T.C.C.</u>			
témoin	1,3.10 ³	7,7.10 ²	2,5.10 ³
sel 20 (34 g/kg)	"	9,2.10 ²	4,5.10 ³
sel 30 (55 g/kg)	"	6,3.10 ²	1,2.10 ³
sel 8 (36 g/kg)	"	61	13



Tableau -LIX- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées par des sels d'ammoniums quaternaires vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625

N₀, N₆ et N₂₄ : u.f.c./cm² après 0, 6 et 24 heures de contact

Nous avons vu dans la partie générale (tableau -XXVII-), que les quatre sels choisis (6, 8, 36 et 37) ont une bonne activité antiseptique après fixation sur Staphylococcus aureus, Escherichia coli et Streptococcus faecalis. Nous avons pu constater, de nouveau, que les molécules ayant une chaîne en C₁₂, sont les plus actives. Cependant, seul le sel 6 a présenté une activité intéressante vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa. A ce stade du projet, nous avons décidé de poursuivre l'étude avec le seul sel 6, sans toutefois écarter définitivement le sel 36. Le sel 37, qui ne présentait pas d'avantages déterminants par rapport au sel 36, tout en étant plus onéreux, a été abandonné. De même le sel 8, moins actif que le sel 6, n'a pas été retenu. Nous avons enfin établi que la charge en ammoniums quaternaires devait se situer entre 5 et 30 g/kg de coton.

Les tests de toxicologie ont montré le faible pouvoir irritant des celluloses fixées. Nous avons même pu constater que les celluloses traitées avec les sel du groupe IV, possédaient un toucher subjectivement plus doux. Il s'agit là d'une propriété adoucissante connue des ammoniums quaternaires possédant une chaîne aliphatique.

2) Activité antiseptique des sels de synthèse industrielle fixés

Le premier lot de synthèse industrielle (lot 6₂) a été rapidement abandonné. L'activité des celluloses traitées s'est avérée trop faible vis-à-vis de certaines Enterobacteriaceae (tableau -XXXV-) et surtout vis-à-vis des Pseudomonadaceae (tableau -XXXVI-). Si l'on tient compte des rendements de fonctionnalisation (identiques entre chlorures et bromures), on peut estimer qu'il se fixe très peu de molécules ayant une chaîne grasse en C₁₈. Par contre la majorité des molécules en C₈ et C₁₀ ont dû se fixer. Il y aurait ainsi près de 60 % de sel 6 et 16 % de sel 8 fixés à la cellulose. Cela signifie que les 24 % d'ammoniums quaternaires restants ont une activité antiseptique très faible (molécules en C₈ et C₁₀ surtout). Pourtant, le sel 6₂ soluble a une activité bactéricide plus importante que le sel 6₁ (CMI quatre fois plus petite). Ce phénomène peut être dû à des traces d'épichlorhydrine n'ayant pas réagi. Au cours de la fonctionnalisation, ce dernier produit est soit hydrolysé en glycérine, soit étherifié sur la cellulose. Le traitement des celluloses a également pu être perturbé par la présence d'impuretés indésirables. Quoiqu'il en soit, la nécessité de purifier les amines grasses de base nous a paru primordiale.

2.1) les essais de fonctionnalisation industrielle

Ces essais ont été faits à l'usine DESCAMPS d'Erquinghem avec le sel 6₃. Celui-ci a servi au traitement de tissu de coton type "D". La charge en ammonium quaternaire a été fixée à 30 g/kg de coton. La synthèse et le traitement du coton ont été faits tous deux à l'échelon industriel.

Le tissu a été testé vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes. Nous avons choisi de présenter dans le tableau -LX- les résultats obtenus avec Staphylococcus aureus. Le niveau d'activité antiseptique du tissu de synthèse industrielle s'est révélé supérieur à celui obtenu en laboratoire avec le sel 6₁. Nous avons cependant vite remarqué que les celluloses industrielles agissaient beaucoup plus rapidement (98 % de la population bactérienne inhibée en 1 heure). Des rinçages à l'eau adoucie (rapport de bain de 1/100, 80°C, 1 heure) ont été entrepris pour vérifier la solidité du traitement. La quantité d'ammoniums quaternaires fixés a été évaluée par la méthode des ions picrates. Nous avons reporté figure -26-, la quantité d'ions picrates échangés (meq./kg de coton), en fonction du nombre de rinçages.

celluloses	N ₀	N ₁	N ₆	N ₂₄
témoin	2,1.10 ⁵	1,9.10 ⁵	1,1.10 ⁵	8,4.10 ⁴
sel 6 ₁ 15 g/kg	"	4,8.10 ⁴	23	0
sel 6 ₃ 30 g/kg	"	1,2.10 ²	0	0

Tableau -LX- : Activité antiseptique du biotextile de synthèse industrielle (sel 6₃, 30 g/kg de coton), vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625

N₀, N₁, N₆ et N₂₄ : Nombre de bactéries survivantes en u.f.c./cm² de tissu, après 0, 1, 6 ou 24 heures de contact

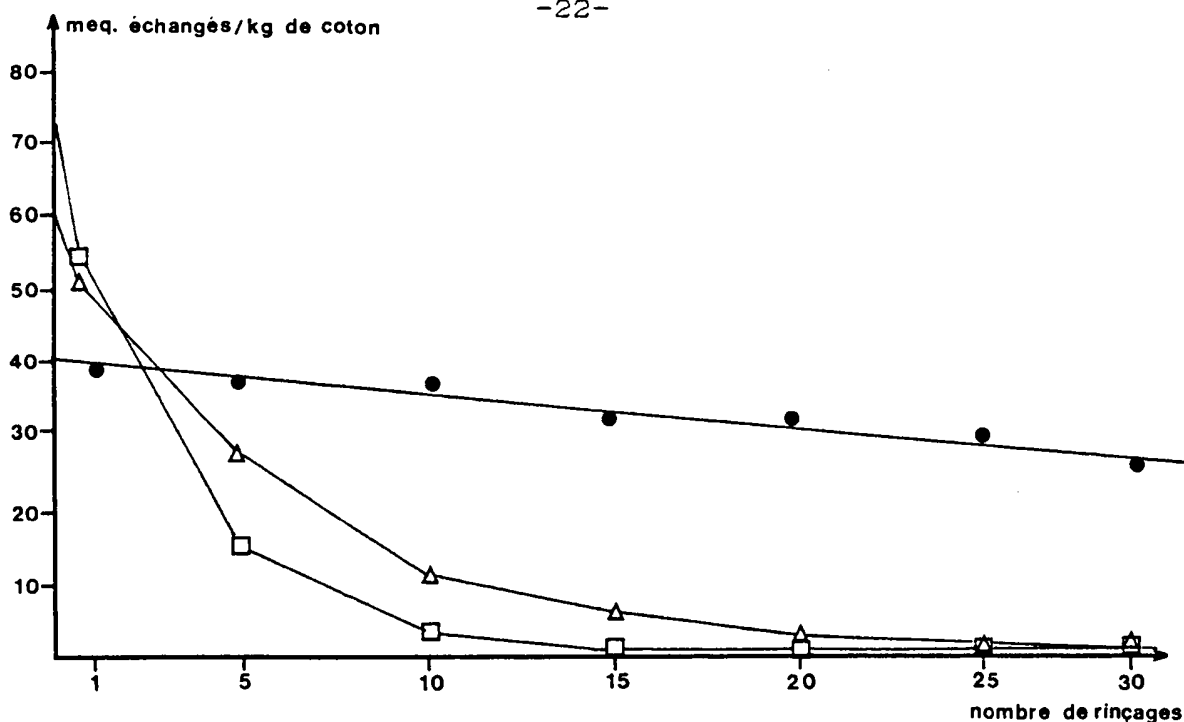


Figure -26- : Désorption des ammoniums quaternaires, Déterminée par la méthode des ions picrates, après rinçages à l'eau adoucie (80°C) :
 (□) tissu traité au sel 6₃ par foulardage industriel
 (Δ) tissu "D" imprégné de sel 6₁ non époxydé
 (●) tricot jersey fonctionnalisé par le sel 6₁

Comme on peut le voir, le traitement de fonctionnalisation, effectué à Erquinghem, n'a pas donné de bons rendements de fixation. Après 15 lavages, il ne subsiste plus d'ammoniums quaternaires sur les fibres textiles. Nous avons pu constater également que la quantité de sel présente au niveau du tissu, ne correspondait pas à la dose théorique que nous avons calculée (30 g/kg de coton). Nous n'avons, en effet, retrouvé que $22,3 \pm 0,4$ g de sel par kg de coton. Le tissu traité au sel 6₃ se comporte comme un tissu de coton simplement imprégné d'ammoniums quaternaires. Les traitements effectués en laboratoire avec le sel 6₁ résistent mieux aux rinçages.

Le sel 6₃ n'a donc pas été fixé sur le tissu. Après un seul rinçage, la perte en charge ($5,74 \pm 0,4$ g/kg) équivalait à 25,8 % du taux initial. Nous avons évalué par CMI (avec staphylococcus aureus), une estimation de la quantité de produit bactéricide relargué. Après 1 rinçage, il s'est désorbé l'équivalent de 1,88 g de sel 6 par kg de coton.

Ainsi près des 2/3 des produits relargués ne sont pas bactéricides. Pourtant, nous avons pu déterminer, que les produits désorbés étaient bien des ammoniums quaternaires par dosage du bain de rinçage avec l'éosine jaunâtre. Ainsi, l'équivalent de $5,97 \pm 0,1$ g de sel 6 ont été relargués par kg de coton.

L'activité antiseptique sur les tissus s'explique par le fait que nous avons mesuré, en réalité, l'activité antiseptique d'ammoniums quaternaires non fixés. Si 2/3 des produits sont inactifs, on peut estimer à environ $100 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ la quantité de sel 6 soluble au niveau du tissu. La CMI du sel 6 vis-à-vis de Escherichia coli, est de $1,76 \mu\text{g}/\text{ml}$ pour 10^5 u.f.c./ml. L'activité bactéricide du produit soluble est plus intense et plus rapide que celle des ammoniums quaternaires insolubles. Nous estimons, en effet, que $200 \mu\text{g}$ de sel fixé ont une activité bactéricide équivalente à $1 \mu\text{g}$ de sel soluble.

Le dosage de la solution de sel 6₃ au cours du temps a montré qu'il n'était pas stable en présence de dichloréthane et qu'il fallait utiliser le produit préparé dans la semaine. Ceci peut expliquer l'erreur faite quant à l'estimation de la dose à fixer. Nous avons également montré qu'une partie des sels d'ammoniums quaternaires (2/3) n'étaient pas antiseptiques. Enfin l'accrochage des sels n'a pas eu lieu.

D'un point de vue chimique, il n'y avait pourtant aucune raison pour que le traitement échouât. Nous avons entrepris de lancer une expérimentation plus rigoureuse pour déterminer si certains paramètres n'ont pas une importance plus grande que nous ne le pensions.

2.2) Les essais de fonctionnalisation au stade pilote

Nous avons fait varier plusieurs paramètres :

- la qualité du coton avec le tissu type "D", le même coton rendu plus hydrophile par blanchiment oxydatif (type "M") et le coton utilisé pour les tricots Jersey (type "J").

- Le mode opératoire du traitement de fonctionnalisation: stade pilote (foulardage) ou traitement en laboratoire.

- Le solvant, en remplaçant parfois le 1,2-dichloroéthane (sel 6₃) par le diméthylsulfoxyde ou DMSO (sel 6₄).

- La nature du sel (6 et 36).
- La charge en ammoniums quaternaires (5 et 15 g/kg de coton).
- L'origine du sel (épibromhydrine -> 6₃ ou bien épichlorhydrine -> 6₃ et 6₄).

Nous avons étudié 12 celluloses ('1' à '12') traitées différemment (tableau -LXI-). Nous avons vérifié que tous les traitements donnaient une fonctionnalisation stable, en effectuant une série de rinçages à 80°C (rapport de bain 1/100). Pour l'ensemble des celluloses fonctionnalisées du tableau -LXI-, la charge en ammoniums quaternaires n'a pas diminué significativement après 10 rinçages. Staphylococcus aureus et Escherichia coli ont servi aux tests d'efficacité antiseptique. Les résultats sont rassemblés dans le tableau-LXII-. Préalablement, nous avons vérifié qu'aucune trace résiduelle de solvant ne pouvait entraîner une activité antiseptique capable d'interférer avec celle des ammoniums quaternaires : des tissus témoins traités au stade pilote, sans ammoniums quaternaires, n'ont montré aucune activité antimicrobienne. Les solvants (D.M.S.O. et dichloroéthane) semblent être éliminés au cours des rinçages et du séchage.

2.2.1) Etude de différents paramètres de fonctionnalisation

Comme il n'est pas possible de rassembler tous les résultats dans un même tableau, les commentaires qui suivent, s'appuient simultanément sur les tableaux -LXI- et -LXII-. Nous effectuons des comparaisons entre les celluloses qui ne diffèrent entre elles que par un seul paramètre.

Influence du coton

Si nous comparons la cellulose '1' par rapport à la cellulose '3', la cellulose '6' par rapport à la cellulose '7' ou la cellulose '8' par rapport à la cellulose '9', le tissu "M", le plus hydrophile, permet de meilleurs rendements de fixation que le tissu "D". Il se fixe 5 à 8 % de produits en plus sur le coton type "M". Cette différence n'est cependant pas suffisante pour que nous puissions détecter des différences d'activité antiseptique.

Cel.	sel	coton	fonct.	Ct g/kg	Ce meq. /kg	Cs g/kg	R (%)
'1'	6 _a	"D"	Pilote	15	30,3	9,3	62
'2'	6 _a	"D"	Pilote	5	4,3	1,3	26
'3'	6 _a	"M"	pilote	15	34,4	10,5	70
'4'	6 _a	"M"	pilote	5	5,3	1,6	32
'5'	6 _a	"J"	labo	15	35,6	10,9	73
'6'	6 _a	"D"	pilote	15	18,2	5,6	37
'7'	6 _a	"M"	pilote	15	20,1	6,2	41
'8'	6 _a	"D"	pilote	15	33,1	11,6	77
'9'	6 _a	"M"	pilote	15	36,7	12,8	85
'10'	6 _a	"J"	labo	15	39,9	14,0	93
'11'	36	"J"	labo	15	24,5	10,4	69
'12'	36i	"D"	pilote	15	4,9	2,1	14

Tableau -LXI- : Principaux paramètres de celluloses fonctionnalisées au stade pilote et en laboratoire

Cel. : Celluloses

fonc. : fonctionnalisation au stade pilote (foulardage) ou en laboratoire (labo)

Ct : Charge théorique en sels d'ammoniums quaternaires

Ce : Capacité d'échange d'ions picrates

Cs : Charge réelle en sel

R : Rendement de fixation en pourcentage

Cel.	<u>Staphylococcus aureus</u>			<u>Escherichia coli</u>		
	u. f. c. /cm ²			u. f. c. /cm ²		
	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ³	10 ⁴	10 ⁵
'1'	+++	<u>±</u>	-	+++	+ +	-
'2'	+++	-	-	+++	<u>±</u>	-
'3'	+++	<u>±</u>	-	+++	+ +	-
'4'	+++	-	-	+++	<u>±</u>	-
'5'	+++	+ +	-	+++	+ +	-
'6'	+++	<u>±</u>	-	+++	+ +	-
'7'	+++	<u>±</u>	-	+++	+ +	-
'8'	+++	<u>±</u>	-	+++	<u>±</u>	-
'9'	+++	+ +	-	+++	+ +	-
'10'	+++	+++	<u>±</u>	+++	+ +	<u>±</u>
'11'	+++	+++	+	+++	+ +	<u>±</u>
'12'	+ +	-	-	<u>±</u>	-	-

Tableau -LXII- : Activité antiseptique de tissus traités selon différentes méthodes et divers sels vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625 et de Escherichia coli CIP 7624

Cel. : celluloses

Influence du mode opératoire

Il s'agit ici de vérifier si le système du foulardage est adapté au traitement des celluloses. Le tissu "J" est confectionné, en laboratoire, avec un coton proche du type "M". La meilleure comparaison doit se faire entre la cellulose '5' et la cellulose '3'. Nous avons obtenu en laboratoire un rendement légèrement supérieur à celui obtenu en stade pilote. La cellulose '3' possède par ailleurs une activité antiseptique un peu plus importante vis-a-vis de Staphylococcus aureus. Cette différence peut cependant être due à la texture des échantillons, la structure plus lâche du tricot favorisant le contact bactéries-fibre. Il n'a pas été possible de traiter des tricots avec un "foulard". Néanmoins, le traitement par foulardage ne semble pas diminuer considérablement les rendements de fixation.

Influence du solvant

Il s'agit de comparer les celluloses traitées au sel 6₃ (dichloroéthane) aux celluloses traitées au sel 6₄ (DMSO). Les rendements obtenus avec ce dernier solvant (celluloses '6' et '7') sont nettement moins bons, avec 40 % de produit fixé en moins, par rapport aux résultats obtenus avec les celluloses homologues traitées en présence de dichloroéthane (respectivement '1' et '3'). L'utilisation du DMSO est d'autant moins intéressante qu'elle nécessite des manipulations supplémentaires.

Si par contre nous faisons la comparaison entre les rendements obtenus avec les celluloses '5' (traitement en présence de dichloroéthane) et '10' (traitement dans l'eau pure), nous constatons que la présence du solvant entraîne une diminution notable du rendement de fixation (73 % au lieu de 93 %).

Influence de la nature du sel

Le rendement de fixation du sel 36i est très faible (cellulose '12' : 14 %) et cinq fois plus petit que le rendement obtenu avec le sel 36 (cellulose '11' : 69 %). Il existe pour la cellulose '11', une différence importante entre la charge théorique et la charge réelle en sel. La détermination de la quantité de réactifs à employer avait pourtant été déterminée en fonction des rendements calculés dans le tableau -LVI-. Ces valeurs avaient été établies en utilisant une méthode de dosage différente de celle des ions picrates (JOLY 1982). Il est difficile d'établir, pour le moment, qui de l'une ou l'autre méthode est la plus précise.

Les valeurs obtenues avec la méthode des ions picrates ne doivent donc pas être prises en absolu. Elles ne peuvent nous servir, pour l'instant, qu'à des mesures relatives.

Influence de la charge

Pour étudier ce paramètre, il faut faire les comparaisons '1'/'2' et '3'/'4'. Les rendements de fixation ont été moitié moins élevés quand nous avons voulu fixer 5 g de sel par kg de coton au lieu de 15 g/kg. Cette différence importante pourrait être due aux solvants, qui empêcheraient l'adsorption des ammoniums quaternaires sur la cellulose. Cet effet serait plus perceptible en présence de faibles quantités d'ammoniums quaternaires. Quoiqu'il en soit, les tissus de faible charge possèdent une activité bactéricide inférieure aux tissus de forte charge. On remarquera que l'activité antiseptique est proportionnelle à la capacité d'échange d'ions des tissus traités.

Influence de l'origine du sel

En faisant les comparaisons '8'/'1' d'une part et '3'/'9' d'autre part, on voit que le rendement de fixation des sels sous forme de bromure est supérieur à celui des sels sous forme de chlorure. Du point de vue de l'activité antiseptique, les différences sont faibles. La fonctionnalisation de tissu "M" avec des bromures (sel 6_s) donne, néanmoins, un produit amélioré par rapport à la cellulose '1' (coton "D" et chlorures).

2.2.2) Conclusions

La première conclusion qui s'impose, est que la fonctionnalisation du coton par foulardage est possible. Les raisons de l'échec du traitement industriel (Erquinghem) demeurent indéterminées. La solution d'ammonium quaternaire utilisée à cette occasion était probablement altérée, pour une raison qui nous est encore inconnue. Il n'en demeure pas moins que l'instabilité du sel en présence de dichloroéthane est un sujet de préoccupation. Le solvant est d'autant plus indésirable qu'il perturbe le traitement de fonctionnalisation lui-même. C'est probablement la raison pour laquelle nous n'avons jamais obtenu des rendements équivalents à ceux obtenus avec un sel en solution aqueuse. Ainsi, l'activité antiseptique de la cellulose '10' n'a jamais été égalée par les celluloses traitées en présence de solvant. En l'état actuel de la technique de synthèse industrielle, il n'est malheureusement pas possible d'envisager l'abandon du dichloroéthane.

L'utilisation de cotons plus hydrophiles, dont la cellulose est plus accessible au traitement, permet d'améliorer les rendements de fixation. Cette opération est facile à mettre en oeuvre. En ce qui concerne l'utilisation des bromures, il conviendra de préciser si l'amélioration du traitement qu'ils apportent, est suffisamment intéressante pour le surcoût de fabrication qu'ils entraînent.

Le sel de synthèse industrielle 361 donne un rendement de fonctionnalisation faible : il s'agit soit d'une sensibilité spéciale de cette formule à la présence du solvant, soit d'une synthèse défectueuse.

D'un point de vue fondamental, il est intéressant de noter la corrélation qui existe entre le pouvoir antiseptique et la capacité d'échange d'ions des celluloses. Ce point mérite une étude plus approfondie.

II. LA RESISTANCE DES BIOTEXTILES AUX LAVAGES

Conserver le pouvoir antiseptique des textiles antimicrobiens après lavage, est une condition indispensable pour des utilisations durables. Pour les tests de résistance aux lavages, nous nous sommes servis uniquement de celluloses traitées par foulardage au stade pilote.

1) **Activité antiseptique après lavage par un détergent anionique**

Les tissus ont tous subi les mêmes cycles de lavage selon un protocole établi en fonction de la norme NF G 07-136, avec la lessive de référence dont la composition se trouve p. 14. Trois variantes ont été apportées au protocole de lavage de base. Premièrement, la lessive a parfois été complétée par du perborate de sodium. Deuxièmement, les tissus ont pu être javellisés à l'avant-dernier rinçage. La troisième variante est la combinaison des deux premières, à savoir adjonction de perborate et javellisation. L'activité antiseptique des tissus a été ensuite éprouvée vis-à-vis de Staphylococcus aureus. Les résultats de ces essais sont rassemblés dans le tableau -LXIII-. Des tissus non traités ont servi de témoin. Ils ont également subi les différents lavages et l'exposition aux bactéries. Ainsi, nous avons pu vérifier qu'aucune trace résiduelle de détergent, perborate ou javel, ne pouvait présenter une activité antimicrobienne. Les activités antiseptiques présentées dans le tableau -LXIII-, sont donc bien dues aux seuls ammoniums quaternaires fixés.

1.1) Influence de différents paramètres de lavage

Influence du détergent

Comme on peut le voir, un seul lavage avec un détergent anionique (tissus de la série L), provoque une perte totale de l'activité antiseptique de tous les tissus traités. Nous avons déjà vu (tableau -LI-) que des détergents anioniques comme le SDS pouvaient inactiver les biotextiles. Les savons contenus dans la lessive, ont probablement joué ce rôle. Ils n'ont pas été éliminés par les rinçages compris dans le cycle de lavage.

sel	tissu	Ct	sans lav.	après 1 lavage avec détergent			
				L	LP	LJ	LPJ
6 ₃	"D"	15	+++	-	++	++	++
6 ₃	"D"	5	+++	-	++	-	++
6 ₃	"M"	15	+++	-	-	-	++
6 ₃	"M"	5	+++	-	-	-	++
6 ₄	"D"	15	+++	-	±	±	±
6 ₄	"D"	5	+++	-	±	±	-
6 ₄	"M"	15	+++	-	-	±	++
6 ₄	"M"	5	+++	-	-	±	±
6 ₅	"M"	15	+++	-	*	*	++

Tableau -LXIII- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées après lavage par un détergent anionique, vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625 (inoculum de 10⁵ u.f.c./cm² de tissu)

Ct : Charge théorique en g/kg de coton

L : Lavage avec un détergent anionique

P : Lavage en présence de 0,6 g.l⁻¹ de perborate de sodium

J : Javellisation à l'avant-dernier rinçage (0,04 g.l⁻¹ de chlore actif)

* : Lavage non effectué

Influence des perborates et du javel

La présence de perborates (tissus de la série LP) semble empêcher en partie l'adsorption des savons sur les ammoniums quaternaires. Cette action n'est toutefois observée que sur les tissus de type "D". Dans certains cas (tissus "D" traités au sel 6₃), on récupère une bonne partie de l'activité antiseptique (même action inhibitrice en 24 heures au lieu de 6 heures).

Sur les tissus traités au sel 6₄ (DMSO), la javellisation (tissus de la série LJ) rend en partie le pouvoir antimicrobien. Néanmoins, ce pouvoir n'est que bactériostatique. Le meilleur résultat a été obtenu avec un tissu type "D" traité au sel 6₃ (action inhibitrice en 24 heures). Il semble que les ions ClO_4^- puissent mobiliser une partie des savons adsorbés.

Influence de la combinaison perborate/javel

La combinaison perborate-javel est incontestablement le système le plus efficace pour éviter l'inactivation des tissus par les détergents (tissus de la série LPJ). On observe, en effet, une amélioration sur tous les tissus sauf un. Ainsi, l'effet "perborate" et l'effet "javel" semblent s'ajouter ou se compléter. L'amélioration est particulièrement notable pour les tissus traités avec le sel 6₃ (dichloroéthane).

La récupération d'une partie de l'activité antiseptique indique que l'inactivation du tissu est due à un masquage des sites actifs du tissu et non à une dénaturation chimique totale des ammoniums quaternaires fixés.

1.2) Activité antiseptique après lavage sans détergent

Nous avons voulu savoir, si les traitements au perborate et au javel ne pouvaient influencer eux-mêmes sur le pouvoir antiseptique des ammoniums quaternaires. Nous avons, en effet, noté, dans la partie générale, l'influence considérable qu'exerce l'ion accompagnateur dans l'expression de ce pouvoir. Nous avons donc entrepris de nouveaux lavages, sans détergent et avec les différentes variantes (lavage en présence de perborate de sodium, javellisation à l'avant-dernier rinçage, ou les deux opérations dans le même cycle de lavage). Les résultats sont rassemblés dans le tableau -LXIV-.

sel	tissu	Ct	après 1 lavage sans détergent			
			S	SP	SJ	SPJ
6 ₃	"D"	15	+++	±	+ +	+++
6 ₃	"D"	5	+++	±	+++	+++
6 ₃	"M"	15	+++	±	+ +	+++
6 ₃	"M"	5	+++	+ +	+ +	+++
6 ₄	"D"	15	+++	-	+ +	+++
6 ₄	"D"	5	+++	±	+++	+++
6 ₄	"M"	15	+++	±	+ +	+++
6 ₄	"M"	5	+++	-	+++	+++

Tableau -LXIV- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées après lavage sans détergent vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625 (inoculum de 10⁸ u.f.c./cm² de tissu)

Ct : Charge théorique en g/kg de coton

S : Lavage sans détergent

P : Lavage en présence de 0,6 g.l⁻¹ de perborate de sodium

J : Javellisation à l'avant dernier rinçage (0,04 g.l⁻¹ de chlore actif)

Le lavage sans détergent (série S) n'altère pas les propriétés antiseptiques des tissus traités. La perte d'activité observée précédemment est bien imputable aux détergents contenus dans la lessive.

Après un traitement au perborate (série SP), l'ion accompagnateur majoritaire est théoriquement BO_4^{2-} . La présence de cet ion entraîne une perte notable de l'activité antiseptique, qui n'est plus que bactériostatique dans la majeure partie des cas. L'ion ClO_4^- , qui demeure majoritaire après la javellisation (série SJ), n'inhibe que partiellement ou pas du tout les ammoniums quaternaires. On remarque que l'action des tissus chargés à 5 g/kg est moins affectée par la présence de cet ion que les tissus plus chargés. La combinaison du traitement au perborate et de la javellisation (série SPJ), n'est apparemment pas dénaturante, puisque tous les tissus, sauf un, conservent leur pouvoir antiseptique d'origine. Il semble que les traitements perborate et javel soient complémentaires. Nous pensons que les perborates présents dans la lessive, empêchent en partie l'adsorption de détergents par les ammoniums quaternaires. Il est possible que ce soit un simple mécanisme de compétition entre ions ayant une forte affinité pour le biotextile, comme c'est apparemment le cas pour les ions perborates. Si la javellisation, qui intervient après lavage, permet l'élution d'une partie des détergents, le remplacement des ions perborates par des ions hypochlorites doit être quasi totale. Ainsi, les tissus traités récupèrent une partie de leur activité, grâce aux ions ClO_4^- , qui confèrent aux ammoniums quaternaires fixés une activité antimicrobienne supérieure à celle obtenue avec des ions perborates.

1.3) Activité antiseptique et capacité d'échange d'ions

Les lavages en présence de perborates et d'hypochlorites sont plus agressifs pour les textiles. Il s'agit d'oxydants puissants, qui pourraient détériorer les ammoniums quaternaires fixés. Nous avons déterminé, pour chaque tissu, la capacité d'échange d'ion résiduelle après les différents lavages. L'expérimentation avait pour but, d'établir l'éventualité d'une destruction chimique des molécules fixées sous l'action d'agents dénaturants contenus dans la lessive. Nous avons présenté dans le tableau -LXV- uniquement les mesures effectuées sur les tissus traités avec le sel 6₃. Les observations faites sur les tissus traités au sel 6₄, amènent, en effet, aux mêmes conclusions.

Lav.		"D"		"M"	
		15	5	15	5
non lavé	Act.	+++	+++	+++	+++
	Ce	30,3	4,3	34,4	5,3
L	Act.	-	-	-	-
	Ce	5,6	1,0	3,9	0,7
LP	Act.	++	++	-	-
	Ce	4,7	1,1	6,5	1,5
LJ	Act.	++	-	-	-
	Ce	8,4	1,0	4,8	1,2
LPJ	Act.	++	++	++	++
	Ce	5,6	1,5	5,3	1,5

Tableau -LXV- : Activité antiseptique et capacité d'échange d'ions de celluloses traitées par le sel 6₃

Act. : Activité antiseptique vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625 (10^5 u.f.c./cm²)

Ce : Capacité d'échange d'ions en meq/kg de coton

L : Lavage par un détergent anionique

P : Lavage en présence de 0,6 g.l⁻¹ de perborate de sodium

J : Javellisation à l'avant-dernier rinçage (0,04 g.l⁻¹ de chlore actif

A la lecture de ces résultats, il n'apparaît plus aucune corrélation entre le pouvoir antiseptique et la capacité d'échange d'ion. Ainsi, tel tissu (type "M", 5 g/kg, série LP) ayant une capacité de 1,5 meq./kg, est totalement inactif ; tel autre, ayant une capacité similaire (type "M", 5 g/kg, série LPJ), est capable d'inhiber l'inoculum en 24 heures.

Ces résultats peuvent être dus à la méthode de dosage elle-même. Si les ions picrates ne peuvent pas mobiliser les ions accompagnateurs, la capacité d'échange d'ion sera apparemment nulle. Le biotextile sera pourtant actif, si les ions accompagnateurs s'échangent avec certains composants des membranes bactériennes. C'est apparemment le cas avec les ions perborates et chlorates. Nous confirmons ainsi, que le dosage par les ions picrates donne une appréciation de la teneur en ammoniums quaternaires dont la charge électrostatique est neutralisée par un anion facilement mobilisable. Néanmoins, si nous comparons les chiffres avant et après lavage, il est évident que les biotextiles perdent une grande partie de leur réactivité avec les cellules bactériennes. La capacité d'échange d'ions picrates est diminuée des 2/3 de la valeur dans la plupart des cas.

Si nous reprenons les résultats du tableau -LXIII-, nous notons que les tissus traités avec le sel 6₄ résistent globalement moins bien aux lavages que les tissus traités au sel 6₃. C'est surtout vrai dans la série LPJ. La raison probable est que ces tissus ont des charges en ammoniums quaternaires plus faibles. Il en est de même pour les tissus traités à raison de 5 g/kg de coton par rapport aux tissus traités à 15 g/kg. En conséquence, le sel 6₄ et les taux de greffage inférieurs à 15 g/kg de coton ont été abandonnés.

1.4) Conclusions

La perte d'activité antiseptique après lavage par un détergent anionique, est due à un masquage des sites actifs des biotextiles. Ce masquage est lui-même dû à la présence d'anions très affines pour les ammoniums quaternaires qu'ils neutralisent. Ces anions doivent être déplacés et remplacés par des ions accompagnateurs plus mobiles, pour retrouver l'activité antiseptique. La régénération est partiellement obtenue avec l'utilisation de lessives à perborates et une javellisation à l'avant dernier rinçage.

L'ensemble des résultats montre que la récupération de l'activité antiseptique initiale après lavage n'est pas parfaite, même si l'on combine l'utilisation des perborates avec une javellisation finale. La mise au point d'un protocole de régénération de l'activité antiseptique des biotextiles, est apparue indispensable. Ces opérations doivent intervenir en fin de cycle de lavage.

2) La régénération des biotextiles

Les essais de régénération, ont été effectués sur des tissus type "D" ou "M" traités à raison de 15 g/kg de coton par le sel O_3 ou O_2 . Les tissus ont été lavés soit par la lessive de référence (p. 14), avec (cycle de lavage LJ) ou sans javellisation (cycle de lavage L), soit par la même lessive additionnée de perborates, suivi de javellisation (cycle de lavage LPJ). Nous avons donc tenté de récupérer l'activité antiseptique initiale directement après lavage par une lessive sans perborate ou après javellisation (avec et sans perborates).

2.1) Le choix des différents bains de régénération

Les opérations de régénération sont basées sur le principe de l'échange d'ion. Le but des essais est de déplacer les résidus de détergents adsorbés par les ammoniums quaternaires, pour les remplacer par des ions accompagnateurs facilement mobilisables. Nous avons aussi utilisé des détergents cationiques, susceptibles de déplacer les détergents anioniques en se complexant avec eux. Nous avons enfin essayé des solvants capables de détacher les résidus gras par interaction hydrophobe.

Les bains de régénération que nous avons utilisés, sont répertoriés dans le tableau -LXVI-. Nous avons essayé les solutions salines, qui peuvent apporter aux tissus un contre-ion autorisant de bonnes activités antiseptiques comme les sels d'halogènes (NaCl, NaBr, KI), la soude ou l'EDTA. Ces deux derniers entrent par ailleurs dans la composition de certaines lessives. Dans cette même optique, nous avons testé des sels de borate, acétate et phosphate. Le carbonate de sodium permet de régénérer certaines colonnes de chromatographie greffées aux ammoniums quaternaires ; il était donc intéressant de le tester.

Bains de régénération			
NaCl 1 M	pH 5,7	EDTA sodique 0,1 %	pH 12,0
NaBr 1 M	pH 6,1	NaOH 0,5 M	pH 13,5
KI 1 M	pH 6,1	sapamine 0,1 %	pH 4,4
Na ₂ CO ₃ 1 M	pH 11,5	cétrimide 0,1 %	pH 5,8
Na ₂ B ₄ O ₇ 1 M	pH 8,7	eau distillé à 90°C	
Na ₂ HPO ₄ 0,5 M	pH 8,8	éthanol à 50 % (V/V)	
CH ₃ COONa 1 M	pH 7,6	perchloréthylène 100 %	

Tableau -LXVI- : Bains de régénérations utilisées après lavage pour récupérer l'activité antiseptique des biotextiles

Nous avons choisi comme solvant l'éthanol, que nous avons déjà utilisé avec succès, pour rendre l'activité aux biotextiles, après contact avec des bactéries (tableau XXXI-, partie générale). Le perchloréthylène est un solvant très utilisé pour les nettoyages à sec. Comme détergent cationique, nous avons pris la sapamine, qui est une préparation à base d'amine grasse araliphatique quaternaire d'un dérivé d'amide carboxylique et d'alcanes à longue chaîne (produit industriel CIBA-GEIGY). Enfin le cétrimide, qui est un ammonium quaternaire antiseptique, a également été utilisé.

Tous les essais de régénération ont été effectués avec des rapports de bain de 1/50. Seul le lavage à l'eau bouillante a été entrepris avec une machine à laver. Pour tous les autres essais, la régénération a été faite en Erlen-Meyer à 30°C. Les échantillons sont laissés une heure sur table d'agitation. Ils subissent ensuite, à température ambiante, les rinçages suivants :

- Trois rinçages successifs à l'eau adoucie de 30 minutes chacun
- Deux rinçages successifs à l'eau distillée de 30 minutes chacun

Les échantillons sont séchés à l'air ambiant. Des tissus témoins ont subi les mêmes opérations afin de vérifier la présence éventuelle de traces présentant une activité antiseptique. Les échantillons sont testés vis-à-vis de Staphylococcus aureus. Les activités antiseptiques obtenues après les essais de régénérations sont présentés dans le tableau -LXVII-

2.2) Activité antiseptique après régénération

Les halogénures ont permis, dans certains cas, la récupération de l'activité antiseptique initiale. L'iodure de potassium a été efficace sur les tissus "D" et "M" lavés et javellisés. Le chlorure de sodium n'a régénéré que les tissus "D" de la série LPJ et les tissus "M" de la série LJ. Le bromure de sodium n'a pas rendu aux tissus leur activité initiale ; il a été par contre, le seul à agir sur un tissu lavé non javellisé (type "M", série L).

Les carbonates, borates, phosphates et acétates n'ont eu aucun effet. Ils ne permettent pas l'amélioration du pouvoir antiseptique, mais ne l'altèrent pas.

L'EDTA et la soude ont été les seuls à pouvoir rendre une partie de leur activité à la fois aux tissus "D" et "M" de la série L. La soude a permis, en outre, la récupération des activités initiales sur les tissus javellisés. Tous tissus confondus, nous avons obtenu le meilleur résultat avec la soude.

Il s'est avéré que la sapamine possède un effet inhibiteur sur les ammoniums quaternaires fixés. Les tissus javellisés perdent toute activité après son contact. Il semblerait qu'elle soit retenue en dépit de sa charge électrostatique positive. Les essais avec le cétrimide, ont été faits à titre purement expérimental. Son utilisation systématique après chaque lavage n'apporte pas un progrès par rapport aux biotextiles simplement imprégnés d'ammoniums quaternaires. Nous avons tout de même constaté que le cétrimide ne rend pas aux tissus de la série "L" leur activité antiseptique, alors que les témoins sont devenus bactéricides. Non seulement, le cétrimide n'a pas pu détacher les savons des ammoniums quaternaires fixés, mais encore, il n'a pas été adsorbé par le coton fonctionnalisé.

solution de régèn.	type "D" sel 6 ₃			type "M" sel 6 ₃		
	L	LJ	LPJ	L	LJ	LPJ
NaCl	-	++	+++	-	+++	++
NaBr	-	++	++	±	++	++
KI	-	+++	+++	-	+++	+++
Na ₂ CO ₃	-	++	++	-	++	++
borate	-	++	++	-	++	++
Na ₂ HPO ₄	-	++	++	-	++	++
acétate	-	++	++	-	++	++
EDTA	±	++	±	±	++	++
NaOH	±	+++	+++	±	+++	++
sapamine	-	-	-	-	-	-
cétrim.	-	+++	++	-	+++	+++
eau 90°C	-	-	-	-	-	-
éthanol	-	++	++	-	++	++
perchl.	±	++	++	-	++	++

Tableau -LXVII- : Essais de régénération après lavage de l'activité antiseptique de textiles traités (15 g/kg).
 Activité vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP7625
 (inoculum de 10⁵ u.f.c./cm² de tissu)

L : Lavage par un détergent anionique.

P : Lavage en présence de perborate de sodium (0,6 g.l⁻¹).

J : Javellisation à l'avant-dernier rinçage (0,04 g.l⁻¹ de chlore actif).

Ce dernier essai donne néanmoins une idée de la complexité des réactions et interactions chimiques qui doivent exister au niveau des ammoniums quaternaires fixés. Les détergents cationiques ne semblent pas convenir à la régénération des tissus.

Les lavages à l'eau bouillante (90°C pendant 10 minutes) ont donné des résultats inattendus. Les tissus javellisés ont perdu après ce lavage, toute leur activité antiseptique. Nous ne pouvons donner, à ce jour, aucune explication valable à ce phénomène.

Les solvants n'ont pas donné de résultats satisfaisants. Il semble que l'éthanol ne puisse détacher que les molécules adsorbées sur les ammoniums quaternaires fixés par des interactions essentiellement hydrophobes. Après contact avec les cellules bactériennes, l'inactivation des biotextiles est provoquée par des composants lipidiques peu ionisés que l'éthanol a pu mobiliser. Les savons sont beaucoup plus difficiles à détacher, car il sont retenus à la fois par interaction hydrophobe et électrostatique. Le perchloréthylène n'a pas non plus agi sur les tissus javellisés. Nous avons cependant observé une amélioration sur le tissu "D" lavé mais non javellisé.

On remarquera que finalement il existe peu de différences (au niveau de leur régénération) entre les tissus lavés avec une lessive à perborate et javellisés (série LPJ), et les tissus lavés avec une lessive sans perborate et javellisés (série LJ).

2.3) Régénération en machine à laver

Les essais de régénération entrepris jusqu'à présent, ont été effectués en laboratoire. Il convenait alors de choisir une ou deux techniques pour faire des essais en machine à laver. Parmi les possibilités intéressantes de régénération, nous avons les traitements par NaCl, KI ou NaOH. Nous avons choisi le chlorure de sodium et la soude pour les essais en machine à laver. Le premier parce qu'il ne coûte pas très cher (comparativement à l'iodure de potassium). La soude est déjà utilisée en blanchisserie industrielle (lessive St MARC). Les échantillons qui ont servi sont des tissus type "D" ou "M" des séries L et LPJ, afin d'avoir un tissu javellisé et un tissu non javellisé.

2.3.1) Régénération au chlorure de sodium

Les essais avec le chlorure de sodium ont été faits à trois concentrations différentes (20, 50 et 100 g.l⁻¹) et à trois températures (20, 50 et 80°C). Les lavages ont duré une heure avec un rapport de bain de 1/50. Comme d'habitude, nous avons également traité des témoins. L'activité antiseptique est éprouvée vis-à-vis de Staphylococcus aureus. Les résultats sont exposés dans le tableau -LXVIII-. Comme on peut le voir, il est possible de récupérer une activité antiseptique comparable à celle des tissus javellisés, sur les tissu type "D" lavés non javellisés. A 20°C, il faut 50 g.l⁻¹ de NaCl et à 50°C, 20 g.l⁻¹ suffisent. Les tissus "M" ne permettent pas ce résultat.

D'un autre côté, les résultats sont décevants, car nous n'avons jamais pu récupérer l'activité antiseptique initiale sur aucun des tissus. Il semble que ni les hautes températures, ni les concentrations importantes en NaCl ne puissent améliorer l'échange. Nous avons, par ailleurs, remarqué que les résultats étaient statistiquement inconstants. La régénération ne s'est pas faite de manière uniforme. Il ne semble pas que cette technique puisse être retenue.

2.3.2) Régénération à la soude

La soude a été utilisée à 20 g.l⁻¹ et à 20°C uniquement. Il n'était pas prudent, en effet, d'augmenter la concentration ou de travailler à des températures plus élevées. La soude peut dans ces conditions attaquer la cellulose et l'hydrolyser. Des traitements répétés à la soude auraient fragilisé les tissus. A 20°C avec une solution 0,5 N, le risque est faible. Toutefois, dans certains essais, nous avons neutralisé le bain de régénération par adjonction d'acide acétique avant les rinçages. Nous avons enfin voulu savoir, si la régénération pouvait être réalisée plus rapidement (en cinq minutes au lieu d'une heure). Les rapports de bain ont toujours été de 1/50 et des témoins ont été traités. L'activité antiseptique après régénération est testée vis-à-vis de Staphylococcus aureus. Les résultats sont présentés dans le tableau -LXIX-.

T°C	C	type "D"		type "M"	
		L	LPJ	L	LPJ
20°C	20	±	±	±	++
	50	++	++	±	++
	100	++	++	++	++
50°C	20	++	++	++	++
	50	++	++	++	++
	100	++	++	±	++
80°C	20	++	++	±	++
	50	++	++	±	++
	100	++	++	±	++

Tableau -LXVIII- : Essais de régénération après lavage de l'activité antiseptique de textiles traités (sel 6₃ à raison de 15 g/kg), par des solutions de NaCl à plusieurs concentrations et à différentes températures de bain
 Activité vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625
 (inoculum de 10⁶ u.f.c./cm² de tissu)

C : Concentration en NaCl (g.l⁻¹)

L : Lavage par un détergent anionique.

P : Lavage en présence de perborate de sodium (0,6 g.l⁻¹).

J : Javellisation à l'avant-dernier rinçage (0,04 g.l⁻¹ de chlore actif).

acidage	temps	type "D"		type "M"	
		L	LPJ	L	LPJ
	5 min	±	±	±	++
	1 h	++	+++	++	+++
+ CH ₃ COOH	5 min	±	++	±	++
	1 h	+++	+++	+++	+++

Tableau -LXIX- : Essais de régénération de l'activité antiseptique après lavage, de textiles traités (sel 6₃ à 15 g/kg) par NaOH 0,5 N (20°C) à différents temps de contact et avec ou sans "acidage".
 Activité vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625 (inoculum de 10⁵ u.f.c./cm²)

L : Lavage par un détergent anionique
 P : Lavage en présence de perborate de sodium (0,6 g.l⁻¹)
 J : Javellisation à l'avant-dernier rinçage (0,04 g.l⁻¹ de chlore actif).

Le traitement par la soude (20 g.l^{-1}) puis l'acide acétique permet de récupérer l'activité initiale, quels que soient le type de tissu et le mode de lavage (avec ou sans javellisation). Des bains de cinq minutes ne suffisent pas. Dans ce court laps de temps, les tissus javellisés sont plus faciles à régénérer.

2.4) Régénération par ultra-sons

Pour tenter de diminuer le temps de régénération, nous avons essayé les ultra-sons, qui permettent une pénétration rapide et profonde des solutions de lavage entre les fibres. Nous nous sommes servis d'un laveur à ultra-sons (BRANSONIC B5) dont la fréquence de travail est de 55 kHz et la puissance de 14 W. Le tableau -LXX- montre les récupérations d'activité obtenues en fonction du temps de contact, comparativement avec une agitation mécanique.

Comme on peut le voir, le laveur à ultra-sons, nous a permis de retrouver l'activité antiseptique initiale des biotextiles après 10 minutes, au lieu d'une heure en agitation mécanique. L'utilisation de laveurs à ultra-sons en blanchisserie industrielle est techniquement facile à mettre en oeuvre, pour un coût non rédhibitoire.

2.5) Conclusions

La régénération des biotextiles après lavage par un détergent anionique est possible. La récupération de l'activité antiseptique est plus facile à obtenir avec des tissus ayant été javellisés. Il est nécessaire de faire subir aux textiles un lavage supplémentaire destiné à lui rendre ses capacités initiales. Le traitement par la soude semble convenir à cet usage. La régénération est obtenue rapidement avec des lavages aux ultra-sons.

Il est possible de limiter l'inactivation des biotextiles par l'introduction, dans la composition des lessives, de substance susceptibles d'éviter une complexation ammoniums quaternaires-savons trop importante. Nous pensons aux perborates et peut-être à l'EDTA. Il faudrait donc créer une lessive adaptée à nos exigences.

min	agitation		ultra-sons	
	LJ	LPJ	LJ	LPJ
5	++	++	++	++
10	++	++	+++	++
30	++	++	+++	+++
60	+++	+++	+++	+++

Tableau -LXX- : Essais de régénération de l'activité antiseptique après lavage, de textiles traités (sel 6₃ à 15 g/kg) par NaOH 0,5 N (20°C) avec agitation mécanique ou ultra-sonication
 Activité vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625
 (inoculum de 10⁵ u.f.c./cm²)

L : Lavage par un détergent anionique
 P : Lavage en présence de perborate de sodium (0,6 g.l⁻¹)
 J : Javellisation à l'avant dernier-rinçage (0,04 g.l⁻¹ de chlore actif).

Etant donné les difficultés rencontrées avec les lessives anioniques, une autre alternative de lavage serait de ne pas les utiliser. Cette possibilité passe par une étude approfondie de détergents cationiques. Ceux-ci sont peu ou pas utilisés dans le lavage d'articles textiles et leur développement est encore faible. Leur utilisation suppose aussi un changement radical de la formule des lessives. Il existe enfin la possibilité, moins onéreuse, d'utiliser directement des lessives de sodes (type St MARC).

3) Résistance aux lavages itératifs

Nous avons effectué, au laboratoire de microbiologie, une série de 50 lavages à 95°C. Nous avons délibérément utilisé une lessive du commerce (SKIP), qui a servi aux lavages des tissus. Les doses recommandées par le fabricant (poudre à laver et javel) ont été employées. Les conditions de lavage sont donc celles que rencontre la ménagère. Le lavage correspond à ceux de la série LJ (nous ignorons si la lessive SKIP contient des perborates). Les tissus employés sont de type "D" et "M", traités à raison de 15 g par kg de coton avec le sel $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$. Après lavage, les tissus sont régénérés dans un bain de soude à 20 g.l⁻¹ par ultra-sons. Nous avons testé l'activité antiseptique vis-à-vis de Staphylococcus aureus (tableau -LXXI-) et évalué leur capacité d'échange d'ions picrates (figure -27-).

Le tissu type "M" résiste mieux aux lavages. Son activité antiseptique est inchangée après 20 lavages. Le tissu "D" présente une certaine "fatigue" dès le dixième lavage. Après 50 lavages les deux tissus sont au même niveau.

Sur la figure -27-, on peut voir que le premier lavage entraîne une perte d'environ 1/3 de la capacité d'échange d'ion. La décroissance devient ultérieurement moins importante, surtout pour le tissu "M", ce qui pourrait expliquer son meilleur comportement. Le traitement à la soude provoque une érosion non négligeable de l'apprêt antimicrobien.

Si le taux de fixation des tissus avait été plus élevé, nous aurions pu poursuivre les lavages. Si 10 g de sel $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ par kg de coton sont encore efficaces après un lavage, le tissu pourrait probablement subir près d'une centaine de lavages de ce type en conservant son pouvoir antiseptique.

NL	type "D"		type "M"	
	act	Ce	act	Ce
0	+++	30,4	+++	34,3
1	+++	18,6	+++	16,0
5	+++	10,5	+++	13,4
10	++	6,9	+++	11,1
20	++	6,2	+++	10,1
30	++	5,6	++	9,2
50	±	4,2	±	4,6

Tableau -LXXI- : Activité antiseptique de tissus traités
 (sel 6₃ 15 g/kg) après plusieurs lavages à 95°C
 suivi d'une régénération à la soude (20 g.l⁻¹)
 Activité vis-à-vis de Staphylococcus aureus CIP 7625
 (inoculum de 10⁵ u.f.c./cm² de tissu)

NL : Nombre de lavages

Ce : Capacité d'échange d'ions picrates en meq./kg de coton

act : activité antiseptique

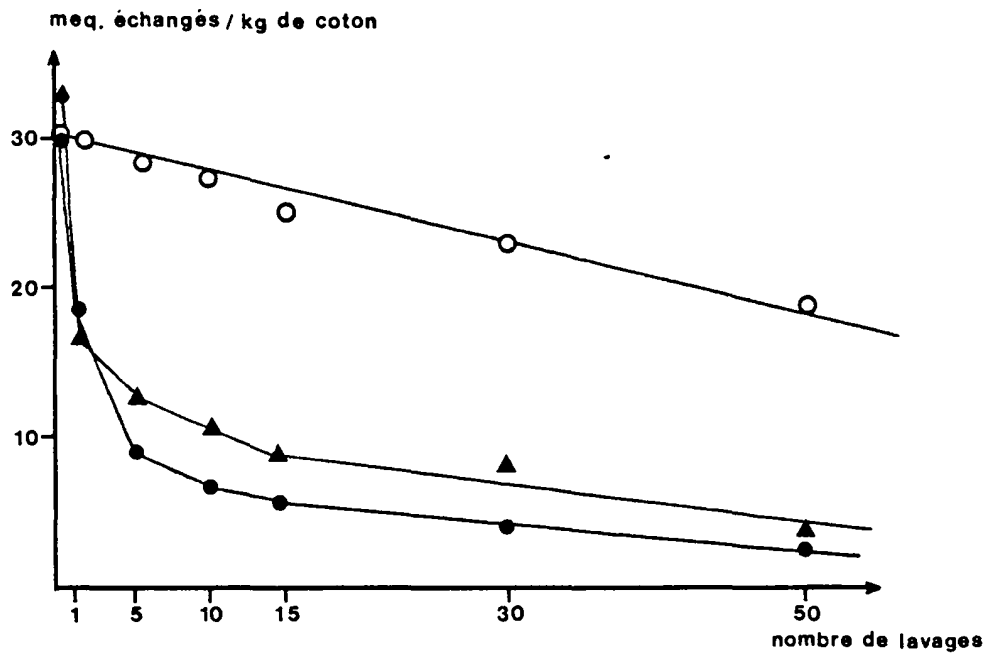


Figure -27- : Capacité d'échange d'ions picrates de tissus traités (sel 6_3 à 15 g/kg) en fonction du nombre de lavages
(●) tissu "D" lavé, (▲) tissu "M" lavé
(○) tissu "D" traité uniquement avec NaOH 0,5 N

CONCLUSION

DISCUSSION

Les résultats que nous avons présentés dans cette partie confidentielle concernent les trois problèmes les plus importants que nous avons à surmonter :

- 1) Le choix des sels d'ammoniums quaternaires à fixer.
- 2) La synthèse industrielle du biotextile
- 3) La résistance du biotextile aux lavages, notamment par des détergents anioniques

L'étude des différents sels synthétisés par M. JOLY a rapidement montré que les seuls sels actifs possèdent une chaîne aliphatique. Les composés portant un radical en C₁₂ se sont montrés plus actifs que les composés portant un groupement en C₁₄ ou en C₁₆. La présence d'un groupement benzène accroît le pouvoir antiseptique des sels solubles. La substitution du groupement aromatique par deux atomes de chlore en position 3,4 ou 3,5 confère un pouvoir antimicrobien encore plus important. Après fixation, les molécules comportant une chaîne grasse sont demeurées les produits les plus actifs. Le sel 6 a été choisi en raison de son moindre coût, de son activité vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa, et de sa faible irritabilité vis-à-vis du lapin et de l'homme.

Les essais en stades pilote et industriel, ont été entrepris avec différents lots de fabrication du sel 6. La nécessité d'utiliser des produits purs comportants une majorité de chaînes en C₁₂ (>95 %), est vite apparue. La synthèse de sel 6 à partir d'huiles végétales non purifiées a été abandonnée. Une tentative de traitement de coton à l'échelon industriel, s'est avérée prématurée. Le traitement de fonctionnalisation du coton n'a pas réussi ; les ammoniums quaternaires n'ont pas réagi avec la cellulose. L'échec pourrait être dû à une synthèse défailante du sel 6 ou à une technique de fonctionnalisation (foulardage) inappropriée.

Des sels de synthèse industrielle ont pu être fabriqués par ICMD, pour effectuer les traitements de la cellulose au stade pilote. La technique du foulardage ne semble pas poser de problème quant à la qualité du traitement. Nous avons obtenu, dans la majorité des cas, des tissus présentant une activité bactéricide sans relargage de produits désinfectants. Le tableau -LXXII- présente les activités obtenues vis-à-vis de quelques souches microbiennes. Les cotons les plus hydrophiles permettent des rendements de fonctionnalisation meilleurs. L'avantage que pourraient présenter les bromures par rapport aux chlorures est faible, tant du point de vue du rendement de fixation que de l'activité antiseptique : les premiers sont en effet 2 à 3 fois plus onéreux que les seconds. La présence obligatoire de solvants (dichloroéthane ou DMSO) pendant le traitement du coton provoque une perte importante des rendements de fonctionnalisation (-30 à -60 %). Le DMSO donne les rendements les plus faibles. De même il est apparu des différences importantes de rendement (R) entre les tissus que l'on a voulu greffer à 5 g/kg de coton (R = 25-30 %) et ceux traités à 15 g/kg de coton (R = 60-70 %). Le sel 36i, de synthèse industrielle, n'a pas répondu aux normes de qualité requises. Son rendement de fixation est mauvais et son activité bactéricide faible.

souches microbiennes	cellules inhibées en 6 h (u.f.c./cm ²)
<u>Staphylococcus aureus</u> CIP 7625	10 ⁵
<u>Escherichia coli</u> CIP 7624	10 ⁴
<u>Pseudomonas aeruginosa</u> CIP 76110	10 ²
<u>Streptococcus faecalis</u> CIP 5855	10 ⁵
<u>Candida albicans</u> CHR	10 ³

Tableau -LXXII- : Activité antiseptique de celluloses fonctionnalisées par foulardage avec le sel 6₃ (15 g/kg), vis-à-vis de souches microbiennes de référence

Le lavage des biotextiles par une lessive comportant des détergents anioniques provoque la perte totale de leur pouvoir antiseptique. La présence de perborates ($0,6 \text{ g.l}^{-1}$) dans la lessive atténue l'effet inhibiteur de la lessive. La javellisation des tissus à l'avant-dernier rinçage ($0,04 \text{ g.l}^{-1}$ de chlore actif) permet également de récupérer une partie de l'activité antiseptique. La combinaison des deux opérations (détergent avec perborates et javellisation) constitue le cycle de lavage le moins dénaturant que nous ayons testé. L'activité antiseptique initiale n'est néanmoins pas retrouvée : en 6 heures de contact elle ne permet l'inhibition que de 10^4 u.f.c./cm^2 de Staphylococcus aureus, au lieu de 10^5 u.f.c./cm^2 . En tant qu'ions accompagnateurs, les perborates ne permettent pas d'activités antimicrobiennes intenses, au contraire des ions hypochlorites. Les tissus traités en présence de DMSO (sel 64) et les tissus de faible charge (5 g/kg) ont été abandonnés, en raison de leur faible résistance aux lavages.

La régénération des biotextiles par échange d'ions a été entreprise pour récupérer l'activité antiseptique initiale. Des résultats positifs ont été enregistrés avec l'iodure de potassium, le chlorure de sodium, la soude et l'EDTA. Ni les détergents cationiques (sapamine, cétrimide), ni les solvants organiques (éthanol, perchloréthylène), ni les lavages à l'eau bouillante (90°C) n'ont permis l'amélioration du pouvoir antiseptique. Dans certains cas, l'effet obtenu a été contraire (sapamine, eau à 90°C). Les tissus, qui avaient été lavés par un détergent (avec ou sans perborates) puis javellisés, sont les plus faciles à régénérer. Pour les essais de régénération en machine à laver, le chlorure de sodium et la soude ont été choisis en raison de leur faible coût.

La régénération par des solutions salines de chlorure de sodium, donne des résultats inconstants. L'utilisation de fortes concentrations en NaCl (50 et 100 g.l^{-1}) ou les hautes températures (50 et 80°C) n'améliorent pas la qualité de la régénération et ne permettent pas la récupération des activités antiseptiques initiales. Des tissus lavés et non javellisés ont toutefois pu recouvrer une activité antiseptique similaire à celle des tissus javellisés. Les meilleurs résultats de régénération ont été obtenus avec la soude $0,5 \text{ N}$ suivi d'un "acidage" ; l'activité antiseptique initiale a pu être retrouvée quel que soit le cycle de lavage subi par les biotextiles.

L'utilisation d'un laveur à ultra-sons réduit les temps de régénération (10 minutes au lieu d'une heure). L'hydrophilité du coton ne semble pas influencer sur la récupération des activités antiseptiques. Cependant, les essais de lavages itératifs, ont montré que le tissu le plus hydrophile (type "M") conserve plus longtemps son pouvoir antiseptique. Ceci est en grande partie dû aux meilleurs taux de fixation enregistrés avec les tissus hydrophiles. Enfin le traitement à la soude seule provoque une érosion non négligeable de l'apprêt antimicrobien.

Nous sommes arrivés à obtenir un textile capable de conserver un pouvoir antiseptique important après 30 lavages par un détergent anionique. A notre connaissance, aucun biotextile utilisant des ammoniums quaternaires n'a montré une résistance aussi importante. Certains auteurs (MUNE 1979, IKEDA 1985), qui affirment que leur procédé permet des résistances importantes aux lavages, ne sont pas à retenir car ils n'ont pas utilisé de lessives anioniques pour leurs essais.

Toutefois, le biotextile ne nous satisfait pas encore. Nous estimons qu'une résistance à 100-150 lavages doit être obtenue pour sa commercialisation. De plus nous n'avons jamais retrouvé, avec les textiles fabriqués au stade pilote, les activités antiseptiques des celluloses fonctionnalisées au laboratoire. Le biotextile présente des lacunes dans son pouvoir antiseptique, notamment sa faible activité vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa, et son inactivation en présence de matières organiques. Il est enfin impossible, en l'état actuel de nos techniques de dosage, d'avoir une estimation précise de la quantité d'ammoniums quaternaires fixés. Des solutions doivent être apportées à ces problèmes.

Amélioration de la résistance aux lavages

Cette amélioration ne peut être obtenue que par de meilleurs taux de fixation. Nous avons pu remarquer que la quantité de produits fixés par foulardage est systématiquement inférieure à la quantité qui aurait dû théoriquement être retrouvée : ainsi, on ne retrouve que 10 g/kg de coton au lieu de 15 dans les essais pilotes. De plus après un unique lavage, les textiles perdent l'équivalent de 5 g de produit actif par kg de coton. La perte de charge diminue heureusement pour les lavages suivants.

Ainsi, 1/3 des ammoniums quaternaires sont directement éliminés au rinçage qui suit la fonctionnalisation du coton, 1/3 sont seulement fortement adsorbés et entraînés par les savons, 1/3 sont réellement fixés et résistent à près de 30 lavages.

La perte du premier tiers ne peut être attribuée qu'à la présence de solvants dans le bain de traitement. En effet, dans les systèmes non aqueux ou en présence de solvants, il se forme une micellisation importante des ammoniums quaternaires (KITAHARA 1970). Les micelles obtenues sont plus stables et très différentes des micelles présentes en milieu 100 % aqueux. Elles associent solvants organiques et électrolytes de façon étroite. Une partie des ammoniums quaternaires doit être piégée par cette structure. Les faibles rendements enregistrés avec les petites charges en ammoniums quaternaires (5 g/kg) sont probablement un effet de cette micellisation. Nous pensons qu'un des objectifs prioritaires sera, dans la mesure du possible, d'éliminer ces solvants, d'autant plus que les sels n'y sont pas stables. Il nous paraît difficile de baser une production industrielle sur un produit qui évolue au cours du traitement.

Une autre solution est d'augmenter la charge en ammonium quaternaire, de sorte qu'il s'en fixe réellement 15 g/kg de coton. Ce procédé est trois fois plus onéreux.

Les ammoniums quaternaires ont une affinité naturelle pour le coton. WHITE (1970) a pu montrer que 100 g de coton peut retenir fortement 0,0012 moles de cétrimide. Si nous appliquons ce résultat au sel 6, cela correspond à 5 g/kg de coton, c'est à dire à la charge que nous retrouvons après un lavage. Il se pourrait que finalement il ne soit pas possible de fixer durablement plus de 5 g de sel par kg de coton. L'élimination d'un tiers de la charge après lavage, trouverait ici son explication. Il convient de traiter et de laver des cotons chargés à 50 g/kg pour vérifier cette hypothèse.

En tout état de cause, une bonne adsorption des ammoniums quaternaires semble indispensable pour obtenir une bonne fixation. Les solvants interviennent probablement dans cette phase, en piégeant les ammoniums quaternaires dans des micelles.

D'autres facteurs interviennent (WHITE 1970) dans le phénomène d'adsorption :

- La force ionique des solutions, qui favorise l'adsorption de manière parfois considérable.

- La nature des contre-ions, qui explique que les bromures permettent des rendements de fixation meilleurs que les chlorures

- La température : l'adsorption est moins importante aux hautes températures (45-50°C).

- Le pH, défavorable aux valeurs acides.

La fonctionnalisation se fait à froid et à pH basique. L'influence de l'ion accompagnateur sur les rendements de fonctionnalisation, a déjà été étudiée. Il serait intéressant de connaître l'influence de la force ionique.

Nous avons vu que l'hydrophilité du coton permet des rendements de fixation plus importants : cela s'explique par le fait que plus le coton est hydrophile et plus la cellulose est accessible. L'hydrophilité peut être augmentée par blanchiment (oxydation) et surtout par mercerisation (traitement à la soude), on obtient ainsi le stade dit de cellulose II (la cellulose I est le coton écru). Il est possible d'obtenir des cotons dont la cellulose est encore plus accessible (cellulose III) par traitement à l'ammoniac liquide. De tels cotons (celluloses II et III) peuvent nous donner des biotextiles de haute qualité.

Le traitement de fonctionnalisation est applicable à des polymères polyhydroxylés ou polyaminés. D'autres fibres plus affines pour les ammoniums quaternaires peuvent être essayées. Ainsi, la viscose a une capacité d'adsorption des ammoniums quaternaires quatre fois plus élevée (GINN 1970). L'oxycellulose est le substrat cellulosique le plus affine ; il adsorbe 100 fois plus d'ammoniums quaternaires que le coton (WHITE 1970). Les polyamines peuvent aussi être étudiées.

Une dernière possibilité d'amélioration des rendements de fonctionnalisation, serait d'avoir des sels plus stables. Cette solution est envisageable avec le remplacement des groupements méthyl par des groupements acétyl sur les sels 6 et 36.

Amélioration de l'activité antiseptique

Les sels les plus actifs, après fixation, possèdent une chaîne aliphatique en C₁₂. Ces résultats sont en accord avec ceux de NAKAGAWA (1979a, 1984c) avec des sels de pyridinium et de ISQUITH (1983) avec des organosiliconés. Cependant les sels en C₁₀ de NAKAGAWA (1984c), en C₈ et C₁₀ de EUDY (1981) ou de MUNE (1979), ont une activité importante. Il serait intéressant pour nous d'essayer des sels en C₈ et C₁₀, d'autant que leur rendement de fixation doit être supérieur aux molécules en C₁₂. D'après les travaux de DAMODARAN (1953), il est également intéressant d'utiliser des ammoniums quaternaires possédant une chaîne aliphatique insaturée, comme l'a fait KOHJIN (1985).

Le biotextile a une faible activité vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa. Les ammoniums quaternaires organosiliconés de NAKAGAWA (1984c) et de ISQUITH (1983) ont un pouvoir antiseptique important vis-à-vis de cette bactérie, dont la sensibilité à ces produits, est identique à celle obtenue avec les Enterobacteriaceae. Les brevets récents utilisent presque systématiquement les organosiliconés pour la confection d'apprêts antimicrobiens ou d'adouçissants (BALDWIN 1984a, TOYOBO 1984a, SHIGITA 1985a, ISE 1985, SANYO 1985 ...etc). Les raisons principales de cet engouement sont leur grande affinité pour le coton (EUDY 1981) et le fait qu'ils ont été autorisés par le FDA (ISQUITH 1983). Ils sont de surcroît plus actifs que les autres ammoniums quaternaires et sont moins inactivés par les matières organiques (ISQUITH 1972). Leur utilisation pour fonctionnaliser le coton devrait donner de bons résultats, pour peu que la synthèse d'organosiliconés avec une fonction époxy soit possible.

Une autre façon d'améliorer le pouvoir antiseptique consiste à choisir judicieusement l'ion accompagnateur. ISQUITH (1983) estime que les bromures et les chlorures sont les plus efficaces ; BALDWIN (1984a et 1984b) préfère les iodures qui permettent de meilleurs résultats en présence de matière organique. REBOLD (1958) trouve que les benzo-thiazolates permettent une activité antiseptique en présence de savons et LAW (1979) recommande les isothiazolinones. PETROCCI (1977) rapporte enfin l'utilisation de para-diisobutylcresoxy éthoxy diméthyl ammonium en présence de détergents anioniques et de matières organiques.

L'association avec d'autres antiseptiques, pourrait donner au biotextile un spectre d'activité bactéricide plus large. Le paraben (KOSTENBAUDER 1977), l'argent colloïdal (GAGLIARDI 1962), ou les peroxydes de zinc (DANNA 1978) ont une activité antibactérienne à l'état de quasi-insolubilité. Il existe aussi d'autres détergents cationiques comme les phosphoniums ou les iodoniums (LINFELD 1970), qui ont été peu étudiés jusqu'à présent. Certaines teintures possèdent elles-mêmes un faible pouvoir antiseptique.

L'utilisation d'ions accompagnateurs ou de composés associés synergiques n'est cependant intéressante que si :

- Il est possible d'obtenir un biotextile comportant un ion majoritaire permettant une bonne activité antiseptique après lavage.

- Les molécules en associations résistent aux lavages et ne sont pas inactivées elle-mêmes par les savons

- Les produits utilisés n'augmentent pas de manière prohibitive le coût du tissu

Nous avons nous mêmes expérimenté l'association cuivre-ammoniums quaternaires. Des celluloses, déjà fonctionnalisées par le sel 6, ont été traitées avec du CHPS (3-chloro-2-hydroxy-propanesulfonate) commercialisé par CHEM-Y. Ce produit permet la fixation de groupements sulfonates sur la cellulose. Après cette opération, le tissu est plongé dans un bain de sulfate de cuivre (CuSO_4) puis rincé abondamment. Les ions cuivriques se fixent aux radicaux sulfonates du CHPS. Les résultats obtenus avec ce tissu ont été remarquables puisque, vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa, 10^7 u.f.c./ cm^2 de tissu, sont inhibées en moins de 6 heures. Les résultats sont similaires avec Escherichia coli et Staphylococcus aureus. Des essais effectués avec des sels de zinc ont été négatifs. L'activité antiseptique est étonnante, en ce sens que le cuivre est peu bactéricide (CMI de l'ordre de $500 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ avec 10^8 u.f.c./ cm^2 de Escherichia coli, contre $200 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ avec le sulfate de zinc). Nous avons par ailleurs montré que le CHPS soluble ou fixé ne présentait aucune activité antiseptique. L'association cuivre-sel 6, à l'état soluble, n'est pas non plus particulièrement active. Les tissus traités uniquement avec le CHPS + cuivre ont une activité sensiblement égale aux celluloses quaternisées, en ayant des temps d'action plus courts.

Il y a bien eu un phénomène de synergie important entre sels de cuivre fixés sur CHPS et ammoniums quaternaires fixés. A notre connaissance, ce phénomène n'a pas encore été décrit. Le CHPS peut également fixer électrostatiquement des ammoniums quaternaires. Nous avons donc vérifié la synergie avec des tissus uniquement traités au CHPS. Ces tissus ont été plongés dans un bain de sulfate de cuivre, rincés, puis plongés de nouveau dans une solution de Noranium C 80 (chlorure de coco benzyl diméthyl ammonium commercialisé par CECA). Deux types de tissus ont été utilisés ; ceux qui ont subi le traitement au cuivre en premier (type C-N) et ceux pour lesquels l'opération a été inversée : ammoniums quaternaires puis sel de cuivre (type N-C). Les tissus C-N seuls ont montré le phénomène de synergie (activité importante vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa). Aucun argument valable ne peut être avancé pour expliquer ce phénomène.

L'association cuivre-ammoniums quaternaires est efficace mais présente deux inconvénients :

- Les ions cuivriques ne sont retenus que par interaction électrostatique. Ils seront probablement éliminés rapidement aux lavages

- Les tissus traités au cuivre présentent un aspect verdâtre ou de couleur crème (association noranium-cuivre), rendant leur commercialisation délicate.

L'expérience de lavage mériterait quand même d'être tentée.

Amélioration de la résistance aux lavages

Lorsque l'on utilise des détergents anioniques, il est indispensable de procéder à des opérations de régénération pour récupérer l'activité antiseptique des biotextiles. Nous avons trouvé que la soude et les halogénures pouvaient permettre cette régénération. Ces résultats sont en accord avec ceux de ISE (1985) et de NAKAGAWA (1984b). Ces deux auteurs s'accordent également pour dire que si l'éthanol permet la régénération des produits neutralisés par des débris cellulaires, il n'en est pas de même avec des molécules adsorbées sur les ammoniums quaternaires par interaction à la fois hydrophobe et électrostatique (cas des savons). WALLFISH (1979) recommande l'utilisation de solutions d'éthanol acidifiées par HCl.

UETA (1984) propose l'utilisation du méthanol, en présence d'HCl. Selon NAKAGAWA, seules les solutions basiques fortes peuvent permettre un résultat satisfaisant. Nous sommes enclin à être de son avis, étant donné que nos meilleures régénérations ont été obtenus avec la soude (pH 13,5) et l'EDTA (pH 12).

Le problème soulevé par les solutions basiques est qu'elles sont dénaturantes tant sur les ammoniums quaternaires fixés que sur la cellulose elle-même. Le risque de destruction chimique est également présent avec les agents de blanchiment oxydatifs comme le javel ou l'eau oxygénée (utilisée dans certaines blanchisseries hospitalières).

Une autre alternative pour résoudre ce problème est d'utiliser des lessives non dénaturantes. Plusieurs solutions sont possibles entre les détergents non-ioniques, cationiques ou à base de soude (lessive St Marc). Cette solution suppose la mise au point d'une formule spécialement adaptée au lavage des textiles quaternisés.

Dosage des ammoniums quaternaires fixés

Les techniques de dosage des ammoniums quaternaires aliphatiques en solution sont nombreuses et il serait trop fastidieux de les énumérer ici. C'est un tout autre problème, que de doser des constituants insolubles après fixation.

NAKAGAWA (1984c) utilise une technique basée sur le même principe que celle des ions picrates. Il utilise l'éosine Y qui présente peut-être l'avantage d'être très spécifique aux ammoniums quaternaires. Elle est en effet utilisée en titrimétrie pour doser les composés solubles (AOAC 1970). Ces techniques ne semblent plus utilisables après lavage par un détergent anionique, qui fait disparaître la capacité d'échange d'ions apparente des biotextiles.

Il faudra, à plus ou moins long terme, élaborer une méthode de dosage fiable. Cette opération est surtout nécessaire pour obtenir l'homologation du produit, si nous voulons l'utiliser à des fins médicales ou pharmaceutiques. L'Administration exige en effet la connaissance parfaite du produit.

Perspectives

Lorsque les problèmes que nous avons évoqués, seront résolus, le biotextile présentera les qualités requises pour être utilisé à grande échelle. Les grands domaines d'applications de tels biotextiles sont selon CHATELIN (1983):

- L'action prophylactique par activité bactériostatique à large spectre, pour la protection de l'utilisateur (linges et vêtements hospitaliers, linges de collectivité, linges de corps...) et pour limiter le risque épidémiologique (gaines d'aération des hôpitaux HURST 1958).

- Les applications pharmaceutiques (action curative par activité bactéricide localisée).

- L'utilisation contre les risques de contamination par contact épidermique (plancher de douche, équipements sportifs, housse de matelas, revêtements muraux).

- Protection des fibres pour éviter leur pourrissement (toile de tente, treillis, moquette).

Les utilisations "annexes" du procédé

Nous nous sommes aperçus au cours de nos recherches, que le procédé pouvait être appliqué à des matériaux divers, en donnant des applications "annexes" parfois surprenantes. Nous en donnons ici, en guise de conclusion, une liste non exhaustive.

- Filtration de l'air, pour protéger les filtres et le manipulateur chargé de les changer. La société SABLA a été notre premier utilisateur pour la fabrication de filtres pour caveaux mortuaires.

- Filtration de liquides. Nous avons notamment expérimenté le biotextile sur des solutions de gélatine. Celle-ci peut ainsi être stérilisée sans risque d'altération de sa qualité par des produits résiduels.

- Selon le même principe, stérilisation de milieux de culture proposée par NAKAGAWA (1979a).

- Traitement d'articles non tissés servant à faire des nappes, des serviettes en papier ou des serpillères.

- Traitement du papier (papier d'emballage de denrées alimentaires, papier d'art, papier d'archives). Ce système permettrait notamment d'obtenir du papier pour aquarelle qui ne puisse pas pourrir.

- Traitement des éponges cellulosiques (pour éviter leur pourrissement).

- Traitement de tampons périodiques sans risque toxicologique. TIERNO (1983) signale par exemple des cas graves de syndrome du "choc toxique" provoqué par Staphylococcus aureus, qui se développe parfois de façon importante.

- Traitement de bourres de plâtre à usage chirurgical pour éviter les infections secondaires dans les cas de fractures ouvertes.

- Traitement de supports cellulosiques avec des ammoniums quaternaires non aliphatiques, et donc non bactéricides, pour immobiliser des cellules vivantes (HATTORI 1972). Ce système est déjà utilisé par SHIGEMITSU (1985) pour produire des antibiotiques en flux continu.