

CHARACTERIZATION OF THE BACTERICIDAL EFFECTS OF A COPPER DEPOSITION ON WOOD SUBSTRATE

ARCE VELASQUEZ JUAN DAVID, PROROT AUDREY¹⁵, OUK-SOTHEA TAN²,
DENOIRJEAN ALAIN³, DAGOT CHRISTOPHE, LEPRAT PATRICK¹

¹ Groupement de Recherche Eau Sol et Environnement (GRESE), Université de Limoges, France

² *Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles
LCSN, EA1069, Université de Limoges, France*

³ *CENTRE EUROPEEN de la CERAMIQUE
SPCTS - UMR CNRS 7315, Limoges, France,*

Abstract: This study aims to characterize the antimicrobial properties of copper coatings deposited by thermal spraying (plasma and wire-arc) on a wood substrate. The antimicrobial properties of these deposits were evaluated for different bacterial strains: *E. coli*, *S. epidermis*, *E. faecalis*, *B. subtilis*. The structural characterization of the deposits showed that they were continuous but revealed differences in their chemical composition. These observations were correlated with microbiological results. Deposits obtained after plasma spraying, without copper oxide have less important bactericidal properties.

Key words : thermal spraying, plasma, wire arc, wood, bactericidal properties

1. INTRODUCTION

Au vu des données de la littérature, les biofilms fongiques et bactériens sont à l'origine de problèmes de santé publique, particulièrement dans le domaine biomédical. La nécessité de lutter contre la colonisation des surfaces dans ce secteur justifie l'intérêt croissant pour le domaine de recherche dédié à l'amélioration de l'hygiène des surfaces. Dans le cadre de cette problématique, la maîtrise de l'hygiène des surfaces se révèle un enjeu primordial. Les biofilms étant très difficiles à éradiquer une fois formés, une stratégie préventive, visant à limiter l'adhésion des microorganismes et à éliminer ceux réussissant à entrer en contact avec la surface, constitue une approche pertinente et prometteuse.

Dans ce cadre, cette étude a pour objectifs de :

- Mettre au point un traitement de surface du bois avec du cuivre, combinant une efficacité antiadhésive à des propriétés antimicrobiennes, en s'appuyant sur les potentialités des procédés de projection thermique (plasma et arc fil). Ces projections thermiques seront réalisées sur substrat bois, ce matériau étant un composite naturel et renouvelable;
- Evaluer les mécanismes à l'origine de l'efficacité bactéricide sur un panel de souches bactériennes (bactéries à Gram positif et à Gram négatif) de caractéristiques (propriétés de surface, structure pariétale, réactivité) différentes.

2. MÉTHODOLOGIE

Corresponding author, courriel prorot@ensil.unilim.fr

2.1. Elaboration des dépôts de cuivre par procédé plasma et arc-fil

Les projections thermiques ont été réalisées sur substrat bois, ce matériau étant un composite naturel et renouvelable faisant l'objet de nombreuses innovations pour répondre aux exigences actuelles. Deux types de substrat ont été testés : le pin Douglas, matériau résistant et durable ainsi qu'un agglomère MDF (Medium Density Fiberboard). La synthèse des conditions expérimentales des projections plasma et arc-fil est présentée dans les tableaux 1 et 2 respectivement.

Tableau 1. Paramètres utilisés en projection plasma

Echantillons	P2	P5	P6
Distance de tir (mm)	150	100	
Temps de tir (s)	3		6
Intensité (A)	450		
Débit d'argon (L/h)	50		
Débit d'hydrogène (L/h)	10		
Type de refroidissement	barrière avant	airjet	barrière avant

Tableau 2. Paramètres utilisés en projection arc-fil.

Numéro des essais	AF2	AF3	AF4	AF5
Distance de tir (mm)	100		150	
Temps de tir (s)	30	15	30	30
Avec ou sans refroidissement	avec	sans	avec	avec

2.2. Conditions de culture et préparation des suspensions microbiennes

Les propriétés antimicrobiennes des dépôts de cuivre ont été évaluées vis-à-vis de 4 souches bactériennes : *E. coli*, *S. epidermis*, *E. faecalis*, *B. subtilis*. Les souches étudiées sont cultivées à partir d'une colonie mise en culture dans un milieu « Tryptic Soya Broth » (TSB, Merck KGaA Laboratoire). La pré-culture est ensuite incubée pendant une nuit à 37°C sous une agitation à 120 rpm. Les bactéries sont prélevées en phase stationnaire de croissance.

2.3. Evaluation des propriétés antimicrobiennes des dépôts de cuivre

Un protocole de type « test de contact » a été mis en œuvre pour déterminer qualitativement et quantitativement l'efficacité bactéricide des surfaces de cuivre déposées par projection thermique.

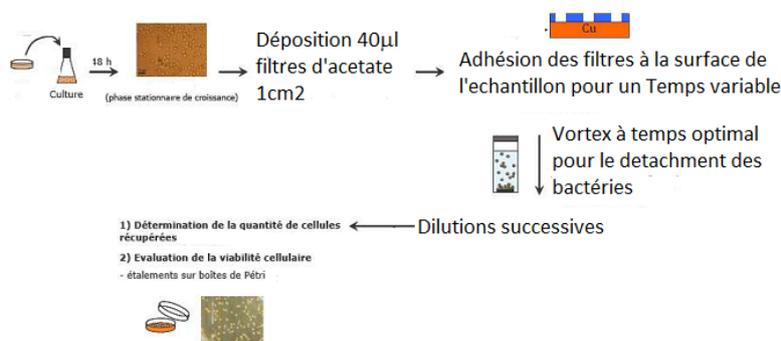


Fig.1. Protocole du test d'évaluation des propriétés biocides des dépôts de cuivre

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. Influence de la technique de projection sur la composition du dépôt de cuivre

Le taux d'oxydation du substrat a été caractérisé par diffraction des rayons X (DRX) et la microstructure du dépôt à l'aide d'un Microscope Electronique à Balayage (MEB). L'observation microscopique des différents dépôts réalisés a permis de montrer qu'ils étaient continus. La caractérisation en DRX a mis en évidence des différences au niveau de la composition chimique de ces dépôts en fonction de la technique de projection utilisée. Sur les dépôts obtenus par projection arc-fil, de l'oxyde de cuivre est détecté alors qu'en projection plasma il est absent.

3.2. Comparaison des propriétés antimicrobiennes des dépôts de cuivre en fonction de la technique de projection

Les propriétés bactéricides des dépôts de cuivre ont été comparées en fonction de la technique de projection : plasma et arc-fil (Figure 2.)

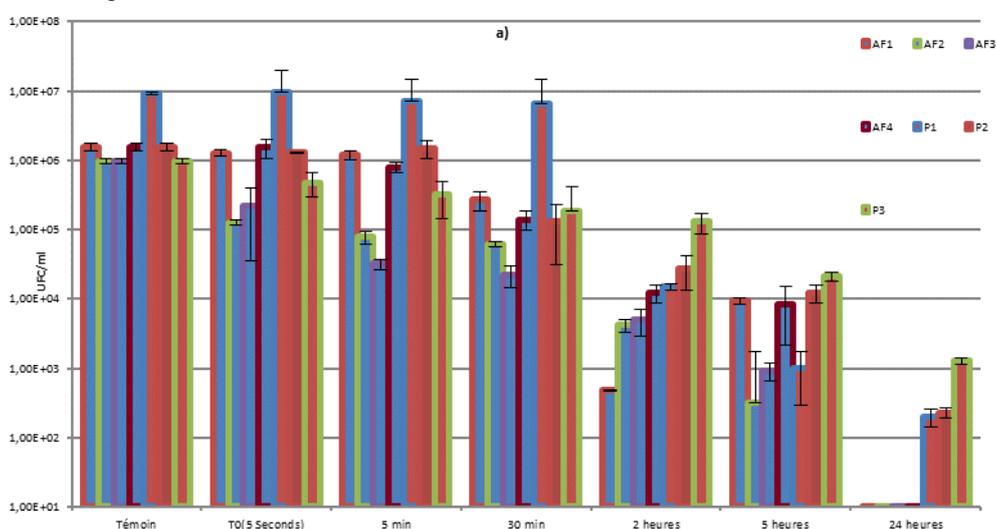


Figure 2. Evolution de la concentration bactérienne (UFC/ml) d'*E.coli* (A) après différents temps de contact sur film de cuivre déposé par les deux techniques de projection testées.

Les résultats montrent des différences significatives des taux d'abattement d'*E.coli* en fonction de la technique de dépôt utilisée. Cette tendance est également observée pour les autres souches bactériennes testées : *S. epidermis*, *E. faecalis*, *B. subtilis* (données non montrées). Dans le cas de la projection arc-fil la souche d'*E.Coli* est totalement inactivée après 24h de contact avec le dépôt. Cette même souche, déposée dans des conditions identiques sur un échantillon de cuivre projeté par projection plasma est toujours présente à une concentration variant de 2×10^2 UFC/ml à 1.3×10^3 UFC/ml. Des différences apparaissent également dans le cas des souches *S.epidermis* et *B.subtilis* au-delà de 2h de contact avec les dépôts. Là encore, l'activité bactéricide du cuivre déposé par arc-fil apparaît supérieure à celui déposé par plasma. Enfin, même si elle est moins nette, la même tendance est mise en évidence dans le cas de la souche d'*E.faecalis* à partir de 2h de contact.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature [1] [2] Plusieurs auteurs ont montré que le stress oxydatif généré par les ions cuivre est une part importante dans le phénomène de mort cellulaire induit par le cuivre même si ceci ne peut être l'explication complète du mécanisme bactéricide [1] [2]. Le cuivre a comme capacité de donner ou de recevoir des électrons. Grâce à cela, il peut se changer en différents états d'oxydation entre Cu^+ et Cu^{2+} (respectivement Cu(I) et Cu(II)). Ceci permet au cuivre d'agir en catalyseur dans la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme les radicaux hydroxyl ($\text{OH}\cdot$) et les anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$). Ces ROS ont la capacité de causer des dommages oxydatifs à des constituants vitaux des cellules comme les protéines, les acides nucléiques (la cystéine par exemple) et les lipides (notamment ceux des membranes cellulaires).

4. CONCLUSIONS

Cette étude s'intéresse à la mise en œuvre du cuivre, dont les propriétés antimicrobiennes sont aujourd'hui reconnues, sous forme d'un revêtement de quelques centaines de micromètres qui recouvre la surface d'objets ou d'éléments de construction en bois ou en panneaux dérivés du bois utilisés en intérieur et à destination des lieux qui reçoivent du public. Plus précisément l'objectif de ce travail était d'évaluer les propriétés bactéricides de tels revêtements.

Les projections thermiques ont été réalisées sur substrat bois. Deux techniques de projection ont été utilisées : le plasma et l'arc-fil. Sur les dépôts obtenus par projection arc-fil, de l'oxyde de cuivre est détecté alors qu'en projection plasma il est absent. Ces observations ont pu être corrélées avec les résultats microbiologiques. Les dépôts obtenus après projection plasma, sans oxyde de cuivre présentent des propriétés bactéricides moins importantes.

Dans la suite de ces travaux, il serait intéressant de tester également les propriétés antifongiques de ces revêtements. Dans l'optique d'applications futures, des tests de vieillissement pourraient être envisagés afin d'évaluer le niveau d'oxydation au cours du temps.

RÉFÉRENCES

- [1] Elguindi Jutta et all. Metallic copper corrosion rates, moisture content, and growth medium influence survival of copper ion-resistant bacteria. . In: APPLIED MICROBIOLOGY BIOTECHNOLOGY. Springer, 2010, ISBN: 89:1963–1970.
- [2]. Espirito Santo, C., N. Taudte, D. H. Nies, and G. Grass.. Contribution of copper ion resistance to survival of Escherichia coli on metallic copper surfaces. In: Appl. Environ. Microbiol. 2008 ISBN: 74:977–986. Buzdugan, Gh., Izolarea antivibratorie, Ed. Academiei Romane, Bucuresti, 1993.