

UNIVERSITÉ D'ORLÉANS

ÉCOLE DOCTORALE Énergie, Matériaux, Sciences de la Terre et de l'Univers

Laboratoire GREMI

**THÈSE** présentée par :

**Amaury ROUILLARD**

soutenue le : 19/11/2025

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : Physique. Physique des Plasmas

**Étude des potentialités des jets plasma  
pour le traitement de souches bactériennes  
(multirésistantes) dans les conditions  
terrestres et spatiales**

**THÈSE dirigée par :**  
**M. ROBERT Eric**

Directeur de recherche, CNRS-GREMI

**RAPPORTEURS :**  
**Mme GOLZIO Muriel**  
**M. MERBAHI Nofel**

Directrice de recherche, Université de Toulouse-IPBS  
Professeur des Universités, Université de Toulouse-  
LAPLACE

**JURY :**

**M. BAUZIN Jean-Gabriel**

Professeur des Universités, Université Paris Nanterre  
(Président du jury)

**Mme GAUQUELIN-KOCH Guillemette**

Docteur d'état, CNES

**M. MAHO Thomas**

Ingénieur de recherche, INU Champollion-DPHE

**M. ESCOT BOCANEGRA Pablo**

Maître de conférences, Université d'Orléans-GREMI (co  
encadrant)

**Mme BRULE MORABITO Fabienne**

Maître de conférences, Université d'Orléans, LI<sup>2</sup>RSO-ART  
ARN (co-encadrante)

**Invités :**

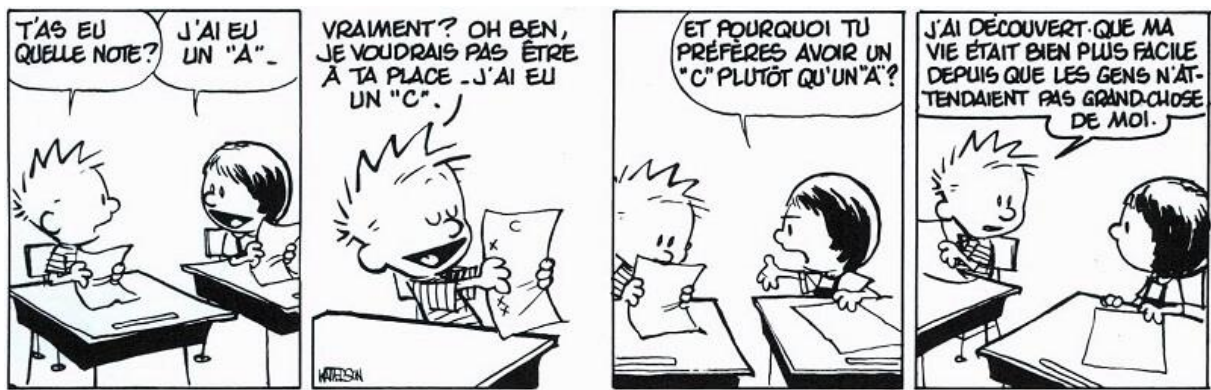
**Mme DEMASURE Maryvonne**

Cheffe du Service de Prévention du Risque Infectieux, CHUO

**M. STANCAMPIANO Augusto**

Chargé de recherche, CNRS-GREMI (co-encadrant)





Bill Waterson



# Remerciement

Maintenant que la thèse a été défendue et que ça s'est *a priori* bien passé (dans le cas contraire, je n'écrirais pas ces quelques lignes), il est venu le temps de remercier les gens qui ont joué un rôle ou m'ont entouré au cours de ces trois ans et demi de travaux de thèse, mais quatre ans et demi de recherches sur le sujet. Aussi, si vous lisez ce manuscrit (et je pense que vous n'êtes pas beaucoup), vous noterez que je ne suis pas très doué pour faire des remerciements et que ce « chapitre » est moins « formalisé » que les suivants, et que certaines fautes d'orthographe et de grammaire se sont glissées (← ici par exemple), en l'honneur de toutes celles qui ont été supprimées du manuscrit final (reposez en paix).

Tout d'abord, je souhaite adresser mes sincères remerciements aux rapporteurs ainsi qu'aux membres et invités du jury pour avoir accepté d'évaluer ces travaux de thèse et d'avoir été présents lors de la soutenance. Je remercie tout particulièrement le Dr Muriel GOLZIO et le Dr Nofel MERBAHI d'avoir accepté de rapporter ma thèse, ainsi que pour les échanges enrichissants que nous avons eus, notamment lors des GDR HAPPYBIO. Je remercie également le Dr Jean-Gabriel BAUZIN pour avoir présidé le jury, mais aussi pour avoir été un collègue expérimentateur particulièrement sympathique lors d'une campagne de vol parabolique. Mes remerciements vont aussi au Dr Guillemette GAUQUELIN-KOCH pour sa présence lors de ma soutenance et pour avoir donné sa chance au projet SAFE, sans lequel cette thèse n'aurait pas vu le jour en cet état. Enfin, je remercie le Dr Thomas MAHO d'avoir accepté de faire partie du jury ainsi que du CSI : de m'avoir suivi et conseillé tout au long de ma thèse.

Ensuite, il me faut ÉVIDEMMENT ! Évidemment ! de remercier l'équipe sans qui tous les résultats présentés et les élucubrations actuelles n'auraient pas lieu d'être. Mais commençons par le commencement, voulez-vous. Depuis tout petit, je voue une légère admiration pour Batman, héros peu connu de la sphère publique mais ayant un petit succès chez les lecteurs aguerris. Ma vie a donc toujours été subtilement guidée par le projet de devenir moi-même un super-héros. Mais, ayant la chance d'avoir mes parents en vie, ce projet était compromis dès le commencement. Je me contentai donc d'être une personne normale et relativement assidue en cours (sauf histoire et français, ça va de soi). Quand tout à coup, une proposition de stage sauvage apparut dont les termes principaux étaient : micropesanteur, plasma gun (== superpouvoir). N'étant expert ni en l'un ni en l'autre, je postule. Le premier remerciement va donc à Pablo ESCOT BOCANEGRA, qui, malgré ce manque d'expertise flagrant, m'a permis de découvrir le monde incroyable des plasmas. À la suite de ce stage, le soutien et la confiance de Pablo, mais aussi d'Eric ROBERT, m'ont permis de continuer à travailler au laboratoire du GREMI. J'ai alors pu y faire la rencontre du tout jeune permanent Augusto STANCAMPIANO et du moins jeune permanent (selon sa carte d'identité seulement) Jean-Michel POUVESLE. Je ne sais pas comment formuler correctement tout ce que je leur dois et les remerciements qui en découlent, alors je vais juste dire merci. Merci de m'avoir fait confiance, pour m'avoir appris tant de choses et pour m'avoir soutenu tout au long de ces travaux. Merci de m'avoir donné tant d'opportunités : que ce soit par l'autonomie que vous m'accordiez, par les expériences effectuées (vols paraboliques (ça claque), station météo, MEB, dans un restaurant, ...) et pour m'avoir incité à présenter mes travaux dans de multiples conférences, notamment internationales (je n'ai jamais autant voyagé). Merci pour tout.

La touche de féminité cruciale à toute super équipe qui se respecte fut incarnée par Fabienne BRULÉ MORABITO. Encore une fois, que dire ?! Merci pour tout. Merci pour tout ce que tu m’as appris en biologie (ayant abandonné la SVT au collège car pas intéressante... je me suis trompé). Merci pour la bonne humeur. Merci pour les matins passés sous la hotte avant les vols. Merci pour le livre souvenir que je chérirai longtemps.

Enfin, que serait une équipe sans les petites mains dans l’ombre, sans qui aucun dispositif et bâti expérimental ne seraient fonctionnels (même si ça ne l’est pas toujours, ahah). Je souhaite donc remercier Julien LEMAIRE, mécanicien de génie, qui nous a toujours permis d’apporter des modifications techniques exigeantes au bâti, à temps pour les campagnes et dans un état impeccable. En plus, on est nés le même jour (rien à voir). Et que dire de l’énorme... travail de Sébastien DOZIAS, sans qui aucune alimentation électrique ou système ne seraient fonctionnels.

Merci à cette équipe pour tous les souvenirs, qu’ils soient professionnels ou moins professionnels (comme le karaoké au Japon), ou juste des moments humains et d’amitié.

Je tiens également à remercier les autres membres du laboratoire que j’ai rencontrés, avec qui j’ai partagé de bons moments, et en particulier Corinne DELHAYE et Sylvie JAUFFRION, qui ont été extrêmement patientes avec moi pour tout l’aspect administratif, plus complexe sur certains aspects que ce que j’ai fait au cours de cette thèse.

Malheureusement, même le fait de faire des expériences en micropesanteur avec un dispositif nommé le « Plasma Gun » et la présence de bactéries résistantes n’aura pas suffi à me donner des superpouvoirs (mais ce ne fut pas une perte de temps pour autant). Ma quête ne fait donc que commencer...

Ces travaux de thèse auraient été sérieusement amputés sans le suivi et l’expertise de l’agence NOVESPACE, et en particulier sans l’aide précieuse de Thomas VILLATTE. Merci pour ta patience et ta gentillesse. Plus généralement, je remercie l’ensemble des membres de NOVESPACE pour la très bonne ambiance qui régnait dans les locaux durant les semaines de campagne. Malgré la présence de groupes de recherche éminemment pointus, ainsi que le stress et la pression liés à ces expériences particulièrement exigeantes et fragiles, tout s’y transformait en une atmosphère agréable et familiale.

Si vous avez le courage de lire ce manuscrit, vous verrez qu’une part non négligeable des expériences a été réalisée au CHU d’Orléans, au SPRI. Je tiens donc à adresser mes sincères remerciements au Dr Maryvonne DEMASURE et à Valérie GORIN pour leur supervision, ainsi qu’à l’ensemble du personnel du SPRI, et tout particulièrement à Aurélie VAILLANT et Marine LAURENT, qui m’ont chaleureusement accueilli au sein de leur laboratoire. Travailler au SPRI a été une expérience très agréable et, même si j’étais parfois peu loquace lors des pauses café, il était appréciable de changer d’environnement et de découvrir un autre monde.

Les copains.

Tout d’abord, je pense que la thèse aurait eu un goût différent si les deux premières années ne s’étaient pas déroulées avec Alex à mes côtés dans notre bureau. Je ne pourrais pas décrire ce qu’il se passait quand on avait le cerveau liquide tard le soir, ou même quand nous étions

normaux, sinon un mélange de rires, de soupe à la tomate et, des fois, de réflexions scientifiques intenses. Sur un ton plus calme et moins extravagant, merci à Alexandre, Diego et Rémi pour les nombreuses pauses thé, sérieuses et moins sérieuses. Merci aux anciens collègues d'école d'ingénieur qui ont eu le « bonheur » de faire une thèse sur le même campus et avec qui j'ai pu partager de très bons moments : que ce soit pour évacuer, pour réfléchir, mais surtout pour la pétanque, la gamecube, les moments débiles, les fléchettes et la fête. Merci à Tocquer, Marin (capitaine), Jack, Ernesto, Willy, et bien d'autres. Un merci tout particulier à Gaëtan (aka Gino), avec qui on s'est suivi en stage et durant nos années de thèse et qui, surtout, m'a donné un pantalon que j'ai porté pour la majorité de mes présentations. Malheureusement, il n'aura pas duré jusqu'à ma défense. Enfin, merci au JAS, à ses coachs (Coach, Henri et Nicoach) et aux joueurs, de m'avoir accueilli dans l'équipe, de m'avoir fait jouer malgré ma présence quelque peu irrégulière et de m'avoir permis de me défouler (au prix de quelques blessures).

Enfin, merci aux amis de toujours et à ma famille qui, bien qu'habitué à ma « discrétion », ont continué de me soutenir et d'être présents, bien que je ne le fusse que très peu. Merci à Sulpice (finalement, il m'a remplacé, il va se marier bientôt, c'est fou non ?!), Paul, Nathan et bien d'autres. Merci à mes parents, qui m'ont conçu avec les frangins, et à mes grands-parents, qui ont conçu mes parents. Je suis assez fier de qui je suis, et c'est grâce à vous tous.

Pour terminer, il ne peut en rester qu'une. Je tiens donc à remercier publiquement, aux yeux des sept personnes qui liront ce manuscrit, Marie (c'est ma dulcinée, elle est trop belle). Merci pour tout, merci pour ta compagnie de tous les jours, merci pour les gestes, les moments de bonheur, merci pour ta patience. Et merci pour Jake ! (c'est notre beauceron, il est trop beau.) Je ne sais pas qui est le plus heureux, entre lui et nous, d'être ensemble.

Bien joué, vous avez fini ce « chapitre ». Malheureusement pour vous, ce n'était que l'amuse-bouche et le véritable manuscrit ne fait que commencer. MOUAHAHAH. J'exagère un peu mais, même si je suis content d'avoir fini (surtout la rédaction, une horreur, beurk !), au final je suis plutôt fier du travail accompli et je me suis pas mal amusé, comme vous avez pu le lire.

Sur ce, bonne lecture, je pars me reposer et passer du temps avec les copains et la famille, y a que ça de vrai (avec le fromage).



# Sommaire

|                                                                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Liste des tableaux .....                                                                                                             | 9         |
| Acronymes.....                                                                                                                       | 10        |
| <b>Chapitre 1 Etat de l'art .....</b>                                                                                                | <b>16</b> |
| 1.1 Enjeux de la décontamination .....                                                                                               | 16        |
| 1.1.1 Définitions et normes des procédés d'inactivation de micro-organismes :<br>décontamination, désinfection et stérilisation..... | 16        |
| 1.1.2 Présentation des bactéries utilisées au cours de cette thèse.....                                                              | 18        |
| 1.2 Enjeux de la décontamination lors de mission spatiale .....                                                                      | 22        |
| 1.3 Jets de plasma froid à pression atmosphérique .....                                                                              | 22        |
| 1.3.1 Définition et classification des plasmas .....                                                                                 | 22        |
| 1.3.2 Système de génération de décharge à la pression atmosphérique .....                                                            | 25        |
| 1.3.3 Jets plasma .....                                                                                                              | 27        |
| 1.3.4 Plasma en apesanteur .....                                                                                                     | 28        |
| 1.4 Applications du plasma froid à pression atmosphérique en décontamination .....                                                   | 29        |
| 1.4.1 Domaines d'applications des décharges à barrière diélectrique .....                                                            | 30        |
| 1.4.2 Principes d'action antimicrobienne des plasmas à pression atmosphérique.....                                                   | 33        |
| <b>Chapitre 2 Matériels et méthodes .....</b>                                                                                        | <b>35</b> |
| 2.1 Présentation du jet plasma ou Plasma Gun .....                                                                                   | 35        |
| 2.1.1 Réacteur.....                                                                                                                  | 35        |
| 2.1.2 Alimentation électrique du PG .....                                                                                            | 35        |
| 2.2 Caractérisation du Plasma .....                                                                                                  | 37        |
| 2.2.1 Mesures de tensions et de courants .....                                                                                       | 37        |
| 2.2.2 Présentation et caractéristiques des diagnostics optiques .....                                                                | 38        |
| 2.2.3 Présentation et caractéristiques des diagnostics thermiques .....                                                              | 40        |
| 2.2.4 Diagnostics pour l'identification et la distribution des espèces.....                                                          | 40        |
| 2.3 Expériences SAFE: plaSma gun therApy under zero-gravity parabolic Flight conditions<br>Experiments .....                         | 41        |
| 2.3.1 Vols paraboliques .....                                                                                                        | 41        |
| 2.3.2 Bâtis expérimentaux .....                                                                                                      | 43        |
| 2.3.3 Dispositif 1 : Plasma Gun .....                                                                                                | 44        |
| 2.3.4 Dispositif 2 : Circuit gaz .....                                                                                               | 45        |
| 2.3.5 Dispositif 3 : Diagnostics.....                                                                                                | 45        |
| 2.3.6 Dispositif 4 : contrôle / Acquisition .....                                                                                    | 47        |
| 2.3.7 Conditions de pression réduite.....                                                                                            | 47        |
| 2.4 Bactéries.....                                                                                                                   | 47        |

|                   |                                                                                                                                           |           |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.4.1             | Souches.....                                                                                                                              | 47        |
| 2.4.2             | Dispositif expérimental utilisé au Centre Hospitalier Universitaire d'Orléans (CHUO)...                                                   | 48        |
| 2.4.3             | Milieux de culture.....                                                                                                                   | 48        |
| 2.4.4             | Protocole culture et d'ensemencement de boîte de Pétri.....                                                                               | 48        |
| 2.4.5             | Mesure de la densité Bactérienne par densité optique (OD) .....                                                                           | 48        |
| 2.4.6             | Calibration phase de croissance .....                                                                                                     | 49        |
| 2.4.7             | Analyse qualitative de la surface d'inhibition .....                                                                                      | 49        |
| 2.4.8             | Inoculation et évaluation de l'efficacité bactéricide du traitement plasma d'un tube d'endoscopie.....                                    | 51        |
| 2.4.9             | Imagerie de Microscopie Electronique à Balayage (MEB).....                                                                                | 52        |
| <b>Chapitre 3</b> | <b>Caractérisation du Plasma Gun en conditions terrestres et spatiales .....</b>                                                          | <b>55</b> |
| 3.1               | Etude et caractérisation fondamentale du comportement de la plume plasma dans des conditions terrestres et spatiales .....                | 55        |
| 3.2               | Etude des espèces créées dans la plume plasma par spectroscopie d'émission .....                                                          | 65        |
| 3.3               | Etude de la propagation du plasma dans un tube dans le cadre de traitement dynamique                                                      | 68        |
| 3.4               | Caractérisation Electrique et Thermique du Plasma Gun .....                                                                               | 71        |
| 3.4.1             | Mesure de la répartition de puissance dans le couple Plasma-Cible .....                                                                   | 72        |
| 3.4.2             | Mesures des variations thermiques de la surface de la cible induite par un traitement plasma                                              | 75        |
| 3.5               | Conclusion du chapitre 3 et discussion .....                                                                                              | 78        |
| <b>Chapitre 4</b> | <b>Etude de l'efficacité du Plasma Gun pour l'inactivation de bactéries non-pathogènes et multi-résistantes en 1g et 0g .....</b>         | <b>81</b> |
| 4.1               | Traitement de bactéries non pathogènes pour différentes configurations du Plasma Gun et différentes phases de croissance bactérienne..... | 81        |
| 4.1.1             | Contrôles bactériologiques selon les conditions expérimentales .....                                                                      | 81        |
| 4.1.2             | Etude du potentiel bactéricide du PG pour différentes conditions environnementales en traitement statique.....                            | 83        |
| 4.1.3             | Etude du potentiel bactéricide du plasma gun en fonction de la phase de croissance bactérienne.....                                       | 87        |
| 4.1.4             | Etude de traitements fractionnés .....                                                                                                    | 89        |
| 4.2               | Augmentation de la surface traitée par plasma par traitement dynamique .....                                                              | 90        |
| 4.3               | Analyse des composantes du plasma ayant un potentiel bactéricide .....                                                                    | 95        |
| 4.3.1             | Stress thermique induit par le plasma (He pur) .....                                                                                      | 95        |
| 4.3.2             | Visualisation de la zone d'interface plasma-cible .....                                                                                   | 98        |
| 4.3.3             | Distribution spatiale des espèces.....                                                                                                    | 99        |
| 4.3.4             | Application potentielle : Scan de surface pour une zone d'inactivation plus grande...                                                     | 102       |
| 4.3.5             | Imagerie de microscopie électronique à balayage de la morphologie de bactéries traitées par plasma .....                                  | 103       |

|                                                                                                                                              |                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.4                                                                                                                                          | Etude exploratoire : décontamination préventive de tubes d'endoscopie..... | 107 |
| 4.5                                                                                                                                          | Preuve de concept : Traitement de bactéries multirésistantes .....         | 110 |
| 4.6                                                                                                                                          | Conclusion du chapitre 4 .....                                             | 114 |
| <b>Conclusion</b> .....                                                                                                                      |                                                                            | 117 |
| <b>ANNEXES</b> .....                                                                                                                         |                                                                            | 122 |
| Annexe-A : Mesure de champs électromagnétique de l'alimentation du PG .....                                                                  |                                                                            | 122 |
| Annexe-B: Mechanical-form SAFE6 .....                                                                                                        |                                                                            | 123 |
| Annexe-C: Traitement d'une géloseensemencée .....                                                                                            |                                                                            | 124 |
| Annexe-D: Tableau récapitulatif des acquisitions ICCD filtrées en fonction du filtre (transition observée) et de la configuration du PG..... |                                                                            | 125 |
| Annexe-E : Dégradation de plasmides par traitement plasma.....                                                                               |                                                                            | 126 |
| Bibliographie.....                                                                                                                           |                                                                            | 127 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1: Structure cellulaire de Escherichia coli, issue de [35].....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 20 |
| Figure 2: Courbes de Paschen : Tension minimale (tension de claquage, en V) requise pour obtenir une décharge plasma en fonction du produit de la pression du gaz 'p' et de la distance inter-électrode 'd' (en cm.torr) (issue de [58]) .....                                                                                                                                                                                                                                       | 23 |
| Figure 3: Configurations DBD couramment utilisées en plasma-médecine : a) DBD de surface, b) DBD de volume, c) DBD à électrode flottante, d) jet plasma DBD (Plasma Gun) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 26 |
| Figure 4: Domaines d'applications des plasma froids à pression atmosphérique (DBD et Jets plasma) dans le cadre de la désinfection, issue de [93]. .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 31 |
| Figure 5: a) Schéma du réacteur du Plasma Gun, b) Plasma Gun en fonctionnement .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 35 |
| Figure 6: Exemple de profils de tension a) et de courant b) mesurés à la sortie haute tension de l'alimentation électrique. Montage de mesure présenté en partie 2.2.1.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 36 |
| Figure 7: Interface utilisateur du logiciel de contrôle du générateur du plasma gun. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 37 |
| Figure 8: Répétition du cycle de travail contrôlé par le logiciel de control de l'alimentation du plasma gun. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 37 |
| Figure 9: Montage expérimental des mesures électriques .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 38 |
| Figure 10: Déclenchement et visualisation de l'ouverture du capteur de la camera ICCD par l'alimentation du Plasma Gun.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 39 |
| Figure 11: Schéma explicatif d'un montage Schlieren. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 40 |
| Figure 12: Gélose d'iodure de potassium-amidon réagissant à des espèces oxydantes (peroxyde d'hydrogène).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 41 |
| Figure 13: Exemple de trajectoire parabolique et ses différentes phases de pesanteur. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 42 |
| Figure 14: Exemple du profil de l'accélération subie dans l'avion pendant une parabole .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 42 |
| Figure 15: Bâtis expérimentaux. a) Bâti principal (PG, diagnostics et contrôle). b) Bâti secondaire (fixation bouteille de gaz). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 43 |
| Figure 16: Placement du réacteur plasma dans le bâti expérimental .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 44 |
| Figure 17: Dispositif 2 du bâti expérimental : circuit gaz. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 45 |
| Figure 18: Evolution de la disposition des diagnostics au cours des campagnes de vols paraboliques. a) Photo du montage des diagnostics optiques, b) Schéma du montage des diagnostics optiques de la campagne 1 .c) Schéma du montage des diagnostics optiques des campagnes 2,3,4,5, d) Schéma du montage des diagnostics optiques de la campagne 6. (SL=source lumineuse, L=lentille, PP=plume plasma, L <sub>o</sub> =longueur chemin optique, R=lame de rasoir, M=miroir) ..... | 46 |
| Figure 19: Courbe de croissance E.coli et ses différentes phases.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 49 |
| Figure 20: Photographies de boîtes de Pétriensemencée. a) Contrôle. b) Traitée avec le résultat du traitement numérique de l'image par un programme Matlab® pour mesurer la zone traitée (coin droit). ....                                                                                                                                                                                                                                                                          | 50 |
| Figure 21: Protocole de récupération dans le cas de traitement de tube d'endoscopieensemencé ..                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 51 |
| Figure 22: Analyse par le temps de début de croissance (TDC). a) TDC en fonction de la concentration initiale de la solution. b) Calibration de la réduction logarithmique relative en fonction du TDC relatif. ....                                                                                                                                                                                                                                                                 | 52 |
| Figure 23: Caractérisation du comportement de la plume plasma (7kV 20kHz, 1L.min <sup>-1</sup> ) par imagerie video conventionnelle (Canon 6D 50ips) en fonction de l'orientation du réacteur. a) horizontale, b) verticale vers le bas, c) verticale vers le haut. ....                                                                                                                                                                                                             | 56 |
| Figure 24: Position de l'extrémité de la plume de plasma (7kV 20kHz, 1L.min <sup>-1</sup> ) déterminée par traitement vidéo (250 images pour une durée de 10 secondes) en fonction de l'orientation du réacteur (noir = horizontale, bleu = verticale bas, rouge = verticale haut). ....                                                                                                                                                                                             | 57 |
| Figure 25: Caractérisation du comportement de la plume plasma ( 7kV 20kHz, 1L.min <sup>-1</sup> ) par imagerie video conventionnelle (Canon 6D 50ips) en fonction de la condition environnementale pour une orientation du réacteur horizontale. a) 1g, b) 0g, c) positions de l'extrémité de la plume. ....                                                                                                                                                                         | 58 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 26: Imagerie Schlieren d'un flux de gaz et de plasma dans des conditions terrestres (1g) à pression atmosphérique et pression réduite (0,85 atm) et d'apesanteur (0g) (500 ips). (Pointillés rouges = début des grandes instabilités, pointillés jaunes = angle d'ouverture du flux) .....                                                                                                                                                                                                                       | 59 |
| Figure 27: Comportement de la plume plasma (7kV, 20kHz) en fonction de la concentration de dioxygène dans le gaz plasmagène et des conditions environnementales (1g, 1g pression réduite et 0g). Les photos présentées sont les images moyennes de vidéos de 5 secondes et ont été modifiées pour une meilleure visibilité (luminosité + 40%, contraste + 20%).....                                                                                                                                                     | 61 |
| Figure 28: Acquisitions ICCD (temps d'exposition de 10 $\mu$ s) pour la configuration He +7kV 20kHz pour les différentes conditions environnementales (1g 1atm, 1g 0,8atm et 0g 0,8atm). a) image sur une acquisition unique (10 $\mu$ s) . b) image moyenne de 30 acquisitions.....                                                                                                                                                                                                                                    | 62 |
| Figure 29: Superposition des acquisitions Schlieren et ICCD pour la configuration He +7kV 20kHz en 1g et 0g.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 64 |
| Figure 30: Propagation du plasma en fonction de différentes configurations du PG : concentration de dioxygène (0% et 1%) et polarité (+7kv et - 7kv); et des conditions environnementales (1g, 1g pression réduite et 0g). Acquisitions ICCD moyennées (temps d'exposition de 10 $\mu$ s, 30 acquisitions)).....                                                                                                                                                                                                        | 64 |
| Figure 31: Spectroscopie d'émission pour un plasma d'He (7kV, 20kHz) comparé à un plasma He + 1%O <sub>2</sub> (7kV, 20kHz), traitant une gélose (15mm). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 66 |
| Figure 32: Mesures d'ozone pour différentes concentrations de dioxygène (0, 0.5, 1 et 2%) à 2mm de la sortie du réacteur (7kV 20kHz 1 L.min <sup>-1</sup> ) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 67 |
| Figure 33: Propagation du plasma dans un tube d'endoscopie pour différentes configurations du PG.<br>a) Photo de la propagation du plasma dans le tube d'endoscopie (14kV, 1kHz, 1L.min <sup>-1</sup> , b) Longueur de propagation du plasma en fonction de la tension pour différentes fréquences (0,1; 1 et 20 kHz), c) Longueur de propagation du plasma en fonction du débit de gaz, d) Longueur de propagation du plasma en fonction de la tension pour différents mélange (0%; 0,5% et 1% O <sub>2</sub> ). ..... | 69 |
| Figure 34: Analyse du spectre d'émission d'un plasma d'hélium dans sa plume comparé à dans un tube d'endoscopie (He 9kV 20kHz 1L.min <sup>-1</sup> ).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 70 |
| Figure 35: Analyse du spectre d'émission d'un plasma d'hélium dans un tube d'endoscopie (He 1slm 9kV 20kHz) et d' un plasma de mélange hélium-dioxygène (He + 1%O <sub>2</sub> 1slm 9kV 20kHz).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 71 |
| Figure 36: Allures temporelles de la tension (en noir ) et de courant (en rouge ) d'une décharge plasma mesurées en sortie d'alimentation en 1g. Le tableau indique les puissances consommées par le PG pour les différentes conditions environnementales pour la configuration du PG He 1L.min <sup>-1</sup> 7kV 20kHz. ....                                                                                                                                                                                           | 72 |
| Figure 37: Profils des courants mesurées au niveau de la cible (Conductrice, gélose et diélectrique) comparé au courant mesuré en sortie d'alimentation durant un traitement de PG (He 9kV 20kHz) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 73 |
| Figure 38: Diagramme des puissances mesurées à différentes bornes du circuit PG-Cible (haute-tension, masse et masse de la cible), pour différentes cibles (sans, cible conductrice, gélose (10 et 20 kHz)). Configuration du PG (9kV 20kHz 1L.min <sup>-1</sup> ).....                                                                                                                                                                                                                                                 | 74 |
| Figure 39: Mesures de la température de la surface d'une gélose traitée pendant 40 secondes par le PG (7 kV, 20 kHz, 1 L.min <sup>-1</sup> ) par deux caméras : a) caméra thermique basse résolution (photo transmise par la caméra), b) caméra infrarouge haute résolution (image créée après traitement des données transmises par la caméra). ....                                                                                                                                                                   | 76 |
| Figure 40: Mesures de la température de la surface d'une gélose traitée par le PG (7 kV, 20 kHz, 1 L.min <sup>-1</sup> ) par la caméra infrarouge HR et un thermomètre à fibre optique. a) température moyenne en fonction du temps des zones d1, d2, et d3 de la Figure 39.b), b) température maximale en                                                                                                                                                                                                              |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| fonction du temps mesuré par la caméra, c) Comparaison de la température de surface de la gélose mesurée par caméra (moyennée sur d1) et par thermomètre à fibre optique. ....                                                                                                                                                                                                          | 77 |
| Figure 41: Profil des variations de température de la surface de la cible induite par un flux d'hélium ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ ) mesurées pour différentes cibles : gélose (rouge), diélectrique/isolant thermique (polyuréthane)(noir) et conducteur électrique/thermique (acier, $4 \text{ L.min}^{-1}$ )(gris).....                                                                 | 78 |
| Figure 42: Contrôles bactériologiques : a) géloseensemencée non traitée en 0g, b) géloseensemencée traitée par un flux d'hélium en 1g ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ , 5min), c) géloseensemencée traitée par un flux d'hélium en 0g ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ , 5min). ....                                                                                                                   | 81 |
| Figure 43: Contrôles bactériologiques de géloseensemencée après traitement de la gélose par le PG ( $7 \text{ kV}$ , $20 \text{ kHz}$ , $1 \text{ L.min}^{-1}$ , 60s). La x indique la position du PG pendant le traitement. a) géloseensemencée par inondation b) géloseensemencée par stries.....                                                                                     | 82 |
| Figure 44: Comportement de la zone d'inhibition après traitement plasma en fonction de la concentration de dioxygène dans le mélange de gaz : 0%, 0,5% et 1% en conditions de micropesanteur, $+7 \text{ kV}$ , $20 \text{ kHz}$ (cercle bleu = zone d'inactivation, cercle rouge = zone d'effet).83                                                                                    |    |
| Figure 45: Diamètre des zones d'inactivation bactérienne et zone d'effet en fonction de la concentration en dioxygène ( $\text{O}_2$ ), mesuré sous deux conditions expérimentales : en gravité terrestre (1g 1atm, en noir) et en 0g (rouge). Les barres d'erreur représentent l'écart-type des mesures.....                                                                           | 84 |
| Figure 46: Comparaison de l'inactivation bactérienne par traitement plasma à 15mm en fonction des conditions environnementales terrestres à 1atm (noir) et à pression réduite (bleu) et de micropesanteur à pression réduite (rouge) .....                                                                                                                                              | 85 |
| Figure 47: a) Diamètre de la zone d'effet en fonction de la concentration d'oxygène, pour une distance réacteur-cible de 15 mm(noir) et 25 mm (rouge) en conditions de micropesanteur. b) Schéma expliquant le transport des LL-RONS dans les effluents du flux d'hélium, comparé à la plume plasma (cône rose).....                                                                    | 86 |
| Figure 48: Comparaison de la zone d'inactivation bactérienne par traitement plasma à 25mm en fonction des conditions environnementales terrestres à 1atm (noir) et à pression réduite (bleu) et en 0g (rouge). ....                                                                                                                                                                     | 87 |
| Figure 49: Diamètre d'inactivation d'E.coli par traitement PG ( $7 \text{ kV}$ $20 \text{ kHz}$ ) en fonction du mélange $\text{He}/\text{O}_2$ (0% et 1%) et de la phase de croissance de la bactérie (latente et exponentielle). Condition de 1g. (Pointillé vert = courbe de tendance linéaire du diamètre de la zone d'effet). (n=8) .....                                          | 88 |
| Figure 50: Schéma explicatif des traitements fractionnés : $T_c$ = temps de traitement continu, $T_r$ = temps de traitement répété, $d$ = délai entre les répétitions, $T_e$ = temps effectif.....                                                                                                                                                                                      | 89 |
| Figure 51: Comparaisons entre traitement continu et traitement fractionné pour deux configurations du PG ( $7 \text{ kV}$ , $20 \text{ kHz}$ , $1 \text{ L.min}^{-1}$ ) : a) Hélium pur ( $T_r=5 \text{ s}$ , $d=5 \text{ min}$ ), b) Helium+1% $\text{O}_2$ ( $T_r=10 \text{ s}$ , $d=5 \text{ min}$ ). ....                                                                           | 90 |
| Figure 52: Comparaison des inactivations obtenues par traitement dynamique pour différentes vitesses de balayage : cible en mouvement (gauche), réacteur en mouvement (droite) ( $4.5 \text{ kV}$ $20 \text{ kHz}$ $1 \text{ L.min}^{-1}$ ).....                                                                                                                                        | 91 |
| Figure 53: Traitement dynamique d'une gélose pour différentes configurations du PG et différentes vitesses de déplacement (0.5, 1, 2 et $4 \text{ mm.s}^{-1}$ ) : a) He $4,5 \text{ kV}$ $20 \text{ kHz}$ $1 \text{ L.min}^{-1}$ , b) He $7 \text{ kV}$ $20 \text{ kHz}$ $1 \text{ L.min}^{-1}$ , c) He+1% $\text{O}_2$ $4,5 \text{ kV}$ $20 \text{ kHz}$ $1 \text{ L.min}^{-1}$ . .... | 91 |
| Figure 54: Largeur d'inactivation en fonction du nombre d'impulsions par unité de longueur de longueur balayée, pour différentes fréquences du PG (10 et 20 kHz). ....                                                                                                                                                                                                                  | 93 |
| Figure 55: Traitement dynamique multipassage pour différentes vitesses de balayage (de 1 à $8 \text{ mm.s}^{-1}$ ) pour un temps effectif de 1s par millimètre : a) PG $4,5 \text{ kV}$ $20 \text{ kHz}$ , b) PG $4,5 \text{ kV}$ $10 \text{ kHz}$ , c) graphique des largeurs d'inactivation en fonction du nombre de passages. ....                                                   | 94 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 56: Traitement par balayage en condition terrestre et 0g mettant en évidence la stabilité de la plume en 0g .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 95  |
| Figure 57: Caractérisation thermique d'un traitement plasma dynamique ( $0,5\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , He 6,5kV 20kHz).<br>a) Une image de l'acquisition de la caméra IR, le jet se déplaçant vers la droite. b) Profil de température perpendiculaire à la trajectoire du jet le long de l'axe b-b (diamètre de la zone de température $<40^{\circ}\text{C} = d_{\text{iso}}$ ). c) Profil de température le long de la trajectoire du jet le long de l'axe c-c (rayon majeur= $R_{\text{major}}$ )..... | 96  |
| Figure 58: Imagerie ICCD et analyse de l'interface plasma en expansion sur la cible. a) Imagerie ICCD d'un traitement par jet de plasma à 4,5 kV d'une gélose à une vitesse de balayage de $2\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ . b) Exemples de mesure d'intensité ICCD sur une image à la surface de la cible pour les deux configurations PG à une vitesse de balayage de $2\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ . ....                                                                                                  | 98  |
| Figure 59: acquisitions ICCD couplée avec des filtres optiques pour visualiser la distribution spatiale des espèces en état excité $\text{He}^*(707\text{ nm})$ , $\text{O}^*(777\text{ nm})$ , $\text{N}_2^*(640,656\text{ nm})$ , $\text{OH}^*(309\text{ nm})$ et $\text{NO}^*(200-300\text{ nm})$ , PG (He 4,5kV 20kHz). ....                                                                                                                                                                              | 100 |
| Figure 60: acquisitions ICCD couplée avec des filtres optiques pour visualiser la distribution spatiale des espèces en état excité $\text{He}^*(707\text{ nm})$ , $\text{O}^*(777\text{ nm})$ , $\text{N}_2^*(640,656\text{ nm})$ , $\text{OH}^*(309\text{ nm})$ et $\text{NO}^*(200-300\text{ nm})$ , PG (He+1% $\text{O}_2$ 4,5kV 20kHz).....                                                                                                                                                               | 101 |
| Figure 61: Traitement d'une gélose de KI-starch permettant le dépôt d'espèces oxydantes à la surface de la gélose, pour différentes concentrations de dioxygène (0%, 0,5% et 1%) (4,5kV 20kHz 30s) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 101 |
| Figure 62: a) Distribution spatiale d'ozone (en ppm) à la surface de la cible (à 15 mm de la sortie du réacteur) en fonction de la distance par rapport au centre du jet pour un traitement PG He+1% $\text{O}_2$ (4,5kV 20kHz $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ), b) schéma du montage de mesure. ....                                                                                                                                                                                                        | 102 |
| Figure 63: Comparaison de traitements statiques de 3 min en Hélium pur (7kV 20kHz $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) et Helium-1%dioxygène (7kV 20kHz $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ), avec un traitement dynamique scannant d'une zone de $20*20\text{mm}^2$ à une vitesse de balayage de $2,5\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ (He 4,5kV 20kHz $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) pour un temps total de 3min.....                                                                                               | 103 |
| Figure 64: Observation de la morphologie par imagerie MEB des bactéries suites à différents traitement plasma. a) contrôle, sous flux d'He (60sec), b) et c) Traitement plasma d'He (5.5kV 20kHz 60s) d) Traitement plasma He + 1% $\text{O}_2$ (5.5kV 20kHz 60s). (Protocole de préparation des échantillons MEB_1).....                                                                                                                                                                                     | 104 |
| Figure 65: Imagerie MEB d'E.coli contrôle soumis à un flux He pendant 60s. (Protocole de préparation des échantillons MEB_2).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 105 |
| Figure 66: Imagerie MEB d'E.coli traitées par PG (He 5,5kV 20kHz 60s), pour différents zoom et temps de sublimation : a) après 10 min de sublimation, b) après 20 min de sublimation c) avec 40 min de sublimation en plus. (Verte = « saine », rouge = « détériorée », bleu = « déshydratée »). (Protocole de préparation des échantillons MEB_2).....                                                                                                                                                       | 106 |
| Figure 67: Imagerie MEB d'E.coli traitées par PG He + 1% $\text{O}_2$ (5.5kV 20kHz 60s). (rouge = « détériorée », bleu = « déshydratée »). (Protocole de préparation des échantillons MEB_2). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 107 |
| Figure 68: Différentes configurations du PG étudiées pour la décontamination d'un tube d'endoscopie de 20 cm. ( $20\text{kHz } 1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 108 |
| Figure 69: Courbe de croissances des charges bactériennes collectées à 5 (rouge) et 15 cm (noir) d'un tube d'endoscopie après traitement (15s) en 0g pour différentes configurations du PG. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 109 |
| Figure 70: Réduction logarithmique de la charge bactérienne dans un tube d'endoscopie à 5cm et 15 cm de la sortie du réacteur, pour différentes configurations du PG et un temps de traitement de 15s. (hachure = pas d'exposition direct au plasma) .....                                                                                                                                                                                                                                                    | 109 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 71: Photos de géloses placées en sortie de tube pendant un traitement PG (20 kHz 1L.min <sup>-1</sup> 15s) :                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
| a) géloseensemencée (He + 1.5%O <sub>2</sub> 13kV), b) géloseensemencée (He 11kV), c) gélose nonensemencée.....                                                                                                                                                                                                                                                                             | 110 |
| Figure 72: Inactivation des BMR suite à un traitement du PG 5kV 20kHz 60s pour deux concentrations de dioxygène (0% et 1%). (E.coli productrice de New Delhi Métallo-β-lactamase (ECNDM), Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM), Klebsiella pneumoniae productrice de β-lactamases à spectre étendu (BLSE), Enterococcus faecium résistants à la vancomycine (ERV). ..... | 111 |
| Figure 73: Diamètres des zones d'inactivation et d'effet pour les différentes BMRs en fonction du temps de traitement (30, 60, 90s) et de la concentration d'O <sub>2</sub> (0% noir, 1% rouge) d'alimentation du PG (5kV 20kHz).(n=8) .....                                                                                                                                                | 112 |
| Figure 74: Traitement de mélanges de souches de BMR a) He b) He O <sub>2</sub> . c) traitement phase exponentielle EC SA. ....                                                                                                                                                                                                                                                              | 113 |

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 1 : Niveau d'inactivation et normes des procédés de décontamination, désinfection et stérilisation .....                                                                                 | 16 |
| Tableau 2: Comparatif des avantages et inconvénients des plateformes expérimentales offrant des conditions d'apesantement, adapté de [82].....                                                   | 28 |
| Tableau 3: Spécifications des filtres optiques (longueur d'onde centrale et bande passante) .....                                                                                                | 39 |
| Tableau 4: comparaison de la distance du début des zones d'instabilités et des ramifications (en mm) .....                                                                                       | 63 |
| Tableau 5: Réduction d'émission de certaines espèces excitées OH*, N <sub>2</sub> *, He* et O* suite à l'ajout de 1% de dioxygène dans un plasma d'Hélium (7kV, 20kHz) .....                     | 66 |
| Tableau 6: Puissance consommée par le PG pour différents pourcentages de dioxygène dans les différentes conditions environnementales .....                                                       | 72 |
| Tableau 7: Caractérisation thermique de la gélose pendant un traitement plasma en fonction de la vitesse de déplacement (0,5, 1, 2 et 4 mm·s <sup>-1</sup> ) pour deux configurations du PG..... | 96 |
| Tableau 8: Diamètre de l'interface plasma-cible en fonction de la vitesse de balayage (0.5, 1, 2 et 4 mm·s <sup>-1</sup> ) pour deux configurations du PG.....                                   | 99 |
| Tableau 9: Spécifications des filtres optiques, avec dans la colonne de gauche l'indication des transitions d'espèces excitées associées étudiées. ....                                          | 99 |

## Acronymes

|           |                                                                                 |         |                                                                                  |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------|---------|----------------------------------------------------------------------------------|
| ADN       | Acide désoxyribonucléique                                                       | NDM     | New Delhi Métallo- $\beta$ -lactamases                                           |
| ARN       | Acide ribonucléique                                                             | OD      | Densité Optique (Optical density)                                                |
| BLSE      | Bêta-Lactamases à Spectre Etendu                                                | OMS     | Organisation Mondiale de la Santé                                                |
| BMR       | Bactéries Multi-Résistantes                                                     | PG      | Plasma Gun                                                                       |
| BHRe      | Bactéries Hautement Résistantes émergentes                                      | RNS     | Espèces réactives de l'azote (reactive nitrogen species)                         |
| CHU(O)    | Centre Hospitalier Universitaire (d'Orléans)                                    | RONS    | Espèces réactives de l'oxygène et azote (reactive oxygen and nitrogen species)   |
| CNES      | Centre National d'Etudes Spatiales                                              | ROS     | Espèces réactives de l'oxygène (reactive oxygen species))                        |
| CNRS      | Centre National de Recherche Scientifique                                       | SAFE    | plasma gun therapy under zero-gravity parabolic flight conditions Experiments    |
| DBD       | Décharges à Barrière Diélectrique                                               | SARM    | Staphylococcus aureus résistant à la méticilline                                 |
| ERV       | Entérocoques Résistants à la Vancomycine                                        | SL-RONS | Espèces réactives de l'oxygène et azote à courte durée de vie (Short-Lived RONS) |
| GREMI     | Groupe de recherches sur l'énergétique des milieux ionisés                      | SPRI    | Service de Prévention du Risque Infectieux                                       |
| ICCD      | Dispositif à transfert de charge intensifié (Intensified Charge-Coupled Device) | TDC     | Temps de Début de Croissance                                                     |
| IR        | Infra-Rouge                                                                     | Te      | Température des électrons                                                        |
| ISS       | Station spatiale internationale (International Space Station)                   | Ti      | Température des ions                                                             |
| LL-RONS   | Espèces réactives de l'oxygène et azote à longue durée de vie (Long-Lived RONS) | Tn      | Température des neutres                                                          |
| MACLE-CVL | Microscopie, imageries et ressources analytiques région Centre Val de Loire     | UV      | Ultra-Violet                                                                     |
| MEB       | Microscope Electronique à Balayage                                              | VP      | Vols Paraboliques                                                                |
|           |                                                                                 | VUV     | Ultra-Violet du Vide (Void Ultra-Violet)                                         |

# Introduction

En langage vulgarisé, les plasmas sont décrits comme étant le quatrième état de la matière après l'état gazeux. Il s'agit d'un gaz ionisé qui est neutre électriquement à l'échelle macroscopique (quasi-neutralité). L'ionisation repose sur un apport énergétique (thermique, électrique, ...) important permettant l'arrachement des électrons aux atomes et/ou molécules présents dans le gaz. Le plasma est donc une association d'espèces chargées (électrons, ions) et d'espèces neutres (atomes, molécules et radicaux). Il existe deux grandes familles de plasmas. Dans le cas où toutes les espèces du plasma ont la même température ( $>10^4$  K), le plasma est un plasma à l'équilibre dit thermique (soleil, fusion). Dans un plasma non-équilibré thermiquement (non-thermique), les électrons ayant une faible masse, ont une température importante (de quelques eV soit 10 000-30 000 K) mais transfèrent peu de chaleur tout en assurant l'excitation et l'ionisation des espèces du gaz plasmagène, à la différence des espèces lourdes (ions, atomes, molécules) qui ont une température beaucoup plus basse, autour d'une centaine de degrés. Les plasmas dont les espèces neutres et les ions ont une température de l'ordre de la température ambiante sont aussi appelés plasmas froids.

La possibilité de générer des plasmas à des températures proches de l'ambiante a conduit, depuis une vingtaine d'années, au développement d'applications variées, allant de la dépollution environnementale au traitement de matériaux thermosensibles (polymères, plastiques, etc.) mais également dans les domaines de la biologie et de la médecine. Ces études initiales ont été menées principalement à basse pression [1-3].

Au cours des dernières années, le domaine des plasmas pour la décontamination a été étendu à la pression atmosphérique avec de nouvelles possibilités pour décontaminer des surfaces, des objets mais aussi des tissus biologiques. Les effets bactéricides du plasma froid à pression atmosphérique sont aujourd'hui reconnus [2,4-6] et pourraient constituer une alternative aux approches antibiotiques conventionnelles, confrontées à la problématique croissante de l'antibiorésistance et à la présence résiduelle d'antibiotiques dans les effluents d'eaux usées [7-8]. La décontamination et l'élimination de ces polluants représentent également un champ d'application des plasmas froids à pression atmosphérique.

Du fait de leur composition riche (espèces chimiques, espèces réactives, photons énergétiques, champs électromagnétiques, chaleur modérée), les plasmas peuvent interagir au travers de plusieurs phénomènes physiques et chimiques avec les bactéries. Parmi ces phénomènes, certains jouent le rôle d'agents biologiques actifs, tels que les ultraviolets, les espèces chargées, le champ électrique, et en particulier les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) [6,9-10].

Certaines applications, telles que le traitement de tissus biologiques, nécessitent de travailler à pression atmosphérique, ce qui impose un contrôle strict de la décharge électrique afin d'éviter la transition vers des régimes d'arcs électriques. Les réacteurs à décharge à barrière diélectrique (DBD) et alimentations impulsionnelles ont donc fait l'objet d'études

approfondies, notamment en raison de leurs importants taux de création de RONS [11] pour un plus faible courant de charge. Certaines configurations de DBD (en dehors des DBD générées dans des réacteurs volumiques ou surfaciques) permettent la production de « jets plasma ». Ces jets plasma se caractérisent par la propagation du plasma au sein de capillaires diélectriques, suivie de son émergence en sortie, permettant ainsi l'exposition directe de surfaces à une plume plasma. La forte production d'espèces réactives, la génération d'ions énergétiques ainsi que la présence de champs électriques transitoires intenses permettent une inactivation rapide des bactéries en quelques secondes seulement. Ce délai est nettement plus court que les temps de stérilisation typiquement observés avec les plasmas basse pression, qui sont de l'ordre de plusieurs dizaines de minutes.

Les bactéries multirésistantes (BMR) représentent un défi majeur pour la santé publique, notamment en milieu hospitalier. Ces bactéries ont développé des mécanismes de résistance leur permettant de survivre malgré l'administration d'antibiotiques couramment utilisés. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a classé la résistance aux antimicrobiens parmi les dix principales menaces pour la santé publique mondiale, appelant à une action urgente et coordonnée à l'échelle internationale, cette problématique pouvant causer jusqu'à 10 millions de décès par an d'ici 2050 [12].

La problématique des BMR dépasse le cadre de la santé humaine pour concerner également la santé animale, l'environnement et, plus récemment, les enjeux liés à l'exploration spatiale. Dans ce contexte, la décontamination apparaît comme un défi majeur : elle vise à prévenir la contamination des corps célestes par des micro-organismes terrestres, à éviter la possible introduction sur Terre de formes de vie extraterrestres, à garantir la fiabilité scientifique des analyses en préservant l'intégrité des échantillons et instruments, et à limiter les risques infectieux pour les équipages en milieu confiné. Par ailleurs, il convient de rappeler que les conditions d'apesanteur altèrent divers mécanismes physiologiques fondamentaux, tels que la coagulation et la circulation sanguine, la cicatrisation ou encore l'oxygénation tissulaire, renforçant l'intérêt des plasmas froids pour un large éventail d'applications médicales [13-17]. Cette thèse porte spécifiquement sur l'étude des problématiques liées à la décontamination bactérienne.

L'exploration spatiale des prochaines décennies impliquera la préparation de vols habités de longue durée, posant de nombreux défis technologiques et médicaux. Les équipages, soumis à la micropesanteur et confinés dans des environnements isolés, devront composer avec un volume restreint et des ressources limitées. Dans ce contexte, les technologies polyvalentes, sobres en énergie et générant peu de déchets, deviennent d'une importance cruciale. Les plasmas froids apparaissent particulièrement adaptés à ces conditions et pourraient être exploités avec succès pour des applications essentielles telles que la purification de l'air et des eaux usées, ainsi que la désinfection et la décontamination des surfaces et des équipements. Des travaux antérieurs, portant d'une part sur l'opérabilité en apesanteur de plasmas froids à basse pression (plasma complexe) à bord de l'ISS [18], et d'autre part sur l'utilisation de plasmas froids à pression atmosphérique de type DBD surfacique en condition terrestre (1 g)

pour l'inactivation microbienne [19], démontrent que cette thématique est déjà bien établie et constitue un champ d'investigation reconnu.

L'émergence récente de jets plasma opérant à pression atmosphérique ouvre des perspectives particulièrement prometteuses pour les applications médicales, grâce à leur compatibilité avec des traitements *in situ* sans confinement sous vide. Par extension, ces avancées pourraient également être exploitées lors de missions spatiales de longue durée. Dans cette optique, la caractérisation des propriétés et du comportement de notre dispositif de jet plasma atmosphérique en conditions terrestres et d'apesanteur apparaît essentielle afin d'envisager son intégration stratégique dans le cadre des futures missions spatiales.

L'objectif principal de cette thèse est d'étudier le potentiel bactéricide d'un dispositif de jet plasma compact, développé au GREMI, fonctionnant à pression atmosphérique en conditions terrestres et spatiales, en étudiant les mécanismes mis en œuvre. Cette étude vise aussi à démontrer l'opérabilité de ce dispositif, le Plasma Gun, en conditions d'apesanteur et son utilisation pour la décontamination de BMR dans le cadre d'applications médicales.

Les travaux présentés dans cette thèse, effectuée au laboratoire du GREMI (Groupe de Recherches sur l'Energétique des Milieux Ionisés), sont le fruit de collaborations et de partenariats déterminants, qui ont contribué de manière essentielle à l'obtention des résultats :

- Notre expérience, en tant que projet SAFE (plaSma gun therApy under zero-gravity parabolic Flight conditions Experiments), a été sélectionnée par le Dr Gauquelin-Koch pour participer à six campagnes de vols paraboliques organisées par le CNES et Novespace (VP 164-62, VP 167-63, VP 171-64, VP 177-66, VP 181-67, VP 183-68). Les vols paraboliques nous ont permis d'expérimenter en condition d'apesanteur. Dans ce projet, je tenais le rôle de coordinateur technique et étais en contact avec les ingénieurs de Novespace, en particulier T. Villatte, afin de nous assurer que la réalisation de l'expérience respectait les normes de sécurité imposées.
- Les traitements des bactéries multirésistantes (BMR), ainsi que l'étude des problématiques liées à la décontamination de dispositifs médicaux (endoscopes, cathéters, ...), ont été réalisés au Centre Hospitalier Universitaire d'Orléans (CHUO), en collaboration avec le Dr Demasure et le laboratoire du Service de Prévention du Risque Infectieux (SPRI).
- L'imagerie en microscopie électronique à balayage (MEB) a été rendue possible grâce à un appel à projets proposé par la plateforme MACLE-CVL (*Microscopie, imAgeries et ressourCes anaLytiquEs – région Centre-Val de Loire*) du CNRS, à la suite de ma participation à une formation dédiée à la préparation d'échantillons biologiques pour MEB. Notre projet a été sélectionné pour deux sessions réalisées en fin de thèse sous la supervision du Dr Wille.
- Une caméra thermique à haute résolution temporelle et spatiale, ainsi que l'assistance pour le traitement des acquisitions, ont été fournis par le Pr Bauzin, permettant une

caractérisation fine de l'élévation de température induite par le plasma sur les surfaces traitées.

- Issu d'une formation initiale en ingénierie mécanique et en mécanique des fluides, je n'aurais pas pu mener à bien ces travaux en biologie sans l'accompagnement continu du Dr Brulé-Morabito, ainsi que grâce aux échanges et rencontres avec mes pairs au sein du GDR HappyBIO et du COST-action PlasTHER. Le suivi attentif du Dr Maho, en tant que comité de suivi individuel scientifique, a également grandement contribué à l'avancement de ces travaux.
- Enfin, cette thèse est une collaboration entre les laboratoires du GREMI et du Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), et est financée par la Mission pour les initiatives Transverses et Interdisciplinaires (MITI) du CNRS qui a pour objectifs principaux de soutenir les Projets de Recherche Interdisciplinaires Multi-Equipes (PRIMES).

Ce manuscrit de thèse est divisé en quatre chapitres.

Le chapitre 1 est une synthèse bibliographique de l'utilisation des plasmas froids dans le cadre de la décontamination bactérienne. Ce chapitre débute par un état de l'art consacré au contexte biologique et médical lié aux bactéries. Une attention particulière est portée à *Escherichia coli* K-12, représentative d'une souche non pathogène, ainsi qu'aux bactéries multirésistantes (BMR) qui constituent aujourd'hui un enjeu majeur en santé publique. Les méthodes actuelles de décontamination et de désinfection sont présentées avec leurs avantages et limites respectives. La seconde partie introduit la physique des plasmas de façon globale puis détaille les géométries des décharges jusqu'aux jets plasma froids à pression atmosphérique. Enfin, la dernière partie propose une sélection non exhaustive d'exemples illustrant les applications des jets plasma pour la décontamination et les mécanismes liés.

Le chapitre 2 présente le matériel et les méthodes employés au cours de cette thèse. Ce chapitre est divisé en quatre parties. Il présente dans un premier temps le réacteur plasma spécifique à cette thèse développé au GREMI, le Plasma Gun, ainsi que ses paramètres de fonctionnement (tension, courant, fréquence). Dans un second temps, les équipements de diagnostic utiles à la caractérisation physico-chimique du plasma sont décrits. Ensuite, les vols paraboliques ainsi que le bâti expérimental sont présentés. Enfin, la quatrième partie présente la composante biologique de cette thèse. Tout d'abord, une description des souches de bactéries et des protocoles de culture, d'ensemencement et d'analyse est présentée. Les protocoles et analyses ont été élaborés dans le cadre des limites imposées par le rythme et les normes liés aux campagnes de vols paraboliques. Les protocoles de préparation des échantillons ainsi que la configuration de travail du microscope électronique à balayage (MEB) clôturent ce chapitre.

Le chapitre 3 présente la caractérisation expérimentale physico-chimique du Plasma Gun en condition terrestre à pression atmosphérique (1g-1 atm), en condition terrestre à pression réduite (1g-0.85 atm ; en référence à la pression cabine de l'avion de 0,85 atm) et en condition d'apesanteur à pression réduite (0g-0,85 atm ; condition des vols paraboliques). Ce chapitre

est divisé en cinq parties. Il présente dans un premier temps l'étude du comportement de la plume plasma dans ces différentes conditions environnementales. Les espèces présentes dans la plume plasma sont ensuite étudiées par spectroscopie d'émission. Cette partie est poursuivie par la caractérisation physique du Plasma Gun. La répartition de la puissance aux différents éléments du système a été mesurée : la puissance apportée au plasma, la puissance déposée sur la cible et la puissance perdue. Le stress thermique induit par le traitement plasma sur différentes cibles a aussi été évalué. Ces travaux ont permis de mettre en évidence que différentes composantes du plasma semblent plus favorables que d'autres à l'effet bactéricide induit par un traitement plasma.

Le chapitre 4 présente les résultats expérimentaux concernant l'étude de l'efficacité du PG pour le traitement de bactéries non-pathogènes et multirésistantes dans les différentes conditions environnementales. Ce chapitre est divisé en quatre parties. Dans un premier temps, les effets de la configuration du PG (tension, fréquences, gaz plasmagène) et de la phase de croissance des bactéries sur l'efficacité de la décontamination en traitement statique sont étudiés dans les différentes conditions environnementales. Le potentiel d'un traitement dynamique dans l'optique de traiter une surface plus importante en moins de temps et de réduire la chaleur induite localement par le traitement plasma a été étudié. Suite à ces résultats, les rôles des différentes composantes du traitement plasma sont présentés dans la troisième partie de ce chapitre. Enfin, la dernière partie de ce chapitre aborde des résultats préliminaires de traitement plasma appliqué aux BMR, venant confirmer la pertinence et la viabilité de notre dispositif en vue d'applications thérapeutiques ou de décontamination en milieu hospitalier.

En conclusion, les plasmas froids, par leur richesse en espèces réactives et la diversité de leurs effets, s'imposent comme une alternative prometteuse aux méthodes de désinfection conventionnelles, notamment face au défi croissant posé par les bactéries multirésistantes.

Le travail de thèse menée a permis de démontrer la faisabilité et l'opérabilité du Plasma Gun aussi bien dans des conditions terrestres qu'en apesanteur, tout en apportant des éclaircissements sur les composantes du plasma les plus efficaces et pouvant constituer des leviers d'optimisation pour la décontamination.

En résumé, ce travail contribue à une meilleure compréhension des mécanismes d'interaction plasma-bactéries et met en évidence le potentiel du plasma froid comme outil polyvalent, durable et adapté aux besoins hospitaliers autant qu'aux défis de l'exploration spatiale.

# Chapitre 1      Etat de l'art

## 1.1 Enjeux de la décontamination

La décontamination représente un enjeu scientifique, sanitaire et environnemental de premier ordre puisqu'elle vise à réduire ou éliminer des substances dangereuses susceptibles de menacer directement la santé humaine, la biodiversité et la qualité des milieux naturels. Elle concerne différents types de contaminants : agents biologiques (bactéries, virus, spores, champignons), agents chimiques (solvants, hydrocarbures, métaux lourds, pesticides) et agents physiques ou radioactifs (particules alpha, bêta, rayonnements gamma). Sur le plan médical et alimentaire, la décontamination est essentielle dans la prévention des infections nosocomiales et dans la maîtrise des épidémies, grâce à des protocoles stricts de stérilisation des instruments, de désinfection des surfaces et de traitement des déchets biomédicaux. Dans le secteur industriel, elle répond à la nécessité de neutraliser les risques liés aux substances toxiques ou radiologiques, par exemple lors d'accidents nucléaires ou chimiques. Sur le plan environnemental, les enjeux sont tout aussi cruciaux : la dépollution des sols contaminés par des hydrocarbures ou des métaux lourds, la décontamination des eaux usées, contaminées par des polluants ou des antibiotiques, ou encore la réhabilitation de sites industriels abandonnés conditionnent la préservation des écosystèmes et la sécurité alimentaire. Les procédés utilisés vont de la décontamination physique (filtration, irradiation, nettoyage mécanique) aux méthodes chimiques (oxydation, ...). Ces solutions impliquent de nombreux défis technologiques et économiques liés à l'efficacité, la reproductibilité, la sécurité et la durabilité.

### 1.1.1 Définitions et normes des procédés d'inactivation de micro-organismes : décontamination, désinfection et stérilisation

Pour limiter la propagation des micro-organismes et prévenir les infections, différents procédés sont utilisés tels que la décontamination, la désinfection ou la stérilisation. L'amalgame entre ces procédés est courant alors que tous ont des définitions et des seuils d'inactivations différents. Le Tableau 1 récapitule les définitions de ces trois procédés d'inactivation microbiennes et indique les normes européennes associées à chaque procédé.

Tableau 1 : Niveau d'inactivation et normes des procédés de décontamination, désinfection et stérilisation

| Procédé                | Niveau d'inactivation                                 | Normes UE                                                                              |
|------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Décontamination</b> | Variable (généralement $< 5 \log_{10}$ ).             | Pas de norme unique (pratique préalable avant désinfection/stérilisation).             |
| <b>Désinfection</b>    | $\geq 5 \log_{10}$ (99,999 % des bactéries réduites). | EN 14885, EN ISO 15883 (secteurs alimentaire, industriel, médical)[20-21].             |
| <b>Stérilisation</b>   | Niveau d'assurance de stérilité = $10^{-6}$ .         | EN ISO 11135, EN ISO 11137, EN ISO 17665, EN ISO 14937 (dispositifs médicaux) [22-25]. |

La décontamination regroupe l'ensemble des actions visant à réduire la charge microbienne sur un objet ou une surface à un niveau considéré comme sûr, sans nécessairement éliminer tous les micro-organismes ( $< 5 \log_{10}$ ). La désinfection va plus loin en détruisant la plupart des micro-organismes pathogènes ( $\geq 5 \log_{10}$ ), à l'exception des spores bactériennes. La stérilisation est le procédé le plus rigoureux : il permet l'élimination totale de toutes formes de vie microbienne ( $> 6 \log_{10}$ ), y compris les spores. La stérilité est un état éphémère et sa conservation nécessite l'usage d'un conditionnement approprié. Ces trois niveaux d'inactivation sont choisis en fonction du type de matériel, du risque infectieux et de l'usage prévu, et constituent un axe fondamental de l'hygiène hospitalière et industrielle. (Dans la suite du manuscrit, les logs de réduction seront en base 10).

#### *Méthodes conventionnelles d'inactivation de micro-organismes et leurs limites*

Comme défini précédemment, la décontamination est une étape préalable à la désinfection ou la stérilisation. Elle est généralement associée à un nettoyage mécanique et parfois aussi à des agents chimiques à faible concentration (détergents). L'objectif n'est pas l'élimination complète des micro-organismes mais une réduction suffisante pour limiter le risque infectieux et protéger le personnel manipulant le matériel. Pour ces raisons les méthodes conventionnelles de désinfection et de stérilisation seront abordées avec précision.

#### Désinfection (EN 14885):

- La désinfection chimique (EN 13697): Les principaux désinfectants sont l'alcool (éthanol, isopropanol), le chlore (hypochlorite de sodium), le peroxyde d'hydrogène et les sels d'ammonium quaternaire. Ces agents agissent en dénaturant les protéines, en perturbant les membranes cellulaires ou en oxydant les composants cellulaires. Ils ont l'avantage d'être rapides et polyvalents. Cependant, leur efficacité est réduite en présence de matière organique et peuvent causer de la corrosion de matériaux ou de l'irritation de la peau.
- La désinfection thermique (EN 15883): l'utilisation de chaleur humide (ex. laveur-désinfecteur) ou sèche permet de tuer les micro-organismes sans produits chimiques (ex. four Pasteur). La chaleur humide est plus efficace que la chaleur sèche car elle provoque une dénaturation rapide des protéines [26]. Cependant, elles ne conviennent pas aux matériaux sensibles à la chaleur et à l'humidité.
- La désinfection par rayonnement : Elle utilise la lumière ultraviolette (UV-C, 200–280 nm) pour détruire l'ADN des micro-organismes sans résidu chimique, ce qui bloque leur multiplication [27-29]. Cette technique est utilisée pour les surfaces, l'air et l'eau.
- La désinfection mécanique : Elle consiste à combiner nettoyage et agents désinfectants dans des laveurs-désinfecteurs automatisés pour instruments médicaux. Le frottement et la circulation de liquides contribuent à éliminer les micro-organismes. L'efficacité de ce procédé repose alors sur la qualité du programme utilisé, de la concentration des agents désinfectants et de l'entretien des machines.

### Stérilisation :

- Stérilisation à la vapeur (EN ISO 17 665) : Elle consiste à exposer les objets à de la vapeur d'eau à haute température (121–134 °C) sous pression pendant un temps déterminé. La vapeur pénètre efficacement les matériaux poreux et détruit tous les micro-organismes, y compris les spores, par dénaturation des protéines et destruction des membranes cellulaires. Ses avantages incluent sa rapidité et sa fiabilité. Ses limites concernent les matériaux sensibles à la chaleur ou à l'humidité, comme certains plastiques, lentilles ou dispositifs électroniques
- La stérilisation par irradiation (EN ISO 11 137) : des rayonnements ionisants détruisent les micro-organismes présents sur les objets ou matériaux. Les principales formes utilisées sont les rayons gamma, les rayons X et les électrons accélérés. Ces rayonnements provoquent des cassures dans l'ADN et d'autres structures cellulaires, entraînant la mort des bactéries, virus et champignons, y compris les spores, ce qui rend ce procédé très efficace. Cette méthode présente plusieurs avantages : elle peut stériliser des objets déjà emballés, ne produit pas de chaleur excessive et ne laisse pas de résidus chimiques. Cependant, elle a aussi des limites : l'équipement est coûteux et complexe, nécessitant du personnel habilité à manipuler des sources de radiations, certaines matières sensibles aux radiations (plastiques, polymères) peuvent se dégrader, et un contrôle précis de la dose est nécessaire pour garantir l'efficacité sans endommager le produit.
- Stérilisation par gaz (par exemple, oxyde d'éthylène EN ISO 11 135) : L'oxyde d'éthylène est un gaz alkylant qui stérilise à température ambiante, idéal pour les matériaux thermosensibles comme les plastiques, les dispositifs électroniques ou les instruments emballés. Il agit en modifiant chimiquement l'ADN et les protéines des micro-organismes. Ses avantages sont la compatibilité avec les matériaux sensibles et la possibilité de stériliser des dispositifs déjà emballés. Ses limites sont la toxicité de l'oxyde d'éthylène, la nécessité d'une ventilation et d'un temps de dégazage prolongé pour éliminer les résidus, et le risque de corrosion sur certains métaux [30-31]. L'élimination des résidus est généralement assistée par un traitement plasma. Cependant, le plasma ne joue pas de rôle dans l'inactivation des micro-organismes.

Dans la présente thèse, nous nous intéressons à l'efficacité d'inactivation d'un seul type de micro-organisme par notre dispositif : les bactéries.

#### 1.1.2 Présentation des bactéries utilisées au cours de cette thèse

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, procaryotes, capables de se multiplier rapidement par division binaire. Lorsqu'elles sont placées dans un environnement favorable, elles suivent une courbe de croissance typique en quatre phases [32]. La phase de latence correspond à l'adaptation des cellules au nouveau milieu, sans multiplication significative. Vient ensuite la phase exponentielle, où la population croît de manière rapide et exponentielle, reflétant la division cellulaire active. La phase stationnaire survient lorsque les

nutriments s'épuisent et les déchets s'accumulent, entraînant un équilibre entre cellules vivantes et mortes. Enfin, la phase de déclin (ou mort) correspond à la prédominance des cellules mortes sur les nouvelles divisions. Lors de ces passages de phases, la bactérie subit différents changements morphologiques et/ou physico-chimiques [33-34].

#### 1.1.2.1 Etude spécifique de la bactérie *Escherichia coli*

Dans cette thèse, l'indicateur biologique de l'efficacité d'inactivation de bactérie de notre dispositif est *Escherichia coli*, une entérobactérie à Gram négatif en forme de bacille mesurant de 1 à 5 µm, dont les composantes principales (ADN, Plasmides, cytoplasme, ...) sont illustrées en Figure 1, issue de [35]. Les bactéries Gram négatif présentent trois couches (de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie) : la membrane cytoplasmique, la paroi composée d'une couche de peptidoglycane et une couche externe de composition variable en fonction de la bactérie (la capsule), présente dans les écosystèmes naturels, mais généralement absente lorsque les bactéries sont cultivées en laboratoire. En comparaison, les bactéries à Gram positif (comme *Staphylococcus aureus*) ne possèdent pas de membrane externe mais une paroi composée d'une couche épaisse de peptidoglycane [36-38] et une capsule. En tant que Gram négative, *E.coli* est sensible à différents types de stress induits par son environnement, se manifestant notamment face à des conditions extrêmes. Les variations de pH peuvent altérer ses enzymes et membranes, les températures élevées dénaturent ses protéines, tandis qu'une forte osmolarité ou une exposition aux agents oxydants entraînent des dommages cellulaires.

La souche *E.coli* K-12 en particulier, isolée en 1922, est un organisme modèle fondamental en biologie moléculaire et en microbiologie [39]. Cette souche est commensale (non pathogène) bien qu'elle possède des homologues pathogènes responsables d'infections intestinales (par ex. *E.coli* O157 :H7, entérohémorragique) entraînant le décès de millions de personnes chaque année [40]. Contrairement aux souches pathogènes, elle ne possède ni plasmide de virulence ni gène codant des toxines responsables d'infections, ce qui en fait un organisme modèle sûr et largement utilisé en recherche. Cependant, certaines limites persistent : son métabolisme est moins complexe que celui de bactéries environnementales, et l'absence de certains plasmides naturels ou de facteurs de virulence la rend moins représentative des souches pathogènes cliniques.

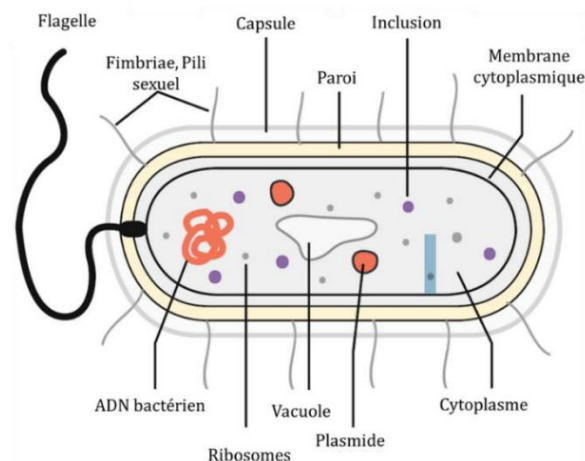


Figure 1: Structure cellulaire de *Escherichia coli*, issue de [35].

A l'instar de ses homologues (entérobactéries), *E.coli* possède plusieurs mécanismes de résistance adaptative aux différents stress induits par l'environnement dans lequel elle se trouve [41]. Face au stress oxydatif, elle active la production d'enzymes protectrices comme la catalase qui neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) [42]. Lors d'un stress thermique, certaines protéines favorisent le repliement ou la réparation des protéines dénaturées [43]. En conditions de stress acide, elle mobilise des systèmes de décarboxylation des acides aminés qui permettent de tamponner le cytoplasme [44]. Lors d'un stress osmotique, elle accumule des solutés compatibles afin d'équilibrer la pression osmotique [45]. *E.coli* peut résister en formant des biofilms, structures collectives qui offrent une protection contre certains antimicrobiens tels que les antibiotiques [46]. Enfin, les dernières décennies ont été le témoin de l'émergence de souches d'*E.coli* résistantes aux antibiotiques, résultant principalement de l'acquisition de gènes de résistance par mutations chromosomiques spontanées ou transfert horizontal de gènes, notamment par transfère de plasmides [47-49].

#### 1.1.2.2 Souches bactériennes cliniquement problématiques

Après avoir étudié *Escherichia coli* K-12, souche modèle non pathogène largement utilisée en laboratoire pour comprendre la biologie bactérienne, il est intéressant de s'intéresser à ses homologues cliniquement plus préoccupants. Certaines souches d'*E.coli*, ainsi que d'autres bactéries, ont acquis des mécanismes de résistance qui les rendent capables d'échapper à l'action des antibiotiques de première ligne. Parmi elles, les BLSE (bêta-lactamases à spectre étendu), les NDM (New Delhi Métallo- $\beta$ -lactamases), les SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) et les ERV (entérocoques résistants à la vancomycine). Parmi ces bactéries multirésistantes (BMR) aux antibiotiques, les bactéries productrices de NDM et les ERV sont catégorisées comme étant des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe), représentant des enjeux encore plus importants pour l'hôpital que les BMR, en raison de leur résistance extrême aux antibiotiques, du risque élevé de diffusion et des contraintes renforcées de prise en charge et d'isolement qu'elles imposent.

#### Bactéries productrices Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE):

Les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, comme les pénicillines et les céphalosporines, sont parmi les plus utilisés pour traiter les infections bactériennes. Cependant, certaines bactéries ont développé un moyen de s'en protéger : elles produisent des enzymes appelées BLSE (bêta-lactamases à spectre étendu) [50]. Ces enzymes inhibent l'efficacité de plusieurs de ces antibiotiques, rendant les traitements plus compliqués et parfois moins efficaces. La diffusion de ces bactéries est favorisée par un usage trop fréquent ou mal adapté des antibiotiques, aussi bien à l'hôpital qu'en médecine de ville. Parmi les plus connues, *Klebsiella pneumoniae* et *E.coli* sont particulièrement inquiétantes car elles provoquent des infections graves et se transmettent facilement.

#### Bactéries productrices New Delhi Métallo-β-lactamases (NDM):

Certaines bactéries produisent des enzymes NDM (New Delhi Métallo-β-lactamases) capables d'inactiver presque tous les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, y compris les carbapénèmes, longtemps considérés comme le dernier recours thérapeutique. De plus, les gènes codant pour NDM, favorisent une dissémination rapide entre différentes espèces bactériennes [51]. Parmi elles, *E.coli* représente une menace particulière, car il s'agit d'une bactérie commensale fréquente du tube digestif qui peut devenir pathogène et transmettre ses gènes de résistance à d'autres bactéries. Les infections à *E. coli* producteur de NDM sont difficiles à traiter, laissant peu d'options thérapeutiques.

#### *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM):

Les SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) sont des souches de *Staphylococcus aureus* ayant acquis une résistance à la majorité des bêta-lactamines, y compris les pénicillines et les céphalosporines [52]. Cette résistance est principalement liée à un gène empêchant l'action habituelle de ces antibiotiques sur la synthèse de la paroi bactérienne. Les SARM sont responsables d'infections nosocomiales mais aussi communautaires, allant des infections cutanées superficielles aux infections invasives sévères comme les spondylarthrites. Leur prévalence et leur capacité à s'adapter rapidement aux pressions de sélection thérapeutique en font un pathogène particulièrement redouté en infectiologie.

#### Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV):

La vancomycine est un antibiotique largement utilisé pour traiter les infections graves à entérocoques, en particulier lorsqu'elles sont résistantes aux bêta-lactamines et aux aminosides. L'émergence des ERV (entérocoques résistants à la vancomycine) constitue un problème majeur de santé publique. Cette résistance repose principalement sur l'acquisition de gènes empêchant l'antibiotique de se fixer efficacement. Les ERV sont souvent isolés en milieu hospitalier, où ils provoquent des infections nosocomiales difficiles à traiter, en particulier chez les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs invasifs. Parmi les espèces concernées, *Enterococcus faecium* est la plus fréquemment impliquée et se distingue par sa capacité à accumuler de multiples mécanismes de résistance [53].

## 1.2 Enjeux de la décontamination lors de mission spatiale

Les enjeux liés à la décontamination, en particulier face aux BMR, représentent aujourd'hui une problématique majeure dans notre environnement quotidien, et deviennent encore plus critiques en contexte spatial. En effet, les missions spatiales se déroulent dans des milieux confinés et isolés, où la disponibilité en consommables, tels que désinfectants, et antibiotiques, est strictement limitée. Dans ce cadre, la gestion de la décontamination des équipements et ressources essentielles, comme les denrées alimentaires et dans le cadre du recyclage des eaux usées, constitue un défi incontournable. La médecine spatiale en environnement spatial fait ainsi partie des axes de recherche prioritaires des groupes d'experts du projet THESEUS (Towards Human Exploration of Space — a European Strategy) [54-55]. Ces groupes s'intéressent notamment au maintien de la santé des astronautes, à la gestion des ressources médicales à bord, ainsi qu'aux effets des vols spatiaux sur la pharmacodynamique, aux effets secondaires indésirables et à la toxicité des médicaments en apesanteur. Afin de prévenir les risques liés aux micro-organismes à bord de la Station spatiale internationale, le système de régénération de l'air est actuellement équipé de filtres HEPA (High-Efficiency Particulate Air), tandis que les surfaces sont désinfectées à l'aide d'agents à base d'ammonium quaternaire ou de peroxyde d'hydrogène. En cas d'infection, le traitement repose exclusivement sur l'utilisation d'antibiotiques ou d'antiseptiques [13].

De plus, la compréhension des effets de l'apesanteur sur la croissance, la virulence et la résistance des microorganismes [14-16, 56], ainsi que des impacts du mode de vie spatial sur le système immunitaire et de réponse à un traitement conventionnel [17, 57], sont encore explorés et assez peu documentés. Enfin, la possibilité de découvrir des micro-organismes extraterrestres souligne la nécessité de disposer de moyens de décontamination plus efficaces et polyvalents que les méthodes conventionnelles.

## 1.3 Jets de plasma froid à pression atmosphérique

### 1.3.1 Définition et classification des plasmas

Le plasma est couramment décrit comme le quatrième état de la matière, après les états solide, liquide et gazeux. Ce terme a été introduit en 1929 par Irving Langmuir, par analogie avec le plasma sanguin. Bien que près de 99 % de la matière connue de l'univers soit constituée de plasma, ce dernier est très peu présent à l'état naturel sur Terre. Toutefois, lorsque des atomes et des molécules reçoivent une quantité suffisante d'énergie thermique ou électromagnétique, ils vont se retrouver en partie ionisés et excités. Lorsque le degré d'ionisation est suffisamment important pour que le nombre d'électrons par unité de volume ne soit pas négligeable par rapport à celui des atomes neutres, le milieu est contraint par des comportements collectifs, il devient un fluide conducteur globalement neutre appelé plasma. Ce mélange confère au plasma des propriétés particulières, notamment sa conductivité électrique élevée, une concentration plus ou moins élevée d'espèces chimiques réactives ou encore de radicaux libres, d'espèces chargées (ions). Le plasma émet un rayonnement visible,

infrarouge et ultraviolet. La physique des plasmas est donc une science très complexe réunissant notamment les domaines de l'électromagnétisme, de la thermodynamique, de la mécanique des fluides et de la chimie. L'étude des plasmas artificiels a permis de nombreux développements technologiques : informatique (gravure nanométrique), applications médicales (stérilisation, décontamination), sidérurgie (soudure), ... ; et d'autres à venir, comme le projet ITER visant la stabilisation d'une réaction de fusion nucléaire auto-entretenue.

La génération d'un plasma dépend du comportement des électrons lorsqu'un gaz est soumis à un champ électrique. Pour extraire un électron d'un atome, il est possible d'appliquer une tension suffisamment élevée ( $V$ ) entre deux électrodes séparées par une distance  $d$ . Une fois libérés, ces électrons peuvent amorcer et entretenir le plasma grâce à des collisions transférant leur charge et provoquant l'ionisation d'autres atomes. La stabilité du plasma résulte ainsi d'un équilibre délicat : si les collisions sont trop rares, l'ionisation ne se propage pas, tandis que si elles sont trop fréquentes, l'énergie des électrons est dissipée et le plasma ne peut se maintenir. Les courbes de Paschen [58] illustrent la relation entre la tension minimale nécessaire pour amorcer une décharge électrique dans un gaz (appelée tension de claquage,  $V$ ) et le produit ( $p \cdot d$ ) de la pression ( $p$ ) par la distance ( $d$ ) entre deux électrodes. Ces tendances expliquent pourquoi la décharge électrique est favorisée pour les gaz rares dans une plage optimale de « basse » pression et de distance.

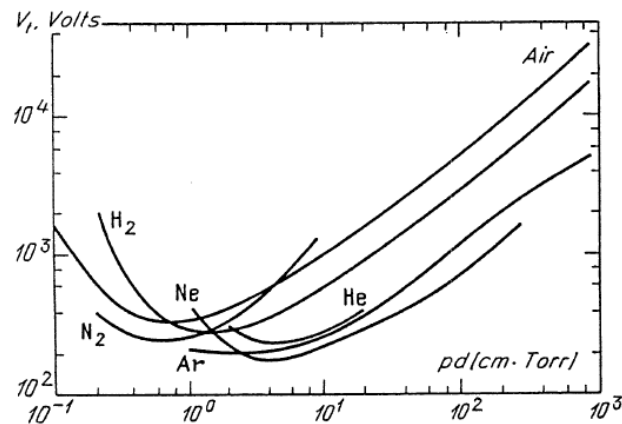


Figure 2: Courbes de Paschen : Tension minimale (tension de claquage, en V) requise pour obtenir une décharge plasma en fonction du produit de la pression du gaz ' $p$ ' et de la distance inter-électrode ' $d$ ' (en cm.torr) (issue de [58]).

Les plasmas sont catégorisés selon la température de leurs espèces ( $T_e$ ,  $T_i$  et  $T_n$  pour température des électrons, des ions et des neutres). Il existe ainsi deux catégories de plasmas ayant de propriétés thermodynamiques et énergétiques différentes : les plasmas chauds, aussi nommés plasmas en équilibre thermodynamique ou plasmas thermiques, et les plasmas froids, aussi nommés plasmas non-thermiques.

Les plasmas thermiques sont caractérisés par un équilibre entre les processus énergétiques des différentes espèces du gaz, qui peut se formuler comme  $T_n \cong T_i \cong T_e \cong 1 \text{ eV } (\cong 10^4 \text{ K})$ .

Ces plasmas sont fortement ionisés et à haute densité électronique ( $>10^{13} \text{ cm}^{-3}$ ). Les applications des plasmas thermiques couvrent un large éventail de domaines, allant de la métallurgie (soudage et découpe plasma) au revêtement de surfaces par projection thermique, ainsi qu'au traitement des déchets et à la production de lumière intense via les lampes à arc électrique.

Les plasmas froids sont caractérisés par un déséquilibre énergétique : les électrons sont à haute énergie tandis que les ions et les molécules neutres restent proches de la température ambiante ce qui se traduit par  $T_e (\in [1-10] \text{ eV}) \gg T_i \cong T_n$ . Ils sont partiellement ionisés et ont une densité électronique comprise entre  $10^9$  et  $10^{13} \text{ cm}^{-3}$ . Leur faible température permet leur utilisation sur des matériaux sensibles à la chaleur trouvent de nombreuses applications dans la stérilisation médicale, le traitement de surface de polymères, l'activation chimique de surfaces, la désinfection de l'eau ou encore dans le domaine biomédical pour la cicatrisation et le traitement des tissus.

L'utilisation des plasmas à basse pression pour la décontamination a émergé dans les années 1960-1970, d'abord dans le domaine médical pour stériliser des instruments sensibles à la chaleur et aux produits chimiques traditionnels. Ces plasmas, générés dans des conditions de vide partiel (typiquement entre le dixième et quelques centaines de pascals), produisent une combinaison d'espèces réactives (radicaux libres, ions), de photons UV permettant l'inactivation des micro-organismes, y compris les bactéries, les spores et certains virus [3].

Les plasmas basse pression présentent l'avantage d'exiger une tension de claquage relativement faible pour leur amorçage, tout en assurant une homogénéité dans la chambre à vide. Cette caractéristique leur confère une capacité de pénétration efficace dans les cavités et sur les surfaces complexes. Par ailleurs, ces procédés permettent des traitements d'une durée allant de quelques dizaines de minutes à une heure, tout en limitant les risques de dégradation thermique ou chimique, ce qui les rend particulièrement adaptés aux matériaux sensibles, tels que les instruments chirurgicaux, les dispositifs électroniques ou les biomatériaux. Cette technologie a ouvert la voie à des méthodes de stérilisation innovantes, plus sûres et plus écologiques que les procédés traditionnels à la vapeur ou aux produits chimiques.

Cependant, les plasmas basse pression, bien qu'efficaces dans certaines applications, sont limités par la nécessité d'une chambre à vide et par des contraintes liées à la taille et à l'accessibilité des surfaces traitées. Ces limitations ont favorisé le développement des plasmas à pression atmosphérique (haute pression), capables de fonctionner directement en conditions ambiantes et offrant ainsi la possibilité de traiter efficacement des tissus biologiques et des matériaux sensibles, tout en élargissant le champ d'applications [6, 59-60].

### 1.3.2 Système de génération de décharge à la pression atmosphérique

À haute pression, deux dispositifs plasma ont été majoritairement étudiés : le plasma plan-couronne et le plasma à décharges à barrière diélectrique (DBD) [61].

#### Plan/Couronne

La géométrie des décharges plan-couronne est asymétrique. Le potentiel est appliqué à une électrode en forme de pointe placée à une certaine distance d'un plan conducteur. Dans cette configuration, la distribution du champ électrique présente un fort gradient : il est extrêmement intense à l'extrémité de la pointe, puis décroît fortement en s'éloignant vers le plan. Cette configuration engendre une décharge dite couronne, caractérisée par l'apparition d'un plasma autour de la pointe, conséquence directe de la répartition des lignes de champ électrique.

Ces configurations peuvent être simple à mettre en œuvre expérimentalement et fonctionnent avec des gaz différents, offrant ainsi une grande flexibilité pour le traitement de surfaces ou la modification chimique de la surface des matériaux. Toutefois, elles présentent des limitations importantes : à des tensions trop élevées, la décharge peut basculer en arc électrique [62], entraînant une augmentation locale de la température et des dommages potentiels aux matériaux sensibles. Ces contraintes ont motivé le développement d'autres configurations, comme le plasma à décharges à barrière diélectrique (DBD), capables de contourner certaines de ces limitations.

#### Décharges à barrière diélectrique (DBD) :

La géométrie en décharges à barrière diélectrique (DBD) permet de réaliser des plasmas hors équilibre sans transition à l'arc. Elle consiste à envelopper au moins une des électrodes (HT ou masse) avec un isolant diélectrique. Les charges électriques s'accumulent alors à la surface du diélectrique, lequel se comporte comme un condensateur en présentant une différence de potentiel à ses bornes. L'augmentation de cette tension au cours du développement de la décharge diminue la tension appliquée au gaz, induisant l'extinction de la décharge, bien avant la transition à l'arc [63]. Afin de décharger le diélectrique, les DBD sont alimentées par une tension alternative, avec une large plage de fréquence d'impulsions électriques allant du hertz au mégahertz.

Dans le cadre de DBD, le canal de décharge est de l'ordre du micron, appelé micro-décharge. Ces micro-décharges se répartissent de façon aléatoire, s'initiant à de nouvelles positions où la présence de charges n'a pas été diminuée par le développement de précédentes micro-décharges. Dans certaines configurations, le plasma peut être alors considérée comme uniforme [63].

Les géométries de DBD les plus étudiées dans le domaine plasma médecine, notamment pour la décontamination de surface sont présentées en Figure 3.

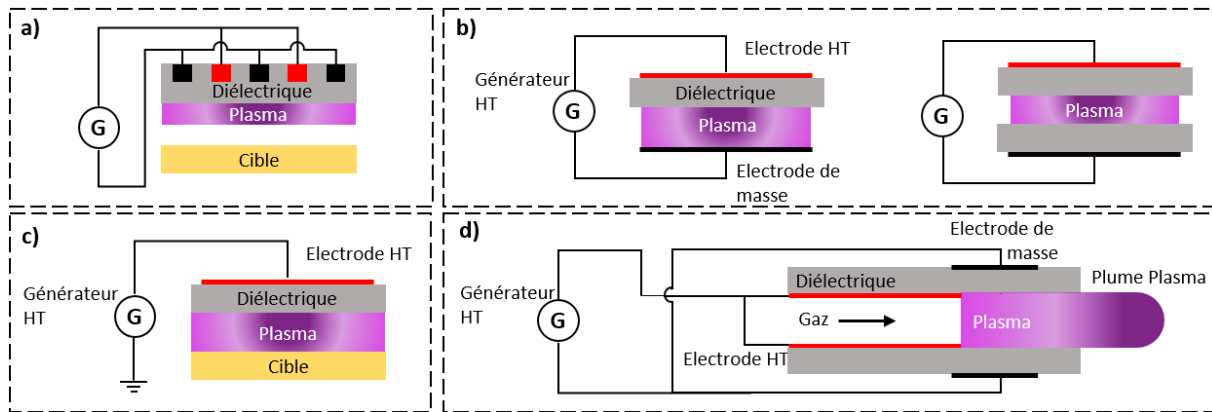


Figure 3: Configurations DBD couramment utilisées en plasma-médecine : a) DBD de surface, b) DBD de volume, c) DBD à électrode flottante, d) jet plasma DBD (Plasma Gun).

Dans une configuration surfacique, Figure 3.a), la décharge se propage essentiellement le long de la surface du diélectrique [64]. Lorsque le champ électrique atteint une valeur critique, un ensemble de micro-décharges apparaît et s'étend proportionnellement à la tension appliquée. Ce mode de décharge est particulièrement adapté pour des applications ciblées de traitement de surface, de contrôle d'écoulement ou de décontamination localisée, grâce à sa capacité à générer efficacement des espèces réactives directement au contact des matériaux. La configuration volumique, illustré en Figure 3.b), constitue la forme la plus répandue des décharges à barrière diélectrique [65]. La décharge se produit dans un intervalle gazeux de quelques millimètres. La DBD se développe dans un champ électrique globalement uniforme, ce qui favorise une distribution relativement régulière du plasma dans tout le volume inter-électrode. Cette homogénéité et la densité volumique de micro-décharges en font une configuration de choix pour le traitement de surfaces étendues ou de volumes fermés, avec une production efficace d'espèces réactives. Les DBD à électrode flottante (Figure 3.c) constituent la configuration la plus récente parmi les réacteurs à barrière diélectrique. Ils intègrent une électrode recouverte d'une couche isolante qui prévient la formation d'arcs électriques. La décharge se manifeste sous la forme d'une multitude de microfilaments de plasma distribués aléatoirement directement à l'air ambiant. Pour assurer l'efficacité du traitement, le réacteur doit être positionné à quelques millimètres de la surface cible, laquelle joue alors le rôle de seconde électrode. Conçus initialement pour le traitement de tissus humains, ces réacteurs permettent d'opérer sans risque électrique ni élévation thermique significative [66].

Si les décharges à barrière diélectrique, qu'elles soient volumiques ou surfaciques, constituent des sources robustes pour le traitement de surface, elles restent limitées par la proximité géométrique entre électrodes et cible. Les jets plasma atmosphériques s'affranchissent de cette contrainte en propageant une plume de plasma dans l'air ambiant, ouvrant la voie à des applications nécessitant une portée plus importante.

### 1.3.3 Jets plasma

Les jets plasma (à pression atmosphérique) sont très étudiés de nos jours, du fait de leur facilité de conception, de réalisation et d'utilisation [67]. En effet, plusieurs géométries de décharges [68], d'alimentations électriques ou gaz peuvent être utilisés, favorisant la multiplicité de ce type de dispositifs dans la littérature. De plus, le développement du plasma à la sortie du capillaire dans l'air ambiant sous forme de plume plasma, Figure 3.d), et la production d'espèces réactives ont contribué à leur développement rapide, notamment dans le domaine biomédical [69].

Les gaz utilisés comme plasmagène dans un jet plasma sont majoritairement des gaz rares (argon, hélium et néon), notamment pour leur faible tension de claquage relativement à celle de l'air, et pouvant être mélangés avec de faibles pourcentages de dioxygène ou de diazote.

Les décharges de jets plasma peuvent être générées à l'aide de différentes sources d'alimentation électrique [70]. Le premier type repose sur une alimentation radiofréquence (domaine des MHz), qui peut toutefois entraîner un échauffement notable du gaz et des électrodes, pouvant atteindre plusieurs centaines de degrés Celsius [71]. Le traitement de cibles biologiques nécessite alors une distance importante, les espèces réactives étant transportées principalement par les effluents gazeux.

Le deuxième type correspond aux alimentations micro-ondes, opérant typiquement dans la gamme du GHz avec des puissances de quelques watts à plusieurs centaines de watts [72]. Bien qu'elles permettent de générer des plasmas très denses, leur réglage complexe et les températures élevées du gaz limitent leur emploi.

Enfin, les alimentations impulsionnelles délivrent des tensions de forte amplitude (kV) pendant des durées brèves (ns– $\mu$ s), avec une fréquence de répétition ajustable (Hz–MHz) [73]. Elles produisent des plasmas riches en espèces réactives tout en maintenant une faible élévation de la température du gaz, ce qui en fait la solution privilégiée pour la génération de plasmas froids à pression atmosphérique, en particulier pour les applications biomédicales et de décontamination.

Dans cette thèse, le type de décharge étudiée est un jet de plasma a DBD en configuration coaxiale nommé jet plasma. Le plasma se propage alors dans le capillaire, pour ensuite se développer dans l'air ambiant, illustré en Figure 3.d).

#### Le Plasma gun (PG):

Breveté en 2007 par une équipe du GREMI, le *Plasma Gun* (PG) trouve son origine dans des observations non publiées réalisées en 1991 sur la propagation rapide du plasma dans des capillaires, consignées dans une enveloppe Soleau [74]. L'avantage principal du PG par rapport à la majorité des jets plasma à pression atmosphérique est la particularité du plasma de se propager dans des capillaires de plusieurs centimètres de longueur et de matériaux divers (quartz, silicone, téflon), permettant de possibles traitements endoscopiques *in vivo* [75-76]. De plus, la conception du PG permet une importante diversité d'applicateurs, allant du simple

jet à de multiples jets (jusqu'à une centaine) afin d'optimiser la surface traitée [77]. La grande diversité des configurations et d'utilisations du PG et de son alimentation pulsée, sont à l'origine de nombreuses études du PG dans le cadre d'applications médicales, notamment avec du néon [78], et à l'instar de cette thèse avec de l'hélium [77, 79].

Comme évoqué précédemment, l'émergence récente de jets plasma opérant à pression atmosphérique, dont le PG présenté ci-dessus, ouvre des perspectives particulièrement prometteuses pour les applications médicales, et par extension, ces avancées pourraient également être exploitées au cours de missions spatiales de longue durée. Dans cette optique, la caractérisation des propriétés et du comportement de notre dispositif, aussi bien en conditions terrestres qu'en apesanteur, constitue une étape essentielle pour envisager son intégration stratégique dans les futures missions spatiales. La réalisation de ces investigations nécessite toutefois un accès aux plateformes expérimentales permettant d'obtenir ces conditions environnementales, indispensables à une évaluation représentative de son fonctionnement en milieu spatial.

### 1.3.4 Plasma en apesanteur

Pour obtenir les conditions d'apesanteur, différentes plateformes expérimentales existent [80-82], le Tableau 2 est un récapitulatif des caractéristiques de chacune [82].

Tableau 2: Comparatif des avantages et inconvénients des plateformes expérimentales offrant des conditions d'apesanteur, adapté de [82].

| Plateforme                            | Durée moyenne d'apesanteur | Niveau de gravité résiduelle                   | Capacité d'emport totale                                                             | Durée de développement & accessibilité                                                    | Fonctionnement de l'expérience |
|---------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Tours de chute                        | 4–9 s                      | $10^{-5}$ g                                    | 165–225 kg, dimensions inférieures à $1,7 \times 0,6 \times 0,6$ m <sup>3</sup>      | > 6 mois selon la complexité ; plusieurs campagnes par an                                 | Automatisé                     |
| Vols paraboliques                     | 30*20–24 s                 | $\pm 10^{-2}$ g, (possibilité gravité réduite) | Plusieurs tonnes, réparties en racks de type matériel de laboratoire                 | En général 6–12 mois ; ~5 campagnes par an (jusqu'à 10 expériences sur chacune)           | Expérimentateurs               |
| Fusées sondes                         | 3–15 min                   | $10^{-4}$ g                                    | 100 kg, diamètre inférieur à 60 cm                                                   | > 18 mois ; disponibilité variable                                                        | Automatisé                     |
| Capsules                              | 15 jours                   | $10^{-5}$ g                                    | Moins de 600 kg, dimensions inférieures à $1,7 \times 1,7 \times 1,0$ m <sup>3</sup> | > 18 mois ; disponibilité dépendante du développement et des lancements de capsules (USA) | Automatisé                     |
| ISS (Station spatiale internationale) | Jusqu'à 1 an               | $10^{-5}$ g                                    | Quelques kilogrammes,                                                                | > 18 mois ; généralement un appel à expériences par an en France                          | Automatisé                     |

Compte tenu du temps limité imparti à la thèse, de la nécessité de réaliser un nombre suffisant de répliquats afin d'obtenir des résultats significatifs, ainsi que de l'obligation de disposer d'expérimentateurs présents pour piloter les traitements, le choix de la plateforme expérimentale s'est porté sur les vols paraboliques. Cette solution offre en effet un compromis optimal entre durée d'apesanteur, fréquence d'accès, souplesse de mise en œuvre et possibilité d'interventions directes pendant la phase d'apesanteur, répondant ainsi aux contraintes logistiques du projet.

À ce jour, l'étude des plasmas froids en conditions d'apesanteur demeure très limitée. Les travaux existants se sont principalement concentrés sur les plasmas complexes, aussi nommés plasmas poussiéreux. Dans ces plasmas à basse pression, l'introduction de particules micrométriques provoque en conditions terrestres des phénomènes d'agrégation, de sédimentation et de stratification susceptibles de masquer certains processus fondamentaux. Pour s'affranchir de ces artefacts, des expériences ont été réalisées à quatre reprises en apesanteur, sur différentes plateformes expérimentales [18, 84]. Ce dispositif à basse pression a également été employé pour des essais préliminaires de décontamination, mais les résultats restent peu nombreux et non publiés à ma connaissance.

Parallèlement, les agences spatiales internationales manifestent depuis peu un intérêt pour l'utilisation de plasmas froids à pression atmosphérique en vue de la décontamination des composants des engins spatiaux (équipements, instruments, structures internes ou externes) [85-86]. Ces études demeurent toutefois préliminaires et ont été menées exclusivement en conditions terrestres. De plus, ils consistent en majorité en des traitements afterglow (sans exposition direct au plasma) et en la création d'ozone.

L'investigation d'un jet plasma à pression atmosphérique en situation de micropesanteur s'inscrit donc dans une démarche pionnière, ouvrant un champ d'exploration encore largement inexploré.

## 1.4 Applications du plasma froid à pression atmosphérique en décontamination

Bien qu'historiquement, les applications des plasmas froids pour la décontamination se limitaient à l'utilisation de plasmas basse pression, les dernières décennies sont le témoin de l'émergence des multiples études et applications des plasmas froids à pression atmosphérique.

L'historique des recherches et des applications des plasmas froids à basse pression a permis de clarifier les principaux mécanismes d'inactivation microbienne associés à cette configuration [3]. Dans ces conditions, la génération de photons UV-C et UV-B (200–280 nm et 280–320 nm) constitue un facteur majeur d'endommagement des acides nucléiques (ADN et ARN) des micro-organismes. Par ailleurs, le dépôt de charge à la surface du microorganisme

contribue à la désorganisation des membranes cellulaires, en induisant des différences de potentiel transmembranaires susceptibles de provoquer leur rupture et des espèces chargées qui par bombardement des surfaces des pathogènes conduisent à la rupture mécanique (gravure, ablation physique) des membranes. Le plasma basse pression favorise également la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), responsables d'un stress oxydatif marqué et de phénomènes de peroxydation lipidique. Les composantes ultraviolet et ultraviolet sous vide (VUV, 100-200 nm) du plasma peuvent aussi induire la formation directe d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) (par l'intermédiaire de photons énergétiques) au sein même de la cible [86].

Si, dans le cas des plasmas basse pression, les mécanismes d'inactivation sont désormais relativement bien établis, la situation diffère à la pression atmosphérique. À pression ambiante, la composition et la dynamique du plasma sont plus complexes, et les mécanismes antimicrobiens dominants restent encore l'objet de travaux de recherche approfondis.

#### 1.4.1 Domaines d'applications des décharges à barrière diélectrique

Contrairement aux méthodes conventionnelles de désinfection ou de traitement antimicrobien, qui reposent généralement sur un mode d'action unique (agents chimiques, antibiotiques, rayonnements UV, chaleur), le plasma mobilise simultanément des voies chimiques, physiques et photochimiques. Par ailleurs, à la différence des plasmas basse pression, qui nécessitent un environnement sous vide et sont inadaptés au traitement direct de tissus vivants, les plasmas à pression atmosphérique permettent une application *in vivo*, ouvrant la voie à des approches thérapeutiques *in situ*. Cette pluralité d'actions réduit considérablement les risques de résistance et élargit le champ des applications possibles. Ainsi, le plasma froid émerge aujourd'hui comme une technologie de rupture, moins contraignante que les approches classiques, et suscite un intérêt croissant dans des domaines variés [6].

En effet, les plasmas DBD et jets plasma à pression atmosphérique démontrent une efficacité antimicrobienne significative, avec des réductions de l'ordre de 3 à 7 log<sub>10</sub> selon la nature des matrices traitées et les paramètres d'exposition, et ce en quelques secondes à quelques minutes seulement. Les bactéries végétatives, qu'elles soient à Gram négatif (*E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ou à Gram positif (*S.aureus*), se révèlent particulièrement sensibles à l'action du jet plasma, mais aussi les spores bactériennes (*Bacillus*, *Clostridium*) [87], reconnues pour leur résistance élevée aux différents modes de désinfection. Les champignons filamenteux et les levures, tels que *Candida* et *Aspergillus*, subissent également des altérations structurelles majeures sous l'effet des traitements plasmas [88-91]. Enfin, les biofilms, structures multicellulaires particulièrement tolérantes aux agents antimicrobiens classiques, sont fragilisés par l'action oxydante et électromécanique du plasma, entraînant leur extrusion partielle [92].

L'efficacité démontrée des plasmas froids à pression atmosphérique pour l'inactivation d'un large spectre de micro-organismes, associée à leur capacité à traiter sans les altérer de nombreux types de surfaces — qu'elles soient aqueuses, organiques, minérales ou à base de polymères — a conduit à un essor remarquable de leurs applications dans le domaine de la désinfection. Ces technologies sont désormais explorées et mises en œuvre dans de multiples secteurs (présenté en Figure 4 [93]) : désinfection de matériel médical et hospitalier, traitements thérapeutiques *in vivo*, industrie agroalimentaire, ainsi que dans les champs environnemental et agricole, où elles offrent des alternatives douces et efficaces aux méthodes chimiques ou thermiques traditionnelles [94-95].



Figure 4: Domaines d'applications des plasma froids à pression atmosphérique (DBD et Jets plasma) dans le cadre de la désinfection, issue de [93].

Les paragraphes suivants proposent une liste non exhaustive des principales applications des plasmas froids à pression atmosphérique dans ces différents domaines, illustrant la diversité de leurs usages actuels et leur fort potentiel de développement.

Dans le domaine médical, les décharges à barrière diélectrique (DBD) sont utilisées pour la désinfection des instruments médicaux et hospitaliers [96-97] et les jets plasma, grâce à leur capacité à se propager dans des capillaires, permettent quant à eux de traiter efficacement des dispositifs complexes tels que les endoscopes, les cathéters ou les guides chirurgicaux, sans recourir à des températures élevées ni à des agents chimiques agressifs susceptibles d'altérer les matériaux [98-100]. Ils sont également employés pour la désinfection de surfaces hospitalières variées — poignées de porte, lits, écrans, textiles — au moyen de systèmes portatifs ou de robots mobiles [101-102].

Parallèlement, ces plasmas suscitent un intérêt croissant pour des applications thérapeutiques *in vivo*. Grâce à la génération de RONS et à leur capacité à ne pas causer de dommage thermique à la surface traitée (ici le patient), ils sont étudiés pour la prise en charge des plaies chroniques, où ils favorisent la désinfection locale, mais aussi la cicatrisation et la régénération tissulaire [103]. En dermatologie, ils sont employés pour traiter des infections cutanées, améliorer la perméabilité de la peau ou réguler certaines affections inflammatoires [104], tandis qu'en dentisterie, ils facilitent la désinfection des canaux radiculaires, la préparation de l'émail et de la dentine, ainsi que la prévention des biofilms, tout en optimisant l'adhésion des matériaux restaurateurs [105-106].

Dans le secteur agroalimentaire, les plasmas froids sont utilisés pour désinfecter la surface de fruits, de légumes feuillus, nourriture en poudre ou de viandes tranchées [107-108]. Les solutions liquides traitées représentent une alternative prometteuse aux bains chlorés pour le rinçage antimicrobien et la réduction de résidus de pesticides ou de mycotoxines. Ils peuvent également traiter les matériaux d'emballage — films, barquettes, bouchons — afin de limiter la charge microbienne et de modifier les propriétés de surface [109]. Ces technologies s'étendent au domaine agricole, où elles servent à décontaminer les semences, à inhiber les agents pathogènes responsables de pertes post-récolte et, dans certains cas, à améliorer la germination [110-111], ouvrant la voie à des pratiques plus sûres et plus durables.

Enfin, les plasmas froids à pression atmosphérique sont mis à profit pour le traitement de l'eau et de l'air. Des réacteurs combinant plasma et procédés d'oxydation avancée permettent d'inactiver les micro-organismes dans les eaux usées et de dégrader divers micropolluants, dont certains antibiotiques [112-114]. Pour la purification de l'air, des systèmes à décharge barrière diélectrique (DBD) ou à décharge couronne peuvent être intégrés aux réseaux de ventilation afin d'inactiver les aérosols microbiens, de réduire les odeurs et d'éliminer les composés organiques volatils [115].

### 1.4.2 Principes d'action antimicrobienne des plasmas à pression atmosphérique

La propagation des jets de plasma dans l'air ambiant constitue un phénomène complexe, impliquant une diversité de mécanismes physico-chimiques et biologiques.

Les précédentes études indiquent que la génération d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) constitue le mécanisme central de l'action du plasma, et demeure à ce jour le plus largement étudié [116-118]. Ces espèces réactives sont à l'origine d'altérations moléculaires significatives, telles que l'oxydation des lipides membranaires, la dénaturation des protéines, ainsi que l'induction de dommages oxydatifs au niveau de l'ADN et de l'ARN. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) produites par les plasmas peuvent être classées en deux grandes catégories selon leur durée de vie. Les RONS à courte durée de vie (SL-RONS), sont hautement réactives et se recombinent rapidement (ns -  $\mu$ s). On trouve majoritairement  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{O}\cdot$ ,  $\text{NO}\cdot$ , ou encore  $\text{ONOO}^-$ . Les RONS à longue durée de vie (LL-RONS) possèdent une stabilité accrue, leur permettant de persister dans le milieu ambiant et d'être transportées sur des distances plus importantes (plusieurs dizaines de centimètres). Les principaux représentants incluent l'ozone ( $\text{O}_3$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), le nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) et le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). Leur temps de vie prolongé rend possible leur accumulation dans les milieux accueillant les micro-organismes.

Les photons UV issus du plasma constituent une autre composante bioactive, comme vu précédemment dans les configurations basse pression. Cependant, la production de photon UV-B et UV-C à pression atmosphérique est significativement plus faible. Leur action physique décrite précédemment ne joue un rôle significatif qu'à courte distance. Cependant ils participent à l'excitation des atomes de l'air et le milieu environnant et peuvent permettre la création d'espèces réactives [3,119].

Les jets plasma génèrent également des espèces chargées et de champs électriques capables de modifier les structures cellulaires [120-121]. Ils induisent notamment des phénomènes d'électroporation, facilitant la perforation et la restructuration des membranes. De plus, dans le cas des biofilms microbiens, le dépôt de charge compromet la cohésion de la matrice extracellulaire, fragilisant la structure du biofilm, augmentant la sensibilité des microorganismes aux espèces réactives.

Les bactéries sont majoritairement présentes dans des milieux liquides. Un traitement plasma de ces milieux permettent de modifier leur propriété : acidification locale induisant des perturbations osmotiques, ainsi que la création d'espèces réactives dans le milieu [122]. Ces changements de microenvironnement accentuent le stress subi par les cellules et microorganismes, contribuant à la perte de viabilité. Ces phénomènes s'additionnent aux effets oxydatifs et électromagnétiques précédemment décrits, créant un contexte défavorable à la survie microbienne.

L'ensemble de ces mécanismes agit de manière complémentaire, ce qui limite fortement l'émergence de résistance mais complexifie la compréhension du rôle des mécanismes énoncés.

Enfin, l'application du plasma froid à pression atmosphérique aux milieux liquides conduit à la production d'eau traitée par plasma, caractérisée par une forte teneur en espèces réactives stables telles que  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ce type de solution, pouvant être utilisé sous forme de bain ou de spray, offre une approche particulièrement prometteuse (facilement manipulable et stockable) pour des applications biomédicales et thérapeutique [123-125], mais ne sera pas approfondi dans cette thèse.

Le plasma froid à pression atmosphérique s'impose comme une méthode de désinfection polyvalente et durable, efficace sur une grande variété de micro-organismes et de supports sensibles. Ses atouts (fonctionnement à froid, absence de résidus, activation des surfaces) en font un complément crédible, voire un substitut, aux méthodes UV, chimiques et thermiques dans de nombreux cas.

En outre, la polyvalence des jets plasma ouvre des perspectives intéressantes pour les missions spatiales, où les environnements sont confinés et isolés, avec des ressources limitées et un accès restreint aux méthodes classiques de stérilisation ou de traitement. Dans ces conditions, la capacité des jets plasma à assurer la désinfection de surfaces, d'instruments, de liquides ou d'air, ainsi qu'à traiter des tissus biologiques *in situ*, représente un avantage stratégique majeur. Cette technologie pourrait également jouer un rôle crucial dans la protection contre des microorganismes inconnus ou extraterrestres, dont la présence éventuelle dans des échantillons ou environnements extraterrestres reste à explorer. Ainsi, l'adaptabilité et l'efficacité des jets plasma en font un outil prometteur pour garantir la sécurité biologique et la durabilité des missions spatiales.

# Chapitre 2 Matériels et méthodes

## 2.1 Présentation du jet plasma ou Plasma Gun

Dans le cadre de ce projet, le plasma froid à pression atmosphérique est produit à l'aide d'un dispositif de jet plasma développé par l'équipe du GREMI, le Plasma Gun (PG). Cette source à décharges à barrière diélectrique (DBD) coaxiale, permet de délivrer, en sortie de réacteur, une plume plasma stable dans l'air ambiant, adaptée au traitement de surface. Le plasma gun est constitué de deux systèmes : le réacteur et l'alimentation.

### 2.1.1 Réacteur

Dans ces travaux, le réacteur du PG a été modifié pour des raisons de résistances mécaniques liées aux contraintes imposées par les vols paraboliques : le capillaire (originellement en quartz ou borosilicate) est maintenant intégré au corps du réacteur. Les deux sont fabriqués en thermoplastique PEEK® (Polyether Ether Ketone, RS PRO 514-770). Le schéma descriptif du réacteur est présenté en Figure 5.

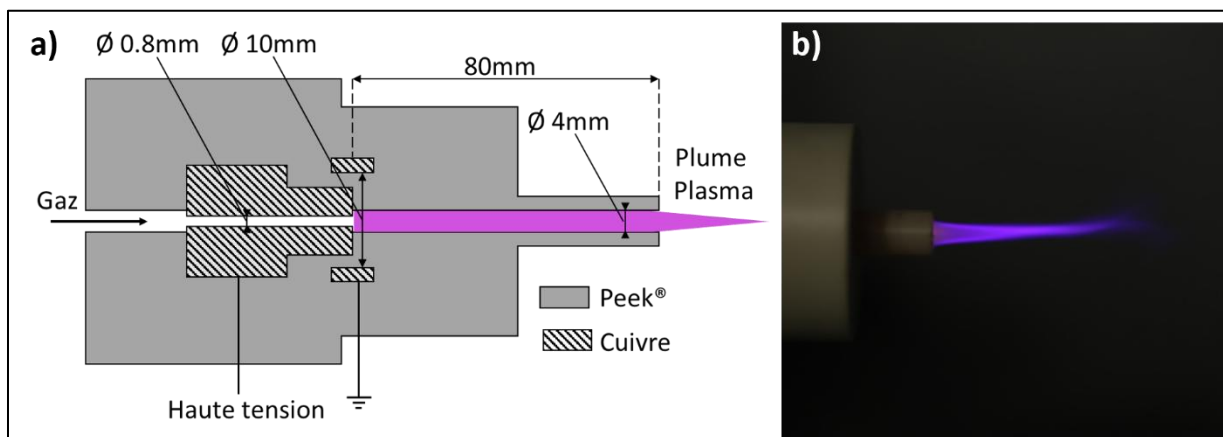


Figure 5: a) Schéma du réacteur du Plasma Gun, b) Plasma Gun en fonctionnement.

Le réacteur est équipé d'une électrode haute tension (HT) creuse de 0,8 mm de diamètre intérieur et d'une électrode annulaire mise à la terre, d'une largeur de 10 mm, séparées par une épaisseur de diélectrique en PEEK. L'extrémité de l'électrode HT coïncide avec le centre de l'électrode annulaire mise à la terre, dite de masse. La distance entre l'électrode de masse et la sortie du capillaire diélectrique est de 80 mm. Les diamètres intérieur/extérieur du capillaire sont respectivement de 4 et 6 mm. La décharge plasma est générée dans le réacteur, au niveau des électrodes puis se propage dans le capillaire où la plume plasma sort dans l'air ambiant. Le réacteur est alimenté en mélange Hélium-Dioxygène avec un débit de 1 L.min<sup>-1</sup>. La concentration de dioxygène est comprise entre 0 et 2 %.

### 2.1.2 Alimentation électrique du PG

L'alimentation électrique du PG a été développée au laboratoire du GREMI et permet de délivrer des impulsions de haute tension de forme gaussienne avec des durées de l'ordre de

la microseconde, et délivrées à des fréquences de quelques kHz. La Figure 6 présente les profils de tension et de courant d'une impulsion de 7 kV à 20 kHz. L'impulsion a une largeur de 2  $\mu$ s.

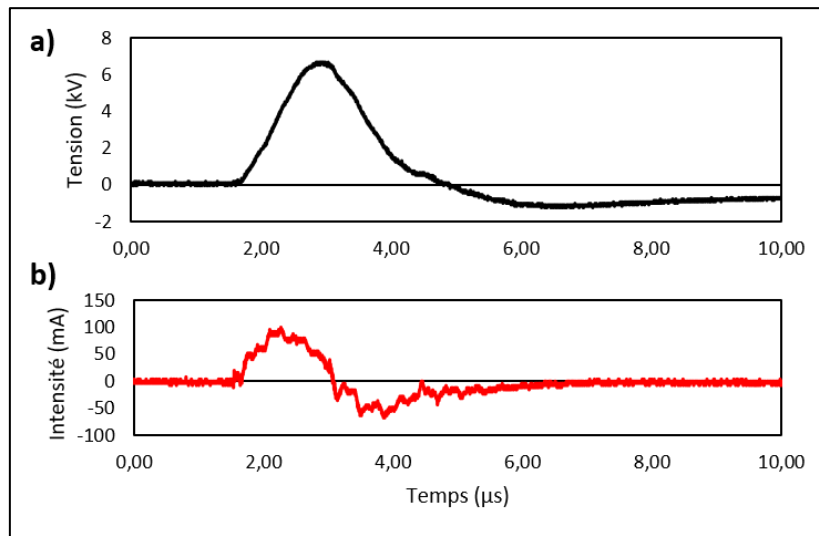


Figure 6: Exemple de profils de tension a) et de courant b) mesurés à la sortie haute tension de l'alimentation électrique. Montage de mesure présenté en partie 2.2.1.

Au cours de ce projet, un logiciel de contrôle de l'alimentation électrique du PG a été développé pour simplifier la manipulation et les réglages de l'alimentation, dont l'interface utilisateur est présentée en Figure 7. Cette interface permet d'automatiser chaque expérience et ainsi d'améliorer la reproductibilité des expériences.

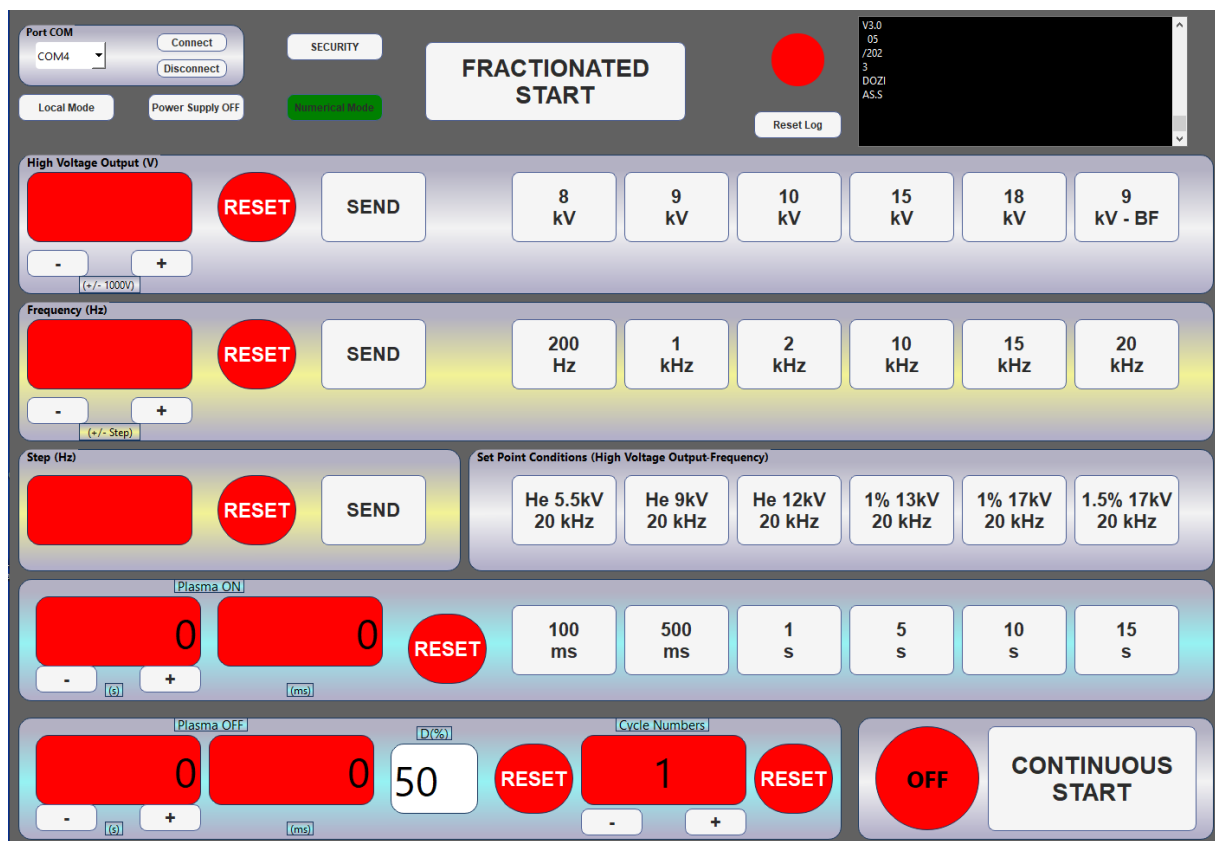


Figure 7: Interface utilisateur du logiciel de contrôle du générateur du plasma gun.

Le logiciel assure la communication avec l'alimentation afin de contrôler la tension appliquée ainsi que la fréquence des impulsions. Le bouton « CONTINUOUS START » permet de délivrer des impulsions à la fréquence et à la tension sélectionnées, de manière continue, jusqu'à l'activation du bouton « OFF » qui met fin à l'activation des impulsions électriques. Le logiciel offre également la possibilité de définir un cycle de fonctionnement, illustré en Figure 8, qui peut être exécuté via la commande « FRACTIONATED START » et dont les paramètres du cycle et le nombre de cycles sont réglables.

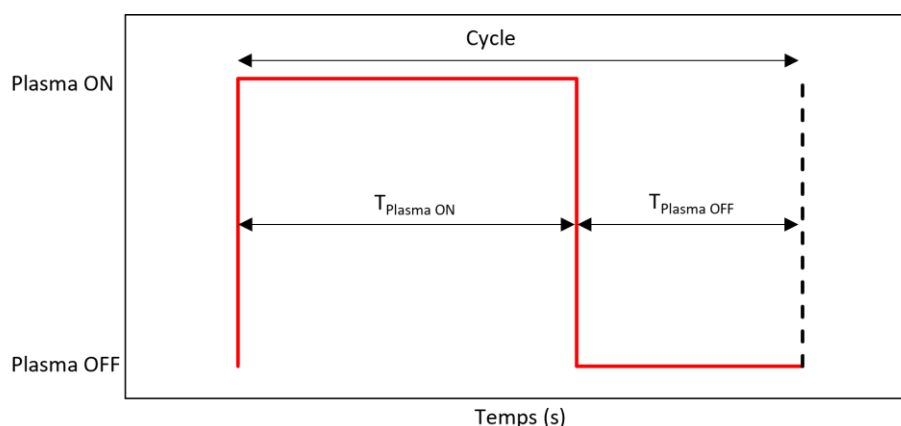


Figure 8: Répétition du cycle de travail contrôlé par le logiciel de control de l'alimentation du plasma gun.

Afin de pouvoir utiliser cette alimentation dans le cadre des vols paraboliques, une mesure des champs électromagnétiques émis par l'alimentation a été réalisée, et est présenté en Annexe-A.

## 2.2 Caractérisation du Plasma

### 2.2.1 Mesures de tensions et de courants

Les mesures électriques de tensions et de courants ont été réalisées pour calculer les énergies consommées par la décharge électrique et déposée par le plasma sur la cible traitée. Le schéma du montage des mesures électriques est présenté en Figure 9. Les différentes mesures électriques ont été enregistrées via un oscilloscope *Tektronix® MDO3000*.

La tension délivrée au réacteur est mesurée grâce à une sonde haute tension *Tektronix® P6015A* reliée à l'oscilloscope. Elle est connectée au câble haute tension en sortie de l'alimentation, ainsi qu'à sa masse. Les différents courants sont mesurés grâce à des sondes *PEARSON® 6585* reliées à l'oscilloscope. Un schéma de connections et des sondes est reporté en Figure 9.

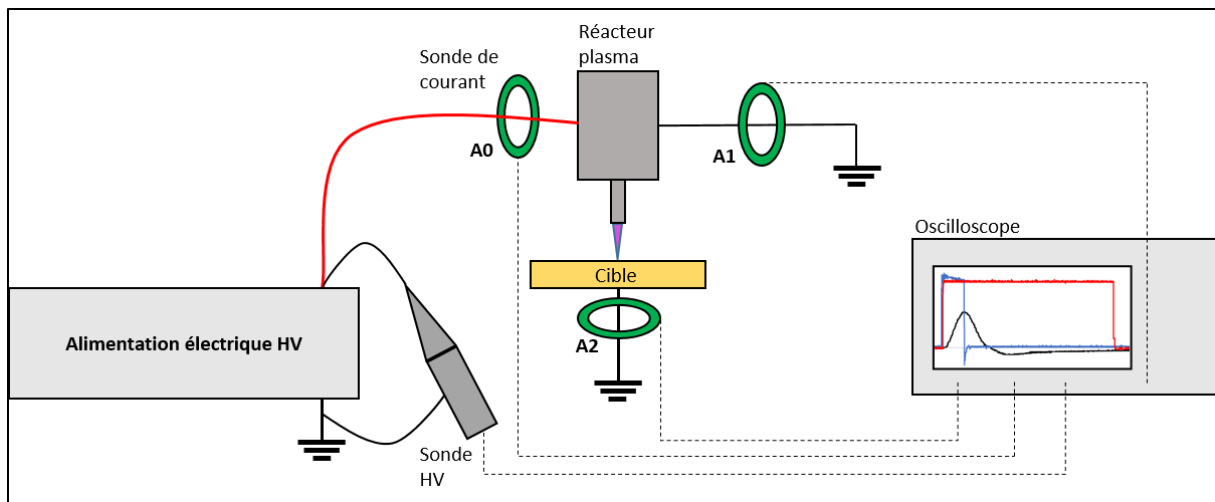


Figure 9: Montage expérimental des mesures électriques.

La sonde A0 mesure le courant en sortie d'alimentation. La sonde A1 mesure le courant au niveau de l'électrode de masse du réacteur, permettant ainsi de calculer la puissance délivrée dans le plasma. Celle-ci correspond à la différence entre la puissance délivrée par l'alimentation et la puissance mesurée à la masse du réacteur (soit  $A0-A1$ ). Enfin, la sonde A2 permet de mesurer la puissance effectivement transférée à la cible par la plume plasma. Pour les cibles non conductrices, un anneau en laiton de 80 mm de diamètre, relié à la masse et centré par rapport à l'axe du jet, est placé sur leur surface. La puissance mesurée correspond alors à la charge électrique déposée sur la cible par le plasma et collectée par cet anneau.

La puissance instantanée est ensuite calculée en multipliant la tension par le courant instantané. L'énergie est ensuite calculée en intégrant la puissance calculée pour une impulsion unique, puis multipliée par la fréquence des impulsions.

## 2.2.2 Présentation et caractéristiques des diagnostics optiques

### Acquisitions ICCD résolues en temps et filtrées

Une caméra ICCD, modèle *PIMAX3 Princeton Instrument®* est déclenchée au début de l'impulsion haute tension délivrée par le générateur de plasma (courbe noire dans la Figure 10) par un signal envoyé par l'alimentation (courbe bleue dans la Figure 10). Le mode d'acquisition est répétitif avec une ouverture du capteur de  $10\ \mu\text{s}$  (courbe rouge dans la Figure 10). Les mesures ICCD consistent donc en des images instantanées intégrées sur toute la durée d'une seule impulsion de tension.

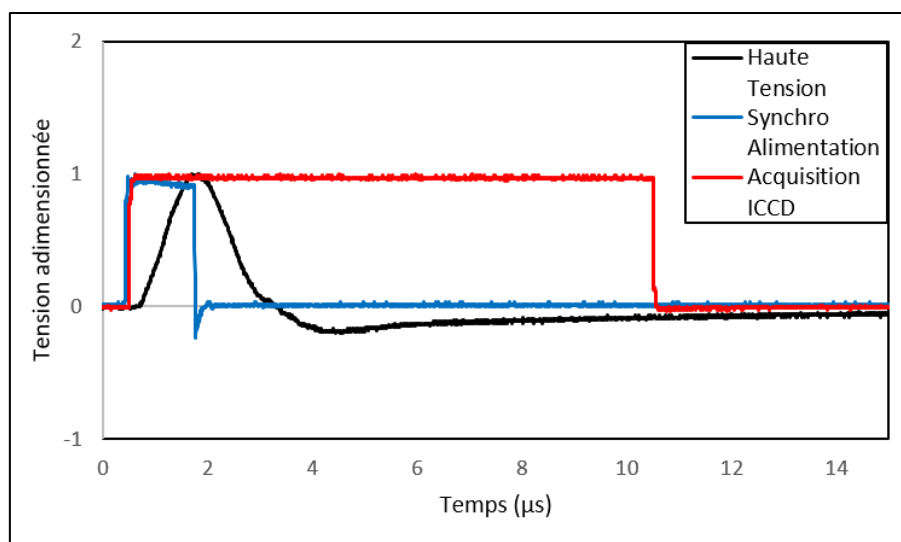


Figure 10: Déclenchement et visualisation de l'ouverture du capteur de la camera ICCD par l'alimentation du Plasma Gun.

La caméra ICCD a également été couplée à des filtres optiques *Semrock*® (Tableau 3) pour observer des transitions d'espèces spécifiques afin d'étudier leur distribution spatiale. Dans cette configuration, on utilise un objectif UV *CERCO*® 2178, ayant une bande passante de 190 à 900 nm.

Tableau 3: Spécifications des filtres optiques (longueur d'onde centrale et bande passante)

| Longueur d'onde centrale (nm) | Bande-passante (nm) |
|-------------------------------|---------------------|
| 711                           | 25                  |
| 650                           | 100                 |
| 239                           | 25                  |
| 777                           | 12                  |
| 307                           | 10                  |

### Montage Schlieren

Nous avons utilisé un montage optique de type Schlieren basé sur les différences des indices de réfraction de l'hélium et de l'air. Cette mesure permet de visualiser l'écoulement d'hélium dans l'air ambiant avec et sans allumage du plasma. Le montage Schlieren, présenté en Figure 11, comprend une source lumineuse ponctuelle placée au foyer d'une première lentille convergente de focale 150 mm et de 75 mm de diamètre. Une deuxième lentille identique vient compléter le montage optique. Le réacteur plasma et la zone analysée sont placés entre les deux lentilles là où le faisceau est collimaté. Après la deuxième lentille, le faisceau est focalisé sur une lame de rasoir orienté horizontalement, servant à bloquer partiellement la lumière et à traduire les variations d'angle (due aux différences des indices de réfraction) en contrastes d'intensité. L'image est ensuite formée sur un capteur CMOS haute résolution d'une caméra haute vitesse de modèle *FASTCAM Mini AX100 Photron*®. Les acquisitions sont effectuées en mode vidéo à 500 images par seconde, puis traitées numériquement pour améliorer le contraste.

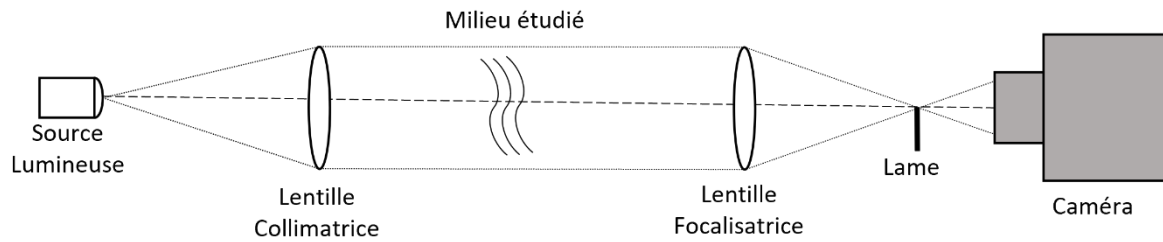


Figure 11: Schéma explicatif d'un montage Schlieren.

### 2.2.3 Présentation et caractéristiques des diagnostics thermiques

#### *Caméra Infrarouge à faible résolution spatiale*

La caméra infrarouge *FLIR® E5* a été utilisée pour mesurer la température de surface de la cible. Des caméras similaires en termes de résolution temporelle et spatiale sont utilisées par de nombreux groupes étudiant l'interaction du plasma non thermique avec diverses cibles [126-128]. Elle est équipée d'un détecteur non refroidi avec une résolution de 160x240 pixels. Sa fréquence d'échantillonnage peut atteindre 9 Hz.

#### *Thermomètre à fibre optique*

La fibre optique *OPTOCON® FOTEMP1-4* a également été utilisée pour mesurer la température de surface de la cible. L'extrémité de la fibre, la sonde, est constitué d'arséniure de gallium (GaAs) qui possède une bande passante translucide (centrée à 850nm) qui varie avec la température. La longueur de la sonde est de 1cm et son diamètre est de 1mm. Elle est positionnée à la surface de la cible dans un souci de non-invasivité. La fréquence d'acquisition de la température à l'extrémité de la fibre optique est de 4 Hz.

#### *Caméra Infrarouge à haute résolution spatiale et temporelle*

La température de surface du substrat est déterminée à l'aide d'une caméra *Infratec ImageIR® 9400*, équipée d'un détecteur refroidi de 1280x1024 pixels de 10x10  $\mu\text{m}$ . La caméra enregistre la surface supérieure de la cible exposée au jet de plasma et a été réglée avec un angle d'incidence de 60 degrés. Les caractéristiques de la caméra permettent de mesurer la température avec une très haute résolution spatiale. Le taux de transfert d'images plein cadre peut atteindre 100 Hz ce qui est suffisant pour fournir une caractérisation représentative du phénomène de conduction qui est assez lent [129]. Cette caméra a été utilisée par notre équipe du GREMI dans le cadre d'une collaboration avec l'Université Paris Nanterre, lors de la dernière année de thèse.

### 2.2.4 Diagnostics pour l'identification et la distribution des espèces

#### *Spectroscopie d'émission*

Les mesures spectroscopiques ont été réalisées afin d'analyser l'émission lumineuse de plume plasma générée par le PG. La lumière émise par la plume a été collectée à l'aide d'une fibre optique multimode (diamètre de cœur 1000  $\mu\text{m}$ , NA 0,22) positionnée perpendiculairement à l'axe du jet, à une distance de 2 mm de la sortie du capillaire. La fibre est connectée à un spectromètre *Maya 2000Pro Ocean Optics®* à réseau de diffraction de plage spectrale 175–

1100 nm, avec une résolution 0,1 nm. Les acquisitions ont été réalisées avec un temps d'intégration de 10  $\mu$ s, et chaque spectre final correspond à la moyenne de 10 mesures consécutives pour réduire le bruit. Les données brutes ont été corrigées du bruit de fond.

#### *Mesure d'ozone*

Un ozonomètre (analyseur d'ozone *In-2000 locon*®) a été utilisé pour mesurer la production d'ozone. L'ozonomètre aspire en continu le gaz à travers un tube flexible en polytétrafluoroéthylène à un débit de 1,5 L.min<sup>-1</sup> vers une cellule d'absorption afin de mesurer la concentration d'ozone. L'extrémité du tube d'aspiration a été placée à proximité de la plume plasma ou du point d'impact de la plume plasma sur une cible.

#### *Iodure de potassium (KI)–amidon*

La détection et la cartographie qualitative des espèces oxydantes déposées et/ou générées par le traitement plasma à la surface de la cible ont été réalisées à l'aide d'un indicateur colorimétrique à base d'iodure de potassium–amidon (KI–starch). Des plaques d'agar-agar, préparées à partir d'un mélange standard contenant 3 % de KI et 4 % d'amidon, ont été exposées au Plasma Gun (PG). Sous l'action des espèces oxydantes présentes à la surface de la gélose, les ions iodure ( $I^-$ ) sont oxydés en iode ( $I_2$ ), lequel forme avec l'amidon un complexe bleu foncé, comme illustré en Figure 12 [130] dans laquelle la gélose de KI-starch réagit à des gouttes de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). L'apparition et l'intensité de cette coloration constituent un traceur qualitatif non sélectif de la distribution spatiale des espèces oxydantes induites par le traitement plasma.

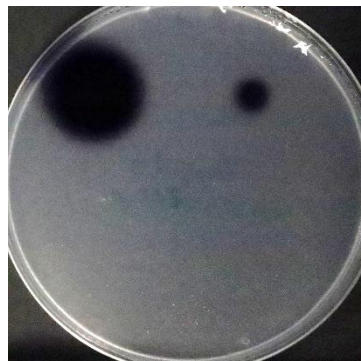


Figure 12: Gélose d'iodure de potassium–amidon réagissant à des espèces oxydantes (peroxyde d'hydrogène).

## 2.3 Expériences SAFE: plaSma gun therApy under zero-gravity parabolic Flight conditions Experiments

### 2.3.1 Vols paraboliques

Les conditions d'apesanteur sont obtenues à bord d'un Airbus A310 lors de l'exécution de vols paraboliques. L'appareil suit alors une trajectoire balistique, illustrée en Figure 13. Chaque parabole se décompose en trois phases. Dans un premier temps, l'avion accélère et augmente son angle d'incidence jusqu'à environ 50°. Au cours de cette phase, les passagers et les objets

à bord subissent une accélération verticale proche de 1,8 g. La deuxième phase correspond à l'apesanteur proprement dite et dure environ 22 s. Enfin, l'avion retrouve ses conditions de vol de croisière standard après une phase de ressource. Durant cette phase, l'accélération ressentie correspond de nouveau à une valeur proche du double de la gravité terrestre.

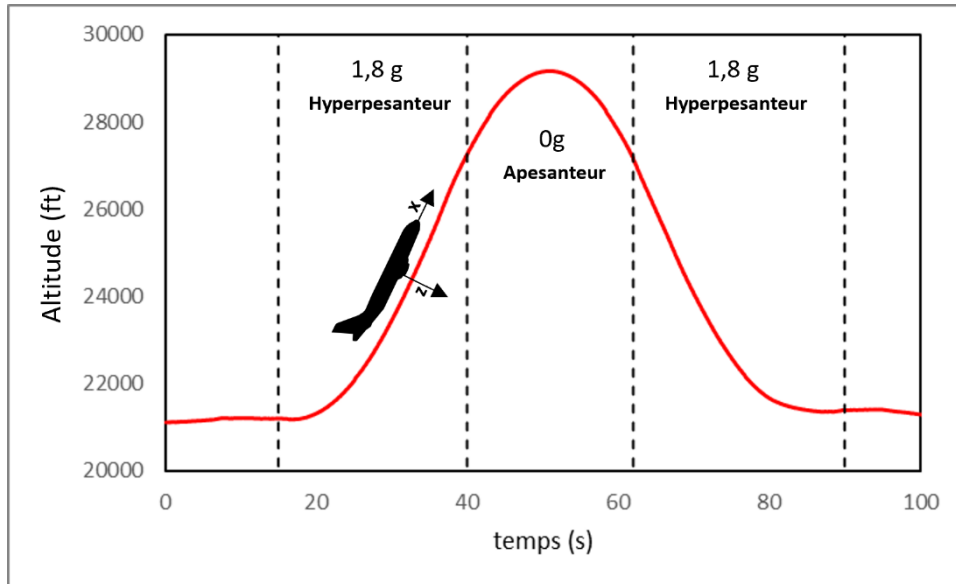


Figure 13: Exemple de trajectoire parabolique et ses différentes phases de pesanteur.

Les données accélérométriques d'une parabole sont fournies par Novespace et présentées en Figure 14.

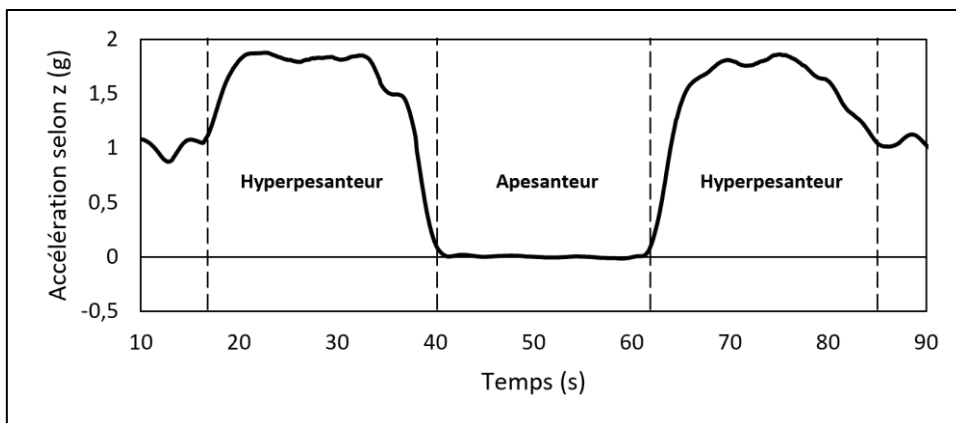


Figure 14: Exemple du profil de l'accélération subie dans l'avion pendant une parabole.

Seulement 20 s sur les 22 s d'apesanteur sont réellement exploitables pour chaque parabole, cela s'explique par les transitions de début et de fin de phase d'apesanteur qui ne peuvent pas être réellement comptabilisées. De plus, pendant le vol, la cabine est pressurisée à 0,85 atm, et le taux d'humidité est de 15 % [131].

*La condition d'apesanteur et de pression cabine (0,85 atm), sera dans la suite du manuscrit nommée « condition 0g ».*

Une campagne de vols paraboliques organisée par Novespace dure trois jours et comprend 31 paraboles par jour, pour un total de 31 minutes d'apesanteur.

### 2.3.2 Bâtis expérimentaux

Toute expérience embarquée lors d'une campagne de vols paraboliques doit se conformer à des normes de sécurité très strictes définies par Novespace. Par exemple, la structure des racks contenant les dispositifs expérimentaux doit être conçue de manière à résister à un atterrissage d'urgence avec une accélération de 9 g. C'est dans ce cadre que l'équipe du GREMI a conçu un bâti expérimental spécifique, présenté en Figure 15.

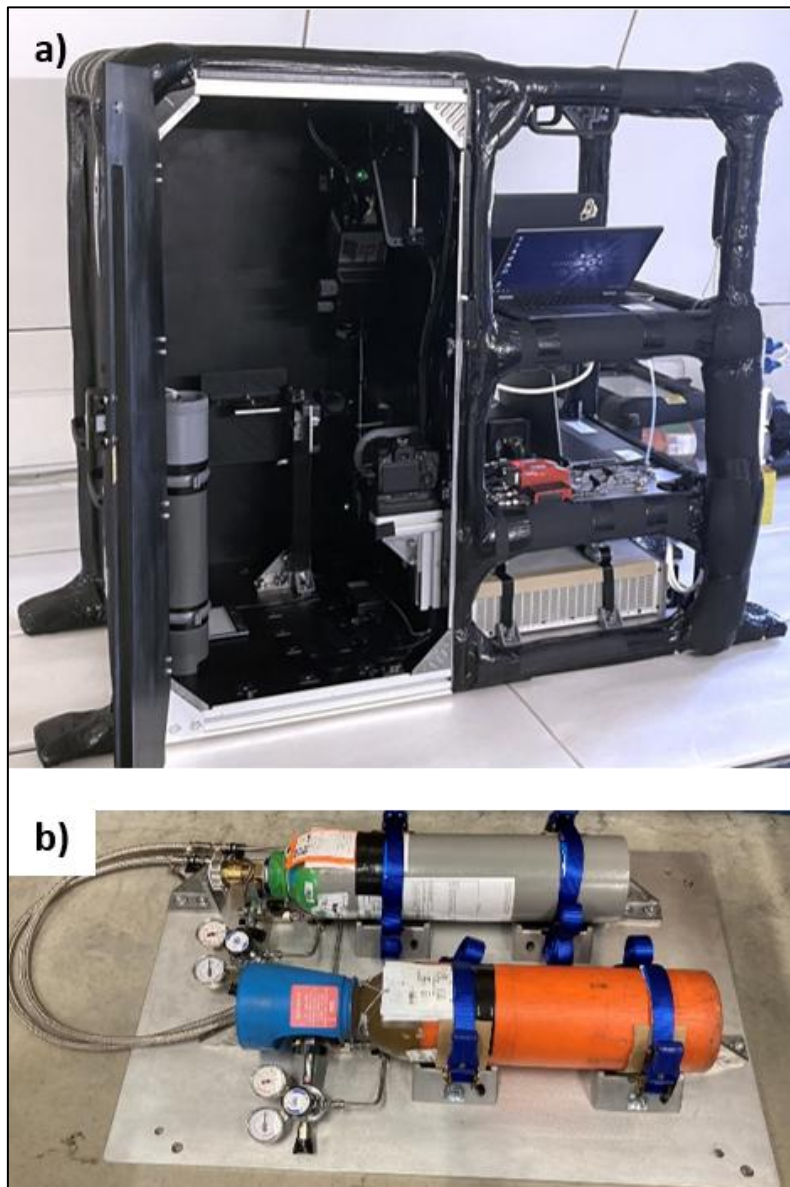


Figure 15: Bâtis expérimentaux. a) Bâti principal (PG, diagnostics et contrôle). b) Bâti secondaire (fixation bouteille de gaz).

Afin de supporter ces conditions environnementales extrêmes, ce bâti a été développé par notre équipe au GREMI en collaboration avec Novespace. La conception initiale, les modifications successives du bâti, ainsi que l'adaptation de l'agencement des équipements au

fil des différentes campagnes, ont constitué une tâche particulièrement chronophage de cette thèse. La structure du rack, la conception des modules expérimentaux et les fixations des instruments ont été dimensionnées conformément aux normes et restrictions de sécurité de Novespace [132]. Les différents équipements ont dû être répartis en s'assurant de respecter les marges de sécurité des charges linéaires induites par le centre de gravité du bâti, tout en respectant les contraintes imposées par les équipements (distances focales, ...). Le dispositif expérimental est composé d'un bâti expérimental principal, Figure 15.a), et d'un secondaire, Figure 15.b), permettant la fixation des bouteilles de gaz.

Le bâti principal a pour dimension 1250x650x1200 mm, pèse 195 kg, et est composé d'une partie confinée et d'une partie non confinée composée de trois étages. L'expérience est divisée en 4 sous-dispositifs : le Plasma Gun, le circuit de gaz, les diagnostics et les équipements de contrôle et d'acquisition. Le traitement des différentes cibles par le PG et les diagnostics de la plume plasma sont effectués dans la partie confinée, afin d'empêcher la fuite d'échantillons biologiques du bâti lors des phases Og.

### 2.3.3 Dispositif 1 : Plasma Gun

Comme décrit précédemment, le PG est composé de son alimentation et du réacteur. Afin de respecter les normes de sécurité imposées par Novespace, un système Interlock a été mis en place qui permet de couper la haute tension délivrée par l'alimentation lorsqu'au moins une des deux portes de la partie confinée est ouverte. La haute tension doit ensuite être enclenchée manuellement une fois les portes verrouillées. Afin de traiter les cibles dans la zone confinée ou de caractériser la plume, le capillaire du réacteur est inséré dans cette zone via un orifice dans la paroi latérale du confinement, comme montré en Figure 16. Le câble de haute tension connectant le réacteur à l'alimentation mesure 35 cm.

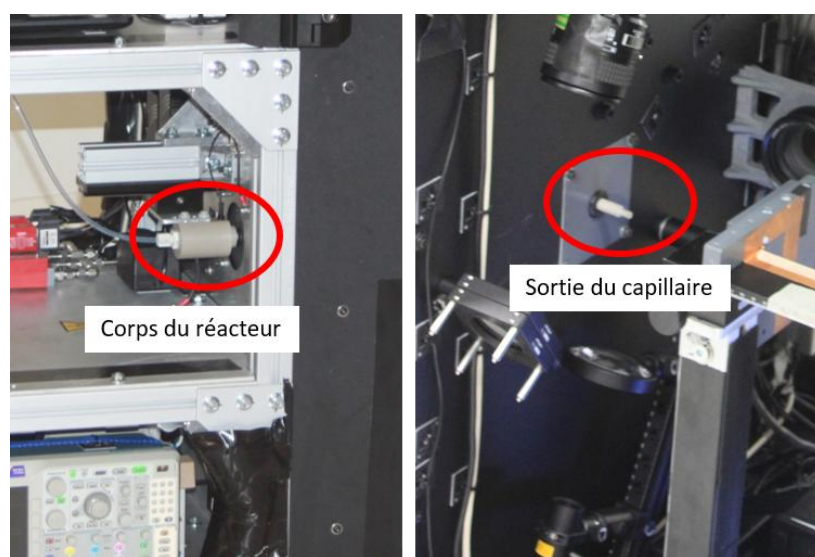


Figure 16: Placement du réacteur plasma dans le bâti expérimental.

### 2.3.4 Dispositif 2 : Circuit gaz

Le Plasma Gun est alimenté en gaz par deux bouteilles au format B5, C1 et C2 dans la Figure 17. Une bouteille contient de l'hélium pur (Air Liquide He N55) et la seconde un mélange hélium-2%dioxygène (Air Liquide MC O2/He-UN1956). Afin de respecter les normes de sécurité imposées par Novespace®, deux soupapes de surpression, RV, pour respecter la double sécurité liée aux normes de sécurité, sont placées après chaque détendeur, PR, et réglées à 5 bars. Le bâti secondaire est ensuite relié au bâti principal par des flexibles en inox. La concentration finale de dioxygène dans le mélange est contrôlé via deux débitmètres (Red-y GSC-B9KA-FF23 Vögtlin®) contrôlés par ordinateur, MFC2 et MFC3. Les débitmètres MFC1 et MFC4, sont des débitmètres manuels (Red-y GCR-A9SA-BA15 Vögtlin®) de secours. Enfin, la résistance du réacteur a été testée à 7,5bar.

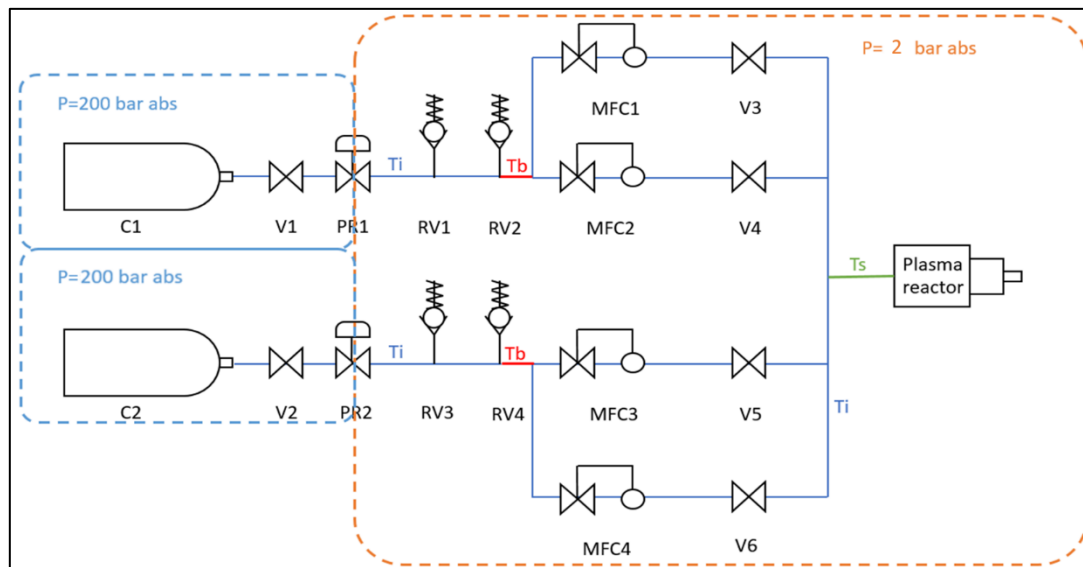


Figure 17: Dispositif 2 du bâti expérimental : circuit gaz.

### 2.3.5 Dispositif 3 : Diagnostics

Les équipements de diagnostics sont situés sur une plaque verticale séparant la partie confinée de la partie ouverte du bâti expérimental. Les diagnostics et leur disposition ont évolué avec les différentes campagnes, comme présenté en Figure 18. La conception des montages optiques a constitué un challenge, consistant à trouver une configuration respectant à la fois les distances focales requises par les différents instruments et la contrainte d'un centre de gravité bas. En effet, les dimensions et la masse du bâti étaient strictement limitées : emprise au sol de  $1\,250 \times 650\text{ mm}^2$ , hauteur maximale de 1 200 mm et masse totale de 200 kg. De plus, la hauteur du centre de gravité devait rester sous les marges de sécurité imposées par Novespace. La répartition détaillée des masses, la marge de sécurité associée au centre de gravité et l'estimation des charges linéaires sont présentées en Annexe B.

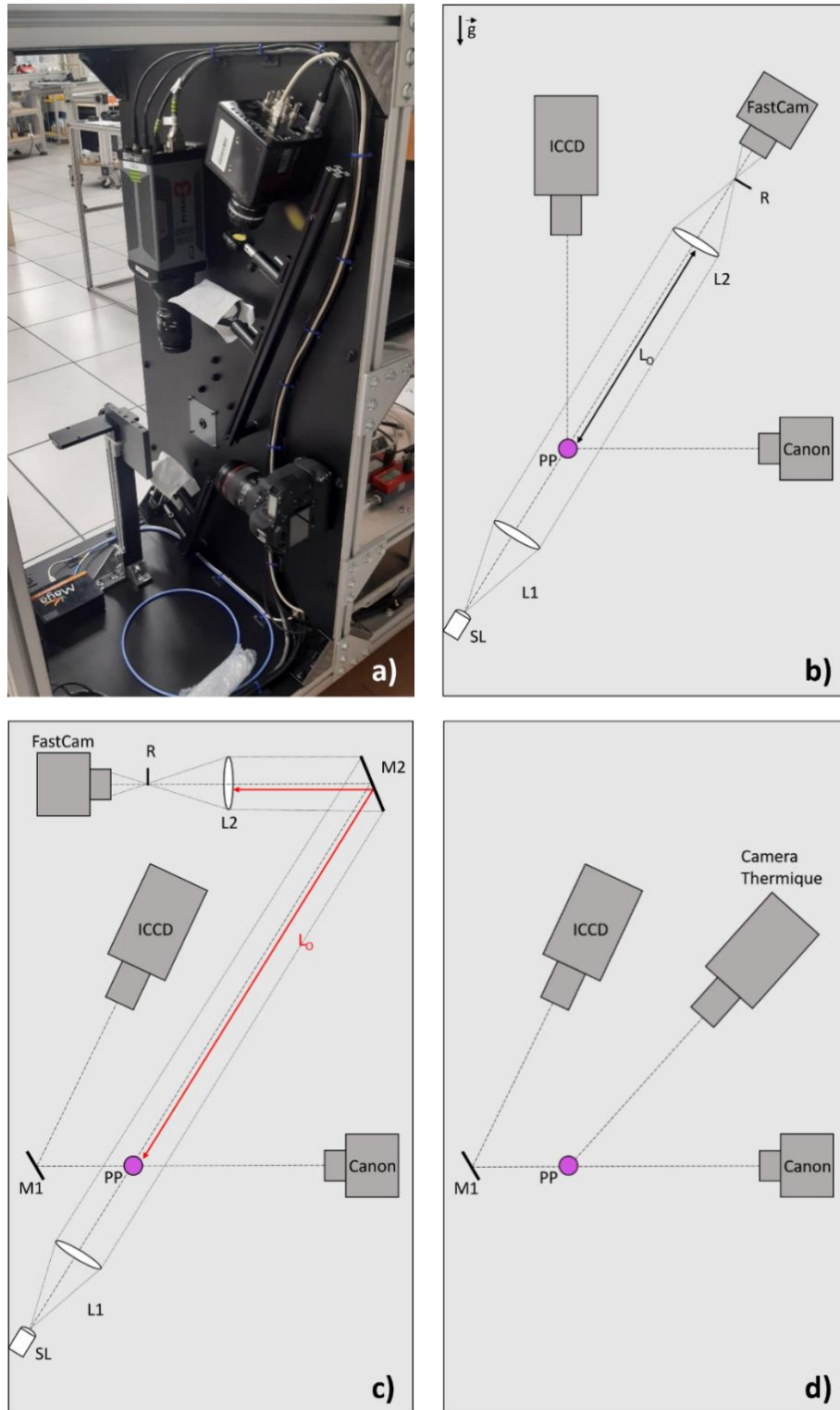


Figure 18: Evolution de la disposition des diagnostics au cours des campagnes de vols paraboliques. a) Photo du montage des diagnostics optiques, b) Schéma du montage des diagnostics optiques de la campagne 1 .c) Schéma du montage des diagnostics optiques des campagnes 2,3,4,5, d) Schéma du montage des diagnostics optiques de la campagne 6. (SL=source lumineuse, L=lentille, PP=plume plasma,  $L_o$ =longueur chemin optique, R=lame de rasoir, M=miroir)

Lors de la première campagne, une camera ICCD, un appareil photo et un montage Schlieren ont été sélectionné afin de caractériser la plume plasma. Le montage optique est présenté en Figure 18.a) et b). L'appareil photo filme la plume plasma sur le côté et la camera ICCD collecte

des images de la plume plasma par le dessus. Le montage Schlieren est positionné en diagonal afin d'avoir un chemin optique post-plume ( $L_0$  dans Figure 18.b)) le plus long possible pour augmenter le contraste de l'imagerie Schlieren. Cependant, la cabine étant en pression réduite, le contraste n'était pas suffisant pour exploiter les vidéos obtenues dans cette configuration. Le montage optique a donc évolué sur la campagne de vols paraboliques suivante, dans Figure 18.c), pour augmenter le chemin optique du montage Schlieren, notamment grâce à un miroir, permettant ainsi d'exploiter les acquisition Schlieren. La caméra ICCD a dû être déplacée pour filmer la plume selon l'axe horizontal, via un miroir UV. Ce montage est celui utilisé pour les campagnes de vols 2 à 5.

Lors de la dernière campagne, le montage Schlieren a été remplacé par une caméra thermique, Figure 18.d).

### 2.3.6 Dispositif 4 : contrôle / Acquisition

Le dernier système correspond aux différents équipements de contrôles (trois ordinateurs portables), d'alimentation et d'acquisition (oscilloscope). Ils se situent dans les étages de la partie non confinée.

### 2.3.7 Conditions de pression réduite

Comme mentionné précédemment, la cabine de l'avion présentait une pression réduite par rapport à la pression atmosphérique standard. Afin de déterminer si les effets observés étaient liés à l'apesanteur ou à la variation de pression, des séries d'expériences complémentaires ont été réalisées en conditions terrestres (1 g) mais à pression réduite (0,85 atm). Pour ce faire, nous avons utilisé le même bâti expérimental dans la station météorologique de Pierre-sur-Haute, à 1 400 m d'altitude, où la pression ambiante est proche de celle mesurée dans la cabine des vols paraboliques. Cette démarche a permis de dissocier l'influence de la microgravité de celle de la pression sur le comportement du plasma et sur l'efficacité de la décontamination.

## 2.4 Bactéries

### 2.4.1 Souches

#### *E.coli BSL1*

Les bactéries utilisées proviennent d'une souche d'*E.coli* k12 (CIP54 117) non pathogène et non résistante fournie par l'Institut Pasteur, largement étudiée en laboratoire. Cette bactérie de classe BSL1 peut être manipulée dans les laboratoires de microbiologie au GREMI et dans les locaux de Novespace et peut être utilisée lors des campagnes de vols paraboliques.

#### *Souches multirésistantes*

Les souches BMR ont toutes une classe de sécurité biologique supérieure ou égale BSL2. De ce fait, elles n'ont été manipulées que dans le laboratoire du SPRI au CHUO. Les souches étudiées proviennent de souches fournies par l'Institut Pasteur :

- *E.coli productrices New Delhi Métallo- $\beta$ -lactamases (ECNDM)*,
- *S.aureus résistant à la méticilline(SARM)*,
- *K.pneumoniae productrices Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)*,
- *E.faecium résistants à la vancomycine (ERV)*.

#### 2.4.2 Dispositif expérimental utilisé au Centre Hospitalier Universitaire d'Orléans (CHUO)

Dans le cadre des traitements des BMR au CHUO, un double du générateur, du câble haute tension et du réacteur ont été installés dans le laboratoire du SPRI. A l'instar du bâti expérimental des vols paraboliques, le PG est alimenté en gaz par deux bouteilles de gaz : une contenant de l'hélium pur et la seconde un mélange hélium-2%dioxygène. Le mélange est contrôlé par deux débitmètres.

#### 2.4.3 Milieux de culture

Plusieurs milieux de culture non restrictifs ont été utilisés. Un milieu de type Luria-Bertani (LB *Lennox Condolab*®) a été utilisé sous forme liquide et solide. Enfin, un milieu de type trypticase-soja fourni par le CHUO a été utilisé sous forme solide pour la culture sur boîte des BMRs.

*Par la suite, les milieux de culture à l'état solide seront nommés « gélose ».*

#### 2.4.4 Protocole culture et d'ensemencement de boîte de Pétri

Les bactéries sont inoculées dans 5 mL de milieu nutritif LB. La solution est ensuite agitée pendant 12 heures à 37 °C dans un incubateur jusqu'à atteindre une concentration de  $10^8$  bactéries.mL<sup>-1</sup>.

L'inoculation de la boîte de Pétri est effectuée par inondation. 100  $\mu$ L de la suspension bactérienne initiale sont inoculés dans 5 mL de milieu liquide, sur la gélose. Nous laissons les bactéries se déposer pendant 10 minutes avant d'éliminer l'excès de liquide, puis nous les laissons sécher pendant 20 minutes dans une armoire sous flux laminaire.

Dans le cas des *E.coli*, le traitement au plasma a été effectué dans l'heure suivant l'inoculation, donc pendant la phase latente de la croissance bactérienne, et quatre heures après l'inoculation, afin de correspondre à la phase de croissance exponentielle.

Après le traitement, les boîtes de Pétri ont été placées dans un incubateur à 37 °C pendant 12 heures.

#### 2.4.5 Mesure de la densité Bactérienne par densité optique (OD)

Pour connaître la densité bactérienne en milieu liquide, on mesure l'absorption à une longueur d'onde de 600 nm de la solution inoculée. Deux spectromètres ont été utilisés pour la mesure de la densité optique (OD) : le spectrophotomètre *7205-Jenway*® et l'analyseur de plaque *VICTOR Nivo*®.

### 2.4.6 Calibration phase de croissance

Une étude de la cinétique de croissance *E.coli* a été réalisée afin d'identifier ses différentes phases de croissance. La souche a d'abord été pré-cultivée pendant 24 h à 37 °C sous agitation. Cette pré-culture a ensuite servi à inoculer 10 mL de milieu liquide LB, incubé à 37 °C sous agitation. La croissance a été suivie sur une période de 20 h, avec un prélèvement de 100  $\mu$ L de solution toutes les demi-heures. La densité optique des échantillons a été mesurée à l'aide d'un analyseur de plaques Victor. La Figure 19 illustre la courbe de croissance obtenue et met en évidence les différentes phases observées.

Par la suite, les traitements en phase latente sont réalisés dans l'heure suivant l'ensemencement, tandis que les traitements en phase exponentielle correspondent à un traitement effectué quatre heures après l'ensemencement, sur des géloses incubées à 37 °C.

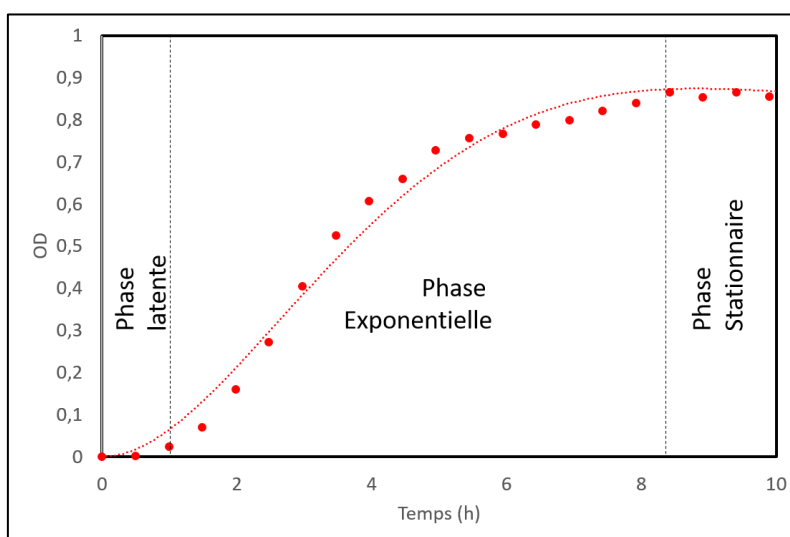


Figure 19: Courbe de croissance *E.coli* et ses différentes phases.

### 2.4.7 Analyse qualitative de la surface d'inhibition

Après traitement, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 12 heures, des conditions favorables à la croissance bactérienne permettant la multiplication cellulaire et la formation d'un tapis dense et opaque à la surface de la gélose (Figure 20.a). À la suite d'un traitement plasma, les bactéries inactivées ne se développent pas, ce qui se traduit par l'apparition d'une zone dépourvue de tapis bactérien, dite zone d'inhibition (Figure 20.b). L'analyse de ces zones d'inhibition sera détaillée dans la section 4.1.2.

Afin de caractériser quantitativement ces zones, les photographies des boîtes de Pétri ont été analysées par traitement d'image sous MATLAB. Le principe de l'analyse consiste à exploiter le contraste entre la zone colonisée par les bactéries, visuellement dense et granuleuse, et la zone d'inhibition où la croissance bactérienne est absente ou fortement réduite. Les images acquises ont d'abord été prétraitées (recadrage de la boîte, normalisation de l'intensité et

conversion en niveaux de gris) afin de réduire l'influence des conditions d'éclairage et d'améliorer la détection des structures bactériennes. Une étape de seuillage d'intensité a ensuite été appliquée afin de segmenter l'image et distinguer les régions correspondant au tapis bactérien de celles correspondant à la zone inhibée. Des opérations morphologiques simples (filtrage, suppression du bruit et remplissage des zones) ont permis d'affiner la segmentation. À partir de cette segmentation, le diamètre effectif de la zone d'inhibition a été déterminé automatiquement en identifiant la frontière entre la zone colonisée et la zone dépourvue de croissance bactérienne. Cette approche automatisée permet d'obtenir une mesure reproductible et de limiter les biais liés à une estimation visuelle.

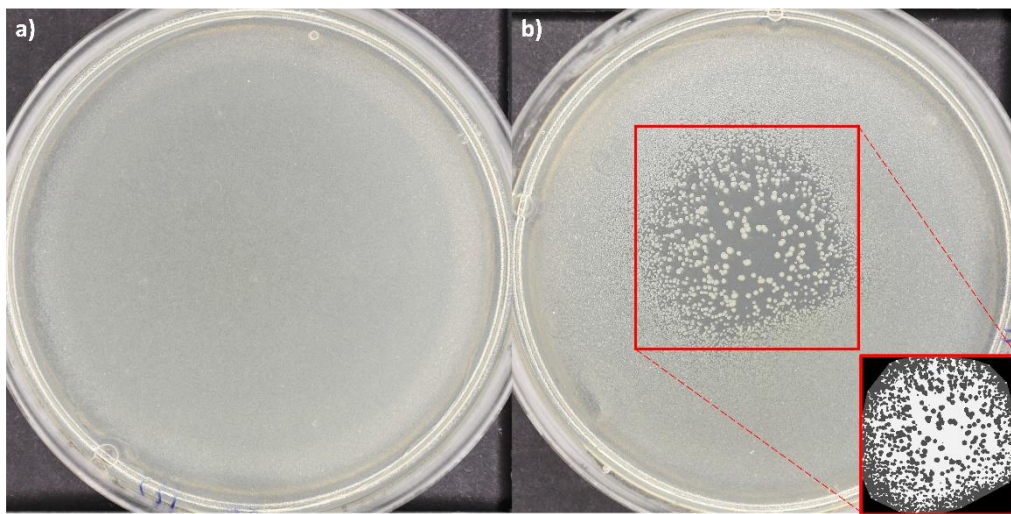


Figure 20: Photographies de boîtes de Pétri ensemencée. a) Contrôle. b) Traitée avec le résultat du traitement numérique de l'image par un programme Matlab® pour mesurer la zone traitée (coin droit).

Les résultats obtenus ont ensuite fait l'objet d'une analyse statistique descriptive, reposant sur le calcul de la moyenne et de l'écart-type du diamètre des zones d'inhibition pour chaque configuration expérimentale. Toutefois, il convient de souligner que le nombre d'échantillons disponibles reste limité. En effet, les contraintes expérimentales liées aux vols paraboliques ainsi qu'à la durée des expérimentations réalisées au CHU d'Orléans n'ont permis d'obtenir que quatre répétitions pour les expériences en vol et huit répétitions pour les expériences réalisées au sol (BMR) pour chaque configuration testée. Ce nombre relativement restreint d'échantillons ne permet pas d'appliquer des tests statistiques inférentiels robustes ni de conclure à une significativité statistique stricte entre les différentes conditions expérimentales.

Néanmoins, si l'analyse des résultats montre des écarts-types relativement faibles, indiquant une variabilité limitée entre les répétitions, cette faible dispersion des mesures suggèrerait alors une bonne reproductibilité des observations dans les conditions expérimentales considérées. Bien que les effectifs expérimentaux ne permettent pas d'établir des conclusions statistiques définitives, les tendances observées seraient cohérentes et permettraient d'identifier des évolutions nettes entre les configurations étudiées, ce qui constitue un

indicateur pertinent pour l'interprétation qualitative et comparative des effets du traitement plasma.

#### 2.4.8 Inoculation et évaluation de l'efficacité bactéricide du traitement plasma d'un tube d'endoscopie

Au cours de cette thèse, des tubes souples d'endoscopie ont été utilisés afin de réaliser des traitements dynamiques visant à augmenter la surface exposée au traitement plasma. Cette approche a également été l'occasion d'évaluer le potentiel du PG pour la décontamination préventive de conduits médicaux, notamment des tubes d'endoscopie couramment employés en milieu hospitalier. Ces dispositifs, sensibles à la chaleur et aux agents chimiques, représentent en effet des cibles pertinentes.

##### *Ensemencement du tube*

L'inoculation du tube d'endoscopie en silicone (tube de référence) est réalisée par inondation. Le tube a été rempli de la solution bactérienne puis scellé. Nous avons laissé les bactéries se déposer de manière homogène sur les parois internes du tube pendant 30 minutes grâce à une rotation lente du tube à 30 °C fournie par un four/agitateur d'hybridation. L'excédent a ensuite été retiré et le tube a été laissé à sécher pendant 30 minutes dans une armoire sous flux laminaire.

##### *Récupération des bactéries sur les parois du tube*

Pour les lots contrôle et après le traitement plasma, les parois externes du tube ont été nettoyées à l'éthanol. Deux portions de 1 cm de long du tube situées à 5 cm et 15 cm après la sortie du capillaire ont été récupérées et chacune a été immergée dans 2 ml de bouillon LB, comme présenté en Figure 21. Après 60 secondes d'agitation, 200 µL de la solution récupérée ont été versés dans des plaques à 96 puits TPP®.

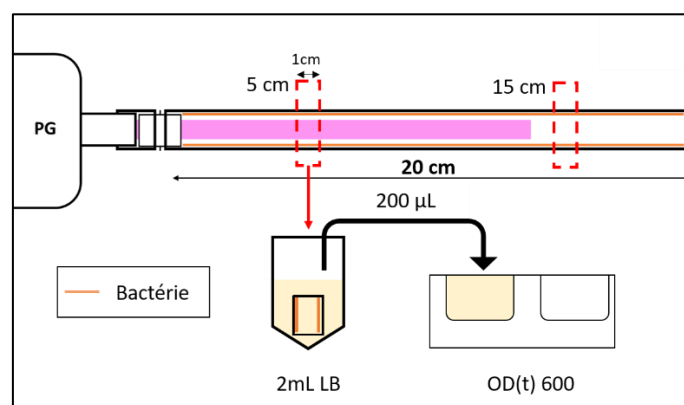


Figure 21: Protocole de récupération dans le cas de traitement de tube d'endoscopie ensemencé.

##### *Analyse par le temps de début de croissance (TDC)*

L'analyse de la réduction logarithmique de concentration bactérienne a ensuite été effectuée grâce à la méthode du temps de début de croissance (TDC) [133]. Pour connaître la réduction logarithmique des bactéries viables dans la solution, on regarde l'évolution de sa densité

optique (à 600nm) en fonction du temps. On obtient la courbe de croissance de la densité bactérienne de la solution. On s'intéresse alors au début de la croissance, fixé dans notre cas à une OD de 0,2. Moins la concentration bactérienne initiale est importante dans la solution, plus le TDC sera grand, comme montré en Figure 22.a).

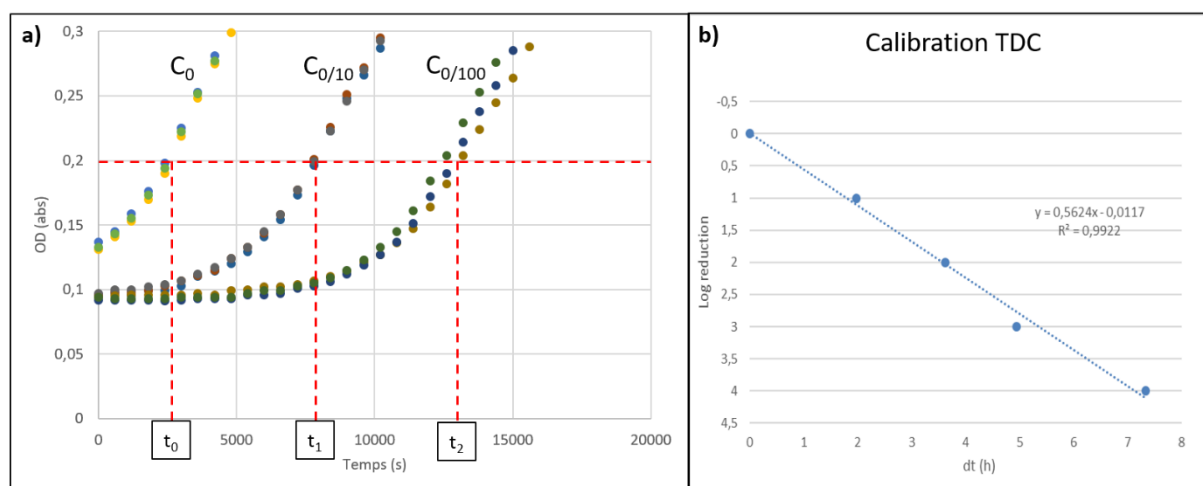


Figure 22: Analyse par le temps de début de croissance (TDC). a) TDC en fonction de la concentration initiale de la solution. b) Calibration de la réduction logarithmique relative en fonction du TDC relatif.

La courbe de calibration de la réduction logarithmique, Figure 22.b) a été établie en mesurant le TDC d'une suspension bactérienne soumise à des dilutions décimales successives ( $C_0$ ,  $C_{0/10}$ ,  $C_{0/100}$ , ...). Le temps de génération ( $\tau$ ), correspondant à la durée nécessaire pour qu'une population bactérienne soit multipliée par 10, est calculé par la différence du TDC mesuré pour une solution de concentration initiale ( $C_0$ ) et le TDC de cette solution diluée par un facteur 10 ( $C_{0/10}$ ). En Figure 22.a), le temps de génération est calculé comme étant  $t_0 - t_1$  ou  $t_1 - t_2$ . Il correspond à une réduction logarithmique de 1  $\log_{10}$ , c'est-à-dire à une division par dix de la concentration bactérienne. On peut alors calculer la réduction logarithmique d'une solution inoculée par l'équation suivante :

$$\text{Réduction logarithmique} = \frac{TDC_{\text{control}} - TDC_{\text{échantillon}}}{\tau}$$

La cinétique de la densité optique est réalisée à l'aide à l'analyseur de plaques VICTOR Nivo®. L'absorption de la solution à 600 nm a été mesurée toutes les 10 minutes pendant 18 heures. Nous avons alors réalisé une courbe de calibration permettant de connaître la réduction logarithmique relative par rapport à un contrôle, présenté en Figure 22.b). Dans notre cas, une réduction de 1 log équivaut à une différence de TDC d'environ 110 min.

#### 2.4.9 Imagerie de Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Grâce à la plateforme MACLE-CVL (Microscopie, imAgeries et ressourceS analytiQueS – Centre Val de Loire) du CNRS, nous avons pu accéder à des séances de cryo-MEB utilisées pour réaliser des analyses préliminaires sur la morphologie bactérienne après traitement plasma.

#### *Protocole de préparation des échantillons MEB\_1 : sans fixation chimique.*

Les bactéries sont inoculées dans 5 mL de milieu nutritif LB. La solution est ensuite agitée pendant 12 heures à 37 °C dans un incubateur jusqu'à atteindre une concentration de  $10^9$  bactéries.mL<sup>-1</sup>.

Les bactéries sont ensuite lavées avec de l'eau distillée stérile à trois reprises. Pour ce faire, la solution inoculée est centrifugée à 4500 tr.min<sup>-1</sup> pendant 10 minutes pour obtenir un culot bactérien. Le surnageant de milieu est ensuite remplacé par de l'eau distillée stérile. La nouvelle solution est ensuite agitée. L'opération est répétée deux fois. Après une première lecture de densité optique, la solution est diluée pour obtenir une concentration bactérienne de  $10^8$  bactéries.mL<sup>-1</sup>. 20 µL de la solution sont prélevés et déposés sur un cylindre en aluminium de 1 cm de diamètre, puis traités par plasma. Après traitement le cylindre est ensuite placé dans une boîte scellée jusqu'à la cryofixation.

#### *Protocole de préparation des échantillons MEB\_2 : avec fixation chimique.*

Les bactéries sont inoculées dans 5 mL de milieu nutritif LB. La solution est ensuite agitée pendant 12 heures à 37 °C dans un incubateur jusqu'à atteindre une concentration de  $10^9$  bactéries.mL<sup>-1</sup>.

Les bactéries sont ensuite lavées avec de l'eau distillée stérile à trois reprises. Puis, la solution est centrifugée à 4500 tr.min<sup>-1</sup> pendant 10 minutes pour obtenir un culot de bactérie. Le surnageant est ensuite retiré. 20 µL du culot est ensuite déposé dans un puits de 250 µL, puis traité par le plasma.

Après le traitement, 200 µL d'eau distillée stérile sont ajoutés dans le puits, et la totalité de la solution est récupérée dans un flacon de 1mL. La solution est ensuite centrifugée à 4500 tr.min<sup>-1</sup> pendant 10 minutes pour obtenir un culot de bactérie. Le surnageant est alors remplacé par un fixateur chimique composé à 2% de glutaraldéhyde dans une solution liquide tampon phosphate salin. La nouvelle solution est agitée et laissée à reposer pendant 12h. Les bactéries sont ensuite lavées avec de l'eau distillée stérile à trois reprises. Après une première lecture de densité optique, la solution est diluée pour obtenir une concentration bactérienne de  $10^7$  bactéries.mL<sup>-1</sup>. 20 µL de la solution sont prélevés et déposés sur un cylindre en aluminium de 1 cm de diamètre. Le cylindre est ensuite placé dans une boîte scellée jusqu'à la cryofixation.

#### *Cryofixation et sublimation*

Le plot en aluminium est placé sur un support en cuivre puis plongé dans de l'azote pâteux à -190 °C. L'échantillon est alors placé dans la chambre MEB sur une platine refroidie à -190 °C. Pour retirer les potentiels artéfacts sur la surface des échantillons (cristaux de glaces), la platine peut être chauffée jusqu'à 90 °C. Ils sont alors sublimés sans avoir nuit à l'intégrité de l'échantillon biologique.

#### *Configuration de travail du MEB*

Le MEB utilisé est un modèle *IT800SHL JEOL®* à effet de champ. La distance de travail est de 5mm et la tension utilisée est de 1 kV. Cette basse tension ne permet pas d'obtenir des

contrastes maximaux mais évite l'accumulation de charge à la surface de l'échantillon biologiques (non conducteur). Les images sont capturées par le détecteur d'électrons secondaires permettant d'obtenir la topographie de la surface de l'échantillon.

# Chapitre 3     Caractérisation du Plasma Gun en conditions terrestres et spatiales

Ce chapitre est consacré à la caractérisation du dispositif Plasma Gun (PG) dans différentes conditions expérimentales, tant terrestres (1g) que spatiales (0g). L'étude porte successivement sur le comportement de la plume plasma caractérisé par différents diagnostics optiques, ainsi que sur les espèces excitées générées dans celle-ci mesurée par spectroscopie d'émission. La propagation dans des capillaires souples, tels que les tubes d'endoscopie, pour avoir une plus grande mobilité et dans le cadre de futures applications est également abordée. Une attention particulière est portée à la caractérisation électrique et thermique du plasma, afin de mieux comprendre les mécanismes physico-chimiques sous-jacents et d'évaluer son potentiel pour des applications biomédicales terrestres et lors de missions spatiales.

## 3.1 Etude et caractérisation fondamentale du comportement de la plume plasma dans des conditions terrestres et spatiales

Dans cette première partie, l'attention est portée sur l'opérabilité de notre réacteur en conditions terrestres (1g) et spatiales (0g). Le dispositif, reposant sur l'architecture d'un jet plasma, se caractérise par la propagation du plasma dans un capillaire puis dans l'air ambiant à la sortie de ce capillaire, générant ainsi une plume plasma. La caractérisation de cette plume constitue une étape déterminante, puisqu'elle correspond à la zone d'interaction directe avec la cible. C'est en effet au sein de cette région, ainsi qu'à son interface, que sont générées les espèces excitées et réactives, et que se déploient divers phénomènes physiques — transferts thermiques, champs électriques, dépôts de charges et courants — susceptibles de contribuer de manière significative aux mécanismes d'inactivation bactérienne. Afin d'étudier ces processus, le comportement de la plume plasma a été analysé à l'aide de plusieurs diagnostics optiques présentés au Chapitre 2, parmi lesquels l'imagerie par caméra conventionnelle, la visualisation par montage Schlieren et la caméra ICCD. Ces investigations ont été conduites en considérant différentes configurations électriques du PG et divers mélanges gazeux. La caractérisation approfondie de la plume plasma, réalisée à la fois en 1 g et en 0 g, constitue ainsi un préalable indispensable pour l'étude des interactions plasma-cible et pour l'optimisation de l'efficacité du PG dans ses diverses applications.

Le PG utilisé dans ces travaux de thèse produit un jet plasma d'hélium ou de mélange hélium-dioxygène. Il est bien connu qu'un flux d'hélium, du fait de la flottabilité de ce gaz par rapport à l'air, tend à s'écouler dans la direction inverse de la gravité. Le plasma lui se propage dans les zones suffisamment riches en hélium. Le comportement de la plume plasma est donc influencé par cette flottabilité dans des conditions terrestres. Pour étudier ce phénomène, la

plume plasma est étudiée pour différentes orientations du PG, horizontale, verticale vers le bas et vers le haut, dans une configuration d'hélium pur. Pour chaque orientation, une séquence vidéo d'une durée de 10 secondes a été enregistrée à l'aide d'un appareil photographique Canon 6D (50 ips). À partir de ces enregistrements, 250 images individuelles ont été extraites (une image sur deux) en vue des traitements ultérieurs. Les représentations figurant en Figure 23.a), b) et c) correspondent aux moyennes calculées à partir de ces ensembles d'images pour la configuration typique de fonctionnement du PG (7 kV, 20 kHz, 1 L.min<sup>-1</sup>).

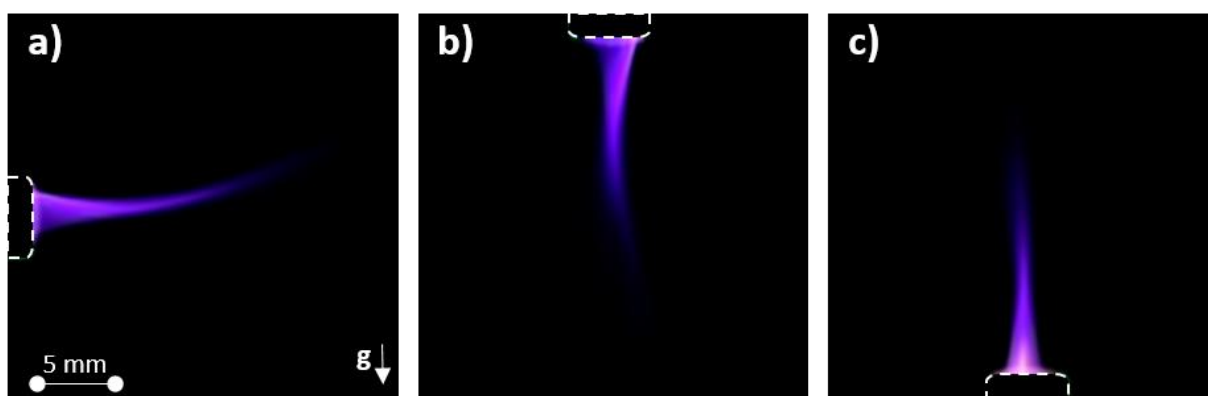


Figure 23: Caractérisation du comportement de la plume plasma (7kV 20kHz, 1L.min<sup>-1</sup>) par imagerie video conventionnelle (Canon 6D 50ips) en fonction de l'orientation du réacteur. a) horizontale, b) verticale vers le bas, c) verticale vers le haut.

La Figure 23.a) met en évidence le phénomène de flottabilité expliqué précédemment. L'extrémité de la plume tend à se diriger inversement à la gravité (vers le haut). En position verticale haute, Figure 23.c), la plume n'est pas déviée de l'axe du réacteur car l'orientation du flux d'hélium favorise son écoulement, ce qui le rend plus rectiligne. Dans les trois configurations, on observe que la couleur de la plume n'est pas homogène, indiquant l'introduction d'autre espèces (dans notre cas les molécules présentes dans l'air) dans le flux d'hélium. En effet, l'hélium excité dans le plasma émet des photons en se désexcitant et produit une lumière rose, d'où sa présence à la sortie du réacteur où l'hélium est encore présent en majorité. Cependant, le flux d'hélium, éjecté dans l'air ambiant au repos crée une couche de cisaillement à l'interface du flux, créant des instabilités favorisant le mélange entre l'Hélium et l'air ambiant. Des espèces oxygénées et azotées, telles que l'oxygène atomique (777 nm : rouge), ou les bandes d'azote N<sub>2</sub> (337-470 nm : bleu) sont présentes dans la plume se propageant dans le flux d'hélium mélangé. Ce mélange de longueur d'onde donne la couleur violette de la plume, particulièrement visible dans les Figure 23.a) et b), pour lesquelles l'introduction d'espèces différentes par mélange est encore plus importante du fait de la flottabilité. Pour la Figure 23.c), le centre de la plume à la sortie du réacteur est rose clair, indiquant que le flux d'hélium y est plus pur quand il est dirigé vers le haut.

La position de l'extrémité de la plume pour chaque image, incluant à la fois sa longueur (distance entre la sortie du capillaire et l'extrémité de la plume) et son écart relatif à l'axe du réacteur, est déterminée pour chaque orientation du jet au moyen d'un programme de traitement d'images développé sous *MATLAB* spécifiquement dans le cadre de cette thèse est présenté en Figure 24.

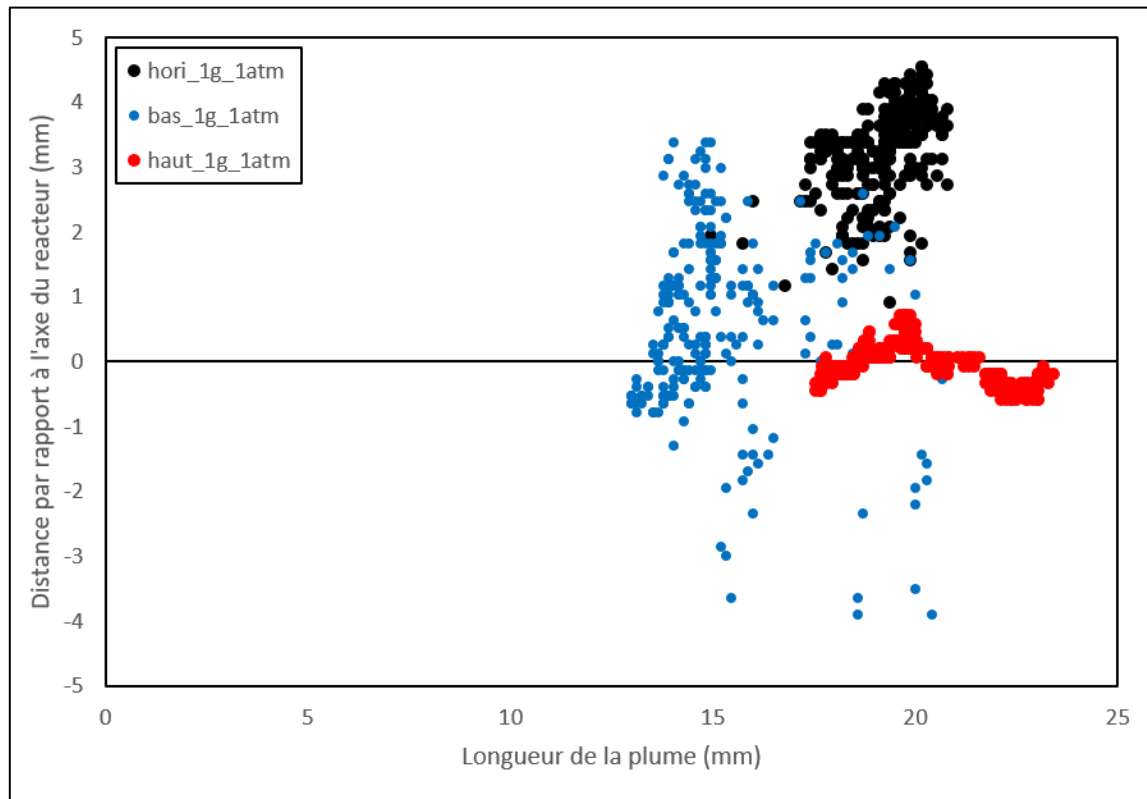


Figure 24: Position de l'extrémité de la plume de plasma (7kV 20kHz, 1L.min<sup>-1</sup>) déterminée par traitement vidéo (250 images pour une durée de 10 secondes) en fonction de l'orientation du réacteur (noir = horizontale, bleu = verticale bas, rouge = verticale haut).

Le graphique montre que l'extrémité de la plume se trouve constamment au-dessus de l'axe du réacteur sans grande variabilité quand le réacteur est orienté horizontalement, confirmant l'effet de la flottabilité sur le comportement de la plume observé en Figure 23. Dans la configuration verticale bas, le flux d'hélium est opposé à la force de flottabilité. La plume n'est donc pas stable, plus courte et varie constamment, comme le met en évidence le graphique Figure 24. Enfin, dans la configuration verticale haute, l'extrémité de la plume est dans l'axe du réacteur, plus stable et d'une longueur légèrement supérieure

Dans des conditions terrestres, le comportement de la plume du PG est donc influencée par la gravité à travers la flottabilité de l'hélium. On étudie alors le comportement de la plume en 0g obtenue lors de vols paraboliques pour la même configuration du PG, présenté en Figure 25. La cabine de l'avion étant pressurisée (850 hPa), les expériences ont aussi été réalisées à 1g et à pression similaire, afin de savoir si les différences observées sont dues à l'apesanteur ou à la pression réduite.

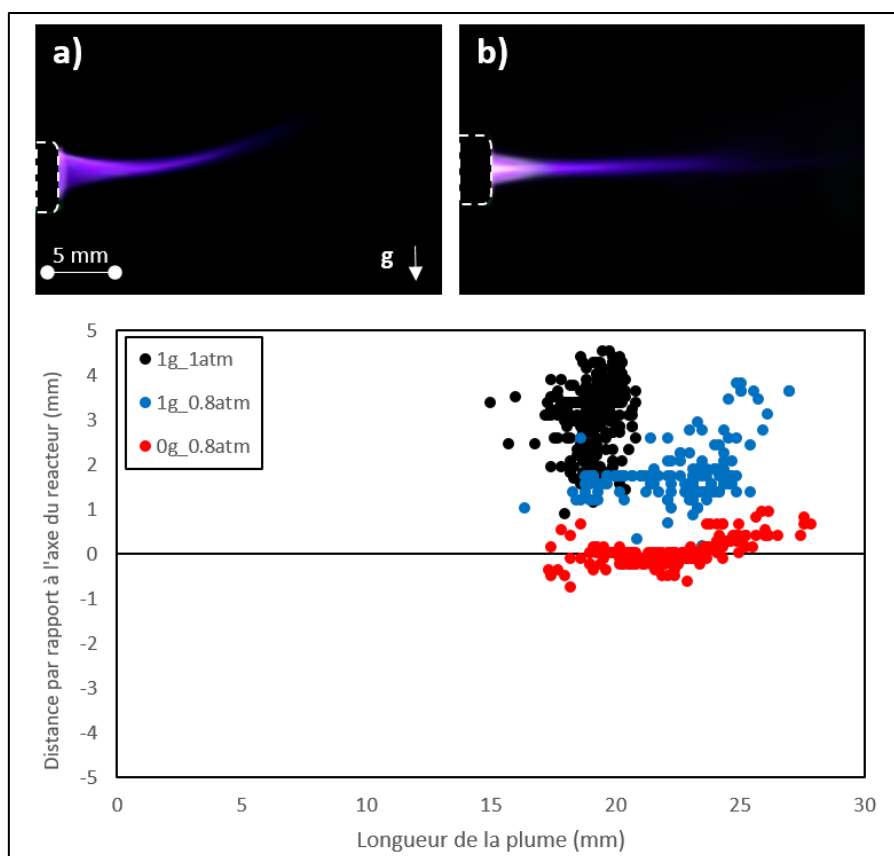


Figure 25: Caractérisation du comportement de la plume plasma ( $7\text{ kV } 20\text{ kHz}, 1\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) par imagerie video conventionnelle (Canon 6D 50ips) en fonction de la condition environnementale pour une orientation du réacteur horizontale. a) 1g, b) 0g, c) positions de l'extrémité de la plume.

La Figure 25.a reprend l'image présentée en Figure 23.a, correspondant à l'orientation horizontale du réacteur en condition terrestre (1g). La Figure 25.b illustre la même configuration du PG mais en apesanteur (0g). Dans ce cas, la plume reste parfaitement alignée avec l'axe du réacteur et conserve une symétrie axiale, ce qui traduit l'absence d'effet de flottabilité. On note par ailleurs que la base de la plume adopte une teinte rosée, caractéristique d'un flux d'hélium quasi pur, tandis que la coloration violette observée en 1g (Figure 25.a) n'apparaît qu'à une certaine distance (plus lointaine) de la sortie capillaire. Ces observations indiquent qu'en apesanteur, le mélange entre l'hélium injecté et l'air ambiant est modifié, en raison de l'absence de flottabilité et d'une dynamique dominée par le cisaillement. La plume présente également une longueur accrue en 0g. Toutefois, le graphique de la Figure 25.c montre que, même en 1g, une réduction de la pression ambiante conduit également à une extension du jet. Ainsi, l'apesanteur influence principalement la flottabilité de l'hélium, tandis que la longueur de propagation de la plume demeure essentiellement gouvernée par la pression du milieu environnant.

Afin d'étudier les différences d'écoulements du jet d'hélium induite par les différentes conditions environnementales un montage Schlieren a été installé dans le bâti expérimental, détaillé dans le chapitre 2. Les vidéos capturées par la *Fastcam mini* à une fréquence d'acquisition de 500 images par seconde ont été traitées par le programme *ImageJ* qui

augmente le contraste et nous permet d'extraire les images présentées dans la Figure 26. Chaque image est capturée pour un temps d'ouverture de 2 ms et le temps d'acquisition globale de la caméra est de 3 s.

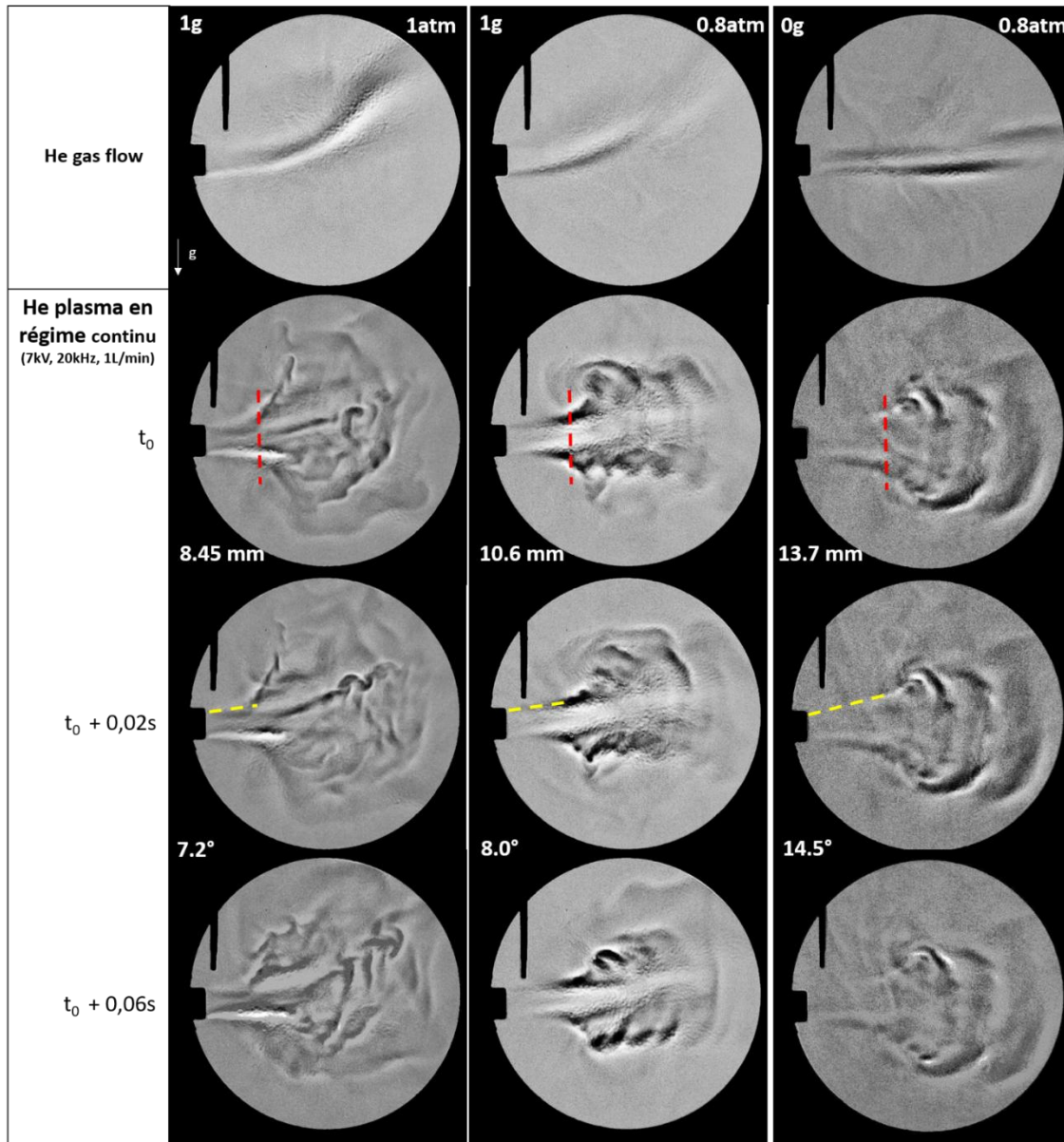


Figure 26: Imagerie Schlieren d'un flux de gaz et de plasma dans des conditions terrestres (1g) à pression atmosphérique et pression réduite (0,85 atm) et d'apesanteur (0g) (500 ips). (Pointillés rouges = début des grandes instabilités, pointillés jaunes = angle d'ouverture du flux)

Les images de la première ligne présentent les flux d'hélium sans plasma à la sortie du réacteur dans les différentes conditions environnementales. Dans le capillaire du réacteur, on peut calculer le nombre de Reynolds caractérisant le régime d'écoulement de l'hélium, grâce à la formule :

$$Re = \frac{\rho U D}{\mu}$$

(Avec  $\rho$  = masse volumique du fluide ( $\text{kg.m}^{-3}$ ),  $U$  = vitesse caractéristique ( $\text{m.s}^{-1}$ ),  $D$  = Diamètre du capillaire,  $\mu$  = viscosité dynamique ( $\text{Pa.s}$ )). Dans notre configuration, le diamètre du capillaire est de 4 mm, un débit de 1  $\text{L.min}^{-1}$ , une pression relative de 2 bars et une température 20°C, nécessaires aux calculs de la masse volumique et de la viscosité. La vitesse caractéristique est alors de 1,33  $\text{m.s}^{-1}$ , la masse volumique estimée à 0,5  $\text{kg.m}^{-3}$  (calculée grâce à l'équation des gaz parfaits) et une viscosité dynamique environ égale à 1,96\*10<sup>-5</sup> Pa.s. Le Reynolds obtenu est alors de 131. L'écoulement de l'hélium dans le capillaire est alors laminaire ( $Re < 2300$ ). On peut alors supposer que l'écoulement à la sortie du capillaire reste laminaire ( $Re \ll 2300$ ). En effet, la première ligne de la Figure 26 montre que dans les trois conditions environnementales, le flux d'Hélium s'écoule sans la présence d'instabilité importante. Dans les conditions terrestres, l'écoulement se développe vers le haut, alors qu'il reste horizontal dans la condition 0g dû à l'absence de force de flottabilité. L'arrière-plan obtenu en condition de 0g moins homogène, est dû à de nombreuses microparticules (notamment de poussière) en lévitation et en mouvement lors des phases d'apesanteur, rendant le traitement des images moins efficace.

La deuxième ligne présente les acquisitions de l'écoulement du flux d'hélium pour le PG fonctionnant en régime continu (i.e. fonctionnement ininterrompu avec une plume plasma stable) dans les différentes conditions environnementales. Les troisième et quatrième lignes présentent les acquisitions de ces écoulements après 0,02 s et 0,06s, respectivement, toujours en régime continu. Dans toutes les conditions avec plasma, le flux d'hélium sort du capillaire en régime laminaire similaire à celui observé précédemment, cylindrique rectiligne, pour ensuite transiter en un régime avec d'importantes instabilités. Cette transition se produit plus loin du capillaire en condition de pression réduite (10,6 mm) qu'en condition à 1 atm (8,5 mm) et encore plus en 0g (13,7 mm). La distance de transition exprime ici, la position par rapport à la sortie du capillaire à laquelle l'écoulement n'apparaît plus guidé et homogène mais se disperse dans l'air ambiant et présente des zones de recirculation instables. Ces instabilités favorisent le mélange du flux d'hélium dans l'air ambiant jusqu'à sa dilution complète, marquée alors par l'absence de contraste. On peut noter que la surface (et par extension le volume) de la zone d'instabilités varie en fonction des conditions environnementales. Dans la condition 1g 1atm, la hauteur de la zone d'instabilité est supérieure à celle en condition de pression réduite. Cependant, la longueur de la zone d'instabilité est plus importante en condition 0g (semblant même dépasser la zone d'acquisition), indiquant que l'hélium est plus concentré plus loin dans l'écoulement, favorisant une propagation plus loin du plasma.

L'imagerie Schlieren met en évidence que le passage en apesanteur modifie l'angle d'ouverture du flux d'hélium en sortie de capillaire qui augmente sensiblement avec le changement de gravité : 14,5° en 0 g 0,85 atm et 8,0° en 1g 0.85 atm. En revanche, la variation pression n'a que très peu d'impact sur cet angle (en 1g): 8,0° à 0,85 atm et 7,2° à 1 atm.

Les acquisitions à différents instants ( $t_0$ ,  $t_0 + 0,02$  et  $t_0 + 0,06$  s), permettent d'observer l'évolution de l'écoulement et des instabilités. En condition de 1g, l'évolution dynamique de l'écoulement est plus marquée qu'en 0g.

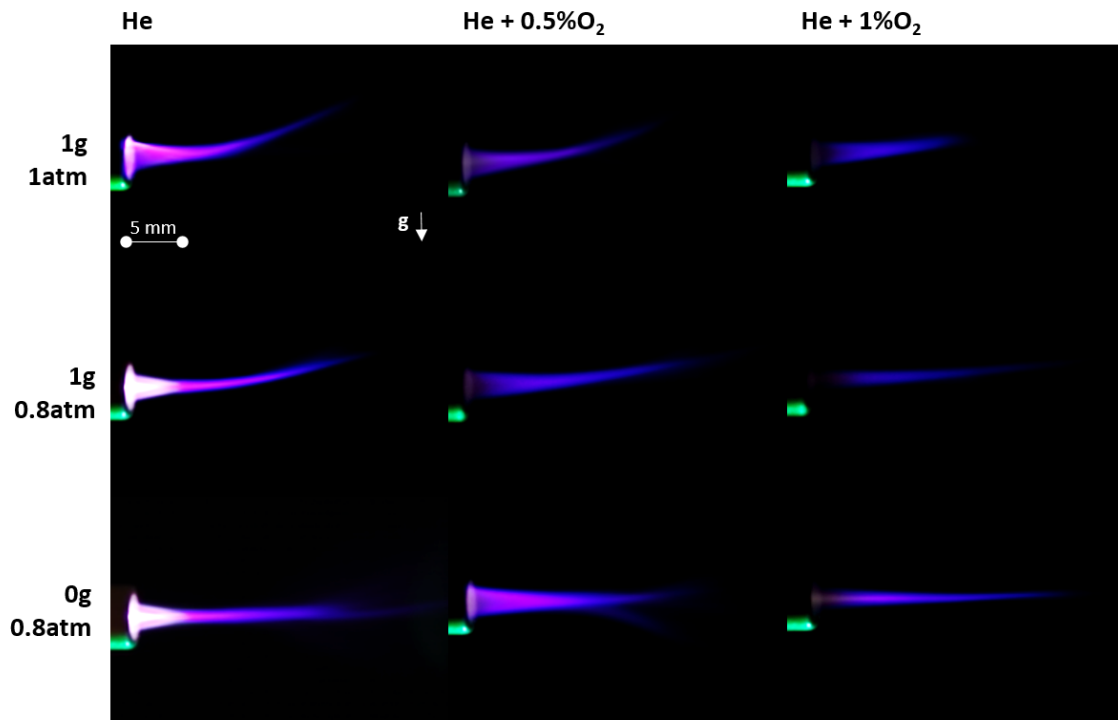


Figure 27: Comportement de la plume plasma (7kV, 20kHz) en fonction de la concentration de dioxygène dans le gaz plasmagène et des conditions environnementales (1g, 1g pression réduite et 0g). Les photos présentées sont les images moyennes de vidéos de 5 secondes et ont été modifiées pour une meilleure visibilité (luminosité + 40%, contraste + 20%).

Afin de favoriser la création de RONS, un faible pourcentage de dioxygène a été ajouté à l'hélium. Nous avons ainsi étudié l'évolution de la plume en fonction de la concentration de dioxygène ajouté dans le gaz plasmagène, pour la même configuration du PG (7 kV, 20 kHz) et dans les trois conditions environnementales. Comme précédemment, les images présentées dans la Figure 27 sont les images moyennées extraites de vidéos de la plume plasma capturées à la sortie du réacteur avec un appareil photo *Canon 6D* pendant 5 secondes. Afin d'avoir une meilleure visibilité lors de la lecture du manuscrit, la luminosité et le contraste de toutes les images ont été modifiés de respectivement +40% et +20%, modifiant les couleurs apparentes par rapport à celles observées en Figure 23.

Dans la condition 1g 1atm (première ligne de la Figure 27), l'ajout de dioxygène semble avoir trois effets sur le développement de la plume plasma. Premièrement, plus le mélange hélium-dioxygène est concentré en dioxygène, plus la plume semble se développer de façon horizontale. En effet, l'ajout de dioxygène entraîne une canalisation du flux d'hélium gazeux lorsqu'une décharge de plasma est générée. Ce phénomène a déjà été rapporté [134] et attribué à la génération probable de clusters chargés dans un jet de plasma hélium-dioxygène.

Le déplacement de ces clusters pendant l'application de l'impulsion de tension entraîne un transfert de quantité de mouvement avec l'air ambiant. Ainsi, dans le cas d'une configuration de PG en hélium-dioxygène, l'impact de la flottabilité est moins important, et la plume de plasma a tendance à se développer plus horizontalement. Deuxièmement, la longueur de la plume rétrécit avec l'ajout de dioxygène, du fait de l'électronégativité de l'oxygène, diminuant ainsi le courant délivré par l'alimentation. Troisièmement, la couleur de la plume évolue. Les deux effets précédents sont principalement dus à l'effet d'extinction (*quenching effect*) dû au dioxygène présent dans le plasma d'Hélium, phénomène qui a déjà été étudié dans la littérature [135] et qui sera développé plus tard dans ce chapitre.

En 1g 0,85 atm, en plus des effets observés précédemment, la pression réduite influe sur la longueur des plumes et sur l'intensité du plasma d'hélium en sortie du réacteur. En effet, la baisse de la pression, donc de la densité des neutres (atomes d'hélium dans le jet et des molécules constituant l'air autour, mais aussi dans le capillaire), correspond à une augmentation du libre parcours moyen des électrons et donc à une augmentation de la longueur (et du volume) de génération du plasma.

Enfin, en 0g, le comportement la plume plasma en fonction des concentrations de dioxygène combine les observations précédentes, avec l'absence de force de flottabilité, principalement observable pour les concentrations 0% et 0,5%, concentrations où la canalisation due à l'oxygène n'est pas prépondérante.

Pour étudier de façon plus détaillée la propagation du plasma, une caméra ICCD synchronisée avec la génération des impulsions a été utilisée (2.2.2). La Figure 28.a) présente des acquisitions de 10 $\mu$ s d'exposition correspondant à la durée d'une décharge électrique pour la configuration du PG précédente (He, 7kV, 20kHz) pour les différentes conditions environnementales.

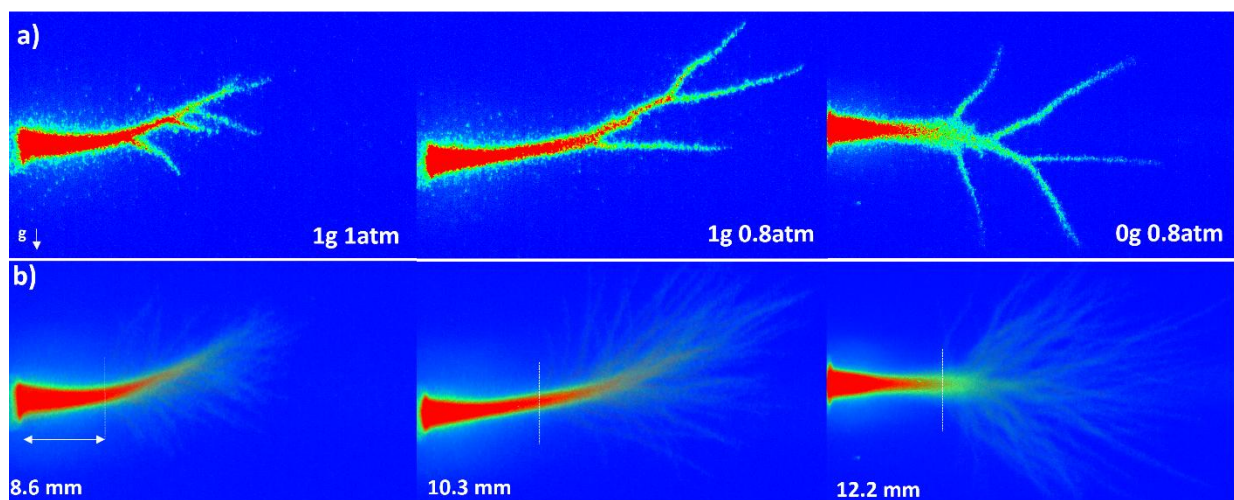


Figure 28: Acquisitions ICCD (temps d'exposition de 10  $\mu$ s) pour la configuration He +7kV 20kHz pour les différentes conditions environnementales (1g 1atm, 1g 0,8atm et 0g 0,8atm). a) image sur une acquisition unique (10  $\mu$ s) . b) image moyenne de 30 acquisitions.

Les acquisitions ICCD révèlent qu'au-delà d'une plume principale principalement conique désignée « le tronc », le plasma se propage également en formant des ramifications dans l'air environnant. Premièrement, le tronc tend à se développer vers le haut dans les conditions terrestres, confirmant de nouveau l'effet de la flottabilité, absent en 0g, le tronc se développant dans l'axe du réacteur. De plus, il est plus long en 1g, en particulier à pression réduite, qu'en 0g, pour lequel il est relativement court. Les ramifications sont quant à elles plus longues en pression réduite, en 1g et 0g. Ces ramifications sont, à pression réduite, plus longues mais moins intenses. La longueur des ramifications peut s'expliquer par l'augmentation du libre parcours moyen des électrons à plus basse pression, comme expliqué précédemment.

La Figure 28.b) nous montre l'image moyenne de 30 acquisitions capturées au cours de 5 secondes dans la même configuration du PG. Ces images représentent donc le comportement moyen de la plume plasma sur 5 secondes. Dans les trois conditions environnementales, on peut noter le nombre important de ramifications. Cela indique que ces ramifications bougent entre chaque décharge. Cependant, le tronc de la plume est stable quelle que soit la configuration. En calculant la longueur de plume à partir de laquelle les ramifications apparaissent pour chaque condition, on obtient des distances semblables à celles calculées dans la Figure 26 correspondantes à l'apparition des zones d'instabilités, récapitulées en Tableau 4.

Tableau 4: comparaison de la distance du début des zones d'instabilités et des ramifications (en mm)

|                                    | 1g 1atm | 1g 0,8atm | 0g 0,8atm |
|------------------------------------|---------|-----------|-----------|
| Début des instabilités (Schlieren) | 8,5 mm  | 10,6 mm   | 13,7 mm   |
| Début des ramifications (ICCD)     | 8,6 mm  | 10,3 mm   | 12,2 mm   |

Les ramifications se propagent donc exclusivement dans les zones d'instabilités. Les ramifications plus longues observées à basse pression seraient alors liées à l'augmentation du libre parcours moyen des électrons et/ou à un mélange plus concentré en hélium plus loin de la sortie du réacteur. La superposition de l'acquisition moyenne ICCD et de l'écoulement pour les conditions 1g et 0g, montré dans la Figure 29, met en évidence la corrélation des phénomènes observés pour les deux diagnostics, et confirme nos précédentes conjectures.

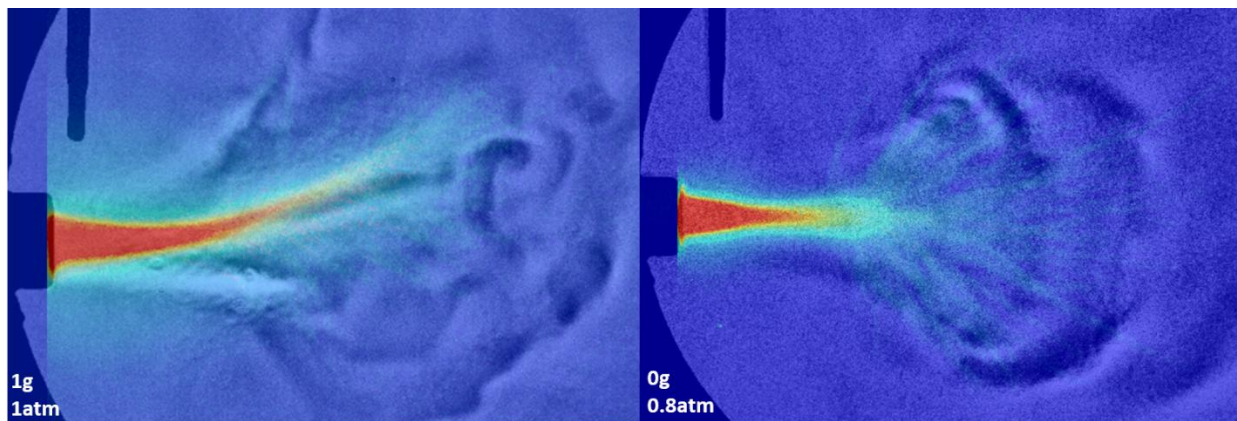


Figure 29: Superposition des acquisitions Schlieren et ICCD pour la configuration He +7kV 20kHz en 1g et 0g.

On compare maintenant la propagation de notre jet plasma d'hélium avec, dans un premier temps, un plasma de mélange hélium et 1% de dioxygène, montré en Figure 30.

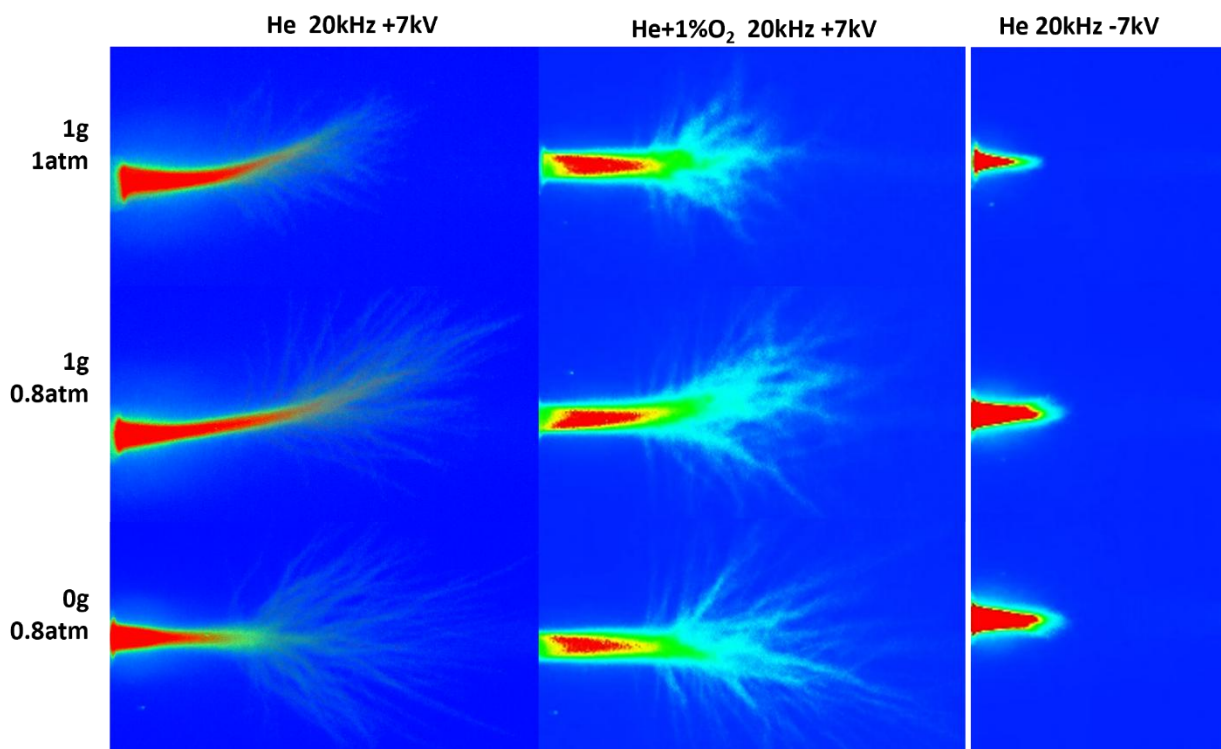


Figure 30: Propagation du plasma en fonction de différentes configurations du PG : concentration de dioxygène (0% et 1%) et polarité (+7kv et -7kv); et des conditions environnementales (1g, 1g pression réduite et 0g). Acquisitions ICCD moyennées (temps d'exposition de 10  $\mu$ s, 30 acquisitions).

Comme précédemment observé dans la Figure 27, on remarque que l'ajout de dioxygène dans le gaz plasmagène diminue l'effet de la flottabilité sur la plume en conditions terrestres. Le développement du plasma est plus canalisé et en forme cylindrique pour le plasma de mélange, alors qu'il est conique pour un plasma d'hélium. On remarque aussi que l'intensité maximale mesurée ne se situe pas directement en sortie du réacteur comme pour un plasma d'hélium mais 1 mm après, puis diminue jusqu'à l'interface de la plume plasma avec l'air (dégradé d'intensité), ce qui n'est pas observable pour des plasmas d'hélium pur. Il n'y a donc

pas de différences significatives dans la propagation du plasma de mélange en 1g pression réduite et en condition d'apesanteur, si ce n'est que certaines ramifications dans l'axe du jet, semblent un peu plus longues en 0g.

Enfin, quelques acquisitions ont été réalisées avec une tension négative, présentées en Figure 30. Il est connu que dans cette configuration, la plume plasma est beaucoup plus courte que pour une même amplitude crête de tension en polarité positive [135]. En tension négative, le plasma ne se propage pas en sortie du capillaire avec l'ajout de dioxygène. Tout d'abord, on observe en effet que pour les conditions terrestres, la plume est beaucoup plus courte en tension négative qu'en tension positive. Aussi pour la tension négative, la pression réduite à l'effet de légèrement élonger la plume, du fait de la densité plus faible des neutres. La plume est trop courte cependant pour voir si elle est affectée par la flottabilité de l'hélium. On note aussi l'absence de ramifications, due à une amplitude du champ électrique plus faible [136], ne permettant pas au plasma de se propager sur une longue distance. Pour finir, en 0g, la plume se comporte de façon similaire à la condition terrestre pression réduite. La plume étant trop courte pour toucher une future cible, nous ne retiendrons pas cette configuration dans le reste de l'étude.

### 3.2 Etude des espèces créées dans la plume plasma par spectroscopie d'émission

Afin de confirmer la présence d'espèces excitées et indirectement la présence d'espèces réactives dans la plume plasma traitant une gélose (située à 15 mm de la sortie du réacteur), nous avons enregistré le spectre d'émission émis par le plasma 5 mm à la sortie du réacteur pour différents mélanges hélium-dioxygène. Lors des premières campagnes, les vibrations de l'avion ainsi que des interférences liées aux autres expériences ont rendu les acquisitions de spectroscopie trop bruitées pour être exploitées. Les résultats présentés sont donc exclusivement réalisés en condition terrestre à 1 atm. La mise en évidence, ou non, de la présence d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) en condition 0g sera néanmoins étudiée plus tard dans ce chapitre.

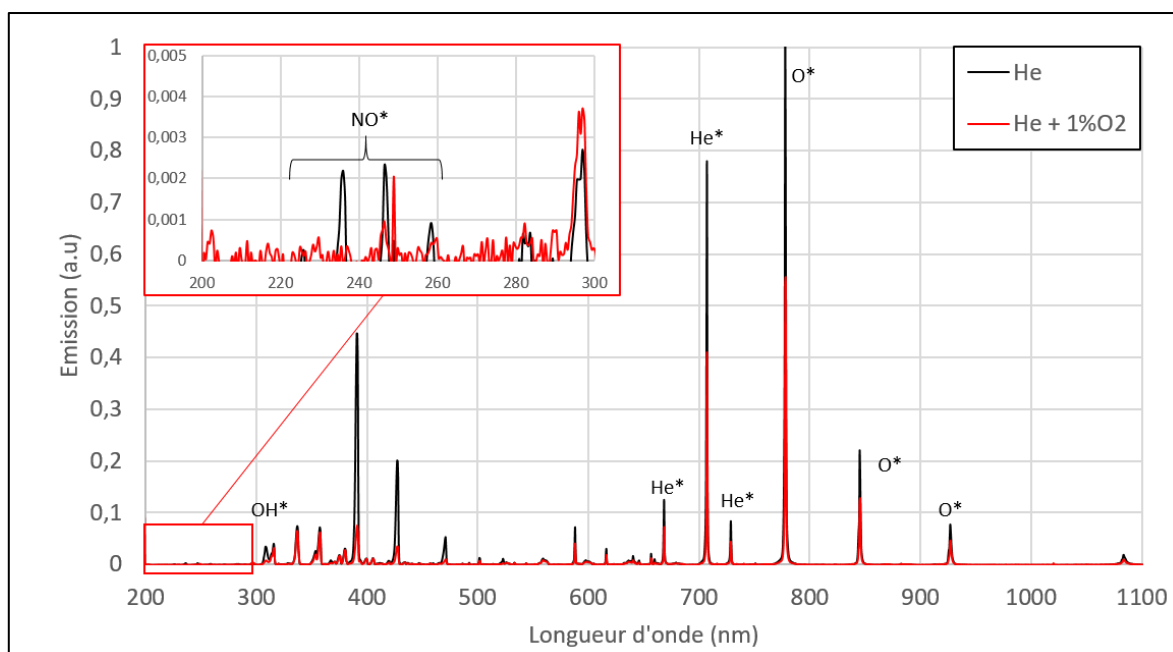


Figure 31: Spectroscopie d'émission pour un plasma d'He (7kV, 20kHz) comparé à un plasma He + 1%O<sub>2</sub> (7kV, 20kHz), traitant une gélose (15mm).

Le spectre d'émission de la plume plasma d'hélium, présenté en Figure 31, nous renseigne quant à la présence d'espèces excitées d'hélium (He\* à 667, 706 et 728 nm) et de radicaux de l'oxygène, dont les états excités sont notamment O\* et OH\* respectivement à 777, 844, 926 nm et 309 nm. On observe aussi de très faibles bandes d'émission entre 200 et 300 nm correspondant NO\*, dont le radical a aussi un pouvoir bactéricide important et des bandes de N<sub>2</sub>, à 337, 358 nm (N<sub>2</sub>\* (C-B)), 391, 428 nm (N<sub>2</sub>\*\* (C-B)) et à 640 et 655 nm (N<sub>2</sub>\* (B-A)), qui sont notamment impliquées dans la cinétique réactionnelle de population de NO\*. On pourrait supposer que l'ajout d'un faible pourcentage de dioxygène permettrait d'accentuer la création de ces RONS à courte durée de vie qui sont pertinents pour l'inactivation bactérienne. Cependant, on peut observer en Figure 31 que l'intensité globale et de la majorité des raies et bandes du spectre d'émission de la plume diminue, particulièrement visible pour OH\* et N<sub>2</sub>\*\* (C-B). La Tableau 5 résume l'évolution des raies et bandes d'émissions spécifiques correspondant aux espèces réactives à courte durée de vie évoquées précédemment.

Tableau 5: Réduction d'émission de certaines espèces excitées OH\*, N<sub>2</sub>\*, He\* et O\* suite à l'ajout de 1% de dioxygène dans un plasma d'Hélium (7kV, 20kHz)

| Especies                             | OH*  | N <sub>2</sub> * (C-B) | N <sub>2</sub> ** (C-B) | N <sub>2</sub> * (B-A) | He*               | O*                |
|--------------------------------------|------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------|-------------------|
| Longueur d'ondes de transitions (nm) | 309  | 337<br>358             | 391<br>428              | 640<br>656             | 667<br>706<br>728 | 777<br>824<br>926 |
| Reduction moyenne (%)                | 75.3 | 12.1                   | 83.3                    | 43.9                   | 45.1              | 43.2              |
| Réduction totale                     | 42.8 |                        |                         |                        |                   |                   |

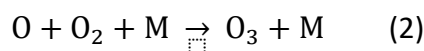
On peut voir que, l'ajout de 1% de dioxygène dans l'hélium a pour conséquence une diminution de 42,8% de l'intensité globale. Les raies de He\* diminuent 45 %, expliquant ainsi le changement de couleur, de rose à violet, de la plume observée en Figure 27, et les raies

d'émissions liées à l'oxygène atomique ( $O^*$ ), diminue d'un ordre de grandeur similaire (43%). Cependant, l'intensité des bandes  $N_2^{+*}$  et  $OH^*$  diminuent fortement, de 83% et 75% respectivement. Il semblerait alors que le mécanisme de création principale de  $OH$  soit lié à  $N_2^{+*}$  (C-B), potentiellement par transfert d'énergies entre  $N_2^{+*}$  et  $H_2O$  présent dans l'air ambiant. Enfin, la Figure 31 permet d'observer la réduction des bandes de  $NO^*$  (200-270 nm) et le Tableau 5 la réduction des bandes de  $N_2^*$ (B-A) et  $N_2^{+*}$ (C-B), aussi liées à la création de  $NO^*$ , diminuant de 43.9% et 83% alors que les bandes de  $N_2^*$ (C-B) diminuent seulement de 12%.

Il semblerait donc que l'ajout de dioxygène diminue (« quench ») la création de RONS à courte durée de vie, et en globalité, l'énergie apportée au plasma. Avec un jet de plasma d'He pur, les photons VUV générés favorisent l'ionisation du diazote et du dioxygène à l'interface du jet de plasma avec l'air ambiant, induisant la production de RONS, comme vu en Figure 31 [137]. Cependant, dans le cas du mélange, le dioxygène présent dans le plasma consomme l'énergie des électrons nécessaires à l'excitation/l'ionisation de l'hélium à la faveur de l'excitation de l' $O_2$  et de sa dissociation en oxygène atomique ( $O^*$ ), confirmé par leur présence dans le spectre Figure 31 :



Ainsi, les atomes d'oxygène pourraient former de l'ozone par le biais d'une réaction à trois espèces [138]:



(M pouvant être O,  $O_2$ ,  $O_3$ , He, ...)

Cette hypothèse est confirmée dans la Figure 32 par la concentration d'ozone mesurée à 2 mm à la sortie du réacteur pour différents mélanges d'hélium et de dioxygène: 0 %, 0,5 %, 1 % et 2 %.

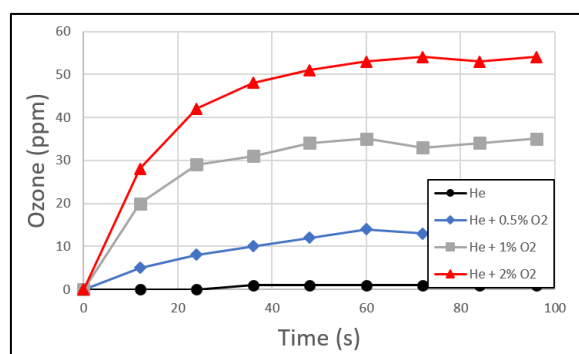


Figure 32: Mesures d'ozone pour différentes concentrations de dioxygène (0, 0.5, 1 et 2%) à 2mm de la sortie du réacteur (7kV 20kHz 1 L.min<sup>-1</sup>).

La Figure 32 confirme que l'ajout de dioxygène dans le gaz d'alimentation en amont du réacteur favorise la production d'ozone transporté ensuite dans le flux de gaz. On peut également noter que la production d'ozone augmente considérablement entre 0,5 % et 1 % de dioxygène. Dans le cadre de futures applications thérapeutiques de notre dispositif, il faut s'assurer que la quantité d'ozone générée ne soit pas une menace pour la santé du patient. Selon la directive *2008/50/CE du Parlement européen et du Conseil du 21 mai 2008* [139], l'exposition maximale admissible à l'ozone est de 55 ppm pendant 8 heures par jour [139]. L'ozone maximal produit par le PG est de 54 ppm après 96 s. Bien qu'il s'agisse presque de la production maximale d'ozone autorisée, un traitement au plasma dure quelques minutes au maximum [78]. En outre, la mesure a été effectuée à proximité de la sortie du réacteur à plasma, donc à proximité du point d'impact du jet de plasma. Il n'y a donc aucune menace potentielle pour la santé due à l'exposition à l'ozone induite par le traitement au plasma gun.

### 3.3 Etude de la propagation du plasma dans un tube dans le cadre de traitement dynamique

Nous souhaitons augmenter la surface inactivée par le PG. Pour se faire, une surface de quelques centimètres carrés est traitée par la plume plasma en scannant la surface. Cependant, le montage expérimental lors des vols paraboliques ne permettant pas de déplacer le réacteur ou la cible, nous avons décidé d'utiliser un capillaire souple dont l'extrémité peut être facilement déplacée. De plus, cette solution a l'avantage de nous donner des résultats préliminaires sur l'efficacité de notre plasma pour la décontamination préventive de tube (endoscopie, cathéter, ...) dans le cadre d'applications médicales. Les tubes sélectionnés sont donc des tubes d'endoscopie en silicone, utilisés en grande quantité dans les hôpitaux et à usage unique, du fait de leur sensibilité thermique et aux produits chimiques corrosifs [21, 140]. Il faut alors trouver des configurations du PG pour lesquelles le plasma peut se propager relativement loin (20cm minimum pour assurer un déplacement de plusieurs centimètres dans notre montage expérimental), comme illustré en Figure 33.a), et délivrer en sortie une plume plasma. La première étape a été de chercher quels paramètres du PG influent ou non sur la propagation du plasma dans un tube d'endoscopie: le débit, la tension, la fréquence et le mélange de gaz utilisé. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 33 ci-dessous.

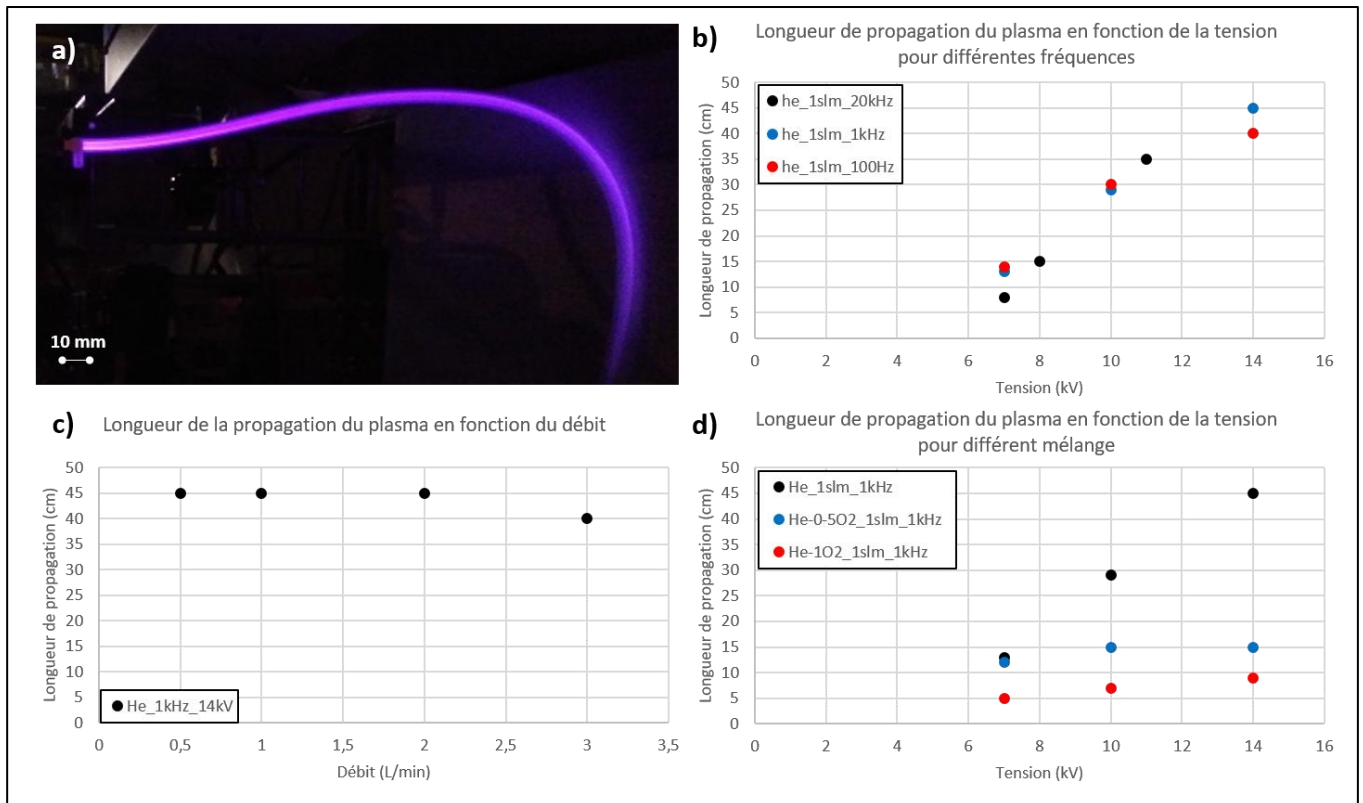


Figure 33: Propagation du plasma dans un tube d'endoscopie pour différentes configurations du PG. a) Photo de la propagation du plasma dans le tube d'endoscopie (14kV, 1kHz, 1L.min<sup>-1</sup>, b) Longueur de propagation du plasma en fonction de la tension pour différentes fréquences (0,1; 1 et 20 kHz), c) Longueur de propagation du plasma en fonction du débit de gaz, d) Longueur de propagation du plasma en fonction de la tension pour différents mélange (0%; 0,5% et 1% O<sub>2</sub>). (n=4)

La Figure 33.b) illustre l'évolution de la longueur de propagation du plasma dans le tube en fonction de la tension appliquée et pour différentes fréquences de génération des décharges. L'alimentation du PG atteint ses limites opérationnelles pour des tensions supérieures à 12 kV lorsque la fréquence est de l'ordre de 20 kHz. En revanche, pour des fréquences inférieures à 5 kHz, le générateur est capable de délivrer des impulsions de plus grande amplitude. La longueur de propagation du plasma dans le tube croît linéairement avec l'amplitude de la tension appliquée au réacteur. Dans la configuration initialement étudiée (7 kV 20 kHz 1 L.min<sup>-1</sup>), le plasma atteint une propagation de seulement 10 cm, valeur insuffisante pour générer une plume en sortie du tube de 20 cm. Pour atteindre cet objectif, l'amplitude des impulsions doit dépasser 9 kV. En revanche, la fréquence des impulsions n'a pas d'effet significatif sur la longueur de propagation. Afin de contourner les limitations de l'alimentation, la suite de l'étude de propagation a été réalisée à une fréquence réduite de 1 kHz.

La Figure 33.c) présente la dépendance de la propagation du plasma vis-à-vis du débit de gaz (0,5 ; 1 ; 2 et 3 L.min<sup>-1</sup>). Il apparaît que la variation du débit n'a pas d'influence notable sur la longueur de propagation. En effet, la littérature [134] indique que la vitesse de propagation d'un plasma d'hélium est de l'ordre du décimètre par microseconde. La propagation est donc gouvernée par l'onde d'ionisation qui ionise successivement le milieu, et non par le transport de molécules ou atomes commandé par le débit de gaz.

La Figure 33.d) montre l'évolution de la propagation du plasma en fonction de la tension appliquée pour différents mélanges hélium–dioxygène (0 ; 0,5 et 1 %). L'introduction de dioxygène, dès une concentration de 0,5 %, réduit fortement la longueur de propagation. Pour une tension maximale de 14 kV, la longueur atteint 15 cm et 10 cm pour des concentrations respectives de 0,5 % et 1 %, contre 45 cm dans le cas d'un plasma d'hélium pur. Ainsi, le traitement direct d'une surface située en sortie d'un tube de 20 cm n'est pas réalisable avec un plasma hélium–dioxygène ( $\geq 0,5\%$ ). Toutefois, comme montré précédemment (Figure 32), l'ajout de dioxygène favorise la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) à longue durée de vie, telles que l'ozone ( $O_3$ ). Ces espèces peuvent être transportées par le flux gazeux jusqu'à la sortie du tube et interagir avec une cible. Le potentiel intérêt de cette configuration réside donc dans la capacité de ces RONS à longue durée de vie à assurer une action de décontamination en post-plasma, aussi bien en sortie du tube que, dans le cadre d'applications biomédicales, à l'intérieur de dispositifs tels que les tubes d'endoscopie.

Nous avons étudié le spectre d'émission du plasma à l'intérieur du tube et comparé ce dernier à celui de la plume plasma, Figure 34.

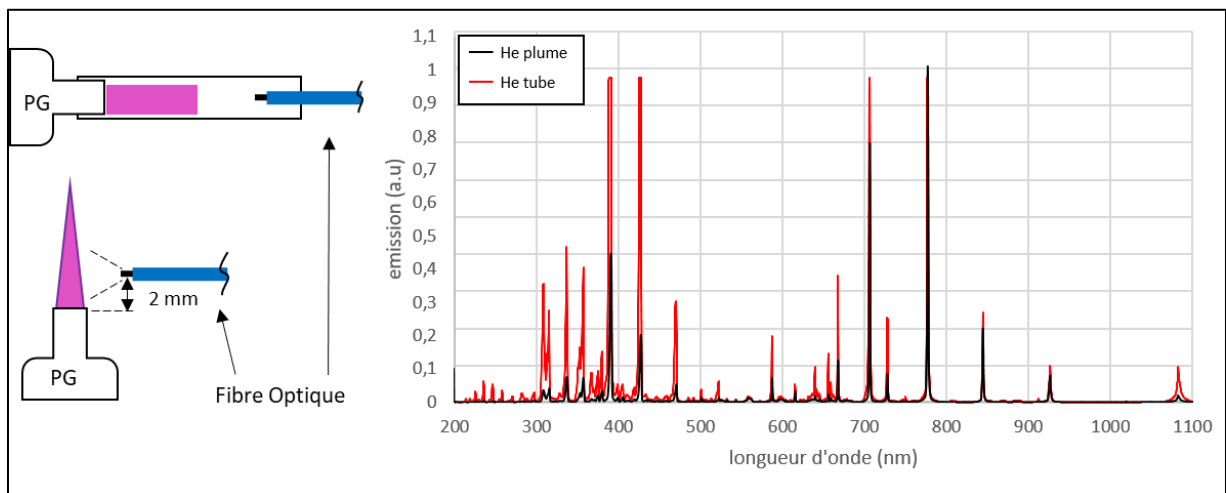


Figure 34: Analyse du spectre d'émission d'un plasma d'hélium dans sa plume comparé à dans un tube d'endoscopie (He 9kV 20kHz 1L.min<sup>-1</sup>).

Les spectres d'émission présentés en Figure 34 sont obtenus pour la configuration du PG avec un débit de 1 L.min<sup>-1</sup> d'hélium, une amplitude de tension de 7kV et une fréquence de répétition des impulsions de 20 kHz. Pour cette configuration du PG, le plasma ne se propage que sur 10 cm dans le tube. Le spectre observé dans le tube est donc le spectre du plasma d'hélium sans interaction avec l'air environnant. Les spectres présentés sont normalisés par rapport à leur maximum respectif. On notera que le spectre « He tube » sature à 391, 428, 706 et 777 nm, cependant, l'analyse est ici seulement qualitative. Un plasma généré dans un hélium très pur favorise la création de NO\* et OH\*. L'intensité relativement importante de certaines transitions spécifiques du plasma dans le tube comparé à la plume plasma, particulièrement celles liées aux espèces NO\* (entre 200 et 300nm), et en particulier OH\* (307

nm) et  $N_2^{+*}$  (391 et 428 nm), confirme la pureté de l'hélium dans le tube et informe sur la présence en seulement d'infimes quantités de diazote et dioxygène, de l'ordre du ppm [141].

Afin de créer des RONS dans le tube pour estimer plus tard leur pouvoir bactéricide, nous avons ajouté différents pourcentages de dioxygène dans l'hélium : 0,5; 1; 1,5 et 2%. La Figure 35 présente le spectre d'émission du plasma d'hélium se propageant dans le tube comparé à un plasma d'hélium mélangé à 1% de dioxygène se propageant dans le tube.

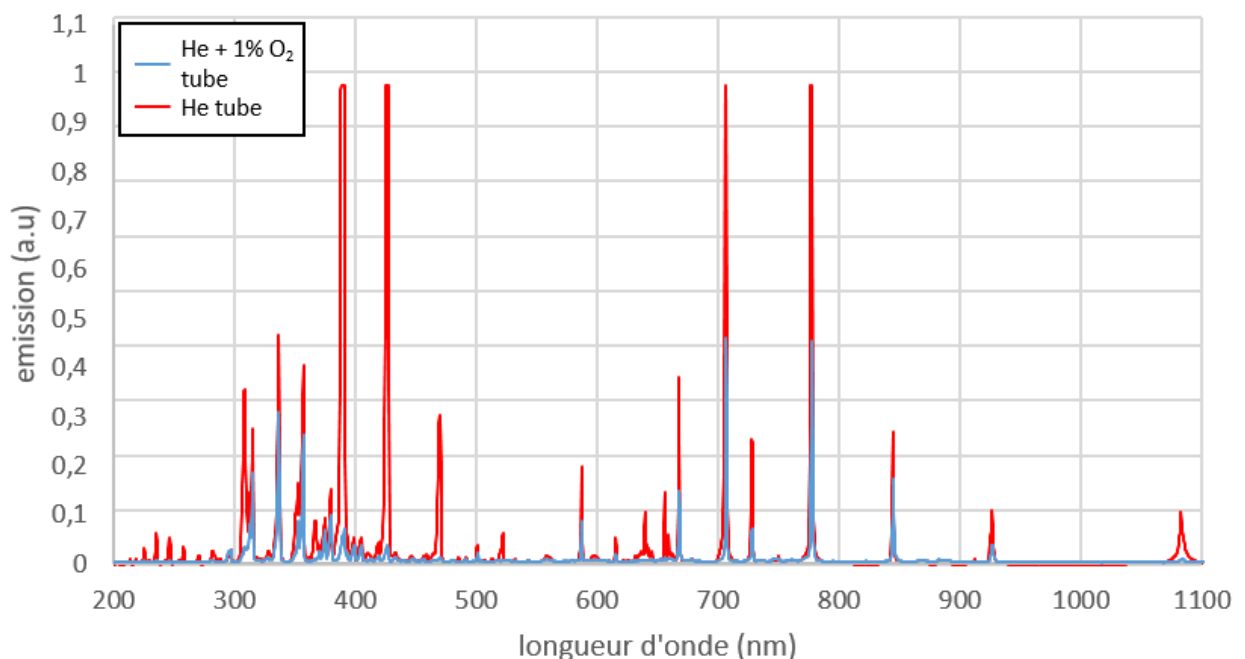


Figure 35: Analyse du spectre d'émission d'un plasma d'hélium dans un tube d'endoscopie (He 1slm 9kV 20kHz) et d'un plasma de mélange hélium-dioxygène (He + 1%O<sub>2</sub> 1slm 9kV 20kHz).

A l'instar des spectres étudiés en Figure 31, l'ajout de dioxygène se traduit par un affaiblissement global de l'intensité du spectre et en particulier de certaines raies et bandes, liées à  $NO^*$ ,  $OH^*$  et  $He^*$ . Le comportement du plasma est donc similaire dans le tube et dans la plume quant à l'ajout de dioxygène dans l'hélium en amont du réacteur. La création de RONS à courte durée de vie est éteinte au bénéfice de la création de ROS à longue durée de vie comme par exemple l'ozone. En effet, une mesure d'ozone en sortie de tube nous indique une concentration de 8,2 ppm après 20 secondes de plasma pour le mélange à 1% de dioxygène. On peut néanmoins noter que cette concentration est inférieure à celle mesurée pour une plume plasma ( $\approx 28$  ppm, Figure 32), probablement dû au fait que dans le tube, la concentration de dioxygène (1%) est moins importante que dans l'air.

### 3.4 Caractérisation Electrique et Thermique du Plasma Gun

La caractérisation électrique du PG couplé à une cible est nécessaire, car la nature de la cible (conductrice ou isolante) peut influencer le comportement du PG. De plus, elle permet de déterminer la puissance totale consommée, la fraction réellement transmise à la surface

traînée et les pertes, facilitant ainsi la comparaison avec les données de la littérature — le plus souvent obtenues sur des cibles conductrices —, notamment pour de futures optimisations des conditions de traitement dans le cadre d'applications en décontamination et en biomédecine.

### 3.4.1 Mesure de la répartition de puissance dans le couple Plasma-Cible

La tension, ainsi que le courant en sortie de l'alimentation ont été mesurés dans les différentes conditions environnementales et sont présentés dans la Figure 36, pour le PG traitant une gélose située à 15 mm de la sortie du réacteur et opérant à 7 kV 20 kHz et 1 L.min<sup>-1</sup> d'Hélium.

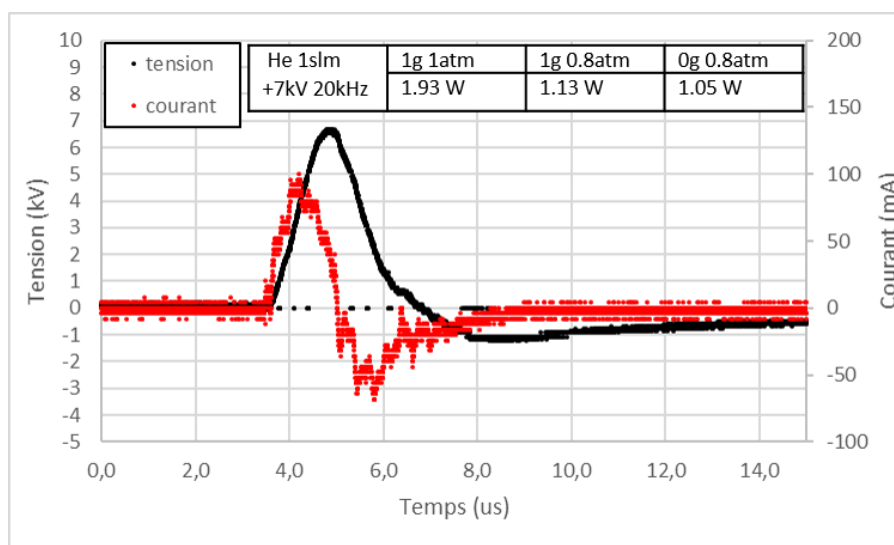


Figure 36: Allures temporelles de la tension (en noir) et de courant (en rouge) d'une décharge plasma mesurées en sortie d'alimentation en 1g. Le tableau indique les puissances consommées par le PG pour les différentes conditions environnementales pour la configuration du PG He 1L.min<sup>-1</sup> 7kV 20kHz.

Les puissances de la Figure 36 sont calculées avec la formule suivante :  $P = \frac{1}{T} \int_0^T U(t).I(t)dt$

Il a été montré précédemment que la pression réduite, caractérisée par une densité des neutres moins importantes, permet un libre parcours moyen des électrons plus grand. Le courant nécessaire à la génération du plasma est plus faible à pression réduite. En effet, la puissance mesurée en 1g pression réduite est plus faible qu'en 1g 1atm, 1,1 W contre 1,9 W, respectivement. La puissance consommée en 0g est similaire à celle consommée en 1g 0,85atm (1,05 W  $\approx$  1,13 W). L'apesanteur seule n'a donc pas d'effet sur la puissance consommée.

Le Tableau 6 présente la puissance consommée par le PG pour différents pourcentages de dioxygène ajouté en amont du réacteur, dans les différentes conditions environnementales.

Tableau 6: Puissance consommée par le PG pour différents pourcentages de dioxygène dans les différentes conditions environnementales

|           | He     | He + 1%O2 | He + 1,5%O2 |
|-----------|--------|-----------|-------------|
| 1g 1 atm  | 1,93 W | 1,29 W    | 1,18 W      |
| 1g 0,8atm | 1,14 W | 0,74 W    | 0,70 W      |
| 0g 0,8atm | 1,05 W | 0,71 W    | 0,69 W      |

L'ajout de dioxygène diminue la puissance consommée pour toutes les conditions environnementales, diminuant ainsi l'énergie apporté au plasma. Cela peut s'expliquer car l'oxygène est électronégatif donc consomme les électrons, ce qui réduit le courant et donc la puissance consommée. Comme précédemment, l'apesanteur seule n'a pas d'effet sur la puissance, mais la diminution de la pression diminue la puissance consommée.

La deuxième série de mesures (Figure 38) a été effectuée dans la configuration de la dernière campagne de vol pour laquelle la plume plasma traite différentes cibles à 15 mm de la sortie d'un tube d'endoscopie de 15 cm raccordé au capillaire du réacteur. Dans cette configuration, le PG opère avec un débit de  $1 \text{ L.min}^{-1}$  d'Hélium, à une tension de 9kV et une fréquence de 20 kHz. La tension est mesurée en sortie d'alimentation et le courant est mesuré à trois points différents : en sortie de l'alimentation, au niveau de l'électrode de masse du réacteur et au niveau du câble reliant la cible à la masse (2.2.1). Les courants mesurés au niveau de la cible sont présentés en Figure 37 et sont comparés au courant mesuré en sortie d'alimentation.

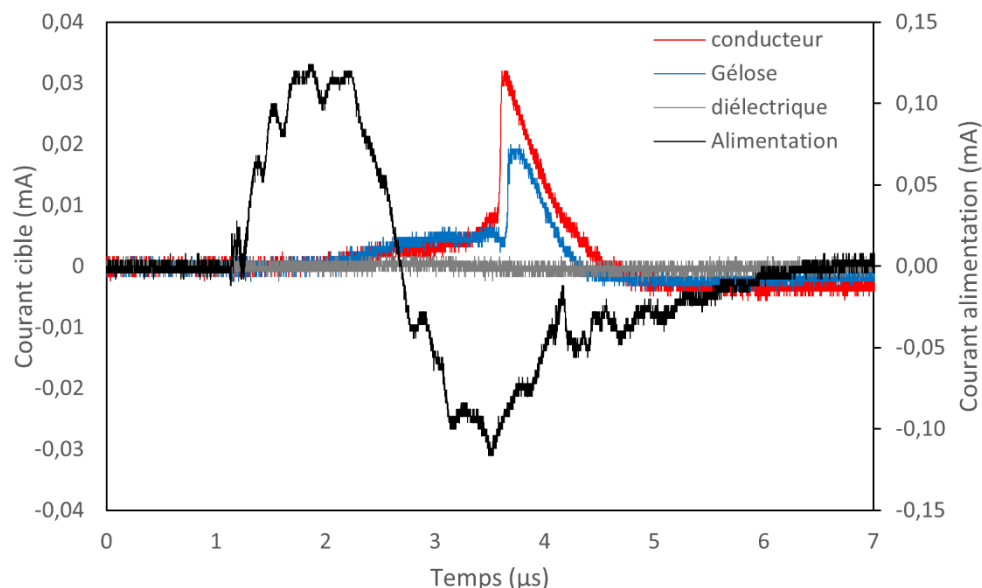


Figure 37: Profils des courants mesurés au niveau de la cible (Conductrice, gélose et diélectrique) comparé au courant mesuré en sortie d'alimentation durant un traitement de PG (He 9kV 20kHz). (n=50)

Les acquisitions montrent que le profil de tension est similaire qu'il s'agisse d'une cible conductrice ou d'une gélose. En revanche, pour une cible diélectrique, le signal de courant se limite essentiellement à un bruit de fond. On observe par ailleurs un décalage d'environ  $2 \mu\text{s}$  entre le profil de courant mesuré à la sortie de l'alimentation et celui relevé au niveau de la cible. Ce délai correspond au temps nécessaire au front d'ionisation pour parcourir une distance d'environ 20 cm (soit les 8 cm du capillaire plus les 15 cm du tube), se propageant à une vitesse de l'ordre de  $10 \text{ cm.}\mu\text{s}^{-1}$ .

La Figure 38 présente les puissances calculées à différentes bornes du circuit PG-cible : à l'électrode haute tension, la masse du réacteur et la masse reliée à différents types de cibles de 10 mm d'épaisseur. Ces mesures nous permettent de connaître l'énergie électrique transférée à la cible par le plasma et de mesurer les « pertes » énergétiques, calculé comme

étant la puissance mesurée à la haute tension à laquelle on soustrait les puissances mesurées aux différentes masses.

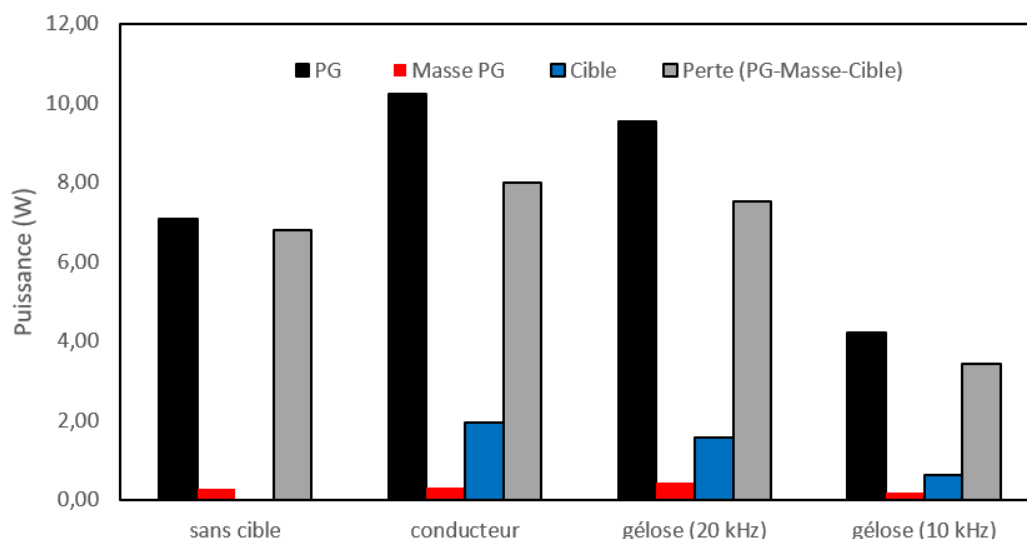


Figure 38: Diagramme des puissances mesurées à différentes bornes du circuit PG-Cible (haute-tension, masse et masse de la cible), pour différentes cibles (sans, cible conductrice, gélose (10 et 20 kHz)). Configuration du PG (9kV 20kHz 1L.min<sup>-1</sup>)

Les mesures présentées dans la Figure 38 montrent que l'ajout d'une cible, ainsi que la nature de celle-ci, induisent des variations significatives de la puissance consommée par l'alimentation (histogramme noir). La puissance consommée par le PG est plus élevée lors du traitement de cibles conductrices ( $\approx 10,2$  W), celles-ci jouant le rôle de seconde électrode de masse, que pour des cibles non conductrices telles que la gélose ( $\approx 9,5$  W). À l'inverse, la puissance mesurée à l'électrode de masse (histogramme rouge), indicatrice des pertes énergétiques lors de la génération du plasma, est plus importante avec une gélose ( $\approx 4$  %) qu'avec une cible conductrice ( $\approx 3$  %). Ces pertes atteignent leur maximum en absence de cible ( $\approx 7$  %). Ces résultats démontrent que le comportement de la plume plasma varie selon le matériau exposé. Il est donc essentiel, pour toute application, de prendre en compte le couplage plasma-cible, chaque matériau présentant des propriétés électriques distinctes qui influencent la charge, la densité et la distribution énergétique du plasma. Par ailleurs, la diminution de la fréquence de génération des décharges accroît légèrement les pertes mesurées sur la masse ( $\approx 4,0$  % à 20 kHz contre  $\approx 4,5$  % à 10 kHz).

Pour le couple PG-gélose, qui constitue la configuration principalement étudiée au cours de cette thèse, le plasma se comporte comme s'il interagissait avec une cible conductrice. En effet, la puissance mesurée au niveau de la masse de la gélose ( $\approx 2,1$  W) est proche de celle enregistrée pour une cible conductrice ( $\approx 2,5$  W). Enfin, en moyenne, près de 80 % de la puissance injectée dans le système est considérée comme « perdue » (zone grise), probablement répartie entre l'échauffement du gaz, le réchauffement des parois du réacteur et les processus chimiques induits par la décharge.

### 3.4.2 Mesures des variations thermiques de la surface de la cible induite par un traitement plasma

Pour correspondre aux critères de sécurité de notre dispositif pour le traitement d'un patient, il ne faut pas que la température induite par le traitement soit supérieure à 40°C [142]. La température ressentie par la cible, ou le patient, est la température des espèces dites lourdes, les neutres (molécules, atomes, radicaux), qui n'est pas mesurable par spectroscopie contrairement à la température des électrons ou des ions. Il faut donc mesurer les variations de la température de la surface de la cible, induite par le traitement plasma.

L'objectif de cette partie est de sélectionner un dispositif adapté à la caractérisation thermique de la surface de la cible, en cohérence avec notre configuration expérimentale, caractérisée par des temps de traitement courts, une plume plasma unique et des traitements dynamiques. Pour ce faire, différents diagnostics thermiques couramment utilisés ont été évalués : caméras infrarouges à faible résolution spatiale ainsi qu'à haute résolution spatiale et temporelle, thermomètre à fibre optique équipé d'une sonde en GaAs à son extrémité, et thermocouple. Nous avons décidé d'examiner les mesures apportées par une caméra infrarouge conventionnelle, à faible résolution spatiale et peu encombrante (nommée par la suite infrarouge BR), FLIR® E5 PRO, un thermomètre à fibre optique, OPTOCON® FOTEMP1-4, avec une surface d'acquisition de 10x1 mm<sup>2</sup>, et une caméra infrarouge à haute résolution spatiale, Infratec® ImageIR 9400 (nommée par la suite infrarouge HR). Le thermocouple a été écarté car sa composante conductrice aurait influencé le jet de plasma, comme expliqué en Figure 38, faussant ainsi les résultats.

La Figure 39 montre la température de la surface d'une gélose, positionnée à 15 mm de la sortie du capillaire, mesurée par les deux caméras (caméra infrarouge BR a), caméra infrarouge HR b)) après 40 secondes de traitement (7 kV, 20 kHz, 1 L.min<sup>-1</sup>).

La faible résolution de la caméra infrarouge BR, Figure 39.a), lisse la mesure dans la zone d'impact du plasma. Par conséquent, la température maximale indiquée est une température moyennée (1 pixel = 800x800 µm<sup>2</sup>). A l'inverse, l'acquisition de la caméra infrarouge HR capture une zone plus petite mais mieux résolue (1 pixel = 50x50 µm<sup>2</sup>). Cette résolution permet d'observer et de mesurer des pics de température très localisés, ce qui explique la grande différence entre les températures maximales mesurées par les deux appareils : 37,2 °C contre 95,7 °C.

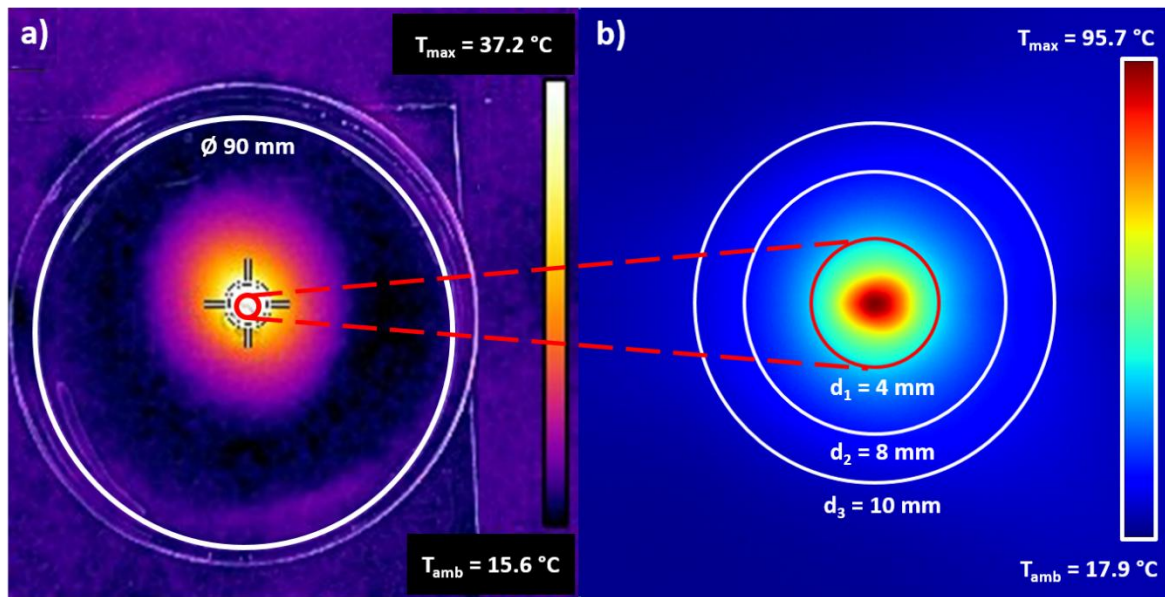


Figure 39: Mesures de la température de la surface d'une gélose traitée pendant 40 secondes par le PG (7 kV, 20 kHz, 1 L.min<sup>-1</sup>) par deux caméras : a) caméra thermique basse résolution (photo transmise par la caméra), b) caméra infrarouge haute résolution (image créée après traitement des données transmises par la caméra).

Les différentes zones étiquetées  $d_1$ ,  $d_2$  et  $d_3$  sont respectivement des cercles concentriques de diamètres 4 mm, 8 mm et 10 mm. Les acquisitions de la caméra infrarouge HR sont réalisées pendant toute la durée du traitement de la cible à une fréquence de 10 Hz et nous permettent d'exporter les températures moyennes de chacune de ces trois zones en fonction du temps, Figure 40.a), ainsi que la température maximale, dans la Figure 40.b). La température initiale plus basse pour la zone  $d_1$  est supposément due à l'effet de refroidissement du flux d'He sans plasma allumé.

Nous pouvons voir sur la Figure 40.a) que la température maximale mesurée par la caméra thermique (Figure 39.a)) correspond à la température moyenne de la zone  $d_2$  ( $37.2\text{ °C} \approx 41.3\text{ °C}$ ). Cela confirme que les caméras thermiques à faible résolution spatiale mesurent une température moyenne, perdant ainsi beaucoup d'informations. En effet, la température maximale de la surface totale de la gélose, présentée en Figure 40.b), atteint des températures supérieures à  $100\text{ °C}$ , alors que pour des résolutions plus faibles (soit une température moyennée), la température de la surface de la gélose mesurée est inférieure à  $40\text{ °C}$  (Figure 39.a)).

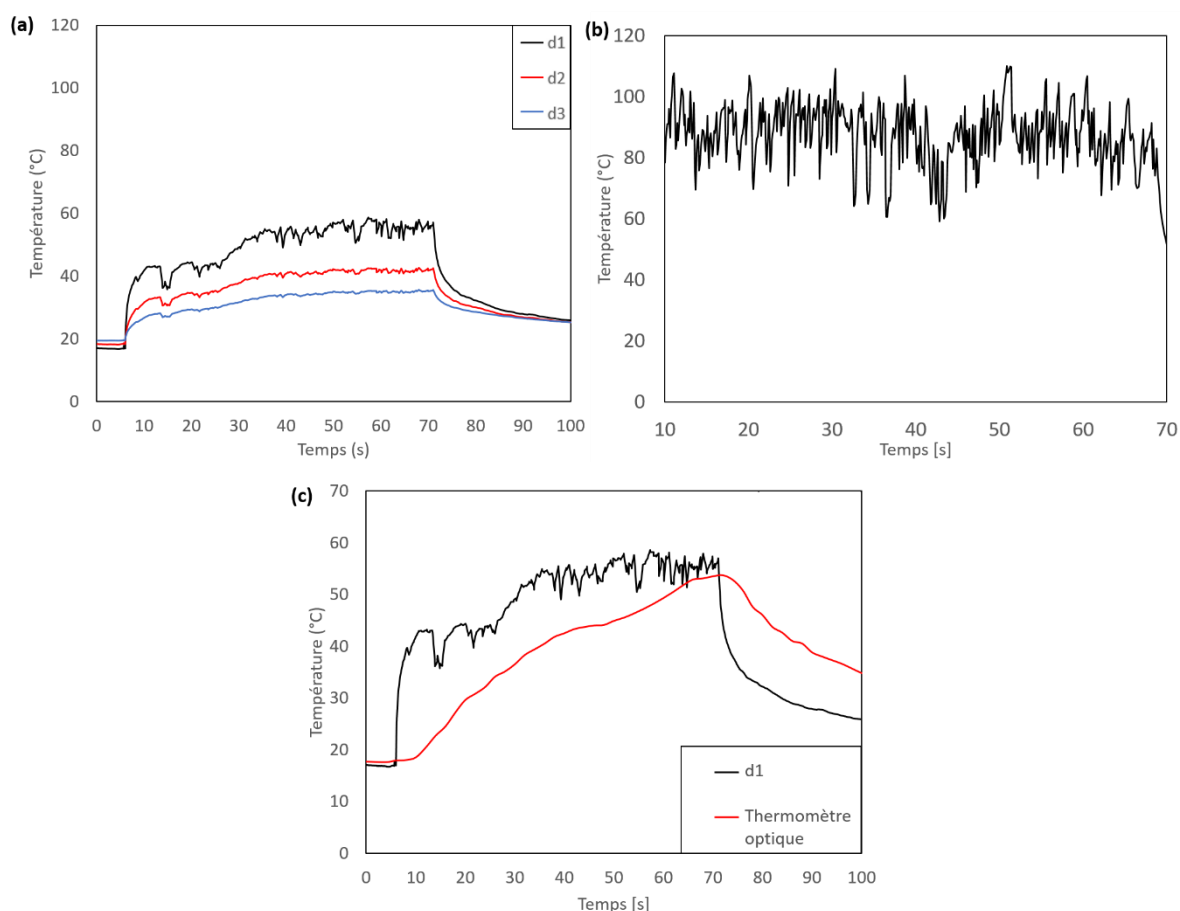


Figure 40: Mesures de la température de la surface d'une gélose traitée par le PG (7 kV, 20 kHz, 1 L.min<sup>-1</sup>) par la caméra infrarouge HR et un thermomètre à fibre optique. a) température moyenne en fonction du temps des zones d1, d2, et d3 de la Figure 39.b), b) température maximale en fonction du temps mesuré par la caméra, c) Comparaison de la température de surface de la gélose mesurée par caméra (moyennée sur d1) et par thermomètre à fibre optique.

Nous mesurons ensuite la température de surface de la cible à l'aide du thermomètre à fibre optique, avec la sonde positionnée sur la cible, sous l'impact de la plume. La température mesurée en fonction du temps est présentée à la Figure 40.c). Elle montre que la température mesurée par la fibre optique à la fin du traitement est égale à la température moyenne de la zone d1. La fibre optique est donc plus précise que la caméra infrarouge BR et nous permet d'avoir une mesure cinétique de la température. Cependant, nous pouvons constater que le comportement de la réponse temporelle en phase de chauffage et de refroidissement mesurée par la fibre est plus lent que celui de la caméra infrarouge HR. Cela pourrait expliquer pourquoi nous ne mesurons pas les pics de température présentés en Figure 40.b).

Le dispositif sélectionné pour une caractérisation optimale est donc la caméra infrarouge Infratec® ImageIR 9400, lors de la dernière campagne de vols paraboliques. L'étude de la variation de la surface de la cible induite par le traitement plasma ayant été réalisé lors de la même campagne que celle du déplacement de la cible, le PG était donc en configuration tube (9 kV, 20kHz, 1 L.min<sup>-1</sup>).

Les cibles traitées en condition terrestre sont des disques de 10 mm de gélose, de diélectrique et isolant thermique (polyuréthane), et de conducteur électrique et thermique (acier), à 15

mm de la sortie du capillaire et reliés à la masse. La gélose a aussi été traitée en 0g. Dans un premier temps, la variation de la température de la surface de la cible induite par le flux d'hélium a été mesurée, présentée en Figure 41.

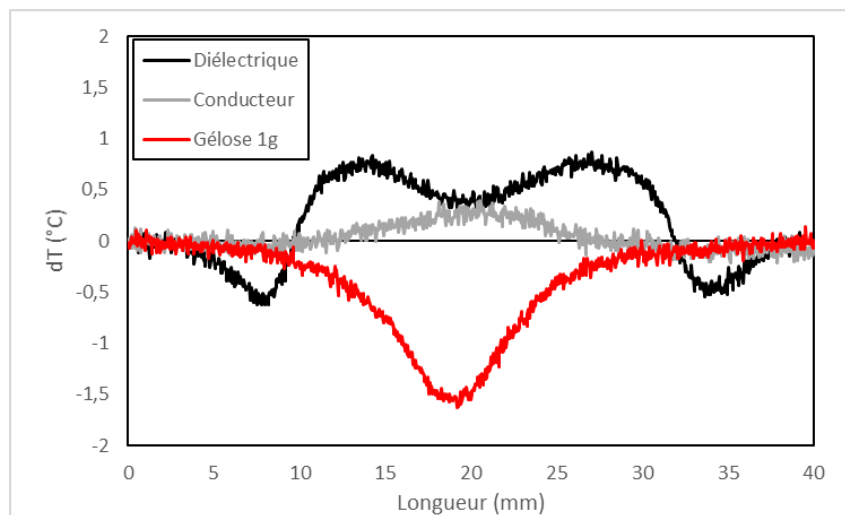


Figure 41: Profil des variations de température de la surface de la cible induite par un flux d'hélium ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ ) mesurées pour différentes cibles : gélose (rouge), diélectrique/isolant thermique (polyuréthane)(noir) et conducteur électrique/thermique (acier,  $4 \text{ L.min}^{-1}$ )(gris).

L'utilisation d'un matériau isolant permet d'obtenir de très bons profils thermiques, contrairement à la cible conductrice pour laquelle la température induite par le plasma se dissipe rapidement dans le matériau. C'est pour cette raison que le profil présenté (gris) a été réalisé à un débit de  $4 \text{ L.min}^{-1}$ , afin d'accentuer les variations de température observables. Le flux d'hélium seul induit un échauffement sur les cibles solides, attribuable à l'effet Dufour [143]. À l'inverse, la présence d'eau dans la gélose entraîne un refroidissement de la surface, lié à son évaporation sous l'effet du flux d'hélium, lequel favorise l'évacuation de la vapeur et réduit ainsi son taux en surface de la cible. Ce refroidissement devra être pris en compte dans les mesures de variation de température de la surface induite par le traitement plasma.

### 3.5 Conclusion du chapitre 3 et discussion

Ce chapitre détaille la première phase d'une étude visant à caractériser le PG dans le but de l'utiliser pour la décontamination bactérienne, aussi bien en conditions terrestres qu'en apesanteur. L'objectif principal est d'évaluer le comportement de la plume plasma selon différentes configurations environnementales (gravité, pression), électriques (tension, fréquence) et physico-chimiques (composition du gaz).

La plume plasma générée par le PG, composée d'hélium ou de mélanges hélium/dioxygène, est sensible à la flottabilité induite par la gravité terrestre. En apesanteur, cet effet disparaît, rendant la propagation plus symétrique et stable. L'étude montre que la pression réduite augmente la longueur de la plume, indépendamment de la gravité, ce qui indique que la pression est un facteur critique pour la propagation mais que l'apesanteur n'impacte pas

l'opérabilité du PG, ce qui est une bonne nouvelle quant à sa potentielle utilisation en conditions spatiales.

Des diagnostics optiques révèlent la formation des instabilités importantes dans toutes les conditions, favorisant le mélange avec l'air ambiant — essentiel pour la formation des espèces réactives d'oxygène et d'azote (RONS). Ces instabilités apparaissent plus loin dans le flux d'Hélium en 0g, ce qui modifie la localisation et la dynamique de production des RONS, mais ne la supprime pas.

Des analyses spectroscopiques confirment la génération de RONS dans la plume, notamment grâce à la présence d'espèces excitées ( $O^*$ ,  $OH^*$ ,  $NO^*$ ). L'introduction d'un faible pourcentage de dioxygène (jusqu'à 2%) modifie la forme, la couleur, et la longueur de la plume. Le plasma devient plus bleu, plus canalisé, mais plus court, en raison de l'effet d'extinction du dioxygène sur les espèces excitées. L'ajout de dioxygène diminue globalement l'intensité du plasma, comme les RONS à courte durée de vie, néanmoins la création d'ozone (ROS à longue durée de vie) est significative, avec une concentration maximale mesurée à 54 ppm — proche des limites réglementaires, mais sans risque pour des durées d'exposition courtes. L'équilibre entre espèces à courte et longue durée de vie dépend donc du dosage d' $O_2$ .

Afin d'augmenter la surface inactivée par le générateur plasma (PG) dans des conditions expérimentales contraignantes (vols paraboliques), nous avons opté pour l'utilisation de capillaires souples permettant de déplacer facilement l'extrémité de la plume. Cette approche offre également une première évaluation du potentiel du plasma pour la décontamination préventive de tubes médicaux (endoscopie, cathéters). Les résultats montrent que la longueur de propagation croît linéairement avec la tension appliquée, sans dépendance marquée vis-à-vis de la fréquence ou du débit de gaz, mais qu'elle est fortement réduite dès l'ajout de faibles pourcentages de dioxygène. L'hélium présent dans le tube est très pur et l'introduction d'oxygène ( $\geq 0,5\%$ ) favorise la production de ROS à longue durée de vie (dont l'ozone), qui pourraient contribuer à la décontamination en post-plasma (dans les effluents) et à l'intérieur des tubes d'endoscopie.

L'apesanteur n'influe pas sur la puissance consommée par le PG. Cependant, la puissance est influencée par l'ajout de dioxygène dans le gaz et la variation de pression. Le couplage entre le plasma et la cible (agar, diélectrique, métal) modifie le plasma.

Thermiquement, l'application du plasma sur une cible reste conforme aux contraintes médicales ( $< 40^\circ\text{C}$ ) si mesuré à basse résolution, mais des caméras IR haute définition révèlent des pics locaux supérieurs à  $100^\circ\text{C}$ . Cette différence justifie la nécessité de prendre en compte ces pics de température locaux dans de futures études, notamment de décontamination.

Pour conclure, le PG peut opérer en 0g et se comporte comme dans des conditions terrestres avec des variations minimales dues à l'absence de forces de flottabilité, et la pression de la

cabine. Les différentes études menées dans le but de la caractérisation du PG nous donne des indices et des indications sur les composantes du plasma ayant potentiellement un effet bactéricide qui seront discutés dans le prochain chapitre : Les RONS à courte durée de vie, les RONS à longue durée de vie, les espèces excitées, le bombardement ionique et le stress thermique induit par le traitement plasma.

# Chapitre 4 Etude de l'efficacité du Plasma Gun pour l'inactivation de bactéries non-pathogènes et multi-résistantes en 1g et 0g

## 4.1 Traitement de bactéries non pathogènes pour différentes configurations du Plasma Gun et différentes phases de croissance bactérienne

### 4.1.1 Contrôles bactériologiques selon les conditions expérimentales

Il a été prouvé que les variations de la force gravitationnelle et des accélérations peuvent influencer la croissance et le métabolisme des micro-organismes ou des cellules [14-17,56-57]. Afin d'étudier si les variations importantes et répétées de gravité influent sur la croissance des bactéries lors des vols paraboliques, plusieurs géloses ensemencées ont été emmenées lors des vols paraboliques et ont servi de contrôle. Elles ont été exposées au flux d'hélium pendant la totalité d'une parabole ( $1 \text{ L.min}^{-1}$  pendant 5 min) et stockées dans le dispensaire du bâti expérimental pour le reste du vol pour un total de 31 cycles de conditions d'hypergravité (x2) et d'apesanteur, à une pression de 0,85 atm. La Figure 42 présente les différents contrôles bactériologiques pour les différentes conditions expérimentales : La Figure 42.a) présente une gélose ensemencée non traitée, la Figure 42.b) une gélose ensemencée exposée à 5 minutes de jet d'hélium dans les conditions de laboratoire, et Figure 42.c) le contrôle en 0g, évoqué précédemment.

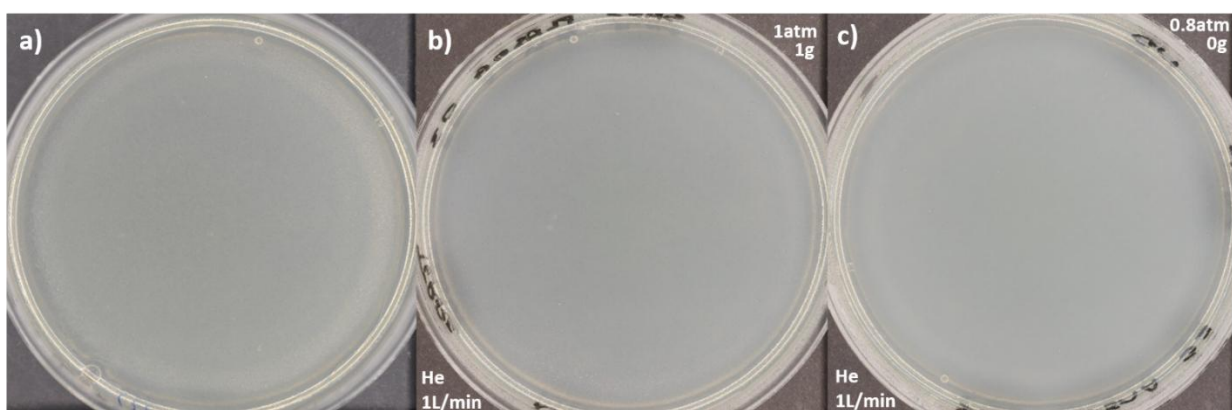


Figure 42: Contrôles bactériologiques : a) gélose ensemencée non traitée en 0g, b) gélose ensemencée traitée par un flux d'hélium en 1g ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ , 5min), c) gélose ensemencée traitée par un flux d'hélium en 0g ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ , 5min).

Le tapis opaque et uniforme observable dans la figure Figure 42.b), similaire à celui en Figure 42.a), nous confirme que l'exposition des bactéries *E.coli* à un flux d'Hélium n'affecte pas la croissance de celles-ci. De même, il semble que la durée relativement courte des vols

paraboliques et les nombreuses variations de gravité n'ont pas eu d'effet sur les échantillons bactériens. Comme le montre la Figure 42.c), le témoin soumis à des vols paraboliques et au flux d'Hélium est identique au témoin en conditions terrestres standard, développant dans les deux cas une couche dense de colonies bactériennes. Cela confirme que, dans nos conditions expérimentales, les vols paraboliques, n'affectent pas significativement la croissance des *E.coli*.

Par ailleurs, le traitement de la gélose par un jet plasma induit la formation d'espèces chimiques réactives en son sein, susceptibles d'induire un effet bactéricide [122]. Ces espèces sont pour la plupart à longue durée de vie. Elles peuvent alors réagir avec les bactéries plusieurs heures après le traitement, et peuvent se diffuser dans le milieu. Elles pourraient alors fausser notre interprétation des résultats et du rôle des composantes du PG ayant un potentiel bactéricide. Nous avons donc traité une gélose et immédiatementensemencé les bactéries, Figure 43.

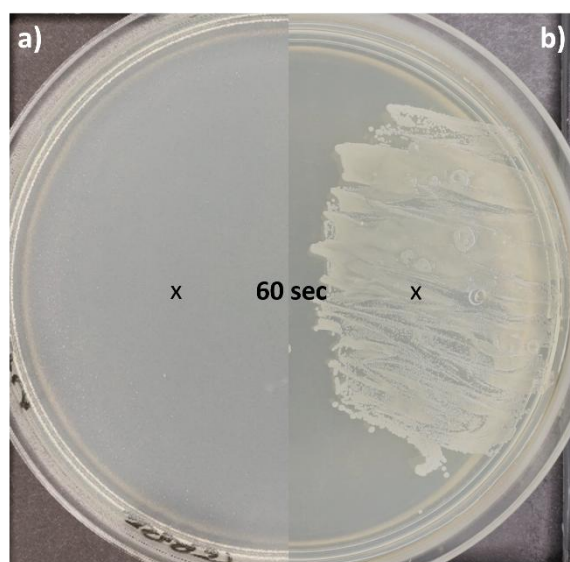


Figure 43: Contrôles bactériologiques de gélose ensemencée après traitement de la gélose par le PG (7kV, 20kHz, 1L.min<sup>-1</sup>, 60s). La x indique la position du PG pendant le traitement. a) gélose ensemencée par inondation b) gélose ensemencée par stries

L'ensemencement a été effectué selon deux méthodes différentes. Dans un premier temps, la méthode utilisée a été l'ensemencement par inondation (2.4.4), Figure 43.a). Cependant, nous craignons que l'ajout de milieu liquide en quantité importante sur la surface de la gélose traitée dilue les potentielles espèces présentes ou crée une fine couche de milieu non traitée sur laquelle les bactéries pourraient se développer sans interaction avec le milieu traité. Le second protocole d'ensemencement utilisé est la méthode des stries, Figure 43.b), réalisé avec un inoculateur de 10μL. Ce protocole à l'avantage de n'utiliser qu'une infime quantité d'inoculum mais ne permet pas le développement d'un tapis dense et homogène. Les géloses ont été traitées par le PG pour une durée de 60 secondes (7 kV, 20 kHz, 1 L.min<sup>-1</sup>), puis ensemencées avec *E.coli*. La croissance des bactéries ne semble pas être affectée par un milieu au préalablement traité.

Nous avons donc confirmé que l'exposition au gaz seul, les conditions environnementales ainsi que les espèces créées et distribuées dans le milieu n'affectent pas le développement des bactéries. Dans la suite de l'étude, les résultats et causes de l'inactivation seront donc supposés intrinsèques aux composantes du plasma en interaction avec les bactéries. Pour les traitements des géloses en conditions terrestres, le réacteur sera orienté vers le bas pour éviter les phénomènes de transport liés à la flottabilité de l'hélium, montré en Annexe-C.

#### 4.1.2 Etude du potentiel bactéricide du PG pour différentes conditions environnementales en traitement statique

Dans un premier temps, nous avons traité des gélosesensemencées avec *E.coli* pour différentes concentrations de dioxygène dans le flux d'hélium, pour un PG opérant à 7 kV et à 20 kHz. Les contraintes imposées par les conditions expérimentales lors des vols paraboliques ne nous permettent pas d'avoir une durée de traitement supérieure à 20 secondes. Les résultats présentés dans la suite de cette partie correspondront à des traitements de 15 secondes, sauf indication contraire. L'inhibition et/ou inactivation des bactéries est alors caractérisée par l'absence de colonies. La Figure 44 présente le comportement obtenu lors des traitements en conditions 0g.

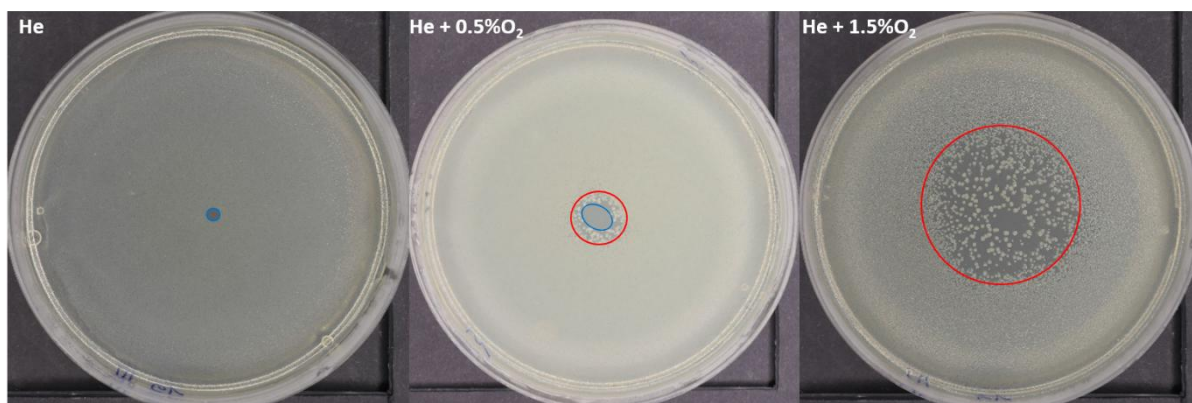


Figure 44: Comportement de la zone d'inhibition après traitement plasma en fonction de la concentration de dioxygène dans le mélange de gaz : 0%, 0,5% et 1% en conditions de micropesanteur, +7kV, 20kHz (cercle bleu = zone d'inactivation, cercle rouge = zone d'effet).

La Figure 44 présente deux zones distinctes d'inhibition sur les géloses traitées :

**Zone d'inactivation** (en bleu sur la Figure 44) : Caractérisée par des frontières nettes et une absence totale de colonies bactériennes. Les tests de remise en culture réalisés sur des prélèvements issus de cette zone confirment l'absence de bactéries viables, attestant d'une inactivation complète suite au traitement plasma.

**Zone d'effet** (en rouge sur la Figure 44) : Délimitée par des contours moins définis, cette zone présente une contamination résiduelle par des colonies bactériennes, bien que la croissance ne soit plus homogène. La taille et la nature de ces zones varient selon la teneur en O<sub>2</sub> du gaz plasmagène. Avec un plasma d'hélium pur, seule une zone d'inactivation bien délimitée est observable. L'ajout de 0,5 % de O<sub>2</sub> entraîne un élargissement de la zone d'inactivation et

l'apparition d'une zone d'effet plus étendue mais moins définie. Pour des concentrations supérieures en  $O_2$ , on observe une disparition progressive de la zone d'inactivation au profit d'un élargissement de la zone d'effet.

L'incorporation de dioxygène favorise la production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote à longue durée de vie (LL-RONS). Ces espèces, transportées par les effluents gazeux, peuvent interagir avec les bactéries en périphérie de la zone d'impact plasma, bien que de manière moins homogène et efficace que dans la zone d'inactivation centrale. Ces observations suggèrent un gradient d'efficacité du traitement plasma en fonction de la distance par rapport au point d'impact et de la composition gazeuse utilisée.

La Figure 45 présente l'évolution du diamètre de la zone d'inactivation (en bleu sur la Figure 44 et représenté par des ronds sur le graphique) et celui de la zone d'effet (en rouge sur la Figure 44 et représenté par des triangles sur le graphique). Le peu de conditions étudiées en 0g est imposé par les contraintes liées aux vols paraboliques, en particulier le nombre limité de paraboles.

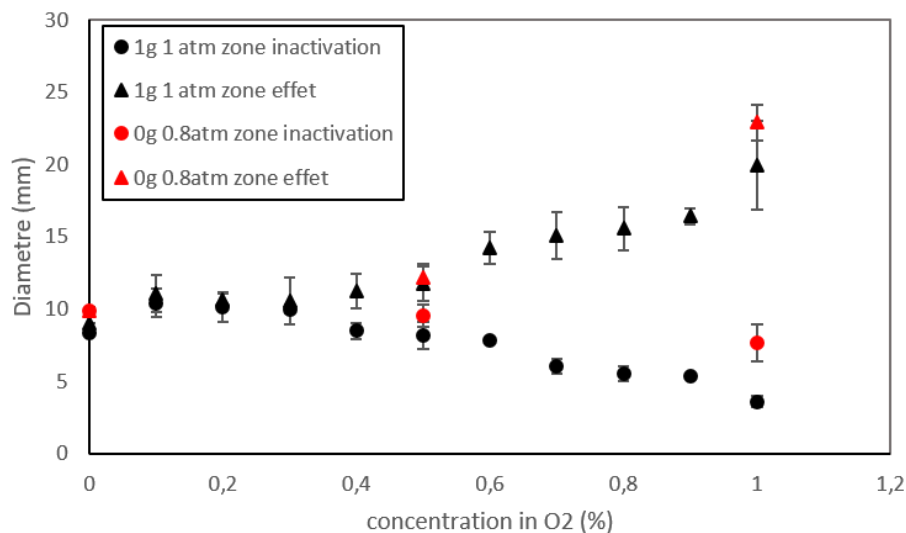


Figure 45: Diamètre des zones d'inactivation bactérienne et zone d'effet en fonction de la concentration en dioxygène ( $O_2$ ), mesuré sous deux conditions expérimentales : en gravité terrestre (1g 1atm, en noir) et en 0g (rouge). Les barres d'erreur représentent l'écart-type des mesures. (n=4)

Pour des concentrations en  $O_2$  inférieures à environ 0,4 %, seules des zones d'inactivation de diamètre constant sont observées, indépendamment des conditions environnementales. Au-delà de ce seuil, on constate en conditions de laboratoire l'apparition puis l'augmentation significative du diamètre de la zone affectée, pouvant atteindre jusqu'à 20 mm pour 1% de dioxygène. Une évolution similaire est relevée en 0g, avec toutefois des diamètres légèrement supérieurs à ceux mesurés en gravité normale. En revanche, à plus forte teneur en dioxygène, la taille des zones d'inactivation tend à diminuer, tout en restant légèrement plus étendue en 0g. Ces observations peuvent être corrélées avec les résultats présentés dans le chapitre précédent. En effet, la réduction de la zone d'inactivation peut être induite par la réduction de la longueur et du volume de la plume, donc la zone de contact à la surface de la gélose

Figure 27 et de l'énergie couplée au plasma plus faible, Tableau 6. L'augmentation de la zone d'effet est sans doute à attribuer à l'augmentation de la production de LL-RONS, notamment l'ozone (Figure 32) qui sont transportés dans les effluents. Au final, cette figure suggère une efficacité antibactérienne quasiment identique pour les deux conditions environnementales, mais légèrement accentuée en conditions 0g. Elle montre aussi que l'efficacité du traitement antibactérien est fortement dépendante de la concentration en dioxygène, avec un seuil à partir duquel l'inactivation est substituée par une grande zone d'effet. A partir d'une certaine concentration d'oxygène, il devient difficile de délimiter une surface d'inactivation.

Afin de savoir si la différence d'efficacité est liée à la 0g ou à la pression réduite de la cabine, les zones d'inactivations induite par traitement plasma sont mesurées pour deux concentrations de dioxygène (0% et 0,5%), en conditions terrestres à pression normale et à pression réduite, ainsi qu'en 0g, Figure 46. Le PG traite une géloseensemencée située à 15mm de la sortie du réacteur et opère à 7 kV, 20 kHz pour de l'hélium pur et un mélange d'hélium avec 0,5% de dioxygène ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ ), pour des durées de traitements de 5, 10 et 15 secondes, la durée de micropesanteur ne dépassant pas 20 secondes.

Pour les deux concentrations de dioxygène, la zone d'inactivation dépend du temps de traitement, le diamètre augmentant avec la durée de traitement. Enfin, les surfaces d'inactivation en 0g sont égales à celles obtenues en conditions terrestres pression réduite, indiquant que les différences observées dans la figure précédente sont dues à la pression de la cabine et non l'apesanteur.

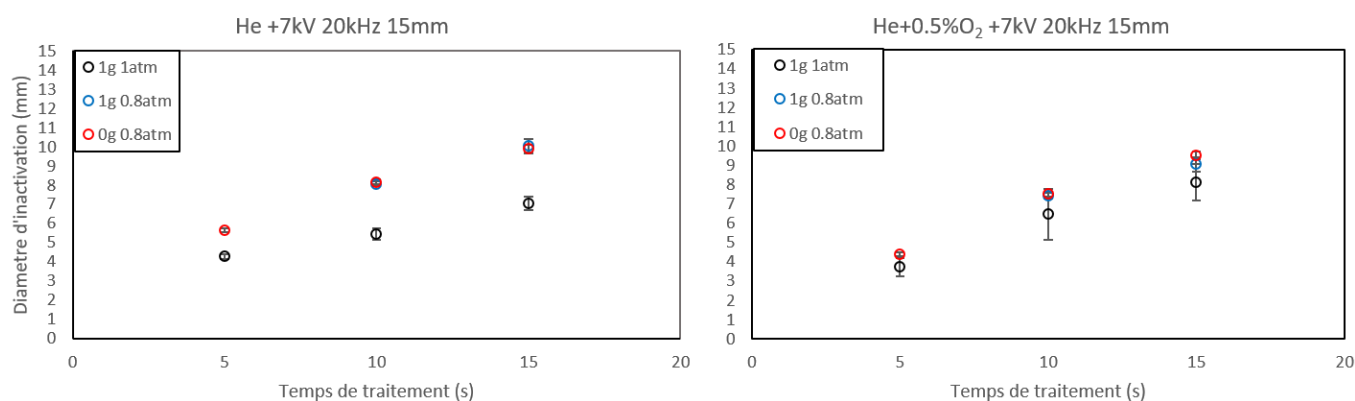


Figure 46: Comparaison de l'inactivation bactérienne par traitement plasma à 15mm en fonction des conditions environnementales terrestres à 1atm (noir) et à pression réduite (bleu) et de micropesanteur à pression réduite (rouge). (n=4)

Pour approfondir l'analyse des potentielles différences de l'efficacité antibactérienne liées aux conditions environnementales, les expériences précédentes ont été réitérées mais en plaçant la cible non plus à 15 mm mais à 25mm de la sortie du réacteur. L'objectif est de placer la cible plus loin dans les zones d'instabilités du flux d'hélium observées en Figure 26, dans un mélange hélium-air plus dilué. La Figure 47.a) présente l'évolution du diamètre de la zone

d'effet en fonction de la concentration de dioxygène ajouté, pour les distances réacteur-cible de 15mm (noir) et 25mm (rouge) en condition 0g.

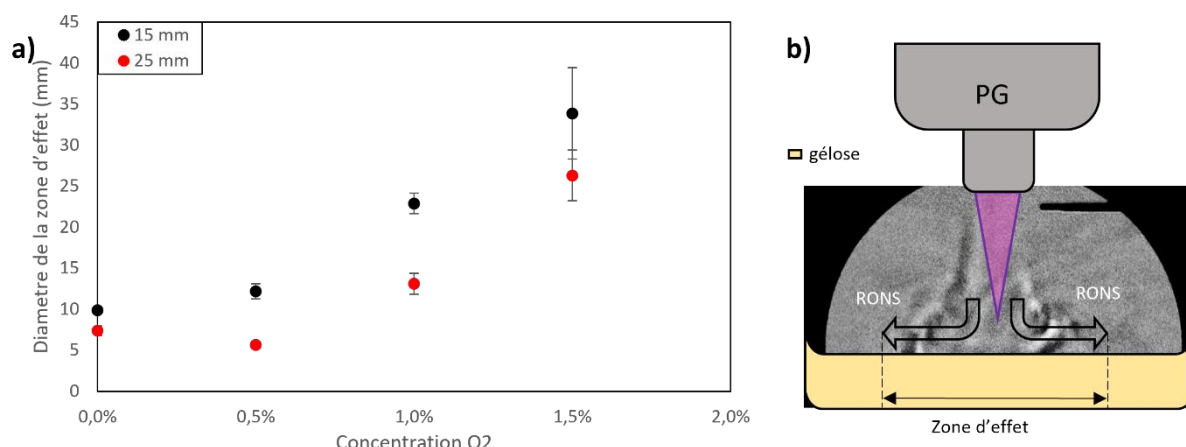


Figure 47: a) Diamètre de la zone d'effet en fonction de la concentration d'oxygène, pour une distance réacteur-cible de 15 mm (noir) et 25 mm (rouge) en conditions de micropesanteur. b) Schéma expliquant le transport des LL-RONS dans les effluents du flux d'hélium, comparé à la plume plasma (cône rose). (n=4)

L'évolution du diamètre de la zone d'effet est similaire pour les deux distances en fonction de la concentration de dioxygène. Cependant, elle est en tout point inférieure pour la distance supérieure. Les LL-RONS sont majoritairement créées dans le réacteur et dans la plume plasma qui se trouve au centre de l'écoulement. Elles sont ensuite transportées jusqu'à la cible, pour celles qui ne sont pas diluées dans l'air par les instabilités, puis se « déplacent » le long de la surface de la cible depuis le centre, qui peut être le point d'impact de la plume, comme imagé en Figure 47.b). Dans le cas d'une distance réacteur-cible de 15mm, la cible se situe au début de la zone d'instabilités (Figure 26). L'écoulement a encore assez rapide et peu dilué pour transporter les espèces à longue durée de vie jusqu'à 35mm. Pour une distance de 25mm, la cible se situe après le début la zone d'instabilités. Une partie des espèces créées sont donc diluées dans l'air et l'écoulement qui atteint la surface de la cible est moins rapide. Les espèces sont donc transportées moins loin à la surface de la cible, ce qui peut expliquer les résultats obtenus.

La Figure 48 présente les diamètres d'inactivation obtenus pour le PG traitant une cible à 25mm et opérant à 7kV et 20kHz. Il est alimenté en hélium pur et en mélange d'hélium avec 0,5% de dioxygène.

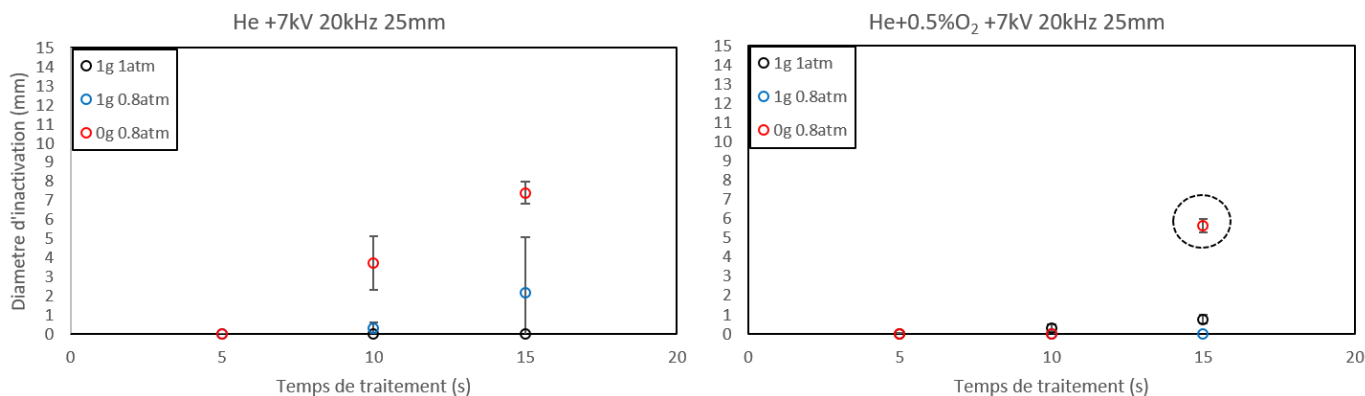


Figure 48: Comparaison de la zone d'inactivation bactérienne par traitement plasma à 25mm en fonction des conditions environnementales terrestres à 1atm (noir) et à pression réduite (bleu) et en 0g (rouge). (n=4)

Pour l'hélium seul, aucun effet n'est observé après 5 secondes de traitement, et les diamètres d'inactivation restent inférieurs à ceux obtenus pour un traitement à 15 mm. Pour des temps d'exposition plus longs, on note une supériorité de l'effet en 0g, où le diamètre atteint 7 mm contre 2 à 3 mm pour les autres conditions. Ainsi pour cette plus grande distance (25 mm au lieu de 15 mm précédemment), l'inactivation obtenue en conditions de vols diffère de celle mesurée à pression réduite et semble être avantagée par la micropesanteur.

Avec l'ajout de 0,5 % d'oxygène, aucune inactivation n'est visible après 5 ou 10 secondes, mais à 15 secondes, une zone d'effet, seulement, d'un diamètre proche de 6mm, est observée uniquement 0g. Aucune inactivation ni zone d'effet n'est détectée dans les autres conditions.

En résumé, l'efficacité antibactérienne du plasma dépend étroitement de la concentration en dioxygène, avec des comportements similaires en gravité terrestre et en micropesanteur, légèrement favorables à cette dernière.

#### 4.1.3 Etude du potentiel bactéricide du plasma gun en fonction de la phase de croissance bactérienne

Pour se rapprocher des conditions réelles où les bactéries se trouvent majoritairement en phase de croissance exponentielle ou stationnaire plutôt qu'en phase latente, le potentiel bactéricide du PG a été étudié pour le traitement de bactéries en phase exponentielle. Ne pouvant pas faire une analyse quantitative visuelle de l'inactivation de bactérie en phase stationnaire, et n'ayant pas eu le temps de développer un protocole rigoureux pour quantifier la viabilité de bactéries en phase stationnaire après un traitement, nous avons testé l'efficacité du PG opérant à 7 kV et 20 kHz, alimenté en hélium et hélium-1%dioxygène pour des bactéries en phase latente et exponentielle, présenté en Figure 49. Cependant, pour des raisons de temps de cultures sur gélose (4 h pour les phases exponentielles), ces expériences n'ont été réalisées que dans les conditions de laboratoire (1g).

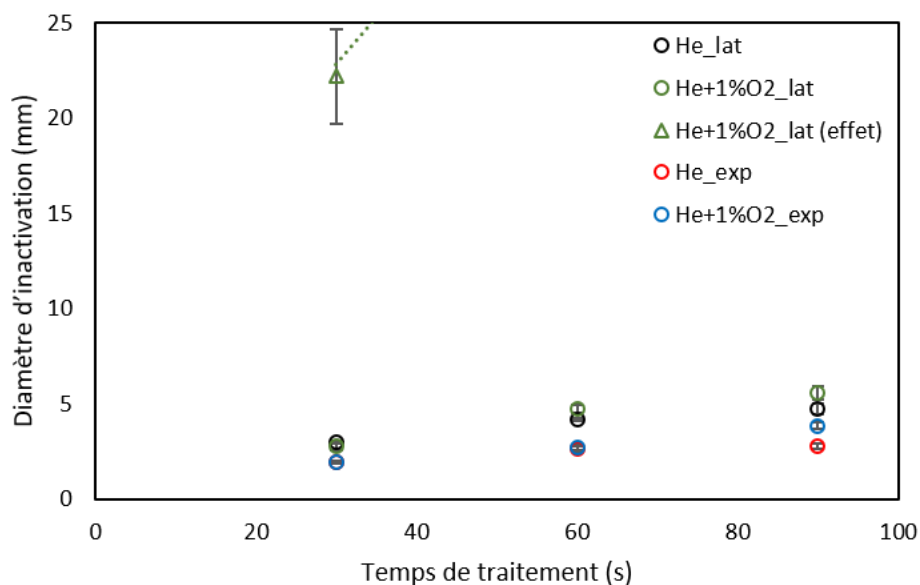


Figure 49: Diamètre d'inactivation d'*E.coli* par traitement PG (7kV 20kHz) en fonction du mélange He/O<sub>2</sub> (0% et 1%) et de la phase de croissance de la bactérie (latente et exponentielle). Condition de 1g. (Pointillé vert = courbe de tendance linéaire du diamètre de la zone d'effet). (n=8)

Pour un Plasma Gun (PG) opérant à 7 kV et 20 kHz, avec des mélanges hélium–dioxygène de 0 % ou 1 %, la plume plasma atteint la cible placée à 15 mm de la sortie du capillaire. La Figure 49 illustre, pour *E. coli*, que le traitement en hélium pur (points noirs) génère une zone d'inactivation, tandis qu'un mélange contenant 1 % d'oxygène produit une large zone d'effet (triangles verts) entourant une zone d'inactivation centrale (points verts). Dans les deux configurations et pour les deux phases de croissance bactérienne, les plus grands diamètres d'inactivation sont obtenus lorsque les bactéries sont traitées en phase latente, notamment après 90 s, ce qui souligne la dépendance temporelle de l'inactivation et suggère une accumulation d'espèces réactives. Cependant, le traitement en phase exponentielle conduit uniquement à des zones d'inactivation plus réduites (points rouges et bleues), sans zone d'effet caractéristique du mélange à 1 % d'oxygène, et ne révèle plus de différence entre les deux gaz plasmagènes. Ces observations indiquent que les bactéries en phase exponentielle présentent une plus grande résistance aux espèces réactives de longue durée de vie (LL-RONS), responsables de la zone d'effet, tout en restant sensibles aux espèces réactives de courte durée de vie (SL-RONS) et/ou aux effets physiques associés à la plume plasma, tels que le bombardement ionique.

En phase latente, les bactéries viennent d'être inoculées dans un nouveau milieu et réorganisent leur métabolisme. Elles sont encore fragiles, car leurs systèmes de défense, notamment contre les stress oxydatifs (enzymes antioxydantes comme catalases ou peroxydases) ne sont pas encore pleinement exprimés. Les bactéries se divisent rapidement et leur métabolisme est très actif. Cette forte activité génère déjà des ROS endogènes. En parallèle, l'expression des systèmes de protection antioxydants est fortement augmenté. Enfin, d'après la littérature, les bactéries sont encore moins sensibles aux stress oxydatifs en

phase stationnaire [144-146]. Ces résultats montrent donc, d'une part l'importance des SL-RONS et d'autre part la limite du modèle utilisé (*E.coli* en 2d traitées en phase latente).

#### 4.1.4 Etude de traitements fractionnés

Comme expliqué précédemment, la durée de traitement maximale est imposée par la durée de micropesanteur offerte par les paraboles, soit environ 20 secondes. Cependant, nous avons vu précédemment que la surface d'inhibition augmente avec le temps de traitement. Un temps de traitement plus long peut permettre de bénéficier d'une accumulation de RONS favorable à la décontamination. L'objectif est donc de savoir si le résultat d'un traitement plasma unique ( $T_c$  = traitement continu) de 60 secondes est équivalent plusieurs traitements successifs d'une durée totale de 60 secondes (ci-après nommé traitement fractionné). Les différents paramètres rentrant en compte dans cette étude, résumés en Figure 50, sont donc :

- le temps de traitement effectif ( $T_e$ ) : le temps de traitement total vu par la cible,
- le nombre de répétitions : en combien d'expositions (répétitions) de durée égale va être divisé le traitement. Les répétitions sont séparées par des pauses pendant lesquels la cible n'est pas exposée au plasma.,
- le temps de traitement répété ( $T_r$ ) : la durée individuelle de chaque répétition
- le délai séparant deux répétitions ( $d$ ) : La durée de la pause, sans exposition plasma, entre deux répétitions

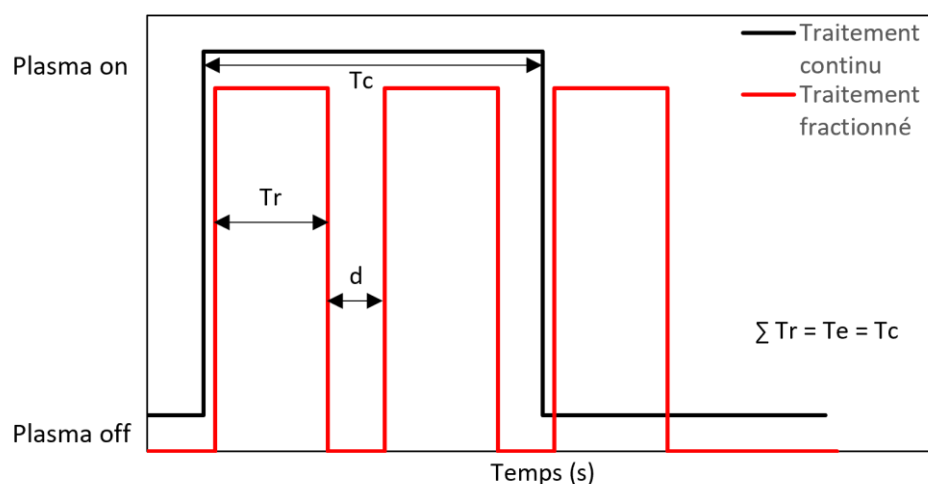


Figure 50: Schéma explicatif des traitements fractionnés :  $T_c$  = temps de traitement continu,  $T_r$  = temps de traitement répété,  $d$  = délai entre les répétitions,  $T_e$  = temps effectif.

La Figure 51 présente la comparaison des surfaces d'inactivation obtenues par traitement continu et traitements fractionnés pour un PG opérant à 7 kV, 20 kHz, alimenté en hélium pur et en mélange Hélium-1% dioxygène ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ ). Les temps de traitement répétés sont de 5 secondes et 10 secondes. Pour des temps de traitement effectif de 30 et 60 secondes, il y a donc, respectivement, 6 répétitions de 5 secondes, et 6 répétitions de 10 secondes. Les délais utilisés sont de 5 min pour correspondre au temps entre deux paraboles.

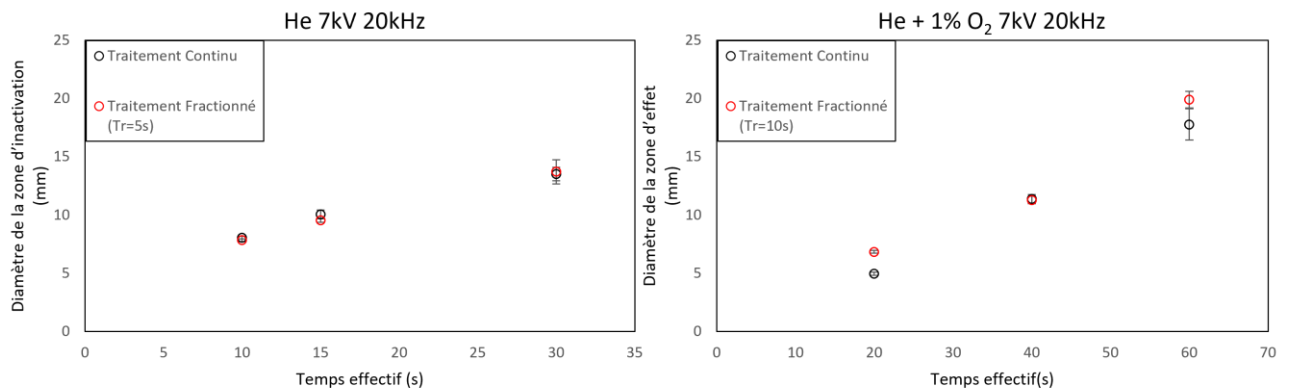


Figure 51: Comparaisons entre traitement continu et traitement fractionné pour deux configurations du PG (7kV, 20kHz, 1L.min<sup>-1</sup>) : a) Hélium pur (Tr=5s, d=5min), b) Hélium+1%O<sub>2</sub> (Tr=10s, d=5min). (n=8)

La Figure 51 met en évidence l'absence de différence significative entre un traitement continu et un traitement fractionné, et ce pour les deux configurations du PG. Ainsi, seul le temps effectif d'exposition doit être considéré pour évaluer l'efficacité du procédé. Cette observation ouvre la voie à l'étude, dans de futurs travaux, de l'influence de la pesanteur sur des traitements d'une durée supérieure à 20 secondes. Elle suggère également la possibilité de mettre en œuvre des traitements dynamiques par balayage, réalisés en plusieurs passages successifs, afin, notamment, de limiter l'élévation thermique localisée induite par le plasma.

## 4.2 Augmentation de la surface traitée par plasma par traitement dynamique

Afin d'étudier le comportement de la plume plasma lors d'un traitement clinique dans des conditions environnementales différentes en maximisant la zone décontaminée, un système de traitement dynamique a été mis au point, décrit en chapitre 3. De plus, ce système permet d'étudier les composantes du plasma responsables de l'inactivation en évitant les accumulations de charges et de chaleur sur la zone d'impact du plasma à la différence du traitement statique.

Dans un premier temps, l'étude est effectuée en conditions de laboratoire.

Un test préliminaire de fonctionnement du système de traitement dynamique (4.5 kV, 20 kHz, 1 L.min<sup>-1</sup>) a d'abord été effectué pour une grande plage de vitesse de balayage et en faisant se déplacer la cible et le réacteur, présenté en Figure 52.

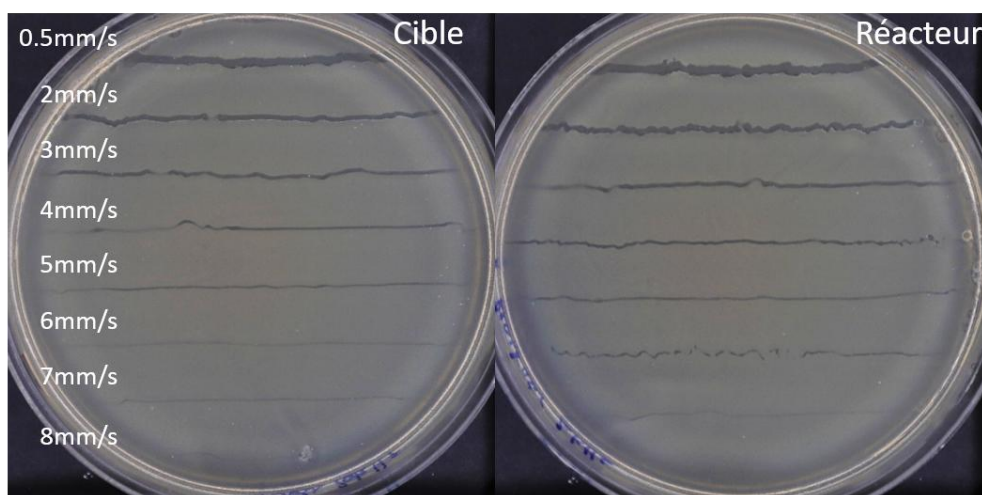


Figure 52: Comparaison des inactivations obtenues par traitement dynamique pour différentes vitesses de balayage : cible en mouvement (gauche), réacteur en mouvement (droite) ( $4.5\text{kV}$   $20\text{kHz}$   $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

La Figure 52 met en évidence une inactivation plus rectiligne lorsque c'est la cible qui se déplace. Toutefois, afin de se rapprocher des conditions réelles d'un traitement clinique et pour des raisons pratiques d'intégration dans le bâti expérimental, les résultats présentés par la suite concernent un protocole où c'est la plume plasma qui est mise en mouvement. On observe également une plage de vitesses de balayage conduisant à des surfaces d'inactivation prometteuse, jusqu'à une vitesse maximale d'environ  $4\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ .

La Figure 53 montre l'inactivation induite par différents traitements plasma en balayage linéaire pour différentes vitesses, différentes tensions et différentes concentrations de dioxygène. Le réacteur à plasma balaye la surface de l'agar à  $10\text{mm}$  de distance à différentes vitesses :  $0,5\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $1\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , et  $4\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ .

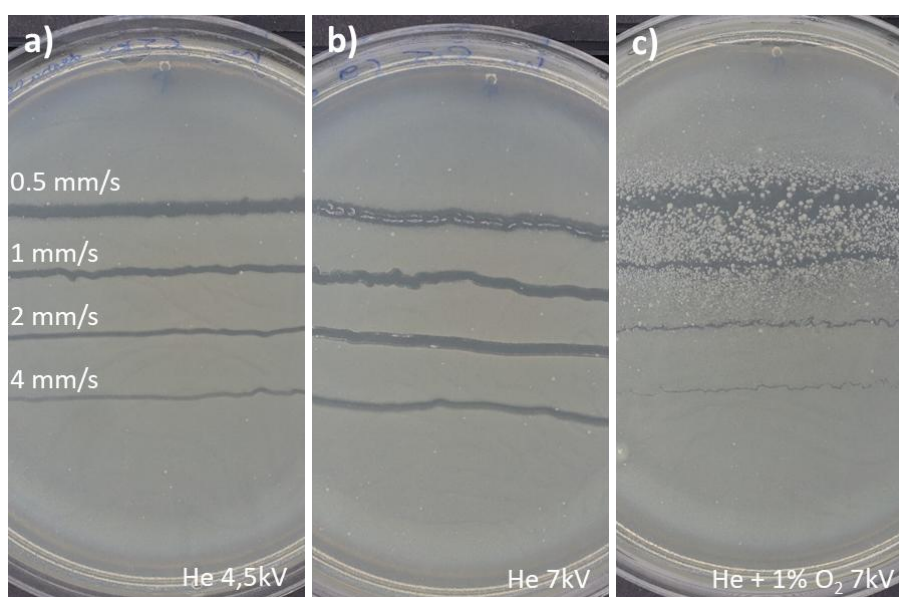


Figure 53: Traitement dynamique d'une gélose pour différentes configurations du PG et différentes vitesses de déplacement ( $0,5$ ,  $1$ ,  $2$  et  $4\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) : a)  $\text{He}$   $4,5\text{kV}$   $20\text{kHz}$   $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ , b)  $\text{He}$   $7\text{kV}$   $20\text{kHz}$   $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ , c)  $\text{He}+1\%\text{O}_2$   $4,5\text{kV}$   $20\text{kHz}$   $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Premièrement, la largeur de la ligne d'inactivation a été évaluée pour le PG opérant à deux tensions différentes : à 4,5 kV 20 kHz et à 7 kV 20 kHz. On observe que le plasma d'hélium pur possède un pouvoir inactivant pour toutes les vitesses de balayages, même pour la configuration du PG à basse tension, Figure 53.a). Le diamètre d'inactivation diminue avec l'augmentation de la vitesse de balayage. De plus, dans la configuration du PG à haute tension pour le balayage le plus lent, on note en Figure 53.b) la détérioration du milieu solide. Le stress thermique induit par le plasma peut en être la cause. En effet, la température de fonte de l'agar-agar est de 90°C et nous avons vu dans le chapitre précédent que la température induite par un traitement plasma peut être supérieure. De plus, l'augmentation de la vitesse de balayage a pour effet l'estompement de ce phénomène, et ainsi la probable diminution de la chaleur induite par le traitement plasma. Enfin, à l'instar des traitements statiques, l'ajout de dioxygène dans le mélange de gaz a pour effet l'apparition d'une zone d'effet, pour les vitesses de balayage de 0,5 et 1 mm·s<sup>-1</sup>, Figure 53 .c). Le diamètre de la zone d'effet et de la zone d'inactivation au centre, diminue avec la vitesse de balayage. Pour les balayages les plus rapides, il reste seulement la zone d'inactivation. Dans la configuration du PG opérant à 7kV, 20kHz et alimenté par un mélange hélium-1% dioxygène, la plume plasma est assez longue pour toucher la cible. On peut donc supposer, en s'appuyant aussi sur les résultats précédents, que les RONS à courte durée de vie (SL-RONS) présents dans la plume permettent une inactivation pour un temps de traitement très court (donc pour une exposition à une faible concentration des SL-RONS). *A contrario*, les RONS à longue durée de vie (LL-RONS) semble être un mécanisme d'inactivation plus lent, nécessitant une accumulation de ces espèces pour être efficace. Ceci traduit la différence connue de réactivité des RONS à courte et longue durée de vie.

En rapportant la vitesse de déplacement à la fréquence de génération des impulsions, il est possible de définir un paramètre physique contrôlable et pertinent : le nombre d'impulsions appliquées par millimètre de surface traitée. La Figure 54 présente les largeurs d'inactivation pour des traitements dynamiques (de 1 mm·s<sup>-1</sup> à 5 mm·s<sup>-1</sup>) pour un PG opérant à 4,5 kV et pour des répétitions de décharges de 10 kHz et 20 kHz. Les résultats sont présentés en fonction du nombre d'impulsions délivrées par millimètre.

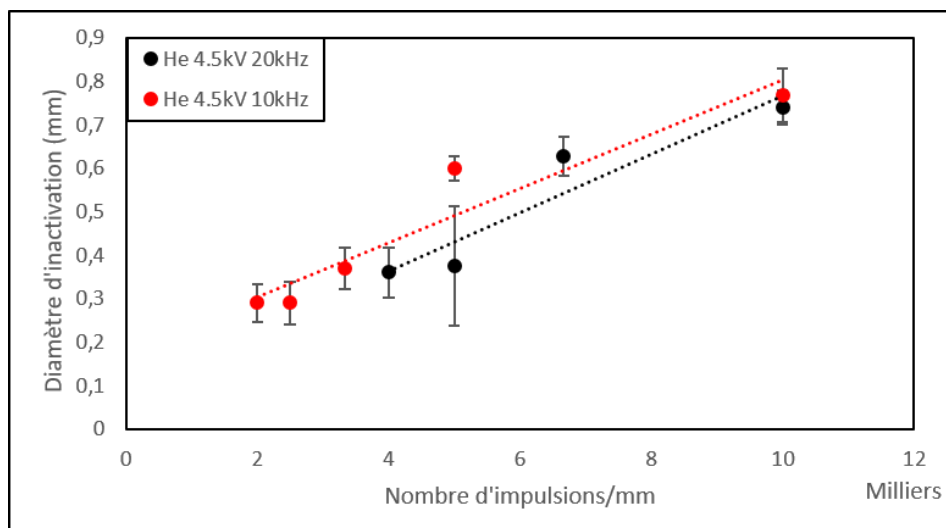


Figure 54: Largeur d'inactivation en fonction du nombre d'impulsions par unité de longueur de longueur balayée, pour différentes fréquences du PG (10 et 20 kHz). (n=8)

On observe tout d'abord que le diamètre d'inactivation augmente avec le nombre d'impulsions par millimètre dans les deux configurations du PG. De plus, les diamètres d'inactivation sont semblables pour les deux configurations en fonction du nombre d'impulsions par millimètre. On peut donc en conclure que dans la configuration du PG alimenté en hélium pur, le nombre d'impulsion semble être la variable déterminante pour maximiser l'inactivation bactérienne. Cette hypothèse appuie le potentiel bactéricide des composantes présentes à l'interfaces plume plasma/cible qui sont directement proportionnelles au nombre d'impulsions, principalement les SL-RONS, les espèces chargées et le bombardement ionique.

Dans une perspective clinique, le paramètre déterminant pour optimiser le traitement est la durée de traitement nécessaire par unité de surface ( $\text{cm}^2$ ). Il apparaît donc essentiel d'évaluer si cette « dose » de traitement peut être délivrée en un seul passage ou peut être fractionnée en plusieurs balayages successifs, et de déterminer si l'efficacité obtenue reste équivalente dans les deux configurations. De plus, de multiples passages à une vitesse de balayage plus rapide permettrait de réduire le potentiel stress thermique induit par le traitement plasma. La Figure 55 présente l'étude de l'efficacité de multiples passages à différentes vitesses de balayage pour un total d'impulsion par millimètre fixé, pour un PG opérant à 4,5kV et pour des répétitions de décharges de 10 et 20 kHz.

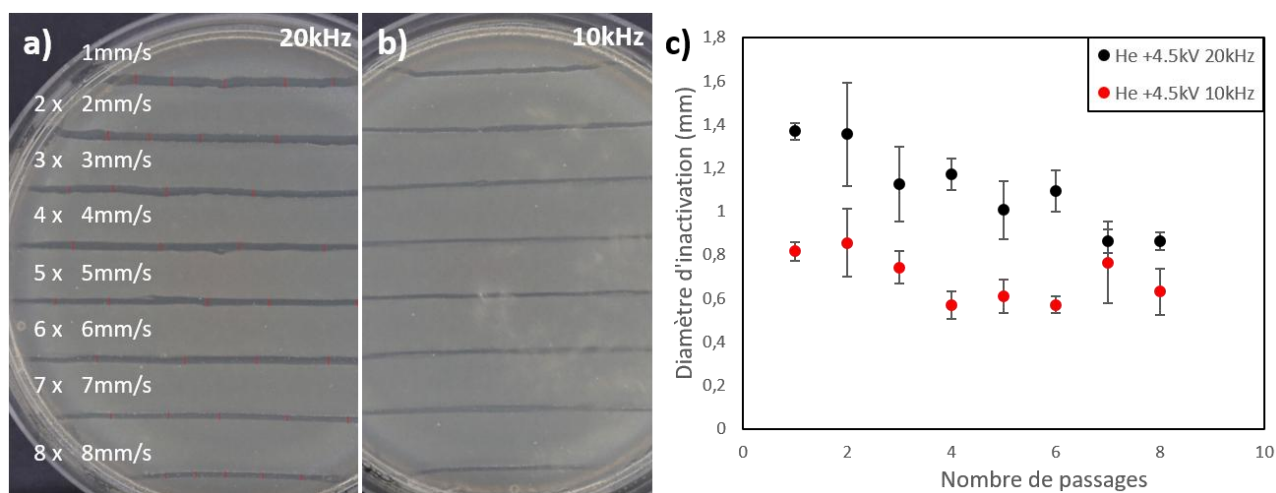


Figure 55: Traitement dynamique multipassage pour différentes vitesses de balayage (de 1 à 8 mm·s<sup>-1</sup>) pour un temps effectif de 1s par millimètre : a) PG 4,5kV 20kHz, b) PG 4,5kV 10kHz, c) graphique des largeurs d'inactivation en fonction du nombre de passages. (n=8)

Les Figure 55.a) et b) présentent les surfaces d'inactivation suite à des traitements dynamiques par PG opérant à 20 kHz (a) et à 10 kHz (b), pour différentes vitesses de balayage allant de 1 à 8 mm·s<sup>-1</sup>, en conservant un temps d'exposition total constant du fait des multipassages. Tout d'abord, le diamètre d'inactivation pour la vitesse initiale est quasiment deux fois supérieur (1,8 mm) pour la configuration à 20 kHz que pour 10 kHz, confirmant la supposition précédente du rôle déterminant de la variable nombre d'impulsion/mm qui est deux fois supérieur pour 20 kHz que pour 10 kHz. Ensuite, on note une diminution générale du diamètre d'inactivation avec le nombre de répétitions pour un PG opérant à 20 kHz, avec une largeur moyenne de  $1,1 \pm 0,2$  mm (soit une variabilité de 18%). Cependant, dans la configuration du PG opérant à 10 kHz, le diamètre d'inactivation est quasi constant, avec une largeur d'inactivation moyenne de  $0,7 \pm 0,1$  mm (soit 14% de variabilité).

Afin de savoir si ces comportements sont identiques en conditions spatiales, notre équipe a développé et installé dans le rack expérimental un système déplaçant la sortie d'un tube d'endoscopie de 15cm raccordé au capillaire du réacteur, Figure 33. Pour qu'une plume plasma soit produite et puisse traiter une cible à 1cm, le PG opère à une tension de 8kV.

La Figure 56 présente le traitement d'une gélose en conditions pression réduite terrestre et en 0g.

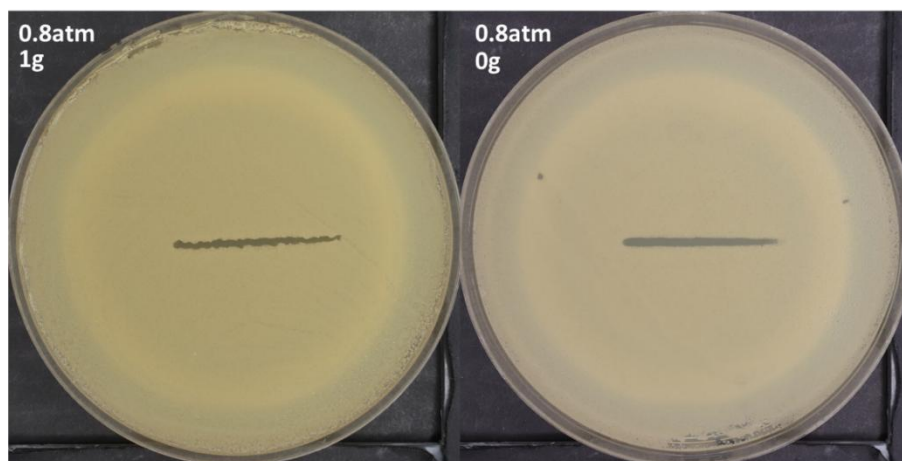


Figure 56: Traitement par balayage en condition terrestre et 0g mettant en évidence la stabilité de la plume en 0g.

La durée de traitement étant conditionnée par la durée d'une parabole soit 22 s, la plume ne peut pas balayer l'entièreté de la gélose. La distance de balayage maximale est donc de 40 mm à une vitesse de  $2 \text{ mm.s}^{-1}$ . Les frontières plus rectilignes de la zone d'inactivation obtenue en 0g, indiquent que la plume se déplace de façon beaucoup plus stable qu'en 1g.

### 4.3 Analyse des composantes du plasma ayant un potentiel bactéricide

Nous avons vu dans le chapitre précédent que différentes composantes du plasma peuvent avoir un pouvoir bactéricide plus ou moins important. Les résultats sur le potentiel inactivant du PG opérant dans différentes configurations pour trois conditions environnementales obtenus dans ce chapitre ont mis en évidence le rôle clé des différents types de RONS, qui a déjà été évoqué dans de nombreuses revues [116-118,122-125]. L'objectif de cette partie est donc d'approfondir la détermination du rôle respectif des composants individuels du jet plasma qui n'ont été que peu étudiés jusqu'à présent dans la bibliographie effectuée pour cette thèse. Ayant des résultats assez similaires pour l'inactivation bactérienne dans des conditions terrestres et en apesanteur, nous avons supposé que les mécanismes d'inactivation sont similaires en gravité terrestre et en apesanteur, seule la modification de l'écoulement du flux influe sur les résultats en 0g lorsque la distance entre la sortie du jet et la cible est importante. Par conséquent, les analyses suivantes ont toutes été réalisées dans des conditions terrestres. Le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré et comparé aux cartes et profils thermiques, acquis avec la caméra INfratech, et au diamètre de l'interface plasma-cible, mesurée avec une caméra ICCD.

#### 4.3.1 Stress thermique induit par le plasma (He pur)

La Figure 57.a) montre une acquisition de la caméra IR pendant un traitement dynamique (le jet plasma se déplaçant vers la droite à  $0,5 \text{ mm.s}^{-1}$ ). Les profils de température radiaux (Figure 57.b)) et longitudinaux (Figure 57.c)) sont extraits de la carte de température et révèlent respectivement la diffusion de la température perpendiculairement et le long de l'axe de déplacement de la plume plasma.

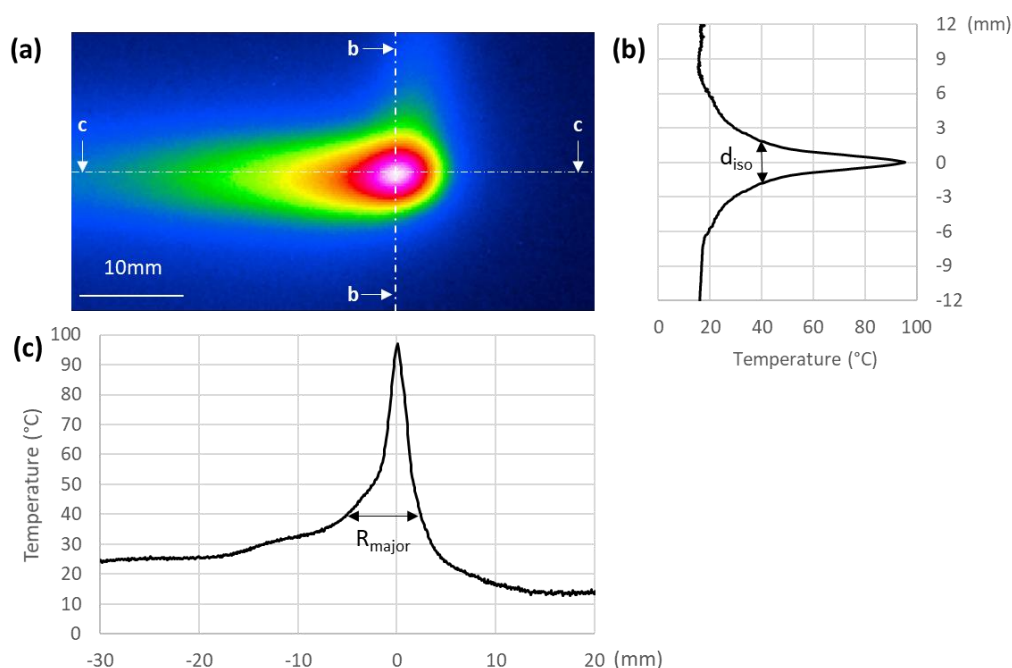


Figure 57: Caractérisation thermique d'un traitement plasma dynamique ( $0,5\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , He 6,5kV 20kHz). a) Une image de l'acquisition de la caméra IR, le jet se déplaçant vers la droite. b) Profil de température perpendiculaire à la trajectoire du jet le long de l'axe b-b (diamètre de la zone de température  $<40^{\circ}\text{C} = d_{iso}$ ). c) Profil de température le long de la trajectoire du jet le long de l'axe c-c (rayon majeur= $R_{major}$ ).

La Figure 57.b) montre que le profil de la température perpendiculaire à la trajectoire de balayage est gaussien. Le diamètre de la zone de température supérieur à  $40^{\circ}\text{C}$ , noté  $d_{iso}$  sur la figure, sera par la suite comparé au diamètre d'inactivation. La Figure 57.c), présentant le profil de température le long de l'axe de balayage, montre un front de montée de température rapide (sur une courte distance) et un refroidissement progressif. La durée pour laquelle un point local a une température supérieure à  $40^{\circ}\text{C}$  est déterminée grâce à ce profil, représentée par  $R_{major}$  (puis divisée par la vitesse). La température maximale de la surface de la cible ainsi que le diamètre correspondant au seuil de température de  $40^{\circ}\text{C}$  ont été déduits des profils radiaux et répertoriés dans le Tableau 7.

Tableau 7: Caractérisation thermique de la gélose pendant un traitement plasma en fonction de la vitesse de déplacement ( $0,5, 1, 2$  et  $4\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) pour deux configurations du PG.

| PG configurations    | Scanning speed ( $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) | $T_{\text{max}}$ ( $^{\circ}\text{C}$ ) | $D_{40}(\text{mm})$ | $d_{\text{inact}}$ (mm) | A0          |
|----------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------|-------------------------|-------------|
| He<br>6,5kV<br>20kHz | 0,5                                              | 95,4                                    | 3,7                 | $2,64 \pm 0,09$         | 511,99      |
|                      | 1                                                | 64,4                                    | 2,7                 | $2,31 \pm 0,13$         | 0,16        |
|                      | 2                                                | 56,5                                    | 1,9                 | $2,05 \pm 0,03$         | 0,01        |
|                      | 4                                                | 47,0                                    | 1,1                 | $1,22 \pm 0,06$         | $< 10^{-2}$ |
| He<br>4,5kV<br>20kHz | 0,5                                              | 43,9                                    | 0                   | $2,21 \pm 0,14$         | $< 10^{-2}$ |
|                      | 1                                                | 39,7                                    | 0                   | $1,31 \pm 0,12$         | $< 10^{-2}$ |
|                      | 2                                                | 38,7                                    | 0                   | $1,02 \pm 0,11$         | $< 10^{-2}$ |
|                      | 4                                                | 37,5                                    | 0                   | $0,80 \pm 0,04$         | $< 10^{-2}$ |

Le Tableau 7 indique que, pour le PG opérant à 6,5 kV, la température de surface mesurée dépasse 40 °C pour l'ensemble des vitesses de balayage et peut même atteindre 100°C. Ces observations soulignent l'importance d'une caractérisation précise de la température de la cible durant les traitements plasma, avec une résolution spatiale et temporelle suffisante, comme évoqué précédemment en Figure 39 et Figure 40. La température maximale et les surfaces correspondant à une température de 40°C diminuent à mesure que la vitesse de balayage augmente, ce qui correspond aux observations de la Figure 53.b). Cependant, le diamètre de la zone supérieure à 40°C suit une tendance similaire à celle de la zone d'inactivation bactérienne, bien qu'il n'y ait pas de corrélation évidente entre leurs largeurs.

Pour la configuration du PG à 4,5kV, à l'exception de la première vitesse de balayage, les températures restent inférieures à 40°C dans toutes les conditions, ce qui indique que les effets thermiques ne sont pas significatifs dans cette configuration de traitement au plasma. La température ne joue donc aucun rôle significatif dans l'inactivation bactérienne par PG à 4,5 kV.

Pour mieux comprendre le potentiel d'inactivation potentiellement associé au stress thermique induit par le traitement au plasma, il est intéressant de l'analyser par analogie avec une décontamination par la chaleur humide. En effet, la chaleur est couramment utilisée pour la désinfection thermique des dispositifs médicaux, tels que les conteneurs de déchets humains ou les instruments chirurgicaux. Dans ces cas, le processus repose sur le contrôle de la température de la chaleur humide, qui s'est avéré plus efficace que la chaleur sèche. Pour ces traitements, il existe une relation bien établie entre la réduction microbienne et la charge thermique, souvent décrite par la méthode A0 [147-149]. Cette méthode quantifie l'exposition thermique nécessaire pour atteindre un niveau spécifique d'inactivation microbienne, fournissant ainsi des informations précieuses pour optimiser les processus de désinfection. A0 mesure l'efficacité de la réduction microbienne et peut être calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$A_0 = 10^{\frac{T-80}{10}} \times \Delta t$$

avec:

$A_0$  = équivalent temps en secondes pour inactiver les micro-organismes par désinfection thermique à 80 °C

T = température mesurée en °C

$\Delta t$  = durée en s

Dans les recommandations pour la désinfection thermique, comme présenté dans la norme EN ISO 15883 [21], pour une désinfection efficace, A0 doit être supérieur à 600. Nous nous concentrerons sur la configuration 6,5 kV, conduisant aux températures les plus élevées. Pour calculer l'A0 correspondant à nos cas, T sont les températures maximales présentées dans le Tableau 7. La période de temps  $\Delta t$  est calculée en déterminant d'abord le rayon principal de

l'isotherme de 40°C en utilisant le profil longitudinal mesuré dans la Figure 57.c). Une fois le rayon principal établi, le temps peut être calculé en connaissant la vitesse de balayage. La vitesse de balayage permet d'estimer le temps de passage du jet de plasma sur la zone traitée, puisqu'elle est le rapport entre la distance parcourue (déterminée par le rayon majeur, Figure 57) et la vitesse.

La valeur recommandée de 600 A0 n'est jamais atteinte, comme le montre le tableau 1. De plus, les A0 calculés sont surdimensionnés compte tenu du fait que nous supposons qu'il s'agit d'une chaleur humide (100 % d'humidité), ce qui n'est pas le cas en réalité, et que le rayon utilisé est celui pour le seuil de température de 40°C et la température utilisée est la température maximale.

Cela confirme l'hypothèse selon laquelle il n'y a pas de corrélation directe entre le stress thermique induit par le traitement par jet de plasma et l'inactivation bactérienne dans ces configurations particulières de jet de plasma (PG). Il est donc intéressant de réduire le stress thermique induit par le jet de plasma pour le confort du patient en augmentant la vitesse de balayage, sans modifier l'efficacité du traitement au plasma.

#### 4.3.2 Visualisation de la zone d'interface plasma-cible

L'imagerie ICCD permet d'observer le développement de la plume plasma à l'interface plasma-cible, comme le montre la Figure 58.a). Il est donc possible de calculer le diamètre d'étalement à partir du profil d'intensité lumineuse mesurée par la caméra ICCD à l'interface, Figure 58.b). Plus précisément, il est défini comme la distance en millimètres entre les deux points d'inflexion de la courbe d'intensité lumineuse présentée en Figure 58.b).

Les diamètres de l'interface d'étalement plasma-cible sont listés dans le Tableau 8 pour chaque configuration de traitement dynamique PG et comparé au diamètre d'inactivation obtenue pour les configurations correspondantes.

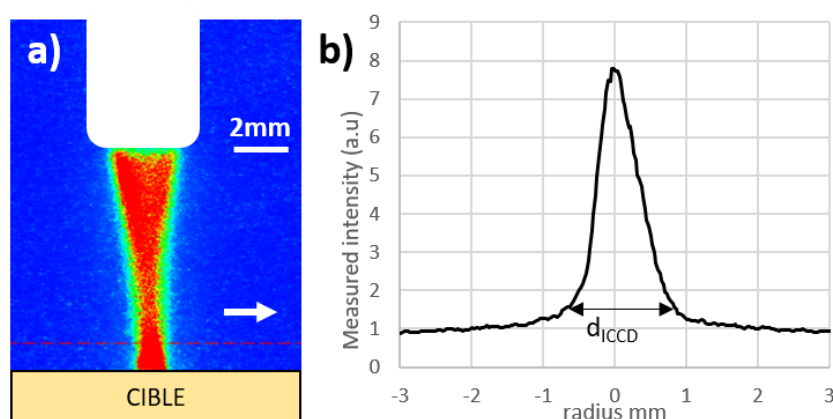


Figure 58: Imagerie ICCD et analyse de l'interface plasma en expansion sur la cible. a) Imagerie ICCD d'un traitement par jet de plasma à 4,5 kV d'une gélose à une vitesse de balayage de 2 mm·s<sup>-1</sup>. b) Exemples de mesure d'intensité ICCD sur une image à la surface de la cible pour les deux configurations PG à une vitesse de balayage de 2 mm·s<sup>-1</sup>.

Tout d'abord, le Tableau 8 met en évidence que le diamètre d'étalement demeure constant, quelle que soit la vitesse de balayage et pour les deux configurations du PG, contrairement au comportement observé pour l'inactivation bactérienne. Néanmoins, le diamètre de la zone d'inactivation semble correspondre à celui de l'interface plasma-cible, c'est-à-dire au diamètre d'étalement.

Ces résultats tendant à indiquer que l'inactivation bactérienne est principalement due aux espèces à courte durée de vie créées proche de l'interface entre plasma et cible. Ces espèces réactives à courte durée de vie ( $O^*$ ,  $OH^*$ ,  $NO^*$  dans leur état excité) présentent une réactivité telle que leur détection demeure particulièrement complexe.

Tableau 8: Diamètre de l'interface plasma-cible en fonction de la vitesse de balayage ( $0.5$ ,  $1$ ,  $2$  et  $4 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) pour deux configurations du PG.

| Configurations du PG                                 | Vitesse de balayage ( $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) | $D_{\text{ICCD}}$ (mm) | $d_{\text{inact}}$ (mm) |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| He $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$<br>4,5kV<br>20kHz | 0,5                                                   | $1,43 \pm 0,09$        | $2,21 \pm 0,14$         |
|                                                      | 1                                                     | $1,55 \pm 0,06$        | $1,31 \pm 0,12$         |
|                                                      | 2                                                     | $1,48 \pm 0,05$        | $1,02 \pm 0,11$         |
|                                                      | 4                                                     | $1,37 \pm 0,04$        | $0,80 \pm 0,04$         |
| He $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$<br>6,5kV<br>20kHz | 0,5                                                   | $1,77 \pm 0,15$        | $2,64 \pm 0,09$         |
|                                                      | 1                                                     | $1,91 \pm 0,11$        | $2,31 \pm 0,13$         |
|                                                      | 2                                                     | $1,93 \pm 0,13$        | $2,05 \pm 0,03$         |
|                                                      | 4                                                     | $2,15 \pm 0,09$        | $1,22 \pm 0,06$         |

### 4.3.3 Distribution spatiale des espèces

Afin de vérifier notre hypothèse, nous avons réalisé différentes acquisitions de la plume plasma à l'aide d'une caméra ICCD associée à des filtres optiques, permettant d'observer in situ et de manière sélective la distribution spatiale de certaines de ces espèces. Le Tableau 9 résume les espèces étudiées et les spécifications des filtres utilisés.

Tableau 9: Spécifications des filtres optiques, avec dans la colonne de gauche l'indication des transitions d'espèces excitées associées étudiées.

| Espèces étudiées<br>(longueur d'onde de transition) | Longueur d'onde centrale du<br>filtre (nm) | Bande passante du<br>filtre (nm) |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------|
| He*<br>(707 nm)                                     | 711                                        | 25                               |
| N2* (B-A)<br>(640, 656 nm)                          | 650                                        | 100                              |
| NO*<br>(226, 236, 247, 259 nm)                      | 239                                        | 25                               |
| O*<br>(777 nm)                                      | 777                                        | 12                               |
| OH*, N2* (C-B)<br>(309 nm)                          | 307                                        | 10                               |

La Figure 59 présente les acquisitions ICCD couplées aux filtres optiques de la plume plasma traitant une gélose, pour un PG opérant à 4,5 kV et 20 kHz, alimenté en Hélium pur ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ ). Afin de maximiser la visualisation de la distribution spatiale des espèces, le nombre d'accumulation d'acquisitions ICCD correspondant aux images présentées est différent en fonction du filtre et de la configuration du PG, et résumé en Annexe-D.

Comme le montre la Figure 59, les émissions des RONS étudiées ( $\text{O}^*$ ,  $\text{OH}^*$  et  $\text{NO}^*$ ) sont créées à deux localisations. Dans un premier temps, elles sont générées à la sortie du réacteur, et ensuite à l'interface plasma-cible. Le filtre utilisé pour l'observation de  $\text{OH}^*$  (309 nm) n'est cependant pas suffisamment sélectif ( $307 \pm 10 \text{ nm}$ ) pour exclure toute contribution des émissions optiques liées à l'azote à 315,9 nm, de sorte que l'image correspondante est moins démonstrative que celle correspondant aux émissions de l'oxygène atomique et de l'oxyde nitrique. L'émission de l'hélium est beaucoup plus intense à l'extrémité du capillaire PG mais l'est beaucoup moins au niveau de la cible. La forte population d'espèces réactives dans l'environnement de la cible résulte de l'impact et de la contre-propagation du jet de plasma. Leur haute réactivité implique qu'elles ne se diffuseront pas loin de l'endroit où elles sont produites mais jouent sans doute un rôle majeur dans l'inhibition de la croissance bactérienne dans la zone d'impact de la plume plasma.

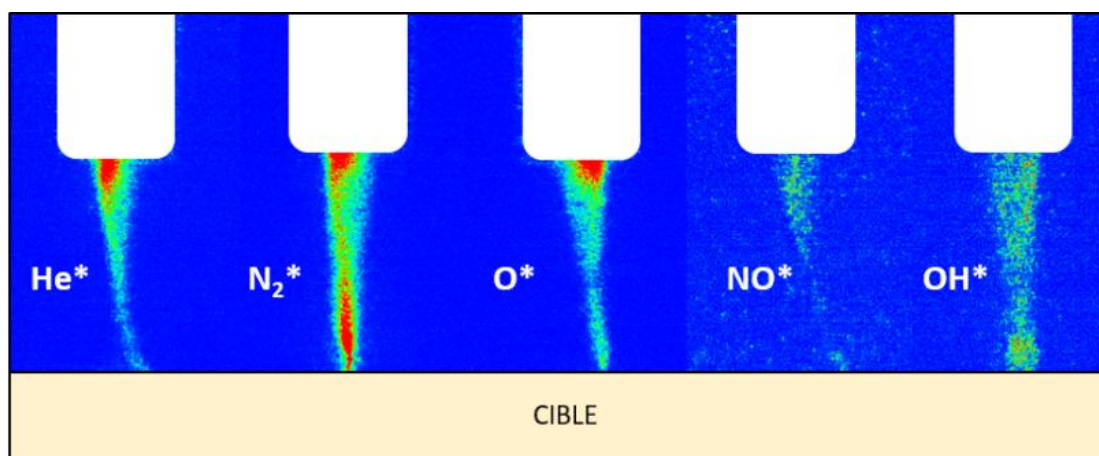


Figure 59: acquisitions ICCD couplée avec des filtres optiques pour visualiser la distribution spatiale des espèces en état excité  $\text{He}^*$  (707 nm),  $\text{O}^*$  (777 nm),  $\text{N}_2^*$  (640,656 nm),  $\text{OH}^*$  (309 nm) et  $\text{NO}^*$  (200-300 nm), PG (He 4,5kV 20kHz).

La Figure 60 présente les acquisitions ICCD couplées aux filtres optiques de la plume plasma traitant une gélose, pour un PG opérant à 4,5 kV et 20 kHz, alimenté par un mélange hélium-1%dioxygène ( $1 \text{ L.min}^{-1}$ ).

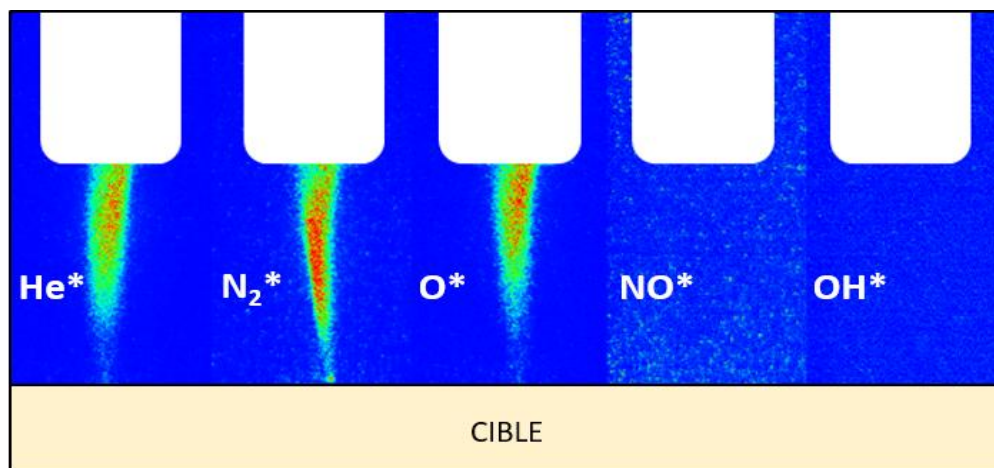


Figure 60: acquisitions ICCD couplée avec des filtres optiques pour visualiser la distribution spatiale des espèces en état excité He\*(707 nm), O\*(777 nm), N<sub>2</sub>\*(640,656 nm), OH\*(309 nm) et NO\*(200-300 nm), PG (He+1%O<sub>2</sub> 4,5kV 20kHz).

Les distributions des espèces présentées en Figure 60 sont en accord avec les observations antérieures (Figure 30). Comparées à celles obtenues avec un plasma d'hélium pur, elles apparaissent moins effilées et adoptent une forme plus cylindrique, tandis que leur intensité maximale n'est pas localisée à la sortie immédiate du réacteur. Dans ce cas, les espèces sont confinées à la plume plasma et ne semblent pas (ou moins) présentes à la surface de la cible. On notera aussi l'absence de NO\* et OH\*, cohérents avec la Figure 31, dans laquelle on mesurait une forte diminution de leur intensité par spectroscopie d'émission.

Une autre méthode permettant la visualisation de la distribution d'espèces oxydantes à la surface de la cible est d'utiliser un mélange d'iodure de potassium (KI) avec de l'amidon (starch), devenant bleu en leur présence, comme présenté en Figure 61.

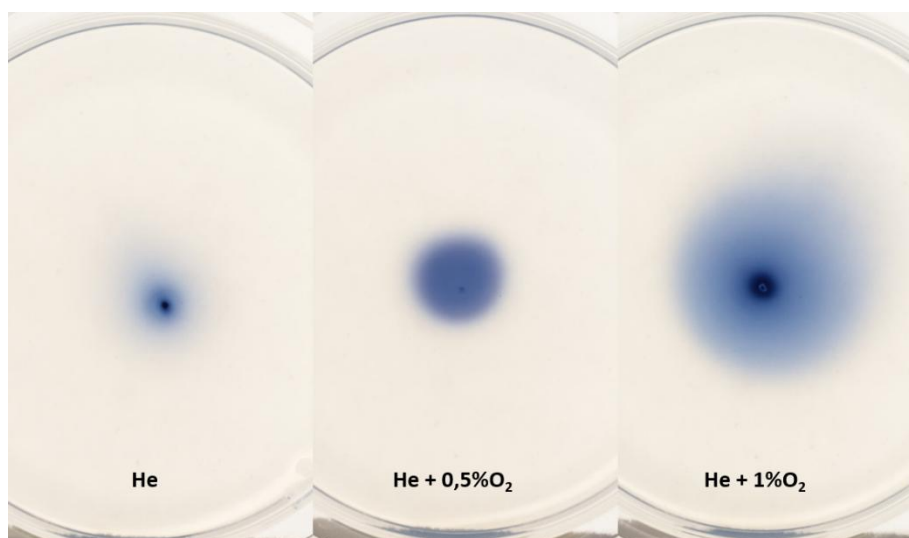


Figure 61: Traitement d'une gélose de KI-starch permettant le dépôt d'espèces oxydantes à la surface de la gélose, pour différentes concentrations de dioxygène (0%, 0,5% et 1%) (4,5kV 20kHz 30s)

Pour un traitement à l'hélium pur, on distingue une petite zone centrale très sombre, correspondant à une forte concentration de ROS induite par l'impact de la plume plasma sur la cible, entourée d'un disque plus clair, probablement lié à la présence d'espèces réactives à

plus longue durée de vie formées soit dans la plume plasma, soit directement dans la gélose. La surface de la gélose de KI réagissant aux espèces oxydantes s'élargit avec l'augmentation de la concentration en dioxygène : elle apparaît homogène à 0,5 %, tandis qu'à 1 % elle est marquée par une intensité très élevée au centre suivi d'un dégradé radial.

Ce dernier comportement est vérifié par la distribution radiale de l'ozone à la surface de la gélose, présentée en Figure 62.a), pour un traitement de PG opérant à 4,5 kV et 20 kHz, alimenté par un mélange hélium-1%dioxygène (1 L.min<sup>-1</sup>). Les effluents du flux d'hélium sont pompés par l'ozonmètre avec un débit de 1,5 L.min<sup>-1</sup>, grâce à un capillaire effilé d'un diamètre de 1 mm, se déplaçant radialement comme imagé en Figure 62.b).

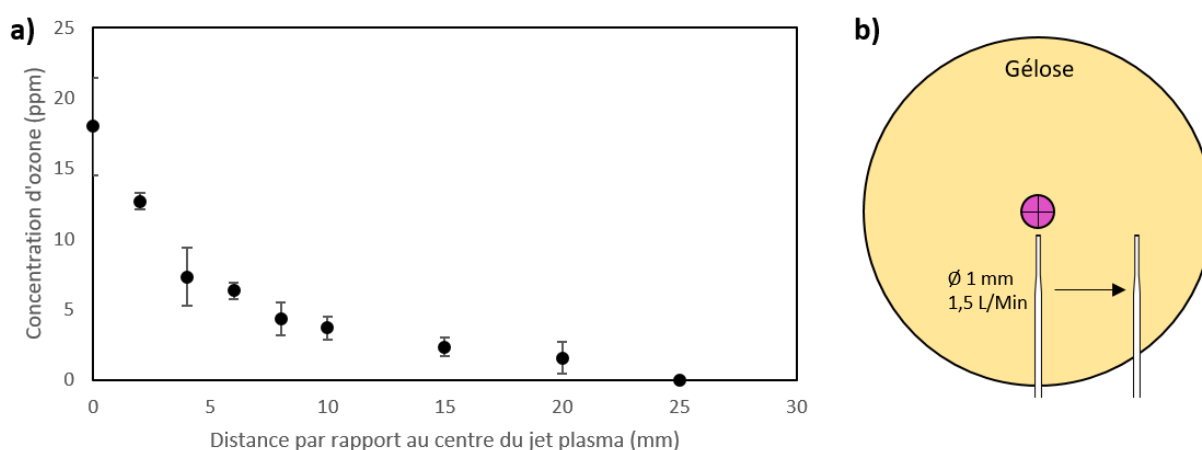


Figure 62: a) Distribution spatiale d'ozone (en ppm) à la surface de la cible (à 15 mm de la sortie du réacteur) en fonction de la distance par rapport au centre du jet pour un traitement PG He+1%O<sub>2</sub> (4,5kV 20kHz 1L.min<sup>-1</sup>), b) schéma du montage de mesure. (n=4)

A l'instar de la gélose couplée au KI, on observe une concentration importante d'ozone au centre du jet (18,1 ± 3,3 ppm), et une décroissance rapide proche de l'axe de la plume pour tendre plus lentement vers 0 ppm à 25 mm.

#### 4.3.4 Application potentielle : Scan de surface pour une zone d'inactivation plus grande

Au regard des études précédentes, les SL-RONS, générées dans la plume d'un jet plasma d'hélium pur, apparaissent comme un mécanisme d'inactivation plus rapide que les LL-RONS. Cette réactivité accrue permet d'envisager un traitement dynamique par balayage relativement efficace, bien que produisant une zone d'inactivation plus restreinte que les zones d'effet induites par les LL-RONS (Figure 44). L'objectif de cette sous-partie est donc de comparer des traitements statiques (plasma d'hélium pur et plasma hélium–dioxygène) avec un traitement dynamique par balayage pour une même durée totale d'exposition (3 minutes). La vitesse de balayage a été choisie comme compromis optimal entre l'extension de la surface traitée et la largeur de la zone d'inactivation (cf. Figure 53 et Figure 54). Les résultats comparatifs sont présentés en Figure 63.

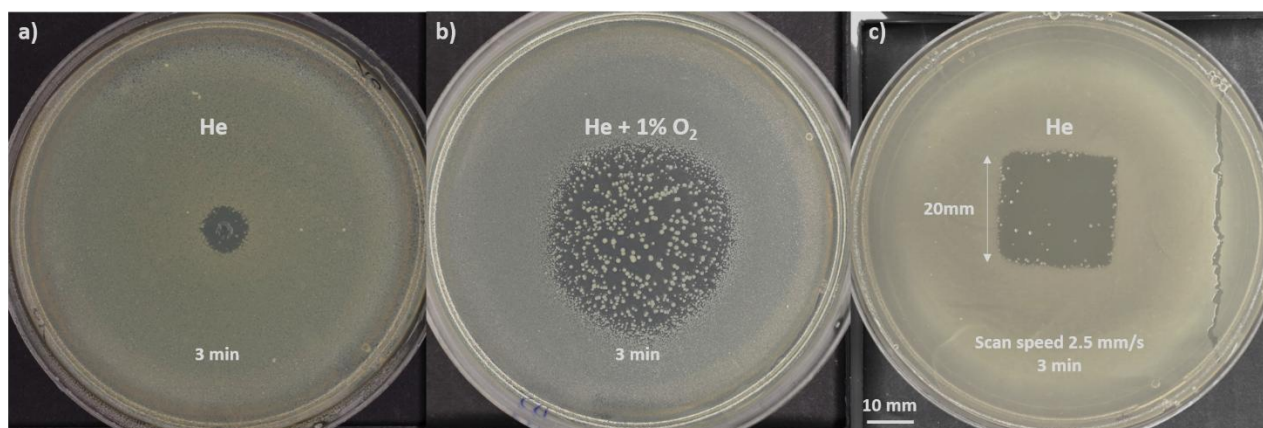


Figure 63: Comparaison de traitements statiques de 3 min en Hélium pur (7kV 20kHz 1L.min<sup>-1</sup>) et Helium-1%dioxygène (7kV 20kHz 1L.min<sup>-1</sup>), avec un traitement dynamique scannant d'une zone de 20\*20mm<sup>2</sup> à une vitesse de balayage de 2,5 mm.s<sup>-1</sup> (He 4,5kV 20kHz 1L.min<sup>-1</sup>) pour un temps total de 3min.

La Figure 63.a) illustre une petite zone d'inactivation (9,8 mm de diamètre) observée sur la gélose, avec un centre visiblement endommagé par la température induite par le traitement plasma. En comparaison, la Figure 63.b) montre une zone d'effet plus étendue (40,8 mm de diamètre), mais présentant de nombreuses colonies survivantes. Enfin, la Figure 63.c) met en évidence une zone scannée de 20 × 20 mm quasiment totalement inactivée, sans altération de l'agar, le balayage permettant d'éviter l'accumulation locale de chaleur. Ces résultats démontrent que le traitement par balayage constitue une solution viable pour l'inactivation rapide de surfaces de grande dimension.

#### 4.3.5 Imagerie de microscopie électronique à balayage de la morphologie de bactéries traitées par plasma

Lors de la dernière année de cette thèse, nous avons eu l'occasion d'étudier plusieurs échantillons lors de deux sessions de cryoMEB, dans le cadre de l'appel à projet MACLE. Cette technique d'imagerie nous permet d'observer si un traitement du PG modifie la morphologie de la bactérie, notamment sous forme de détérioration de la membrane.

Lors de la première session, les bactéries étudiées sont un mélange *E.coli* et des *S.aureus*. Elles ont été préparées selon le *protocole\_MEB\_1*(MM), puis traitées par le PG opérant à 5,5kV et 20kHz pendant 60 secondes, alimenté en hélium pur et mélange Hélium-1%dioxygène. Suite au traitement, les échantillons ont été cryogénisés puis observés au MEB. Un contrôle a aussi été réalisé : les bactéries ont été soumises à un flux d'hélium à 1L.min<sup>-1</sup> pendant 60 s.

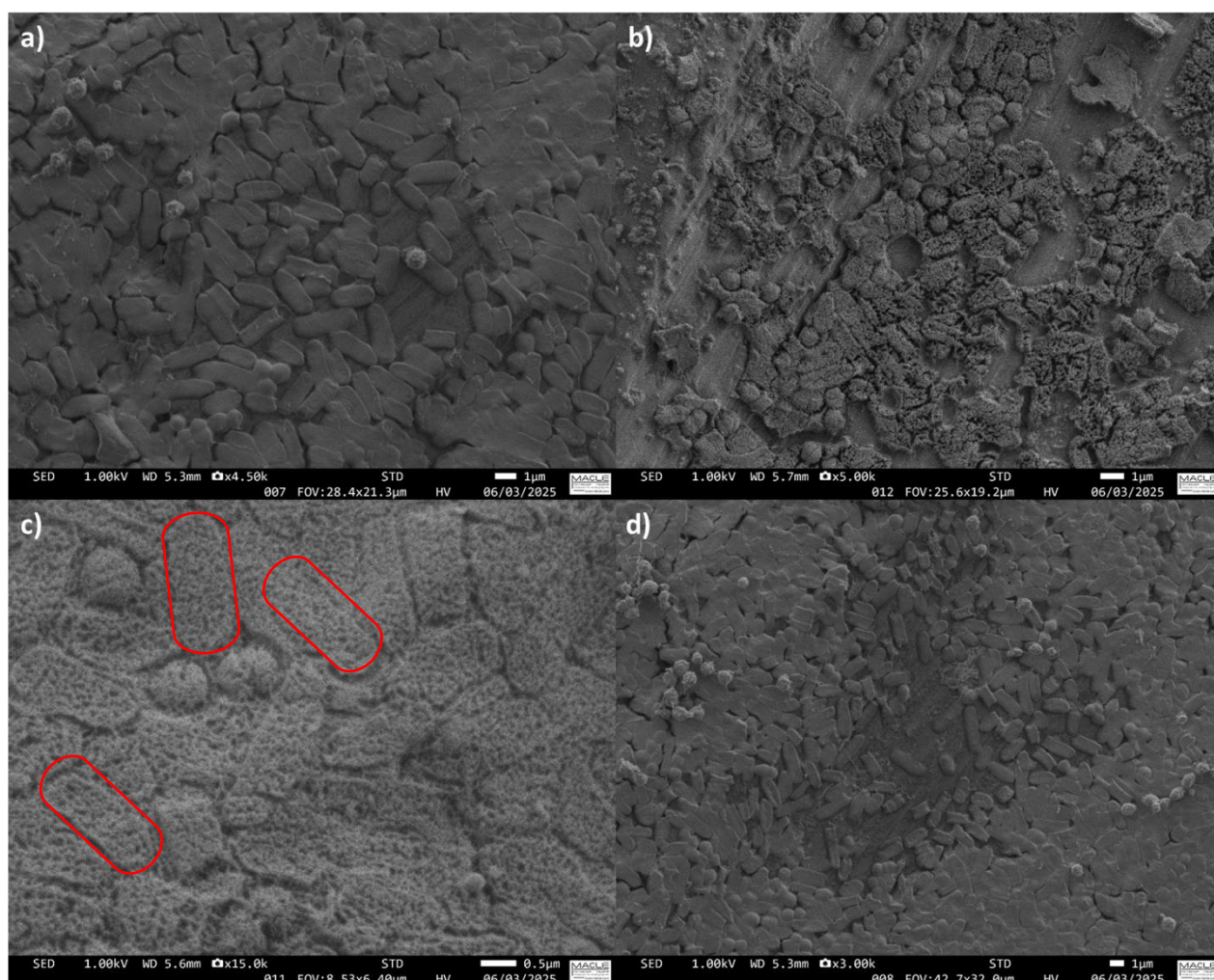


Figure 64: Observation de la morphologie par imagerie MEB des bactéries suites à différents traitement plasma. a) contrôle, sous flux d'He (60sec), b) et c) Traitement plasma d'He (5.5kV 20kHz 60s) d) Traitement plasma He + 1%O<sub>2</sub> (5.5kV 20kHz 60s). (Protocole de préparation des échantillons MEB\_1).

L'image des bactéries contrôles Figure 64.a), suggère que cette préparation des échantillons a présenté plusieurs limitations susceptibles d'influencer l'interprétation des résultats. En premier lieu, une concentration bactérienne trop élevée a été observée, rendant difficile l'observation individuelle des cellules et augmentant l'agglomération entre les bactéries. De plus, lors de la préparation, le séchage imposé aux bactéries (en attendant leur observation) semble avoir induit des modifications morphologiques notables des bactéries, notamment un aplatissement des cellules altérant leur structure native : en forme bâtonnets pour *E.coli* et de coques pour *S.aureus*. Malgré ces contraintes, les résultats obtenus suite au traitement direct PG opérant en hélium pur (images b) et c)) révèlent des dommages structuraux significatifs chez les deux types de bactéries étudiées, notamment la perforation de la membrane cellulaire ainsi que des phénomènes d'éclatement, suggérant une action bactéricide marquée. En revanche, en raison des défauts liés à la préparation de ces échantillons, aucune conclusion fiable ne peut être tirée pour un traitement plasma dans la configuration mélange He-1%O<sub>2</sub>, condition d), identique au contrôle. Les altérations observées pouvant résulter d'effets techniques plutôt que du traitement lui-même.

Suite à ces problématiques, un nouveau protocole de préparation des échantillons a été mis en place, *protocole\_MEB\_2*. Des bactéries *E.coli* ont été préparées, puis traitées pour les mêmes configurations du PG que précédemment, et fixées chimiquement, avant d'être cryogénisées pour ensuite être observées au MEB. La Figure 65 présente deux clichés de bactéries contrôle.

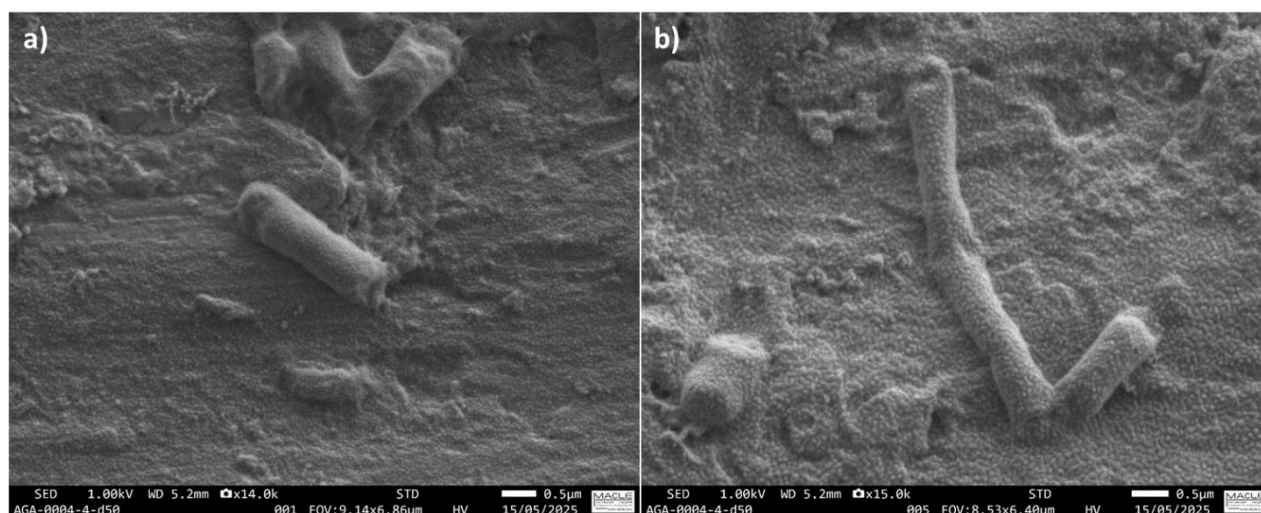


Figure 65: Imagerie MEB d'*E.coli* contrôle soumis à un flux He pendant 60s. (Protocole de préparation des échantillons *MEB\_2*).

Afin d'améliorer la qualité de la préparation, une plus petite concentration de bactérie a été déposée, ce qui a permis une meilleure répartition des bactéries et une observation plus aisée de leurs structures individuelles, comme imagée en Figure 65. Toutefois, cette modification a introduit un nouvel artefact : la formation d'un film rugueux en surface, de manière non homogène, visible en Figure 65.b), dont la nature n'a pas été déterminée par notre équipe. Cette hétérogénéité du dépôt a compliqué l'analyse, certaines zones étant recouvertes d'un matériau amorphe perturbant la visualisation fine des bactéries. Ce phénomène pourrait être lié à une évaporation inégale lors de la sublimation post cryogénisation nécessaire à une meilleure imagerie (pour enlever les artefacts de glace), doit être pris en compte dans l'interprétation des images obtenues.

La Figure 66 illustre l'effet d'un traitement He à 5,5 kV, 20 kHz pendant 60 secondes sur les bactéries, visualisé à différents temps de sublimation. L'image a) correspond à l'état des bactéries après 20 minutes de sublimation, tandis que les images b) et c) montrent respectivement les effets d'un prolongement de 20 et 40 minutes supplémentaires de sublimation. Les cellules bactériennes sont catégorisées selon leur état : vert pour les cellules apparemment saines, rouge pour les cellules détériorées (dommages membranaires) et bleu pour les cellules présentant des signes de déshydratation.

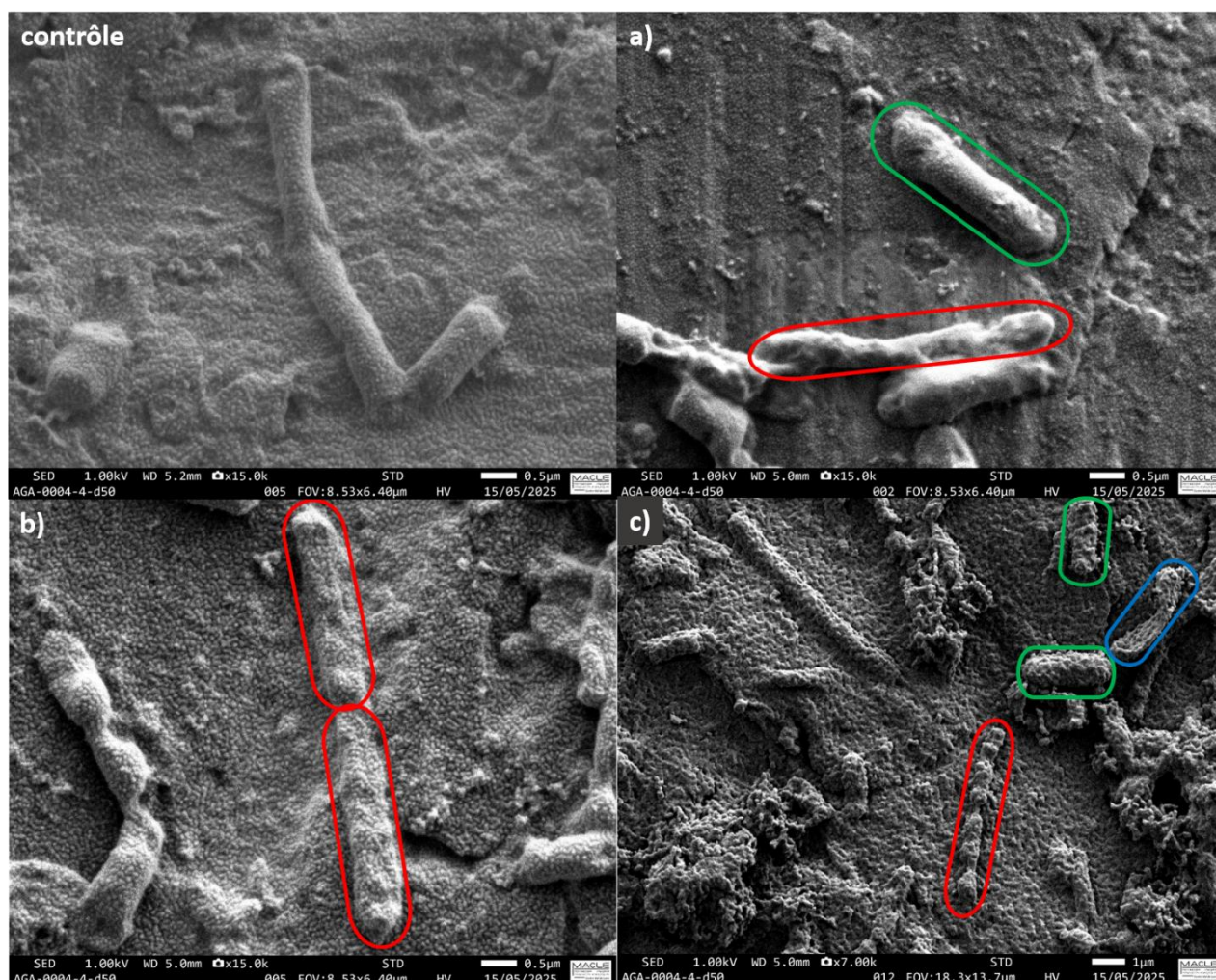


Figure 66: Imagerie MEB d'E.coli traitées par PG (He 5,5kV 20kHz 60s), pour différents zoom et temps de sublimation : a) après 10 min de sublimation, b) après 20 min de sublimation c) avec 40 min de sublimation en plus. (Verte = « saine », rouge = « détériorée », bleu = « déshydratée »). (Protocole de préparation des échantillons MEB\_2).

Les observations montrent une modification de la morphologie de certaines bactéries suite au traitement plasma d'hélium pur, majoritairement de la détérioration de la membrane, mais aussi de la déshydratation. Cependant, au fil du temps de sublimation, les artefacts observés augmentent et rendent l'analyse plus compliquée, mais confirme leur origine due à la sublimation.

Ces altérations structurales indiquent un effet du traitement de plasma d'Hélium pur sur l'intégrité cellulaire mais différent de la perforation membranaire observé en Figure 64.b) et c). Cette divergence pourrait s'expliquer par une différence fondamentale dans le mode d'interaction entre le plasma et les bactéries. Dans le protocole 1, les bactéries sont exposées à des espèces chargées et à un bombardement ionique direct, ainsi qu'à des espèces très réactives à très courte durée de vie. En revanche, le protocole 2 implique un traitement en phase liquide, où les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) sont générées ou transférées dans le liquide, permettant une action différée mais prolongée sur les cellules. Cette différence de milieu et de dynamique d'interaction pourrait expliquer les modifications morphologiques spécifiques observées dans la Figure 66.

La Figure 67 illustre l'effet d'un traitement par plasma à base de He avec 1 % d'O<sub>2</sub>, appliqué à 5,5 kV et 20 kHz pendant 60 secondes. Les bactéries observées ont été catégorisées selon leur état morphologique : en rouge, les cellules présentant une détérioration membranaire, et en bleu, celles montrant des signes de déshydratation en Figure 66.c).

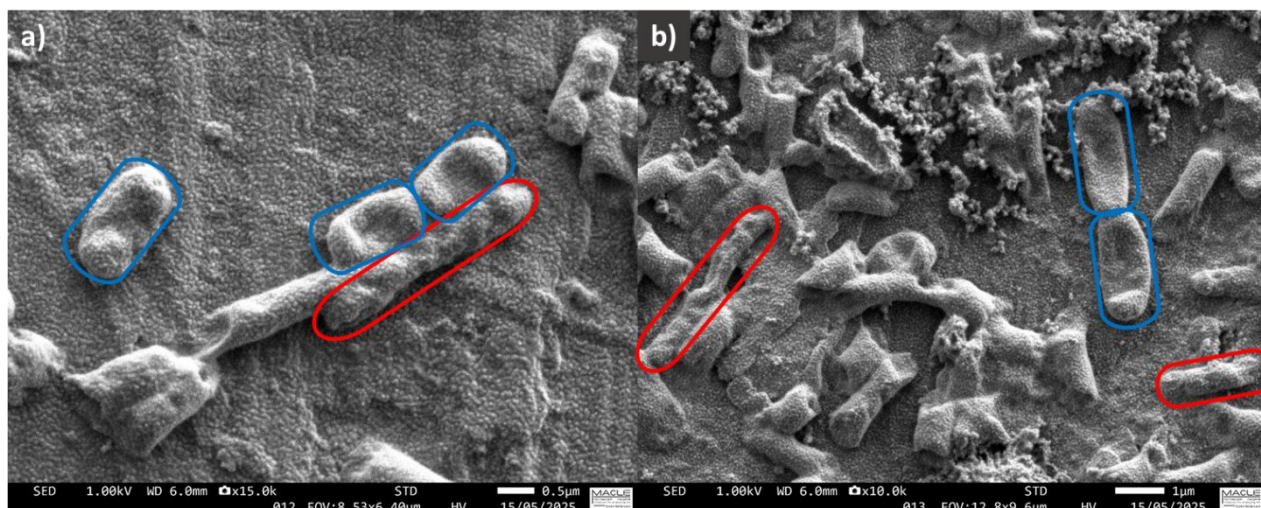


Figure 67: Imagerie MEB d'E.coli traitées par PG He + 1%O<sub>2</sub> (5.5kV 20kHz 60s). (rouge = « détériorée », bleu = « déshydratée »). (Protocole de préparation des échantillons MEB\_2).

La quasi-totalité des bactéries traitées par plasma présentent des signes d'altération marquée. Ces altérations se manifestent principalement par une détérioration des membranes cellulaires et/ou une déshydratation importante, des phénomènes compatibles avec l'action des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS), comme suggéré dans la littérature [150-152]. Ces espèces, connues pour leur capacité à induire des dommages oxydatifs, pourraient expliquer la perte d'intégrité structurale observée. De plus, un grand nombre de bactéries apparaissent cassées ou totalement vidées de leur contenu, ce qui pourrait résulter d'un effet combiné du traitement et du protocole de préparation post-traitement, en particulier les étapes de centrifugeuse et d'agitation.

Ces résultats, bien que confirmant le rôle des RONS dans l'inactivation bactérienne, restent exploratoire et mériteraient d'être confirmés, notamment en MEB sans cryogénisation afin d'éviter les artefacts liés à la sublimation.

#### 4.4 Etude exploratoire : décontamination préventive de tubes d'endoscopie

Après l'étude de la propagation de plasma dans un tube, nous avons entrepris une étude exploratoire visant à évaluer le potentiel d'un jet plasma pour la décontamination interne de tubes d'endoscopie. La décontamination de dispositifs médicaux complexes constitue un enjeu majeur, en particulier pour les endoscopes dont la géométrie tubulaire rend difficile une stérilisation efficace par les méthodes conventionnelles. Ces dispositifs, souvent constitués de

matériaux polymériques sensibles à la chaleur et aux agents chimiques, nécessitent des approches alternatives respectueuses de leur intégrité.

Dans cette étude, différentes configurations du PG ont été sélectionnées, Figure 68, pour trouver les conditions expérimentales favorables à la décontamination d'un tube d'endoscopie de 20 cm : traitement par plasma direct (SL-RONS, bombardement ionique) et/ou LL-RONS transportés dans les effluents. La réduction logarithmique de la charge bactérienne dans le tube est évaluée à 5 cm et 15 cm de la sortie du réacteur. Par ailleurs, des gélosesensemencées et nonensemencées sont placées en sortie de tube afin, respectivement, de quantifier l'efficacité antibactérienne des effluents et de détecter la présence éventuelle de bactéries détachées de la paroi au cours du traitement. Ces tests sont réalisés en 0g.

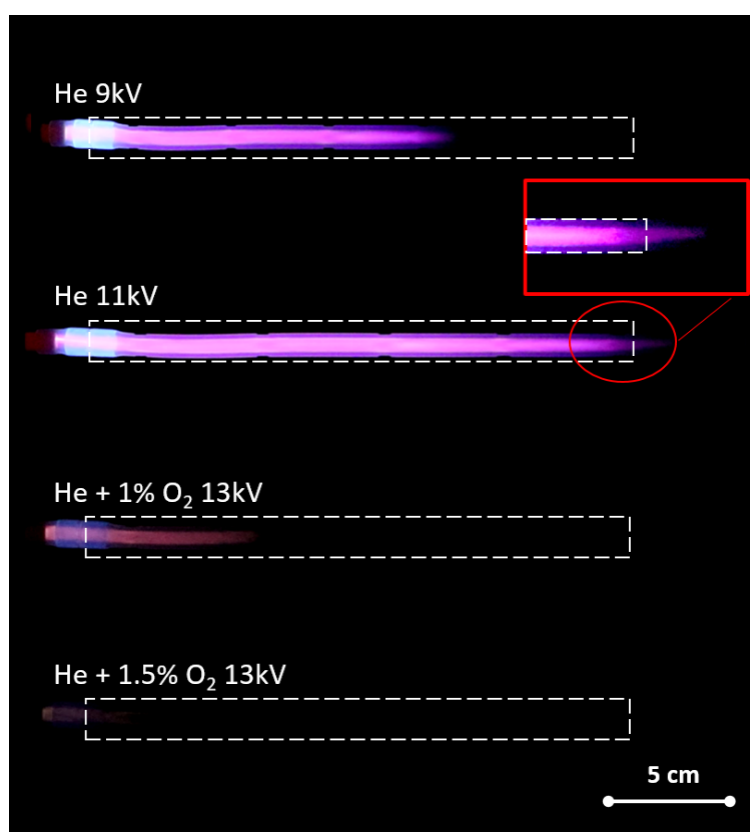


Figure 68: Différentes configurations du PG étudiées pour la décontamination d'un tube d'endoscopie de 20 cm. (20kHz 1L.min<sup>-1</sup>)

La Figure 68 présente deux configurations du PG alimenté en Hélium pur, à 9 kV et 11 KV (20 kHz), permettant d'avoir respectivement, un traitement direct à seulement 5cm et à 5 et 15 cm, mais aussi d'obtenir une plume en sortie de tube pouvant traiter la gélose. Deux concentrations de dioxygène, 1% et 1,5%, sont étudiées (pour un PG opérant à 13 kV et 20 kHz), permettant de comparer l'efficacité de deux concentrations de LL-RONS dans les effluents. La configuration du PG alimenté avec 1 % de dioxygène permet aussi de comparer un traitement direct (à 5 cm), différent d'un plasma d'hélium pur, avec un traitement induit par les effluents (à 15 cm).

La réduction logarithmique de la charge bactérienne, à 5 cm et 15 cm de la sortie du réacteur, est mesurée par méthode du temps de début de croissance (TDC), présentée dans le chapitre 2. La Figure 69 présente les TDC obtenus pour un traitement (15 s) du PG opérant à 9 kV, 20 kHz et alimenté par 1L.min<sup>-1</sup> d'hélium pur, et à 13 kV, 20 kHz et alimenté par 1 L.min<sup>-1</sup> d'un mélange Hélium-dioxygène (1% O<sub>2</sub>).

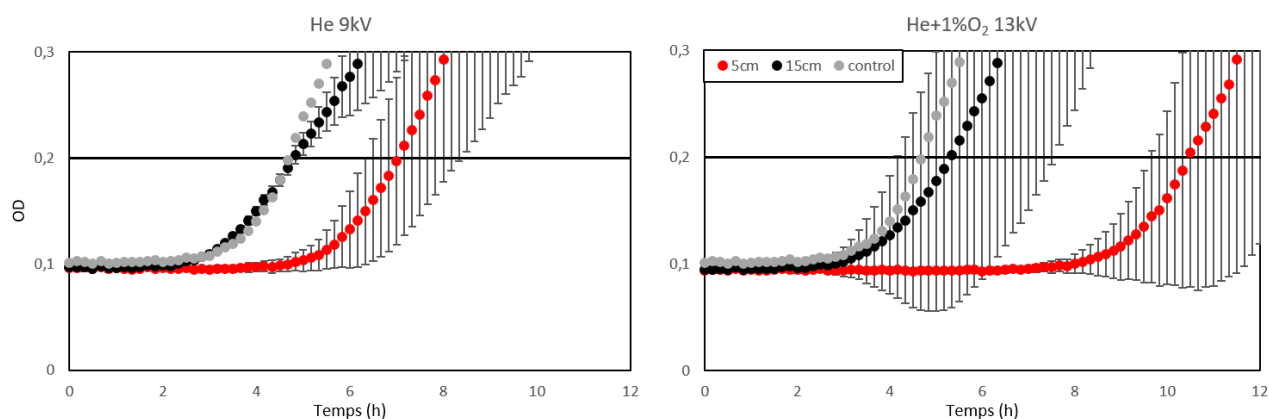


Figure 69: Courbe de croissances des charges bactériennes collectées à 5 (rouge) et 15 cm (noir) d'un tube d'endoscopie après traitement (15s) en Og pour différentes configurations du PG. (n=4)

La Figure 69 met en évidence un retard marqué du TDC à 5 cm pour les deux configurations du PG, correspondant aux zones exposées directement au plasma (cf. Figure 68). En revanche, aucun retard n'est observé à 15 cm pour un traitement à l'hélium pur, tandis qu'un faible décalage est relevé en présence de 1 % de dioxygène. Une variabilité importante, particulièrement prononcée pour le mélange He–O<sub>2</sub>, souligne toutefois les limites de notre protocole d'ensemencement et/ou de récupération bactérienne. Les résultats présentés doivent donc être considérés comme préliminaires et interprétés de manière qualitative.

Les TDC correspondant aux traitements des différentes configurations du PG ont été convertis en réductions logarithmiques (cf. chapitre 2) et présentées en Figure 70.

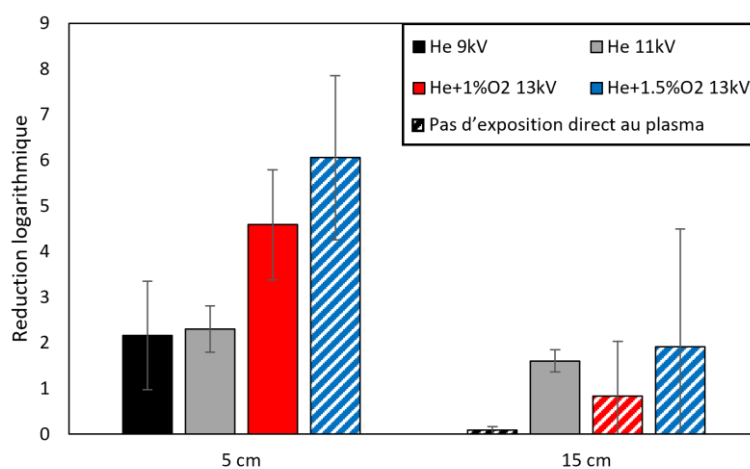


Figure 70: Réduction logarithmique de la charge bactérienne dans un tube d'endoscopie à 5cm et 15 cm de la sortie du réacteur, pour différentes configurations du PG et un temps de traitement de 15s. (hachure = pas d'exposition direct au plasma). (n=4)

La Figure 70 met en évidence que, pour un traitement à l'hélium pur, l'inactivation bactérienne n'est significative qu'au niveau des zones directement exposées au plasma, avec une efficacité réduite à mesure que l'on s'éloigne dans le tube. Les réductions observées se situent en moyenne entre 1 et 2 log, ce qui reste limité du point de vue microbiologique. L'ajout de dioxygène améliore nettement l'efficacité à 5 cm, où l'inactivation approche le seuil de désinfection ( $\approx 5$  log). En revanche, plus loin dans le tube (15 cm), la variabilité importante des mesures ne permet pas de conclure de manière robuste, même si la tendance moyenne suggère une réduction comprise entre 1 et 2 log. Il est intéressant de noter que la réduction maximale est obtenue pour une concentration de 1,5 % d'oxygène, en l'absence d'exposition directe au plasma, ce qui suggère une efficacité accrue des LL-RONS, transportés dans les effluents, dans cette configuration tubulaire. La concentration maximale d'ozone mesurée en sortie de tube dans cette configuration, pour un traitement de 15 s, est de 2,5 ppm.

La Figure 71.a) confirme cette hypothèse en mettant en évidence une zone d'effet sur une gélose placée en sortie de tube, attribuable exclusivement aux LL-RONS transportés par les effluents gazeux. En comparaison, la Figure 71.b) présente une zone d'inactivation obtenue lors du traitement direct de la gélose par la plume plasma en sortie de tube (Figure 68), dans le cas d'un plasma d'hélium pur. Cette observation suggère que la plume plasma d'hélium présente une efficacité maximale en présence de l'air ambiant, qui favorise la formation de SL-RONS.

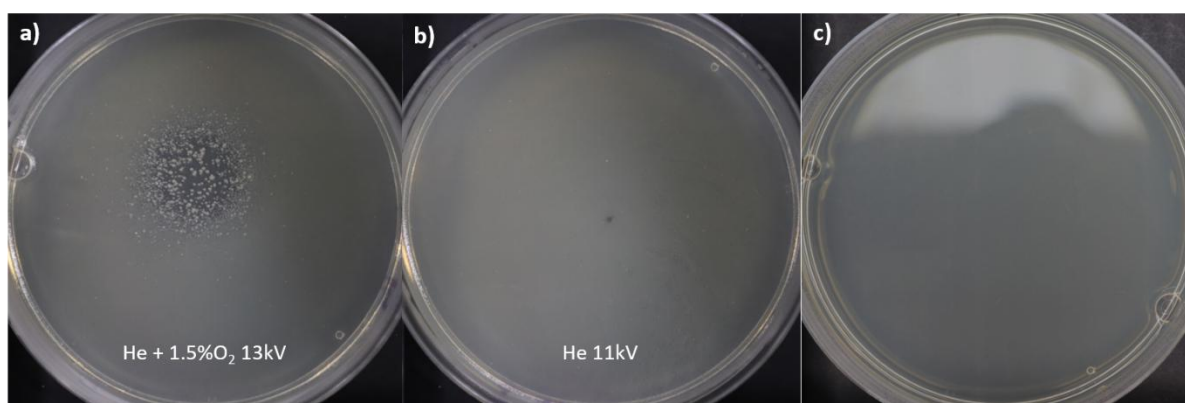


Figure 71: Photos de géloses placées en sortie de tube pendant un traitement PG (20 kHz 1L.min<sup>-1</sup> 15s) : a) géloseensemencée (He + 1.5%O<sub>2</sub> 13kV), b) géloseensemencée (He 11kV), c) gélose nonensemencée.

Enfin, la Figure 71.c) montre qu'il n'y a pas d'arrachement de bactéries, présentes sur les parois du tube, lors des traitements étudiés (15s).

#### 4.5 Preuve de concept : Traitement de bactéries multirésistantes

Dans le cadre de cette thèse, nous avons collaborer avec le Service de Prévention du Risque Infectieux (SPRI) du CHU d'Orléans (CHUO), nous permettant de traiter des bactéries multirésistantes (BMR) et des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) spécifiquement sélectionnées par le SPRI. Ces souches, isolées dans un contexte hospitalier réel, représentent un enjeu clinique majeur en raison de leur résistance aux traitements antibiotiques classiques. Travailler sur ces pathogènes ciblés a ainsi conféré une dimension

appliquée et concrète à ce projet, en répondant directement à un besoin identifié par les équipes de prévention des infections nosocomiales. La comparaison de l'efficacité du PG pour ce type de bactéries avec les bactéries de type BLS1 permettra d'évaluer la pertinence des résultats jusqu'alors obtenus.

Les souches étudiées sont :

- *E.coli* productrice de New Delhi Métallo- $\beta$ -lactamase (ECNDM), BHRe,
- *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM),
- *Klebsiella pneumoniae* productrice de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE),
- *Enterococcus faecium* résistants à la vancomycine (ERV), BHRe.

Ces souches ont été traitées avec le PG opérant à 5,5 kV et 20 kHz. Il est alimenté en hélium pur et en mélange d'hélium avec 1% de dioxygène. La distance réacteur cible est de 15 mm et les temps de traitements sont de 30, 60 et 90 secondes. La Figure 72 présente les géloses ensemencées par les BMR et BHRe après traitements par le PG pendant 60 s, pour les deux mélanges de gaz.

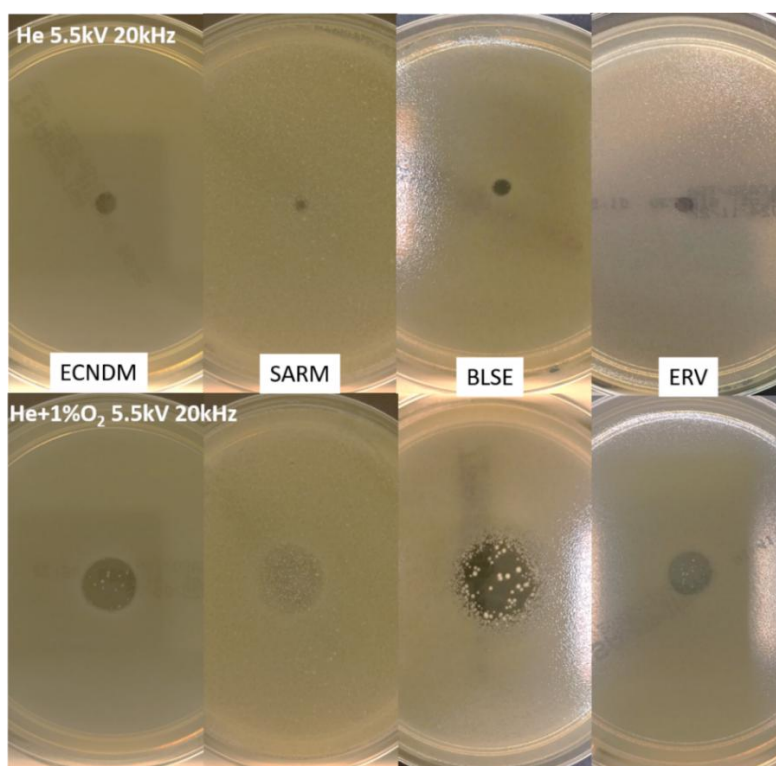


Figure 72: Inactivation des BMR suite à un traitement du PG 5kV 20kHz 60s pour deux concentrations de dioxygène (0% et 1%). (*E.coli* productrice de New Delhi Métallo- $\beta$ -lactamase (ECNDM), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Klebsiella pneumoniae* productrice de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE), *Enterococcus faecium* résistants à la vancomycine (ERV).

Les résultats obtenus démontrent que le traitement par plasma généré (PG) permet l'inactivation efficace de bactéries multirésistante. Pour *E. coli* NDM, Figure 72 (gauche), le comportement d'inhibition est similaire à celui de la souche non pathogène étudié précédemment, Figure 44 : le traitement avec de l'hélium pur induit une zone d'inhibition

réduite mais complète, tandis que l'ajout de 1 % d'oxygène au plasma entraîne une zone plus étendue, bien que marquée par une certaine hétérogénéité dans l'effet bactéricide. De plus, l'hélium seul semble produire un effet homogène et constant, quel que soit le type de souche. En revanche, le mélange He + O<sub>2</sub> montre une efficacité variable selon les espèces, avec une activité réduite observée notamment sur SARM [153]. Ces résultats sont particulièrement intéressants, car ils montrent l'absence de corrélation entre l'efficacité d'inactivation du traitement plasma et la catégorie de résistance des bactéries traitées (BMR versus BHRé). En effet, le traitement plasma s'est révélé efficace sur les souches *E.coli* NDM et les ERV, qui appartiennent à la catégorie des BHRé, pourtant reconnues comme étant parmi les plus complexes à éliminer en milieu hospitalier. Cette efficacité est observée pour les deux mélanges de gaz du plasma généré (PG). À l'inverse, le traitement apparaît peu efficace sur le SARM, une BMR, en particulier dans la condition He + 1 % O<sub>2</sub>. Ces observations suggèrent que la sensibilité au traitement plasma ne dépend pas directement du niveau de résistance aux antibiotiques, mais probablement à la sensibilité intrinsèque des bactéries aux espèces réactives générées dans chaque configuration, mettant en évidence la nécessité d'adapter les paramètres du traitement plasma (ou la durée) en fonction du type de pathogène ciblé

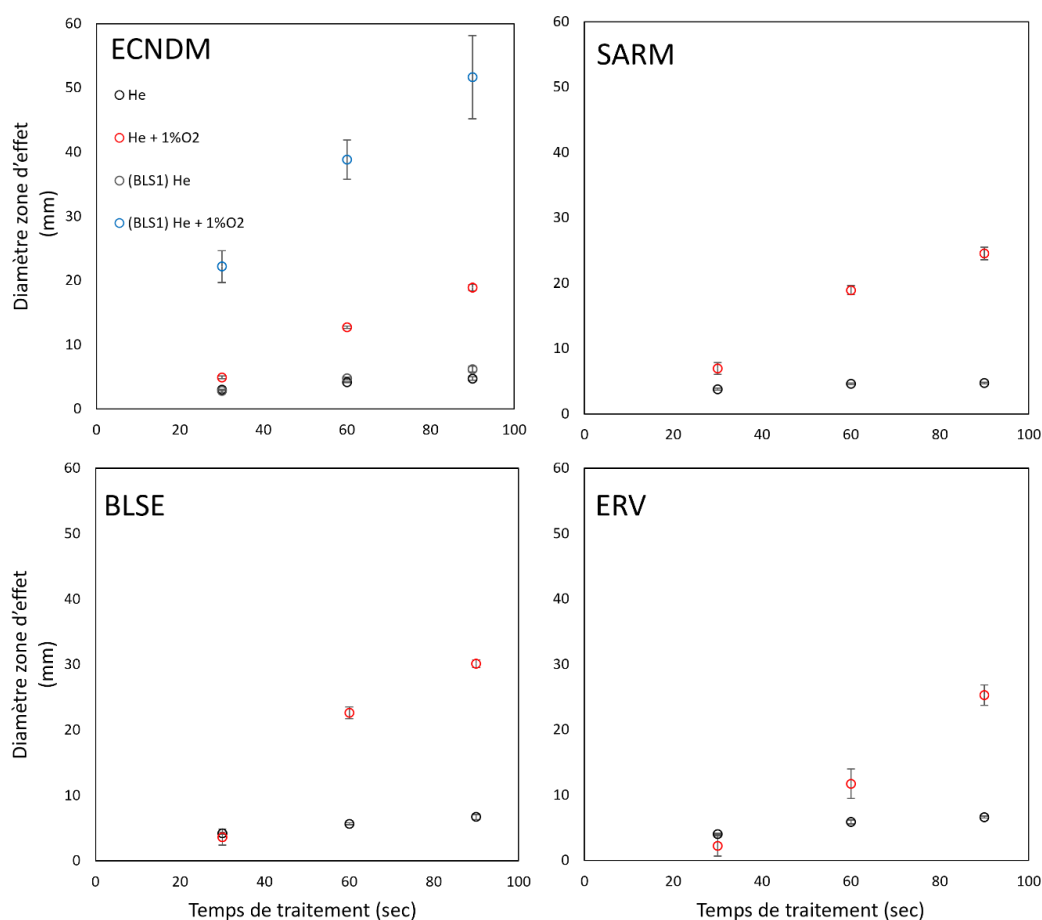


Figure 73: Diamètres des zones d'inactivation et d'effet pour les différentes BMRs en fonction du temps de traitement (30, 60, 90s) et de la concentration d'O<sub>2</sub> (0% noir, 1% rouge) d'alimentation du PG (5kV 20kHz). (n=8)

La Figure 73 présente les diamètres des zones d'inactivation et d'effet pour les différentes souches bactériennes en fonction du temps de traitement (30, 60 et 90 secondes) et de la concentration de dioxygène dans le mélange (0% et 1%).

Les essais réalisés sur la souche multirésistante d'*E. coli* révèlent une tendance d'inactivation similaire à celle observée pour la souche non pathogène, Figure 72. En effet, l'efficacité du traitement plasma augmente de manière proportionnelle avec le temps d'exposition, reflétant une cinétique d'inactivation comparable. Le mélange He + 1 % O<sub>2</sub> induit, comme précédemment, une zone d'effet plus large que l'hélium pur, bien que cette extension de zone reste associée à une certaine inhomogénéité. Il est toutefois à noter que les diamètres d'inhibition mesurés sur la souche résistante sont légèrement inférieurs à ceux de la souche non pathogène (BLS1) dans des conditions identiques, en particulier pour le mélange He-1% O<sub>2</sub>. Cette différence pourrait s'expliquer par une résistance accrue d'*E. coli* multirésistante certaines agressions oxydatives.

Enfin, toujours dans un souci de se rapprocher d'applications réelles et complexes, l'efficacité du PG a été testé pour des mélanges de BMRS.

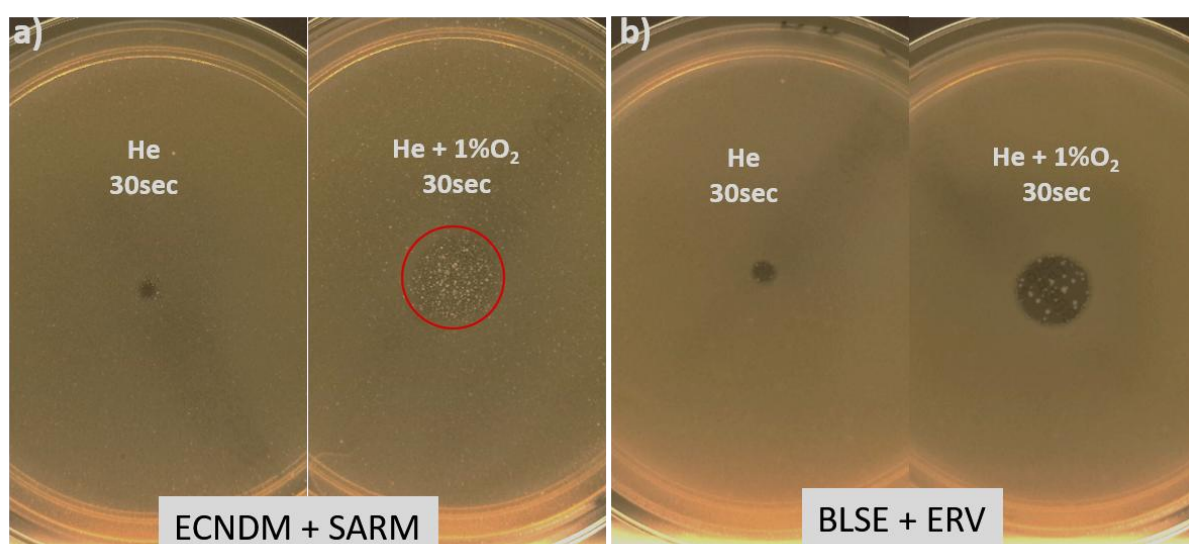


Figure 74: Traitement de mélanges de souches de BMR a) He b) He O<sub>2</sub>. c) traitement phase exponentielle EC SA.

Les essais réalisés sur un mélange bactérien associant d'une part ECNDM et SARM, et d'autre part BLSE et ERV, montrent qu'un traitement plasma permet également l'inactivation de ce type de co-culture. Le comportement d'inhibition des mélanges sont similaires à ce qui a été vu de nombreuses fois au cours de ce chapitre : sous hélium pur, la zone d'inactivation reste relativement réduite mais homogène, tandis que l'ajout de 1 % d'oxygène au plasma conduit, comme précédemment, à une extension plus large de la zone d'effet, bien que toujours marquée par une certaine variabilité. Toutefois, le comportement du mélange semble aussi refléter celui des souches individuelles, suggérant que l'effet du traitement correspond à une forme d'addition des sensibilités spécifiques de chaque espèce. La présence conjointe d'*ECNDM* et de *SARM* dans le mélange semble moduler la réponse au traitement :

contrairement au *ECNDM* seul, qui montre une réponse forte au He + O<sub>2</sub>, le mélange présente une sensibilité atténuée, indiquant que *SARM* compense cette moindre réactivité.

Pour conclure, l'efficacité du PG dans le cadre du traitement renforce non seulement la pertinence des résultats obtenus précédemment, mais permet également d'envisager des perspectives de transfert plus rapide vers des solutions utilisables en milieu hospitalier, là où la lutte contre les BMR constitue une priorité absolue en matière de santé publique.

## 4.6 Conclusion du chapitre 4

Nous avons étudié au cours de ce chapitre l'efficacité du PG pour l'inactivation de bactéries, en conditions normales de gravité (1 g) et en apesanteur (0 g).

Des contrôles ont d'abord confirmé que ni l'apesanteur, ni le gaz d'hélium seul, ni les espèces chimiques générées dans les milieux traités n'affectent directement la croissance bactérienne. Ces résultats permettent d'attribuer l'effet observé principalement aux espèces réactives produites par le plasma et à leur interaction directe avec la surface bactérienne.

Les traitements statiques ont montré que l'ajout de dioxygène au plasma d'hélium augmente la zone d'inactivation bactérienne, bien que cette zone devienne moins homogène. En apesanteur, l'efficacité semble légèrement supérieure, mais cette différence apparaît davantage liée aux conditions de pression réduite en cabine de vol qu'à l'effet direct de la gravité elle-même. Lors de traitements à distance plus grande entre le plasma et la surface, la zone d'effet diminue, probablement en raison de l'évolution de l'écoulement du gaz et de la dispersion des espèces réactives. Par ailleurs, les bactéries en phase latente se révèlent plus sensibles au plasma que celles en phase exponentielle, suggérant que les espèces réactives de longue durée de vie (RONS) jouent un rôle important dans l'inactivation de cellules moins actives métaboliquement.

Ces observations sont cohérentes avec de nombreux travaux de la littérature sur les plasmas froids atmosphériques, qui identifient les RONS comme des agents majeurs de l'inactivation bactérienne, notamment par l'oxydation des membranes, des protéines et de l'ADN bactérien [73, 154]. Plusieurs études ont montré que ces espèces réactives peuvent induire des dommages oxydatifs multiples conduisant à la perte d'intégrité membranaire et à la désactivation des fonctions cellulaires essentielles [118, 155]. La sensibilité accrue des bactéries en phase latente observée ici pourrait également être liée à des différences dans l'organisation de la membrane ou dans les mécanismes de réparation cellulaire, comme cela a été suggéré dans différents travaux sur les interactions plasma-microorganismes.

Les traitements fractionnés, répartis sur plusieurs courtes durées, se sont révélés aussi efficaces que des traitements continus. Cette propriété est particulièrement intéressante dans le contexte des vols paraboliques, où la durée d'apesanteur est limitée, mais elle présente

également un intérêt pratique plus général pour limiter l'augmentation de la température de surface induite par le plasma tout en maintenant une efficacité de décontamination élevée.

L'étude des traitements dynamiques (balayage) semble confirmer que l'efficacité dépend du nombre d'impulsions plasma appliquées par millimètre et qu'il est possible d'obtenir une zone décontaminée importante en un temps relativement court. Ce résultat suggère que ce type de plasma pourrait être adapté à des procédés de désinfection de surfaces étendues, ce qui constitue un enjeu majeur dans de nombreux environnements sensibles, notamment hospitaliers.

Les différentes composantes du plasma (RONS à courte durée de vie, RONS à longue durée de vie, espèces excitées et augmentation de la température induite par le traitement plasma) ont été étudiées afin de mieux comprendre leur rôle dans l'inactivation bactérienne. L'analyse thermique a révélé que même si le plasma peut chauffer la surface au-delà de 80 °C, la chaleur induite n'est pas la principale cause de l'inactivation bactérienne, et reste souvent en dessous des seuils efficaces pour une désinfection thermique standard. L'imagerie ICCD a permis de visualiser l'interface entre le plasma et la cible, montrant que les espèces réactives à courte durée de vie sont localisées à cet endroit, ce qui confirme leur rôle majeur dans la zone d'inactivation, principalement en hélium pur.

Enfin, des tests réalisés sur des bactéries multirésistantes (BMR) et bactéries hautement résistantes (BHRe) isolées en milieu hospitalier ont montré que le PG conserve une efficacité comparable à celle observée sur des souches non pathogènes. Le traitement à l'hélium pur reste homogène, tandis que l'ajout de dioxygène améliore l'étendue de l'effet mais introduit une variabilité selon les souches. Les mélanges de souches présentent des comportements intermédiaires, reflétant la combinaison des sensibilités spécifiques de chaque bactérie. Ces résultats sont particulièrement encourageants dans le contexte de la lutte contre les infections nosocomiales, où les BMR représentent un défi majeur pour les stratégies de désinfection conventionnelles [154, 155].

Au-delà du contexte hospitalier, ces résultats présentent également un intérêt dans le domaine spatial. Les environnements confinés tels que les stations spatiales favorisent la persistance et la diffusion de biofilms microbiens, tandis que l'utilisation d'agents chimiques de désinfection peut être limitée pour des raisons de sécurité ou de logistique. Dans ce contexte, les plasmas froids apparaissent comme une technologie prometteuse pour la décontamination rapide de surfaces, ne nécessitant qu'un gaz vecteur et de l'énergie électrique, tout en limitant les résidus chimiques. Plusieurs travaux ont d'ailleurs souligné le potentiel des plasmas froids pour les applications biomédicales et de désinfection dans des environnements contraints [73, 156].

Ces résultats ouvrent ainsi la voie à des études futures visant à optimiser les paramètres du plasma, à mieux caractériser les mécanismes d'inactivation en microgravité et à évaluer

l'efficacité de cette technologie sur des biofilms ou dans des configurations applicatives plus proches des conditions réelles d'utilisation.

# Conclusion

Cette thèse, soutenue par le programme MITI (80 PRIME 2022—PLANES) du CNRS, avait pour objectif d'évaluer pour la première fois le potentiel d'un jet plasma froid à pression atmosphérique, le Plasma Gun (PG) développé au GREMI, pour l'inactivation bactérienne, y compris de souches multirésistantes, en conditions terrestres et en apesanteur. Sa réalisation a été étroitement structurée par les campagnes de vols paraboliques, imposant une planification rigoureuse, une coordination continue entre les différents laboratoires (GREMI, CBM, CHUO et Novespace). Les conditions de pression réduite (0.8 atm) inhérentes aux vols paraboliques ont également conduit à réaliser des campagnes expérimentales à la station de Pierre-sur-Haute (altitude 1400 mètres). En amont et au-delà de la caractérisation des propriétés antibactériennes du Plasma Gun, une panoplie de diagnostics et de protocoles expérimentaux a été spécifiquement adaptés pour répondre à ces contraintes temporelles et logistiques et étudier la physique de développement du jet plasma.

**L'opérabilité du Plasma Gun (PG) en apesanteur (0g, pression réduite 0.8 atm)** a été étudiée lors des vols paraboliques. Un bâti expérimental a été spécialement conçu, construit et qualifié aux normes aéronautiques pour permettre le fonctionnement du réacteur pendant les phases de microgravité, tout en intégrant plusieurs diagnostics optiques et électriques. Ces instruments ont permis de confirmer le bon fonctionnement du PG en 0g pour différentes configurations électriques (amplitude de tension, fréquence et polarité des impulsions, rapport cyclique), et plusieurs compositions gazeuse (hélium pur ou hélium-dioxygène), et d'établir une comparaison directe avec les résultats obtenus en gravité terrestre (1 g). Il a ainsi été démontré que l'apesanteur n'altère pas le fonctionnement global du jet plasma. La plume plasma conserve une propagation stable, mais elle n'est plus soumise à la force de flottabilité associée à la faible densité de l'hélium. Les enregistrements photographiques et les acquisitions résolues temporellement (caméra ICCD) révèlent en revanche que l'ajout de dioxygène modifie le développement de la plume, qui devient plus courte, plus canalisée et moins conique. La pression réduite influence également la dynamique du plasma, en augmentant sa longueur de propagation ainsi que la taille des ramifications (« filaments » de plasma générés en périphérie du tronc conique de la plume plasma) tout autant en 0g que en 1 g comme mesurée lors des expériences menées dans la station de Pierre-sur-Haute. Un montage Schlieren a par ailleurs mis en évidence l'impact des décharges sur l'écoulement initialement laminaire du flux d'hélium, en générant une zone d'instabilité et de mélange plus éloignée de la sortie du capillaire (1 cm). Cette zone d'instabilité, directement corrélée à la zone de ramification du plasma, apparaît plus large, plus longue et présente une évolution dynamique moins marquée en 0g. Enfin, les mesures de puissance montrent que la consommation électrique du PG n'est pas influencé par le changement de conditions environnementales.

**L'efficacité bactéricide du PG en 1g et 0g** a été confirmée sur *Escherichia coli* non pathogène. Des contrôles préliminaires ont d'abord établi que les variations successives de gravité et les répétitions de phases de 0g (représentant un temps cumulé d'environ 30 minutes en apesanteur) n'affectaient pas la croissance bactérienne. Les traitements de géloses ensemencées ont ensuite révélé des zones d'inhibition dépendantes de la concentration en dioxygène dans l'hélium (gaz plasmagène), mais similaires d'une condition environnementale à l'autre. Un plasma d'hélium pur induit une zone d'inactivation relativement étroite mais homogène, tandis que l'ajout de dioxygène élargit la zone d'effet au détriment de l'homogénéité de l'inactivation. Enfin, l'étude de traitements fractionnés a montré une efficacité comparable à celle de traitements continus, à temps de traitement effectif équivalent, ouvrant la possibilité de dépasser, lors de futures expériences, la limite imposée par la durée des phases paraboliques.

**L'inactivation de souches bactériennes multirésistantes** par traitement du PG a également été démontrée en conditions terrestres. La sélection des souches a été guidée par la collaboration avec le SPRI dans l'objectif d'obtenir des premiers résultats pertinents dans le contexte des infections hospitalières en lien avec la problématique de l'antibiorésistance. Les essais ont porté sur plusieurs types de bactéries à Gram positif et Gram négatif, à savoir : *Escherichia coli* productrices de NDM, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE et *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine. Les traitements réalisés avec un plasma d'hélium pur se sont révélés efficaces contre l'ensemble de ces souches, de manière comparable à ce qui a été observé pour *E. coli* non pathogène, y compris dans le cas de co-culture de souches. En revanche, l'ajout de dioxygène dans le gaz plasmagène a conduit à des efficacités variables selon la souche, notamment avec une sensibilité particulièrement faible observée pour le SARM.

Ces résultats ont conduit à un examen approfondi des caractéristiques et des composantes du jet plasma, afin de mieux comprendre – ou du moins de cerner – les mécanismes impliqués dans l'inactivation bactérienne.

La caractérisation électrique, mesures des courants et puissances électriques, lors de l'exposition de différentes cibles par le plasma, a montré que la répartition des puissances délivrées par le générateur, au plasma et à la cible est comparable pour une cible conductrice et pour une gélose, avec environ 15 % de la puissance transmise à la cible et près de 80 % considérée comme perdue. La puissance totale consommée est toutefois plus élevée en présence d'une cible (10 W) que lors d'un jet libre (8 W), ce qui souligne la nécessité de considérer la cible comme une composante intégrale du dispositif. Cette caractérisation, menée au cours de la thèse dans les différentes conditions expérimentales, conduira lors des prochaines campagnes de vols à fabriquer un nouveau générateur d'impulsion électrique compact, de puissance adaptée aux expériences d'exposition d'échantillons biologiques,

éventuellement autonome par la synchronisation automatique avec les phases de transition en apesanteur.

La spectroscopie d'émission optique de la plume plasma d'hélium pur a révélé la présence d'agents potentiellement impliqués dans la décontamination, notamment des radicaux OH et NO, ainsi que des espèces chargées de l'azote et l'oxygène atomique. Leur distribution à la surface de la cible a ensuite été confirmée par des acquisitions résolues temporellement filtrées (caméra ICCD), ainsi que par une analyse colorimétrique utilisant des géloses au KI-amidon. L'ajout de dioxygène entraîne une diminution globale de l'intensité du spectre d'émission, en particulier des bandes caractéristiques de NO\* et N<sub>2</sub><sup>+</sup>\*, ainsi que de la bande OH\* ; cet effet est également visible sur les images ICCD. De plus, l'ajout de dioxygène se traduit par une augmentation de la concentration d'ozone en sortie de capillaire et une zone de réaction plus étendue sur les géloses indicatrices enrichies au KI-Amidon. Ceci a été interprété comme associé au transport d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote à longue durée de vie (LL-RONS) dans les effluents.

La caractérisation thermique de la surface de la cible pendant le traitement plasma a mis en évidence des élévations de température ponctuelles et localisées pouvant dépasser 100 °C pour certaines configurations du PG. Néanmoins, le caractère transitoire de ces élévations de température et l'analyse de la réduction microbienne par rapport à la charge thermique (méthode « A0 ») permet de conclure que l'inaction bactérienne n'est très probablement pas liée à l'apport thermique, comme attendu par l'utilisation d'un jet de plasma froid.

Le traitement d'E. coli à différentes phases de croissance (latente et exponentielle) a mis en évidence une résistance accrue aux espèces réactives de l'oxygène et de l'azote à longue durée de vie (LL-RONS) durant la phase exponentielle. Cette résistance se traduit par la disparition de la zone d'effet au profit d'une zone d'inactivation réduite, localisée au point d'impact de la plume sur la cible. Ces observations soulignent l'efficacité particulière des RONS à courte durée de vie (SL-RONS) et des espèces chargées présentes dans la plume, ainsi que, possiblement, de l'action de champs électriques non explorés dans ce travail. Ces résultats invitent à reconsidérer l'intérêt de l'ajout de dioxygène dans le gaz plasmagène, initialement envisagé pour accroître la production globale de RONS, ainsi que la validité du modèle bidimensionnel de traitement de bactéries sur gélose en phase latente couramment utilisée.

Le développement des traitements dynamiques a confirmé ces résultats : les plasmas d'hélium pur conservent une efficacité élevée même à des vitesses de balayage importantes. En revanche, pour les mélanges hélium–dioxygène, l'augmentation de la vitesse de balayage réduit progressivement la zone d'effet jusqu'à ne laisser subsister qu'une fine zone d'inactivation. Cette méthode de traitement a aussi mis en évidence un paramètre clé pour la quantification de l'efficacité antibactérienne du traitement plasma : le nombre d'impulsions

par unité de surface. Par ailleurs, ce mode de traitement permet de couvrir une surface plus étendue tout en limitant l'élévation de température induite par le plasma.

L'imagerie en microscopie électronique à balayage (MEB), malgré les limites imposées par la préparation des échantillons, a révélé des altérations morphologiques des bactéries traitées par plasma d'hélium, telles que des déformations ou des perforations de la membrane, probablement liées au bombardement par les espèces chargées présentes dans la plume. L'ajout de dioxygène provoque, quant à lui, une déshydratation marquée des cellules, en cohérence avec les effets oxydatifs décrits dans la littérature. Des investigations complémentaires, s'appuyant sur des protocoles de préparation plus optimisés et sur l'imagerie en microscopie électronique en transmission (MET), permettraient de confirmer ces observations et d'affiner la compréhension des mécanismes sous-jacents.

Enfin, l'étude de la propagation du plasma dans des tubes d'endoscopie, menée dans le cadre du développement des traitements dynamiques, a montré que la longueur de propagation (jusqu'à 40 cm) augmente proportionnellement à la tension appliquée et dépend de la composition du gaz plasmagène : l'ajout de dioxygène réduit nettement la distance atteinte. En revanche, ni la fréquence des impulsions ni le débit de gaz n'exercent d'influence notable sur cette propagation. Cette configuration a également permis de réaliser une étude exploratoire de décontamination préventive de tubes d'endoscopie. Les résultats indiquent qu'un traitement à l'hélium pur est peu efficace : aucune inactivation n'a été observée dans les zones non exposées à la plume plasma et seulement 2 log<sub>10</sub> de réduction de charge bactérienne dans les zones directement impactées, suggérant un rôle limité mais démontré aux espèces chargées et autres composantes de la plume. À l'inverse, l'ajout de dioxygène a permis d'atteindre jusqu'à 5 log de réduction, ce qui met en évidence l'efficacité RONS dans ce contexte de milieu confiné, différent des conditions d'air ambiant étudiées précédemment.

De futurs essais en apesanteur seraient pertinents avec une imagerie Schlieren optimisée, afin de quantifier plus précisément les modifications de l'écoulement par rapport à la gravité terrestre. Ils pourraient être couplés à des mesures spectroscopiques pour cartographier la présence et la distribution spatiale des espèces actives le long de la plume et dans la zone d'instabilité.

Ces travaux ont confirmé la faisabilité d'un dispositif compact, peu énergivore, simple à manipuler grâce à un potentiel applicateur flexible, et polyvalent, adapté aux études et applications en conditions d'apesanteur, qu'il s'agisse de la décontamination de surfaces, du traitement de liquides (par exemple pour l'agriculture spatiale) ou du traitement de tissus humains. Dans cette continuité, un projet de thèse est actuellement mené au laboratoire du CBM, en partenariat avec le GREMI, afin d'évaluer l'effet du traitement par Plasma Gun sur la cicatrisation des plaies (traitement cellulaire), notamment dans des conditions d'apesanteur.

De plus, les travaux de cette thèse ont montré que la variation de pression exerce un impact majeur sur le développement du plasma. Une étude plus approfondie de la propagation de la plume et de l'évolution de la production d'espèces réactives serait donc pertinente. À cette fin, le développement d'une enceinte à pression variable constituerait un outil adapté pour mener systématiquement cette investigation.

Enfin, une analyse biologique plus approfondie permettrait d'affiner la compréhension des mécanismes d'inactivation mis en évidence au cours de cette thèse et de leurs effets. Des approches complémentaires, telles que des analyses de l'ADN ou l'étude de l'intégrité génomique, pourraient être envisagées. Par ailleurs, des tests ciblant l'inactivation des vecteurs de transfert de gènes de résistance, par exemple la dégradation de plasmides (Annexe-E), seraient particulièrement intéressants dans la perspective d'applications en milieu hospitalier.

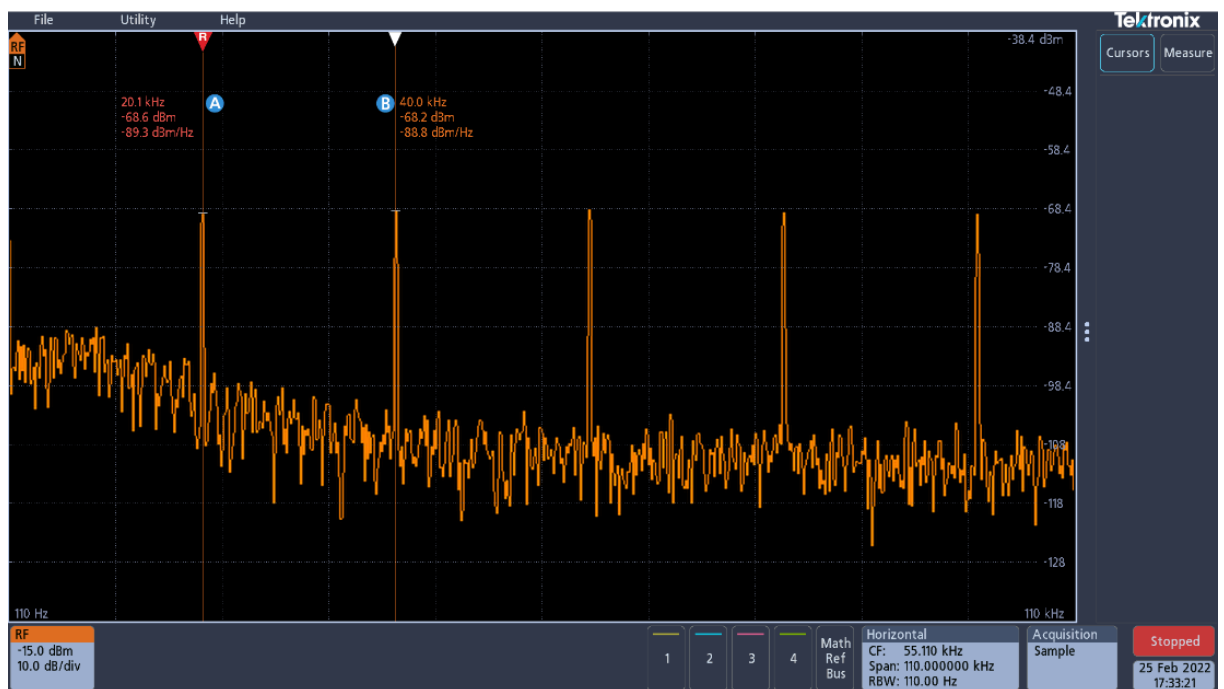
# ANNEXES

## Annexe-A : Mesure de champs électromagnétique de l'alimentation du PG

### Matériels et méthodes:

- Dispositif de mesure de champs électromagnétique : eoSENSE MF-01U-2-AMP (1kHz-1GHz)
- Sonde de champs trois vecteurs : Electric Field pockel probe KAPTEOS®
- Mesures de champs moyennées pour 128 acquisitions pour une bande passante de 25 MHz, a une distance de 10 cm du câble Haute Tension
- PG : 12 kV 20 kHz

### Résultats



Maximum à -68.6 dBm

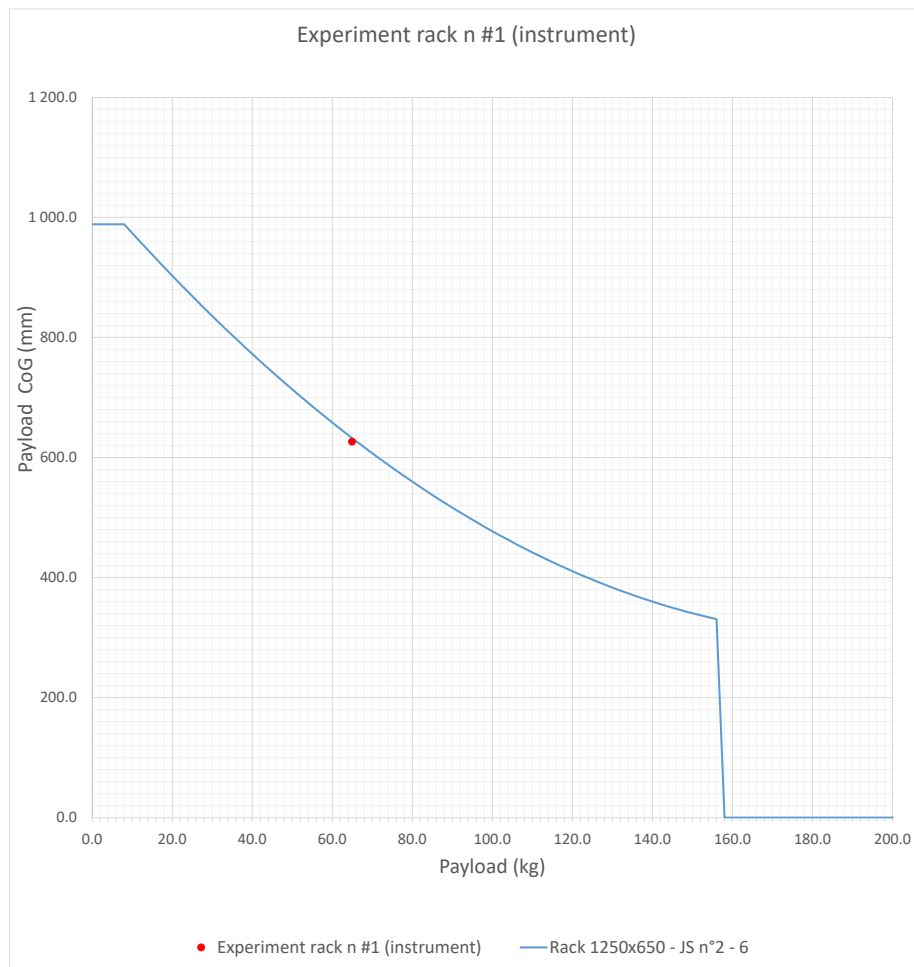
Champ électrique efficace (rms):  $\approx 6,4 \times 10^{-4} \text{ V/m} < 125 \text{ V/m}$  ( $= 1000 * 2.5 * 100/\text{Freq}$  [157])

## Annexe-B: Mechanical-form SAFE6

- Tableau résumant la répartition des masses dans le rack

| Mechanicalform-rack1&2-250220         |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|---------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------|----------------------|
| Rack Baseline dimension (XxY) (mmxmm) | Gussets                                 | Number of profiles                                                                                              | Base Plate/Bars | Total Height of the Primary Structure (mm) | Design Safety Factor |
| 1250x650                              | YES                                     | 6                                                                                                               | Bars            | 1200                                       | 1.10                 |
| Experiment rack n #1 (instrument)     |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
| V.2021-01                             |                                         | Item                                                                                                            | CoG (mm)        | Structural mass (kg)                       | Payload (kg)         |
| Participating to bending              |                                         | Primary structure                                                                                               | 600             | 46.1                                       |                      |
|                                       |                                         | No top shelf<br><small>Reserve of structural mass of 12.15Kg</small>                                            | 1200            |                                            |                      |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         | Half heavy shelf 2                                                                                              | 730             | 13.6                                       |                      |
|                                       |                                         | Laptop 1                                                                                                        | 730             |                                            | 1.6                  |
|                                       |                                         | Laptop 2                                                                                                        | 730             |                                            | 1.7                  |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         | Half heavy shelf 1                                                                                              | 330             | 13.6                                       |                      |
|                                       |                                         | Laptop 3                                                                                                        | 730             |                                            | 1.7                  |
|                                       |                                         | Débimètres (x4)                                                                                                 | 330             |                                            | 1.5                  |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         | distributeur PVC                                                                                                | 250             |                                            | 2.0                  |
|                                       |                                         | image IR                                                                                                        | 730             |                                            | 5.0                  |
|                                       |                                         | Plaque (6mm)                                                                                                    | 600             |                                            | 15.0                 |
|                                       |                                         | Pimax                                                                                                           | 850             |                                            | 5.0                  |
|                                       |                                         | Appareil photo                                                                                                  | 300             |                                            | 2.0                  |
|                                       |                                         | Réacteur plasma                                                                                                 | 330             |                                            | 1.5                  |
|                                       |                                         | Confinement (Polycarbonate 4mm)<br>Part of it counted as structural mass to compensate the absence of top shelf | 600             | 12.2                                       | 6.0                  |
|                                       |                                         | Câblage, autres (barres profilés, plaque support appareil photo,... )                                           | 400             |                                            | 12.5                 |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         | Réglette Novespace                                                                                              | 400             |                                            | 3.0                  |
|                                       |                                         | bouton double sécurité                                                                                          | 875             |                                            | 0.5                  |
|                                       | Not participating to bending            |                                                                                                                 | Base Bars       | 5                                          | 11.6                 |
|                                       |                                         | Bottom shelf                                                                                                    | 45              | 12.2                                       |                      |
|                                       |                                         | Générateur                                                                                                      | 45              |                                            | 15.4                 |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         | Platine motorisée + support tube                                                                                | 45              |                                            | 3.0                  |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       |                                         | alim pimax                                                                                                      | 45              |                                            | 2.0                  |
|                                       | alim infratec                           | 45                                                                                                              |                 | 2.0                                        |                      |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 |                                            |                      |
|                                       | Total mass (kg)                         |                                                                                                                 |                 | 109.2                                      | 81.4                 |
|                                       |                                         |                                                                                                                 |                 | 190.6                                      |                      |
|                                       | Experiment rack CoG (mm)                |                                                                                                                 |                 | 439.9                                      |                      |
|                                       | Bending payload mass +10% (kg)          |                                                                                                                 |                 | 64.9                                       |                      |
|                                       | Bending Experimental Rack CoG +10% (mm) |                                                                                                                 |                 | 626.3                                      |                      |
|                                       | CONCLUSION                              |                                                                                                                 |                 | OK                                         |                      |

- Marges



- Estimation des charges linéaires

| Mechanicalform-rack1&2-250220                                  |        | V.2021-01 |
|----------------------------------------------------------------|--------|-----------|
| Quick Linear Load on Rails Assessment                          | Value  | Unit      |
| Total mass of the experiment rack + 10% (kg)                   | 210    | Kg        |
| Total number of attachment points                              | 4      | -         |
| Height of CoG + 10% (mm)                                       | 484    | mm        |
| Is the CoG centered in XY plane? (see ITF-04 §4.2)             | YES    | -         |
| Has the experiment more than two attachment points on 530mm/X? | NO     | -         |
| Minimum Pitch between fixation points /X                       | 1574.8 | mm        |
| Status                                                         | Ok     | -         |

### Annexe-C: Traitement d'une géloseensemencée

PG : 7 kV 20 kHz He + 1% O<sub>2</sub>



Annexe-D: Tableau récapitulatif des acquisitions ICCD filtrées en fonction du filtres (transition observée) et de la configuration du PG

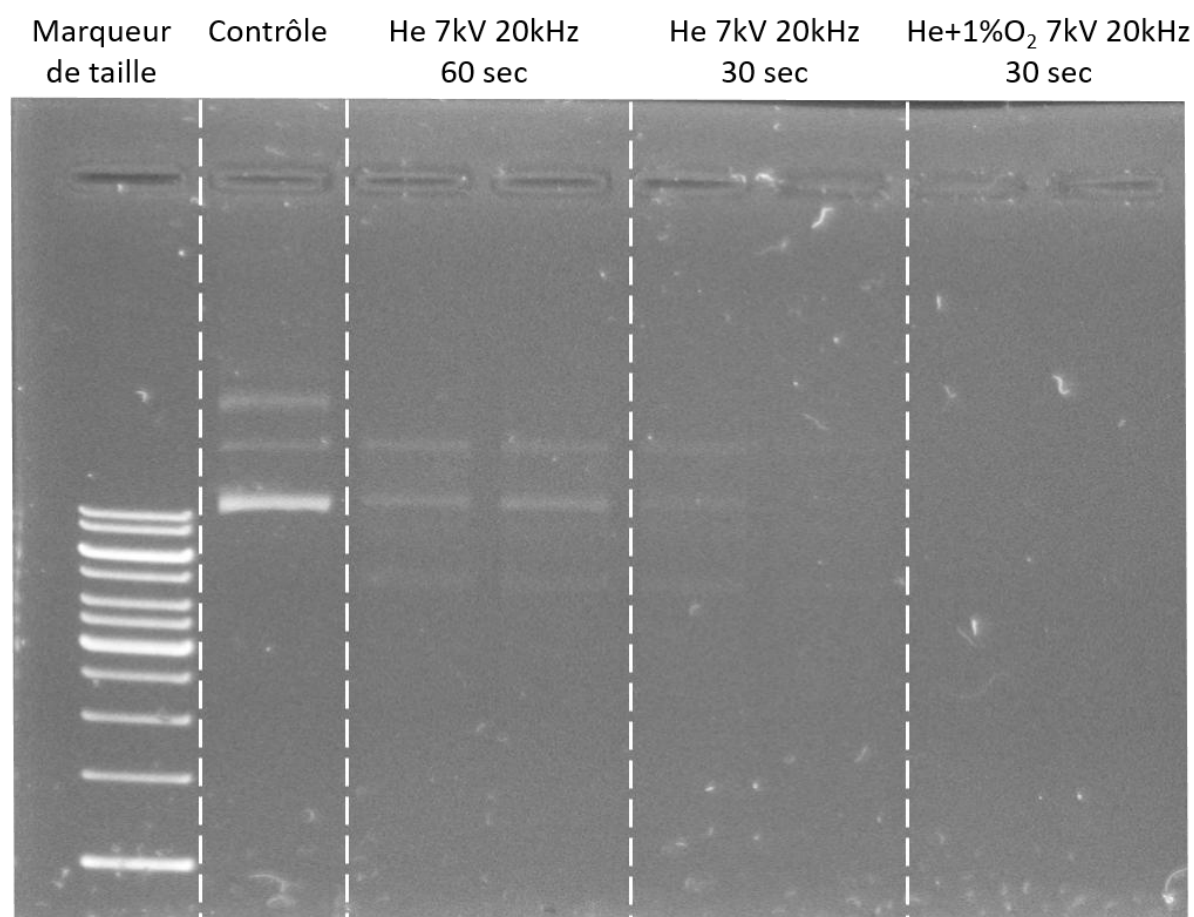
|                |     | accumulation ICCD | seuil bas intensité | seuil haut intensité |
|----------------|-----|-------------------|---------------------|----------------------|
| He 4,5kV 20kHz | He* | 10                | 615                 | 1000                 |
|                | N2* | 10                | 615                 | 1000                 |
|                | O*  | 10                | 615                 | 1000                 |
|                | NO* | 100               | 615                 | 750                  |
|                | OH* | 50                | 615                 | 750                  |
| He 4,5kV 20kHz | He* | 10                | 615                 | 1000                 |
|                | N2* | 50                | 615                 | 1500                 |
|                | O*  | 50                | 615                 | 1500                 |
|                | NO* | 500               | 615                 | 750                  |
|                | OH* | 500               | 615                 | 750                  |

## Annexe-E : Dégradation de plasmides par traitement plasma

### Matériel et méthode :

- Traitement de 2  $\mu\text{L}$  de plasmides dans 100  $\mu\text{L}$  d'eau distillée ultra-pure
- Electrophorèse de l'ADN

### Résultats



Le traitement plasma en hélium pur dégrade le plasmide

Le traitement plasma d'un mélange hélium-1%O<sub>2</sub> ne semble pas avoir d'impact sur l'ADN des plasmides.

# Bibliographie

- [1] M. Laroussi, *Plasma Medicine: Applications of Low-Temperature Gas Plasmas in Medicine and Biology*. Cambridge University Press, 2012.
- [2] P. Bourke, D. Ziuzina, L. Han, P. J. Cullen, et B. F. Gilmore, « Microbiological interactions with cold plasma », *J. Appl. Microbiol.*, vol. 123, no 2, p. 308-324, août 2017, doi: 10.1111/jam.13429.
- [3] M. Moisan, J. Barbeau, S. Moreau, J. Pelletier, M. Tabrizian, et L. Yahia, « Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms », *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 226, no 1, p. 1-21, sept. 2001, doi: 10.1016/S0378-5173(01)00752-9.
- [4] E. Stoffels, Y. Sakiyama, et D. B. Graves, « Cold Atmospheric Plasma: Charged Species and Their Interactions With Cells and Tissues », *IEEE Transactions on Plasma Science*, vol. 36, no 4, p. 1441-1457, août 2008, doi: 10.1109/TPS.2008.2001084.
- [5] M. Laroussi, « Nonthermal decontamination of biological media by atmospheric-pressure plasmas: review, analysis, and prospects », *IEEE Transactions on Plasma Science*, vol. 30, no 4, p. 1409-1415, août 2002, doi: 10.1109/TPS.2002.804220.
- [6] J. Šimončicová, S. Kryštofová, V. Medvecká, K. Ďurišová, et B. Kaliňáková, « Technical applications of plasma treatments: current state and perspectives », *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 103, no 13, p. 5117-5129, juill. 2019, doi: 10.1007/s00253-019-09877-x.
- [7] L. T. Q. Lien et al., « Antibiotics in Wastewater of a Rural and an Urban Hospital before and after Wastewater Treatment, and the Relationship with Antibiotic Use—A One Year Study from Vietnam », *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 13, no 6, p. 588, juin 2016, doi: 10.3390/ijerph13060588.
- [8] B. L. Phoon et al., « Conventional and emerging technologies for removal of antibiotics from wastewater », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 400, p. 122961, déc. 2020, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122961.
- [9] R. Pompl et al., « The effect of low-temperature plasma on bacteria as observed by repeated AFM imaging », *New J. Phys.*, vol. 11, no 11, p. 115023, nov. 2009, doi: 10.1088/1367-2630/11/11/115023.
- [10] S. Suwal, C. P. Coronel-Aguilera, J. Auer, B. Applegate, A. L. Garner, et J.-Y. Huang, « Mechanism characterization of bacterial inactivation of atmospheric air plasma gas and activated water using bioluminescence technology », *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 53, p. 18-25, mai 2019, doi: 10.1016/j.ifset.2018.01.007.
- [11] D. Yan, J. H. Sherman, et M. Keidar, « Cold atmospheric plasma, a novel promising anti-cancer treatment modality », *Oncotarget*, vol. 8, no 9, p. 15977-15995, nov. 2016, doi: 10.18632/oncotarget.13304.
- [12] 68 Assemblée mondiale de la Santé, « Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens », Art. no WHA68.7, 2015, Consulté le: 12 septembre 2025. [En ligne]. Disponible sur: <https://iris.who.int/handle/10665/253622>
- [13] M. Mora et al., « Microorganisms in Confined Habitats: Microbial Monitoring and Control of Intensive Care Units, Operating Rooms, Cleanrooms and the International Space Station », *Front. Microbiol.*, vol. 7, oct. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01573.
- [14] M. Bizzarri, M. Monici, et J. J. W. A. van Loon, « How Microgravity Affects the Biology of Living Systems », *Biomed Res Int*, vol. 2015, p. 863075, 2015, doi: 10.1155/2015/863075.
- [15] J. M. Acres, M. J. Youngapelian, et J. Nadeau, « The influence of spaceflight and simulated microgravity on bacterial motility and chemotaxis », *npj Microgravity*, vol. 7, no 1, p. 7, févr. 2021, doi: 10.1038/s41526-021-00135-x.
- [16] B. Huang, D.-G. Li, Y. Huang, et C.-T. Liu, « Effects of spaceflight and simulated microgravity on microbial growth and secondary metabolism », *Military Med Res*, vol. 5, no 1, p. 18, mai 2018, doi: 10.1186/s40779-018-0162-9.
- [17] V. M. Aponte, D. S. Finch, et D. M. Klaus, « Considerations for non-invasive in-flight monitoring of astronaut immune status with potential use of MEMS and NEMS devices », *Life Sciences*, vol. 79, no 14, p. 1317-1333, août 2006, doi: 10.1016/j.lfs.2006.04.007.
- [18] M. H. Thoma, H. M. Thomas, C. A. Knappek, A. Melzer, et U. Konopka, « Complex plasma research under microgravity conditions », *npj Microgravity*, vol. 9, no 1, p. 13, févr. 2023, doi: 10.1038/s41526-023-00261-8.
- [19] B. Choudhury et al., « Distributed compact plasma reactor decontamination for planetary protection in space missions », *Sci Rep*, vol. 13, no 1, p. 1928, févr. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-29049-2.

- [20] AFNOR NF EN 14885 : 2022, Antiseptiques et désinfectants chimiques - Application des Normes européennes sur les antiseptiques et désinfectants chimiques
- [21] AFNOR NF EN ISO 15883 : 2025, Laveurs désinfecteurs
- [22] AFNOR NF EN ISO 11135 : 2014, Stérilisation des produits de santé - Oxyde d'éthylène - Exigences de développement, de validation et de contrôle de routine d'un processus de stérilisation pour des dispositifs médicaux
- [23] AFNOR NF EN ISO 11137 : 2025, Stérilisation des produits de santé - Irradiation
- [24] AFNOR NF EN ISO 17665 : 2024, Stérilisation des produits de santé - Chaleur humide - Exigences pour le développement, la validation et le contrôle de routine d'un procédé de stérilisation des dispositifs médicaux
- [25] AFNOR NF EN ISO 14937 : 2009, Stérilisation des produits de santé - Exigences générales pour la caractérisation d'un agent stérilisant et pour le développement, la validation et la vérification de routine d'un processus de stérilisation
- [26] J. P. P. M. Smelt et S. Brul, « Thermal Inactivation of Microorganisms », *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 54, no 10, p. 1371-1385, janv. 2014, doi: 10.1080/10408398.2011.637645.
- [27] M. Biasin et al., « UV-C irradiation is highly effective in inactivating SARS-CoV-2 replication », *Sci Rep*, vol. 11, no 1, p. 6260, mars 2021, doi: 10.1038/s41598-021-85425-w.
- [28] E. R. Blatchley III et al., « Far UV-C radiation: An emerging tool for pandemic control », *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 53, no 6, p. 733-753, mars 2023, doi: 10.1080/10643389.2022.2084315.
- [29] H. D. Minh Tran, S. Boivin, H. Kodamatani, K. Ikehata, et T. Fujioka, « Potential of UV-B and UV-C irradiation in disinfecting microorganisms and removing N-nitrosodimethylamine and 1,4-dioxane for potable water reuse: A review », *Chemosphere*, vol. 286, p. 131682, janv. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131682.
- [30] D. W. Lynch et al., « Carcinogenic and toxicologic effects of inhaled ethylene oxide and propylene oxide in F344 rats », *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 76, no 1, p. 69-84, oct. 1984, doi: 10.1016/0041-008X(84)90030-9.
- [31] C. P. Marshall et al., « Reactions during hemodialysis caused by allergy to ethylene oxide gas sterilization », *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 75, no 5, p. 563-567, mai 1985, doi: 10.1016/0091-6749(85)90030-2.
- [32] I. Pepper, C. P. Gerba, T. Gentry, et R. M. Maier, *Environmental Microbiology*. Academic Press, 2011.
- [33] V. W. Rowlett et al., « Impact of Membrane Phospholipid Alterations in *Escherichia coli* on Cellular Function and Bacterial Stress Adaptation », *Journal of Bacteriology*, vol. 199, no 13, p. 10.1128/jb.00849-16, juin 2017, doi: 10.1128/jb.00849-16.
- [34] J. Jaishankar et P. Srivastava, « Molecular Basis of Stationary Phase Survival and Applications », *Front. Microbiol.*, vol. 8, oct. 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.02000.
- [35] I. Courti, « Source plasma pour la décontamination microbiologique des liquides », phdthesis, Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2023. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-04344963>
- [36] F. Scheutz et N. A. Strockbine, « *Escherichia* », in *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, John Wiley & Sons, Ltd, 2015, p. 1-49. doi: 10.1002/9781118960608.gbm01147.
- [37] J.-C. Bertrand, P. Caumette, P. Lebaron, R. Matheron, P. Normand, et T. Sime-Ngando, Éd., *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications: Microbial Ecology*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. doi: 10.1007/978-94-017-9118-2.
- [38] F. Marchal et al., « Inactivation of Gram-positive biofilms by low-temperature plasma jet at atmospheric pressure », *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 45, no 34, p. 345202, août 2012, doi: 10.1088/0022-3727/45/34/345202.
- [39] N. Ruiz et T. J. Silhavy, « How *Escherichia coli* Became the Flagship Bacterium of Molecular Biology », *Journal of Bacteriology*, août 2022, doi: 10.1128/jb.00230-22.
- [40] J. B. Kaper, J. P. Nataro, et H. L. T. Mobley, « Pathogenic *Escherichia coli* », *Nat Rev Microbiol*, vol. 2, no 2, p. 123-140, févr. 2004, doi: 10.1038/nrmicro818.
- [41] Salaun, Laurence, Lori AS Snyder, and Nigel J. Saunders. « Adaptation by phase variation in pathogenic bacteria. », *Advances in applied microbiology* 52 (2003): 263-302.
- [42] S. M. Chiang et H. E. Schellhorn, « Regulators of oxidative stress response genes in *Escherichia coli* and their functional conservation in bacteria », *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 525, no 2, p. 161-169, sept. 2012, doi: 10.1016/j.abb.2012.02.007.
- [43] D. de Mendoza et J. E. Cronan, « Thermal regulation of membrane lipid fluidity in bacteria », *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 8, no 2, p. 49-52, févr. 1983, doi: 10.1016/0968-0004(83)90388-2.

- [44] Richard, Hope T., and John W. Foster. « Acid resistance in *Escherichia coli*. » *Advances in applied microbiology* 52 (2003): 167-186.
- [45] A. Barron, G. May, E. Bremer, et M. Villarejo, « Regulation of envelope protein composition during adaptation to osmotic stress in *Escherichia coli* », *Journal of Bacteriology*, vol. 167, no 2, p. 433-438, août 1986, doi: 10.1128/jb.167.2.433-438.1986.
- [46] J. W. Costerton, P. S. Stewart, et E. P. Greenberg, « Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections », *Science*, vol. 284, no 5418, p. 1318-1322, mai 1999, doi: 10.1126/science.284.5418.1318.
- [47] D. C. Marciano et al., « Evolutionary action of mutations reveals antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* », *Nat Commun*, vol. 13, no 1, p. 3189, juin 2022, doi: 10.1038/s41467-022-30889-1.
- [48] I. Matic et al., « Highly Variable Mutation Rates in Commensal and Pathogenic *Escherichia coli* », *Science*, vol. 277, no 5333, p. 1833-1834, sept. 1997, doi: 10.1126/science.277.5333.1833.
- [49] S. Tao, H. Chen, N. Li, T. Wang, et W. Liang, « The Spread of Antibiotic Resistance Genes In Vivo Model », *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, vol. 2022, no 1, p. 3348695, 2022, doi: 10.1155/2022/3348695.
- [50] D. L. Paterson et R. A. Bonomo, « Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: a Clinical Update », *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 18, no 4, p. 657-686, oct. 2005, doi: 10.1128/cmr.18.4.657-686.2005.
- [51] W. Wu, Y. Feng, G. Tang, F. Qiao, A. McNally, et Z. Zong, « NDM Metallo- $\beta$ -Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings », *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 32, no 2, p. 10.1128/cmr.00115-18, janv. 2019, doi: 10.1128/cmr.00115-18.
- [52] S. Stefani et al., « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods », *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 39, no 4, p. 273-282, avr. 2012, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.09.030.
- [53] Y. Cetinkaya, P. Falk, et C. G. Mayhall, « Vancomycin-Resistant Enterococci », *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 13, no 4, p. 686-707, oct. 2000, doi: 10.1128/cmr.13.4.686.
- [54] Final Report Summary—THESEUS (Towards human exploration of space: a European strategy) | FP7. CORDIS | European Commission. <https://cordis.europa.eu/project/id/242482/reporting/es>.
- [55] G. Horneck et al., « Towards a European vision for space exploration: Recommendations of the Space Advisory Group of the European Commission », *Space Policy*, vol. 26, no 2, p. 109-112, mai 2010, doi: 10.1016/j.spacepol.2010.02.007.
- [56] P. Taylor, « Impact of space flight on bacterial virulence and antibiotic susceptibility », *IDR*, p. 249, juill. 2015, doi: 10.2147/IDR.S67275.
- [57] W. E. Radstake et al., « Gravitational effects on fibroblasts' function in relation to wound healing », *npj Microgravity*, vol. 9, no 1, p. 48, juin 2023, doi: 10.1038/s41526-023-00286-z.
- [58] Lieberman, Michael A., and Allan J. Lichtenberg. « Principles of plasma discharges and materials processing. », *MRS Bulletin* 30.12 (1994): 899-901.
- [59] G. Collet et al., « Plasma jet-induced tissue oxygenation: potentialities for new therapeutic strategies », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 23, no 1, p. 012005, févr. 2014, doi: 10.1088/0963-0252/23/1/012005.
- [60] S. K. Dubey et al., « Cold atmospheric plasma therapy in wound healing », *Process Biochemistry*, vol. 112, p. 112-123, janv. 2022, doi: 10.1016/j.procbio.2021.11.017.
- [61] C. Tendero, C. Tixier, P. Tristant, J. Desmaison, et P. Leprince, « Atmospheric pressure plasmas: A review », *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, vol. 61, no 1, p. 2-30, janv. 2006, doi: 10.1016/j.sab.2005.10.003.
- [62] E. Marode, « The mechanism of spark breakdown in air at atmospheric pressure between a positive point and a plane. I. Experimental: Nature of the streamer track », *J. Appl. Phys.*, vol. 46, no 5, p. 2005-2015, mai 1975, doi: 10.1063/1.321882.
- [63] K. Hassouni, F. F. Massines, et J.-M. Pouvesle, « Plasmas hors-équilibre à des pressions atmosphériques », in *Plasmas froids. Génération, caractérisation et technologies*, F. Massines, Éd., in *Intégrations [des savoirs et savoir-faire]*, no. 3, PUSE-MRCT-CNRS, 2004, p. 49-108. Consulté le: 16 septembre 2025. [En ligne]. Disponible sur: <https://hal.science/hal-01481541>
- [64] U. Kogelschatz, « Collective phenomena in volume and surface barrier discharges », *J. Phys.: Conf. Ser.*, vol. 257, no 1, p. 012015, nov. 2010, doi: 10.1088/1742-6596/257/1/012015.
- [65] V. I. Gibalov et G. J. Pietsch, « Dynamics of dielectric barrier discharges in different arrangements », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 21, no 2, p. 024010, avr. 2012, doi: 10.1088/0963-0252/21/2/024010.
- [66] J.-M. Pouvesle et É. Robert, « Applications thérapeutiques des plasmas froids atmosphériques », *Reflets phys.*, no 33, p. 17-22, mars 2013, doi: 10.1051/refdp/201333017.

- [67] A. Schutze, J. Y. Jeong, S. E. Babayan, J. Park, G. S. Selwyn, et R. F. Hicks, « The atmospheric-pressure plasma jet: a review and comparison to other plasma sources », *IEEE Transactions on Plasma Science*, vol. 26, no 6, p. 1685-1694, déc. 1998, doi: 10.1109/27.747887.
- [68] X. Lu, M. Laroussi, et V. Puech, « On atmospheric-pressure non-equilibrium plasma jets and plasma bullets », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 21, no 3, p. 034005, avr. 2012, doi: 10.1088/0963-0252/21/3/034005.
- [69] M. Laroussi, « Plasma Medicine: A Brief Introduction », *Plasma*, vol. 1, no 1, p. 47-60, sept. 2018, doi: 10.3390/plasma1010005.
- [70] M. Laroussi et T. Akan, « Arc-Free Atmospheric Pressure Cold Plasma Jets: A Review », *Plasma Processes and Polymers*, vol. 4, no 9, p. 777-788, 2007, doi: 10.1002/ppap.200700066.
- [71] H. Koinuma et al., « Development and application of a microbeam plasma generator », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 60, no 7, p. 816-817, févr. 1992, doi: 10.1063/1.106527.
- [72] R. Stonies, S. Schermer, E. Voges, et J. A. C. Broekaert, « A new small microwave plasma torch », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 13, no 4, p. 604, sept. 2004, doi: 10.1088/0963-0252/13/4/009.
- [73] M. Laroussi et X. Lu, « Room-temperature atmospheric pressure plasma plume for biomedical applications », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 87, no 11, p. 113902, sept. 2005, doi: 10.1063/1.2045549.
- [74] E. Robert et al., « Experimental Study of a Compact Nanosecond Plasma Gun », *Plasma Processes and Polymers*, vol. 6, no 12, p. 795-802, 2009, doi: 10.1002/ppap.200900078.
- [75] E. Robert et al., « Perspectives of endoscopic plasma applications », *Clinical Plasma Medicine*, vol. 1, no 2, p. 8-16, déc. 2013, doi: 10.1016/j.cpme.2013.10.002.
- [76] E. Robert, V. Sarron, D. Riès, S. Dozias, M. Vandamme, et J.-M. Pouvesle, « Characterization of pulsed atmospheric-pressure plasma streams (PAPS) generated by a plasma gun », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 21, no 3, p. 034017, mai 2012, doi: 10.1088/0963-0252/21/3/034017.
- [77] V. Sarron, « Etude et optimisation d'une décharge "Plasma Gun" à pression atmosphérique, pour des applications biomédicales », phdthesis, Université d'Orléans, 2013. Consulté le: 16 septembre 2025. [En ligne]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-01362108>
- [78] T. Maho et al., « Anti-Bacterial Action of Plasma Multi-Jets in the Context of Chronic Wound Healing », *Applied Sciences*, vol. 11, no 20, p. 9598, oct. 2021, doi: 10.3390/app11209598.
- [79] T. Darny, « Etude de la production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote par décharge Plasma Gun à pression atmosphérique pour des applications biomédicales », phdthesis, Université d'Orléans, 2016. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-01661500>
- [80] M. Scoubeau, M. Iranmanesh, C. Gontier, et D.-G. Caprace, « Towards a Scalable and Financially Viable Test Platform for Microgravity Research ».
- [81] F. Ferranti, M. Del Bianco, et C. Pacelli, « Advantages and Limitations of Current Microgravity Platforms for Space Biology Research », *Applied Sciences*, vol. 11, no 1, p. 68, janv. 2021, doi: 10.3390/app11010068.
- [82] S. Rouquette, « 30 years of CNES parabolic flights for the benefit of the scientific community », *Comptes Rendus. Mécanique*, vol. 351, no S2, p. 3-17, 2023, doi: 10.5802/crmeca.144.
- [83] V. Pletser et al., « The First European Parabolic Flight Campaign with the Airbus A310 ZERO-G », *Microgravity Sci. Technol.*, vol. 28, no 6, p. 587-601, déc. 2016, doi: 10.1007/s12217-016-9515-8.
- [84] M. Mikikian et al., « Formation and behaviour of dust particle clouds in a radio-frequency discharge: results in the laboratory and under microgravity conditions », *New J. Phys.*, vol. 5, no 1, p. 19, mars 2003, doi: 10.1088/1367-2630/5/1/319.
- [85] H. Thomas et al., « Cold Atmospheric Plasma – a New Technology for Spacecraft Component Decontamination », présenté à 40th COSPAR Scientific Assembly, Moscow, Russia, 2014. Consulté le: 12 septembre 2025. [En ligne]. Disponible sur: <https://elib.dlr.de/95339/>
- [86] H. Jablonowski, R. Bussiahn, M. U. Hammer, K.-D. Weltmann, Th. von Woedtke, et S. Reuter, « Impact of plasma jet vacuum ultraviolet radiation on reactive oxygen species generation in bio-relevant liquids », *Phys. Plasmas*, vol. 22, no 12, p. 122008, nov. 2015, doi: 10.1063/1.4934989.
- [87] M. Domonkos, P. Tichá, J. Trejbal, et P. Demo, « Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma Technology in Medicine, Agriculture and Food Industry », *Applied Sciences*, vol. 11, no 11, p. 4809, janv. 2021, doi: 10.3390/app11114809.
- [88] K.-D. Weltmann et T. von Woedtke, « Plasma medicine—current state of research and medical application », *Plasma Phys. Control. Fusion*, vol. 59, no 1, p. 014031, nov. 2016, doi: 10.1088/0741-3335/59/1/014031.
- [89] R. Mandal, A. Singh, et A. Pratap Singh, « Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry », *Trends in Food Science & Technology*, vol. 80, p. 93-103, oct. 2018, doi: 10.1016/j.tifs.2018.07.014.

- [90] K. Reineke, K. Langer, C. Hertwig, J. Ehlbeck, et O. Schlüter, « The impact of different process gas compositions on the inactivation effect of an atmospheric pressure plasma jet on *Bacillus* spores », *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 30, p. 112-118, août 2015, doi: 10.1016/j.ifset.2015.03.019.
- [91] K. Trebulová et al., « Antimycotic effects of the plasma gun on the yeast *Candida glabrata* tested on various surfaces », *Plasma Processes and Polymers*, vol. 21, no 9, p. 2400057, 2024, doi: 10.1002/ppap.202400057.
- [92] D. Roberts, J. Thomas, J. Salmon, M. A. Cubeta, K. Stapelmann, et B. C. Gilger, « Cold atmospheric plasma inactivates *Aspergillus flavus* and *Fusarium keratoplasticum* biofilms and conidia in vitro », *Journal of Medical Microbiology*, vol. 73, no 7, p. 001858, 2024, doi: 10.1099/jmm.0.001858.
- [93] J. B. Molina-Hernandez et al., « A comparative study on the antifungal efficacy of cold atmospheric plasma at low and high surface density on *Aspergillus chevalieri* and mechanisms of action », *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 82, p. 103194, déc. 2022, doi: 10.1016/j.ifset.2022.103194.
- [94] G. Avramidis et al., « Fungicidal effects of an atmospheric pressure gas discharge and degradation mechanisms », *Surface and Coatings Technology*, vol. 205, p. S405-S408, déc. 2010, doi: 10.1016/j.surfcoat.2010.08.141.
- [95] T. T. Gupta et H. Ayan, « Application of Non-Thermal Plasma on Biofilm: A Review », *Applied Sciences*, vol. 9, no 17, p. 3548, janv. 2019, doi: 10.3390/app9173548.
- [96] K.-D. Weltmann, J. Winter, M. Polak, J. Ehlbeck, et T. von Woedtke, « Atmospheric Pressure Plasmas for Decontamination of Complex Medical Devices », in *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security*, Z. Machala, K. Hensel, et Y. Akishev, Éd., in NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. , Dordrecht: Springer Netherlands, 2012, p. 3-15. doi: 10.1007/978-94-007-2852-3\_1.
- [97] A. G. Whittaker et al., « Plasma cleaning of dental instruments », *Journal of Hospital Infection*, vol. 56, no 1, p. 37-41, janv. 2004, doi: 10.1016/j.jhin.2003.09.019.
- [98] D. M. da Silva et al., « Cold Atmospheric Helium Plasma in the Post-COVID-19 Era: A Promising Tool for the Disinfection of Silicone Endotracheal Prostheses », *Microorganisms*, vol. 12, no 1, p. 130, janv. 2024, doi: 10.3390/microorganisms12010130.
- [99] R. C. Hervé et al., « Evaluation of cold atmospheric plasma for the decontamination of flexible endoscopes », *Journal of Hospital Infection*, vol. 136, p. 100-109, juin 2023, doi: 10.1016/j.jhin.2023.03.013.
- [100] S. Jin et al., « An atmospheric pressure plasma device with multiple ring electrodes for decontamination of flexible tubing with variable scales », *Plasma Processes & Polymers*, p. e2300063, juill. 2023, doi: 10.1002/ppap.202300063.
- [101] O. J. Cahill, T. Claro, A. A. Cafolla, N. T. Stevens, S. Daniels, et H. Humphreys, « Decontamination of Hospital Surfaces With Multijet Cold Plasma: A Method to Enhance Infection Prevention and Control? », *Infection Control & Hospital Epidemiology*, vol. 38, no 10, p. 1182-1187, oct. 2017, doi: 10.1017/ice.2017.168.
- [102] O. J. Cahill et al., « Cold Air Plasma To Decontaminate Inanimate Surfaces of the Hospital Environment », *Applied and Environmental Microbiology*, mars 2014, doi: 10.1128/AEM.03480-13.
- [103] E. Robert et al., « State of the Art on the Understanding of Plasma Jet Interaction with Skin Tissue Models », *PMED*, vol. 15, no 1, 2025, doi: 10.1615/PlasmaMed.2025060231.
- [104] V. Vijayarangan et al., « Boost of cosmetic active ingredient penetration triggered and controlled by the delivery of kHz plasma jet on human skin explants », *Front. Phys.*, vol. 11, avr. 2023, doi: 10.3389/fphy.2023.1173349.
- [105] E. Simoncelli et al., « Preliminary investigation of the antibacterial efficacy of a handheld Plasma Gun source for endodontic procedures », *Clinical Plasma Medicine*, vol. 3, no 2, p. 77-86, déc. 2015, doi: 10.1016/j.cpme.2015.11.001.
- [106] A. B. Muniz et al., « Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Application in Endodontics », *Biomedicines*, vol. 11, no 5, p. 1401, mai 2023, doi: 10.3390/biomedicines11051401.
- [107] P. P. Casas-Junco, J. R. Solís-Pacheco, J. A. Ragazzo-Sánchez, B. R. Aguilar-Uscanga, P. U. Bautista-Rosales, et M. Calderón-Santoyo, « Cold Plasma Treatment as an Alternative for Ochratoxin A Detoxification and Inhibition of Mycotoxigenic Fungi in Roasted Coffee », *Toxins*, vol. 11, no 6, p. 337, juin 2019, doi: 10.3390/toxins11060337.
- [108] R. Laurita et al., « Effect of plasma activated water (PAW) on rocket leaves decontamination and nutritional value », *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 73, p. 102805, oct. 2021, doi: 10.1016/j.ifset.2021.102805.
- [109] F. Capelli et al., « Decontamination of Food Packages from SARS-CoV-2 RNA with a Cold Plasma-Assisted System », *Applied Sciences*, vol. 11, no 9, p. 4177, janv. 2021, doi: 10.3390/app11094177.
- [110] F. Bilea et al., « Non-Thermal Plasma as Environmentally-Friendly Technology for Agriculture: A Review and Roadmap », *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol. 43, no 6, p. 428-486, nov. 2024, doi: 10.1080/07352689.2024.2410145.

- [111] E. Robert et al., « PLASMA-TREATED SUBSTRATES USING ATMOSPHERIC JET AND MULTI-JETS FOR AGRICULTURAL PURPOSE », in IWOPA 2021, Greifswald, Germany: Leibniz Institute for Plasma Science and Technology, mars 2021. Disponible sur: <https://hal.science/hal-03356602>
- [112] A. Barjasteh, Z. Dehghani, P. Lamichhane, N. Kaushik, E. H. Choi, et N. K. Kaushik, « Recent Progress in Applications of Non-Thermal Plasma for Water Purification, Bio-Sterilization, and Decontamination », *Applied Sciences*, vol. 11, no 8, p. 3372, janv. 2021, doi: 10.3390/app11083372.
- [113] A. Kumar, N. Škoro, W. Gernjak, et N. Puač, « Cold atmospheric plasma technology for removal of organic micropollutants from wastewater—a review », *Eur. Phys. J. D*, vol. 75, no 11, p. 283, nov. 2021, doi: 10.1140/epjd/s10053-021-00283-5.
- [114] H. Qin et al., « Cold atmospheric plasma can effectively disinfect SARS-CoV-2 in the wastewater », *Exploration*, vol. 4, no 3, p. 20230012, 2024, doi: 10.1002/EXP.20230012.
- [115] S. Schmid, M. C. Jecklin, et R. Zenobi, « Degradation of volatile organic compounds in a non-thermal plasma air purifier », *Chemosphere*, vol. 79, no 2, p. 124-130, mars 2010, doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.01.049.
- [116] D. B. Graves, « The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology », *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 45, no 26, p. 263001, juin 2012, doi: 10.1088/0022-3727/45/26/263001.
- [117] Y. Gorbaney et al., « Combining experimental and modelling approaches to study the sources of reactive species induced in water by the COST RF plasma jet », *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 20, no 4, p. 2797-2808, janv. 2018, doi: 10.1039/C7CP07616A.
- [118] X. Lu, G. V. Naidis, M. Laroussi, S. Reuter, D. B. Graves, et K. Ostrikov, « Reactive species in non-equilibrium atmospheric-pressure plasmas: Generation, transport, and biological effects », *Physics Reports*, vol. 630, p. 1-84, mai 2016, doi: 10.1016/j.physrep.2016.03.003.
- [119] B. Ghimire et al., « The role of UV photolysis and molecular transport in the generation of reactive species in a tissue model with a cold atmospheric pressure plasma jet », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 114, no 9, p. 093701, mars 2019, doi: 10.1063/1.5086522.
- [120] J.-W. Lackmann et al., « Photons and particles emitted from cold atmospheric-pressure plasma inactivate bacteria and biomolecules independently and synergistically », *Journal of The Royal Society Interface*, vol. 10, no 89, p. 20130591, déc. 2013, doi: 10.1098/rsif.2013.0591.
- [121] E. Stoffels, Y. Sakiyama, et D. B. Graves, « Cold Atmospheric Plasma: Charged Species and Their Interactions With Cells and Tissues », *IEEE Transactions on Plasma Science*, vol. 36, no 4, p. 1441-1457, août 2008, doi: 10.1109/TPS.2008.2001084.
- [122] V. Jirásek et P. Lukeš, « Formation of reactive chlorine species in saline solution treated by non-equilibrium atmospheric pressure He/O<sub>2</sub> plasma jet », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 28, no 3, p. 035015, mars 2019, doi: 10.1088/1361-6595/ab0930.
- [123] B. R. Locke, S. M. Thagard, et P. Lukes, « Recent Insights Into Interfacial Transport and Chemical Reactions of Plasma-Generated Species in Liquid », *Plasma Processes and Polymers*, vol. 22, no 1, p. 2400207, 2025, doi: 10.1002/ppap.202400207.
- [124] E. Griseti, N. Merbahi, et M. Golzio, « Anti-Cancer Potential of Two Plasma-Activated Liquids: Implication of Long-Lived Reactive Oxygen and Nitrogen Species », *Cancers*, vol. 12, no 3, p. 721, mars 2020, doi: 10.3390/cancers12030721.
- [125] P. J. Bruggeman et al., « Plasma–liquid interactions: a review and roadmap », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 25, no 5, p. 053002, sept. 2016, doi: 10.1088/0963-0252/25/5/053002.
- [126] X. Lv et J.-H. Cheng, « Evaluation of the Effects of Cold Plasma on Cell Membrane Lipids and Oxidative Injury of *Salmonella typhimurium* », *Molecules*, vol. 27, no 3, p. 640, janv. 2022, doi: 10.3390/molecules27030640.
- [127] Z. Wang et al., « Coalescence and counterflow of droplets on needle electrode with negative corona discharge », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 31, no 3, p. 035007, mars 2022, doi: 10.1088/1361-6595/ac47e3.
- [128] A. V. Omran et al., « Cold atmospheric single plasma jet for RONS delivery on large biological surfaces », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 29, no 10, p. 105002, oct. 2020, doi: 10.1088/1361-6595/abaffd.
- [129] M.-B. Cherikh, J.-G. Bauzin, A. Hocine, Z. A. Peter, et N. Laraqi, « Detection of surface moving heat source using experimental temperature measurements on the opposite surface and inverse techniques », *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 219, p. 124840, févr. 2024, doi: 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2023.124840.
- [130] F. do Nascimento et al., « Plasma Electrode Dielectric Barrier Discharge: Development, Characterization and Preliminary Assessment for Large Surface Decontamination », *Plasma Chem Plasma Process*, vol. 43, no 6, p. 1791-1817, nov. 2023, doi: 10.1007/s11090-023-10409-9.

- [131] Novespace document: A310 ZERO-G Interfaces.
- [132] Novespacedocument: Experiment DesignGuidelines inParabolicFlight.
- [133] R. Hazan, Y.-A. Que, D. Maura, et L. G. Rahme, « A method for high throughput determination of viable bacteria cell counts in 96-well plates », *BMC Microbiol*, vol. 12, no 1, p. 259, nov. 2012, doi: 10.1186/1471-2180-12-259.
- [134] T. Darny, J.-M. Pouvesle, J. Fontane, L. Joly, S. Dozias, et E. Robert, « Plasma action on helium flow in cold atmospheric pressure plasma jet experiments », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 26, no 10, p. 105001, sept. 2017, doi: 10.1088/1361-6595/aa8877.
- [135] G. Myers et A. J. Cunningham, « Quenching reactions of He(2 3S) and He2(2 3Σ) metastables in the presence of N2 and O2 », *The Journal of Chemical Physics*, vol. 67, no 7, p. 3352-3359, oct. 1977, doi: 10.1063/1.435254.
- [136] R. Wang, K. Zhang, Y. Shen, C. Zhang, W. Zhu, et T. Shao, « Effect of pulse polarity on the temporal and spatial emission of an atmospheric pressure helium plasma jet », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 25, no 1, p. 015020, janv. 2016, doi: 10.1088/0963-0252/25/1/015020.
- [137] B. M. Penetrante et al., « Identification of mechanisms for decomposition of air pollutants by non-thermal plasma processing », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 6, no 3, p. 251, août 1997, doi: 10.1088/0963-0252/6/3/002.
- [138] B. Eliasson, M. Hirth, et U. Kogelschatz, « Ozone synthesis from oxygen in dielectric barrier discharges », *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 20, no 11, p. 1421-1437, nov. 1987, doi: 10.1088/0022-3727/20/11/010.
- [139] DIRECTIVE 2008/50/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 21 May 2008.
- [140] AFNOR NF EN 16442:2015, Enceinte de stockage à atmosphère contrôlée pour endoscopes thermosensibles traités
- [141] R. Zaplotnik, G. Primc, et A. Vesel, « Optical Emission Spectroscopy as a Diagnostic Tool for Characterization of Atmospheric Plasma Jets », *Applied Sciences*, vol. 11, n° 5, p. 2275, janv. 2021, doi: 10.3390/app11052275.
- [142] AFNOR NF ISO 9886:2004, Ergonomie — Évaluation de l'astreinte thermique par mesures physiologiques
- [143] B. Honnorat, F. Do Nascimento, K. G. Kostov, et T. Gerling, « Explanation of temperature gradients induced by a helium jet flushing into ambient air. Contribution of the Dufour effect—a simulation and experimental approach », *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 58, no 28, p. 285201, juill. 2025, doi: 10.1088/1361-6463/ade54d.
- [144] C. Cherchi et A. Z. Gu, « Effect of bacterial growth stage on resistance to chlorine disinfection », *Water Sci Technol*, vol. 64, no 1, p. 7-13, juill. 2011, doi: 10.2166/wst.2011.536.
- [145] I. Courti, C. Muja, T. Maho, F. P. Sainct, et P. Guillot, « Impact of Bacterial Growth Phase on Liquid Decontamination Efficiency Using Atmospheric Pressure Plasma », *PMED*, vol. 11, no 4, 2021, doi: 10.1615/PlasmaMed.2022041486.
- [146] H. Yu, S. Perni, J. J. Shi, D. Z. Wang, M. G. Kong, et G. Shama, « Effects of cell surface loading and phase of growth in cold atmospheric gas plasma inactivation of Escherichia coli K12 », *J Appl Microbiol*, vol. 101, no 6, p. 1323-1330, déc. 2006, doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03033.x.
- [147] E. Röhm-Rodowald, B. Jakimiak, A. Chojecka, O. Wiercińska, B. Ziemba, et K. Kancierski, « RECOMMENDATIONS FOR THERMAL DISINFECTION BASED ON THE A0 CONCEPT ACCORDING TO EN ISO 15883 », no 4.
- [148] T. A. Kremer et al., « Thermal Disinfection Validation: The Relationship Between A0 and Microbial Reduction », *Biomedical Instrumentation & Technology*, vol. 55, no 3, p. 85-90, juill. 2021, doi: 10.2345/0890-8205-55.3.85.
- [149] M. Diab-Elschahawi, U. Fürnkranz, A. Blacky, N. Bachhofner, et W. Koller, « Re-evaluation of current A0 value recommendations for thermal disinfection of reusable human waste containers based on new experimental data », *Journal of Hospital Infection*, vol. 75, no 1, p. 62-65, mai 2010, doi: 10.1016/j.jhin.2010.01.020.
- [150] H. F. Diao, X. Y. Li, J. D. Gu, H. C. Shi, et Z. M. Xie, « Electron microscopic investigation of the bactericidal action of electrochemical disinfection in comparison with chlorination, ozonation and Fenton reaction », *Process Biochemistry*, vol. 39, no 11, p. 1421-1426, juill. 2004, doi: 10.1016/S0032-9592(03)00274-7.
- [151] J. Guo, Z. Li, K. Huang, Y. Li, et J. Wang, « Morphology analysis of Escherichia coli treated with nonthermal plasma », *J. Appl. Microbiol.*, vol. 122, no 1, p. 87-96, janv. 2017, doi: 10.1111/jam.13335.
- [152] M. Dezest et al., « Oxidative modification and electrochemical inactivation of Escherichia coli upon cold atmospheric pressure plasma exposure », *PLOS ONE*, vol. 12, no 3, p. e0173618, mars 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0173618.
- [153] A. Mai-Prochnow, M. Clauson, J. Hong, et A. B. Murphy, « Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma », *Sci Rep*, vol. 6, no 1, Art. no 1, déc. 2016, doi: 10.1038/srep38610.
- [154] G. Fridman, G. Friedman, A. Gutsol, A. B. Shekhter, V. N. Vasilets et A. Fridman, « Applied plasma medicine », *Plasma Processes and Polymers*, vol. 5, no 6, p. 503-533, 2008, doi: 10.1002/ppap.200700154.

- [155] D. B. Graves, « Reactive species from cold atmospheric plasma: Implications for cancer therapy », *Plasma Processes and Polymers*, vol. 11, no 12, p. 1120-1127, 2014, doi: 10.1002/ppap.201400068.
- [156] M. G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill, T. Nosenko, T. Shimizu, J. van Dijk et J. L. Zimmermann, « Plasma medicine: an introductory review », *New Journal of Physics*, vol. 11, no 11, Art. no 115012, 2009, doi: 10.1088/1367-2630/11/11/115012.
- [157] International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP), « Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 Hz to 100 kHz) », *Health Physics*, vol. 99, no 6, p. 818-836, 2010, doi: 10.1097/HP.0b013e3181f06c86.
- [158] A. Rouillard, P. Escot Bocanegra, A. Stancampiano, S. Dozias, J. Lemaire, J. M. Pouvesle et S. Rouquette, « Demonstration for cold atmospheric pressure plasma jet operation and antibacterial action in microgravity », *npj Microgravity*, vol. 10, no 1, Art. no 74, 2024, doi: 10.1038/s41526-024-00392-0.



## Étude des potentialités des jets plasma pour le traitement de souches bactériennes (multi)résistantes dans les conditions terrestres et spatiales

Le plasma, considéré comme le quatrième état de la matière, résulte de l'ionisation d'un gaz et se compose d'électrons, d'ions et d'espèces neutres. Parmi ses déclinaisons, le plasma froid non-thermique à la pression atmosphérique suscite un intérêt croissant pour des applications biomédicales. Ses propriétés bactéricides sont désormais établies et ouvrent la voie à des alternatives aux antibiotiques face à l'essor des bactéries multirésistantes (BMR). Ces dernières représentent une menace sanitaire mondiale, reconnue par l'OMS comme un enjeu critique pouvant provoquer jusqu'à dix millions de décès annuels à l'horizon 2050.

Les effets biologiques du plasma sont liés à une combinaison de facteurs physico-chimiques : rayonnements UV, champ électrique, espèces chargées et espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS). Les réacteurs à décharge à barrière diélectrique (DBD) constituent une technologie particulièrement prometteuse grâce à leur efficacité de production de RONS et leur capacité à générer des jets de plasma capables d'inactiver rapidement des bactéries.

Au-delà de la pratique terrestre de la médecine, l'intérêt du plasma froid se projette également dans le contexte spatial. Les futures missions habitées de longue durée imposeront des solutions de décontamination, de purification de l'air et de l'eau, et de gestion des infections, dans un environnement contraint en ressources. Le plasma froid, notamment au travers de sources plasma versatiles telles que le Plasma Gun (PG) développé au laboratoire GREMI, pourrait répondre à ces exigences. L'objectif principal de cette thèse est d'évaluer le potentiel bactéricide du PG en conditions terrestres et spatiales, tout en approfondissant la compréhension des mécanismes mis en jeu. Le travail s'est articulé autour de deux axes: la caractérisation du plasma en diverses conditions environnementales incluant l'apesanteur, et l'évaluation de son efficacité sur des souches bactériennes diverses non pathogènes et multirésistantes.

Les résultats ont confirmé l'efficacité du Plasma Gun pour l'inactivation bactérienne, sur terre comme en apesanteur (validé lors de campagnes de vols paraboliques supportées par le CNES et Novespace). L'étude de l'ajout de dioxygène au gaz plasmagène (hélium) et l'exposition de bactéries en phase latente et de croissance exponentielle suggèrent un rôle prépondérant des RONS à courte durée de vie dans l'inactivation induite par plasma froid.

L'étude des traitements dynamiques a montré qu'il est possible de décontaminer rapidement de larges surfaces, l'efficacité dépendant directement du nombre d'impulsions plasma par unité de surface. L'analyse thermique a confirmé que l'échauffement local reste insuffisant pour expliquer l'inactivation bactérienne, écartant une simple désinfection par l'apport de chaleur. Les observations par imagerie filtrée en longueur d'onde ont souligné l'importance des espèces réactives de courte durée de vie, localisées à l'interface plasma-cible. Enfin, les tests sur des BMR en milieu hospitalier (CHU d'Orléans) ont démontré que le PG conserve une efficacité comparable à celle observée sur les souches non pathogènes, avec des variations liées à la composition du gaz et aux sensibilités spécifiques des bactéries.

En conclusion, ce travail met en évidence le potentiel du Plasma Gun comme outil polyvalent de désinfection, prometteur pour des applications médicales terrestres et pour les futures missions spatiales.

Mots clés: Jet plasma, Bactéries multirésistantes, Plasma Froid à pression atmosphérique, Condition spatiale, Condition terrestres

## Study of the potential of plasma jets for the treatment of (multi)resistant bacterial strains in terrestrial and space conditions

Plasma, considered the fourth state of matter, results from the ionization of a gas and is composed of electrons, ions, and neutral species. Among its variations, cold non-thermal plasma at atmospheric pressure has attracted growing interest for biomedical applications. Its bactericidal properties are now well established, paving the way for alternatives to antibiotics in the face of the rise of multidrug-resistant bacteria (MDR). These pathogens represent a global health threat, recognized by the WHO as a critical challenge that could cause up to ten million annual deaths by 2050.

The biological effects of plasma are linked to a combination of physicochemical factors: UV radiation, electric fields, charged particles, and reactive oxygen and nitrogen species (RONS). Dielectric barrier discharge (DBD) reactors constitute a particularly promising technology due to their efficiency in producing RONS and their ability to generate plasma jets capable of rapidly inactivating bacteria.

Beyond terrestrial medical practice, cold plasma also holds promise in the context of space exploration. Future long-duration manned missions will require solutions for decontamination, air and water purification, and infection management in a resource-limited environment. Cold plasma, particularly through versatile plasma sources such as the Plasma Gun (PG) developed at the GREMI laboratory, could meet these demands. The primary objective of this thesis was to assess the bactericidal potential of the PG under terrestrial and space conditions while deepening the understanding of the underlying mechanisms. The work was structured around two main axes: plasma characterization under various environmental conditions including microgravity, and evaluation of its efficacy against diverse bacterial strains, both non-pathogenic and multidrug-resistant.

The results confirmed the effectiveness of the Plasma Gun for bacterial inactivation, both on Earth and in microgravity (validated during parabolic flight campaigns supported by CNES and Novespace). The study of oxygen addition to the plasma gas (helium) and the exposure of bacteria in lag and exponential growth phases suggest a predominant role of short-lived RONS in cold plasma-induced inactivation.

Investigations of dynamic treatments demonstrated that large surfaces can be rapidly decontaminated, with efficiency directly depending on the number of plasma pulses per unit area. Thermal analysis confirmed that local heating is insufficient to explain bacterial inactivation, ruling out simple heat disinfection. Observations using wavelength-filtered imaging highlighted the importance of short-lived reactive species localized at the plasma-target interface. Finally, tests conducted on MDR in a hospital setting (Orléans University Hospital) demonstrated that the PG maintains an effectiveness comparable to that observed on non-pathogenic strains, with variations depending on gas composition and the specific sensitivities of the bacteria.

In conclusion, this work highlights the potential of the Plasma Gun as a versatile disinfection tool, promising for medical applications on Earth as well as in future space missions.

Keywords: Plasma jet, multiresistant bacteria, Cold atmospheric pressure plasma, Space condition, Terrestrial conditions