

Université de Montréal

Prothèses en Nitinol avec revêtement de nanoparticules d'argent et cuivre
Évaluation des propriétés antimicrobiennes

Par

Geneviève Chartrand

Faculté de Médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en sciences biomédicales, option médecine expérimentale.

Août 2023

© Geneviève Chartrand, 2023

Université de Montréal

Faculté de Médecine

Ce mémoire intitulé

Prothèses en Nitinol avec revêtement de nanoparticules d'argent et cuivre
Évaluation des propriétés antimicrobiennes

Présenté par

Geneviève Chartrand

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Delphine Périé

Président-rapporteur

L'Hocine Yahia

Directeur de recherche

Yves Bendavid

Codirecteur

Adnane Sellam

Codirecteur

Mircea A. Mateescu

Membre du jury

Résumé

Une hernie abdominale survient lorsqu'un organe émerge de la cavité abdominale à travers une faiblesse musculaire. La cure de hernie est une des procédures chirurgicales les plus fréquemment réalisée. Une prothèse synthétique est souvent utilisée lors des procédures pour diminuer le taux de récives. L'implantation de prothèse peut entraîner certaines complications, dont les infections chroniques. Certains facteurs dans la conception de la prothèse peuvent diminuer les taux d'infections. Plusieurs études ont montré que le Nitinol et certaines nanoparticules possèdent des propriétés antimicrobiennes. Les objectifs de cette étude sont d'examiner les surfaces d'échantillons de prothèses en Nitinol revêtis de nanoparticules d'argent et cuivre, ainsi que d'évaluer préliminairement leurs propriétés antimicrobiennes.

Trois échantillons de prothèses ont été examinés : une en Nitinol seul et deux autres avec un revêtement de nanoparticules d'argent et cuivre, KJ103 et KJ501. L'étude de surface fut réalisée à l'École Polytechnique de Montréal. L'étude des propriétés antimicrobiennes fut réalisée dans les laboratoires de l'Institut de Cardiologie de Montréal. Les échantillons en Nitinol et une prothèse commerciale en polypropylène ont été exposés à trois micro-organismes habituellement retrouvés dans les infections chroniques : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Candida albicans*. Après une période d'incubation, des biofilms étaient visibles sur toutes les prothèses. Qualitativement, les prothèses en Nitinol semblaient moins susceptibles aux micro-organismes, en particulier l'échantillon KJ501.

Les hernies abdominales sont fréquemment diagnostiquées en médecine. Les prothèses utilisées lors des chirurgies servent à prévenir les récives. Par contre, les prothèses sont à risque de causer des infections chroniques. Cette expérience préliminaire suggère que les prothèses expérimentales en Nitinol ayant des nanoparticules d'argent et cuivres semblent moins susceptibles aux micro-organismes comparativement à une prothèse en polypropylène.

Mots-clés : hernie, nanoparticules, Argent, Cuivre, Nitinol, infections, microbes.

Abstract

An abdominal hernia occurs when an organ protrudes through a weakness in the abdominal wall. Hernia repair is one of the most frequently performed surgeries. During the repair, a synthetic mesh is often used to decrease recurrence rates. Meshes can be associated with complications, such as chronic infections. Certain properties of the mesh itself can decrease infection rates. Several studies have shown that Nitinol, as well as silver and copper nanoparticles, have antimicrobial properties. The objectives of this study were to examine some surface properties of samples of Nitinol mesh with silver and copper nanoparticles and to preliminarily evaluate their antimicrobial properties.

Three mesh samples were examined; one made uniquely with Nitinol and two others with silver and copper nanoparticle coatings, KJ103 and KJ501. The surface study was done at the École Polytechnique of Montréal. The study of the antimicrobial properties was performed at the laboratories of the Institut de Cardiologie de Montréal. The Nitinol samples and a commercially sold polypropylene mesh were exposed to three micro-organisms commonly found in mesh infection: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans*. After the incubation period, biofilms were visible on all the meshes. Qualitatively, the Nitinol mesh showed less biofilm growth, in particular the KJ501 sample.

Hernias are frequently diagnosed in medicine. Meshes are used during surgery to prevent recurrences. However, meshes are at risk of chronic infections. This preliminary experiment suggests that the Nitinol mesh with silver and copper nanoparticles are less prone to develop microbial biofilms when compared with a polypropylene mesh.

Keywords: hernia, nanoparticles, Silver, Copper, Nitinol, infections, microbes.

Table des matières

Résumé	3
Abstract.....	5
Table des matières.....	7
Liste des tableaux	11
Liste des figures	13
Liste des sigles et abréviations	17
Remerciements.....	21
Introduction	22
Chapitre 1 – Les hernies abdominales.	23
1.1 Qu’est-ce qu’une hernie abdominale?	23
1.2 Symptômes et impacts sur la qualité de vie des patients.....	24
1.3 Prise en charge et traitement	25
1.3.1 Incorporation d’une prothèse herniaire	26
1.4 Complications – infection de prothèse	27
1.4.1 Prise en charge des infections de prothèse	28
1.4.2. Facteurs de risque, mécanismes d’infections et pathogènes responsables.	29
Chapitre 2 – Prothèses herniaires.....	31
2.1 Historique des prothèses herniaires.....	31
2.2. Caractéristiques des prothèses herniaires.....	31
2.2.1 Matériaux.....	32
2.2.2 Porosité moyenne et réaction inflammatoire.....	32
2.2.3 Densité	34

2.2.4 Filaments et structures	36
2.3 L'ingénierie future.....	36
2.3.1 Revêtements (« coatings »)	37
Chapitre 3 – Le Nitinol et les Nanoparticules	39
3.1 Le Nitinol en médecine	39
3.1.1. Propriétés du Nitinol.....	39
3.1.2. Évaluation d'une prothèse en Nitinol, modèle animal	41
3.1.3. Le Nitinol du modèle animal à l'application médicale chez l'humain.....	42
3.2. Nanoparticules.....	43
3.2.1 Propriété antibactérienne des nanoparticules	44
3.2.2. Nanoparticules d'argent (AgNP)	45
3.2.3. Nanoparticules de cuivre (CuNP)	47
Chapitre 4 – Étude : évaluation des prothèses en Nitinol avec ou sans revêtement de nanoparticules d'argent et cuivre.....	50
4.1 Objectifs.....	50
4.2 Surface des prothèses.....	51
4.2.1. Analyse de surface des prothèses.....	51
4.2.1.1. Matériaux et méthodes	52
4.2.1.2. Résultats	52
4.3. Expériences avec biofilms microbiens	54
4.3.1. Évaluation des biofilms microbiens sur une prothèse commercialisée.....	54
4.3.1.1 Culture de <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> et <i>C. albicans</i>	54
4.3.1.2. Dépôt d'inoculum et initiation du biofilm sur prothèses.....	54
4.3.1.3. Constat de biofilm au fond des puits et sur les prothèses.....	56

4.3.1.4. Confirmation de présence de bactéries et levures sur prothèses.	58
4.3.2. Évaluation des biofilms bactériens (<i>S. Aureus</i> et <i>S. Epidermidis</i>) sur les prothèses en Nitinol	60
4.3.2.1 Culture de <i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i>	60
4.3.2.2. Dépôt d'inoculum et initiation du biofilm sur prothèses.....	60
4.3.2.3. Constat de biofilm au fond des puits et sur les prothèses.....	61
4.3.2.4 Vérification de la présence de bactéries sur prothèses	63
4.3.3. Évaluation des biofilms fongiques (<i>Candida albicans</i>) sur prothèse en Nitinol	64
4.3.3.1. Culture de <i>C. albicans</i>	64
4.3.3.2. Dépôt d'inoculum sur prothèses.....	64
4.3.3.3. Constat de biofilm au fond des puits et sur les prothèses.....	66
4.3.3.4. Vérification de la présence de levures sur prothèses	67
Chapitre 5 – Discussions et conclusions	69
5.1 Récapitulatif : Hernies abdominales et prothèses	69
5.2 Sommaire des résultats	70
5.2.1. Prothèses évaluées	70
5.2.2. PROLENE	71
5.2.3. Nitinol	71
5.2.4. Conclusions et trouvailles additionnelles.....	72
5.3 Limites et prochaines étapes	73
Références bibliographiques	75

Liste des tableaux

Tableau 1. Taille des pores, adapté de Baylón, 2017.....	34
Tableau 2. Catégories de poids de prothèses, adapté de Coda, 2012	35

Liste des figures

Figure 1. –	Classification des hernies abdominales (figure provenant de Tubre, DJ <i>et al</i> , 2018)	24
Figure 2. –	Tomodensitométrie démontrant un abcès (flèche) adjacent à une prothèse (figure provenant de Brennan K <i>et al</i> , 2021).....	28
Figure 3. –	Relation entre la taille des pores d’une prothèse et la formation d’un pont cicatriciel de granulome (figure provenant de Sanbhal N <i>et al</i> , 2018)	33
Figure 4. –	De gauche à droite : prothèse tricotée en trame, en chaîne, non tissée et tissée (figure provenant de Zhu L <i>et al</i> , 2015)	36
Figure 5. –	Mécanisme antibactérien des nanoparticules d’argent; relâchement des ions d’argent qui cause la mort cellulaire (figure provenant de Knetsch M <i>et al</i> , 2011)	46
Figure 6. –	Les trois échantillons de prothèses à base de Nitinol. A. Prothèse en Nitinol, sans revêtement, la mèche contrôle (MC). B. Prothèse en Nitinol avec revêtement KJ501. C. Prothèse en Nitinol avec revêtement KJ103.	50
Figure 7. –	Environnemental Scanning Electron Microscope à l’École Polytechnique de l’Université de Montréal, photo G. Chartrand.....	52
Figure 8. –	Micrographie électronique à balayage de la mèche contrôle (MC). A. Amplification à 50x. B. Amplification à 100x. C. Amplification à 500x.	52
Figure 9. –	Micrographie électronique à balayage de la mèche KJ 103. A. Amplification à 50x. B. Amplification à 500x. C. Amplification à 1 000x.....	53
Figure 10. –	Micrographie électronique à balayage de la mèche KJ 501. A. Amplification à 50x. B. Amplification à 100x. C. Amplification à 500x.	53
Figure 11. –	(A) Distribution des AgCuNP, (B) Formes des NPs	54
Figure 12. –	(A) Prothèse en polypropylène dans l’emballage commercial. (B) Image sous microscopie de la prothèse en polypropylène stérile, mag 20x.	55

Figure 13. – Répartition des prothèses en polypropylène, des bactéries et de la levure par puits sur les plaques. (A) Prothèse et *S. aureus*, (B) Prothèse et *S. epidermidis*, (C) Prothèse et *C. albicans*. 56

Figure 14. – **(A)** Fond d'un puit de la plaque A avec biofilm de *S. aureus*, mag 20x. **(B)** Fond d'un puit de la plaque B avec biofilm *S. epidermidis*, mag 20x. **(C)** Fond d'un puit de la plaque C avec biofilm *C. albicans*, mag 20x. 57

Figure 15. – (A) et (B) Prothèse de polypropylène sur plaque A' – *S. aureus*. Mag 20x..... 58

Figure 16. – (A) et (B) Prothèse de polypropylène sur plaque B' – *S. epidermidis*. Mag 20x... 58

Figure 17. – (A) et (B) Prothèse de polypropylène sur plaque C' – *C. albicans*. Mag 20x. 58

Figure 18. – (A) Colonies de *S. aureus* sur TSA. (B) Colonie de *S. epidermidis* sur TSA. (C) Colonies de *C. albicans* sur YPD. (D) TSA contrôle. (E) YPD contrôle. 59

Figure 19. – (A) Plaque A : les trois prothèses et *S. aureus*. (B) Plaque B : les trois prothèses et *S. epidermidis*. (C) Plaque C : plaque contrôle – inoculum de bactéries ou milieu seul, sans prothèses. 60

Figure 20. – Exemple représentatif des puits – coccus visible. Absence de croissance dans le puits avec TSB seul. (Photo par BioTek Cytation 5 high content microscope, mag 20x)..... 61

Figure 21. – Fond de puits de la plaque A – *S. aureus*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle. 62

Figure 22. – Fond de puits de la plaque B – *S. epidermidis*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle. 62

Figure 23. – Prothèses de la plaque A' – *S. aureus*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle..... 63

Figure 24. – Prothèses de la plaque B' – *S. epidermidis*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle. 63

Figure 25. – Géloses avec présences de colonies bactériennes. 64

Figure 26. – Répartitions des prothèses à base de Nitinol et levure sur deux plaques, A et B, pour augmenter le nombre de répliquas..... 65

Figure 27. – Biofilms au fond de puits de la plaque A – *C. albicans*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle. 66

Figure 28. – Prothèses de la plaque A' – *C. albicans*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle..... 66

Figure 29. – Géloses avec présences de colonies *C. albicans*. 67

Liste des sigles et abréviations

Ag : Argent

AgNP : Nanoparticules d'argent (équivalent : Ag⁰NP)

AgCuNP : Nanoparticules d'argent et cuivre (équivalent : Ag⁰Cu⁰NP)

AMF : Alliage à mémoire de forme (anglais : *shape memory alloy*)

ATCC : *American Type Culture Collection* (centre global de ressources biologiques)

C. albicans : *Candida albicans*

CMI : Concentration minimale inhibitrice

Cu : Cuivre

CuNP : Nanoparticules de cuivre (équivalent : Cu⁰NP)

E. coli : *Escherichia coli*

EHS : *European Hernia Society* (Société Européenne des Hernies)

ePTFE : Polytétrafluoroéthylène expansé (anglais : *expanded polytetrafluoroethylene*)

FDA : *Food and Drug Administration*

LIAB : Laboratoire d'Innovation et Analyse de Bioperformance, École Polytechnique

MC : Mèche (prothèse) contrôle

MET : Microscopie électronique en transmission

N/cm : Newton par centimètre

nm : Nanomètre

NiTi : Nitinol

NP : Nanoparticules

OD : Densité optique, ici prise à 600 nm

PVDF : Polyfluorure de vinylidène

PBS : Tampon phosphate saline (anglais : *phosphate buffer saline*).

RPM : Révolution par minutes

RPMI : Milieu de culture pour cellules (anglais : *Roswell Park Memorial Institute*)

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*

TiO₂ : Dioxyde de titane

TSA : Trypticase de soja

TSB : Bouillon de trypticase soja (anglais : *tryptic soy broth*)

UFC : Unité formatrice de colonies

YPD : Milieu de culture pour cellules (anglais : *yeast extract peptone dextrose*)

« Primum non nocere »

A ma famille et mes proches, pour leur soutien sans fin.

Remerciements

Je souhaite à remercier mon directeur de recherche, Professeur L'Hocine Yahia, ainsi que mes co-directeurs, Dr. Yves Bendavid et Professeur Adnane Sellam, de m'avoir offert cette unique opportunité. Ce projet m'a permis d'explorer un domaine médical d'intérêt, de découvrir des nouvelles techniques de recherche et d'apprécier l'importance des approches multidisciplinaires.

Je remercie la Professeure Karina Mireles et Adriana Vazquez pour leurs explications et enthousiasme au LIAB.

Je suis reconnaissante envers la Dre. Faiza Tebbji et l'équipe au laboratoire de l'Institut de Cardiologie de Montréal pour leur support et patience.

À nos collaborateurs à l'étranger, Professeurs Chekalkin et Yang, pour leurs contributions matérielles et les discussions stimulantes sur le sujet.

Enfin, je remercie mes proches pour leur soutien depuis le début de ce long parcours.

Introduction

La cure de hernie est une des chirurgies les plus fréquemment réalisée. Dans la majorité des interventions, une prothèse est installée pour renforcer la réparation. Sans cette prothèse, le taux de récurrence de hernie est élevé. Il existe plusieurs types de prothèses divisés en deux grandes catégories; synthétiques et biologiques. Les prothèses principalement utilisées sont synthétiques et conçues en polypropylène. Cependant, ces prothèses peuvent mener à certaines complications.

L'objectif de ce mémoire est d'explorer la problématique des infections de prothèses herniaires. Les propriétés antimicrobiennes de nouvelles prothèses en Nitinol revêtis de nanoparticules d'argent et cuivre seront comparées à celles des prothèses en polypropylène.

Ce mémoire est réparti en cinq chapitres. Le premier chapitre décrit la pathologie des hernies abdominales, les traitements et les potentielles complications. Le deuxième chapitre résume les caractéristiques des prothèses synthétiques ainsi que certaines innovations récentes cherchant à améliorer les résultats des chirurgies. Le troisième chapitre introduit l'alliage Nitinol et les nanoparticules d'argent et cuivre ainsi que leurs propriétés antimicrobiennes. Le quatrième chapitre détaillera les expériences réalisées pour comparer les prothèses en Nitinol avec revêtement de nanoparticules aux prothèses commerciales en polypropylène. Finalement, le dernier chapitre résumera l'ensemble du mémoire et discutera des limites des expériences.

Chapitre 1 – Les hernies abdominales.

Cette section a pour but de présenter une condition médicale fréquente qui requiert un traitement chirurgical dans la majorité des cas. Les types, étiologies, présentations cliniques et prises en charge des hernies abdominales sont variés. Ainsi, ce chapitre est un survol non exhaustif d'un problème médical commun mais complexe. L'objectif est une mise en contexte pour apprécier l'importance de la recherche dans ce domaine.

1.1 Qu'est-ce qu'une hernie abdominale?

Une hernie abdominale survient lorsqu'un organe, souvent l'intestin grêle, émerge de la cavité abdominale à travers un déficit de la paroi musculaire (1). Cette faiblesse est décrite comme un « collet ». Le contenu de la hernie peut être uniquement du tissu adipeux provenant du grand épiploon. Parfois, dans les cas de hernies volumineuses l'estomac, le colon ou d'autres organes peuvent s'y retrouver. Il existe des facteurs de risques au développement de hernies, incluant : l'âge avancé, être mâle, souffrir de toux chronique et autres (2). Il y a plusieurs types de hernies abdominales, selon la localisation anatomique et l'étiologie. En 2007, les membres du « European Hernia Society » (EHS) ont développé une nomenclature standardisée des hernies de l'aine pour faciliter les échanges médicaux dans la littérature (3). Dans cette région on retrouve : les hernies inguinales directes, les hernies inguinales indirectes et les hernies fémorales selon leur localisation anatomique. La prévalence à vie d'une hernie inguinale chez l'homme est de 27% et 3% chez la femme. Les hernies de l'aine sont en majorité inguinales (96%) et peuvent être bilatérales dans 20% des cas (2). En 2009, les membres du EHS ont tenté de développer une nomenclature pour les hernies abdominales (4). Ils ont statué sur les termes : « hernie primaire de la paroi abdominale » et « hernies incisionnelles ». Une hernie primaire provient d'un défaut congénital de la paroi. Il en existe plusieurs catégories, entre autres : épigastrique, ombilicale, spiegelienne ou lombaire selon la localisation sur l'abdomen. Une hernie incisionnelle survient lorsque le patient a subi une chirurgie pour une autre cause et que l'aponévrose (partie fibreuse de la paroi abdominale) ne parvient pas à guérir (figure 1). Certaines études rapportent un taux

de hernies incisionnelles atteignant 20% après des procédures réalisées par laparotomie (incision majeure abdominale) (5).

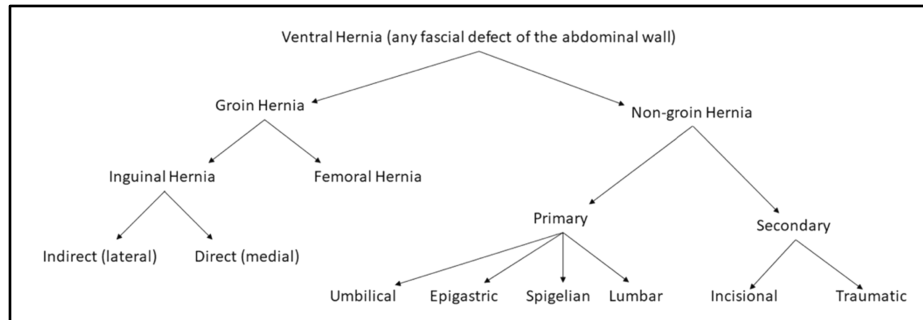


Figure 1. – Classification des hernies abdominales (figure provenant de Tubre, DJ *et al*, 2018)

La cure de hernie consiste à pratiquer une incision de quelques centimètres au site de la hernie, à enlever le sac formé par la hernie, à replacer sont contenue dans l’abdomen et à refermer solidement la paroi abdominale. C’est une procédure chirurgicale très fréquemment réalisée. En 2018, le « Food and Drug Administration » (FDA) aux Etats-Unis a estimé que plus d’un million de cures de hernies étaient faites par année (6).

1.2 Symptômes et impacts sur la qualité de vie des patients

Les signes et symptômes d’une hernie se présentent sur un continuum; certains peuvent être imperceptibles et d’autres nécessitent une chirurgie en urgence.

Selon certaines études, jusqu’à un tiers des patients porteurs d’une hernie sont asymptomatiques (2). Les patients ayant des hernies symptomatiques rapportent une sensation de voussure ou renflement au site, d’inconfort, de douleur, une diminution de la force musculaire de la paroi ou d’une insatisfaction au niveau cosmétique (7). Les symptômes perçus par les patients peuvent demeurer les mêmes toute leur vie et, chez d’autres, un renflement peut s’accroître avec le temps jusqu’à devenir douloureux. De plus, la sensation provenant de la hernie peut fluctuer lors d’une journée selon les activités du patient. Des tâches qui augmentent la pression intra-abdominale, telles que soulever des charges lourdes ou même tousser, peuvent aggraver les symptômes (2).

La voussure ressentie par le/la patient/e peut disparaître lorsque celui/celle-ci est allongé/e. Médicalement, une telle hernie est considérée comme « réductible »; soit le contenu se réduit dans l'abdomen. Lorsque la hernie se coince dans la faiblesse de la paroi abdominale et ne peut pas être réduite, elle est considérée comme « incarcerated ». Ceci peut se produire avec le temps ou si le collet de la hernie est d'un petit diamètre. Cliniquement, une hernie incarcerated est perçue comme un renflement présent en tout temps et peut causer des symptômes de pincements. Elle peut aussi causer une occlusion intestinale; c'est-à-dire un blocage des aliments digérés et sécrétions physiologiques avec dilatation proximale de l'intestin. Le patient se présente alors avec des nausées et vomissements. L'incarcération de la hernie peut mener à la « strangulation », c'est-à-dire une diminution de l'apport sanguin vers les tissus pris dans la hernie. Une ischémie des tissus intestinaux peut mener à une perforation. Finalement, une perforation intestinale entraîne un sepsis (infection grave) qui provoque chez le patient une perturbation hémodynamique. (8)

Plusieurs sondages ont été développés par les experts dans le domaine pour saisir l'impact d'une hernie et d'une cure chirurgicale sur la qualité de vie des patients, tels que : le Carolinas Comfort Scale (CCS), le Activities Assessment Scale (AAS) et le Hernia-Related Quality of Life Scale (HerQLes) (9). Le AAS contient 13 questions qui survolent les aspects tels que : l'humeur, le mode de vie et le niveau d'activité physique du patient (10). Une étude a montré que les participants n'ayant pas de hernie avaient un score moyen AAS de 81,6 qui était significativement plus élevé comparé aux participants porteurs de hernie, avec un score moyen AAS de 31,4 (11).

Ainsi, malgré les étiologies bénignes des hernies, ce sont des pathologies qui peuvent causer beaucoup de désagréments au quotidien chez les patients et peuvent mener à des urgences chirurgicales.

1.3 Prise en charge et traitement

Les chirurgiens généraux, les généralistes et urgentologues sont les médecins les plus souvent confrontés aux hernies.

Le diagnostic est principalement clinique; il est établi lors de l'examen physique du patient en position couché et debout. Une imagerie par échographie dynamique ou par tomodensitométrie peut être effectuée si l'examen physique est non concluant : chez les patients obèses, ou pour préciser le diagnostic lorsque plusieurs semblent possibles, si on suspecte qu'une hernie est complexe (2, 12). La prise en charge dépendra du type de hernie et de la condition du patient.

Un traitement conservateur ou un suivi sans chirurgie peut être appliqué pour les hommes ayant une hernie inguinale occulte (asymptomatique) ou peu symptomatique. En 2006, une étude randomisée a été réalisée pour évaluer cette approche conservatrice, souvent nommée « Watch and Wait » (13). Les auteurs ont statué qu'il était sécuritaire de ne pas opérer les hommes avec une hernie inguinale minimalement symptomatique. La principale raison pour les participants de subir une chirurgie était de la douleur et non une incarceration/strangulation subite. Avec suivi de 10 ans, 30% des patients ont eu recours à la chirurgie (14). L'approche conservatrice peut être choisie pour des patients avec multiples comorbidités chez qui les risques d'une chirurgie herniaire seraient plus importants que les bénéfices.

D'autres hernies nécessitent une chirurgie élective planifiée dans les prochaines semaines ou mois, ou une chirurgie urgente dans les prochaines heures après le diagnostic. Chez les femmes, une hernie au niveau de l'aîne requiert souvent une chirurgie car il est probable que cette hernie soit fémorale et non inguinale. Le risque de strangulation de ce type de hernie est plus accru (15). Les incarcerations aiguës (subites) et les hernies strangulées requièrent des chirurgies urgentes.

Une cure de hernie chirurgicale peut être réalisée par « laparotomie » (technique ouverte), par « laparoscopie » (technique fermée) et même en robotique. Chaque technique ayant ses propres indications, avantages et désavantages.

1.3.1 Incorporation d'une prothèse herniaire

Un aspect critique de la chirurgie, qu'importe la technique, est l'implantation ou non d'une prothèse parfois nommée « mèche ». La prothèse permet une cure de hernie sans tension. Des études examinant les guérisons de plaies ont démontré qu'après le remodelage final les tissus

gardaient une faiblesse, n'ayant approximativement que 70 à 80% de leur force tensile originale (16). La qualité des tissus est encore plus déficiente chez les patients plus âgés, obèses, dénutris, fumeurs, alcooliques, immuno-supprimés et porteurs de maladies systémiques telles que le diabète (17).

Une étude publiée par le New England Journal of Medicine en 2000 a changé la pratique des chirurgiens (18). Cette étude était randomisée, contrôlée et multicentrique. Elle a comparé la réparation d'une hernie incisionnelle avec ou sans prothèse (suture seulement). Au suivi à 3 ans, il y avait 43% de récurrence de hernie dans le groupe sans prothèse comparativement, à 24% dans le groupe ayant eu une prothèse (valeur $p = 0.02$). D'autres études ont suivi et démontré que le taux de récurrence de hernies incisionnelles sans prothèse peut s'élever jusqu'à 50% (19). Donc, chez l'adulte, une prothèse synthétique est maintenant utilisée lors de la majorité des cures de hernie incisionnelle, inguinale ou fémorale, pour minimiser le taux de récurrences.

1.4 Complications – infection de prothèse

Malgré l'avantage de renforcer la paroi abdominale, l'implantation de prothèse peut entraîner certaines complications. Celles-ci sont multiples et leurs incidences varient selon le type de hernie et l'approche chirurgicale utilisée. Les complications possibles incluent les infections chroniques (figure 2), la douleur chronique, la migration (ou déplacement) de prothèse, la formation de fistules, la formation de séromes, les occlusions intestinales et, ironiquement, la récurrence d'hernie (20, 21).

Une infection au site chirurgical est définie comme une infection qui survient à 30 jours d'une intervention. Ce délai augmente à 12 mois pour une intervention avec implantation de corps étranger, telle une prothèse. Le taux d'infection de plaie après une cure d'hernie incisionnelle avec prothèse peut atteindre 10% si la procédure est réalisée par laparotomie et 4% si réalisée par laparoscopie (22). En moyenne, la durée de réadmission à l'hôpital pour gestion d'infection est de 9 jours (23). En plus d'être associées aux réadmissions, aux visites médicales plus fréquentes et à une diminution dans la qualité de vie, les infections de prothèses entraînent un coût substantiel au système de santé. Aux États-Unis, le traitement d'une seule infection de plaie après cure de hernie avec prothèse peut coûter plus de US\$75,000 (22) souvent le double

du coût de la chirurgie initiale (23). Le diagnostic d'infection de plaie et les procédures subséquentes peuvent avoir lieu jusqu'à 10 ans après la chirurgie indexe (22).

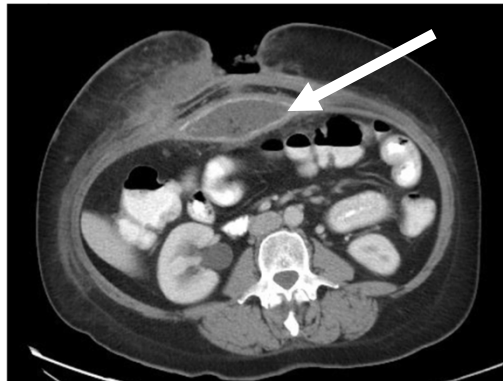


Figure 2. – Tomodensitométrie démontrant un abcès (flèche) adjacent à une prothèse (figure provenant de Brennan K et al, 2021)

1.4.1 Prise en charge des infections de prothèse

Lorsqu'un/e patient/e se présente avec une infection de plaie, le traitement dépend de l'état hémodynamique (la stabilité) du patient, de l'étendu de l'infection, le type de prothèse utilisé et de l'expertise du chirurgien.

Une approche conservatrice comporte un traitement systémique d'antibiotiques ciblés sur les pathogènes identifiés (voir section 1.4.2). En se basant sur des études de gestion conservatrices d'infections de prothèses vasculaires, vue le manque de telles études réalisées sur les prothèses pour cure de hernies, la durée d'antibiothérapie généralement recommandée est de 6 à 18 semaines (24). L'utilisation d'antibiotiques seuls est insuffisante pour adresser une infection de prothèse. L'ouverture de l'incision, le débridement de la plaie, le drainage de l'abcès et des pansements à pression négative peuvent aider à traiter l'infection sans nécessiter l'exérèse de la prothèse (25). Un clinicien peut opter pour cette dernière approche pour éviter le retrait de la prothèse qui entrainerait presque toujours une récurrence de la hernie.

Malgré des soins optimaux, le taux d'échec d'un traitement conservateur d'une infection demeure élevé lorsqu'un corps étranger, telle une prothèse, est laissé en place. Certaines études citent que seulement 10% des prothèses infectées n'auront pas besoin d'être excisées après 10 ans (26). Il n'y a pas de consensus établi qui détermine après combien de temps cette approche

« conservatrice » est jugée comme inefficace (24). La majorité des chirurgiens choisissent de retirer partiellement ou entièrement la prothèse dès le diagnostic (27). Lors de cette deuxième intervention, le chirurgien peut être confronté à une prothèse partiellement intégrée dans les tissus du patient. L'excision complète peut s'avérer très laborieuse, nécessitant une dissection dans les plans anatomiques difficilement identifiable secondairement à la fibrose et l'inflammation. Par contre, le désavantage de ne pas retirer complètement la prothèse est un risque de persistance d'infection. Parmi les chirurgiens spécialisés en réparation de hernies, 90% préfèrent retirer entièrement la prothèse (27).

1.4.2. Facteurs de risque, mécanismes d'infections et pathogènes responsables.

Plusieurs facteurs de risques d'infections de prothèse ont été identifiés. Les facteurs de risques associés aux patients sont : les patients âgés, les fumeurs, les patients dénutris, les patients porteurs de maladies systémiques sévères, les patients obèses et/ou ayant une maladie pulmonaire obstructive chronique, ceux ayant des antécédents d'infections de plaies. Les facteurs de risques associés à la procédure sont : les chirurgies initiales de longues durées, un système de ventilation défectueux dans les salles d'opération et les chirurgies lors desquelles il y a eu une entérotomie (perforation intestinale) accidentelle (23, 28). Les risques d'infections sont aussi accrus dans les cas d'urgence (21).

Dans la majorité des infections de plaie, l'inoculation se fait à partir de la flore endogène du patient, c'est-à-dire, des microbes déjà présents sur la peau (28). Plus rarement, les pathogènes peuvent provenir des intervenants médicaux ou de l'environnement opératoire. Il y a différentes phases d'infections de prothèse (21). D'abord, une interaction rapide mais réversible entre le pathogène et la prothèse a lieu. Les bactéries semblent s'attacher préférentiellement aux surfaces non-polaires et hydrophobiques qu'aux surfaces hydrophiliques, telles les surfaces en métal (22). Cette interaction se stabilise ensuite par un processus d'adhésion grâce des facteurs cellulaires et moléculaires (21). Les bactéries peuvent ensuite proliférer et s'accumuler sur la surface du matériel (22). Éventuellement, les bactéries vont interagir entre elles et former des biofilms. Les biofilms sont des capsules amorphes constitués de polysaccharides et protéines

extracellulaires qui ont pour fonction de protéger les bactéries ou les champignons de l'environnement, dans ce cas-ci, le système immunitaire. Les microorganismes contenus dans le biofilm n'ont pas tous la même activité métabolique; les cellules superficielles sont souvent métaboliquement actives et celles en profondeur sont dormantes, ce qui diminue leur susceptibilité aux antimicrobiens. Un biofilm peut être établi rapidement, soit 10h après l'inoculation. Finalement, des fragments de biofilm peuvent se disperser dans l'organisme et ensemençer d'autres régions (29).

En microbiologie, l'appellation « unité formatrice de colonie » (UFC) désigne la quantité de bactéries ou de levures viables dans un échantillon. Pour former un biofilm, il faut approximativement 10^5 UFC. Lorsqu'on ajoute un corps étranger, comme une prothèse synthétique, seulement 10^2 UFC sont nécessaires pour établir un biofilm (30).

Les bactéries les plus fréquentes dans les infections de plaies sont les bactéries *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) et ensuite *Escherichia coli* (*E. coli*) (21, 31). Les infections fongiques au *Candida albicans* (*C. albicans*), quoique plus rares, peuvent être également dévastatrices (32, 33).

Chapitre 2 – Prothèses herniaires

2.1 Historique des prothèses herniaires

La problématique des hernies existe depuis des siècles. Dans l'ancien manuscrit Égyptien du Papyrus d'Ebers, datant du 16^e siècle B.C.E., on retrouve la première description d'une hernie épigastrique. Sa prise en charge était l'application de chaleur sur le site affecté (34). Plusieurs textes de l'époque gréco-romaine puis ensuite au Siècle des Lumières décrivent les différents types de hernies (35). La première chirurgie herniaire documentée fut en 1836 par le chirurgien français Pierre Nicholas Gerdy (36). Celle-ci consistait à inverser la hernie à travers son propre collet, en incluant la peau et en injectant un agent sclérosant (ammoniaque) pour fibroser le tout. Les chirurgiens ont tenté de perfectionner la technique. Celle-ci a évolué de sutures simples aux greffes (cutanées ou musculaires), puis aux prothèses. Les premières prothèses étaient en métaux tel que l'or, l'argent et le laiton (37). En plus d'un taux élevé de récurrences, de telles prothèses étaient très rigides et causaient des réactions inflammatoires importantes. C'est après la deuxième guerre mondiale et les avancées dans l'industrie du plastique que les polymères présentement utilisés ont émergé : polyester et polypropylène (35, 38). L'adoption de telles prothèses est largement due aux efforts de Dr. Francis Usher (39).

2.2. Caractéristiques des prothèses herniaires

Il y a plusieurs critères à satisfaire lors de la conception d'une prothèse herniaire. D'abord la prothèse doit bien s'intégrer dans les tissus du corps humain, elle ne peut pas être toxique ou causer des réactions inflammatoires sévères. Elle doit être peu susceptible aux infections et colonisations bactériennes. La prothèse doit également avoir les attributs nécessaires pour combler le déficit du collet herniaire pour renforcer la paroi et maintenir ses propriétés à long terme. Ainsi, il y a certaines caractéristiques à rechercher dans une prothèse pour satisfaire ces critères.

2.2.1 Matériaux

Il existe plus de 100 différentes marques commerciales de prothèses approuvées par les organismes gouvernementaux, tel Santé Canada ou le FDA. De nos jours, les prothèses les plus fréquemment utilisées pour les hernies abdominales sont à base de polymères, soit de polyester ou polypropylène, mais il existe aussi des prothèses à base de « expanded Polytetrafluoroethylene » (ePTFE) et polyfluorure de vinylidène (PVDF) (40, 41). Les prothèses sont reconnues par les chirurgiens sous les noms commerciaux comme Parietex ©, SurgiPro ©, Marlex © et autres. Le polyester est retrouvé dans plusieurs applications – des industries de textile au domaine de la médecine. Les prothèses en polyester sont faites en mono ou multi filaments et hydrophiles. C'est un matériel qui s'intègre bien dans le corps humain, ne se rétrécit pas et forme peu de plaques cicatricielles. Ce sont des prothèses qui sont sécuritaires et efficaces lors de la réparation d'hernies ventrales (42). Les prothèses en polypropylène peuvent également être conçues en mono ou polyfilaments. Elles peuvent être conçues comme macroporeuse et de faible densité ce qui favorise leur intégration dans le corps humain tout en préservant une certaine souplesse de la paroi abdominale (43).

2.2.2 Porosité moyenne et réaction inflammatoire

La porosité d'une prothèse représente l'espace entre les mailles de matériaux. Le terme « porosité moyenne » est préférable car la structure microscopique des pores est variable dans une même prothèse. Plusieurs études ont évalué la relation entre la taille des pores et la réaction inflammatoire ainsi que les risques d'infection.

La réaction inflammatoire est la réponse du système immunitaire envers un corps étranger (40). Elle est divisée en quelques étapes majeures :

- a) Immédiatement après l'installation de la prothèse, une série de réactions se produit et aboutit en une agglomération d'albumine, fibrinogène et immunoglobulines autour des mailles. Ceci attire les neutrophiles, la première ligne de défense du système immunitaire. Incapables de digérer la prothèse, les neutrophiles vont eux-mêmes périr et c'est alors que les macrophages débiteront la deuxième phase de la réaction.

- b) Éventuellement, ces macrophages vont fusionner autour des mailles pour former un granulome ou « giant body foreign cell ». Ceci marque la phase chronique de l'inflammation et sera présent autour du corps étranger tant que celui-ci restera implanté. Cette étape se produit approximativement après une semaine.
- c) Les fibroblastes débutent la phase de guérison et c'est la création de cicatrice, qui intègrent la prothèse dans le corps humain.
- d) Dans cette matrice cicatricielle, l'angiogenèse (la formation de nouveaux vaisseaux sanguins) aura lieu. Cette finalisation peut durer plus de 12 semaines.

Toute cette chorégraphie moléculaire se fait dans un équilibre; trop de réactions pourraient faire basculer le processus vers la création d'une plaque cicatricielle importante autour de la prothèse, au lieu d'une incorporation de celle-ci.

Les prothèses sont normalement constituées en treillis. Lors de la réaction inflammatoire, les granulomes se forment sur les filaments du treillis et sur les intersections entre les filaments. Si la dimension des pores est trop petite les granulomes vont être contigus et, ainsi, créer un pont cicatriciel « *bridging scar* » (figure 3) (44). Le résultat est une encapsulation fibreuse du corps étranger et rend l'intégration impossible. Cette encapsulation est avasculaire. En revanche, des pores plus larges permettent la régénération de tissus de l'hôte entre les mailles de la prothèse. Malgré la micro-encapsulation par le granulome, il existe suffisamment d'espace entre les mailles pour l'infiltration des cellules et la néovascularisation. Des pores de plus de 200-300 μm sont nécessaires pour le développement de nouveaux vaisseaux sanguins (44).

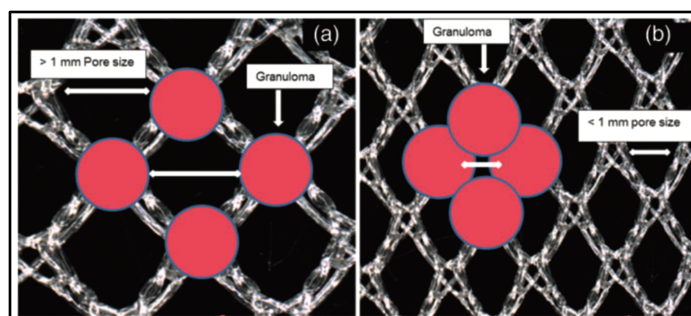


Figure 3. – Relation entre la taille des pores d'une prothèse et la formation d'un pont cicatriciel de granulome (figure provenant de Sanbhal N *et al*, 2018)

Les petits pores de taille inférieure à $75 \mu m$ augmentent aussi les risques d'infections chroniques (41, 45). La taille d'une bactérie dépend de son espèce et du milieu dans lequel elle existe. La bactérie *Staphylococcus aureus* peut avoir un volume entre $0.4-3\mu m^3$ (46). Ainsi, ces microorganismes peuvent s'infiltrer entre les mailles et, en l'absence de vaisseau sanguin, sont à l'abri de l'immunité du patient (47, 48). Elles peuvent donc se diviser et former des biofilms.

La taille des pores est catégorisée et c'est un important paramètre à connaître avant d'implanter une prothèse chez un patient (Tableau 1).

Catégorie	Taille
Microporeuse (solide)	$< 100 \mu m$
Petite pore	$100-600 \mu m$
Pore moyenne	$600-1000 \mu m$
Pore large	$1000-2000 \mu m$
Pore très large	$>2000 \mu m$

Tableau 1. Taille des pores, adapté de Baylón, 2017

2.2.3 Densité

La densité est un terme utilisé dans le domaine des prothèses mais nécessite une clarification. La « masse surfacique » se réfère au poids par unité de surface c'est-à-dire : g/m^2 (49). Les cliniciens utilisent le terme « densité » qui se réfère au poids par unité de volume : g/m^3 . Ceci est un terme plus juste. Mais, étant donné l'épaisseur négligeable d'une prothèse comparativement à sa superficie, l'unité « g/m^2 » est adéquate. La densité d'une prothèse dépend du type et quantité de matériaux utilisés (45).

Des études animales ont démontré que les prothèses plus légères avaient peu de réaction inflammatoire un an après l'implantation (50). Par contre, l'activité de remodelage inflammatoire était encore marquée pour les prothèses plus lourdes après un an. Une quantité importante de matériaux, qui correspond à un poids lourd de prothèse, augmente la réaction inflammatoire. Le tissu fibreux résultant peut diminuer la souplesse abdominale (51). Ceci semble bien corrélérer avec la symptomatologie des patients en post-opératoire. Une étude prospective a comparé la

sensation d'inconfort et de douleur en post-opératoire de cure de hernie inguinale chez des patients ayant eu l'implantation d'une prothèse légère ou plus lourde (52). Les patients ayant eu une prothèse plus légère avaient de meilleurs résultats en termes de confort.

Un inconvénient théorique de l'installation d'une prothèse plus légère serait une diminution de la force de traction (ou « stress ») nécessaire pour causer une déchirure du treillis et augmenter le risque de récurrence de hernie. Pour tester cette hypothèse des chercheurs ont d'abord évalué les pressions intra-abdominales générées par le corps humain lors de diverses manœuvres sur des sujets en santé (53). Les pressions maximales étaient, lorsque les participants toussaient debout, en moyenne 107.6 mmHg, et lorsqu'ils sautaient, en moyenne 171 mmHg. Ils ont ensuite calculé l'équivalence de force tangentielle appliquée sur la paroi abdominale en considérant l'abdomen comme un cylindre et en utilisant le principe hydrostatique de Pascal (43). En d'autres unités, l'abdomen peut résister à des forces tangentielles entre 11 et 27 N/cm. Cette force tensile est largement inférieure à celle des prothèses couramment utilisées qui est au moins 32 N/cm (54). A moins d'un problème de manufacture ou de manipulation per-opératoire, les récurrences de hernies ne seraient donc pas attribuables à une rupture de prothèse en soi, selon les auteurs. Des facteurs causals sont, potentiellement, la technique chirurgicale ou même une réaction inflammatoire importante autour des prothèses lourdes qui entraînent une mauvaise intégration et puis une migration de prothèses (43).

Certains auteurs ont tenté de catégoriser la « densité » des prothèses (Tableau 2)(55).

Catégorie	« Densité »
Ultra light	< 35 g/m ²
Light	≥35 à <70 g/m ²
Standard	≥70 à < 140 g/m ²
Heavy	≥140 g/m ²

Tableau 2. Catégories de poids de prothèses, adapté de Coda, 2012

2.2.4 Filaments et structures

La taille des filaments des prothèses est généralement entre 100 et 300 μm (56). La configuration des filaments de matériel est un paramètre à connaître. Les filaments peuvent être tissés ou tricotés (figure 4).

- a) Les textiles tissés sont créés par l'entrecroisement de fils en chaîne qui font la longueur et d'autres en trame qui font la largeur de la prothèse. Les séries de fils sont tissés fermement ensemble ce qui génèrent des petits pores (41).
- b) La majorité des prothèses sont tricotées car elles sont plus flexibles et élastiques. Ainsi elles se conforment mieux aux propriétés de la paroi abdominale (40). Le produit final aura également des pores plus larges. Les prothèses peuvent être mono ou multi filaments (41).
 - a. Elles peuvent être tricotées en « trame », c'est-à-dire : les filaments sont orientés horizontalement, en rangées.
 - b. Elles peuvent être tricotées en « chaîne », c'est-à-dire : les filaments sont entrelacés les uns avec les autres horizontalement, verticalement et sont donc indémaillables. Cette dernière technique permet que la prothèse soit taillée sans qu'elle se démêle (45).

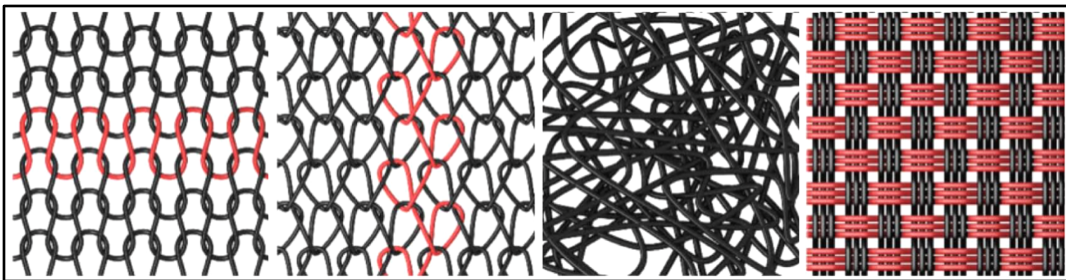


Figure 4. – De gauche à droite : prothèse tricotée en trame, en chaîne, non tissée et tissée (figure provenant de Zhu L et al, 2015)

2.3 L'ingénierie future

Les prothèses « simples » de polypropylène ou polyester sont parfois nommées « prothèses de première génération. » Tel que présenté dans la section précédente, certains

facteurs dans la conception de la prothèse peuvent contribuer à l'optimisation de celles-ci et à la prévention des infections. Ainsi, l'industrie continue donc de modifier les paramètres à la recherche de la prothèse idéale. Des combinaisons de matériel synthétique ont créé des prothèses de « deuxième génération ». Ensuite, il y a eu le développement de prothèses biologiques, à base de cellules de derme humain, porcine et bovine. Pour rester dans l'optique de ce document, nous nous concentrerons sur les prothèses synthétiques.

2.3.1 Revêtements (« coatings »)

L'application d'un revêtement ou enrobage sur le matériel de base est une modification d'intérêt. Ceci offre la possibilité de créer deux surfaces ayant des propriétés uniques selon l'orientation de la prothèse dans le patient. Une surface s'intégrera bien dans la paroi pour la renforcer et l'autre évitera les adhérences (cicatrices) avec les organes dans la cavité abdominale; ceci diminuerait les risques de fistule, occlusion, etc. Par exemple, un groupe a conçu une prothèse ayant un côté en polypropylène et l'autre côté ayant un composé de polycaprolactone et cellulose régénérée oxydée. Ils ont ensuite comparé cette prothèse à une prothèse en polypropylène standard (57). Après implantation dans des animaux, la prothèse à deux couches a démontré moins d'adhérences intra-abdominale. Plus récemment, les chercheurs se sont penchés sur l'utilisation de nanoparticules antimicrobiennes pour revêtir les prothèses. Un groupe a élaboré une prothèse de polyester avec des nanoparticules chargées d'oxyde nitrique, un substrat ayant une propriété bactéricide (58). Ils ont observé une réponse dose-dépendante entre la quantité d'oxyde nitrique et l'effet antimicrobien. Il existe plusieurs types de nanoparticules ayant des attributs utiles dans le domaine des prothèses.

Chapitre 3 – Le Nitinol et les Nanoparticules

3.1 Le Nitinol en médecine

Le Nitinol (NiTi) est un alliage de Nickel (Ni) et Titane (Ti) découvert en 1959 dans le Naval Ordnance Laboratory (NOL), lieu actuel du FDA (59). Un alliage est un mélange de deux matériaux dont un est obligatoirement un métal. Le Nitinol est composé de nickel et titane de composition quasi-équiatomique. Le Nitinol fut initialement utilisé dans de multiples objets du quotidien tels que : les voitures, les valves de douches et les machines à café ainsi que dans des industries militaires et aérospatiales (60). Ce fut à la fin des années 1980 que le Nitinol fut introduit dans le domaine de la médecine sous forme de stents vasculaires par le docteur Palmaz (61, 62). Depuis, le Nitinol est retrouvé dans plusieurs domaines médicaux, entre autres, en orthopédie sous forme de fixateurs pour la réparation de fractures, en cardiovasculaire sous forme de filtre et valve, et en dentisterie sous forme câbles (59, 63).

Le Nitinol fut étudié au Laboratoire d'Innovation et Analyse de Bioperformance (LIAB) de l'école Polytechnique à Montréal dès les années 1990. Les premières analyses de biocompatibilités furent réalisées par immunohistochimie sur des vis orthopédiques en Nitinol sur des modèles animaux (64). Puis la génotoxicité du Nitinol fut évaluée par l'essai « in situ end-labeling » en microscopie électronique (65). Le LIAB a également poursuivi ses recherches sur les effets de traitement de surface, stérilisation, corrosion et évaluation des caractéristiques du Nitinol (66-68). Les prochaines sections exploreront en plus de détails les propriétés du Nitinol ainsi que ses applications médicales, en particulier, sur les prothèses de hernies abdominales.

3.1.1. Propriétés du Nitinol

Les propriétés du Nitinol en font un alliage intéressant pour les dispositifs médicaux. C'est d'abord un matériel **biocompatible**. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont démontré cet attribut et ont été regroupées par Alipour et al (59). Notamment, le groupe du Dr. Es-Souni a évalué si des cultures de cellules épithéliales exposées au Nitinol seront affectées morphologiquement et si l'alliage avait un effet cytotoxique (69). Après avoir exposé les cellules au Nitinol, les chercheurs

ont comparé cet échantillon à un autre échantillon de cellules n'ayant pas été exposé en utilisant les techniques de microscopie conventionnelle et de microscope électronique à balayage (SEM). Ils ont trouvé que les deux échantillons étaient similaires en termes d'intégrité des jonctions intercellulaires, nucléiques ainsi que des projections cytoplasmiques. Le test « MTT bio toxicité », déterminant l'activité de l'enzyme lactate déshydrogénase, est un substitut de l'activité de la mitochondrie. Ils ont trouvé une baisse de seulement 10% en 24h (suivi d'une autre 5% en 72h) avec le Nitinol comparativement au control.

Une appréhension envers le Nitinol est sa composante de Nickel car celui-ci est un élément toxique. La corrosion d'un matériel à long terme peut entraîner une libération de particules de Nickel dans le corps humain. La FDA a statué que pour les dispositifs en Nitinol la quantité de Nickel relâché ne doit pas dépasser $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}$ (70). Le Nitinol est utilisé car malgré sa composante de nickel, lorsque la surface de l'alliage est exposée à l'oxygène, un processus d'oxydation débute et une couche de dioxyde de titane (TiO_2) se forme autour du matériel. Ainsi, très peu de Nickel est détectable (59). Lors de l'oxydation, les atomes de nickel vont diffuser dans les couches plus profondes de l'alliage et les atomes de titane resteront dans la matrice d'oxide. Si une couche de TiO_2 se forme, des atomes de Nickel peuvent rester pris dans cette épaisseur. Avec des méthodes d'oxydation rapides à haute température, il est possible de contrôler la réaction et de former uniquement une couche stable de TiO_2 (71).

De nombreuses études ont démontré l'**absence de corrosion** du Nitinol lorsque implanté dans le corps humain (72). De plus, il existe plusieurs types de modification de surface lors de la conception d'un dispositif à base de Nitinol : l'électro-polissage, le polissage mécanique, la passivation, la gravure chimique (chemical etching), l'affûtage (grinding)... Chacune des techniques ayant différents effets sur la corrosion (73). Le groupe de Nagaraja et al (2017) a démontré que des stents avec polissage mécanique, une technique qui purifie la couche de TiO_2 en éliminant le Nickel à la surface, avaient très peu de relâchement de Nickel *in vitro* et une bonne résistance à la corrosion *in vivo* comparativement aux stents avec simplement une couche de TiO_2 (74). Le même groupe a ensuite examiné le relâchement de Nickel des stents en Nitinol avec des modifications de surfaces différentes *in vivo*. Bien que les concentrations de Nickel dans le sérum et l'urine étaient comparable entre les groupes, le stent avec un polissage mécanique avait

significativement moins de Nickel localement (au site d'implant du stent) (75). Des collaborateurs du LIAB ont également étudié les effets de modification de surface du Nitinol sur la cyto-compatibilité (76). Ils ont comparé les effets de différentes modifications sur des cellules humaines avec le test « MTT bio toxicité ». Leurs résultats montrent une cyto-compatibilité avec la gravure chimique.

Le Nitinol possède d'autres caractéristiques qui en font un matériel attrayant en médecine. Le Nitinol est un **alliage à mémoire de forme** (AMF, shape memory alloy) (77). Les AMFs sont des matériaux qui peuvent subir un changement d'état par un stimuli thermique ou mécanique grâce à leur capacité de transformation entre deux phases cristallographiques; la phase martensitique et austénite. C'est-à-dire, l'alliage peut retrouver sa forme initiale après une déformation mécanique. Ceci peut être utile lors des chirurgies par approche laparoscopique où la procédure est réalisée par des petites incisions maintenues ouvertes par des gaines de trocart à travers lesquelles les instruments sont insérés. Lors d'une cure de hernie, une prothèse doit passer par une gaine et pourrait subir une déformation mécanique. Les AMFs ont aussi une propriété de **superélasticité**, c'est-à-dire, une contrainte (ou stress) mécanique peut déformer l'alliage jusqu'à 10% mais, dès que cette contrainte est retirée, le matériel reprend sa forme initiale. Ceci peut être utile pour une prothèse de hernie. Puisque l'abdomen subit des changements conformationnels selon les activités de la journée, une prothèse en Nitinol serait capable de « suivre » les mouvements sans se déformer de façon permanente.

3.1.2. Évaluation d'une prothèse en Nitinol, modèle animal

Les collaborateurs du LIAB, dirigés par le Professeur Timofey Chekalkin du Tomsk State University, ont également réalisés des études sur les prothèses en Nitinol d'abord sur un modèle animal. Le Professeur Chekalkin oriente sa carrière en recherche particulièrement vers les dispositifs médicaux à base de Nitinol (78).

Son équipe a comparé l'efficacité et la réaction inflammatoire entre une prothèse en polypropylène et une en Nitinol (79). Après avoir créé un déficit pariétal (une hernie) chez des rats, ils ont créé trois groupes : (1) ceux ayant une réparation avec prothèse en Nitinol (2) ceux avec prothèse en polypropylène et (3) ceux sans prothèse.

Après la chirurgie, l'état général des animaux était documenté : prise de poids, guérison de plaie, infection/nécrose, déhiscence de plaie, récurrence de hernie. L'évaluation de la réponse inflammatoire était réalisée par les résultats biochimiques tels que : le dosage de la protéine C-réactive et globules blancs.

Tous les rats n'ayant aucune prothèse ont développé une hernie abdominale. L'abdomen des rats ayant eu l'implantation d'une prothèse en polypropylène était plus rigide et 75% des rats dans ce groupe ont éventuellement développé une complication : déhiscence, migration de prothèse, récurrence de hernie et adhérences. Dans le groupe ayant eu l'implantation d'une prothèse en Nitinol, il n'y a eu aucune récurrence ni migration de prothèse. L'abdomen était plus souple. Il y a eu des complications dans 20% des cas : déhiscence de plaie et adhérences intra-abdominale avec l'épiploon. De 7 et 14 jours, le taux de globules blancs était plus élevé dans le groupe de polypropylène comparativement au groupe Nitinol. Lors de l'étude par microscopie électronique par balayage, la prothèse de Nitinol était complètement recouverte (intégrée) de tissus, comparativement à la prothèse de polypropylène. Le granulome formé autour de la prothèse en polypropylène était plus épais que celui autour de celle en Nitinol.

Les auteurs soulignent les avantages de la prothèse en Nitinol comparativement à celle en polypropylène. La prothèse en Nitinol a moins de réaction inflammatoire et une meilleure intégration dans les tissus. Les complications étaient moindres dans le groupe de Nitinol.

3.1.3. Le Nitinol du modèle animal à l'application médicale chez l'humain.

Suite au succès des études sur le modèle animal, l'équipe du Dr. Chekalkin a procédé à l'évaluation du Nitinol chez l'humain. Avec le consentement des patients et l'accord du Comité d'Éthique institutionnel, des médecins ont d'implanté des prothèses en Nitinol chez des patients ayant des pertes de fonctions secondaire à une pathologie préexistante.

En 2014, l'équipe a publié une étude sur 120 patients ayant un diagnostic de néoplasie laryngée (80). La procédure oncologique réalisée était une laryngectomie (l'ablation du larynx) et la reconstruction fut faite avec une endoprothèse de Nitinol. La fonction du larynx fut préservée dans 93% des cas. En 2016, ils ont publié un rapport de cas d'un patient souffrant d'un carcinome papillaire de la thyroïde (81). L'intervention a nécessité une résection partielle de la trachée et la

reconstruction fut réalisée avec une prothèse de Nitinol. En 2019, l'équipe a publié un article adressant la réparation des trauma faciaux (maxillaire, zygomatique, etc.) avec des prothèses en Nitinol, en utilisant un model 3D pour personnaliser la prothèse (82).

Plus récemment, leurs études s'intéressaient aux pathologies thoraciques et abdominales. En 2020, des patientes diagnostiquées avec une néoplasie invasive du cervix ont subi une trachélectomie radicale, soit une procédure chirurgicale pour l'ablation du col de l'utérus, une partie du vagin ainsi que des tissus voisins (83). Cette procédure permet d'adresser le cancer mais les effets secondaires incluent un affaiblissement des tissus de cette région, des risques de prolapsus utérin ainsi que de fausse-couche en cas de grossesse subséquente. Donc, pour renforcer la jonction utero-vaginale, une prothèse de Nitinol fut utilisée en guise de cerclage cervico-isthmique. En 2021, l'équipe a publié deux autres articles. Le premier décrit l'expérience d'une patiente souffrant d'une malformation de la paroi thoracique associée à une instabilité de la cage thoracique et une hernie ventrale (84). Cette pathologie s'est développée suite à une chirurgie extensive pour traiter une ostéomyélite chronique post mastectomie radicale. La reconstruction a nécessité une prothèse tricotée en Nitinol ainsi que l'installation de côte artificielles en Nitinol. Au suivi, il n'y avait ni récurrence d'ostéomyélite ni de hernie. La dernière étude décrit l'expérience de 15 patients nécessitant une résection de leur paroi thoracique pour des raisons variées (néoplasie pulmonaire, métastases, etc.)(85). Tel que le cas précédant, après leur chirurgie oncologique, les patients ont bénéficié d'une prothèse en Nitinol ainsi que des côtes artificielles en Nitinol.

3.2. Nanoparticules

Les nanoparticules (NP) sont des matériaux avec des dimensions entre 1 et 100 nanomètres (nm) (86). Elles ont des propriétés qui varient selon leur taille et le type de matériel. Depuis les années 2000, la recherche dans le domaine des nanoparticules a augmenté de façon logarithmique. On retrouve les nanoparticules dans plusieurs applications : en cosmétique, en électronique et également en médecine. Les utilisations les plus fréquentes en médecine sont en imagerie et pour l'administration de médicament. Par ailleurs, le LIAB est impliqué dans multiples projets se rapportant à l'utilisation des nanoparticules en médecine. Plusieurs études provenant

de cette équipe ont été publiées sur la conception, la biocompatibilité, la stabilité biochimique, et la cytotoxicité des nanoparticules (87-90).

3.2.1 Propriété antibactérienne des nanoparticules

L'administration d'antibiotique est préconisée lors d'une infection bactérienne. Il existe deux mécanismes d'action principaux (91). D'abord, il existe des antibiotiques bactériostatiques qui inhibent la prolifération des bactéries et des antibiotiques bactéricides qui tuent les bactéries. Les bactéries, par contre, ont des capacités d'adaptation remarquable et peuvent développer des mécanismes de résistance aux antibiotiques. Lorsque ces microorganismes ne sont plus susceptibles aux antibiotiques, les soins des patients se compliquent.

La résistance aux antibiotiques se fait en trois grandes étapes (92). Premièrement, les bactéries vont acquérir des gènes de résistance au niveau de leurs chromosomes par transfert horizontal. Ensuite, elles exprimeront ces gènes dont les mécanismes de résistance seront variables. Les gènes peuvent synthétiser des protéines qui favoriseront l'efflux des antibiotiques hors des bactéries ou qui diminueront l'entrée des médicaments en modifiant le substrat bactérien sur lequel s'attachent les antibiotiques. Un autre mécanisme est la formation de biofilm (cf. section 1.4.2.). Finalement, lorsque exposées aux antibiotiques, ces bactéries seront « sélectionnées »; c'est-à-dire, qu'elles ne seront pas éliminées par les antibiotiques. Ainsi, après l'exposition, la population de bactéries restante sera celles ayant eu un génotype leur conférant la mutation.

Les nanoparticules offrent une nouvelle arme thérapeutique pour contrer le développement de résistance aux antibiotiques. Elles peuvent empêcher des mécanismes de résistance bactérienne précise. Un autre avantage des nanoparticules est lors de l'administration de médicaments. Contrairement aux antibiotiques, les nanoparticules peuvent être ciblées aux sites d'infection avec moins d'effets néfastes systémiques pour le patient. Nous nous concentrerons sur les nanoparticules contenant des métaux; plus spécifiquement, les nanoparticules d'argent et de cuivre. Celles-ci sont étudiées au LIAB pour leur propriétés, applications et leurs mécanismes d'action (93-96).

3.2.2. Nanoparticules d'argent (AgNP)

L'élément chimique Argent (Ag) (numéro atomique 47) est un métal noble, c'est-à-dire résistant à la corrosion. Les propriétés antibactériennes de l'argent sont reconnues depuis plusieurs siècles (97, 98). Les Grecs et Romains gardaient des pièces d'argent dans les barils de vins et d'aliments pour prévenir la moisissure. Les premiers colons en Amérique du Nord ont également utilisé cette technique. Certains historiens présument que ceci serait à l'origine de la coutume des ustensiles en argent. Dans les années 1800, les médecins, tel le fameux Dr. William Halstead, se servaient de sutures faites d'argent pour prévenir les infections (99). Dès le début du 20^e siècle le nitrate d'argent est également utilisé pour les brûlures et les saignements. Le nitrate d'argent et la sulfadiazine d'argent sont encore utilisés en pratique de nos jours.

Les mécanismes par lesquels l'argent exerce ses effets antibactériens et antifongiques sont multiples et ne sont pas tous élucidés (92, 97, 100, 101). Voici quelques exemples de ces mécanismes antimicrobiens. Il est important de noter que les effets sont présents lorsque l'argent est dissous dans un environnement aqueux (tel que les liquides biologiques) et prend la forme ionisée de Ag^+ (102). Le premier mécanisme est via l'inhibition de l'échange de phosphate et de potassium à la membrane cytoplasmique; ce qui cause une perturbation au niveau de la force motrice des protons (*proton motive force*) menant ultimement la mort cellulaire. Au niveau du noyau, l' Ag^+ peut se lier aux acides nucléiques de l'ADN et perturber la réplication cellulaire (figure 5). L' Ag^+ se lie aussi à certains complexes sur les enzymes et protéines de façon à les inactiver ou les dénaturer. Il y a également un impact au niveau de l'intégrité de la membrane cellulaire et mitochondriale abolissant la synthèse d'adénosine triphosphate (énergie de la cellule). Il existe également un effet de « contagion » par lequel les bactéries mortes servent de réservoir d' Ag^+ et peuvent le retransmettre aux bactéries viables.

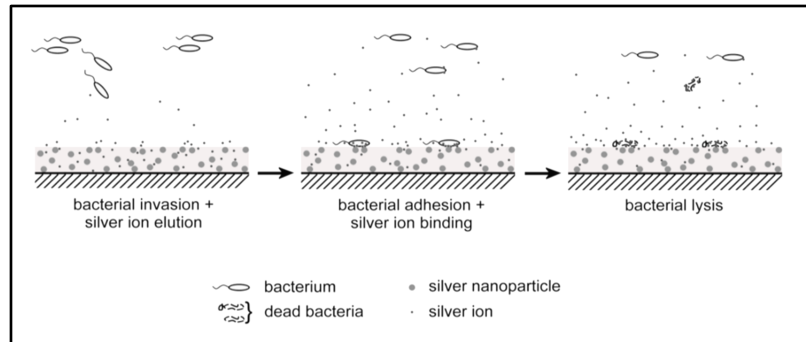


Figure 5. – Mécanisme antibactérien des nanoparticules d’argent; relâchement des ions d’argent qui cause la mort cellulaire (figure provenant de Knetsch M *et al*, 2011)

Une étude a démontré l’efficacité de nanoparticules d’argent pour la guérison de vaginites causées par le *C. albicans* et le *S. aureus* dans un modèle de souris (103). Ce sont deux microbes d’intérêt dans les infections de prothèses (cf. 1.4.2).

Des dispositifs médicaux avec des revêtements de nanoparticules d’argents sont utilisés chez les humains tels que des cathéters, drains, ainsi que des pansements. Les nanoparticules d’argent restent imprégnées dans le revêtement et relâche graduellement les ions Ag^+ qui exercent les effets antimicrobiens (102). Beaucoup d’études ont démontré l’activité bactéricide des nanoparticules d’argent (104, 105). Celles-ci stipulent que les nanoparticules de taille plus petite que 10 nm étaient plus efficaces que les nanoparticules plus grandes. La forme des nanoparticules semble aussi avoir un impact; les formes triangulaires étant plus efficaces que les sphères ou les bâtonnets.

La problématique de résistance semble moins inquiétante avec l’utilisation de l’argent (106). Le mécanisme d’action des antibiotiques n’affecte généralement qu’un processus antimicrobien. L’établissement de résistance est donc plus facile car l’organisme n’a qu’à empêcher ou contre-carrer une étape. À l’inverse, l’ Ag^+ agit sur plusieurs processus à la fois, ce qui rend les organismes plus vulnérables. De plus, si l’organisme réussit à développer une résistance il est moins probable qu’elle soit transférée à d’autres organismes et peut même être perdue.

Malgré les multiples effets néfastes de l'argent sur les cellules microbiennes, les cellules humaines semblent épargnées. L'argent n'est pas considéré comme un oligo-élément; c'est-à-dire un minéral nécessaire à la vie d'un organisme. L'argent est tout de même retrouvé dans les tissus humains secondairement à l'absorption ou l'exposition environnementale. L'argent est retrouvé dans les aliments (farine, avoine, lait, viande) et dans l'eau. Un humain peut consommer jusqu'à 20-80 μg d'argent par jour. Mais il n'en absorbe que 10%; le reste est excrété dans les selles ou par l'urine (107). Des études ont examiné le métabolisme de l'argent lorsqu'il est exposé aux cellules de l'épiderme (108, 109). Les ions d'argent absorbés dans les cellules induisent la synthèse de la protéine métallothionéine qui se lie elle-même à l'argent et forme des complexes stables, prévenant de possibles effets toxiques. Ses complexes favorisent aussi le recrutement d'oligo-éléments tel le cuivre et le zinc qui favorisent la guérison des tissus. Grâce à ses propriétés antibactériennes et antifongiques, l'argent est retrouvé dans plusieurs dispositifs médicaux sous plusieurs formes incluant les nanoparticules et est considéré comme un élément sécuritaire et non toxique (99).

3.2.3. Nanoparticules de cuivre (CuNP)

Un autre élément d'intérêt pour ses propriétés antimicrobiennes est le cuivre (Cu). Celui-ci est reconnu depuis très longtemps (110). Dès l'ère de l'Égypte ancienne, 2000AC, le cuivre était utilisé pour stériliser l'eau et les plaies. Depuis les années 1700, les agriculteurs utilisent le cuivre pour inhiber les infections fongiques provenant des graines. Pour prévenir la dysenterie, les soldats japonais plaçaient des pièces de cuivre dans leur bouteille d'eau lors de la deuxième guerre mondiale. En 2008 le « Environmental Protection Agency » des Etats-Unis a officiellement déclaré que le cuivre était un métal avec des propriétés antimicrobiennes (111).

Le cuivre est naturellement retrouvé dans le corps humain et sert dans plusieurs fonctions métaboliques, entre autres, il est un cofacteur dans certaines réactions enzymatiques. Cet élément joue un rôle important en immunité. Une carence en cuivre diminue la capacité des cellules de synthétiser les anticorps et rend le système immunitaire vulnérable aux infections (112).

Des chercheurs ont évalué les propriétés des nanoparticules de cuivre (CuNP). Ils ont conclu que les CuNPs avaient des capacités antibactériennes contre les bactéries Gram négatives et Gram positives dont le *S. aureus* (113, 114). D'autres ont démontré que similairement aux AgNPs, la dimension avait un impact avec l'activité antibactérienne : les CuNPs de plus petites dimensions (4,8 +/- 1,6 nm) étaient plus efficaces que les nanoparticules plus grandes (7,8 +/- 2,3nm) (115).

D'autres chercheurs ont synthétisé des CuNPs et ont testé leurs activités contre des souches de *Candida albicans* (116). Leur expérience visait à calculer la concentration minimale inhibitrice (CMI) *in vitro* soit la concentration nécessaire pour inhiber la croissance de la levure. Ils ont conclu que les CuNPs avaient des propriétés antifongiques supérieures aux AgNPs. Un autre groupe a confectionné des disques de CuNPs et les ont déposés sur des plaques de cultures de *C. albicans* (117). En mesurant la densité optique, ils ont déterminé aussi que les nanoparticules inhibaient la croissance de cette espèce de levure.

Les mécanismes par lesquels le cuivre agit sur les microbes ne sont pas tous élucidés. Le mécanisme prédominant est la méthode de tuer par contact (« contact killing ») : les ions de cuivre, Cu^{2+} , sont libérés de la surface de cuivre et détruisent la membrane de l'organisme par contact direct (118). Le cuivre semble avoir moins d'effet sur le génome que sur la membrane. Sous condition aérobie, le cuivre peut produire des radicaux libres causant des dommages aux molécules avoisinantes mais qui ne se répandent pas à cause de leur courte durée de vie (112). Il existe un autre mécanisme de toxicité du cuivre chez les microbes. Le cuivre compétitionne avec les autres métaux et remplace le fer dans les groupes Fer-Soufre retrouvés dans certaines enzymes et les désactive (119). Ceci cause un arrêt dans les étapes du métabolisme du microbe.

Chapitre 4 – Étude : évaluation des prothèses en Nitinol avec ou sans revêtement de nanoparticules d'argent et cuivre

Des collaborateurs internationaux du Tomsk State University en Russie et de Solmont Technology Wuxi Co en Chine ont fourni au LIAB des échantillons de prothèses à base de Nitinol. Nous avons considéré trois types de prothèses (figure 1). La prothèse contrôle (MC) est uniquement constituée de Nitinol. Les deux autres prothèses sont également à base de Nitinol mais avec deux types de revêtements différents. La première a le revêtement KJ501; un mélange d'une résine rigide à base d'oxide de silicone avec des AgCuNP. La deuxième a le revêtement KJ103; un mélange d'une résine douce de polymère avec des AgCuNP.

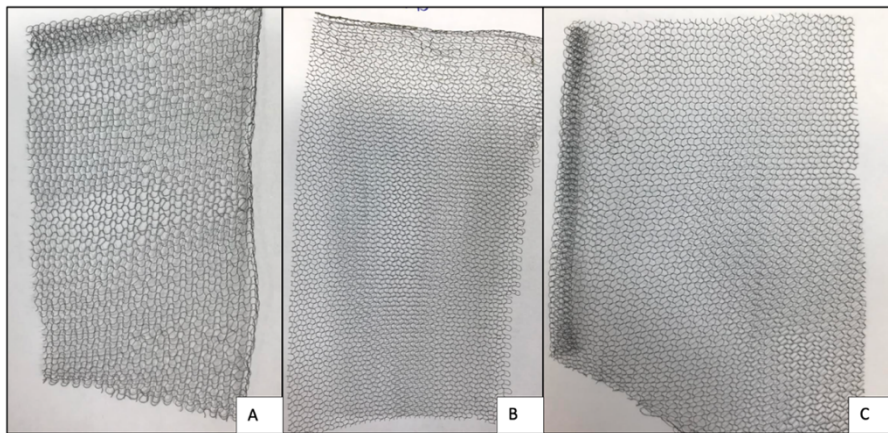


Figure 6. – Les trois échantillons de prothèses à base de Nitinol. **A.** Prothèse en Nitinol, sans revêtement, la mèche contrôle (MC). **B.** Prothèse en Nitinol avec revêtement KJ501. **C.** Prothèse en Nitinol avec revêtement KJ103.

4.1 Objectifs

Les hernies abdominales sont fréquemment diagnostiquées et le traitement est chirurgical dans la majorité des cas. Lors de l'intervention, une prothèse est mise en place pour solidifier la réparation et diminuer le taux de récurrence. L'utilisation de prothèse, par contre, peut mener à des complications telles les infections. Celles-ci sont souvent causées par le *S. aureus*, *S. epidermidis*

et *C. albicans*. Le Nitinol est un alliage utilisé dans divers domaines médicaux. Les nanoparticules d'argent et cuivre possèdent, entre autres, des propriétés antimicrobiennes.

Hypothèse :

Nous postulons que les prothèses de Nitinol seront plus résistantes au développement de biofilms bactériens et fongiques qu'une prothèse commercialisée.

Objectifs :

- 1) Débuter l'analyse de la surface pour identifier les caractéristiques principales des prothèses expérimentales.
- 2) Évaluer la formation de biofilms de *S. aureus* et *S. epidermidis* et *C. albicans* sur une prothèse commercialisée.
- 3) Évaluer la formation de biofilms de *S. aureus* et *S. epidermidis* sur les 3 types de prothèses en Nitinol.
- 4) Évaluer la formation de biofilms de *C. albicans* sur les 3 types de prothèses en Nitinol.

4.2 Surface des prothèses

4.2.1. Analyse de surface des prothèses

L'analyse de surface des 3 échantillons de prothèses fut réalisée à l'École Polytechnique de l'Université de Montréal. La microscopie électronique à balayage (MEB) est utilisée pour capturer la structure globale des prothèses. L'appellation anglaise de cette technique est *scanning electron microscopy* (SEM), un terme fréquemment retrouvé dans la littérature. La MEB permet de capturer des images de haute résolution de la structure des échantillons : un faisceau d'électrons émis interagit sur la matière et génère un rayonnement d'électrons secondaires qui est interprété par le lecteur (120). L'opérateur/trice peut ensuite modifier l'amplification et changer le champ de vision pour évaluer l'ensemble de l'échantillon d'intérêt. La MEB est utilisée pour de nombreuses applications. Les échantillons évalués peuvent être biologiques ou synthétiques. Des analyses de surface par MEB de prothèses disponibles sur le marché ont déjà été réalisées (121, 122). La microscopie électronique en transmission (MET, ou TEM pour

l'anglais, *transmission electron microscopy*) est utilisée pour observer des nanoparticules de taille inférieures à 100 nm.

4.2.1.1. Matériaux et méthodes

L'instrument utilisé pour l'analyse est le Quattro S Environmental Scanning Electron Microscope (Thermo Fischer Scientific, Saint Laurent, Québec) (Figure 2). Les échantillons sont coupés en carré de 1cm par 1cm et déposés sur des supports recouverts d'un ruban adhésif noir. Les images ont été capturées avec différents degrés d'amplifications.

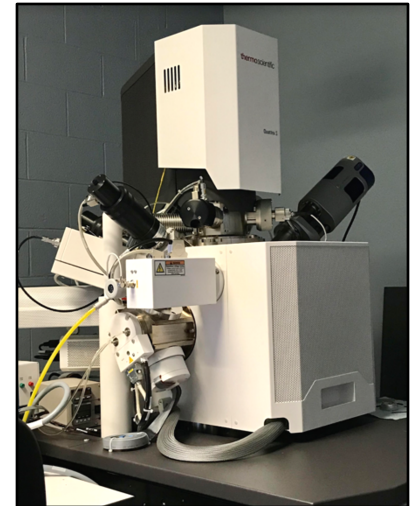


Figure 7. – Environnemental Scanning Electron Microscope à l'École Polytechnique de l'Université de Montréal, photo G. Chartrand.

4.2.1.2. Résultats

Les figures suivantes montrent les images capturées avec la MEB pour la prothèse contrôle (figure 3), la prothèse KJ 103 (figure 4), et la prothèse KJ 501 (figure 5).

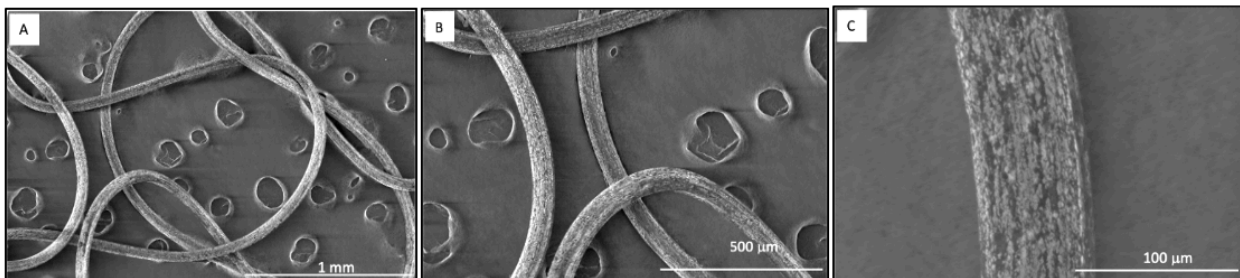


Figure 8. – Micrographie électronique à balayage de la mèche contrôle (MC). A. Amplification à 50x. B. Amplification à 100x. C. Amplification à 500x.

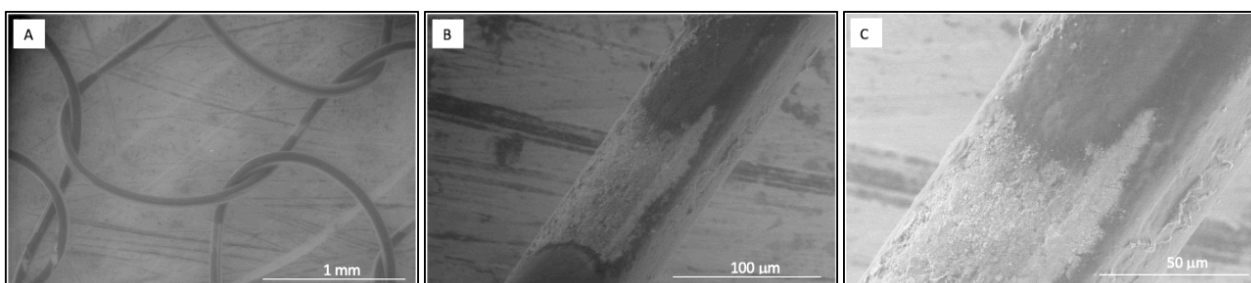


Figure 9. – Micrographie électronique à balayage de la mèche KJ 103. A. Amplification à 50x. B. Amplification à 500x. C. Amplification à 1 000x.

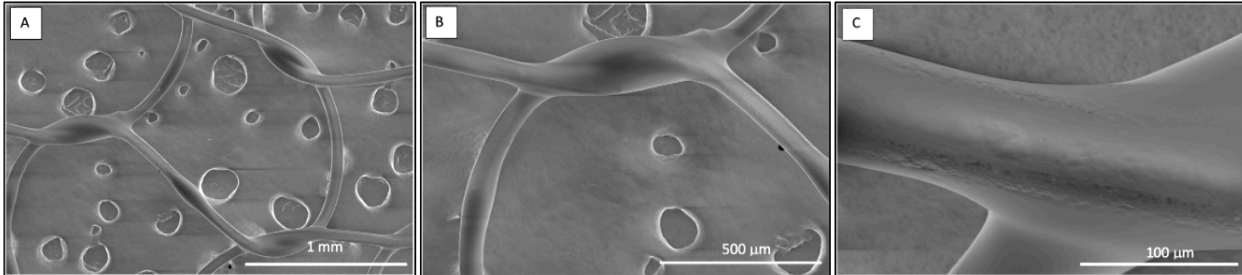


Figure 10. – Micrographie électronique à balayage de la mèche KJ 501. A. Amplification à 50x. B. Amplification à 100x. C. Amplification à 500x.

Les images de la MEB montrent des prothèses à mono-filaments, tricotées en « trame ». Les filaments sont de tailles approximatives de 50 à 75 μm . Ce sont des prothèses avec des pores de tailles moyennes; les distances entre les mailles sont approximativement 1 μm . Comme toutes prothèses, les distances sont plus petites aux intersections des filaments. La prothèse en Nitinol seule a une surface qui paraît rugueuse. Celles avec revêtement, KJ103 et KJ501, sont d'apparences plus lisses.

En utilisant la technique de MET, nous constatons les tailles et formes des nanoparticules (Figure 6). Elles sont en moyenne $16,4 \pm 9,3$ nm avec une distribution de taille entre 5 nm et 50 nm (Figure 6, A). Elles sont de forme ovale, parfois allongées (Figure 6, B). Nous constatons également des matériaux résiduels de la synthèse des nanoparticules.

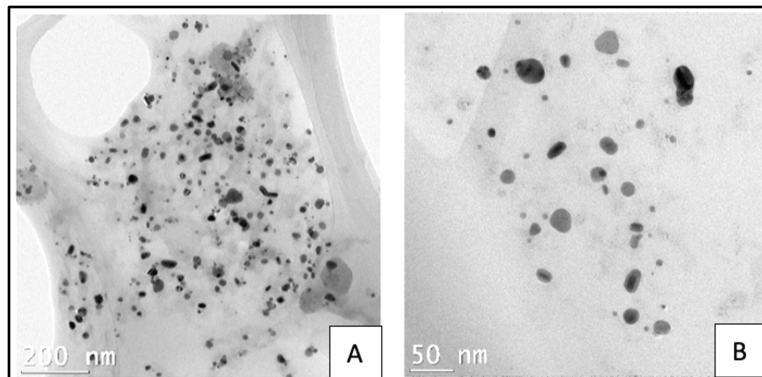


Figure 11. – (A) Distribution des AgCuNP, (B) Formes des NPs

4.3. Expériences avec biofilms microbiens

4.3.1. Évaluation des biofilms microbiens sur une prothèse commercialisée.

4.3.1.1 Culture de *S. aureus*, *S. epidermidis* et *C. albicans*.

Pour cette expérience, la souche de *S. aureus* est la « American Type Culture Collection » (ATCC) 25923 et celle de *S. epidermidis* est la ATCC12228. Chaque culture bactérienne est individuellement incubée dans 7ml de bouillon de trypticase soja (TSB) à 37°C pour une nuit, avec une agitation de 225 révolutions par minutes (RPM).

La souche de *C. albicans* utilisée est la Sc5314 du ATCC. Cette souche est incubée dans 10 ml de milieu de culture liquide « *yeast extract peptone dextrose* » (YPD) à 30°C pour une nuit, avec une agitation de 220 RPM.

4.3.1.2. Dépôt d'inoculum et initiation du biofilm sur prothèses

Après la période d'incubation, nous mesurons la densité optique (OD_{600nm}) pour chaque culture. Pour le *C. albicans*, le flacon est centrifugé pour séparer le milieu YPD des cellules fongiques. Suite au retrait du YPD, les cellules sont lavées avec du tampon phosphate saline (PBS).

Nous diluons par un facteur de 50 les culots de cellules microbiennes dans leur milieu respectif : le TSB pour les bactéries et le RPMI pour la levure. Le YPD est souvent remplacé par le

RPMI pour mieux représenter la physiologie humaine. Pour ce, 20µl de culture combinée avec 980µl de TSB ou RPMI est mis dans le spectrophotomètre (Thermo Scientific™ GENESYS™20) et 1 ml de TSB ou RPMI seul est utilisé comme référence, respectivement.

Étant donné le facteur de dilution de 50, nous multiplions la OD par 50. Puis nous calculons le volume nécessaire pour une concentration de 0.1 cellules/ml, en utilisant la formule: $C_i V_i = C_f V_f$. Cette formule nous permet de déterminer le volume final nécessaire pour une concentration désirée à départ du volume et de la concentration initiale.

La prothèse « Prolene » en polypropylène de la compagnie Ethicon Inc. (Raritan, New Jersey, USA) est coupée de façon stérile en plusieurs morceaux de 1,5 x 1 cm et placée dans les puits d'une plaque stérile. Une photo par microscopie est réalisée afin d'avoir une image de prothèse stérile comme contrôle (figure 7). Puis, nous rajoutons 400µl d'inoculum (figure 8).

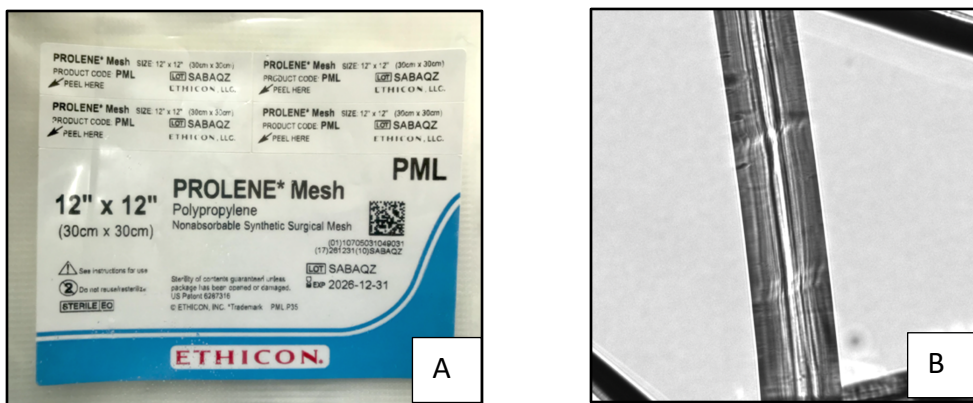


Figure 12. – (A) Prothèse en polypropylène dans l’emballage commercial. (B) Image sous microscopie de la prothèse en polypropylène stérile, mag 20x.

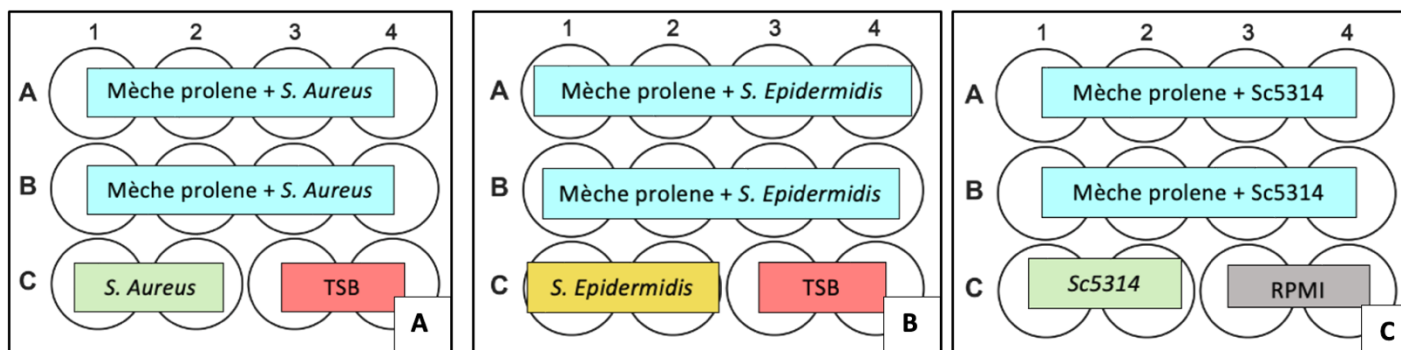


Figure 13. – Répartition des prothèses en polypropylène, des bactéries et de la levure par puits sur les plaques. (A) Prothèse et *S. aureus*, (B) Prothèse et *S. epidermidis*, (C) Prothèse et *C. albicans*.

Après une période d'incubation d'une heure à 37°C sans agitation, les prothèses sont retournées sur elles-mêmes dans les puits puis incubées pour une autre heure, et ce, pour s'assurer que chaque côté de la prothèse soit exposé également aux bactéries ou à la levure.

Les puits des trois plaques, A, B et C, sont ensuite lavés avec 400 µl de PBS. Cette étape permet d'éliminer toute bactérie et levure n'ayant pas adhéree aux prothèses. Par la suite, les prothèses sont transposées sur de nouvelles plaques, A', B' et C' avec un ajout de 400 µl de TSB (bactéries) ou RPMI (levure). Du milieu est aussi ajouté dans les puits des plaques initiales, A, B et C, maintenant sans prothèse.

Les 6 plaques (A, B, C et A' B' C') sont incubées à 37°C pour 24 heures sur une plaque oscillante (« slow shaker »).

4.3.1.3. Constat de biofilm au fond des puits et sur les prothèses

Après la période de 24 heures, les plaques A, B et C, celles ayant eu l'initiation des biofilms puis retrait de prothèses, furent lavées avec 400 µl de PBS et séchées. La figure 9 montre des photos par microscopie des biofilms au fond des puits sélectionnés.

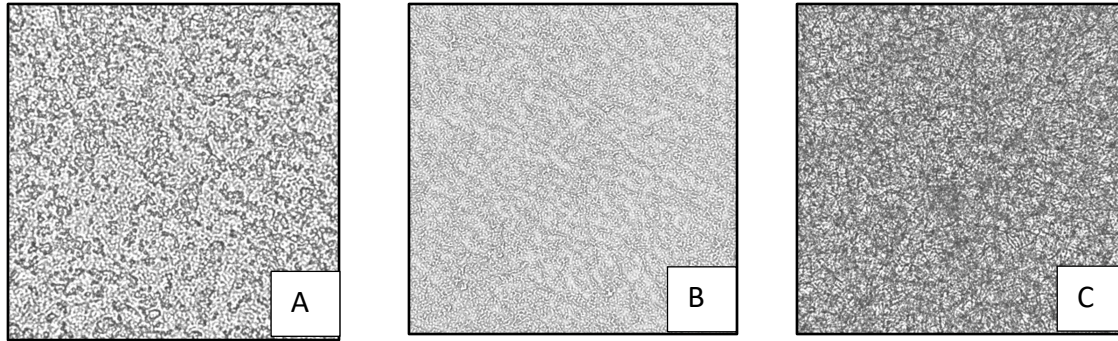


Figure 14. – **(A)** Fond d'un puit de la plaque A avec biofilm de *S. aureus*, mag 20x. **(B)** Fond d'un puit de la plaque B avec biofilm *S. epidermidis*, mag 20x. **(C)** Fond d'un puit de la plaque C avec biofilm *C. albicans*, mag 20x.

Les morceaux de prothèses en polypropylène dans les puits des plaques A', B' et C' furent également lavés. Les figures 10, 11 et 12 sont des photos par microscopie des prothèses au fond des puits sélectionnés.

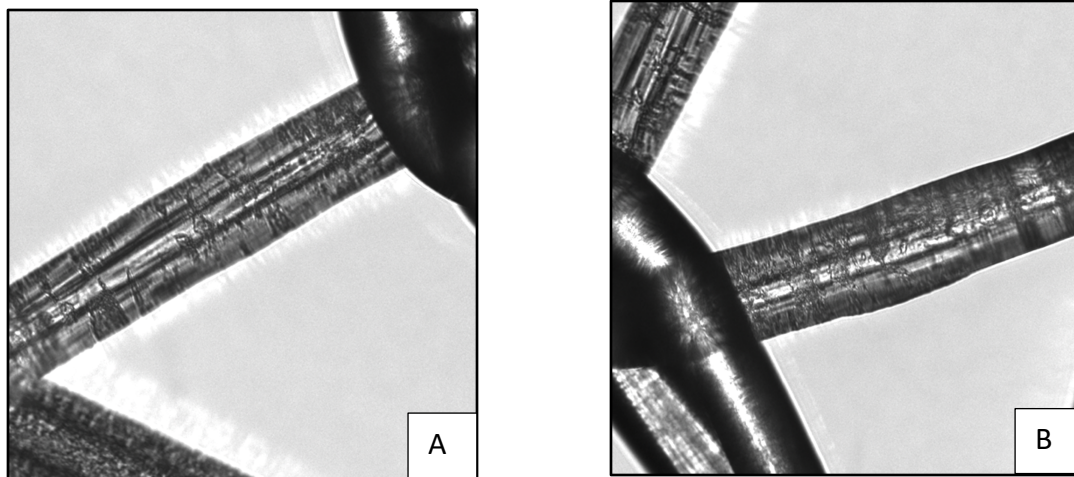


Figure 15. – (A) et (B) Prothèse de polypropylène sur plaque A' – *S. aureus*. Mag 20x.

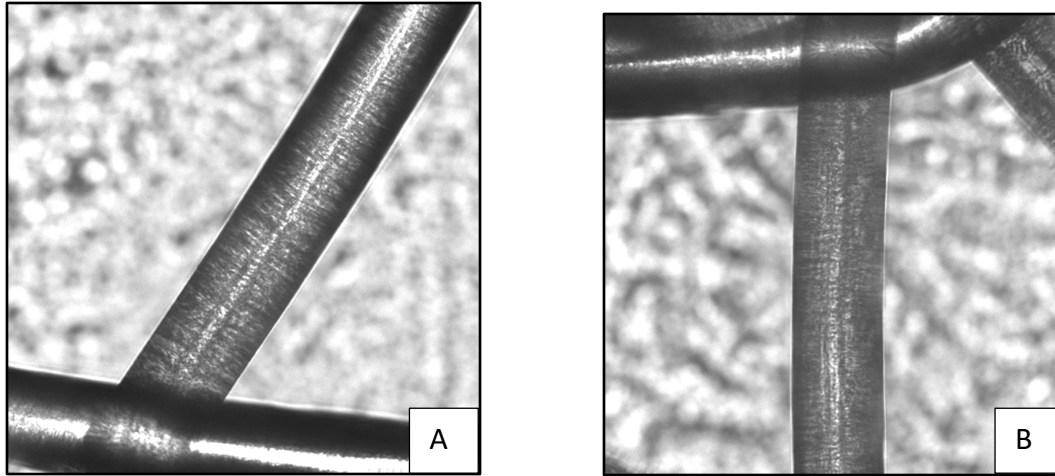


Figure 16. – (A) et (B) Prothèse de polypropylène sur plaque B' – *S. epidermidis*. Mag 20x.

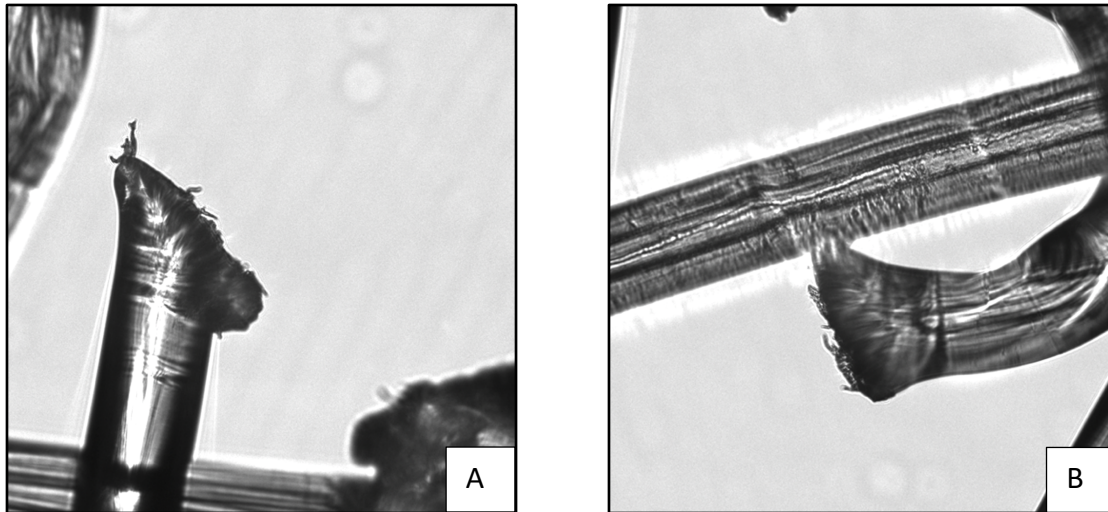


Figure 17. – (A) et (B) Prothèse de polypropylène sur plaque C' – *C. albicans*. Mag 20x.

Les images de prothèses ayant été en contact avec les bactéries et levure semblent être recouvertes de particules, comparativement à l'image de la prothèse stérile (figure 7, (B)). Pour confirmer que ce sont véritablement les micro-organismes inoculés, nous procédons à l'expérience suivante.

4.3.1.4. Confirmation de présence de bactéries et levures sur prothèses.

Pour évaluer si les particules visibles sur les prothèses sont effectivement des bactéries et levures, nous réalisons une expérience d'ensemencement sur gélose à départ des prothèses.

Les étapes sont les suivantes. D'abord, nous retirons deux échantillons de prothèses par plaques : plaque A' ayant été exposée au *S. aureus*, plaque B' ayant été exposée au *S. epidermidis* et plaque C' ayant été exposée au *C. albicans*. Ces échantillons sont séchés à l'air dans de nouveaux puits stériles, et nous ajoutons 400 µl d'eau stérile. Avec un grattoir stérile, nous mettons les particules en suspension dans l'eau. Avec une pipette nous transférons le liquide du puits sur une gélose. Pour les bactéries, nous utilisons une gélose de trypticase de soja (TSA). Pour la levure, nous utilisons une gélose de YPD. Nous dispersons uniformément le liquide sur les géloses. Puis nous les plaçons dans un incubateur stable à 37°C pour les bactéries et 30°C pour la levure pendant 12 heures.

Nous constatons que les géloses ayant été incubés avec le liquide contenant les particules sur les prothèses sont recouvertes de bactéries et levures, respectivement (figure 13).

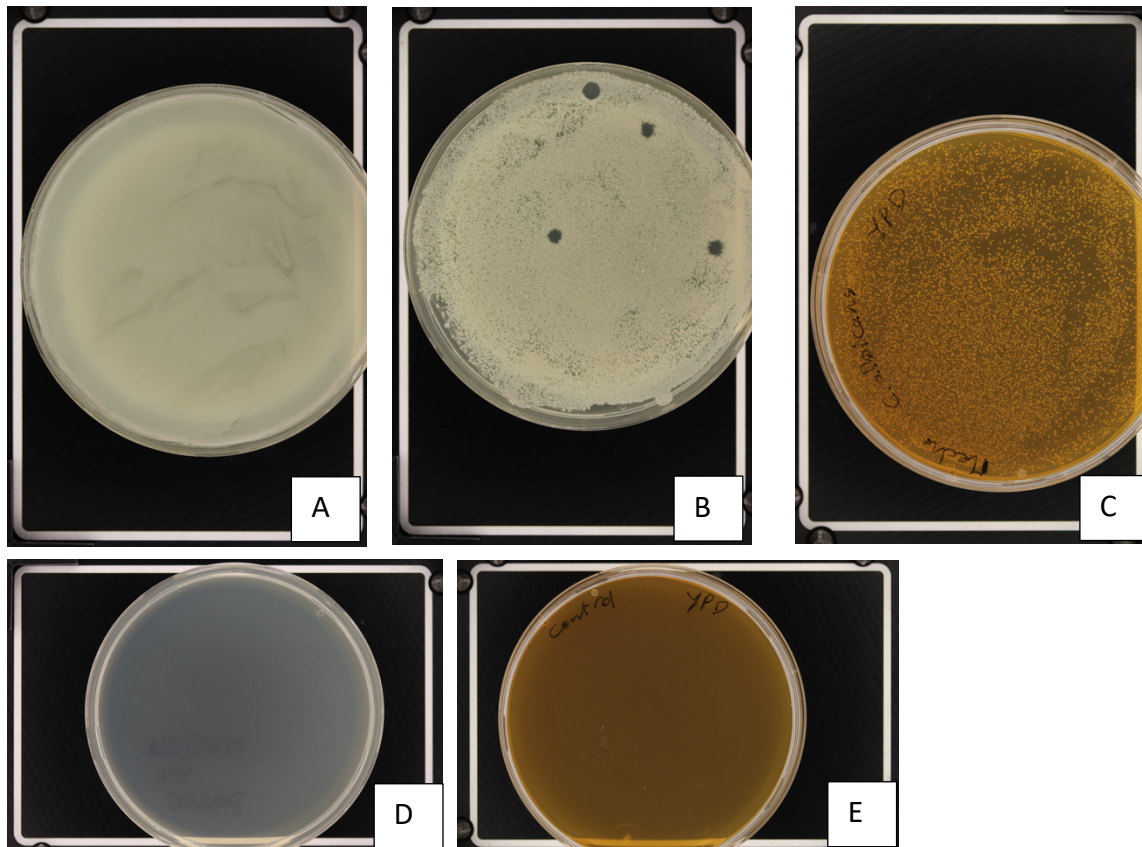


Figure 18. – (A) Colonies de *S. aureus* sur TSA. (B) Colonie de *S. epidermidis* sur TSA. (C) Colonies de *C. albicans* sur YPD. (D) TSA contrôle. (E) YPD contrôle.

4.3.2. Évaluation des biofilms bactériens (*S. Aureus* et *S. Epidermidis*) sur les prothèses en Nitinol

4.3.2.1 Culture de *S. aureus* et *S. epidermidis*

La souche de *S. aureus* est la ATCC 25923 et celle de *S. epidermidis* est la ATCC12228. Les cultures sont individuellement incubées dans 7ml de bouillon TSB à 37° pour une nuit, avec une agitation de 225 RPM.

4.3.2.2. Dépôt d'inoculum et initiation du biofilm sur prothèses

Après la période d'incubation, nous mesurons la densité optique pour chaque culture. Pour ce, 20µl de culture combinée avec 980µl de TSB sont mis dans le spectrophotomètre (Thermo Scientific™ GENESYS™20) et 1 ml de TSB seul est utilisé comme référence.

Étant donné le facteur de dilution de 50, nous multiplions la OD par 50. Puis nous calculons le volume nécessaire pour une concentration de 0.1 cellules/ml, en utilisant la formule : $C_i V_i = C_f V_f$.

Les échantillons des trois prothèses à base de Nitinol (contrôle, KJ 103, KJ 501) sont coupés en rectangles d'approximativement 1,5 x 1 cm et déposés dans des puits sur des plaques stériles, répartis sur trois plaques : A, B, C. Nous ajoutons 400 µl d'inoculum (Figure 14) par puits.

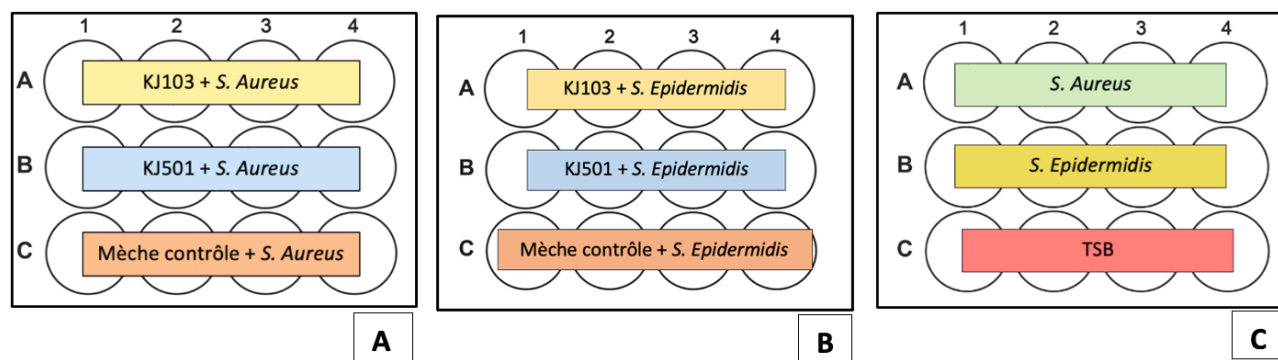


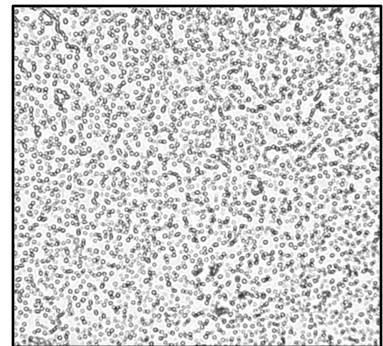
Figure 19. – (A) Plaque A : les trois prothèses et *S. aureus*. (B) Plaque B : les trois prothèses et *S. epidermidis*. (C) Plaque C : plaque contrôle – inoculum de bactéries ou milieu seul, sans prothèses.

Après une incubation d'une heure à 37°C sans agitation, les prothèses sont retournées sur elles-mêmes dans les puits et remisent pour incubation pour une autre heure, et ce, pour s'assurer que chaque côté de prothèse sera exposé également aux bactéries.

Les puits des trois plaques, A, B et C, sont ensuite lavés avec 400 µl de PBS. Cette étape élimine toute bactérie n'ayant pas adhéree aux prothèses. Les prothèses sont transposées sur de nouvelles plaques, A' et B', avec un ajout de 400 µl de TSB. Du bouillon est aussi ajouté dans les puits des plaques initiales, A, B et C, maintenant sans prothèse.

Nous constatons à la microscopie l'initiation des biofilms dans le fond des puits (figure 15).

Figure 20. – Exemple représentatif des puits – coccus visible. Absence de croissance dans le puits avec TSB seul. (*Photo par BioTek Cytation 5 high content microscope, mag 20x*)



Les 5 plaques (A, B, C et A' B') sont incubées à 37°C pour 24 heures sur une plaque oscillante (« slow shaker »).

4.3.2.3. Constat de biofilm au fond des puits et sur les prothèses

Après la période de 24 heures, les plaques A et B, celles ayant eu l'initiation des biofilms puis retrait de prothèses, furent lavées avec 400 µl de PBS et séchées. Les figures 16 et 17 sont des photos par microscopie des biofilms au fond des puits sélectionnés.

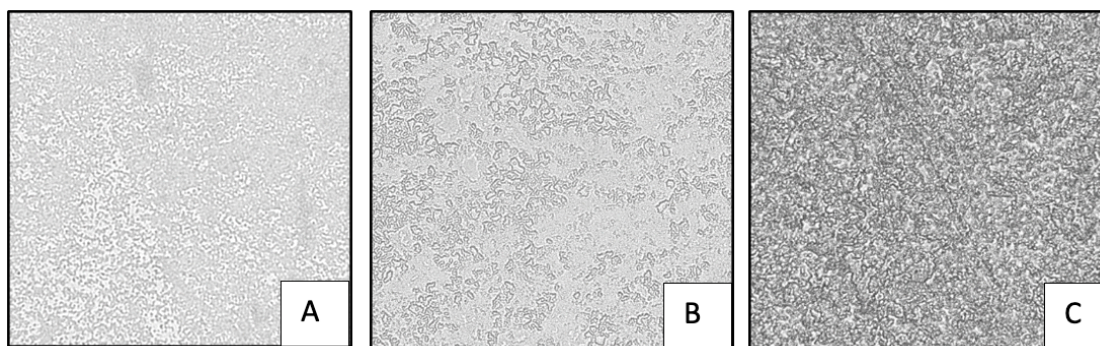


Figure 21. – Fond de puits de la plaque A – *S. aureus*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle.

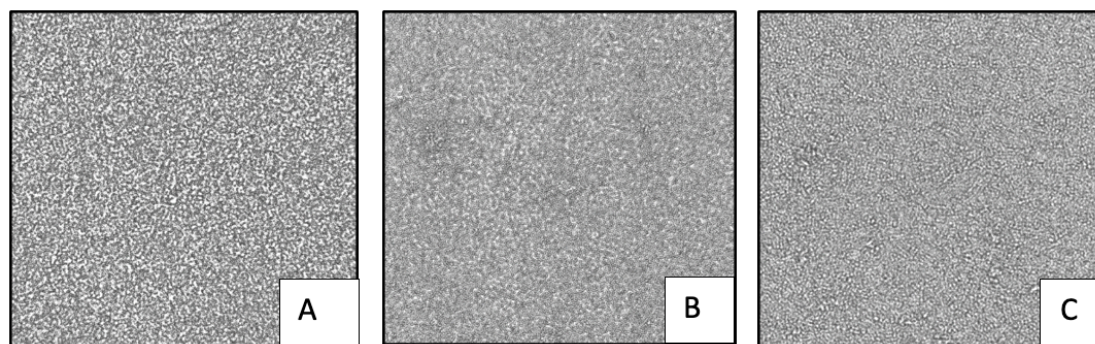


Figure 22. – Fond de puits de la plaque B – *S. epidermidis*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle.

Les échantillons de prothèses dans les puits des plaques A' et B' furent également lavés et transposés sur des plaques sèches. Les figures 18 et 19 sont des photos par microscopie des prothèses au fond des puits sélectionnés.

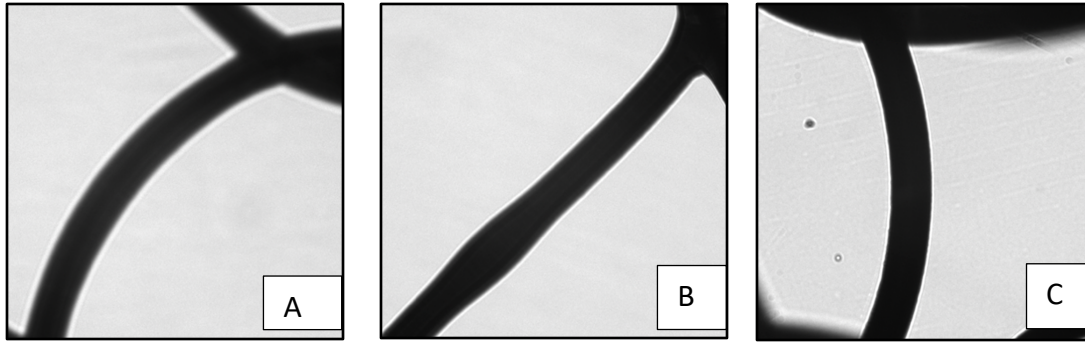


Figure 23. – Prothèses de la plaque A' – *S. aureus*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle.

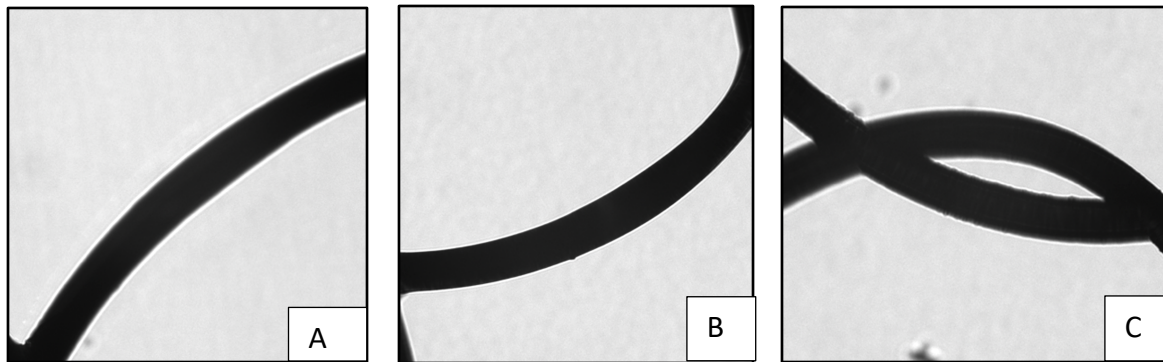


Figure 24. – Prothèses de la plaque B' – *S. epidermidis*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle.

4.3.2.4 Vérification de la présence de bactéries sur prothèses

A première vue les prothèses à base de Nitinol exposées aux bactéries semblent lisses. Par contre, l'opacité du Nitinol comparativement au polypropylène peut masquer la présence de bactéries sur les mailles. Ainsi nous réalisons également une expérience d'ensemencement sur gélose à départ des prothèses.

Pour chaque bactérie, *S. aureus* et *S. epidermidis*, nous retirons deux échantillons de prothèses sans revêtement, la KJ103, et la KJ501 des puits. Ces échantillons sont séchés à l'air dans de nouveaux puits stériles, et nous ajoutons 400 µl d'eau stérile. Avec un grattoir stérile, nous mettons les particules en suspension dans l'eau. Avec une pipette nous transférons le liquide du puits sur une gélose TSA. Nous dispersons uniformément le liquide sur les géloses. Puis nous les plaçons dans un incubateur stable à 37°C.

Nous constatons que les géloses ayant été incubés avec le liquide provenant des prothèses en Nitinol sont recouvertes de bactéries (Figure 20).

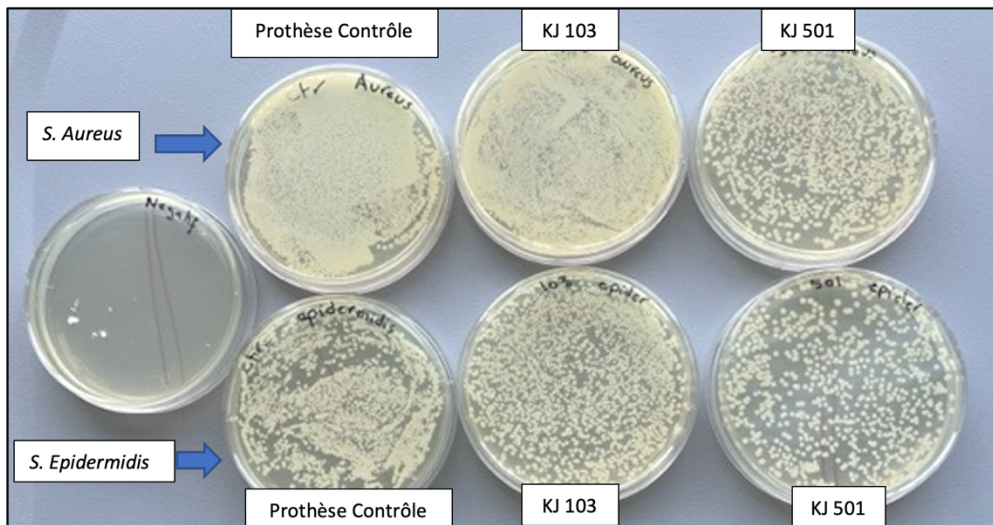


Figure 25. – Géloses avec présences de colonies bactériennes.

4.3.3. Évaluation des biofilms fongiques (*Candida albicans*) sur prothèse en Nitinol

4.3.3.1. Culture de *C. albicans*

La souche de *C. albicans* utilisée est la SC5314 du ATCC. Cette souche est incubée dans 10 ml de liquide YPD à 30°C pour une nuit, avec une agitation de 220 RPM.

4.3.3.2. Dépôt d'inoculum sur prothèses

Après la période d'incubation, les flacons sont centrifugés pour séparer le liquide YPD des cellules de *C. albicans*. Suite au retrait du YPD, les cellules sont lavées avec du PBS. Nous diluons par un facteur de 50 le culot de cellules dans le milieu RPMI. C'est à dire que 20µl de culture est combiné avec 980µl de RPMI et mis dans le spectrophotomètre (Thermo Scientific™ GENESYS™20) et 1 ml de TSB ou RPMI seul est utilisé comme référence.

Étant donné le facteur de dilution de 50, nous multiplions la OD par 50. Puis nous calculons le volume nécessaire pour une concentration de 0.1 cellules/ml, en utilisant la formule : $C_i V_i = C_f V_f$.

Puis les échantillons de prothèses à base de Nitinol (contrôle, KJ 103, KJ 501) sont coupés en pièces de 1.5 x 1 cm et mis dans le fond des puits répartis sur 2 plaques stériles A, et B. Nous rajoutons 400µl d'inoculum (figure 21).

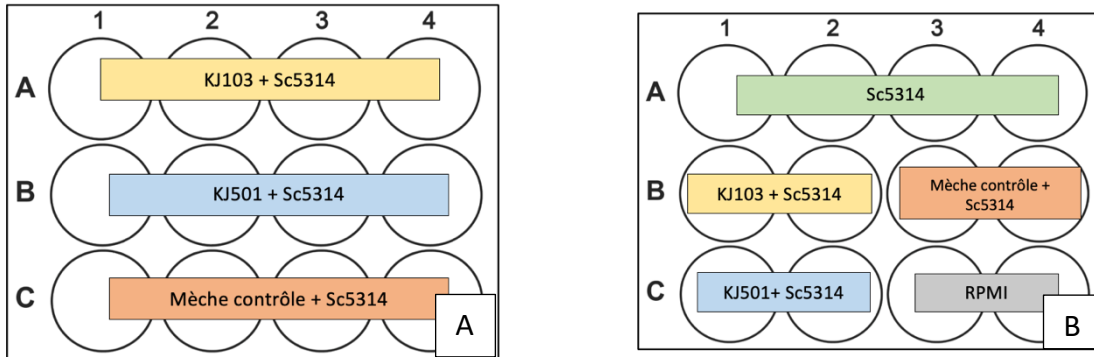


Figure 26. – Répartitions des prothèses à base de Nitinol et levure sur deux plaques, A et B, pour augmenter le nombre de répliquas.

Nous incubons les plaques pour une heure à 37 °C sans agitation. Les prothèses sont ensuite retournées sur elles-mêmes et incubées pour une autre heure, et ce, pour s’assurer que chaque côté de prothèse sera exposé également au *C. albicans*.

Les puits des deux plaques, A et B, sont ensuite lavés avec 400 µl de PBS. Cette étape permet d’éliminer toute levure n’ayant pas adhéré aux prothèses ou au fond des puits. Puis, les prothèses sont transposées dans de nouvelles plaques, A’ et B’, avec un ajout de 400 µl de RPMI. Du milieu est aussi ajouté dans les puits des plaques initiales, A et B, maintenant sans prothèse. Les 4 plaques (A, B et A’ B’) sont incubées à 37°C pour 24 heures.

4.3.3.3. Constat de biofilm au fond des puits et sur les prothèses

Après une période de 24 heures, les plaques A et B, celles ayant eu l'initiation des biofilms puis retrait de prothèses, furent lavées avec 400 μ l de PBS et séchées. Les images dans la figure 22 sont des photos par microscopie des biofilms au fond des puits sélectionnés.

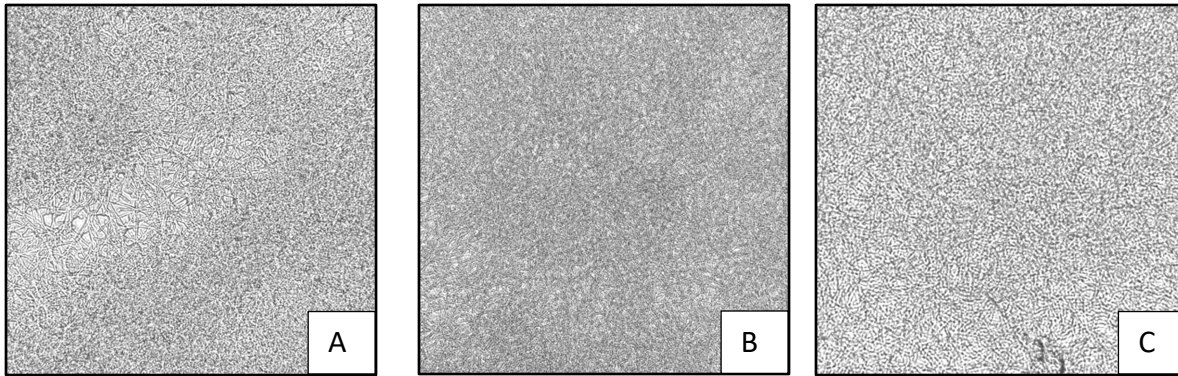


Figure 27. – Biofilms au fond de puits de la plaque A – *C. albicans*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle.

Les échantillons dans les puits des plaques A' et B' furent également lavés et transposés sur des plaques sèches. Les images dans la figure 23 sont des photos par microscopie des prothèses au fond des puits sélectionnés.

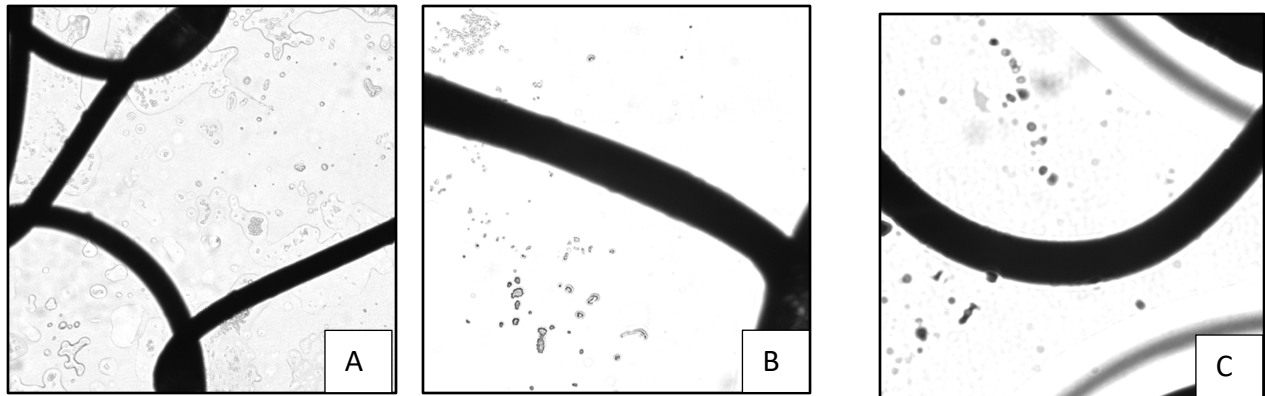


Figure 28. – Prothèses de la plaque A' – *C. albicans*. (A) Prothèse KJ301. (B) Prothèse KJ501. (C) Prothèse Contrôle.

4.3.3.4. Vérification de la présence de levures sur prothèses

Tel que dans l'expérience avec les bactéries, les prothèses à base de Nitinol exposées aux levures semblent lisses, comparativement aux prothèses en polypropylène. Nous réalisons également une expérience d'ensemencement sur gélose à départ des prothèses.

Nous retirons deux échantillons de prothèses sans revêtement, la KJ103, et la KJ501 des puits, ayant été exposés au *C. albicans*. Ces échantillons sont séchés à l'air dans de nouveaux puits stériles. Après l'ajout de 400 µl d'eau stérile, nous mettons les particules en suspension dans l'eau avec un grattoir stérile. Avec une pipette nous transférons le liquide du puits sur une gélose YPD. Nous dispersons uniformément le liquide sur les géloses. Puis nous les plaçons dans un incubateur stable à 30°C.

Nous constatons la présence de levure sur les géloses ayant été incubés avec le liquide provenant des prothèses en Nitinol (Figure 24).

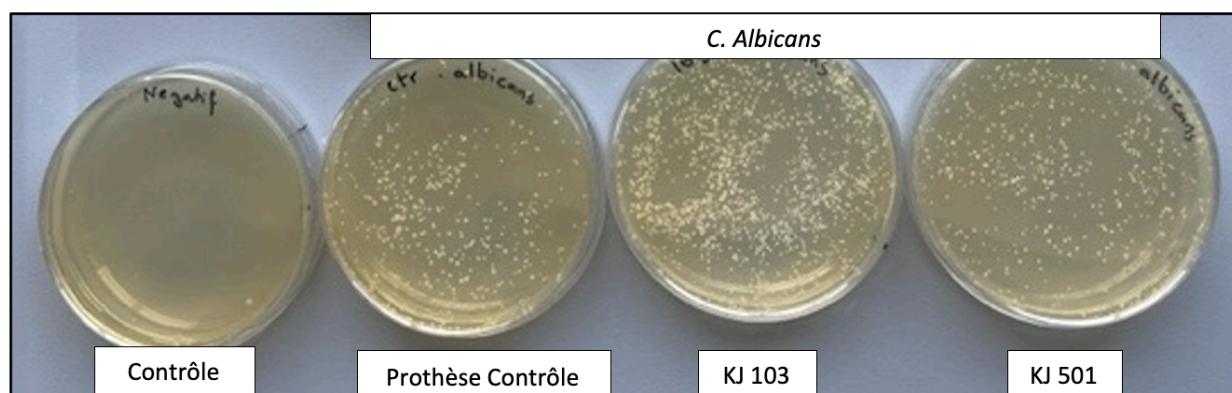


Figure 29. – Géloses avec présences de colonies *C. albicans*.

Chapitre 5 – Discussions et conclusions

5.1 Récapitulatif : Hernies abdominales et prothèses

Le diagnostic de hernie abdominale est fréquemment rencontré en chirurgie. Les hernies peuvent être congénitales ou iatrogéniques et elles peuvent se situer sur plusieurs régions de l'abdomen. En raison des changements anatomiques et de la douleur, les hernies abdominales entraînent parfois des perturbations motrices et posturales chez les patients (123). Elles ont également un impact au niveau psychologique, tel que la détresse émotionnelle ou une image négative de soi-même (124).

Outre certaines situations particulières, la prise en charge des hernies abdominales est principalement chirurgicale. Dans la majorité des interventions, une prothèse permanente est installée pour éviter les récives. Il existe quelques matériaux approuvés par Santé Canada, notamment, le polypropylène. Sans l'installation de prothèses lors d'une cure de hernie, le taux de récive serait très élevé (ce nombre varie selon le type de hernie, et des facteurs relatifs au chirurgien et au patient).

Toute chirurgie comporte un risque de complication. Dans le cas d'une cure de hernie, un des incidents le plus redouté est l'infection de la prothèse. Les micro-organismes habituellement retrouvés sont bactériens le *S. aureus* et le *S. epidermidis*. La levure, *C. albicans*, est plus rarement la cause de l'infection mais est très difficile à traiter. Plusieurs stratégies peuvent être utilisées pour minimiser les contaminations (22). D'abord, une attention particulière est mise sur les fomites potentiels présents en salle d'opération. Des facteurs modifiables des patients peuvent être également optimisés en préopératoire, tel que la perte de poids, la consommation de tabac et le contrôle du diabète. Le corps humain est muni d'un système immunitaire qui a pour rôle de rechercher, identifier et neutraliser rapidement les micro-organismes nocifs qui circulent. Malheureusement, lorsque les microbes sont en contact avec un corps étranger, tel une prothèse, ils peuvent échapper au système immunitaire en formant un biofilm.

Il existe dans la littérature plus de 2,000 publications sur le sujet d'infection de prothèses herniaires. Ces publications visent multiples aspects de cette problématique, c'est à dire; l'incidence, la pathophysiologie, les organismes responsables et les approches thérapeutiques. Il y a également plusieurs articles ayant un optique plus expérimental pour prévenir les infections. Nombreux groupes ont tenté de modifier les paramètres des prothèses à la recherche d'une solution aux infections, incluant le rajout de revêtement sur les mailles. Un adage commun en chirurgie est que lorsqu'on retrouve autant de recherche sur un sujet, c'est qu'il est considéré comme important mais qu'il n'existe pas encore de solution optimale. Considérant le volume considérable de cure de hernie réalisées, même un faible pourcentage d'infection de prothèse affecte non seulement la santé de plusieurs patients mais ajoute un coût important sur le système de santé.

Il est donc pertinent de rechercher un matériel pour créer des prothèses herniaires sécuritaires et efficaces et ayant des propriétés antimicrobiennes. Le Nitinol (NiTi) est un alliage de Nickel (Ni) et Titane (Ti). Il fut introduit dans le domaine de la médecine depuis les années 1980 et est maintenant retrouvé sous plusieurs formes. Ce matériel unique est biocompatible, montre une absence de corrosion et a des propriétés de superplasticité. Les nanoparticules (NP) sont des matériaux avec des dimensions entre 1 et 100 nanomètres. Également utilisées en médecine, les nanoparticules d'argent et cuivre possèdent des attributs antimicrobiens.

5.2 Sommaire des résultats

5.2.1. Prothèses évaluées

L'objectif principal de notre étude préliminaire était d'évaluer les propriétés antimicrobiennes de trois prothèses à base de Nitinol. Ces échantillons provenaient de collaborateurs du Tomsk State University en Russie et de Solmont Technology Wuxi Co en Chine. La prothèse contrôle (MC) est constituée de Nitinol seul. Les deux autres prothèses sont également à base de Nitinol mais avec deux types de revêtements. La première a le revêtement KJ501, un mélange d'une résine rigide à base d'oxide de silicone avec des AgCuNP. La deuxième avec un revêtement est KJ103, un mélange d'une résine douce de polymère avec des AgCuNP. L'expérience a également

été réalisée sur la prothèse PROLENE de la compagnie Ethicon, à base de polypropylène, une prothèse approuvée par Santé Canada et disponible sur le marché.

5.2.2. PROLENE

Des images sont capturées par microscopie d'une prothèse en polypropylène stérile. L'apparence des mailles est lisse et translucide. La prothèse de polypropylène fut coupée en plusieurs échantillons et exposée au *S. aureus*, *S. epidermidis*, et *C. albicans*. Après une période permettant l'initiation d'un biofilm, les morceaux de prothèses ont été transposés dans de nouveaux puits avec les microorganismes ayant potentiellement adhérents à la prothèse. Après 24 heures d'incubation, les prothèses sont séchées et examinées par microscopie. Les mailles exposées aux bactéries ont maintenant une apparence granulaire. D'innombrables particules sphériques semblent être accolées aux prothèses. Les mailles exposées au *C. albicans* semblent également avoir des impuretés, certaines d'allures pédonculées.

Avec une technique stérile, les prothèses sont grattées dans de l'eau stérile pour mettre en suspension les probables micro-organismes. Des plaques de géloses sont inoculées avec ce liquide et incubées. Les géloses démontrent alors un tapissage de colonies de bactéries et levure.

5.2.3. Nitinol

L'expérience est reprise pour les prothèses expérimentales. Chaque prothèse à base de Nitinol, c'est à dire, la MC, la KJ103 et la KJ501, furent coupées en échantillons et ceux-ci furent individuellement exposés au *S. aureus*, *S. epidermidis*, et *C. albicans*. Pareillement aux échantillons de polypropylène, les échantillons de cette expérience sont transposés après la période d'initiation dans de nouveaux puits stériles. Après un 24 heures d'incubation, les prothèses sont examinées sous microscopie. Étant un alliage de deux métaux, le Nitinol est opaque et malgré la magnification par microscopie, il est difficile de visualiser la surface des mailles. Toutefois, il ne semble pas y avoir d'amas visibles sur les rebords.

Les échantillons sont alors grattés dans de l'eau stérile et ce liquide est déposé sur des plaques de géloses de TSA pour les bactéries et de YPD pour le *C. albicans*. Après 24 heures, des

colonies sont visibles sur les géloses. Ce résultat indique que les prothèses à base de Nitinol sont susceptibles aux bactéries et levures, comme les prothèses en polypropylène. Par contre, lorsque l'on compare les plaques de gélose, nous constatons qu'il semble avoir moins de colonies sur les géloses des prothèses à base de Nitinol, comparativement aux prothèses en polypropylène. De plus, il semble y avoir une différence parmi les prothèses expérimentales : la KJ501 est recouverte de moins de colonies, comparativement à la KJ103 et la MC.

5.2.4. Conclusions et trouvailles additionnelles

L'objectif de notre étude préliminaire était l'évaluation des propriétés antimicrobiennes de prothèse à base de Nitinol. Il y avait trois prothèses expérimentales: une à base de Nitinol seul, une à base de Nitinol avec un revêtement souple de nanoparticules d'AgCu et une à base de Nitinol avec un revêtement rigide de nanoparticules d'AgCu. Une prothèse en polypropylène déjà commercialisée a également été testée. Les trois micro-organismes étudiés étaient le *S. aureus*, *S. epidermidis* et le *C. albicans*. La concentration de cellules microbiennes fut standardisée ainsi que la taille des prothèses par échantillon. Suite à une période d'incubation, les micro-organismes étaient visibles à la microscopie sur les mailles des prothèses en polypropylène mais pas sur celles en Nitinol. Pour approfondir cette observation, nous avons vérifié s'il était possible de refaire des colonies à partir des échantillons de prothèses des plaques de gélose. Cette dernière étape a démontré que des biofilms s'étaient formés sur toutes les prothèses. Néanmoins, il semble avoir moins de colonies sur les géloses provenant des prothèses à base de Nitinol, comparativement à celle en polypropylène. Parmi les prothèses en Nitinol, il y a un gradient avec la KJ501 ayant moins de colonies, comparativement à la KJ103 et la MC. Donc les prothèses en Nitinol, en particulier avec revêtement de nanoparticules d'AgCu, semblent être plus résistantes aux biofilms microbiens.

Lors d'une procédure chirurgicale, les prothèses doivent être manipulées par le chirurgien pour s'assurer du bon positionnement. Ainsi, une prothèse doit avoir une certaine rigidité. Lors des expériences, nous avons remarqué que certaines prothèses expérimentales étaient plutôt souples, pliantes et parfois difficile à manipuler. Le revêtement rigide de la prothèse KJ501 a

facilité les expériences. Ceci doit être pris en compte lors d'une conception de prothèses herniaires.

5.3 Limites et prochaines étapes

L'examen d'un nouveau produit de santé est complexe et doit être fait rigoureusement. Notre prothèse expérimentale à base de Nitinol possède des caractéristiques théoriques intéressantes et il faut maintenant vérifier si elles sont valides en clinique. Ce document présente une première étape dans le volet d'évaluation biologique de la prothèse. Les manipulations décrites dans ce mémoire possèdent certaines limites. Chaque plaque contient plusieurs puits et les mêmes combinaisons d'éléments (prothèse, microbe) furent ajoutés par rangée pour augmenter le nombre de répliques. Par contre, le nombre de répliques par expérience demeure restreint. Pour augmenter la validité interne, il serait idéal d'avoir plus de quatre répliques pour chaque prothèse exposée aux microbes. En augmentant le nombre de répliques, il y aurait également plus de géloses finales à comparer pour confirmer que les résultats observés sont bien réels. De plus, les trouvailles des expériences sont principalement qualitatives. Ceci est encourageant pour l'existence de propriétés antimicrobiennes des prothèses en Nitinol revêtis de nanoparticules mais il est nécessaire de comparer de façon quantitative pour déterminer s'il existe vraiment une différence significative entre ces prothèses et celle en polypropylène.

La prochaine étape serait de faire un décompte des cellules des staphylocoques et de *C. albicans* sur les mailles pour comparer quantitativement les différentes prothèses, et vérifier que la prothèse KJ501 est statistiquement moins propice aux biofilms microbiens que la prothèse de polypropylène. Il existe quelques méthodes pour faire cela incluant des tests colorimétriques, tel que le XTT ou le « Crystal Violet » (125, 126). Une autre méthode reconnue dans les études d'adhésion bactérienne sur des surfaces est le décompte par microscopie électronique à balayage (MEB)(127, 128). Cette technique permet de capturer des images magnifiées plus de mille fois pour examiner à haute résolution la surface d'échantillons. Un groupe de chercheurs a utilisé cette méthode pour comparer l'adhésion bactérienne du *S. aureus* et *S. epidermidis* sur huit prothèses présentement disponibles sur le marché (129).

Suite à cette étape, il faudra évaluer les autres aspects des prothèses, par exemple, en réalisant des études de toxicité cellulaire et d'inertie chimique. Dans le cas de prothèse pour hernie, il faut non seulement que le produit soit biocompatible mais il doit également posséder des attributs biomécaniques pour renforcer la paroi. Entre autres, il faudra évaluer la force tensile, l'élasticité et la résistance à la déchirure (130). Ultimement, tout nouveau produit médical doit être approuvé par Santé Canada avant d'être offert aux patients. Ce processus d'évaluation minutieuse est nécessaire afin de traiter les patients de façon optimale.

Références bibliographiques

1. Livingston EH. What Is an Abdominal Wall Hernia? JAMA. 2016;316(15):1610-.
2. Shakil A, Aparicio K, Barta E, Munez K. Inguinal Hernias: Diagnosis and Management. Am Fam Physician. 2020;102(8):487-92.
3. Miserez M, Alexandre JH, Campanelli G, Corcione F, Cuccurullo D, Pascual MH, et al. The European hernia society groin hernia classification: simple and easy to remember. Hernia. 2007;11(2):113-6.
4. Muysoms FE, Miserez M, Berrevoet F, Campanelli G, Champault GG, Chelala E, et al. Classification of primary and incisional abdominal wall hernias. Hernia. 2009;13(4):407-14.
5. Le Huu Nho R, Mege D, Ouaiïssi M, Sielezneff I, Sastre B. Incidence and prevention of ventral incisional hernia. J Visc Surg. 2012;149(5 Suppl):e3-14.
6. Food and Drug Administration. Hernia Surgical Mesh Implants [updated 2/4/2018. Available from: . <https://www.fda.gov/medical-devices/implants-and-prosthetics/hernia-surgical-mesh-implants#:~:text=Treatment%20Options%20for%20Hernias,for%20other%20types%20of%20hernias.>
7. Ah-Kee EY, Kallachil T, O'Dwyer PJ. Patient awareness and symptoms from an incisional hernia. Int Surg. 2014;99(3):241-6.
8. Derici H, Unalp HR, Bozdogan AD, Nazli O, Tansug T, Kamer E. Factors affecting morbidity and mortality in incarcerated abdominal wall hernias. Hernia. 2007;11(4):341-6.
9. Grove TN, Muirhead LJ, Parker SG, Brogden DRL, Mills SC, Kontovounisios C, et al. Measuring quality of life in patients with abdominal wall hernias: a systematic review of available tools. Hernia. 2021;25(2):491-500.
10. McCarthy M, Jr., Jonasson O, Chang CH, Pickard AS, Giobbie-Hurder A, Gibbs J, et al. Assessment of patient functional status after surgery. J Am Coll Surg. 2005;201(2):171-8.
11. Cherla DV, Moses ML, Viso CP, Holihan JL, Flores-Gonzalez JR, Kao LS, et al. Impact of Abdominal Wall Hernias and Repair on Patient Quality of Life. World J Surg. 2018;42(1):19-25.

12. Allemann P. Revue Médicale Suisse : Chirurgie des hernies de la paroi en 2018 : mise au point. Revue Médicale Suisse. 2018;14(611):1214-7.
13. Fitzgibbons RJ, Giobbie-Hurder A, Gibbs JO, Dunlop DD, Reda DJ, McCarthy M, et al. Watchful Waiting vs Repair of Inguinal Hernia in Minimally Symptomatic Men: A Randomized Clinical Trial. JAMA. 2006;295(3):285-92.
14. Fitzgibbons RJ, Jr., Ramanan B, Arya S, Turner SA, Li X, Gibbs JO, et al. Long-term results of a randomized controlled trial of a nonoperative strategy (watchful waiting) for men with minimally symptomatic inguinal hernias. Ann Surg. 2013;258(3):508-15.
15. Fitzgibbons RJ, Jr., Forse RA. Clinical practice. Groin hernias in adults. N Engl J Med. 2015;372(8):756-63.
16. Krafts KP. Tissue repair: The hidden drama. Organogenesis. 2010;6(4):225-33.
17. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. J Dent Res. 2010;89(3):219-29.
18. Luijendijk RW, Hop WC, van den Tol MP, de Lange DC, Braaksma MM, JN IJ, et al. A comparison of suture repair with mesh repair for incisional hernia. N Engl J Med. 2000;343(6):392-8.
19. Cassar K, Munro A. Surgical treatment of incisional hernia. Br J Surg. 2002;89(5):534-45.
20. Wang See C, Kim T, Zhu D. Hernia Mesh and Hernia Repair: A Review. Engineered Regeneration. 2020;1:19-33.
21. Pérez-Köhler B, Bayon Y, Bellón JM. Mesh Infection and Hernia Repair: A Review. Surg Infect (Larchmt). 2016;17(2):124-37.
22. Wilson RB, Farooque Y. Risks and Prevention of Surgical Site Infection After Hernia Mesh Repair and the Predictive Utility of ACS-NSQIP. J Gastrointest Surg. 2022;26(4):950-64.
23. Plymale MA, Davenport DL, Walsh-Blackmore S, Hess J, Griffiths WS, Plymale MC, et al. Costs and Complications Associated with Infected Mesh for Ventral Hernia Repair. Surg Infect (Larchmt). 2020;21(4):344-9.
24. Tolino MJ, Tripoloni DE, Ratto R, García MI. Infections associated with prosthetic repairs of abdominal wall hernias: pathology, management and results. Hernia. 2009;13(6):631.

25. Petersen S, Henke G, Freitag M, Faulhaber A, Ludwig K. Deep prosthesis infection in incisional hernia repair: predictive factors and clinical outcome. *European Journal of Surgery*. 2003;167(6):453-7.
26. Arnold M, Kao A, Gbozah K, Heniford B, Augenstein V. Optimal management of mesh infection: Evidence and treatment options. *International Journal of Abdominal Wall and Hernia Surgery*. 2018;1(2):42-9.
27. Devin CL, Olson MA, Tastaldi L, Zheng R, Berger AC, Palazzo F. Surgical management of infected abdominal wall mesh: an analysis using the American Hernia Society Quality Collaborative. *Hernia*. 2021;25(6):1529-35.
28. Owens CD, Stoessel K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *J Hosp Infect*. 2008;70 Suppl 2:3-10.
29. Rumbaugh KP, Sauer K. Biofilm dispersion. *Nat Rev Microbiol*. 2020;18(10):571-86.
30. Sanders DL, Kingsnorth AN, Lambie J, Bond P, Moate R, Steer JA. An experimental study exploring the relationship between the size of bacterial inoculum and bacterial adherence to prosthetic mesh. *Surg Endosc*. 2013;27(3):978-85.
31. Tubre DJ, Schroeder AD, Estes J, Eisenga J, Fitzgibbons RJ, Jr. Surgical site infection: the "Achilles Heel" of all types of abdominal wall hernia reconstruction. *Hernia*. 2018;22(6):1003-13.
32. Ober I, Nickerson D, Caragea M, Ball CG, Kirkpatrick AW. Invasive *Candida albicans* fungal infection requiring explantation of a noncrosslinked porcine derived biologic mesh: a rare but catastrophic complication in abdominal wall reconstruction. *Can J Surg*. 2020;63(6):E533-e6.
33. Brennan K, Patel P, Drohan A, Minor S. Biologic mesh infection with *Candida albicans* after abdominal wall reconstruction with calcium sulphate antibiotic beads: A case report. *IDCases*. 2021;26:e01351.
34. Bryan CP. *Ancient Egyptian Medicine, the Papyrus Ebers*. Chicago: Ares Publisher Inc.; 1974.
35. Sanders DL, Kingsnorth AN. From ancient to contemporary times: a concise history of incisional hernia repair. *Hernia*. 2012;16(1):1-7.
36. Gerdy PN. Nouvelles opération pour guérir radicalement les hernies du ventre. *Gaz Hop*. 1836;1:10-4.

37. Sanders DL, Kingsnorth AN. Prosthetic mesh materials used in hernia surgery. *Expert Rev Med Devices*. 2012;9(2):159-79.
38. Faylona JM. Evolution of ventral hernia repair. *Asian J Endosc Surg*. 2017;10(3):252-8.
39. Read RC. The contributions of Usher and others to the elimination of tension from groin herniorrhaphy. *Hernia*. 2005;9(3):208-11.
40. Baylón K, Rodríguez-Camarillo P, Elías-Zúñiga A, Díaz-Elizondo JA, Gilkerson R, Lozano K. Past, Present and Future of Surgical Meshes: A Review. *Membranes (Basel)*. 2017;7(3).
41. Sanbhal N, Miao L, Xu R, Khatri A, Wang L. Physical structure and mechanical properties of knitted hernia mesh materials: A review. *Journal of Industrial Textiles*. 2018;48(1):333-60.
42. Rosen MJ. Polyester-based mesh for ventral hernia repair: is it safe? *Am J Surg*. 2009;197(3):353-9.
43. Cobb WS, Kercher KW, Heniford BT. The argument for lightweight polypropylene mesh in hernia repair. *Surg Innov*. 2005;12(1):63-9.
44. Jordan SW, Fligor JE, Janes LE, Dumanian GA. Implant Porosity and the Foreign Body Response. *Plast Reconstr Surg*. 2018;141(1):103e-12e.
45. Zhu LM, Schuster P, Klinge U. Mesh implants: An overview of crucial mesh parameters. *World J Gastrointest Surg*. 2015;7(10):226-36.
46. Levin PA, Angert ER. Small but Mighty: Cell Size and Bacteria. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(7):a019216.
47. Amid PK. Classification of biomaterials and their related complications in abdominal wall hernia surgery. *Hernia*. 1997;1(1):15-21.
48. Narkhede R, Shah NM, Dalal PR, Mangukia C, Dholaria S. Postoperative Mesh Infection- Still a Concern in Laparoscopic Era. *Indian J Surg*. 2015;77(4):322-6.
49. Cobb WS, Peindl RM, Zerey M, Carbonell AM, Heniford BT. Mesh terminology 101. *Hernia*. 2009;13(1):1-6.
50. Novitsky YW, Cristiano JA, Harrell AG, Newcomb W, Norton JH, Kercher KW, et al. Immunohistochemical analysis of host reaction to heavyweight-, reduced-weight-, and expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE)-based meshes after short- and long-term intraabdominal implantations. *Surg Endosc*. 2008;22(4):1070-6.

51. Novitsky YW, Harrell AG, Cristiano JA, Paton BL, Norton HJ, Peindl RD, et al. Comparative evaluation of adhesion formation, strength of ingrowth, and textile properties of prosthetic meshes after long-term intra-abdominal implantation in a rabbit. *J Surg Res.* 2007;140(1):6-11.
52. Agarwal BB, Agarwal KA, Sahu T, Mahajan KC. Traditional polypropylene and lightweight meshes in totally extraperitoneal inguinal herniorrhaphy. *Int J Surg.* 2010;8(1):44-7.
53. Cobb WS, Burns JM, Kercher KW, Matthews BD, James Norton H, Todd Heniford B. Normal intraabdominal pressure in healthy adults. *J Surg Res.* 2005;129(2):231-5.
54. Bilsel Y, Abci I. The search for ideal hernia repair; mesh materials and types. *Int J Surg.* 2012;10(6):317-21.
55. Coda A, Lamberti R, Martorana S. Classification of prosthetics used in hernia repair based on weight and biomaterial. *Hernia.* 2012;16(1):9-20.
56. Laurencin CT, Nair LS, Bhattacharyya S, Allcock HR, Bender JD, Brown PW, et al., inventors Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering and Drug Delivery. US2007.
57. Aydemir Sezer U, Sanko V, Gulmez M, Aru B, Sayman E, Aktekin A, et al. Polypropylene composite hernia mesh with anti-adhesion layer composed of polycaprolactone and oxidized regenerated cellulose. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;99:1141-52.
58. Fernandez-Moure JS, Van Eps JL, Scherba JC, Haddix S, Livingston M, Bryan NS, et al. Polyester Mesh Functionalization with Nitric Oxide-Releasing Silica Nanoparticles Reduces Early Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Contamination. *Surg Infect (Larchmt).* 2021;22(9):910-22.
59. Alipour S, Tatomian F, Ghomi ER, Zare M, Singh S, Ramakrishna S. Nitinol: From historical milestones to functional properties and biomedical applications. *Proc Inst Mech Eng H.* 2022;236(11):1595-612.
60. Barras CD, Myers KA. Nitinol - its use in vascular surgery and other applications. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2000;19(6):564-9.
61. Palmaz JC, Richter GM, Nöldge G, Kauffmann GW, Wenz W. [Intraluminal Palmaz stent implantation. The first clinical case report on a balloon-expanded vascular prosthesis]. *Radiologe.* 1987;27(12):560-3.

62. Parodi JC, Palmaz JC, Barone HD. Transfemoral intraluminal graft implantation for abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg.* 1991;5(6):491-9.
63. Tarniță D, Tarniță DN, Bîzdoacă N, Mîndrilă I, Vasilescu M. Properties and medical applications of shape memory alloys. *Rom J Morphol Embryol.* 2009;50(1):15-21.
64. Berger-Gorbet M, Broxup B, Rivard C, Yahia LH. Biocompatibility testing of NiTi screws using immunohistochemistry on sections containing metallic implants. *Journal of Biomedical Materials Research.* 1996;32(2):243-8.
65. Assad M, Yahia LH, Rivard CH, Lemieux N. In vitro biocompatibility assessment of a nickel-titanium alloy using electron microscopy in situ end-labeling (EM-ISEL). *Journal of Biomedical Materials Research.* 1998;41(1):154-61.
66. Hernández R, Polizu S, Turenne S, Yahia LH. Characteristics of porous nickel-titanium alloys for medical applications. *Bio-Medical Materials and Engineering.* 2002;12:37-45.
67. Thierry B, Tabrizian M, Trepanier C, Savadogo O, Yahia LH. Effect of surface treatment and sterilization processes on the corrosion behavior of NiTi shape memory alloy. *Journal of Biomedical Materials Research.* 2000;51(4):685-93.
68. Trépanier C, Tabrizian M, Yahia LH, Bilodeau L, Piron DL. Effect of modification of oxide layer on NiTi stent corrosion resistance. *Journal of Biomedical Materials Research.* 1998;43(4):433-40.
69. Es-Souni M, Es-Souni M, Brandies HF. On the transformation behaviour, mechanical properties and biocompatibility of two niti-based shape memory alloys: NiTi42 and NiTi42Cu7. *Biomaterials.* 2001;22(15):2153-61.
70. Di Prima M. Technical Considerations for Non-Clinical Assessment of Medical Devices Containing Nitinol.: Food and Drug Administration; 2020 [Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/technical-considerations-non-clinical-assessment-medical-devices-containing-nitinol>].
71. Tian H, Schryvers D, Liu D, Jiang Q, Van Humbeeck J. Stability of Ni in nitinol oxide surfaces. *Acta Biomater.* 2011;7(2):892-9.
72. Shabalovskaya SA. Surface, corrosion and biocompatibility aspects of Nitinol as an implant material. *Biomed Mater Eng.* 2002;12(1):69-109.

73. Mani G, Porter D, Grove K, Collins S, Ornberg A, Shulfer R. Surface finishing of Nitinol for implantable medical devices: A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2022;110(12):2763-78.
74. Sullivan SJL, Madamba D, Sivan S, Miyashiro K, Dreher ML, Trépanier C, et al. The effects of surface processing on in-vivo corrosion of Nitinol stents in a porcine model. *Acta Biomater*. 2017;62:385-96.
75. Nagaraja S, Sullivan SJL, Stafford PR, Lucas AD, Malkin E. Impact of nitinol stent surface processing on in-vivo nickel release and biological response. *Acta Biomater*. 2018;72:424-33.
76. Kokorev O, Chekalkin T, Marchenko E, Yasenchuk Y, Gunther S, Serebrov V, et al. Exploring the role of surface modifications of TiNi-based alloys in evaluating in vitro cytocompatibility: a comparative study. *Surface Topography: Metrology and Properties*. 2020;8(4):045015.
77. Holman H, Kavarana MN, Rajab TK. Smart materials in cardiovascular implants: Shape memory alloys and shape memory polymers. *Artif Organs*. 2021;45(5):454-63.
78. E. Gunther V, L. Chekalkin T, Kim J-S, N. Hodorenko V. Martensite Deformation And Phenomenon Of Hysteretic Shape Change In TiNi-based Alloys. *Advanced Materials Letters*. 2014;5(11):629-33.
79. Zaworonkow D, Chekan M, Kusnierz K, Lekstan A, Grajoszek A, Lekston Z, et al. Evaluation of TiNi-based wire mesh implant for abdominal wall defect management. *Biomedical Physics & Engineering Express*. 2018;4.
80. Muhamedov M, Kulbakin D, Gunther V, Choynzonov E, Chekalkin T, Hodorenko V. Sparing surgery with the use of tini-based endografts in larynx cancer patients. *Journal of Surgical Oncology*. 2015;111(2):231-6.
81. Kulbakin D, Chekalkin T, Muhamedov M, Choynzonov E, Kang J-h, Kang S-b, et al. Sparing Surgery for the Successful Treatment of Thyroid Papillary Carcinoma Invading the Trachea: A Case Report. *Case Reports in Oncology*. 2016;9(3):772-80.
82. Shtin V, Novikov V, Chekalkin T, Gunther V, Marchenko E, Choynzonov E, et al. Repair of Orbital Post-Traumatic Wall Defects by Custom-Made TiNi Mesh Endografts. *J Funct Biomater*. 2019;10(3).

83. Chernyshova A, Kolomiets L, Chekalkin T, Chernov V, Sinilkin I, Gunther V, et al. Fertility-Sparing Surgery Using Knitted TiNi Mesh Implants and Sentinel Lymph Nodes: A 10-Year Experience. *Journal of Investigative Surgery*. 2021;34(10):1110-8.
84. Topolnitskiy E, Chekalkin T, Marchenko E, Yasenchuk Y. Repair of huge thoracic defect combined with hernia after multimodality treatment of breast cancer. *Respir Med Case Rep*. 2021;34:101558.
85. Topolnitskiy E, Chekalkin T, Marchenko E, Yasenchuk Y, Kang SB, Kang JH, et al. Evaluation of Clinical Performance of TiNi-Based Implants Used in Chest Wall Repair after Resection for Malignant Tumors. *J Funct Biomater*. 2021;12(4).
86. Najahi-Missaoui W, Arnold RD, Cummings BS. Safe Nanoparticles: Are We There Yet? *Int J Mol Sci*. 2020;22(1).
87. Zhang XF, Mansouri S, Clime L, Ly HQ, Yahia LH, Veres T. Fe₃O₄-silica core-shell nanoporous particles for high-capacity pH-triggered drug delivery. *Journal of Materials Chemistry*. 2012;22(29):14450-7.
88. Mbeh DA, França R, Merhi Y, Zhang XF, Veres T, Sacher E, et al. In vitro biocompatibility assessment of functionalized magnetite nanoparticles: biological and cytotoxicological effects. *J Biomed Mater Res A*. 2012;100(6):1637-46.
89. França R, Zhang XF, Veres T, Yahia LH, Sacher E. Core-shell nanoparticles as prodrugs: Possible cytotoxicological and biomedical impacts of batch-to-batch inconsistencies. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2013;389(1):292-7.
90. Mbeh DA, Mireles LK, Stanicki D, Tabet L, Maghni K, Laurent S, et al. Human Alveolar Epithelial Cell Responses to Core-Shell Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs). *Langmuir*. 2015;31(13):3829-39.
91. Nemeth J, Oesch G, Kuster SP. Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(2):382-95.
92. Pelgrift RY, Friedman AJ. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013;65(13-14):1803-15.

93. Loran S, Yelon A, Sacher E. Short communication: Unexpected findings on the physicochemical characterization of the silver nanoparticle surface. *Applied Surface Science*. 2018;428:1079-81.
94. Sacher E. A Pragmatic Perspective of the Initial Stages of the Contact Killing of Bacteria on Copper-Containing Surfaces. *Applied Microbiology*. 2022;2(3):449-52.
95. Fan X, Yahia L, Sacher E. Antimicrobial Properties of the Ag, Cu Nanoparticle System. *Biology (Basel)*. 2021;10(2).
96. Sacher E, Yelon A. A Pragmatic Perspective of the Antibacterial Properties of Metal-Based Nanoparticles. *Nanomaterials (Basel)*. 2021;11(12).
97. Medici S, Peana M, Nurchi VM, Zoroddu MA. Medical Uses of Silver: History, Myths, and Scientific Evidence. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2019;62(13):5923-43.
98. Klasen HJ. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns*. 2000;26(2):117-30.
99. Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol*. 2006;33:17-34.
100. Medici S, Peana M, Crisponi G, Nurchi VM, Lachowicz JI, Remelli M, et al. Silver coordination compounds: A new horizon in medicine. *Coordination Chemistry Reviews*. 2016;327-328:349-59.
101. Ebrahiminezhad A, Raei MJ, Manafi Z, Jahromi AS, Ghasemi Y. Ancient and Novel Forms of Silver in Medicine and Biomedicine. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*. 2016;2:122-8.
102. Knetsch MLW, Koole LH. New Strategies in the Development of Antimicrobial Coatings: The Example of Increasing Usage of Silver and Silver Nanoparticles. *Polymers*. 2011;3(1):340-66.
103. Fatahi Dehpahni M, Chehri K, Azadbakht M. Effect of Silver Nanoparticles and L-Carnitine Supplement on Mixed Vaginitis Caused by *Candida albicans*/ *Staphylococcus aureus* in Mouse Models: An Experimental Study. *Curr Microbiol*. 2021;78(11):3945-56.
104. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(6):1712-20.

105. Sotiriou GA, Pratsinis SE. Antibacterial Activity of Nanosilver Ions and Particles. *Environmental Science & Technology*. 2010;44(14):5649-54.
106. Percival SL, Bowler PG, Russell D. Bacterial resistance to silver in wound care. *J Hosp Infect*. 2005;60(1):1-7.
107. Hamilton EI, Minski MJ. Abundance of the chemical elements in man's diet and possible relations with environmental factors. *Science of The Total Environment*. 1973;1(4):375-94.
108. Lansdown AB, Sampson B, Laupattarakasem P, Vuttivirojana A. Silver aids healing in the sterile skin wound: experimental studies in the laboratory rat. *Br J Dermatol*. 1997;137(5):728-35.
109. Lansdown AB. Metallothioneins: potential therapeutic aids for wound healing in the skin. *Wound Repair Regen*. 2002;10(3):130-32.
110. Borkow G, Gabbay J. Copper, An Ancient Remedy Returning to Fight Microbial, Fungal and Viral Infections. *Current Chemical Biology*. 2009;3:272-8.
111. Agency USEP. Copper Facts 2008 [Available from: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/P1001BJR.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=2006%20Thru%202010&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&UseQField=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5CZYFILES%5CINDEX%20DATA%5C06THRU10%5CTXT%5C00000003%5CP1001BJR.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C-&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=hpfr&DefSeek=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=2>].
112. Ladomersky E, Petris MJ. Copper tolerance and virulence in bacteria. *Metallomics*. 2015;7(6):957-64.
113. Giannousi K, Lafazanis K, Arvanitidis J, Pantazaki A, Dendrinou-Samara C. Hydrothermal synthesis of copper based nanoparticles: antimicrobial screening and interaction with DNA. *J Inorg Biochem*. 2014;133:24-32.
114. Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomater*. 2008;4(3):707-16.

115. Thekkae Padil VV, Černík M. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:889-98.
116. Kruk T, Szczepanowicz K, Stefańska J, Socha RP, Warszyński P. Synthesis and antimicrobial activity of monodisperse copper nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015;128:17-22.
117. Usman MS, El Zowalaty ME, Shameli K, Zainuddin N, Salama M, Ibrahim NA. Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:4467-79.
118. Vincent M, Duval RE, Hartemann P, Engels-Deutsch M. Contact killing and antimicrobial properties of copper. *J Appl Microbiol*. 2018;124(5):1032-46.
119. Macomber L, Imlay JA. The iron-sulfur clusters of dehydratases are primary intracellular targets of copper toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(20):8344-9.
120. Cazaux J. Recent developments and new strategies in scanning electron microscopy. *J Microsc*. 2005;217(Pt 1):16-35.
121. Deeken CR, Faucher KM, Matthews BD. A review of the composition, characteristics, and effectiveness of barrier mesh prostheses utilized for laparoscopic ventral hernia repair. *Surg Endosc*. 2012;26(2):566-75.
122. Azadi A, Jasinski JB, Francis SL, Pasic R, Lipetskaia L, Deveneau NE, et al. Evaluation of surgical instrument handling on polypropylene mesh using scanning electron microscopy. *Int Urogynecol J*. 2014;25(5):651-6.
123. Licari L, Guercio G, Campanella S, Scerrino G, Bonventre S, Tutino R, et al. Clinical and Functional Outcome After Abdominal Wall Incisional Hernia Repair: Evaluation of Quality-of-Life Improvement and Comparison of Assessment Scales. *World J Surg*. 2019;43(8):1914-20.
124. Smith OAM, Mierzwinski M, McVey J, Chitsabesan P, Chintapatla S. Abdominal wall hernia and mental health: patients lived experiences and implications for patient care. *Hernia*. 2023;27(1):55-62.
125. Xu Z, Liang Y, Lin S, Chen D, Li B, Li L, et al. Crystal Violet and XTT Assays on *Staphylococcus aureus* Biofilm Quantification. *Curr Microbiol*. 2016;73(4):474-82.

126. da Silva WJ, Seneviratne J, Parahitiyawa N, Rosa EA, Samaranayake LP, Del Bel Cury AA. Improvement of XTT assay performance for studies involving *Candida albicans* biofilms. *Braz Dent J*. 2008;19(4):364-9.
127. Aydinuraz K, Ağalar C, Ağalar F, Çeken S, Duruyürek N, Vural T. In Vitro *S. epidermidis* and *S. aureus* Adherence to Composite and Lightweight Polypropylene Grafts¹. *Journal of Surgical Research*. 2009;157(1):e79-e86.
128. Duarte PM, Reis AF, de Freitas PM, Ota-Tsuzuki C. Bacterial Adhesion on Smooth and Rough Titanium Surfaces After Treatment With Different Instruments. *Journal of Periodontology*. 2009;80(11):1824-32.
129. Sanders D, Lambie J, Bond P, Moate R, Steer JA. An in vitro study assessing the effect of mesh morphology and suture fixation on bacterial adherence. *Hernia*. 2013;17(6):779-89.
130. Deeken CR, Abdo MS, Frisella MM, Matthews BD. Physicomechanical evaluation of polypropylene, polyester, and polytetrafluoroethylene meshes for inguinal hernia repair. *J Am Coll Surg*. 2011;212(1):68-79.