

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①⑪ N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 849 384

②① N° d'enregistrement national :

02 16786

⑤① Int Cl⁷ : A 61 L 27/32, A 61 L 27/12

①⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 27.12.02.

③⑦ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 02.07.04 Bulletin 04/27.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : FRAYSSINET PATRICK — FR et
ROUQUET NICOLE — FR.

⑦② Inventeur(s) : FRAYSSINET PATRICK et ROUQUET
NICOLE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : REGIMBEAU.

⑤④ **POUDRES DE PHOSPHATES DE CALCIUM BIOCOMPATIBLES POUR DES MATERIAUX IMPLANTABLES.**

⑤⑦ La présente invention se rapporte à une poudre d'hydroxyapatite (HA) pour projection plasma pour revêtement orthopédique émettant des particules de corrosion présentant une faible toxicité et une faible activité ostéolytique comprenant au moins 98% d'HA en poids et un pourcentage en poids de TCP (phosphate tricalcique) et de CaO inférieure à 2%, la granulométrie des particules étant comprise entre 80 et 160 μm et la taille des grains des particules de ladite poudre étant comprise entre 0,3 - 3 μm . L'invention porte également sur les matériaux revêtus d'une couche mince provenant de la projection plasma de ladite poudre.

FR 2 849 384 - A1



BEST AVAILABLE COPY

- 5 La présente invention se rapporte à une poudre d'hydroxyapatite (HA) pour projection plasma pour revêtement orthopédique émettant des particules de corrosion présentant une faible toxicité et une faible activité ostéolytique comprenant au moins 98% d'HA en poids et un pourcentage en poids de TCP (phosphate tricalcique) et de CaO inférieure à 2%, la granulométrie des particules étant comprise entre 80 et 160 μm et la
- 10 taille des grains des particules de ladite poudre étant comprise entre 0,3 – 3 μm . L'invention porte également sur les matériaux revêtus d'une couche mince provenant de la projection plasma de ladite poudre.

- Les poudres de phosphate de calcium sont utilisées pour constituer des dépôts de
- 15 couches de céramiques sur les prothèses métalliques. Les revêtements sont dégradés, une fois implantés, et émettent alors des débris relargués dans les tissus avoisinants. La majorité de ces débris ont des caractéristiques qui dépendent de celles des poudres qui ont servi à fabriquer le revêtement. Ils ont également un rôle majeur dans la biocompatibilité des revêtements. Certaines caractéristiques de débris entraînent une
- 20 réaction inflammatoire après leur émission. Le brevet concerne des caractéristiques de poudres de phosphate de calcium servant à fabriquer des revêtements qui lors de leur dégradation dans le tissu osseux émettent des débris de corrosion n'entraînant pas de réaction inflammatoire responsable d'ostéolyse.

- 25 Différents phosphates de calcium peuvent être utilisés comme matériaux orthopédiques en raison de leur biocompatibilité. L'hydroxyapatite de calcium est le plus utilisé car il est relativement stable et sa structure est proche de celle de la phase minérale de l'os, bien qu'une formation d'hydroxyapatite stoechiométrique n'existe pas dans des

systèmes biologiques. Les apatites biologiques sont des apatites carbonatées faiblement cristallisées.

5 Apatite est une définition de structure et non de composition. La structure apatitique appartient au système hexagonal et elle admet un grand nombre de substitutions par des éléments ou des groupes fonctionnels¹.

L'hydroxyapatite et les autres phosphates de calcium ont été employés, en chirurgie orthopédique, sous forme de céramiques denses, poreuses, en couches minces, en matériau pâteux ou comme charge dans des matériaux organiques. Les céramiques
10 d'hydroxyapatite de calcium sont des matériaux largement utilisés en chirurgie orthopédique. Leur utilité provient de leur bioactivité qui permet une excellente intégration après implantation dans le tissu osseux humain. Ce matériau possède, néanmoins, des propriétés mécaniques qui n'autorisent pas une mise en charge après leur implantation. C'est pour cette raison que l'on dépose des couches minces de
15 céramiques phosphocalciques à la surface d'alliages métalliques utilisés dans les arthroplasties de hanche. Elles permettent d'obtenir un système ayant les propriétés mécaniques de l'alliage métallique et la biocompatibilité de la couche mince déposée à sa surface. Ces dernières permettent une apposition du tissu osseux et une solidarisation des implants avec l'os receveur.

20 Les céramiques sont des matériaux hétérogènes, n'étant ni organiques ni métalliques et constitués par des grains qui sont assemblés par une étape thermique, frittage dans un four ou projection plasma pour les couches minces.

Les caractéristiques des céramiques influencent leurs propriétés biologiques et en particulier leur corrosion dans l'organisme.

25

Principe de la projection plasma :

Elle a pour but de déposer à la surface d'un matériau, une couche de céramique de quelques dizaines de μm d'épaisseur.

La poudre d'hydroxyapatite est introduite dans un plasma formé entre deux électrodes sous haute tension. Les ions du plasma migrent vers les électrodes où ils se recombinaient avec des électrons ou des protons, cette recombinaison libère de l'énergie
5 qui combinée à l'agitation des molécules augmentent la température dans la torche. L'augmentation de température provoque une dilatation du gaz qui forme un dard à la sortie du canon². L'introduction de la poudre dans ce dard la projette vers une cible située à distance du canon.

Les particules sont partiellement fondues dans le plasma et vont être déformées lors de
10 leur impact sur la surface du métal qui a été sablée et sur laquelle la particule s'engraine en subissant un phénomène de trempe en raison de la différence de température entre la particule et le métal.

Le revêtement résulte de l'accumulation de grains de poudres les uns sur les autres. Les
15 caractéristiques du revêtement dépendent des paramètres de projection, des caractéristiques de la poudre et de celles du substrat³.

Les caractéristiques de la poudre influent les caractéristiques du revêtement⁴. La taille des particules projetées, en particulier, gouverne la quantité de phosphate de calcium
20 amorphe ou bien de phase phosphocalcique étrangère dans le revêtement d'HA. Les grosses particules ont leurs caractéristiques physico-chimiques préservées lors de leur passage dans un plasma atmosphérique alors que les petites particules sont destructurées. Les particules d'une taille au dessus de 55 μm avec une forme angulaire sont peu ou pas fondues lors de leur passage et préserve la structure de leurs cristallites
25 (fig. 1). Les particules d'une taille inférieure forment une phase amorphe et même de la chaux au dessous d'une taille critique. L'effet de la taille sur la structure du revêtement est schématisé dans le diagramme présenté à la figure 1 (adapté de réf. 4).

Les particules de poudre peuvent rebondir sur la cible quand elles ne sont pas fondues ou bien éclater en microparticules et former une pellicule quand elles le sont trop. Entre les deux, tous les stades intermédiaires sont trouvés. L'objectif est d'obtenir des particules qui forment des galettes cohésives avec une porosité minimale. Il existe, néanmoins, des particules non fondues dans les revêtements.

La différence principale entre une céramique d'HA classique obtenue par frittage et les couches minces obtenues par projection plasma est la présence de différentes phases phosphocalciques dans les couches minces (figure 2). A partir de la projection d'une poudre d'hydroxyapatite, on obtient un revêtement fait par l'empilement de grains d'HA contenant une phase phosphocalcique étrangère en périphérie du grain. Ceux-ci sont donc dispersés dans un continuum amorphe.

La présence de cette partie amorphe est due à la fusion de la région externe des particules de poudre durant la projection suivie par un refroidissement rapide lors de leur arrivée sur le métal ou sur les particules déjà projetées. La partie amorphe est difficile à caractériser et contient des phases phosphocalciques différentes de l'HA, suivant les conditions de projection en particulier en périphérie des particules d'HA⁵ (figure 3).

Sous l'influence de la température dans le canon de la torche, l'hydroxyapatite peut se décomposer, en plus de phosphate de calcium amorphe, en phosphate tricalcique beta ou alpha, phosphate tétracalcique, phosphate octocalcique, chaux ou oxyapatite. Ces phases n'ont pas les mêmes propriétés que l'hydroxyapatite qui constitue la phase dispersée. L'HA est moins soluble que les autres phases (exceptée le phosphate tétracalcique)^{6 7} dans les fluides biologiques à pH neutre. La taille et la morphologie des particules ainsi que celles des grains qui les constituent affectent également la solubilité du coating obtenue par leur projection en raison de leur influence sur l'apparition de différentes phases comme cela a été précisé plus haut⁸.

Cette différence de solubilité des différentes phases dans le revêtement entraîne un processus de dégradation particulier.

Devenir des revêtements implantés :

5

Frayssinet et coll ont montré que les revêtements subissent une série d'événements physico-chimiques et biologiques qui amènent à leur intégration complète dans le tissu osseux⁹.

- 10 Le premier événement est une modification de la surface de l'implant par une croissance épitaxiale de cristaux d'apatite carbonatée. De manière concomitante, l'hématome post-opératoire contenu dans la cavité médullaire est envahi par des cellules circulantes dont certaines vont former des cellules géantes à la surface du matériau. Ces dernières vont aider dans un deuxième temps au remplacement de
- 15 l'hématome par un tissu conjonctif lâche. Dans celui-ci, se différencient des cellules ostéogéniques. De nombreuses cellules se différencient à la surface des fragments de trabécules osseux créés par l'acte chirurgical, d'autres se fixent à la surface de l'implant. Elles vont participer à l'élaboration d'un tissu osseux trabéculaire réticulé (immature) dans tout le volume de la cavité médullaire et à la surface de l'implant.
- 20 Le tissu immature est ensuite remodelé par des cycles de résorption/ reconstruction et remplacé par un tissu osseux mature. Ces cycles concernent également le revêtement qui est progressivement résorbé et remplacé par le tissu osseux.

Dégradation des revêtements :

25

Après quelques semaines à quelques mois d'implantation, la rugosité des revêtements augmente et signe une dégradation hétérogène de leur surface. Environ un an après leur implantation, on constate une résorption des phases solubles et une apparition des grains d'hydroxyapatite à la surface du matériau¹⁰.

Des cellules plurinucléées participant au cycle de remodelage sont également présentes à la surface du matériau et phagocytent les grains d'HA en voie de libération. Cette dégradation peut suivre des chemins préférentiels dans les revêtements en fonction de leurs anomalies de structure. La différence de température entre la poudre et le métal lors de la projection, peut aboutir à la formation d'une couche plus soluble au contact du métal et à une pénétration de tissu osseux à l'interface revêtement-métal (fig. 2, 3). Il se produit alors une émission de fragments de coatings de plusieurs centaines de μm à plusieurs dizaines de mm (fig.3).

10 Il existe donc plusieurs types de particules émises et qui vont persister dans les tissus en raison de leur relative insolubilité à pH neutre :

- Type I : des débris de petite taille, constitués des grains non fondus des particules de poudre.
- Type II : des agglomérats des particules précédentes dont la résorption des joints de grains n'est pas complète.
- Type III : des particules non fondues intégrées dans le coating, de caractéristiques très proche à celle des particules de poudre projetées.
- Type IV : de fragments de revêtement de caractéristique très proche de celle du revêtement obtenus sur la prothèse

20

Suivant le type de débris, il existe donc un lien entre les caractéristiques des particules de poudre projetées pour obtenir le revêtement et celles des débris émis dans les tissus lors de la dégradation de ce dernier. Les caractéristiques principales sont la taille, la forme et la composition des particules projetées ainsi que celle des grains qui la

25 constitue.

Caractéristiques des revêtements et biocompatibilité :

- Le comportement des tissus au contact des revêtements de différentes caractéristiques peut varier. Il a été décrit une différence de la structure de l'interface entre le tissu osseux et le revêtement en fonction de la cristallinité de ce dernier. La rugosité des revêtements peut également interférer avec le comportement des cellules osseuses¹¹.
- 5 De même, la mouillabilité, l'énergie et la charge de surface ont manifesté un rôle dans la tolérance tissulaire de nombreux matériaux¹². Il semble néanmoins que ces facteurs interviennent relativement peu dans les premiers stades de l'intégration qui sont bons en clinique humaine avec des systèmes venant de différents fabricants et ayant des caractéristiques éminemment variables.
- 10 La dégradation des revêtements peut-être en revanche très diverse en fonction des caractéristiques et en particulier de la cristallinité et du contenu en phases autres que l'HA. Les phases amorphes sont beaucoup plus solubles que les phases cristallines. De la même façon, la solubilité des autres phases phosphocalciques est inversement proportionnelle à la valeur de leur Ca/P. L'oxyde de calcium devenant de l'hydroxyde
- 15 de calcium en milieu aqueux est très soluble et de plus toxique en raison de sa basicité.

Réaction aux particules produites lors de la dégradation:

- Des phénomènes d'ostéolyse massive sont régulièrement décrits dans l'évolution clinique des systèmes d'arthroplastie. Ils entraînent un descellement de la prothèse et
- 20 nécessitent une réintervention chirurgicale qui peut être très délicate en raison de la destruction qu'elle entraîne.

- Les ostéolyses à proximité du matériel d'arthroplastie sont précédées de l'apparition de structures histologiques locales caractéristiques provoquées par l'émission de débris
- 25 d'usure à l'interface des différents éléments de la prothèse entre eux ou avec le tissu osseux¹³. Ces structures tissulaires sont retrouvées entre la prothèse et le tissu osseux et constituent alors une membrane pseudosynoviale composée de l'accumulation de macrophages. A distance, il existe également une prolifération macrophagique importante dans les ganglions lymphatiques drainant la région implantée¹⁴.

Le macrophage et la cellule géante constituent les cellules pivots de cette réaction aux débris d'usure. Tous les macrophages recrutés dans les sites inflammatoires ainsi que les macrophages présents dans les différents tissus dérivent des monocytes sanguins.

5 Les monocytes proviennent des monoblastes à travers les promonocytes et sont originaires de la moelle osseuse. Il est admis que des cellules souches pluripotentes donnent naissance aux GM-CFC (granulocyte macrophage-colony forming cells) qui à leur tour donnent naissance aux différentes lignées de monocytes, macrophages et d'ostéoclastes¹⁵. Les monoblastes se divisent une fois et donnent naissance à deux

10 promonocytes se divisant à leur tour en deux monocytes. L'évolution du monoblaste au monocyte dans la moelle osseuse conduit à une multiplication par quatre du nombre de ces cellules.

La production de monocytes est contrôlée *in vivo* par de nombreux facteurs de
15 croissance et cytokines: IL-3, IL-6, GM-CSF, M-CSF.

Les monocytes migrent de la moelle osseuse dans le sang en 24 heures après leur formation. Ils se partagent ensuite entre un groupe circulant et un groupe marginé accroché à l'endothélium. Ce dernier groupe migre des vaisseaux dans les tissus. Les
20 monocytes circulants ont une $\frac{1}{2}$ vie de 17,4 heures dans des conditions normales.

Les macrophages n'ont pas la capacité de se multiplier (ou très peu). Ils disparaissent des tissus en une à deux semaines dans des conditions normales. La présence de macrophages dans un site tissulaire dépend donc de l'afflux des monocytes du sang¹⁶
25 ¹⁷.

Il existe une population de macrophages exsudés différente des macrophages tissulaires¹⁸. Les macrophages exsudés et les macrophages tissulaires (*resident macrophages*) perdent leur activité peroxydase lorsqu'ils sont activés.

L'activation des macrophages peut-être définie comme l'acquisition d'une compétence à effectuer une fonction complexe telle qu'une action chimiotactique, phagocytaire, de préparation et présentation d'antigènes, lyse de parasites intracellulaires, destruction de cellules tumorales ou d'activation des ostéoclastes.

5

Dans le cas de macrophages trouvés au contact des matériaux orthopédiques, il semble que leur état d'activation soit lié à la phagocytose de débris de matériaux. L'activation des macrophages se traduit alors par la synthèse de différentes molécules: PGE₂, collagénase, TNF, IL-1, IL-6, PDGF, metalloproteinase, cyclo-oxygénase^{19 20}. Ils
10 transforment ainsi un message physique en un message chimique.

Enfin, il est apparu que les macrophages des membranes pseudosynoviales peuvent avoir une action d'ostéolyse directe. *In vitro*, Sabobkar *et coll* ont montré que des macrophages isolés de membranes pseudosynoviales co-cultivés sur des tranches de
15 dentine avec des cellules *osteoblast-like* acquéraient en quelques jours un phénotype ostéoclastique²¹. Cette différenciation est sous la dépendance du M-CSF.

Les ostéoclastes dérivent de précurseurs monocytaires, de monocytes ou de macrophages. Les modèles murins d'ostéopétrose^{22 23} ainsi que la transformation d'une
20 lignée monocyttaire aviaire en ostéoclastes *in vivo* et *in vitro*²⁴ suggèrent une origine commune pour la formation des macrophages polycarioniques (cellules géantes) et des ostéoclastes.

L'ostéoclaste s'attache à la matrice osseuse qu'elle va résorber par une zone
25 individualisée en forme d'anneau nommée région de scellement. Cette adhésion nécessite la présence de molécules d'adhésion dans la membrane ostéoclastique (intégrine) ainsi que certaines protéines de la MEC osseuse à la surface de l'os. L'espace ainsi constitué entre la zone d'adhésion et le tissu osseux constitue la chambre de résorption. L'ostéoclaste synthétise plusieurs protéines protéolytiques

transportées et sécrétées dans cette chambre de résorption. Simultanément, le pH de cette région est abaissé par une excrétion de protons à travers la membrane apicale (membrane faisant face à la chambre). L'action simultanée des enzymes protéolytiques et de l'abaissement du pH aboutit à la digestion de l'os et crée une lacune ou une encoche dans le tissu osseux dénommée: lacune de Howship. Après l'arrêt de la résorption de l'os qui pourrait être du à un senseur de calcium, l'ostéoclaste se détache de la zone et migre le long de la surface osseuse pour créer une autre lacune.

L'activation des ostéoclastes par les macrophages est soit directe grâce aux molécules synthétisées après activation de ces derniers, soit par interférence avec la boucle de régulation du couple ostéoblaste-ostéoclaste qui assure le remodelage de l'os. Ainsi, les débris d'usure, générés par le matériau prothétique, phagocytés par les macrophages entraînent une destruction locale du tissu osseux. Celle-ci cause un descellement de la prothèse et nécessite une reconstruction chirurgicale osseuse complexe avant de la remplacer.

Laquarière et col.²⁵ ont étudié *in vitro* le rôle des caractéristiques des particules d'hydroxyapatite dans la synthèse de molécules activatrices des ostéoclastes par les macrophages après leur phagocytose (IL6 et 1, TNF- α). Cette synthèse définit leur activité ostéolytique. Ils ont également étudié le rapport Na/K du cytoplasme des macrophages afin de mesurer la toxicité des particules. Celles-ci avaient des caractéristiques de surface très différentes mais la même composition (98% d'HA).

Plusieurs groupes de particules peuvent être individualisés :

- Non toxiques mais ostéolytiques. C'est le groupe des matériaux de contrôle
- Cytotoxiques et ostéolytiques. C'est le groupe des poudres aciculaires.
- Peu ostéolytiques et peu toxiques. C'est le groupe des poudres de forme angulaire ou sphérique

- Non ostéolytiques, ni toxiques. C'est les poudres de grandes tailles qui ne peuvent être phagocytées

Ces résultats confirment que les particules d'HA de très grandes tailles sont très bien tolérées chez l'homme. Les rapports histologiques fait à partir de prothèses examinées post-mortem montrent qu'elles sont la plupart du temps intégrées dans le tissu osseux. Les particules inflammatoires et toxiques sont aciculaires et ont des compositions et des surfaces spécifiques comparables à des particules bien tolérées. Le facteur forme est donc une caractéristique capitale pour la tolérance des particules.

10

Description

Ainsi, dans un premier aspect, la présente invention concerne une poudre d'hydroxyapatite (HA) pour projection plasma pour revêtement orthopédique émettant des particules de corrosion présentant une faible toxicité et une faible activité ostéolytique comprenant au moins 98% d'HA en poids et un pourcentage en poids de TCP (phosphate tricalcique) et de CaO inférieure à 2%, la granulométrie des particules étant comprise entre 80 et 160 μm et la taille des grains des particules de ladite poudre étant comprise entre 0,3 – 3 μm .

20

Avantageusement, cette poudre phosphocalcique présente au moins l'une des caractéristiques suivantes:

- une forme angulaire et un facteur de forme compris entre 1,2 et 1,4,
- une porosité inférieure à 3%,
- 25 - une surface spécifique d'environ 0,77 m^2/g ,
- une quantité totale des métaux lourds est inférieure à 50 ppm,
- une énergie de surface égale à environ -27,5 mV, et
- un pH de surface basique.

Dans un deuxième aspect l'invention porte sur un procédé de préparation par batch d'une poudre d'hydroxyapatite mentionnée ci-dessus comprenant les étapes consistant à :

- 5 a) Mélanger dans un réacteur une solution de nitrate de calcium et d'acide phosphorique,
- b) Filtration, déshydratation et séchage du précipité par des moyens appropriés,
- c) Calcination plusieurs heures à des températures comprises entre 800 et 1150°C, et
- d) Broyage et tamisage pour obtenir la granulométrie souhaitée.

10

La poudre peut subir divers traitements à différents stades de sa synthèse visant à modifier ses propriétés de surface pour lui conférer des propriétés biologiques particulières.

- De préférence, on utilise pour mettre en œuvre ce procédé un réacteur d'un volume de
- 15 plusieurs centaines de litres.

- Dans un troisième aspect, l'invention vise un procédé de préparation de matériaux biocompatibles comprenant les étapes consistant en une projection plasma de la poudre d'HA décrites ci-dessus, sur le support dudit matériaux jusqu'à la formation d'une
- 20 couche mince de 10 à 200 μm d'épaisseur.

L'invention se rapporte également à un matériau biocompatible obtenu à partir du procédé évoqué ci-dessus émettant après implantation dans un tissu d'un organisme des particules de corrosion intracellulaire de taille de grains comprise entre 0,1 et 20 μm .

- 25 Avantageusement, ce matériau biocompatible présente une forme anguleuse ou sphérique de taille comprises entre 0,3 et 15 μm . Son facteur de forme est compris entre 1 et 1,9 et sa surface spécifique est comprise entre 0,2 et 22 m^2/g .

Un tel matériau biocompatible se caractérise également en ce que les particules de corrosion ne provoquent aucune réponse inflammatoire, une faible toxicité et une faible activité ostéolytique. Il est utile comme substitut osseux sous forme de céramiques ou bioverres émettant des particules de corrosion présentant une faible toxicité et une faible activité ostéolytique.

L'invention porte également sur l'utilisation dudit matériau biocompatible en chirurgie orthopédique.

10 Légendes

Figure 1 : devenir des grains de poudre en fonction de leur taille dans le plasma (adapté de 3).

Figure 2 : schéma de la structure du revêtement plasma d'HA sur un alliage métallique

15 Figure 3: dégradation des revêtements de phosphates de calcium et différents types de débris émis.

Figure 4 : microscopie électronique à balayage de revêtement d'hydroxyapatite avant implantation

Figures 5 et 6 : microscopie électronique à balayage après oxydation de la matrice organique de revêtements implantés 8 mois. Les grains constituant les particules projetées apparaissent après dissolution de la phase amorphe.

20 Figures 7 et 8 : Microscopie à balayage par rétrodiffusion de coupes des éprouvettes implantées à 8 mois. Des cellules dégradent le revêtement (flèches photo de la figure 7) et phagocytent les fragments dont la plupart sont de type I. coloration à la silver methenamine.

25

Exemple 1 : Les poudres pour revêtements phosphocalciques

La connaissance des caractéristiques des poudres entraînant une activité ostéolytique des macrophages ou présentant une toxicité a permis de définir une qualité de poudre
5 ayant une biocompatibilité particulière.

Des particules aux caractéristiques suivantes ont été synthétisées puis projetées par torche à plasma sous atmosphère sur des éprouvettes cylindriques de TA6V :

- 10 a) Taille distribution : 80-160 μm , unimodale, 55% des particules entre 104 et 135 μm .
- b) Taille des grains de la poudre : 0.3- 3 μm
- c) Composition : > 98% HA, TCP + CaO < 2%
- d) Formes : angulaire, facteur de forme : $(\text{périmètre})^2/4\pi.\text{surface}$ entre 1,2 et 1,4, périmètres : 500-1000 μm
- 15 e) Porosité : < 3%
- f) Surface spécifique : 0,77 m^2/g
- g) Contaminants : As \leq 3 ppm, Cd \leq 5 ppm, Hg \leq 5 ppm, Pb \leq 30, total des métaux lourds \leq 50 ppm
- h) Energie de surface : -27,5 mV
- 20 i) pH de surface : 9,08

Exemple 2 : Expérimentation animale

25

Des revêtements obtenus sur des cylindre de 10 mm de diamètre et 15 mm de long de TA6V sablé avec cette poudre ont été fabriqués avec les caractéristiques suivantes : cristallinité 67%, TCP et CaO < 3%, épaisseur 100 μm , Ra = 6 μm ; Rp = 40 μm ; Rt = 15 μm ; porosité 3,5%.

Les poudres ont été obtenues par précipitation d'HA en milieu liquide. Le précipité après décantation est déshydraté à 180°C pendant plusieurs heures. Le gâteau résultant est broyé pour obtenir la bonne granulométrie de poudre qui est ensuite calcinée à 1150°C pendant 2 heures

5

Les éprouvettes (figure 4) ont été implantées 8 mois dans des condyles externes de fémurs de brebis. Les brebis ont ensuite été euthanasiées, puis les revêtements examinés en microscopie électronique à balayage après avoir été oxydés par une solution de 4% de NaOCl. D'autres implants ont été inclus dans du polyméthyl méthacrylate. Des coupes ont été effectuées, colorées à la silver méthénamine puis examinées en mode rétrodiffusé.

10

A 8 mois d'implantation, les revêtements montrent une disparition des phases solubles et amorphes (figures 5 et 6). Les galettes sont visibles. Dans le périmètre de celles-ci sont apparus les grains des céramiques prouvant que les grains des particules de poudre projetés sont seulement très partiellement ou pas fondus.

15

Les coupes du matériau montrent que des macrophages sont trouvés au contact des céramiques dans les cavités médullaires entre les trabécules osseux. Tous les types de particules précédemment décrites sont visibles. Des particules de phosphates de calcium sont visibles dans le cytoplasme de ces cellules (Figures 7 et 8). Ces particules sont homogènes au niveau de leur taille et de leur forme et semblent être des grains de la céramique constituant les grains de la poudre (grains de type I).

20

Il faut souligner que malgré la phagocytose de ces grains, il n'existe pas de signes d'ostéolyse dans le tissu osseux périphérique. Il n'existe pas de lacune de Howship dans les trabécules osseux en périphérie des macrophages comme on peut le voir dans les membranes pseudosynoviales.

25

Ceci indique que ces particules n'ont pas de caractéristique inflammatoire.

REFERENCES

- 5 1. Montel, G., Bonel, G., Heughebaert, J.C., Trombe, J.C., Rey, C., New concepts in the composition, crystallization and growth of the mineral component of calcified tissues. *J Crystal Growth* (1981); 53: 74-99.
2. Bonel, G., Tourenne, F., Rouquet, N., Frayssinet, P., Couches minces d'hydroxyapatite: caractéristiques et techniques d'application. *Cahiers d'Enseignement de la SOFCOT* 50. Hydroxyapatite et prothèses articulaires. Expansion Scientifique Française. Paris 1994. Pp: 20-26.
- 10 3. Berndt, C.C., Gross, K.A., Characteristics of hydroxylapatite bio-coatings. In: Berndt, C. (ed) *Proceedings of the International Thermal Spray Conference & Exposition*, Orlando, Florida, USA, 28 May – 5 June 1992. ASM International OH, USA. Pp : 465-470
- 15 3. Cheang, P., Khor, K.A., Thermal spraying of hydroxyapatite coatings: effects of powder feedstock. *Journal of Materials Processing Technology*. 48 (1995): 429-436.
4. Wolke, J.G.C., de Blieck-Hogervorst, J.M.A., Dhert, W.J.A., Klein, C.P.A.T., de Groot, K., Studies on thermal spraying of apatite bioceramics. *J Thermal Spray Technol* 1992, 1: 75-82.
- 20 5. Klein, C.P.A.T., Wolke, J.G.C., de Blieck-Hogervorst, de Groot, K., Features of calcium phosphate plasma-sprayed coatings: an in vitro study. *J Biomed Mat Res* 1994, 28: 961-967.
6. P. Frayssinet, F. Tourenne, N. Rouquet, P. Conte, C. Delga, G. Bonel.
- 25 Comparatives biological performances of HA plasma-sprayed coatings having different crystallinities. *Journal of Material Sciences. Material in Medicine* (1994), 5: 11-17
7. Klein, C.P.A.T., de Blieck-Hogervorst, J.M.A., Wolke, J.G.C., de Groot, K., Studies on the solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro. *Biomaterials* 1991; 11: 509-512.

8. P. Frayssinet, D. Hardy, J. Hanker, B. Giammara, Natural history of HA-coated hip prosthesis from a series of 15 cases implanted in humans. *Cells and materials* 1995. 5, 2: 125-138.
9. P. Frayssinet, D. Hardy, J. Hanker, B. Giammara, Natural history of HA-coated hip prosthesis from a series of 15 cases implanted in humans. *Cells and materials* 1995. 5, 2: 125-138.
10. P., Frayssinet, F., Tourenne, N. Rouquet, G. Bonel, B. Giammara, Biological influence of crystallinity of HA-coating for orthopaedics use on cell growth. In: C. Bernt (Ed) *Proceedings of the International Thermal Spray Conference and Exposition*. Orlando, Florida, USA, 28 May-5 June 1992. ASM International. Ohio. pp 477-487.
12. Frayssinet, P., Biocompatibility of powdered material. The influence of surface characteristics. (To be published)
13. Goldring, S.R., Jasty, M., Roelke, M.S., Rourke, C.M., Bringham, F.R., Harris, W.H., Formation of a synovial-like membrane at the bone cement interface. Its role in bone resorption and implant loosening after total hip replacement. *Arthritis and Rheumatism* (1986), 29, 7 : 836-842.
14. Hicks, D.G., Judkins, A.R., Sichel, J.Z., Rosier, R.N., Puzas, J.E., O'Keefe, R.J., Granular histiocytosis of pelvic lymph nodes following total hip arthroplasty, *J Bone Joint Surg* (1996), 78-A, 4 : 495-496.
15. Takahashi, K., Naito, M., Takeya, M., Development and heterogeneity of macrophages and their related cells through their differentiation pathways, *Pathology International* (1996), 46 : 473-485.
16. Langevoort, H.L., Cohn, Z.A., Hirsh, J.G., The nomenclature of mononuclear phagocytic cells : proposal for a new classification. In : van Furth R ed. *Mononuclear Phagocytes*, Blackwell Science, Oxford, 1970 ; 1-6.
17. Van Furth, R., Cohn, Z.A., Hirsh, J.G., The mononuclear phagocyte system : a new classification of macrophages, monocytes and their precursor cells. *Bull WHO*, 1972, 46 : 845-852.

18. Auger, M.G., Ross, J.A., The biology of the macrophage. In : the natural Immune System : The Macrophage, Lewis, CE, McGee, JO'D, IRL Press at Oxford University Press, Oxford, New York, Toronto, 1992, pp 1-30.
19. Shanbhag, A.S., Jacobs, J.J., Black, J., Galante, J.O., Glant, T.T., Cellular mediators
5 secreted by interfacial membranes obtained at revision total hip arthroplasty. The Journal of Arthroplasty (1995), 10, 4 : 498-506
20. Giant, T.T., Jacobs, J.J., Molnár, G., Shanbhag, A.S., Valyon, M., Galante, J.O., Bone resorption activity of particulate-stimulated macrophages. J Bone Miner Res 1993, 8, 9 : 1071-1079.
- 10 21. A. Sabokbar, Y. Fujikawa, S. Neale, D. W. Murray, and N. A. Athanasou. Human arthroplasty derived macrophages differentiate into osteoclastic bone resorbing cells. Ann Rheum Dis 56:414-420, 1997.
22. Felix, R., Cecchini, M.C., Fleisch, H., Macrophage colony-stimulating factor restores in vivo bone resorption in the op/op osteopetrotic mouse. Endocrinology 1990,
15 127 : 1592-4
22. Grigoriadis, A.E., Wang, Z., Wagner, E.F., Fos and bone cell development : lessons from a nuclear oncogene. Trends Genet 1995, 11 : 436-41
23. Solari, F., Flamant, F., Cherel, Y., Wyers, M., Jurdic, P., The osteoclast generation : an in vitro and in vivo study with a genetically labelled avian monocyte cell line. J
20 Cell Sci 1996 ; 109 : 1203-13
24. Patrice Laquarrière, Influence des caractéristiques de particules d'hydroxyapatite sur leur interaction avec des monocytes humains, in vitro. Quantification des ions diffusibles intracellulaires par cryomicrospectrométrie X en microscopie électronique à transmission. Thèse Université de Reims Champagne-Ardenne. 2000.

REVENDICATIONS

- 5 1. Poudre d'hydroxyapatite (HA) pour projection plasma pour revêtement orthopédique émettant des particules de corrosion présentant une faible toxicité et une faible activité ostéolytique comprenant au moins 98% d'HA en poids et un pourcentage en poids de TCP (phosphate tricalcique) et de CaO inférieure à 2%, la granulométrie des particules étant comprise entre 80 et 160 μm et la taille des grains des particules de ladite poudre
- 10 étant comprise entre 0,3 – 3 μm .
2. Poudre selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle présente une forme angulaire et un facteur de forme compris entre 1,2 et 1,4.
- 15 3. Poudre selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle présente une porosité inférieure à 3%.
4. Poudre selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle présente une surface spécifique d'environ 0,77 m^2/g .
- 20 5. Poudre selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité totale des métaux lourds est inférieure à 50 ppm.
-
6. Poudre selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle présente une énergie de
- 25 surface égale à environ -27,5 mV.
7. Poudre selon la revendication 6, caractérisée en ce qu'elle présente un pH de surface basique.

8. Procédé de préparation par batch d'une poudre d'hydroxyapatite selon l'une des revendications 1 à 7 comprenant les étapes consistant à :
- a) Mélanger dans un réacteur une solution de nitrate de calcium et d'acide phosphorique,
 - 5 b) Filtration, déshydratation et séchage du précipité par des moyens appropriés,
 - c) Calcination plusieurs heures à des températures comprises entre 800 et 1150°C, et
 - d) Broyage et tamisage pour obtenir la granulométrie souhaitée.
- 10 9. Procédé de préparation de matériaux biocompatibles comprenant les étapes consistant en une projection plasma de la poudre d'HA selon l'une des revendications 1 à 7, sur le support dudit matériaux jusqu'à la formation d'une couche mince de 10 à 200 μm d'épaisseur.
- 15 10. Matériau biocompatible obtenu à partir du procédé selon la revendication 9 émettant après implantation dans un tissu d'un organisme des particules de corrosion intracellulaires composées de phosphate de calcium, en particulier d'hydroxyapatite et de phosphate tricalcique, de taille de grains comprise entre 0,1 et 20 μm .
- 20 11. Matériau biocompatible selon la revendication 10 de forme anguleuse ou sphérique et de taille comprises entre 0,3 et 15 μm .
12. Matériau biocompatible selon l'une des revendications 10 et 11 présentant un facteur de forme compris entre 1 et 1,9.
- 25 13. Matériau biocompatible selon l'une des revendications 10 à 12 de surface spécifique comprise entre 0,2 et 22 m^2/g .

14. Matériau biocompatible selon l'une des revendications 10 à 13 pour la mise en œuvre d'une chirurgie orthopédique.

5 15. Matériau biocompatible selon l'une des revendications 10 à 14 pour la mise en œuvre d'une chirurgie orthopédique dans laquelle les particules de corrosion ne provoquent aucune réponse inflammatoire.

10 16. Matériau biocompatible selon l'une des revendications 10 à 15 pour la mise en œuvre d'une chirurgie orthopédique dans laquelle les particules de corrosion présentent une faible toxicité et une faible activité ostéolytique.

15 17. Utilisation d'un matériau biocompatible selon l'une des revendications 10 à 16 pour la préparation d'un substitut osseux sous forme de céramiques ou bioverres émettant des particules de corrosion présentant une faible toxicité et une faible activité ostéolytique.

20

25

1 / 6

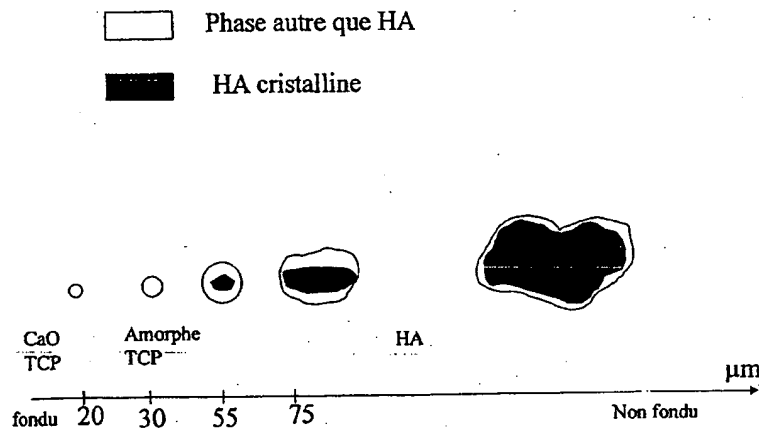


FIGURE 1

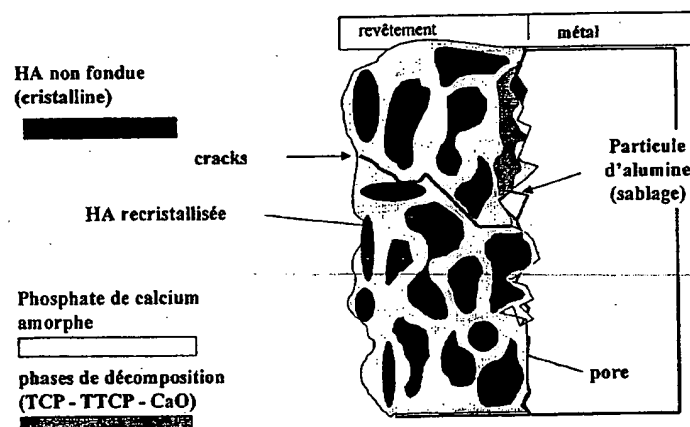


FIGURE 2

2 / 6

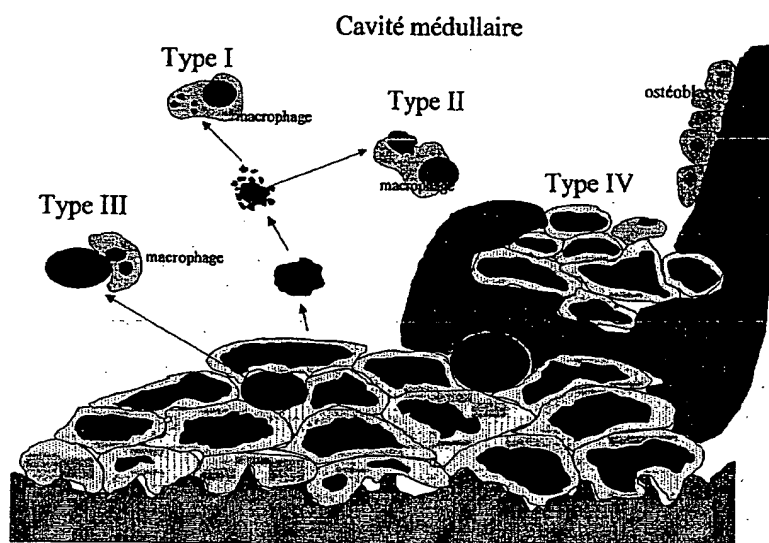


FIGURE 3

3/6

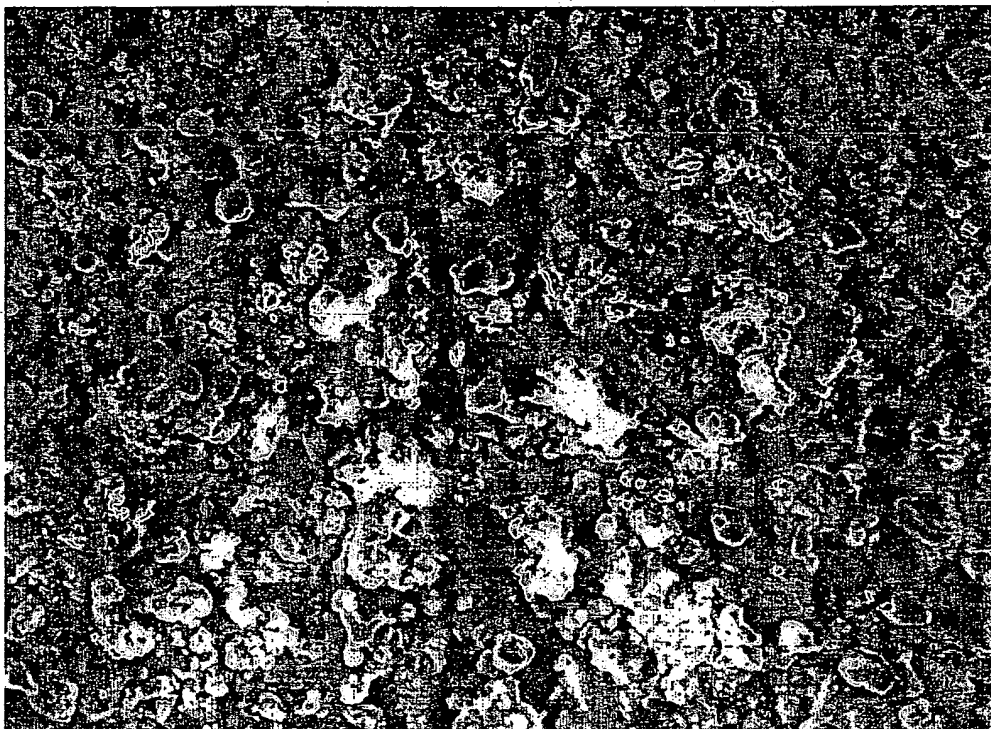


FIGURE 4

4 / 6

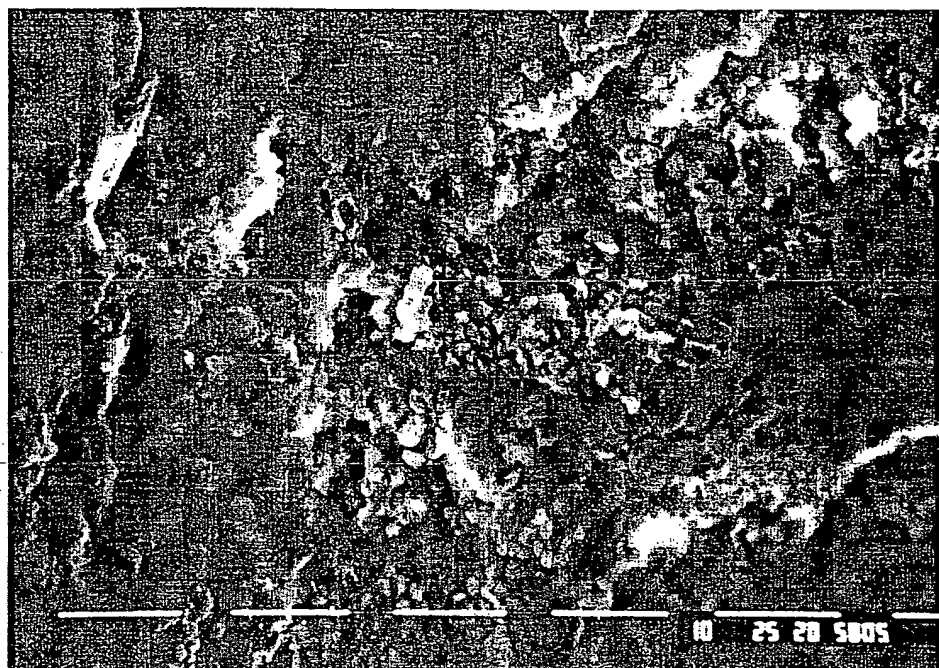


FIGURE 5



FIGURE 6

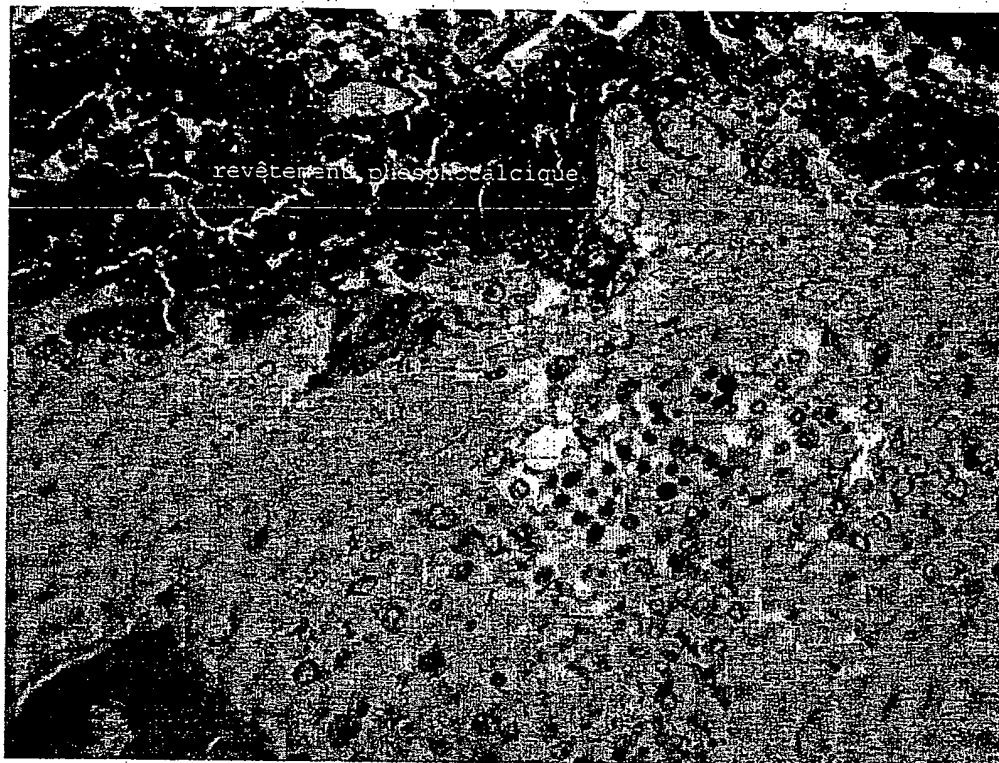


FIGURE 7

6/6

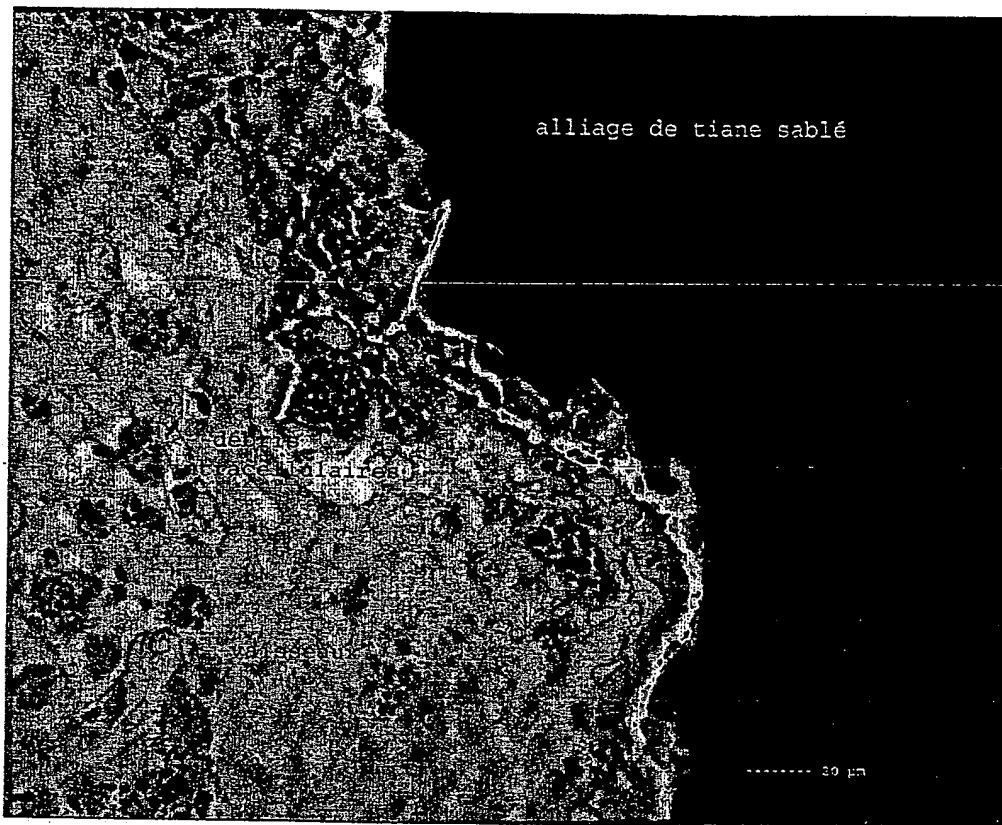


FIGURE 8



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 628691
FR 0216786

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	SUN, LIMIN ET AL: "Surface characteristics and dissolution behavior of plasma-sprayed hydroxyapatite coating" JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH (2002), 62(2), 228-236 , XP002255593 * abrégé *	1-17	A61L27/32 A61L27/12
A	GROSS, K. A. ET AL: "The contribution of coating microstructure to degradation and particle release in hydroxyapatite coated prostheses" JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH (2002), 63(2), 106-114 , XP002255594 * abrégé *	1-17	
A	WO 01 47573 A (OSTEOTECH INC) 5 juillet 2001 (2001-07-05) * revendications *	1-17	
A	P ET AL: "Addressing processing problems associated with plasma spraying of hydroxyapatite coatings" BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 17, no. 5, 1 mars 1996 (1996-03-01), pages 537-544, XP004032777 ISSN: 0142-9612 * abrégé *	1-17	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (mLCL.7) A61L C23C
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
24 septembre 2003		ESPINOSA, M	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 628691
FR 0216786

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	GROOT DE K ET AL: "CALCIUM PHOSPHATE COATINGS FOR MEDICAL IMPLANTS" PROCEEDINGS OF THE INSTITUTION OF MECHANICAL ENGINEERS. JOURNAL OF ENGINEERING IN MEDICINE. PART H, MECHANICAL ENGINEERING PUBLICATIONS LTD, LONDON, GB, vol. 212, no. H02, 1998, pages 137-147, XP000823765 ISSN: 0954-4119 * abrégé *	1-17	
A	US 5 730 598 A (BURGESS ANN ET AL) 24 mars 1998 (1998-03-24) * revendications *	1-17	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
24 septembre 2003		ESPINOSA, M	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0216786 FA 628691**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 24-09-2003
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0147573 A	05-07-2001	AU 2432501 A	09-07-2001
		CA 2397286 A1	05-07-2001
		EP 1274468 A1	15-01-2003
		TR 200201687 T2	21-02-2003
		WO 0147573 A1	05-07-2001
		US 2002183417 A1	05-12-2002
		US 2001031799 A1	18-10-2001
US 5730598 A	24-03-1998	DE 69814950 D1	03-07-2003
		EP 0864332 A2	16-09-1998
		JP 11047259 A	23-02-1999

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.