
HYDROGELS PHYSIQUES DE CHITOSANE

Relations structure-propriétés
après implantation sous-cutané chez le rat

Contribution de l'imagerie par
cryo-MEB FEG

Sébastien **MALAISE**¹,
Béatrice **Burdin**²,
Pierre **Alcouffe**¹,
Lila **Rami**³,
Alexandra **Montembault**¹,
Laurence **Bordenave**³,
Laurent **David**¹

¹ Ingénierie des Matériaux Polymères - UCBL - Lyon 1
² Centre Technologique des Microstructures - UCBL - Lyon 1
³ INSERM, U1026 - Bordeaux

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

PLAN DE LA PRÉSENTATION

- Le chitosane / Contexte de l'étude
- Élaboration des hydrogels
- Les techniques de microscopie utilisées
- Les hydrogels de référence
- Les hydrogels implantés
- Conclusions et perspectives

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

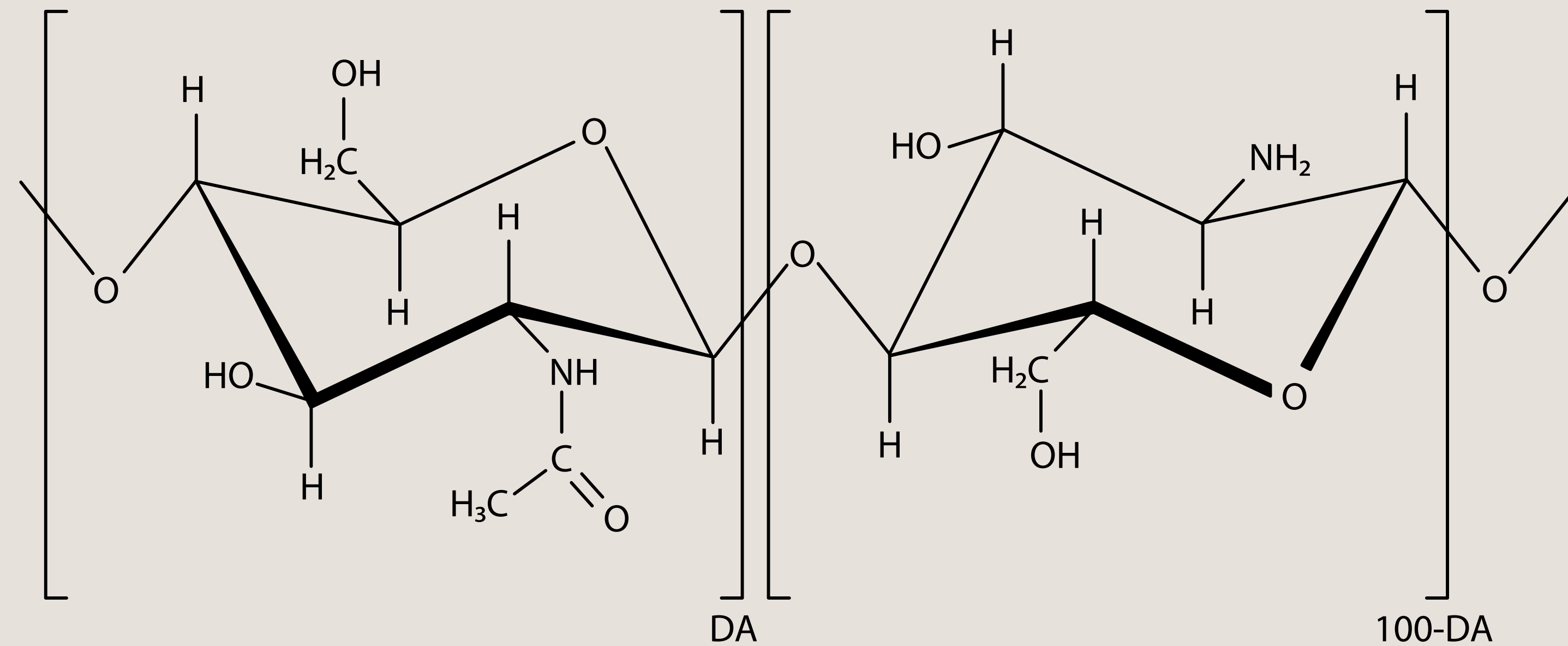
ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



N-acetyl-D-glucosamine
GlcNAc

D-glucosamine
GlcN

LE CHITOSANE

- Polysaccharide
- Biodégradable / biorésorbable
- Biocompatible
- Bioactif

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

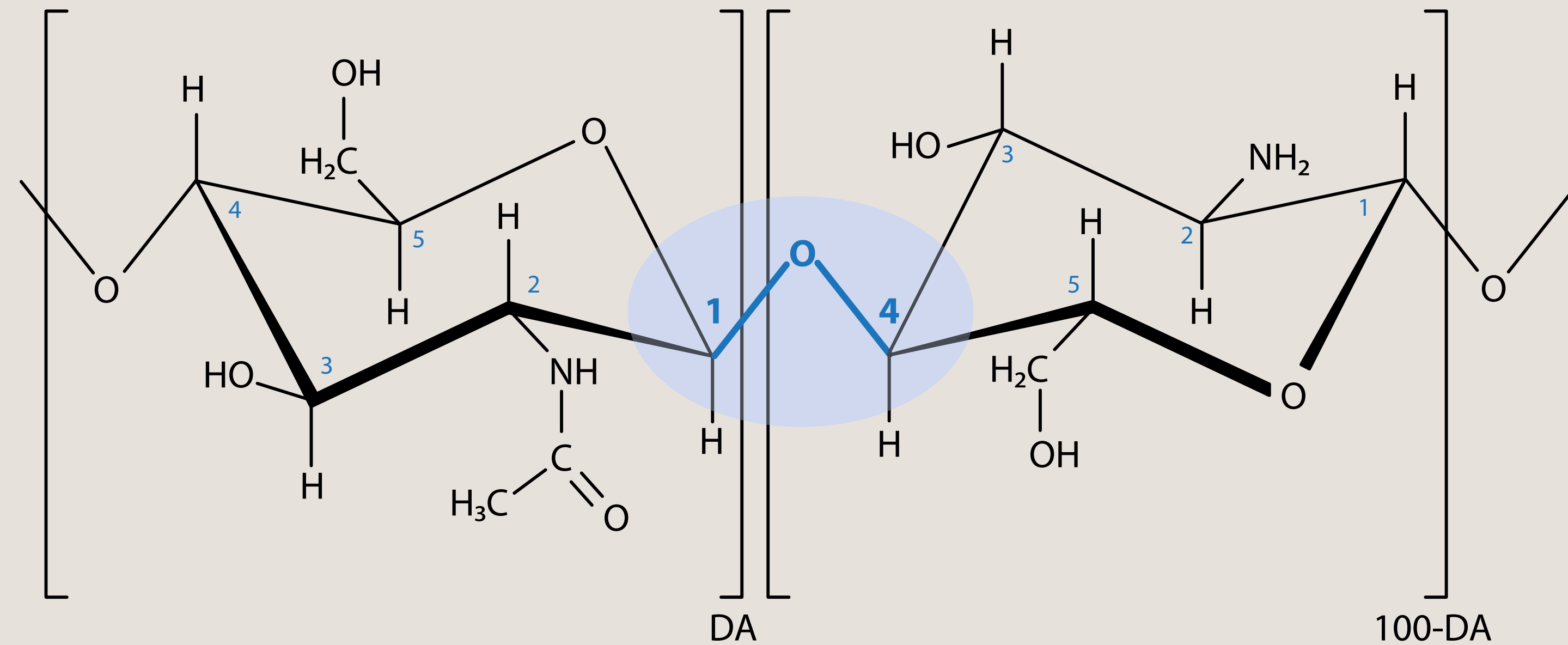
ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



N-acetyl-D-glucosamine

GlcNAc

D-glucosamine

GlcN

LIAISONS β -(1-4)

- Rigidité de la chaîne
- Bonnes propriétés mécaniques
- Cristallinité

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

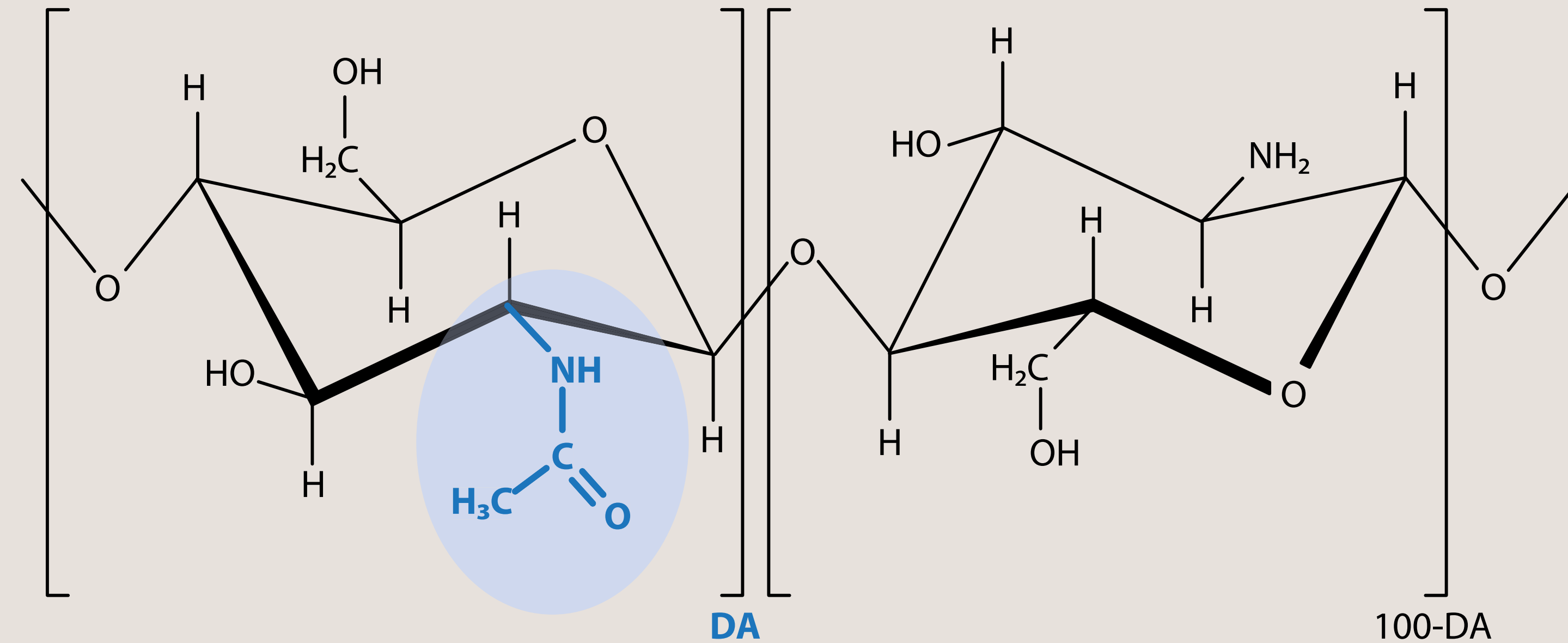
ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



N-acetyl-D-glucosamine
GlcNAc

D-glucosamine
GlcN

GROUPEMENT ACETYL

- Détermine le Degré d'Acétylation (DA)

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

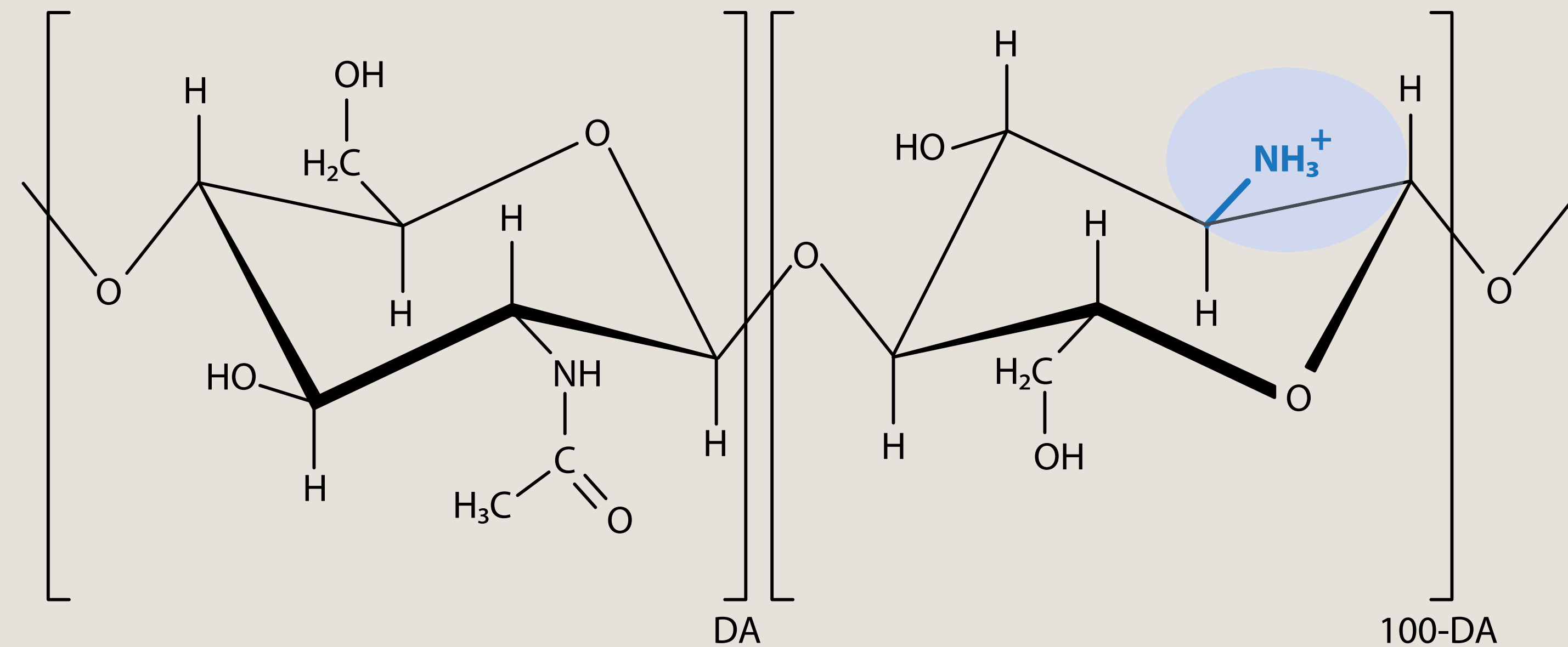
ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



N-acetyl-D-glucosamine
GlcNAc

D-glucosamine
GlcN

GROUPEMENT AMINE

- Protonation en milieu acide
- Favorise la solubilité

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Chitosane brut



Chitosane purifié



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

Projet ANR - ChitoArt

Élaboration de substituts vasculaires à base d'hydrogels physiques de chitosane

Création de tubes multigels à propriétés contrôlées



Les Échantillons

Hydrogels de référence - Étude de la morphologie des hydrogels

Explants d'hydrogels après implantation en sous cutanée chez le rat

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

Élaboration des hydrogels physiques de chitosane

ÉLABORATION
DES GELS

Deux voies principales

AQUEUSE - P1

- Matériaux souples
- Temps de dégradation courts
- «Poreux»

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

ALCOOLIQUE - P2

- Matériaux rigides
- Temps de dégradation lents
- «Denses»

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Élaboration des hydrogels P1 **Voie Aqueuse**



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

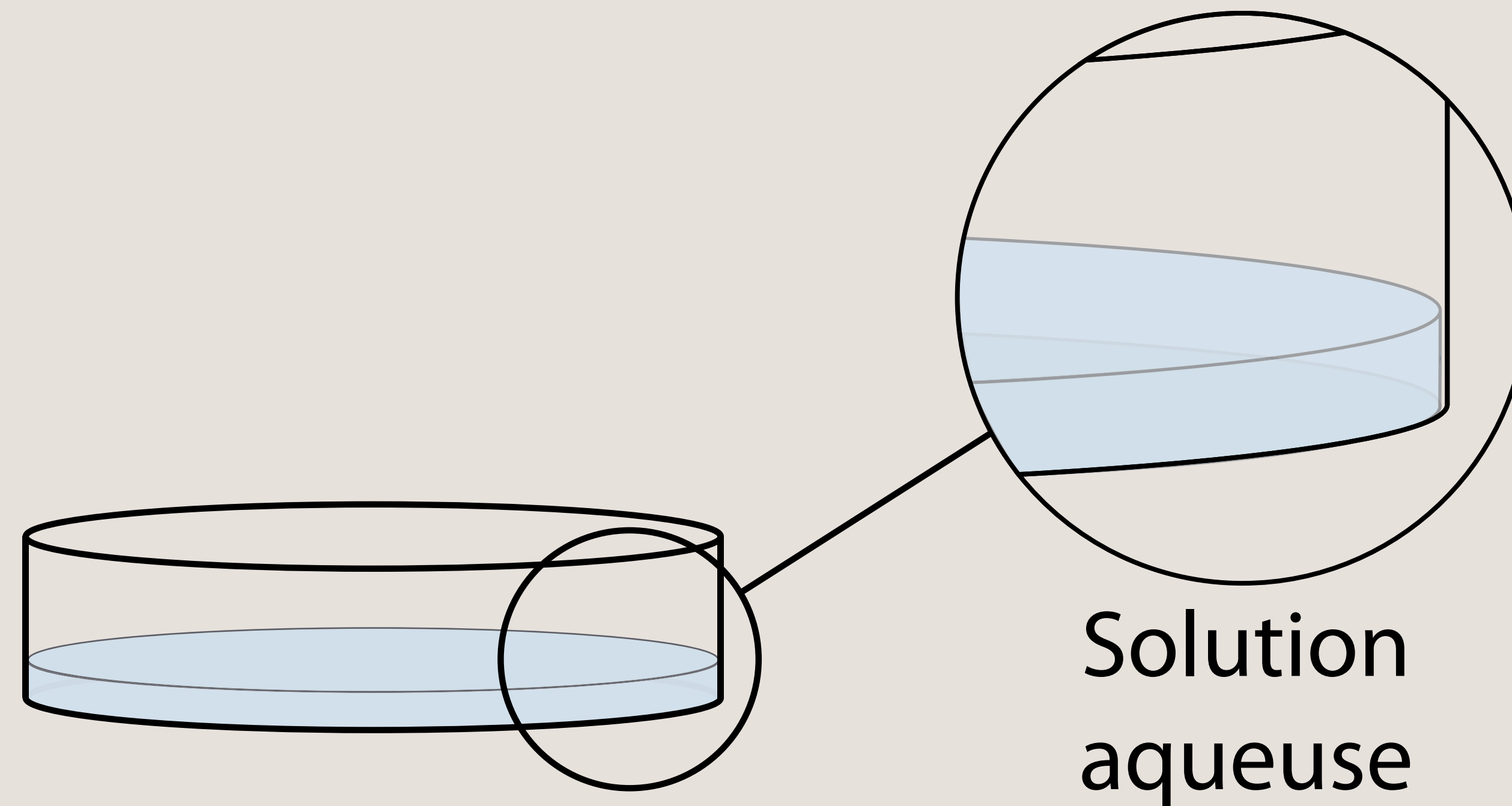
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Solubilisation et mise en boite de pétri



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

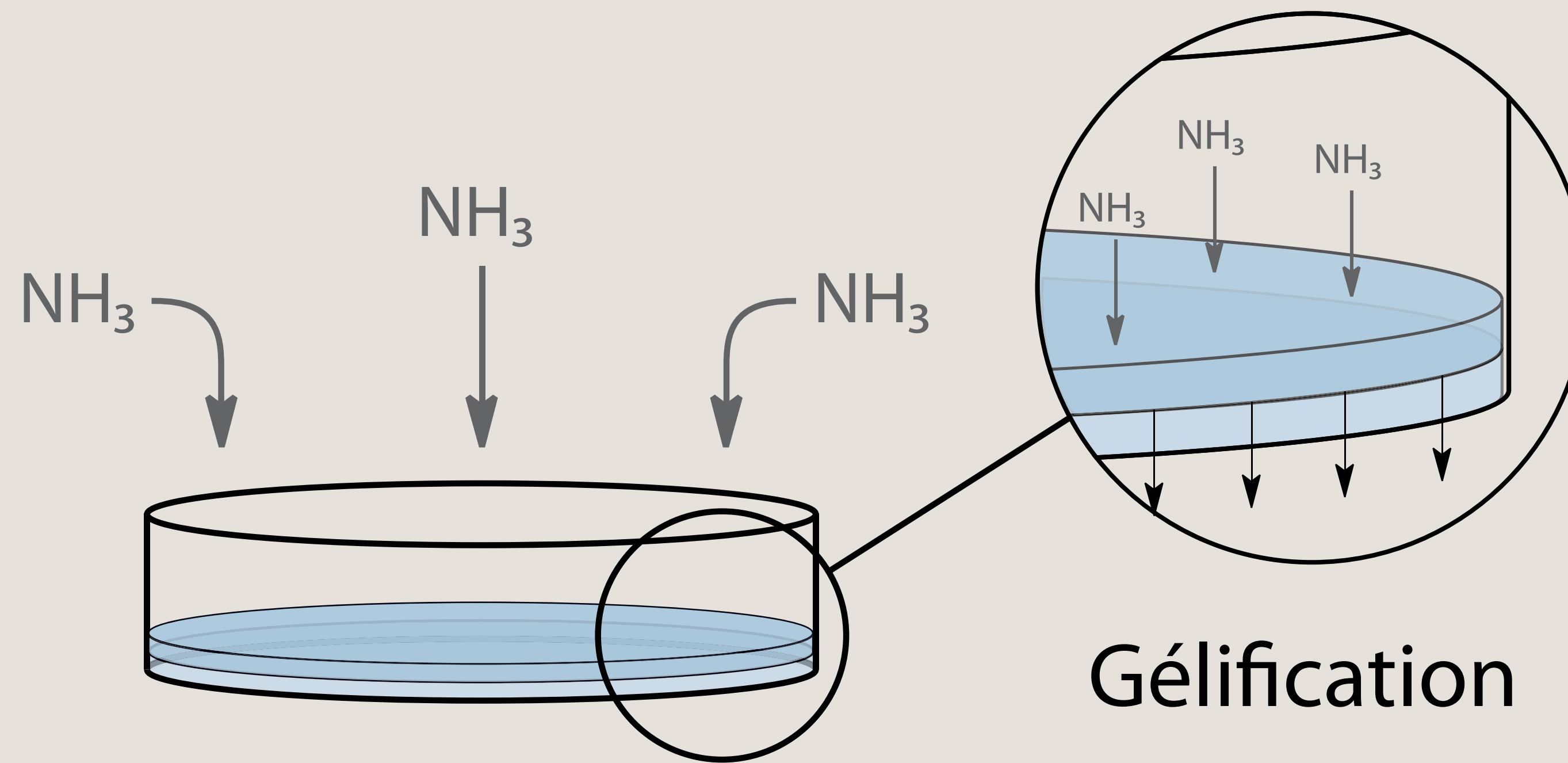
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Mise en atmosphère d'ammoniac



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

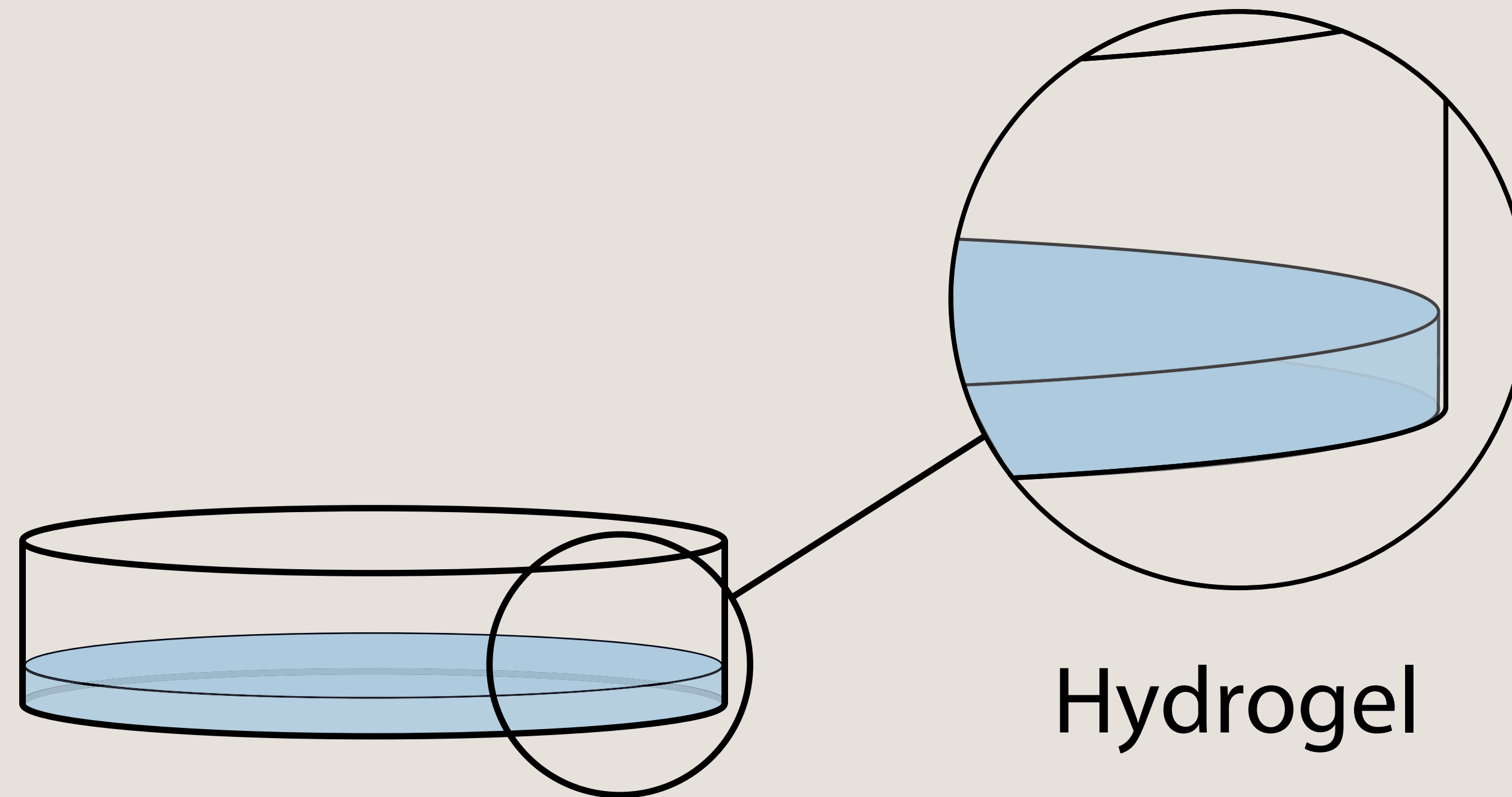
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Lavages à l'eau distillée



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Élaboration des hydrogels P2 **Voie Alcoolique**



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

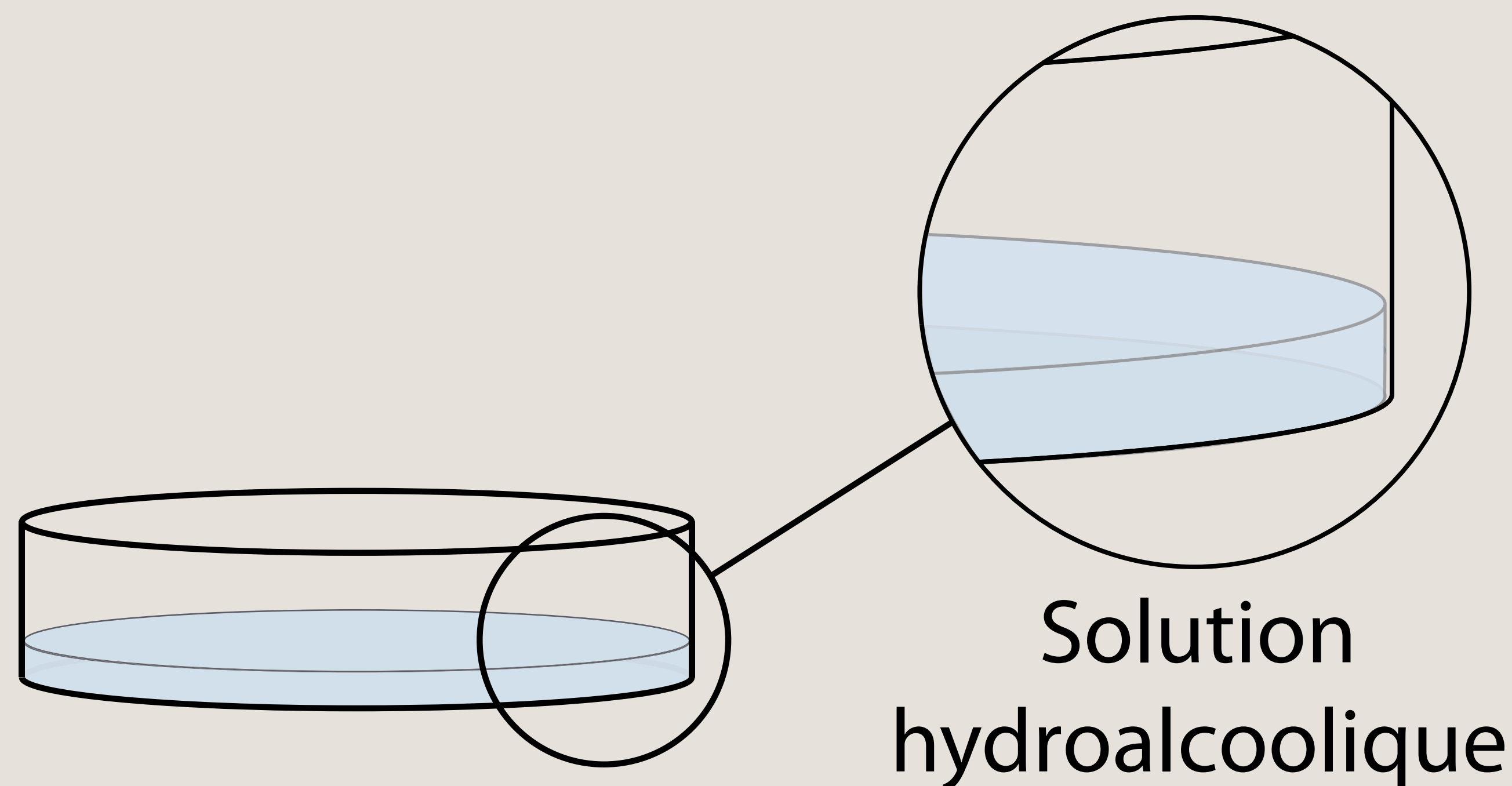
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Solubilisation, ajout d'un alcool et mise en boîte de pétri



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

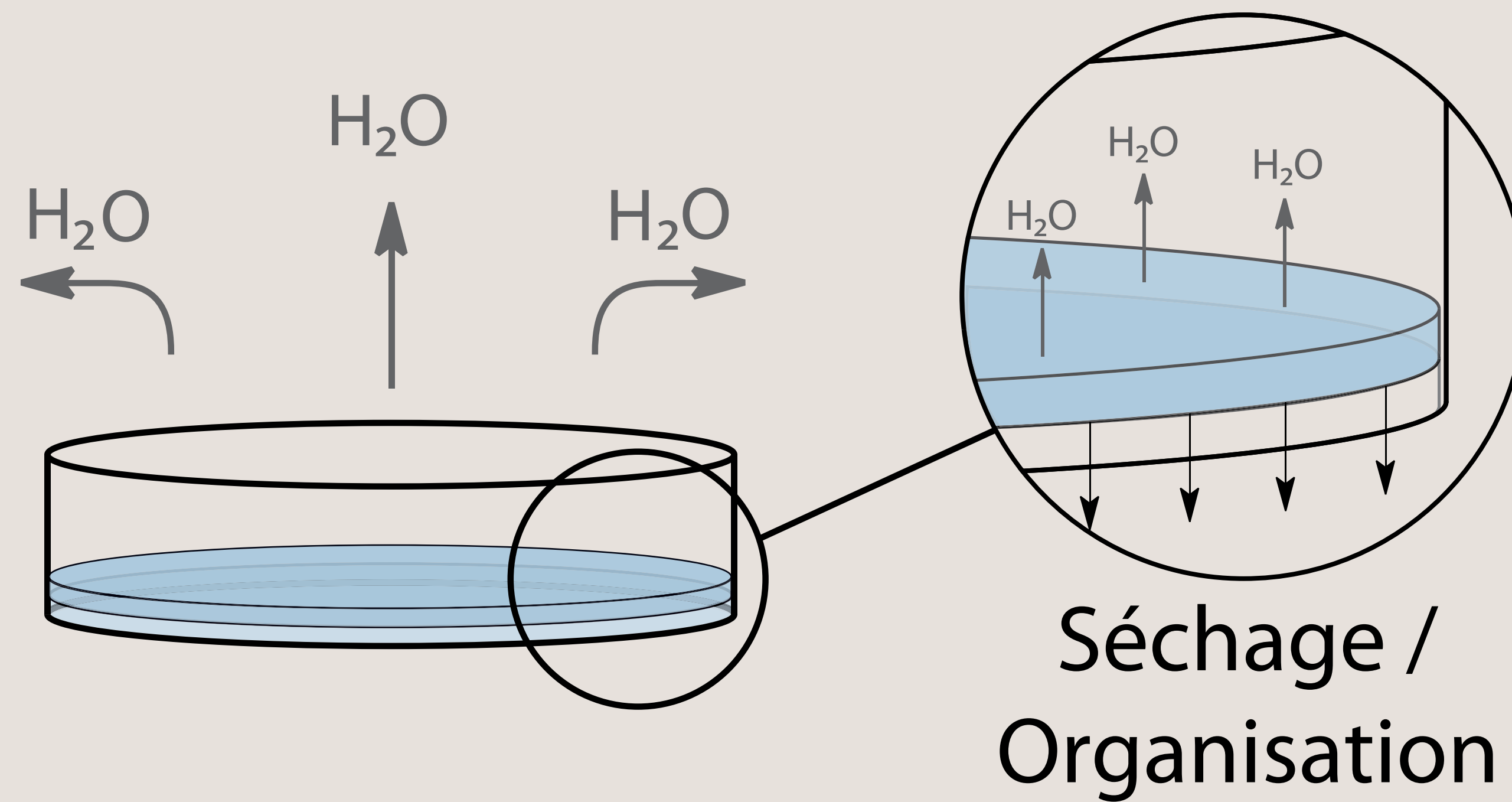
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Mise à l'étuve à 50°C



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

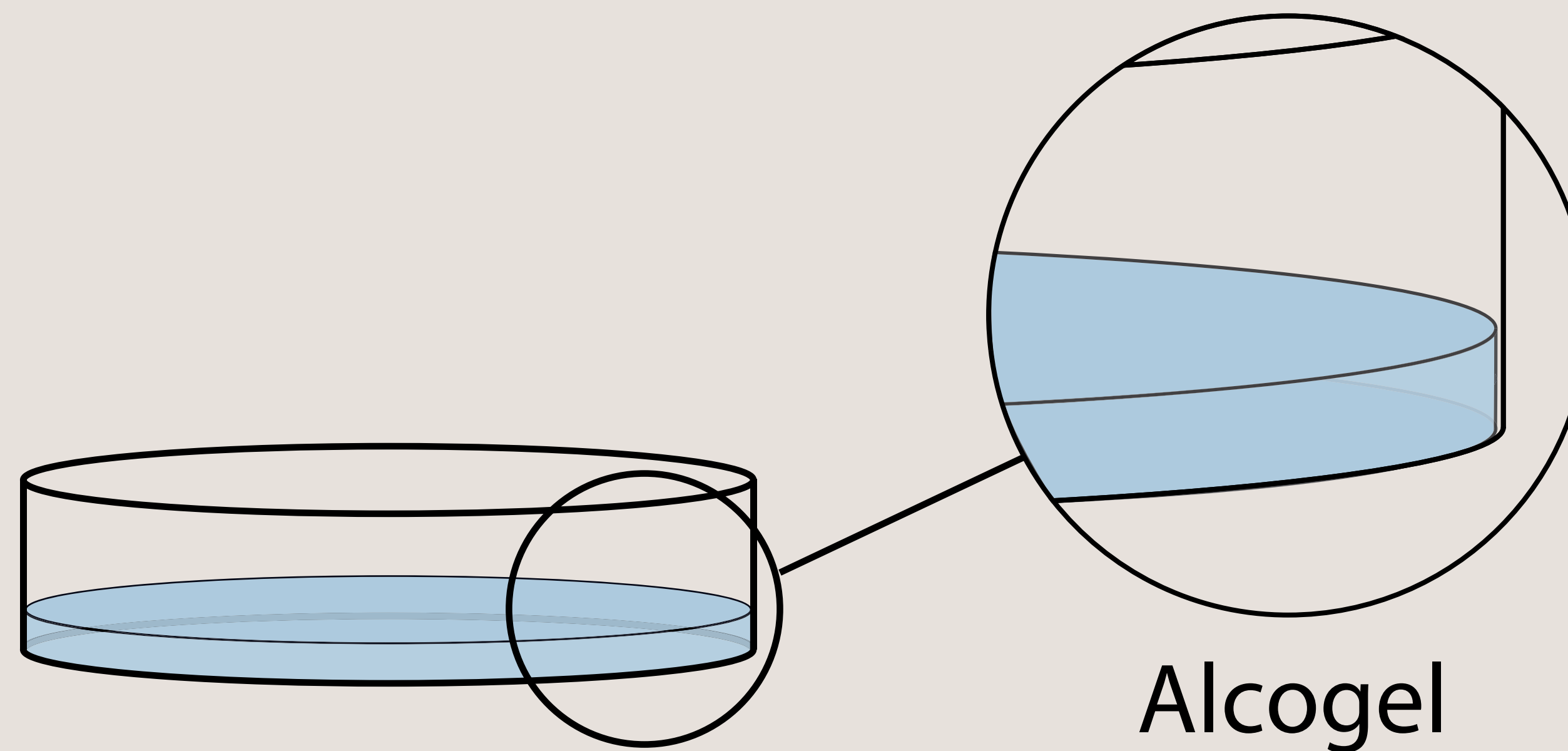
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Obtention d'un alcogel



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

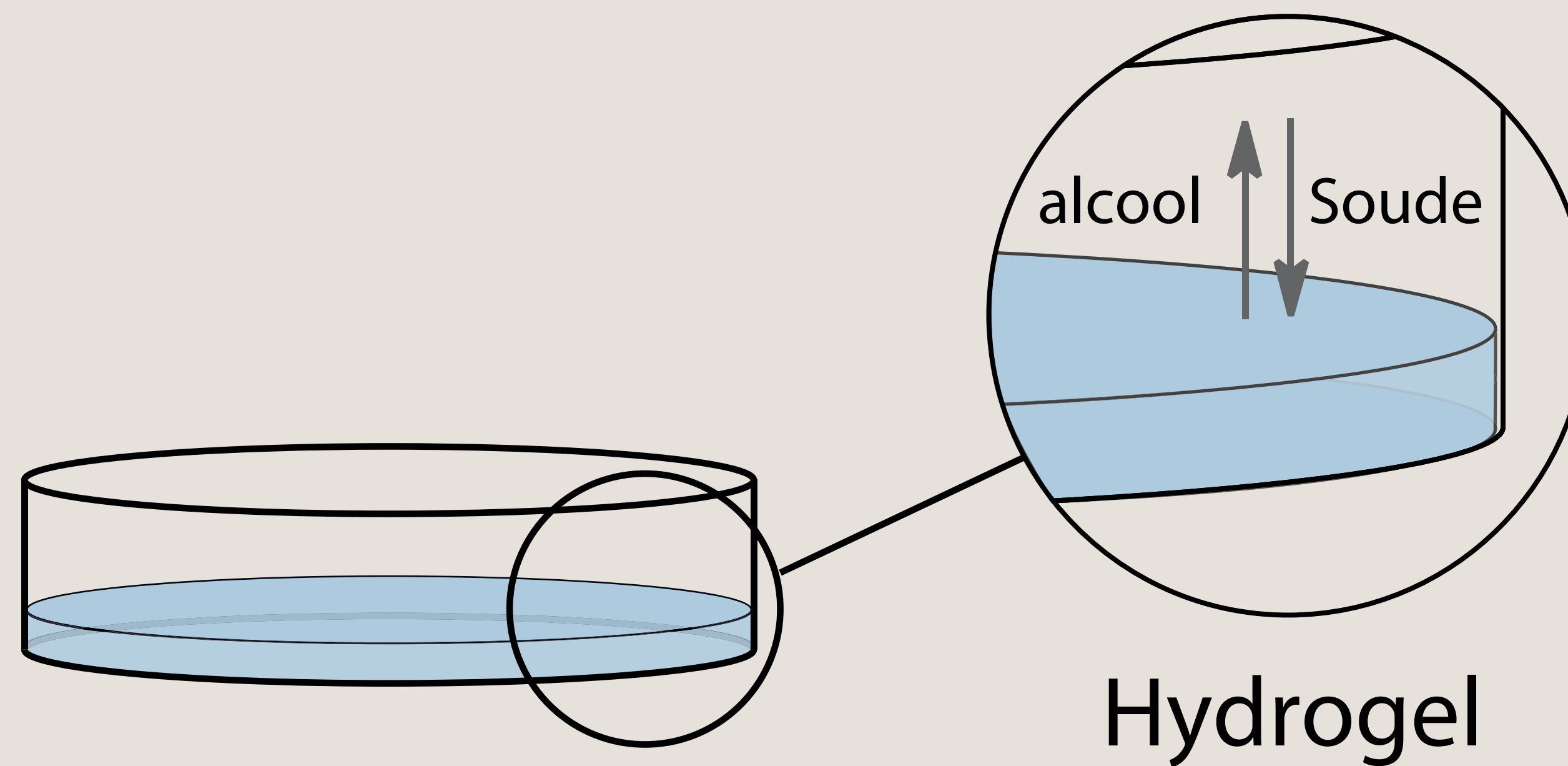
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Neutralisation par une solution de soude



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Les Techniques de Microscopie utilisées



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



Microscope Utilisé

- **MEB FEG FEI Quanta 250**
- Emission de champ type **Schottky**
- **3 modes** /ESEM, Vide dégradé, Haut vide
- Résolution de **1 nm à 30 kV** en haut vide
- Tensions d'accélération de **0,2 à 30 kV**
- Détecteur e⁻ secondaire **Everhart-Thornley**
- Rétro diff / **BSE** 2 cadrans / **vCD** basse tension

ESEM

- Platine Peltier
- Détecteur GSED

Low Vaccum

- Détecteur Large Field (type GSED)

Cryo MEB

- Platine Gatan Alto 1000 E

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

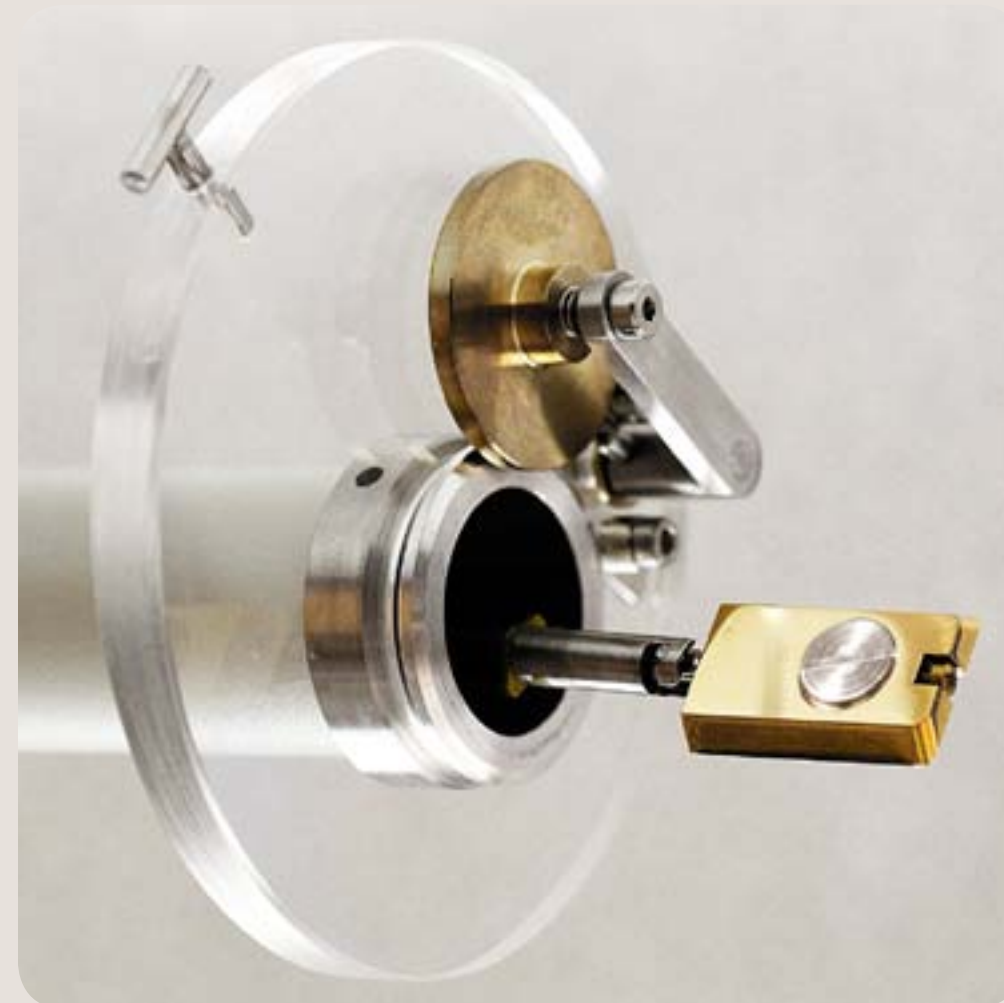
MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

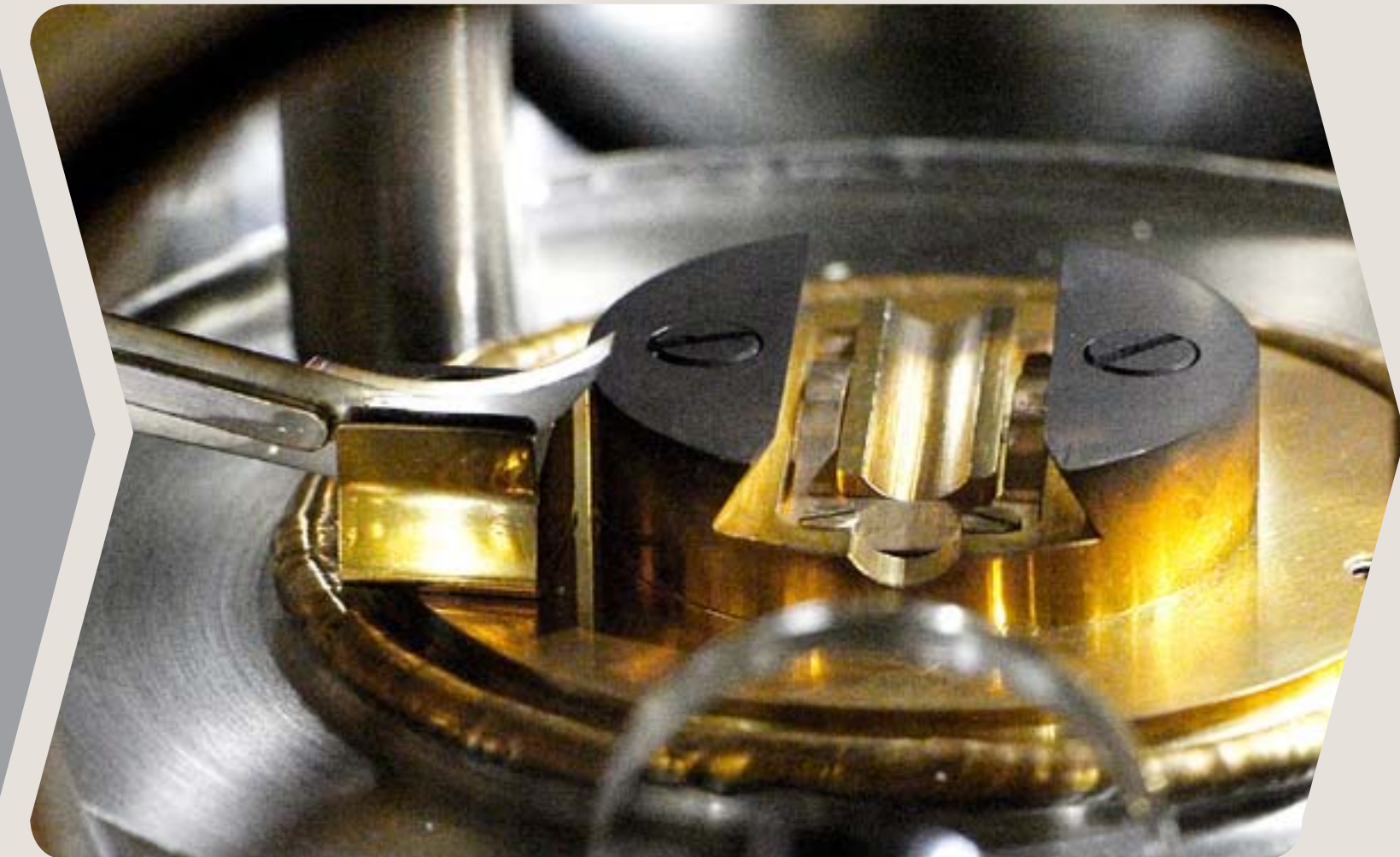
HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Dépôt de l'échantillon
sur le porte objet



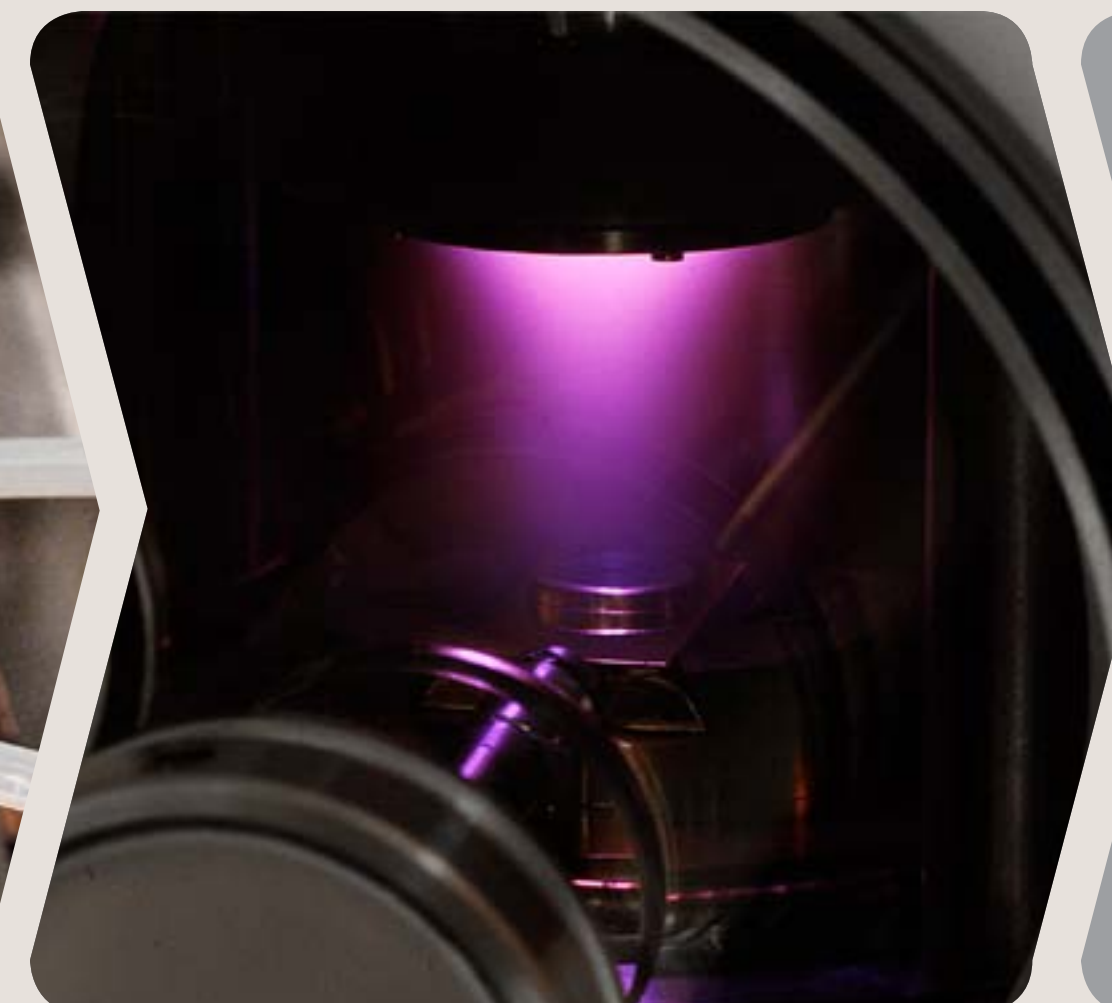
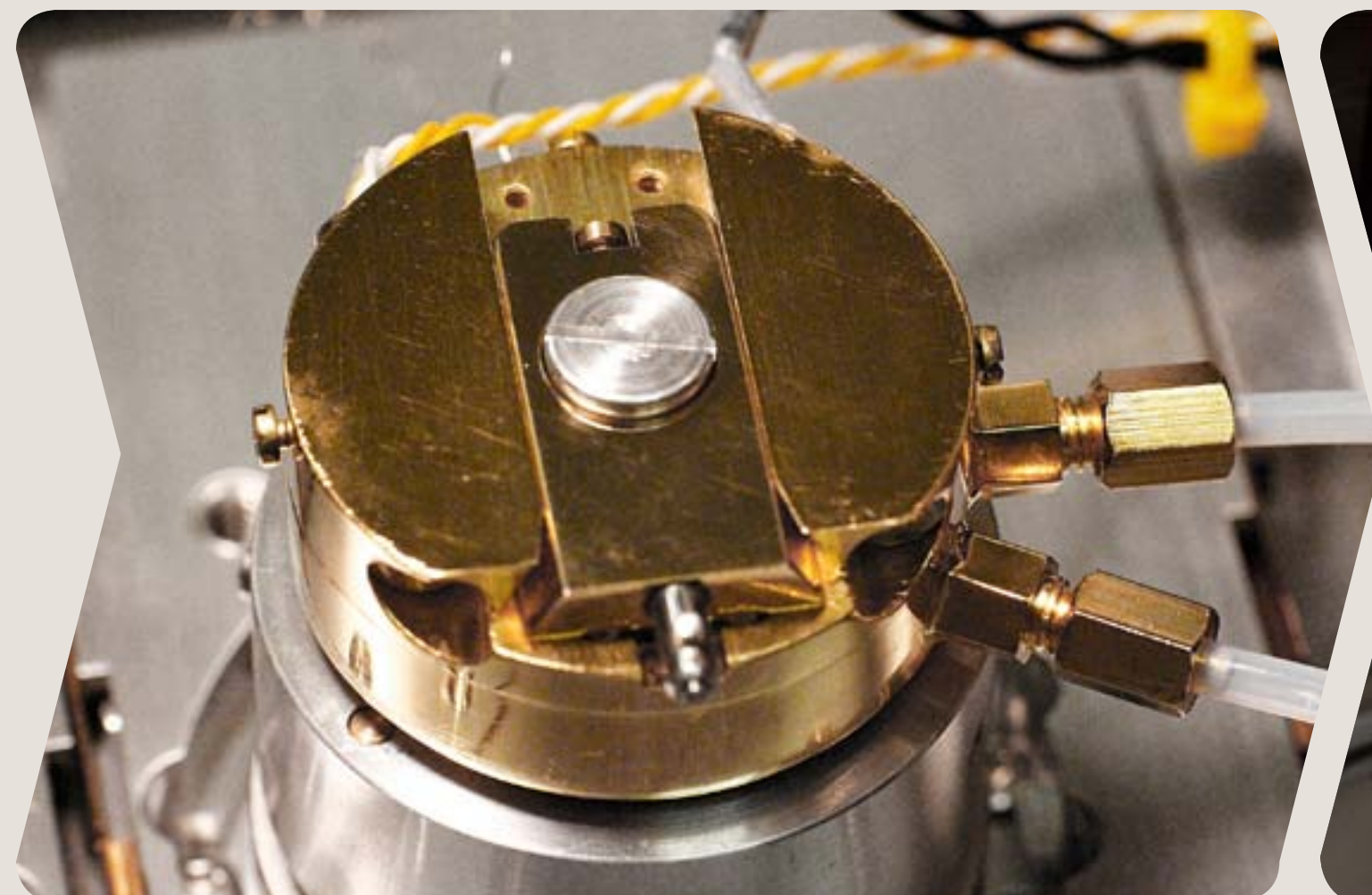
Transfert de l'échantillon dans la
chambre cryo sous vide / Fracture



CONGÉLATION

- Azote pateux

- EMPact



OBSERVATION

Transfert sur la platine du microscope
Sublimation de la surface

Retour dans la chambre
pour la métallisation

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



CONGÉLATION À L'AZOTE PATEUX

Avantages

- Rapide
- Équipement basique

Inconvénients

- Mauvaise conduction thermique
- Gradient de congélation

Effets

- Formation de cristaux de glace
- Évacuation de la matière / Artefact

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

CONGÉLATION HAUTE PRESSION

But

Figer les structures en quelques millisecondes
Observation d'un état quasi natif

Principe

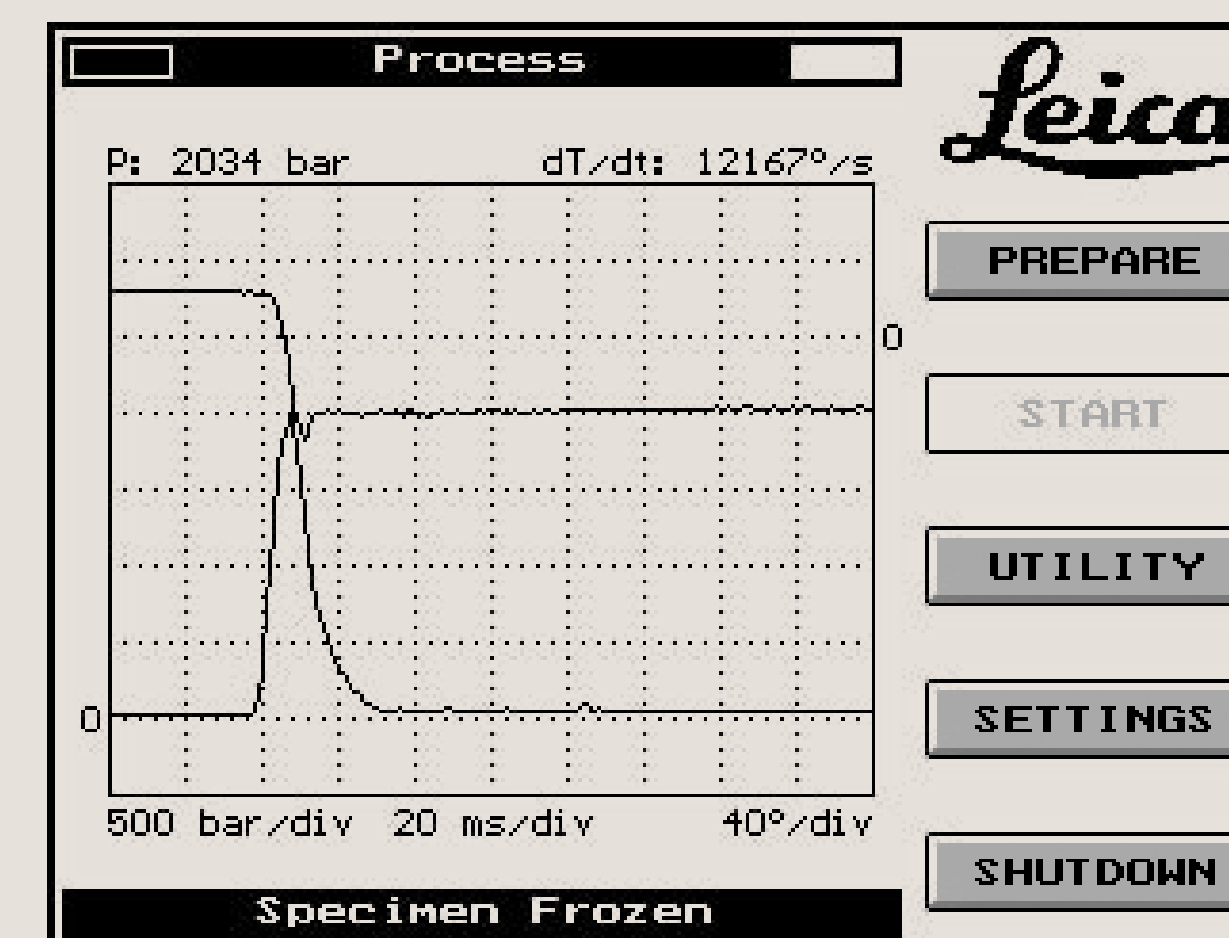
Appliquer une pression élevée (2000bars) à l'instant précis où la température favorise la congélation de l'eau sous une forme non destructrice (glace amorphe).

Avantages

- Meilleure congélation
- Pas de cristaux de glace
- Echantillons dans leur état quasi natif
- Reproductibilité

Inconvénients

- Coût
- Petite taille d'échantillon :
Empact (1.2 mm), HPM100 (6mm)
- Transfert sur le porte-objet délicat (Cf. givre)
- Fractures de la surface difficile



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

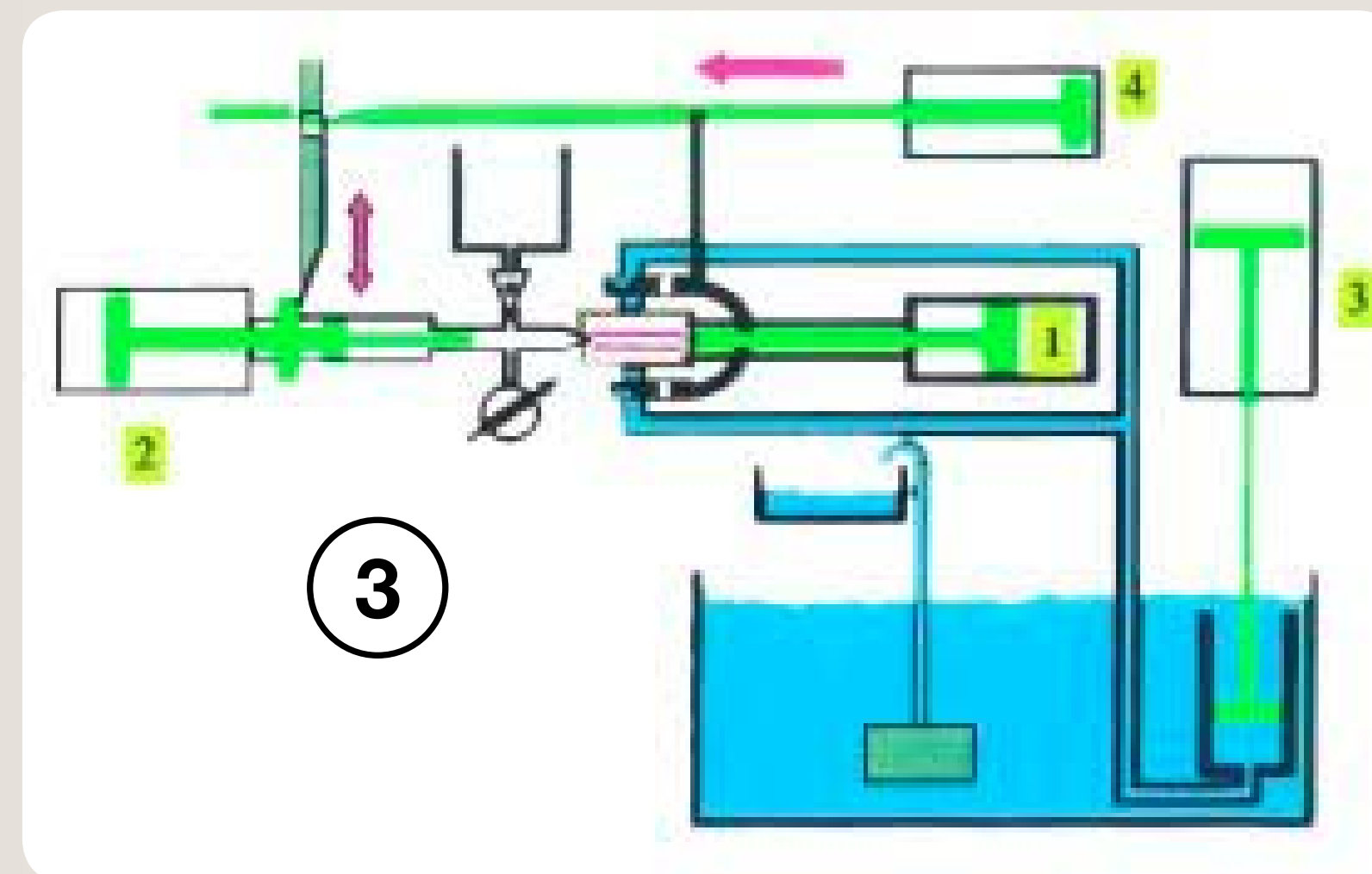
ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



Méthode

- ① Dépôt de l'échantillon au fond de la cupule de diamètre 1,2mm et de profondeur 0,2mm
- ② La cupule est fixée dans le mord et dans le bras de transport
- ③ L'ensemble est introduit dans l'EMPact puis congelé
- ④ La cupule est stockée dans l'azote liquide
- ⑤ La cupule est transférée (dans l'azote) sur le porte échantillon spécial

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

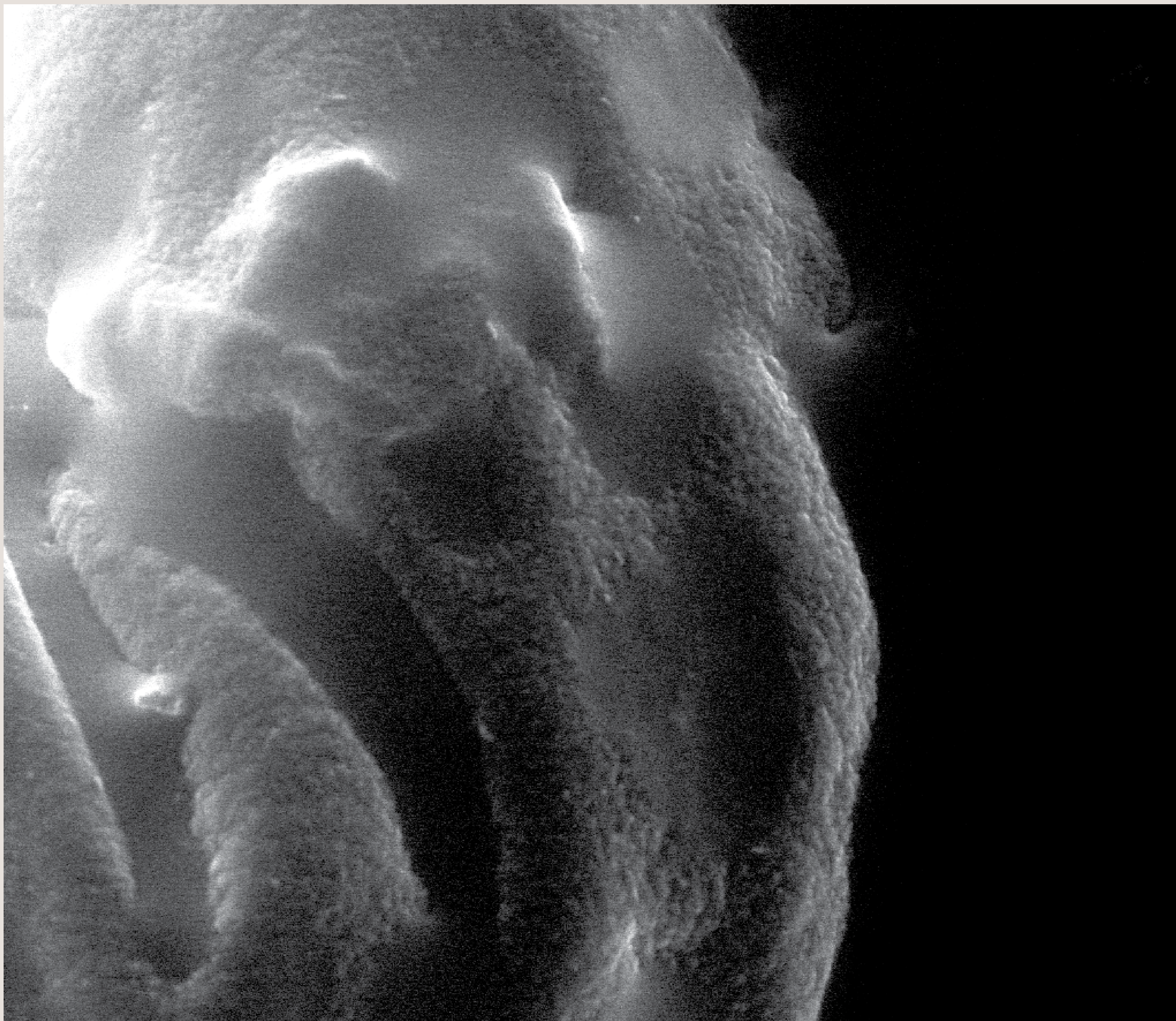
HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

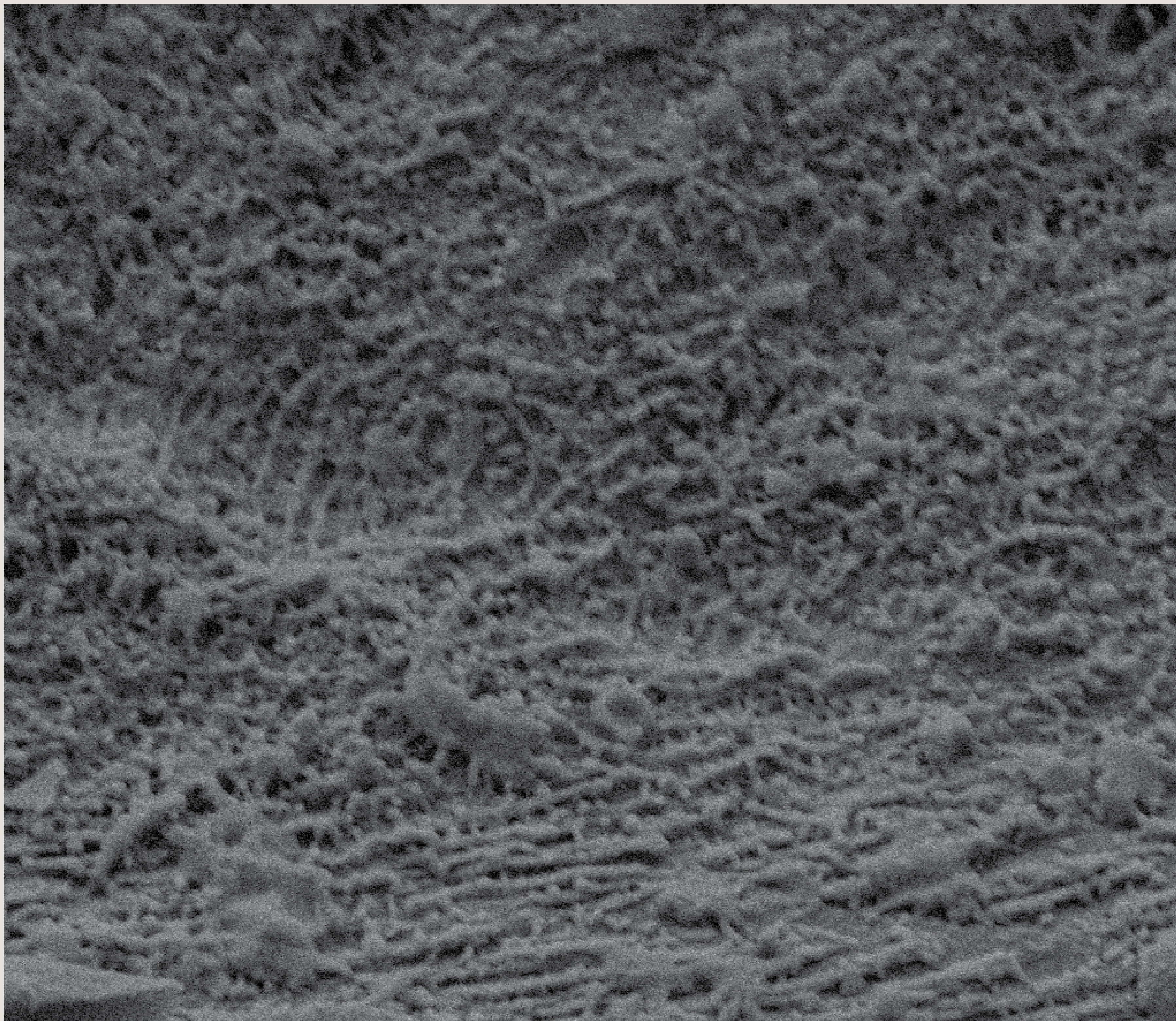
CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Observation des échantillons Hydrogels de référence

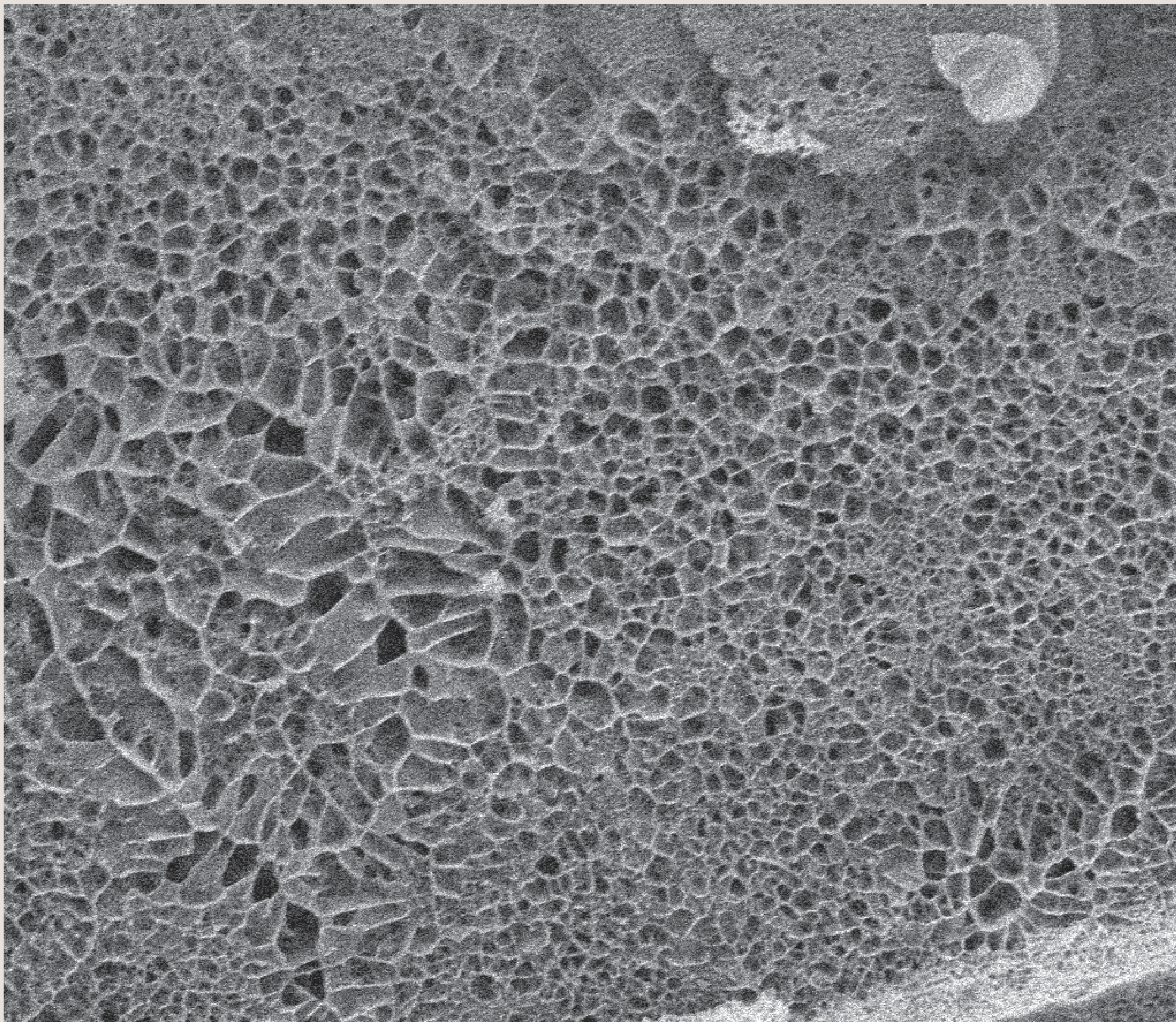




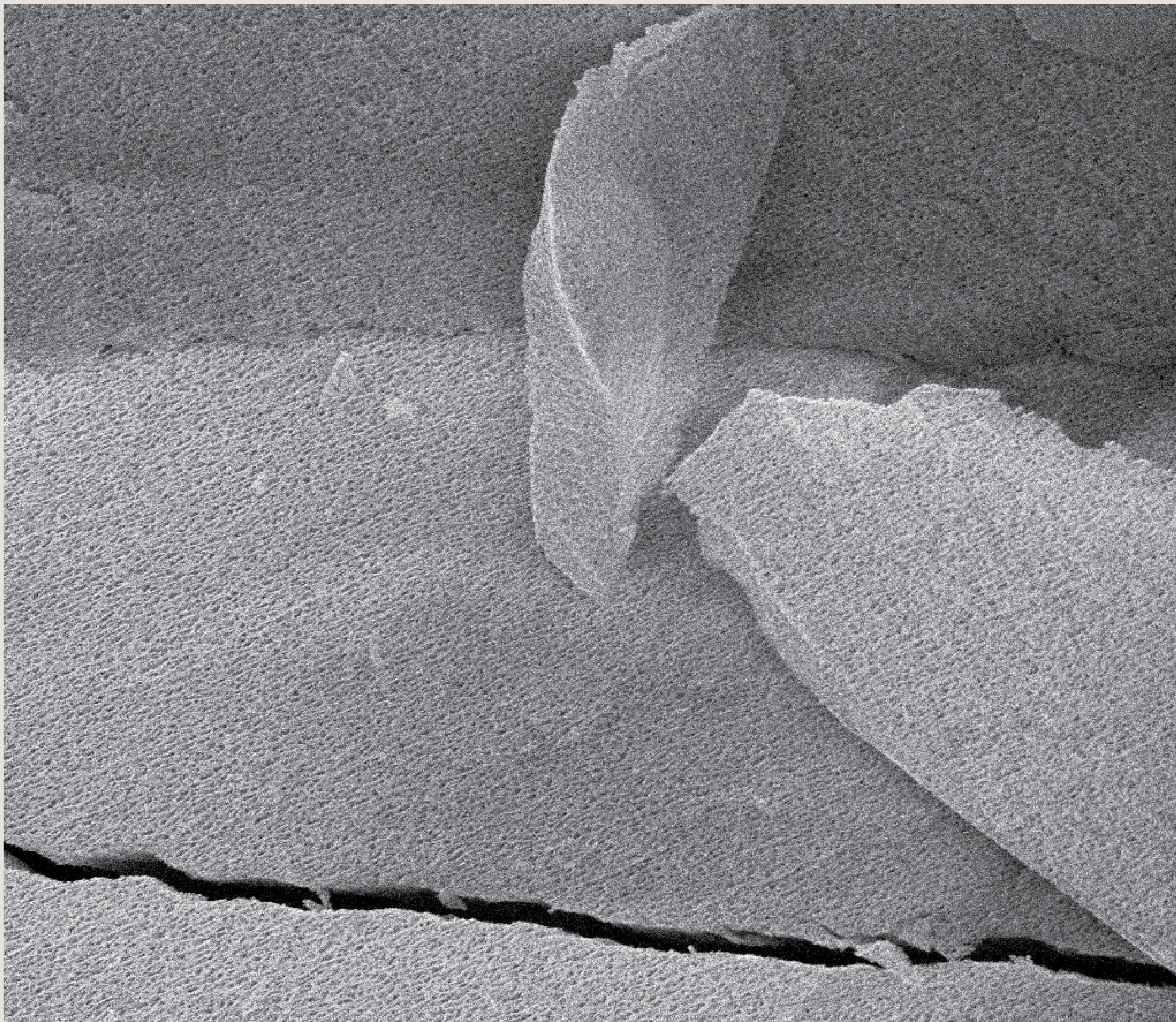
HV	mag	pressure	WD	det	← 100 μm →
10.00 kV	600 x	6 Torr	7.5 mm	GSED	



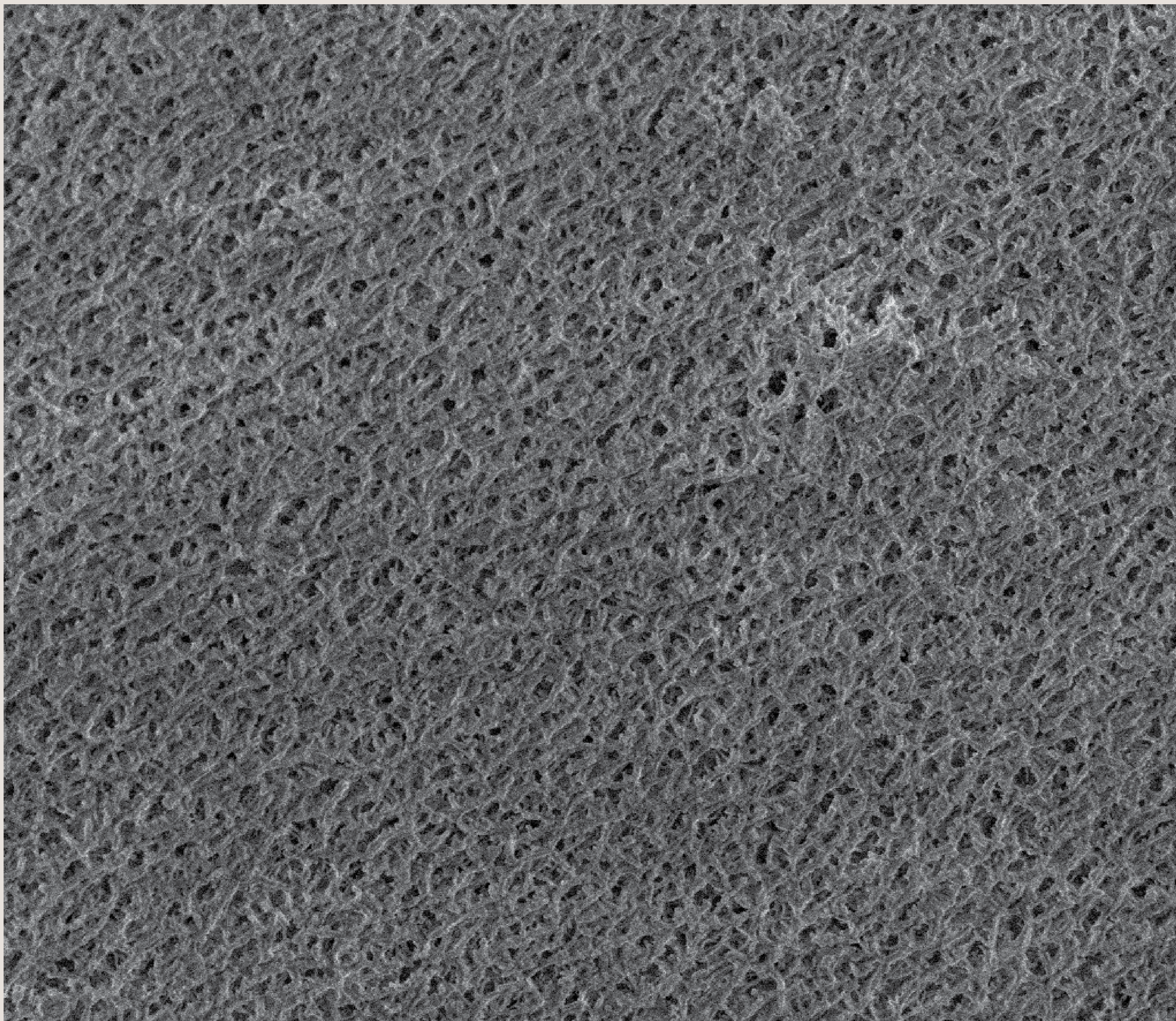
HV	pressure	det	mag	WD	← 20 μm →
5.00 kV	9.21e-6 mbar	ETD	3 047 x	9.7 mm	



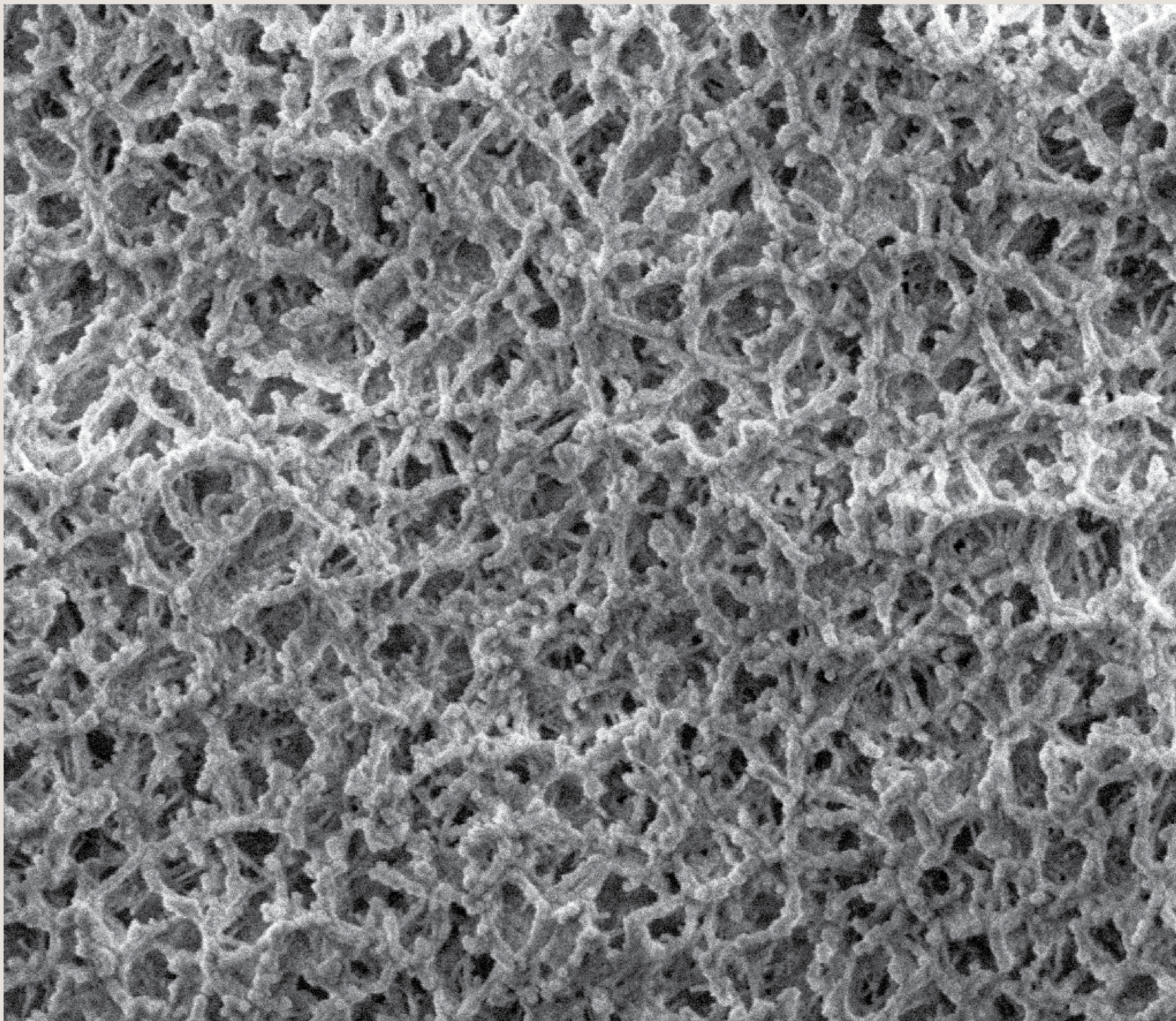
HV	pressure	det	mag	WD	← 40 μm →
5.00 kV	1.59e-6 mbar	ETD	1 542 x	9.5 mm	



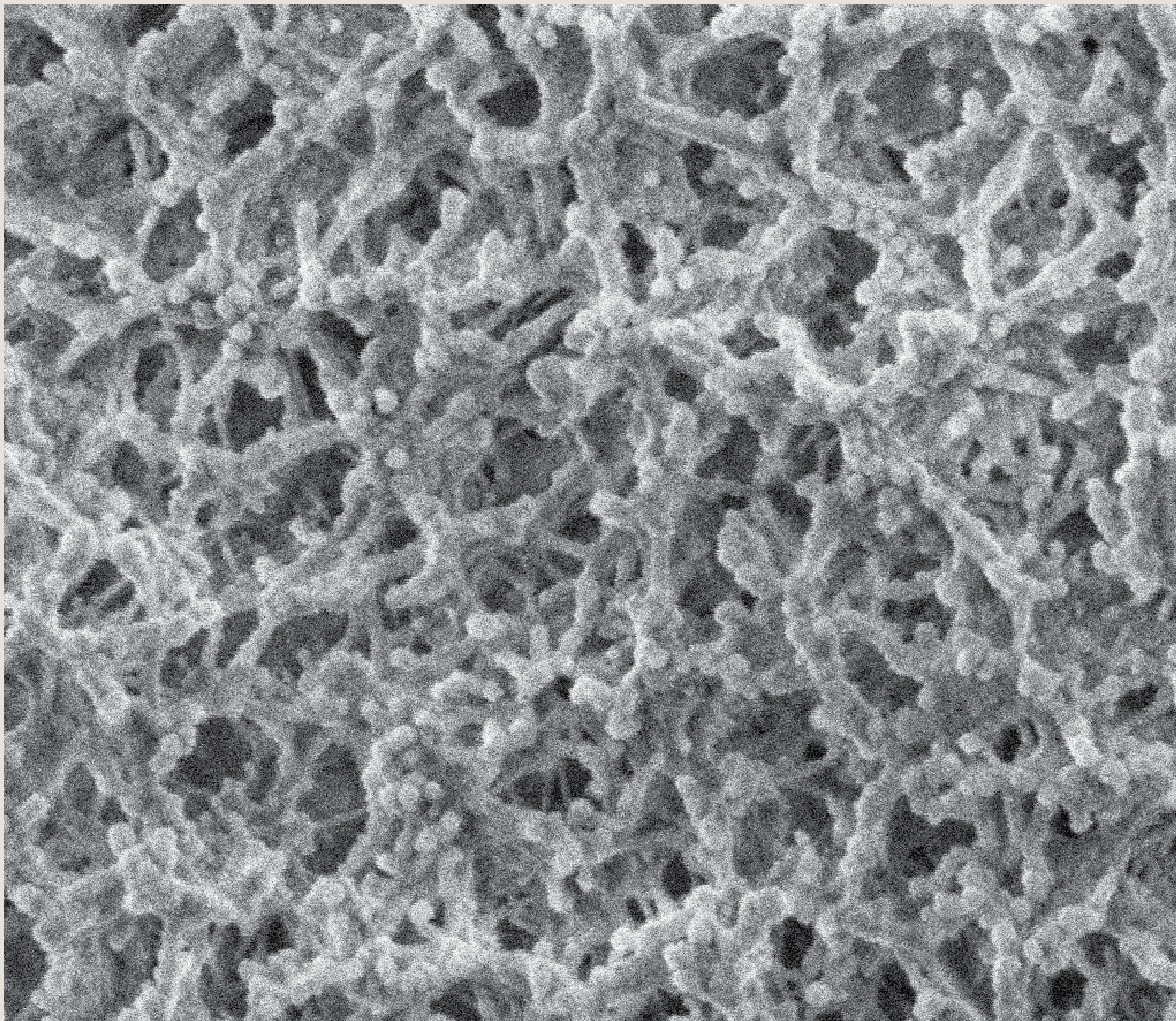
HV	pressure	det	mag	WD	← 50 μm →
700.00 V	3.24e-7 Torr	ETD	1 200 x	10.7 mm	



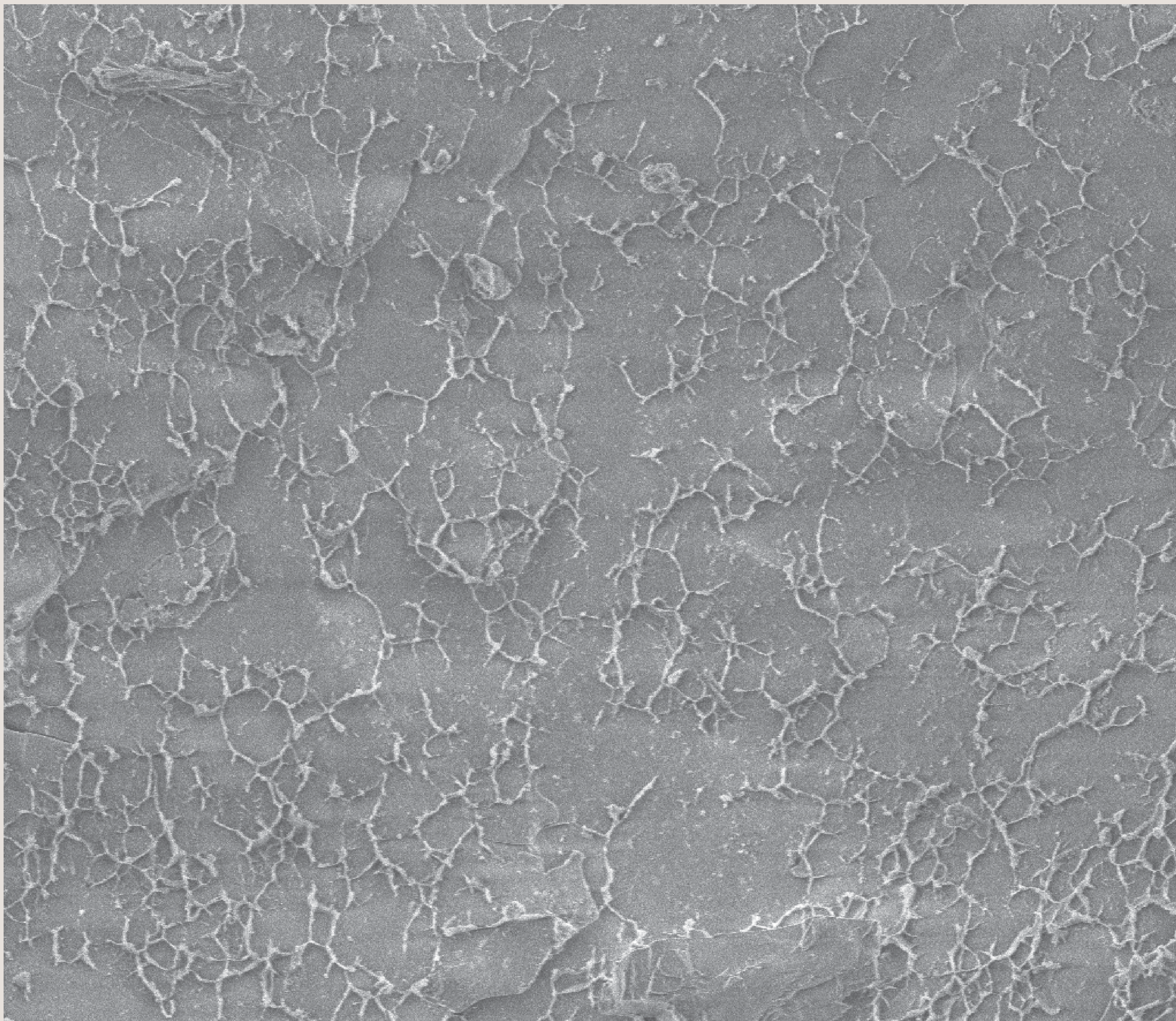
HV	pressure	det	mag	WD	← 10 μm →
2.00 kV	3.16e-7 Torr	ETD	5 000 x	10.2 mm	



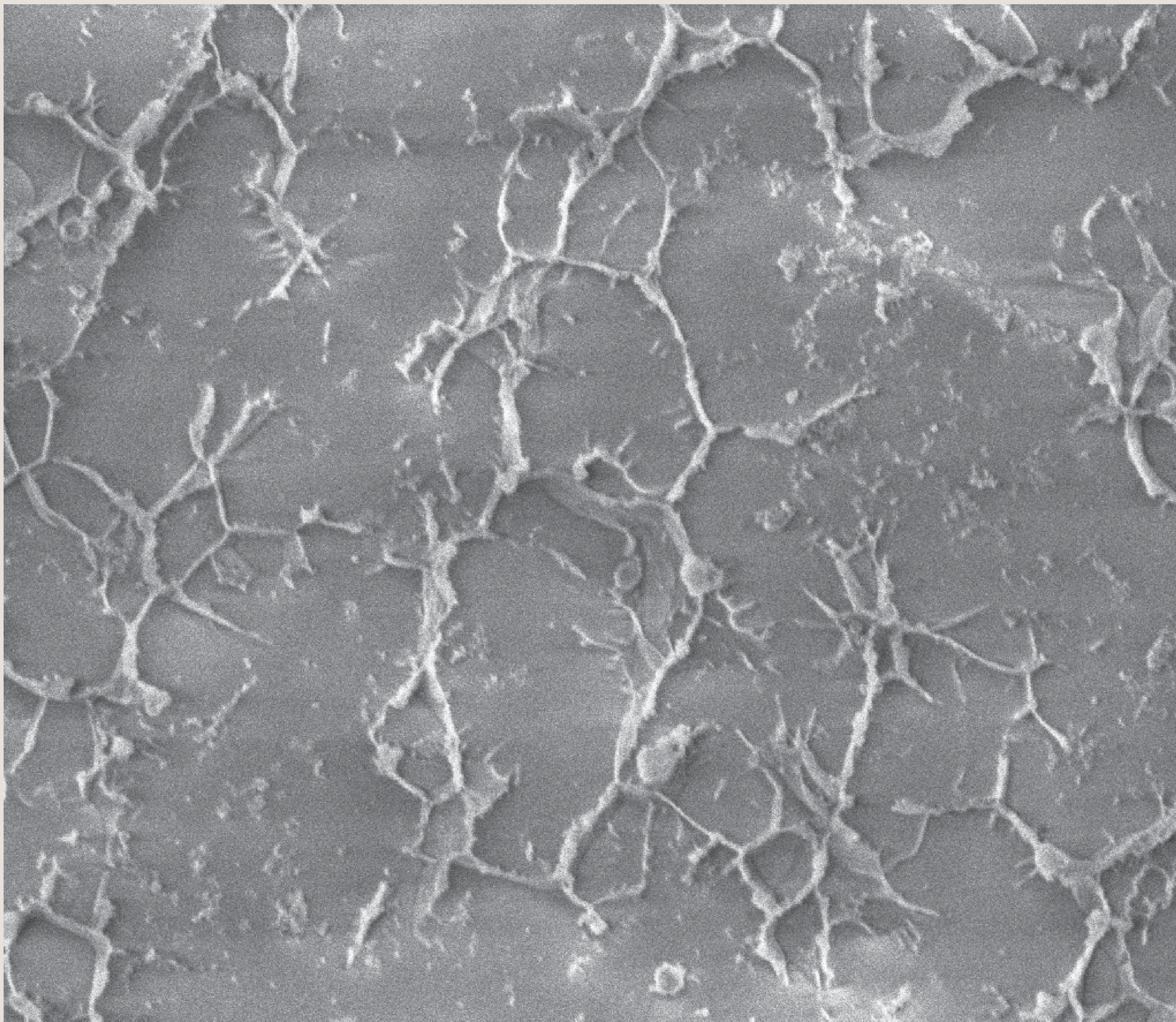
HV	pressure	det	mag	WD	5 μm
2.00 kV	3.16e-7 Torr	ETD	10 000 x	10.2 mm	



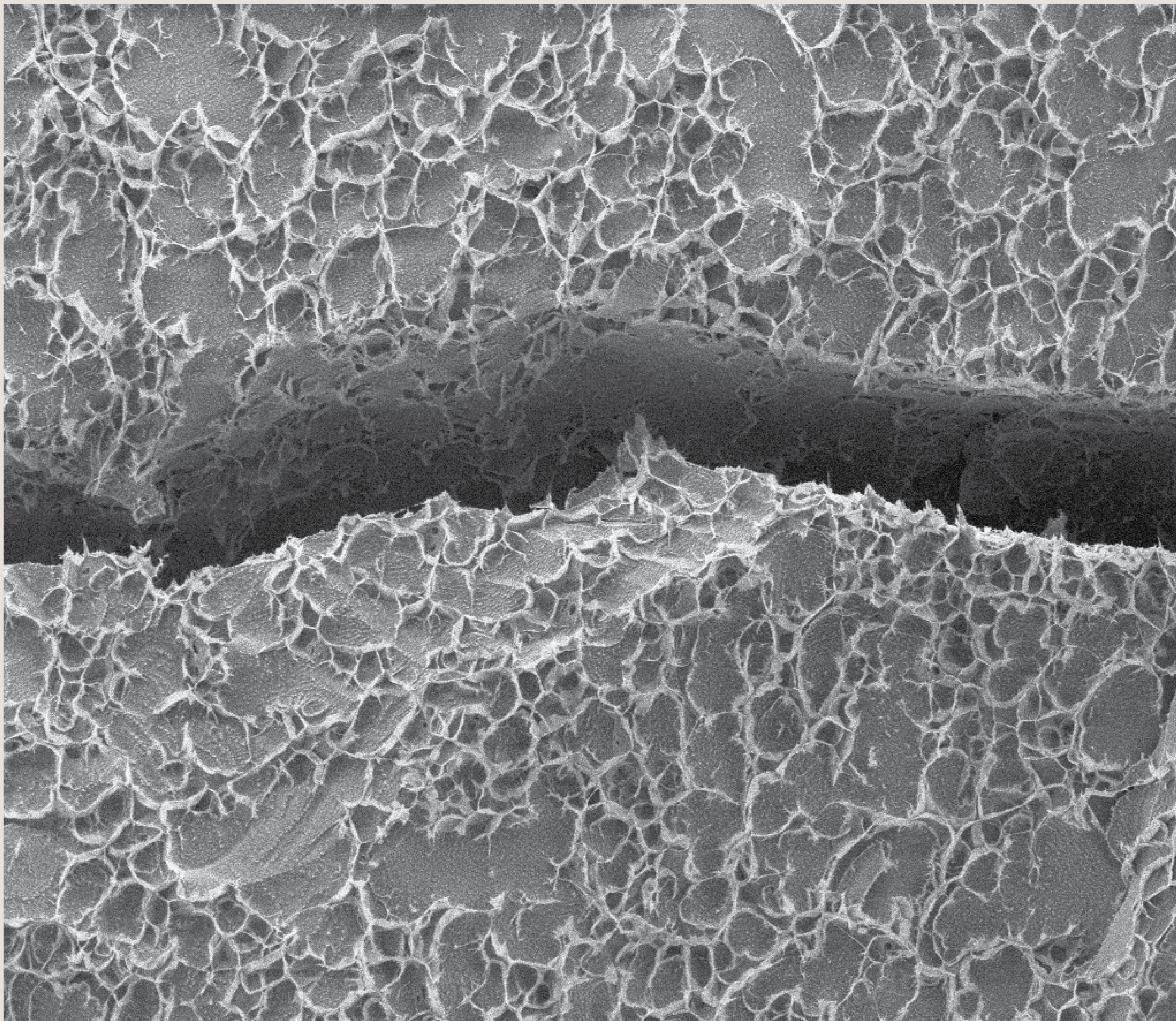
HV	pressure	det	mag	WD	← 3 μm →
2.00 kV	3.16e-7 Torr	ETD	20 000 x	10.2 mm	



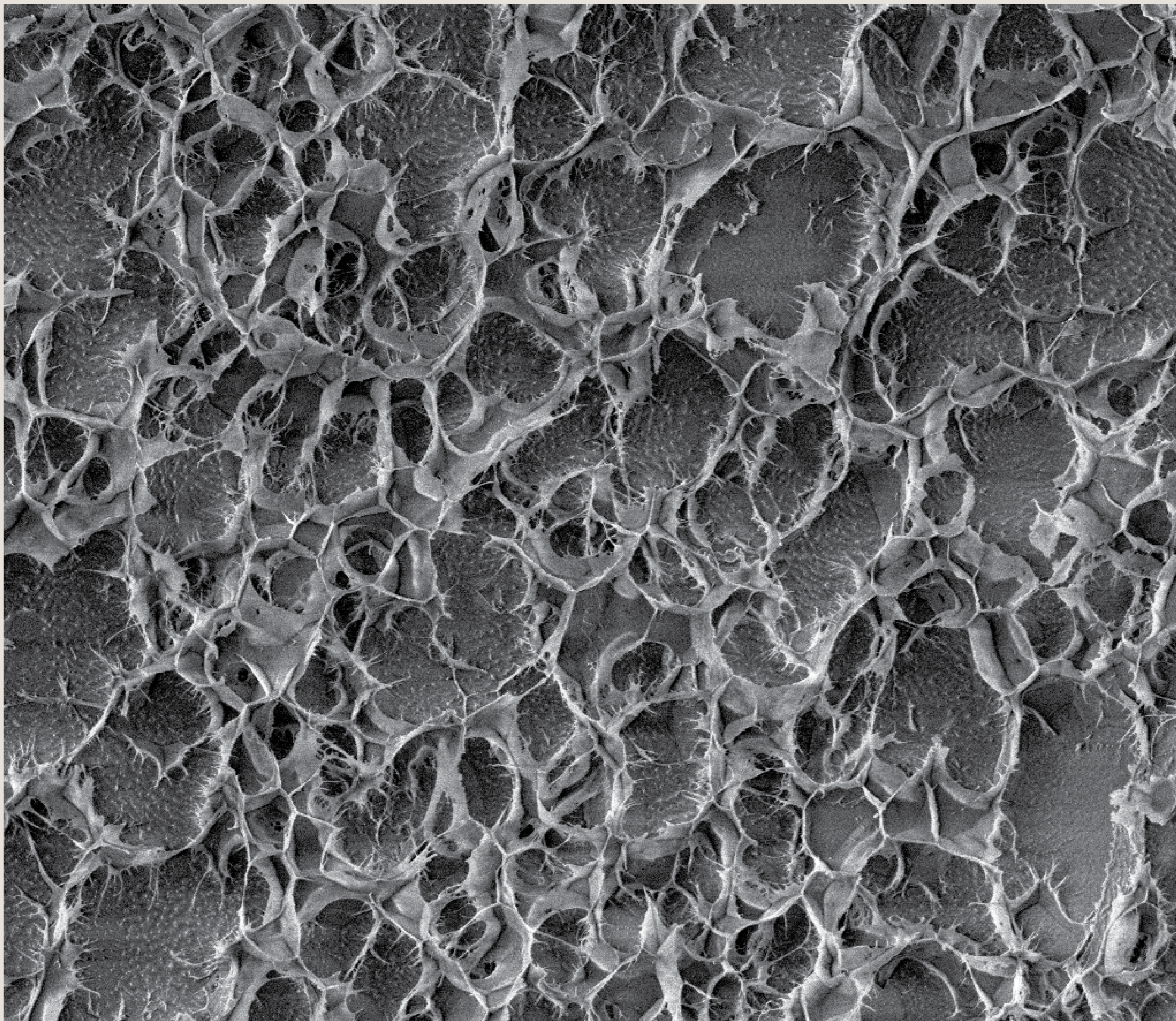
HV	pressure	det	mag	WD	← 50 μm →
2.00 kV	3.31e-7 Torr	ETD	1 300 x	10.9 mm	



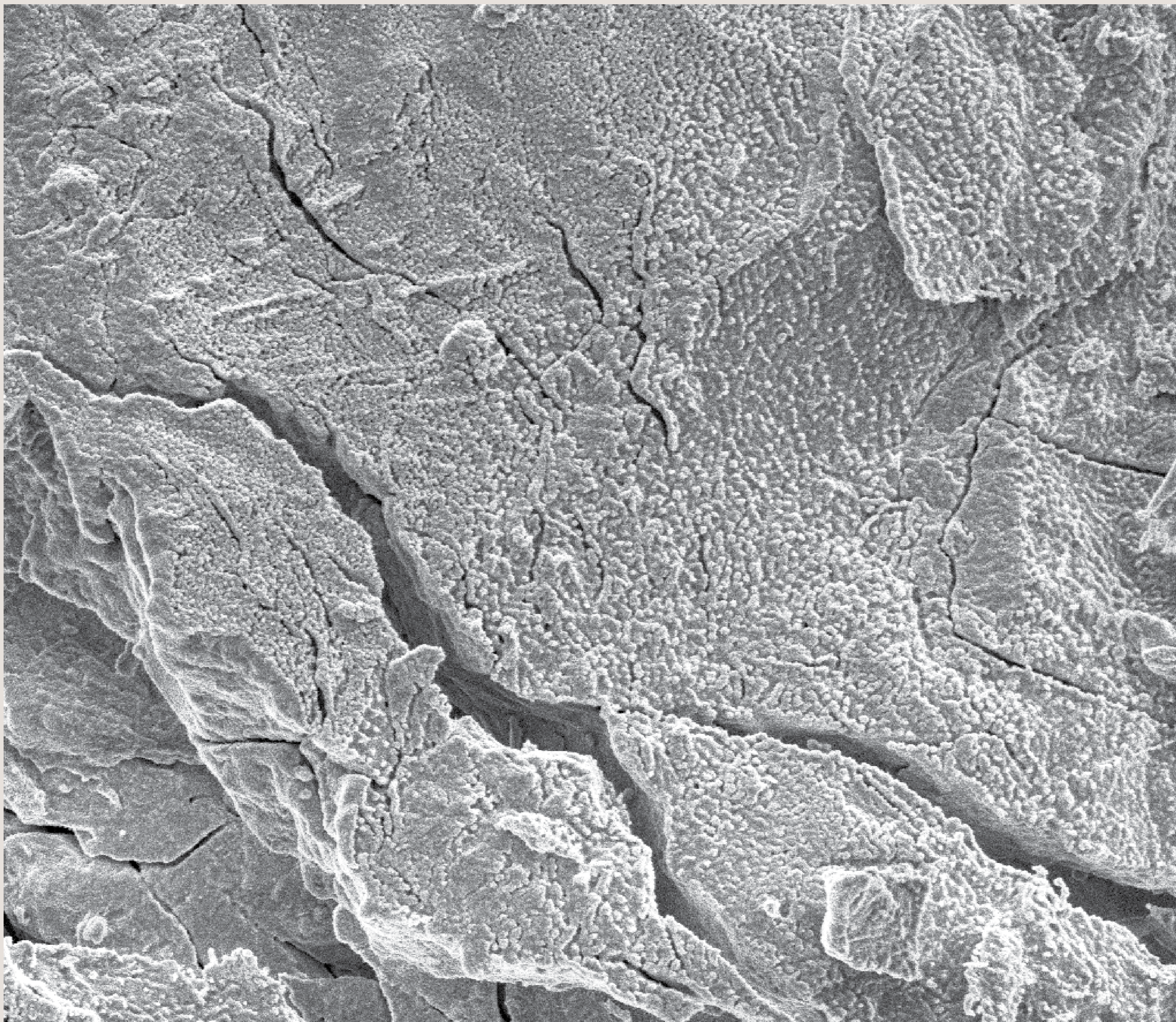
HV	pressure	det	mag	WD	← 10 μm →
2.00 kV	3.31e-7 Torr	ETD	5 000 x	10.9 mm	



HV	pressure	det	mag	WD	← 40 μm →
2.00 kV	4.05e-7 Torr	ETD	1 500 x	10.9 mm	



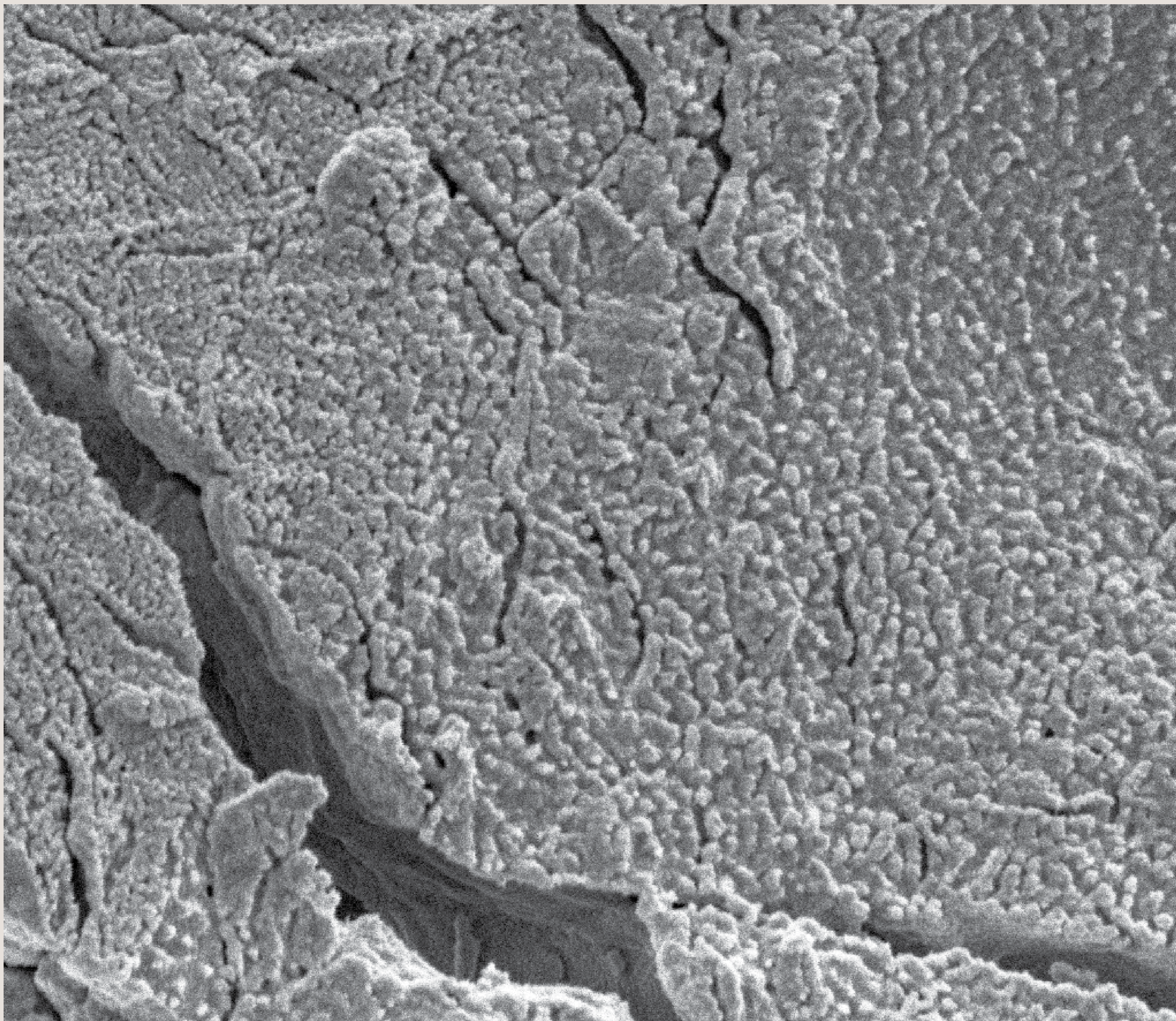
HV	pressure	det	mag	WD	← 20 μm →
2.00 kV	3.24e-7 Torr	ETD	3 000 x	10.9 mm	



HV	pressure	det	mag	WD	10 μ m
2.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	5 000 x	9.4 mm	

P2 EMpact

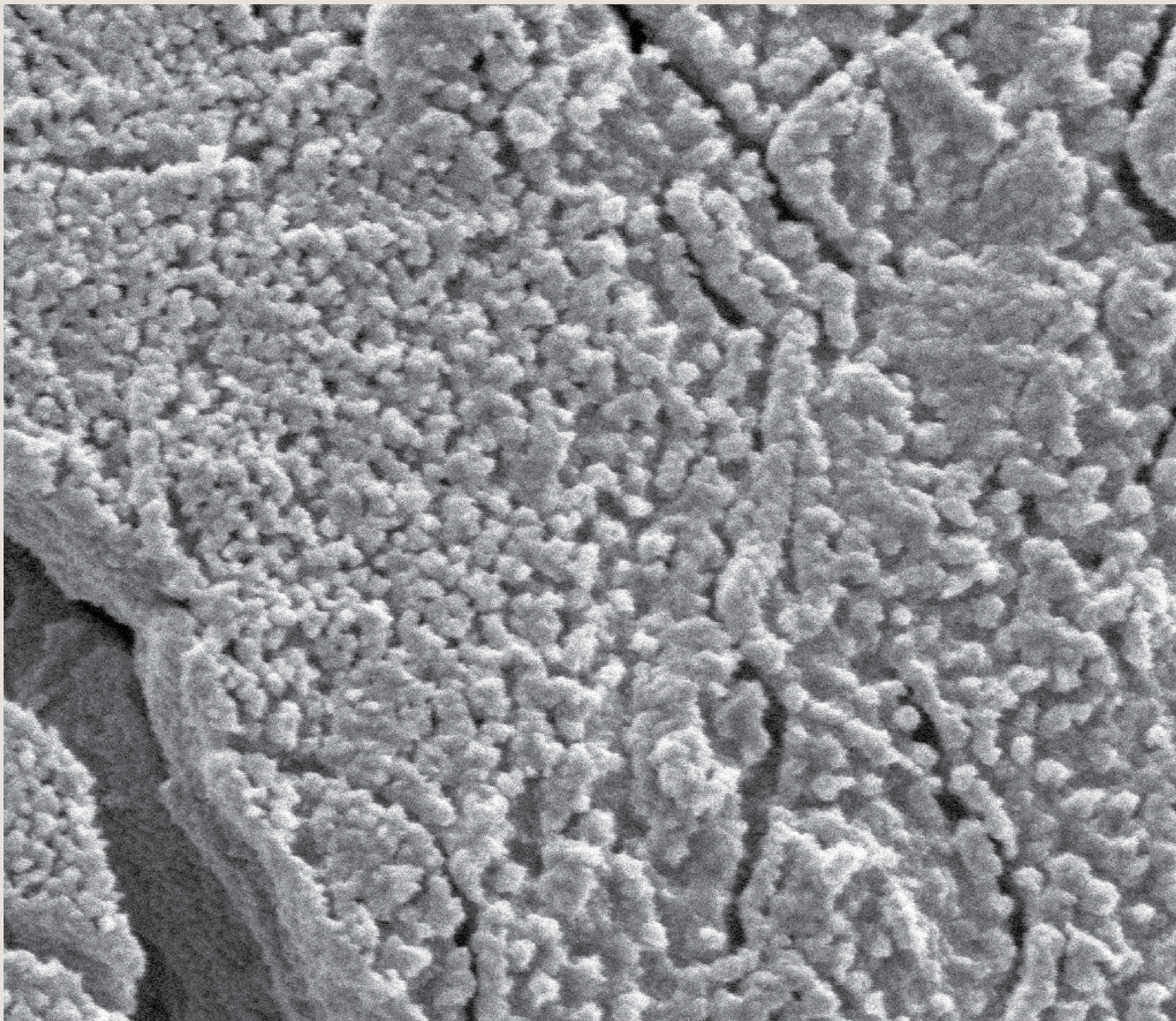




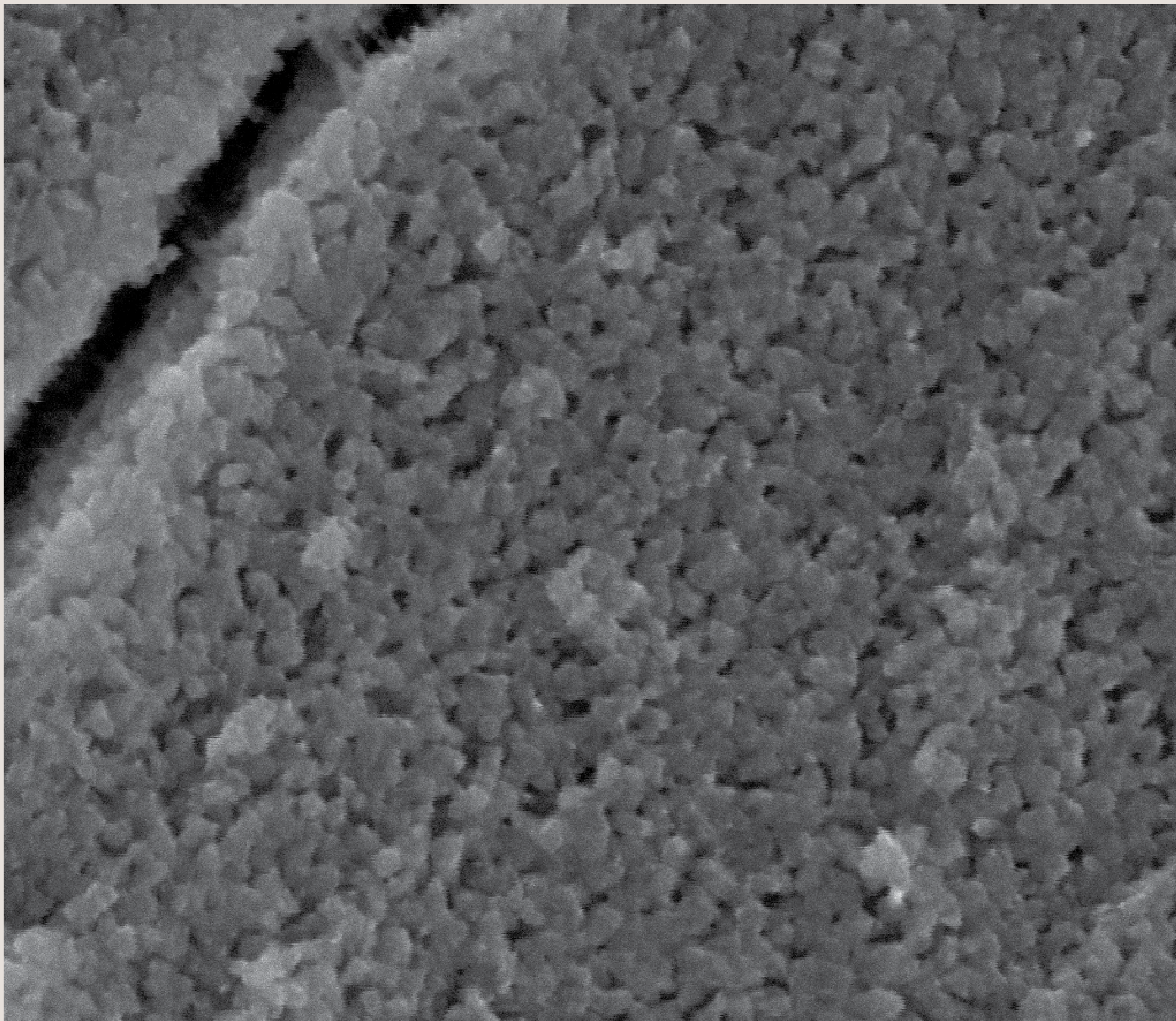
HV	pressure	det	mag	WD	5 μm
2.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	10 000 x	9.4 mm	

P2 EMpact

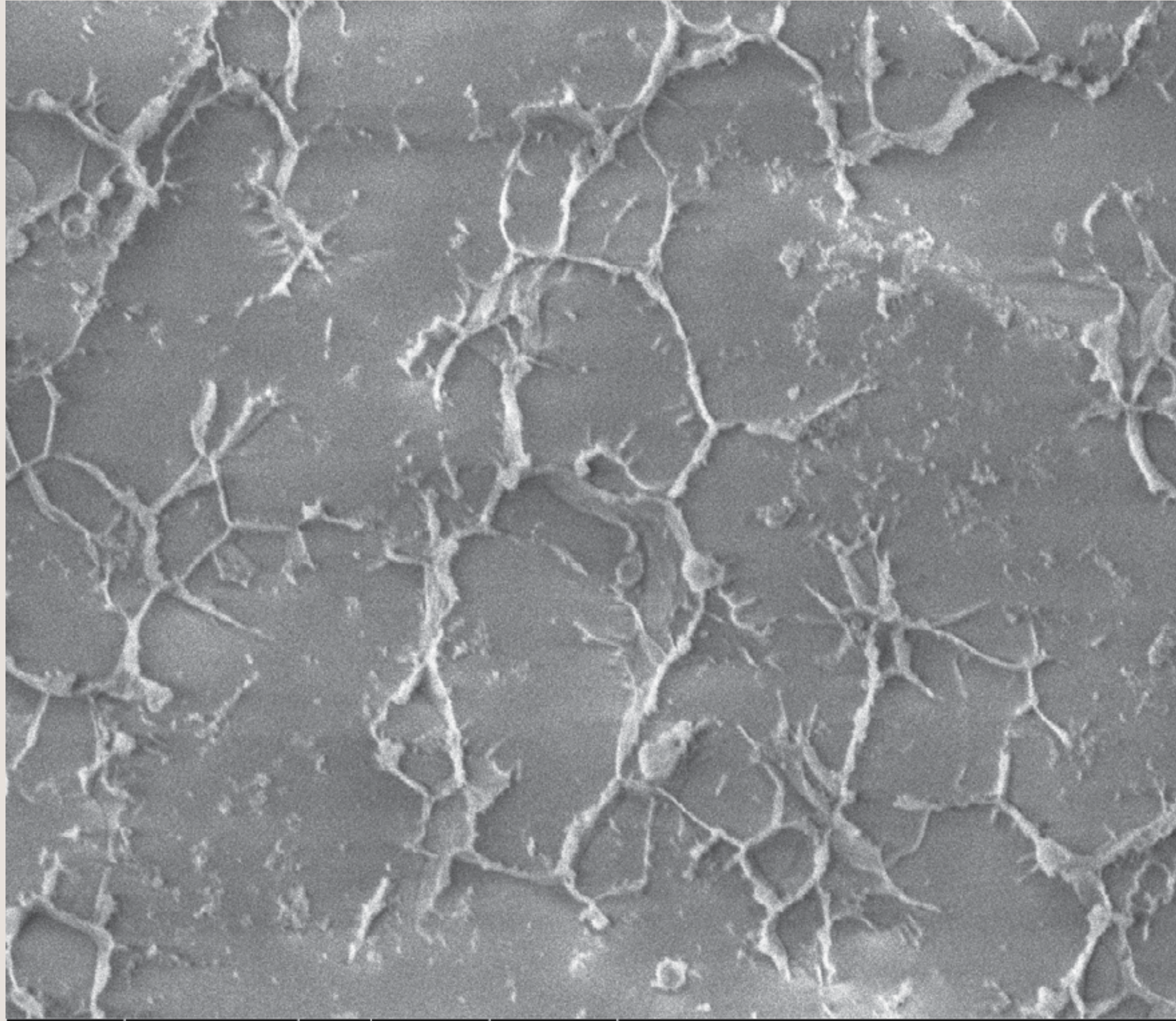




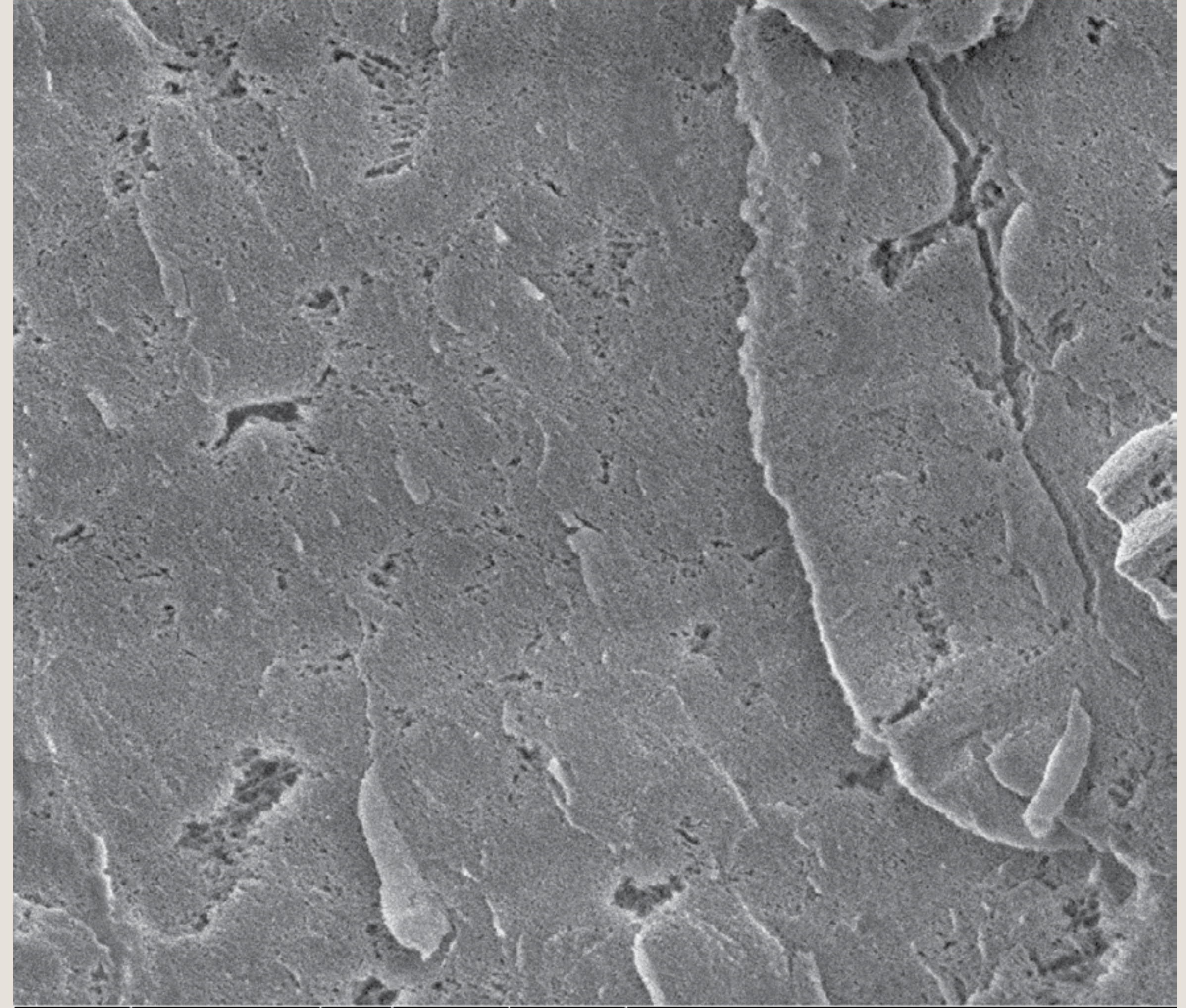
HV	pressure	det	mag	WD	← 3 μm → P2 EMpact
2.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	20 000 x	9.4 mm	



HV	pressure	det	mag	WD	1 μm P2 EMpact
5.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	40 000 x	9.6 mm	

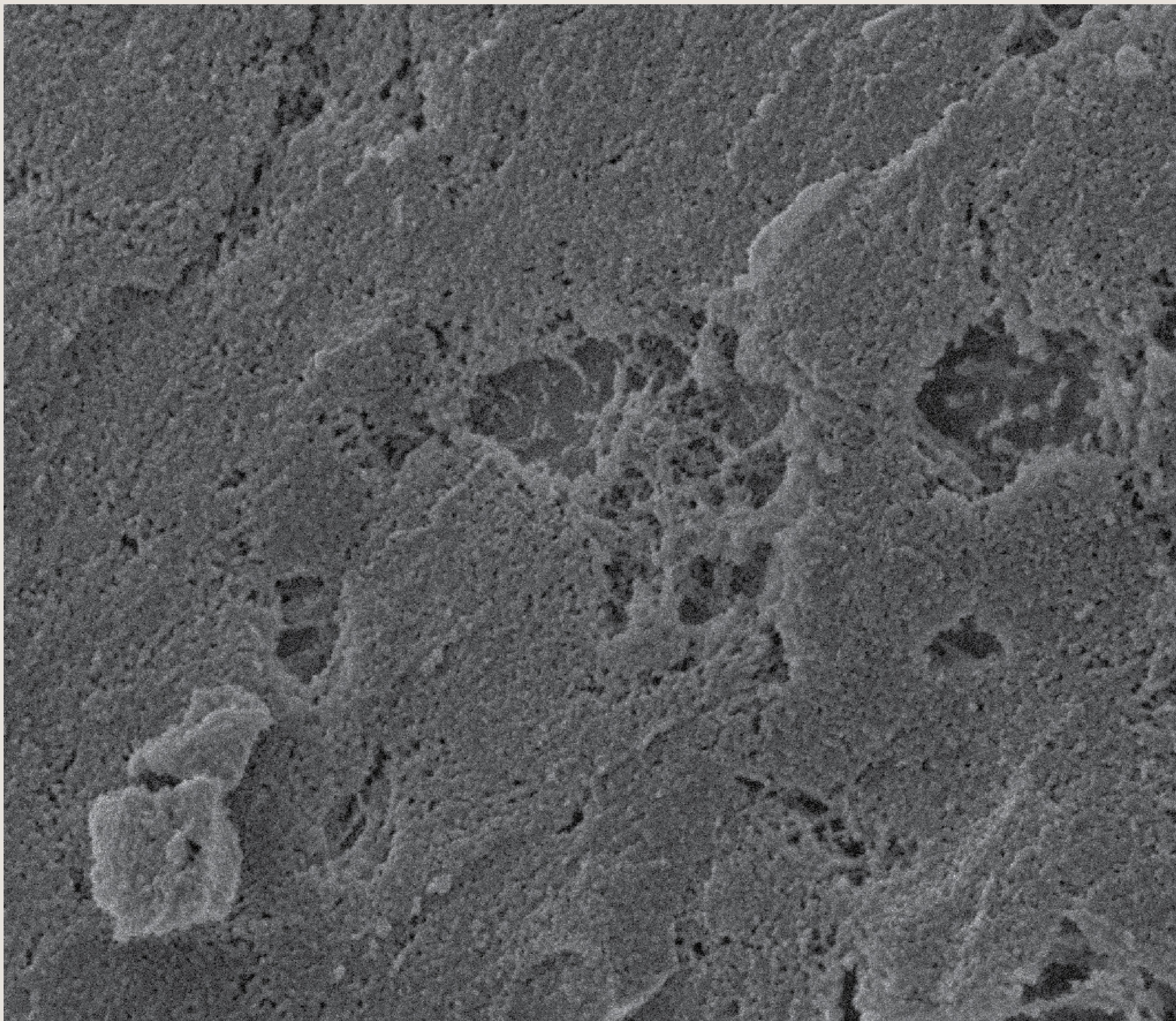


HV	pressure	det	mag	WD	10 μm
2.00 kV	3.31e-7 Torr	ETD	5 000 x	10.9 mm	

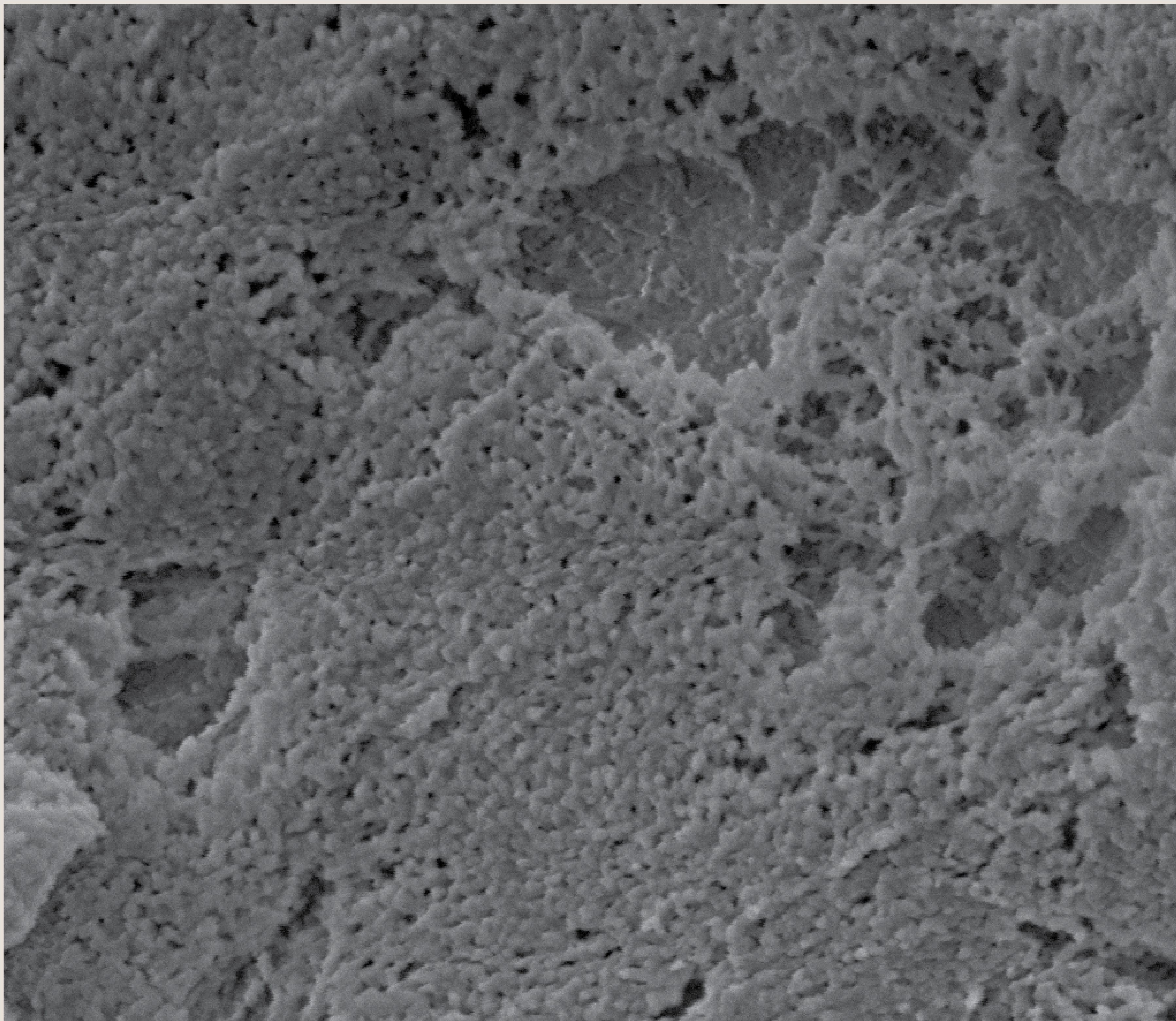


HV	pressure	det	mag	WD	10 μm
2.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	5 000 x	9.8 mm	

P1 EMpact

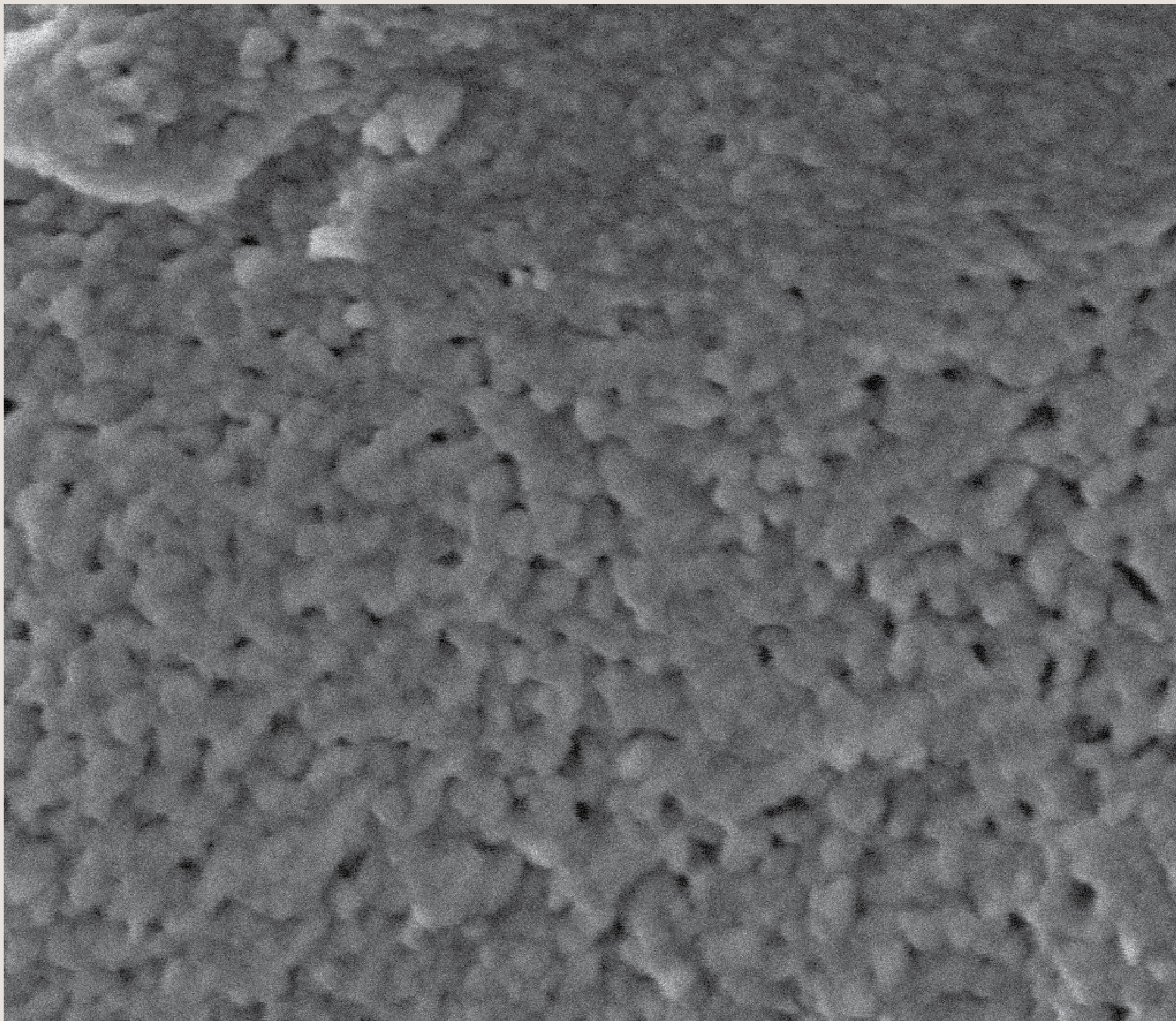


HV	pressure	det	mag	WD	5 μm P1 EMpact
2.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	10 000 x	9.8 mm	



HV	pressure	det	mag	WD	← 3 μm → P1 EMpact
2.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	20 000 x	9.8 mm	





HV	pressure	det	mag	WD	← 1 μm → P1 EMpact
2.00 kV	5.28e-7 mbar	ETD	40 000 x	9.8 mm	



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

CONCLUSIONS / Hydrogels de référence

- CryoMEB indispensable
- Méthode de congélation très importante
- P2 observable en azote pateux **si** bonnes conditions de congélation
- P2 bien visible en EMPact / Agrégats sphériques et réseau assez fin
- Artefacts observés pour P1 en congélation azote pateux.
- EMPact indispensable, structure très amorphe, difficile de décrire un réseau de pores et de déterminer les tailles.
- Homogénéité (gel ou congélation ?)



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutané chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

Implantations des hydrogels en sous cutané chez le rat

LE CHITOSANE
CONTEXTE

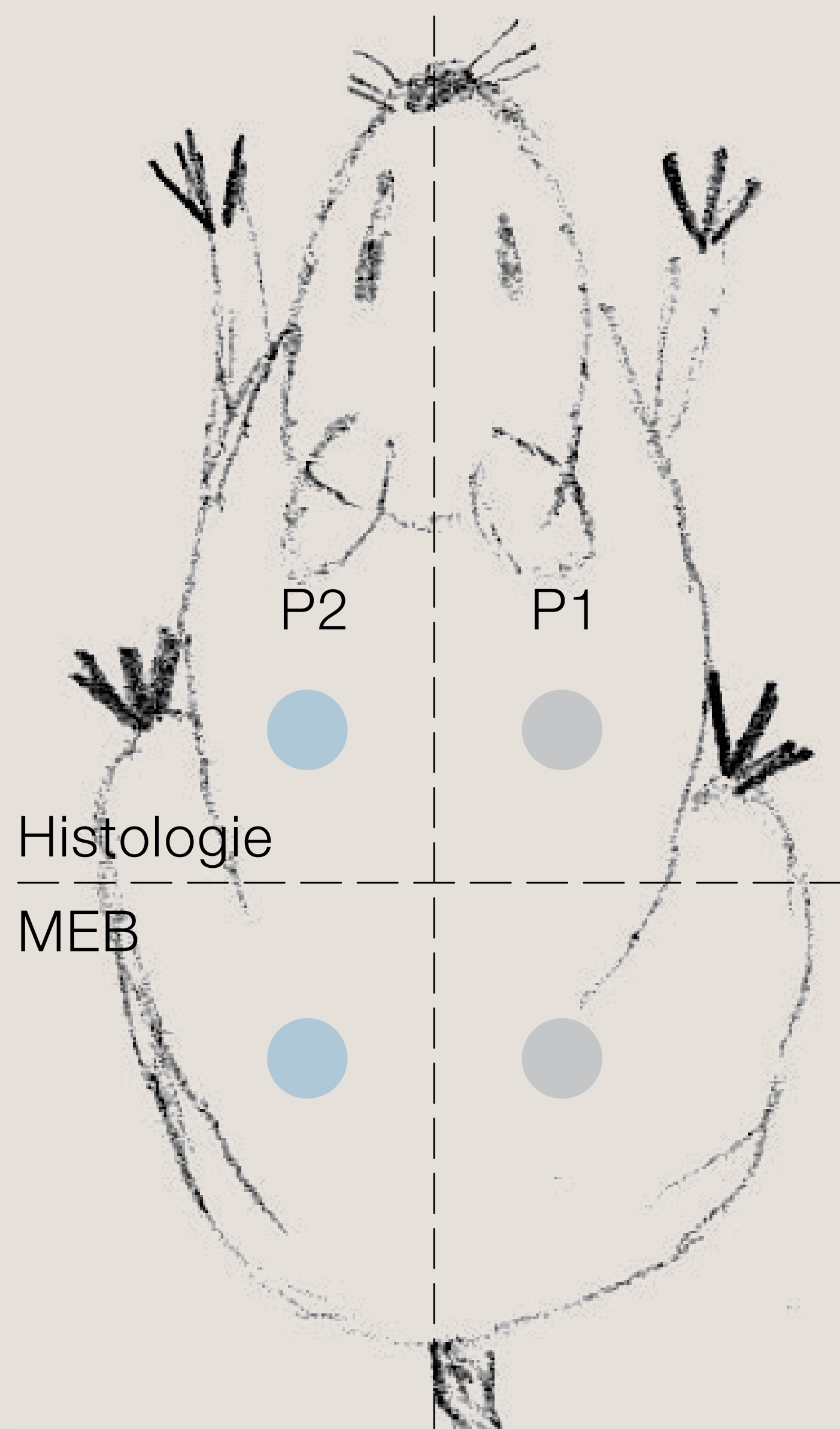
ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES



Hydrogels P1 et P2

Explantation à 1, 4 et 8 semaines

Fixation / Glutaraldéhyde 2% dans tampon Cacodylate

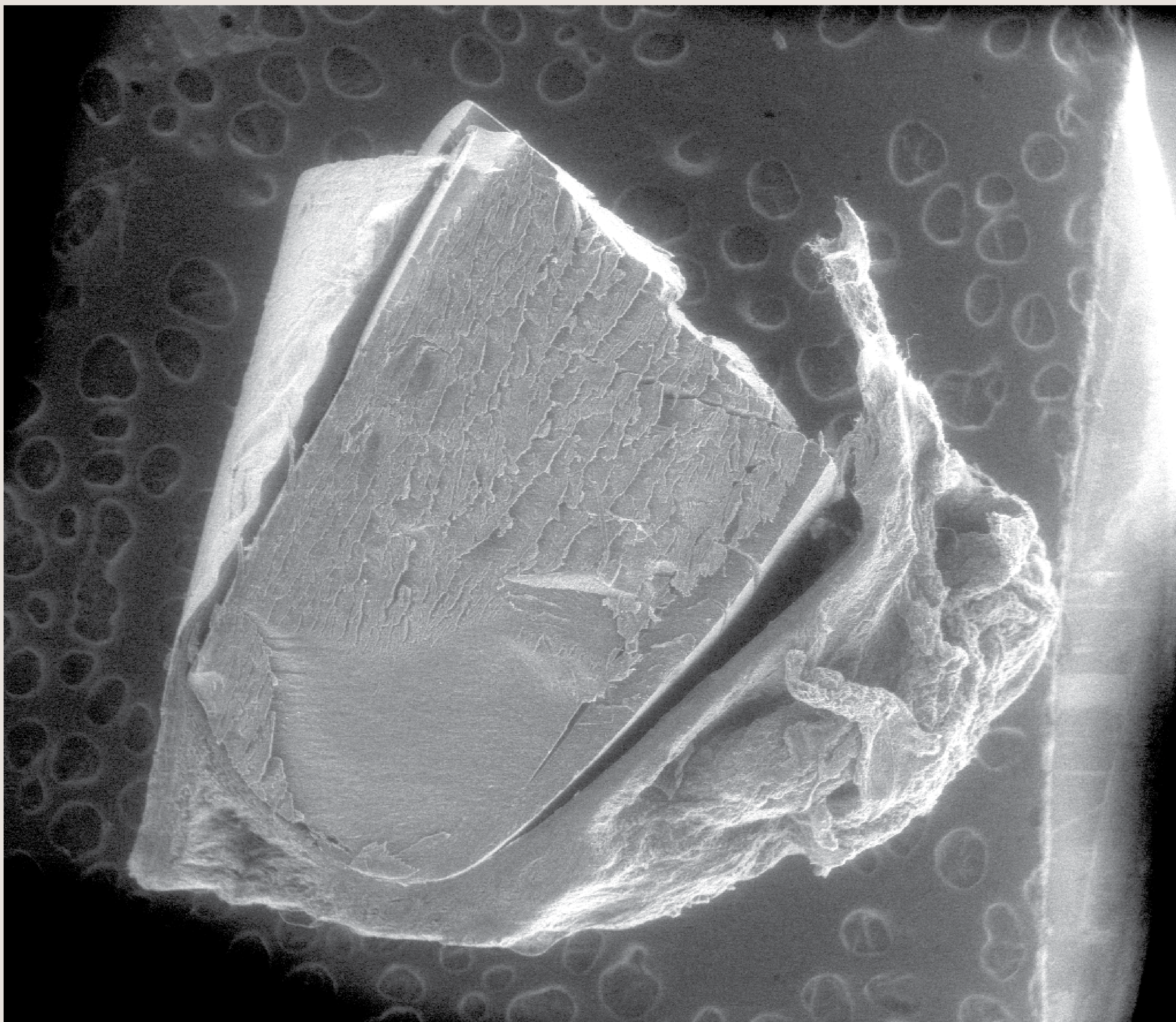
Résultats de l'histologie

Réaction inflammatoire limitée

P2 non colonisé mais entouré de cellules

P1 envahi par les cellules





HV	pressure	det	mag	WD	← 2 mm →
10.00 kV	9.74e-1 Torr	LFD	30 x	12.4 mm	



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

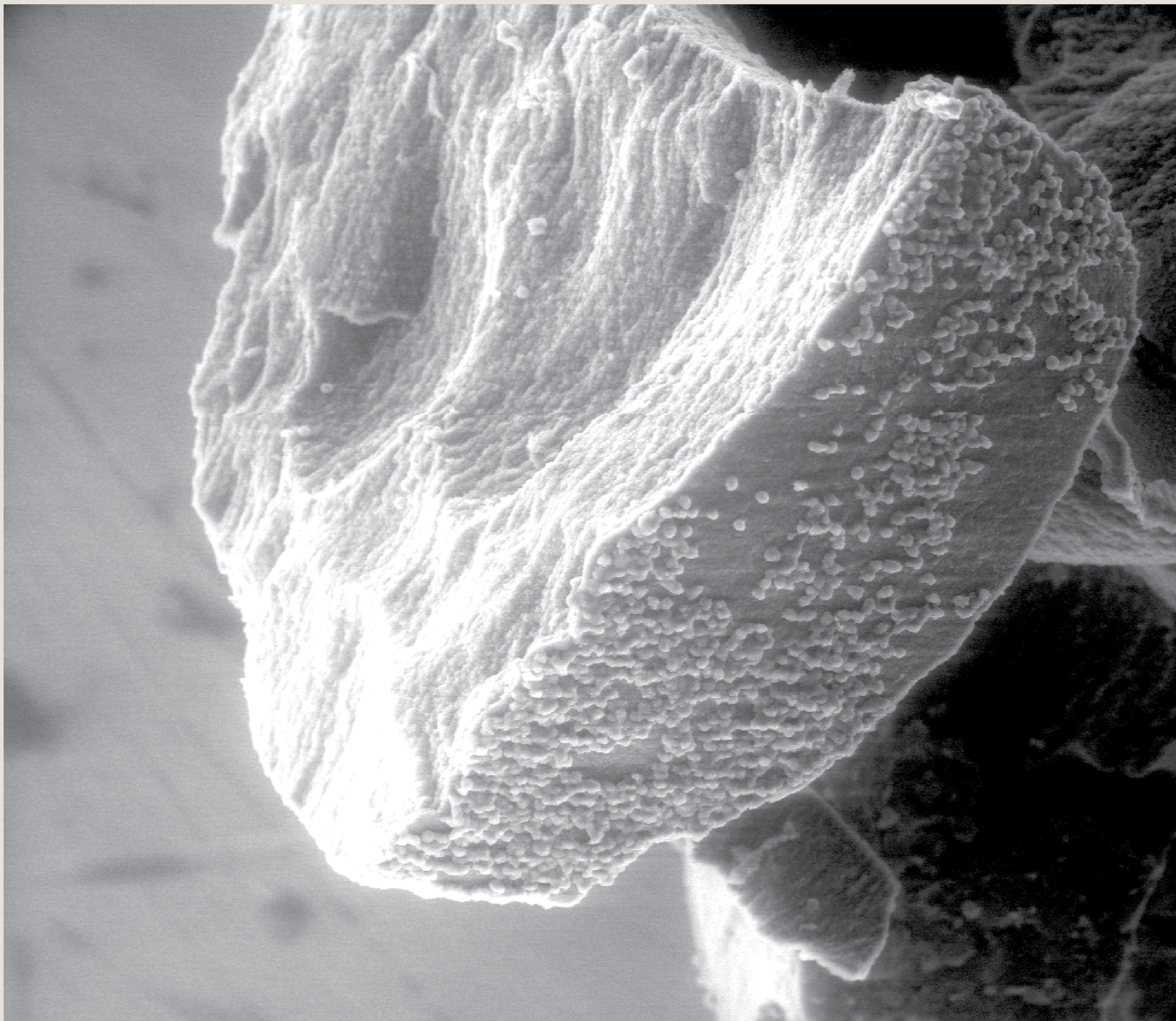
HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

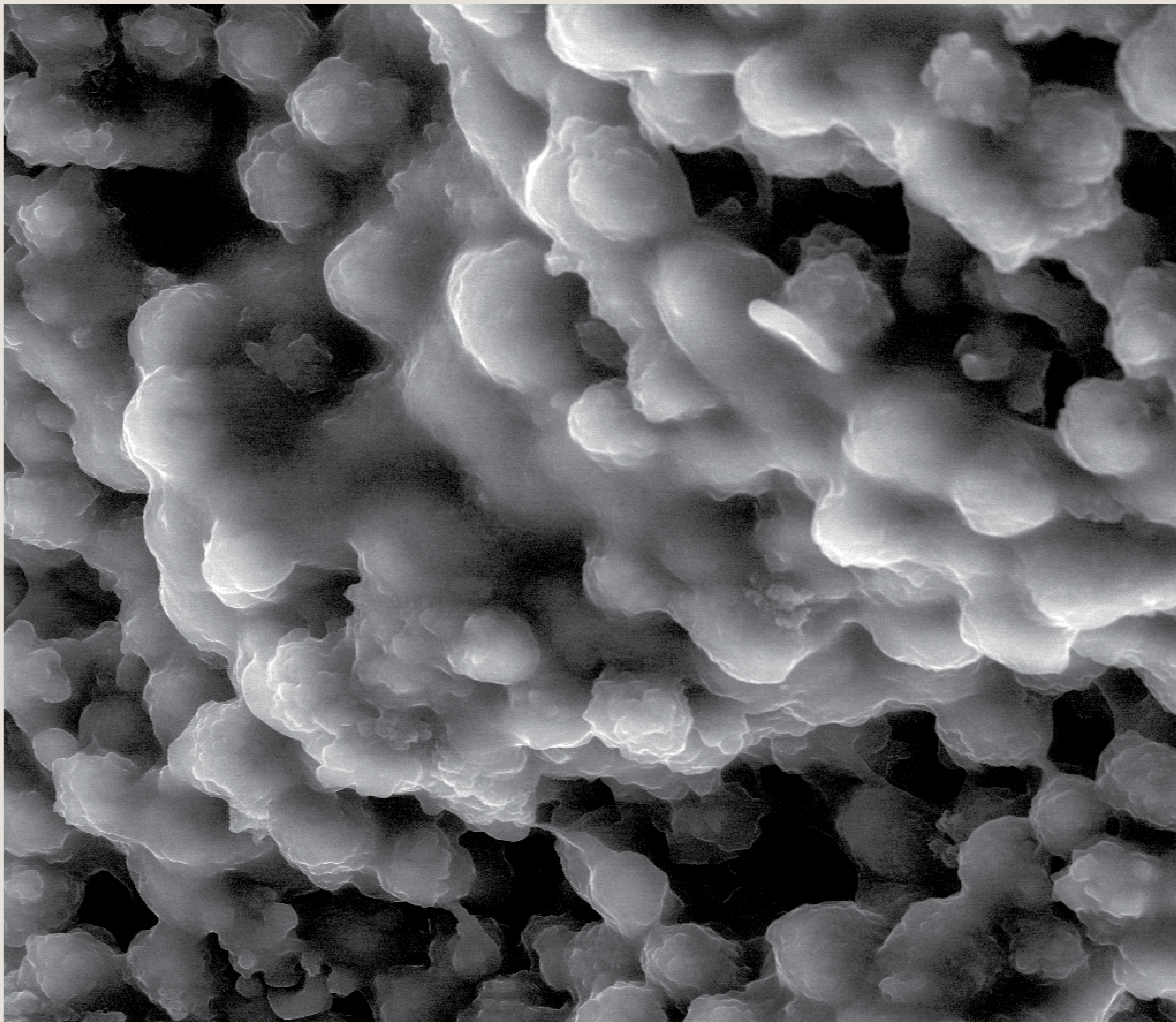
CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

Observation des échantillons **Hydrogels implantés**



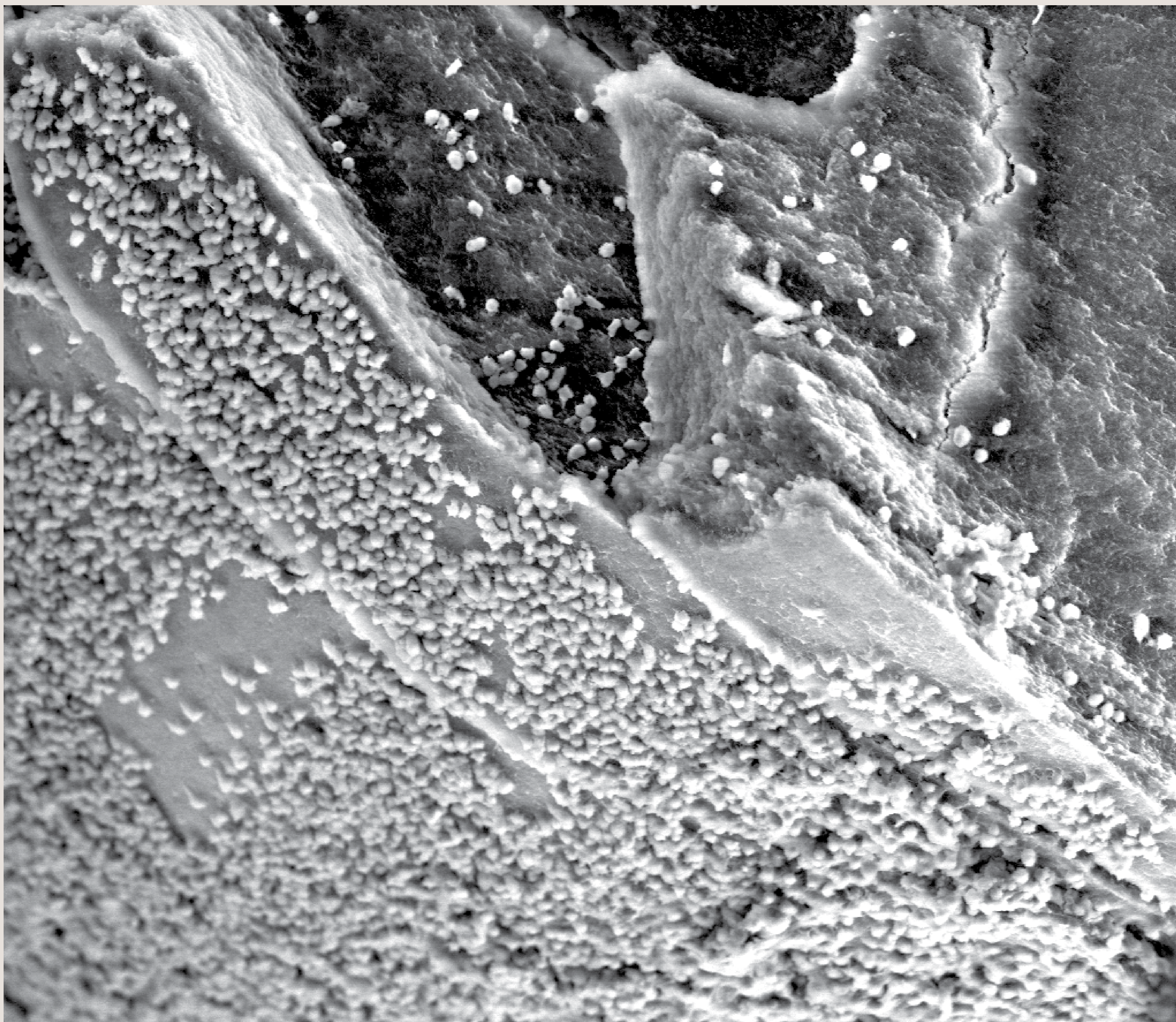


HV	mag	pressure	WD	det	← 200 μm →
15.00 kV	300 x	5 Torr	8.1 mm	GSED	

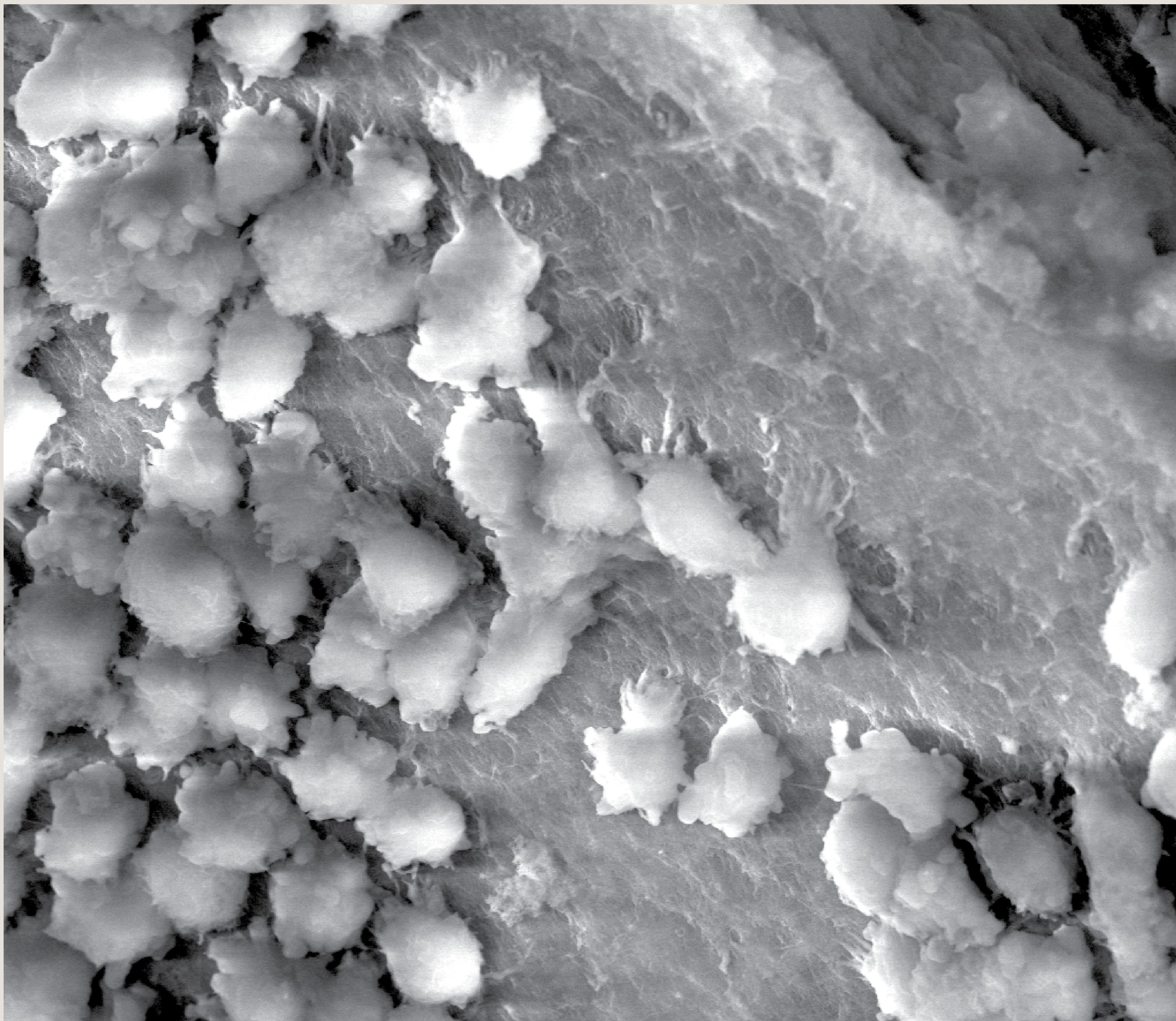


HV	mag	pressure	WD	det	← 30 μm →
15.00 kV	2 400 x	5 Torr	7.8 mm	GSED	

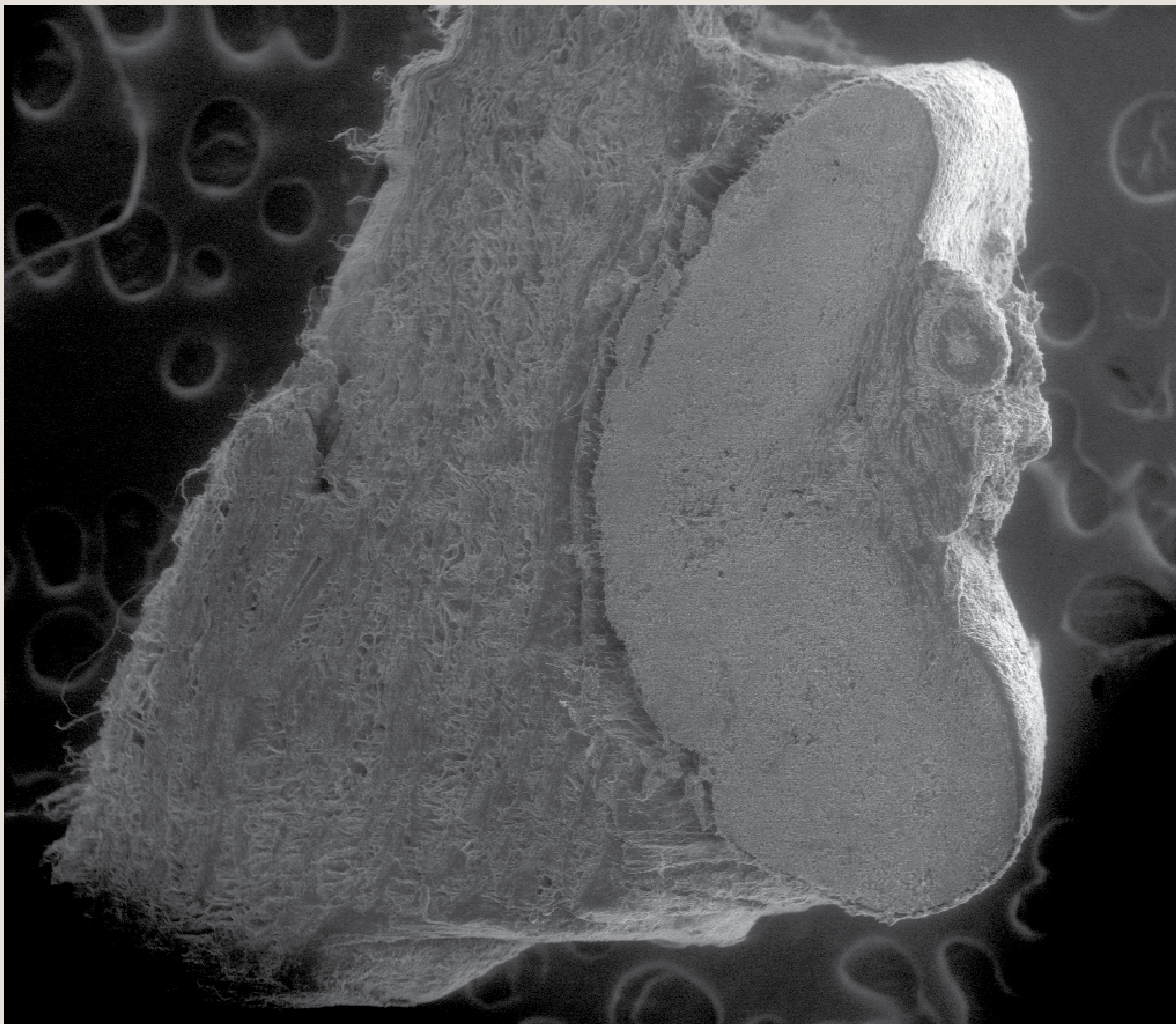




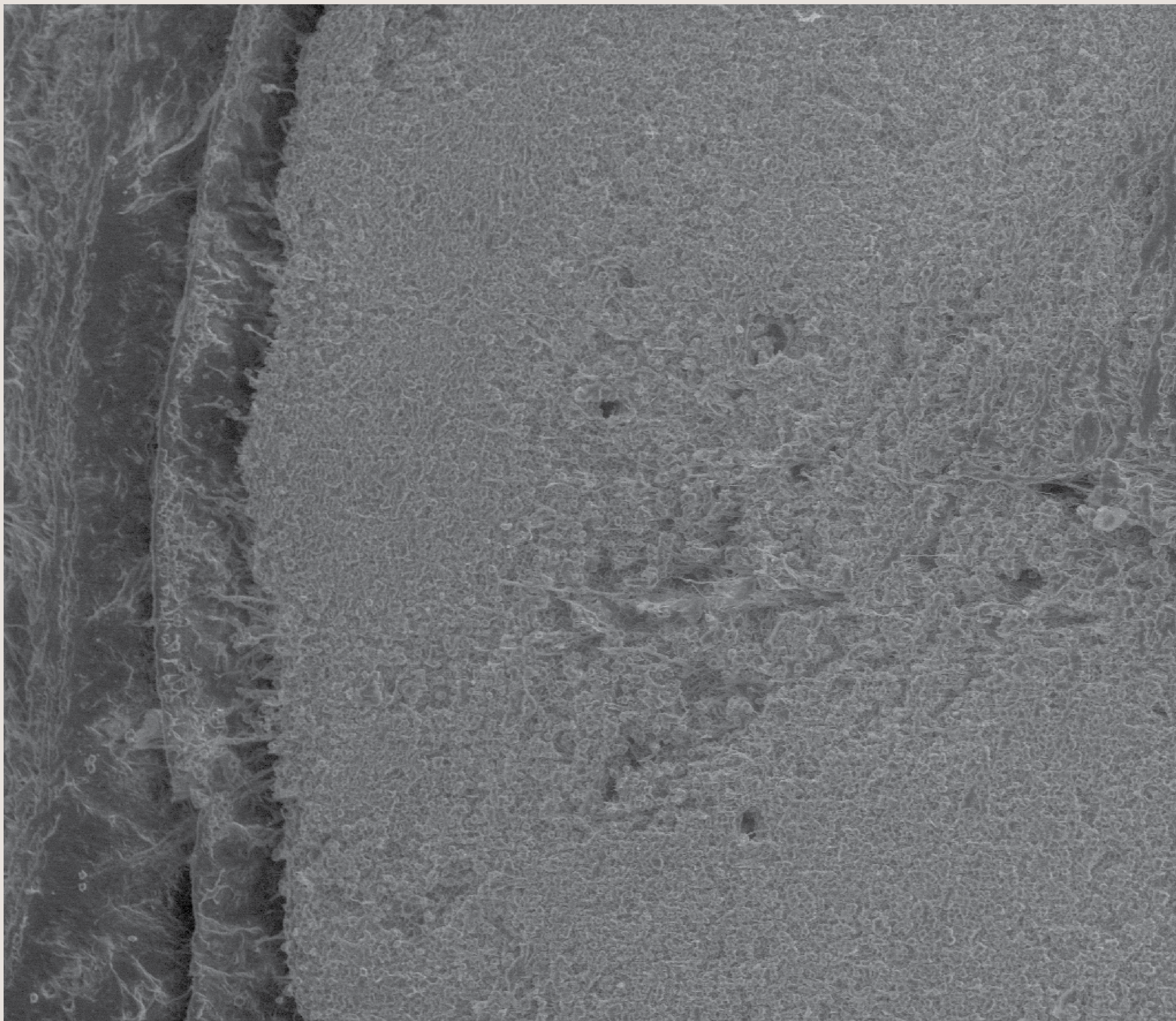
HV	mag	pressure	WD	det	← 200 μm →
15.00 kV	300 x	9.74e-1 Torr	9.9 mm	LFD	



HV	mag	pressure	WD	det	← 20 μm →
15.00 kV	2 400 x	9.71e-1 Torr	10.0 mm	LFD	

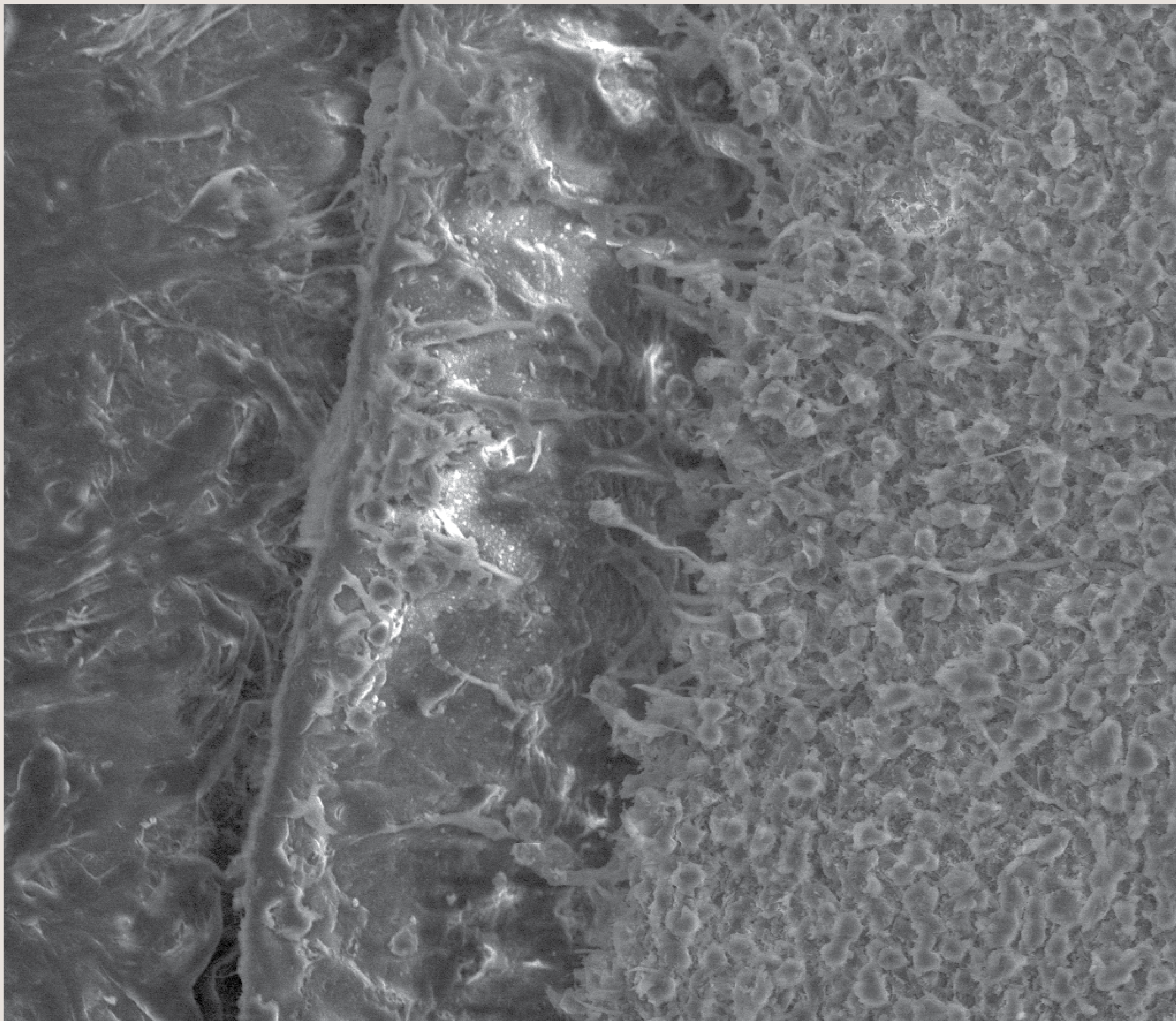


HV	pressure	det	mag	WD	← 1 mm →
10.00 kV	9.76e-1 Torr	LFD	50 x	5.7 mm	

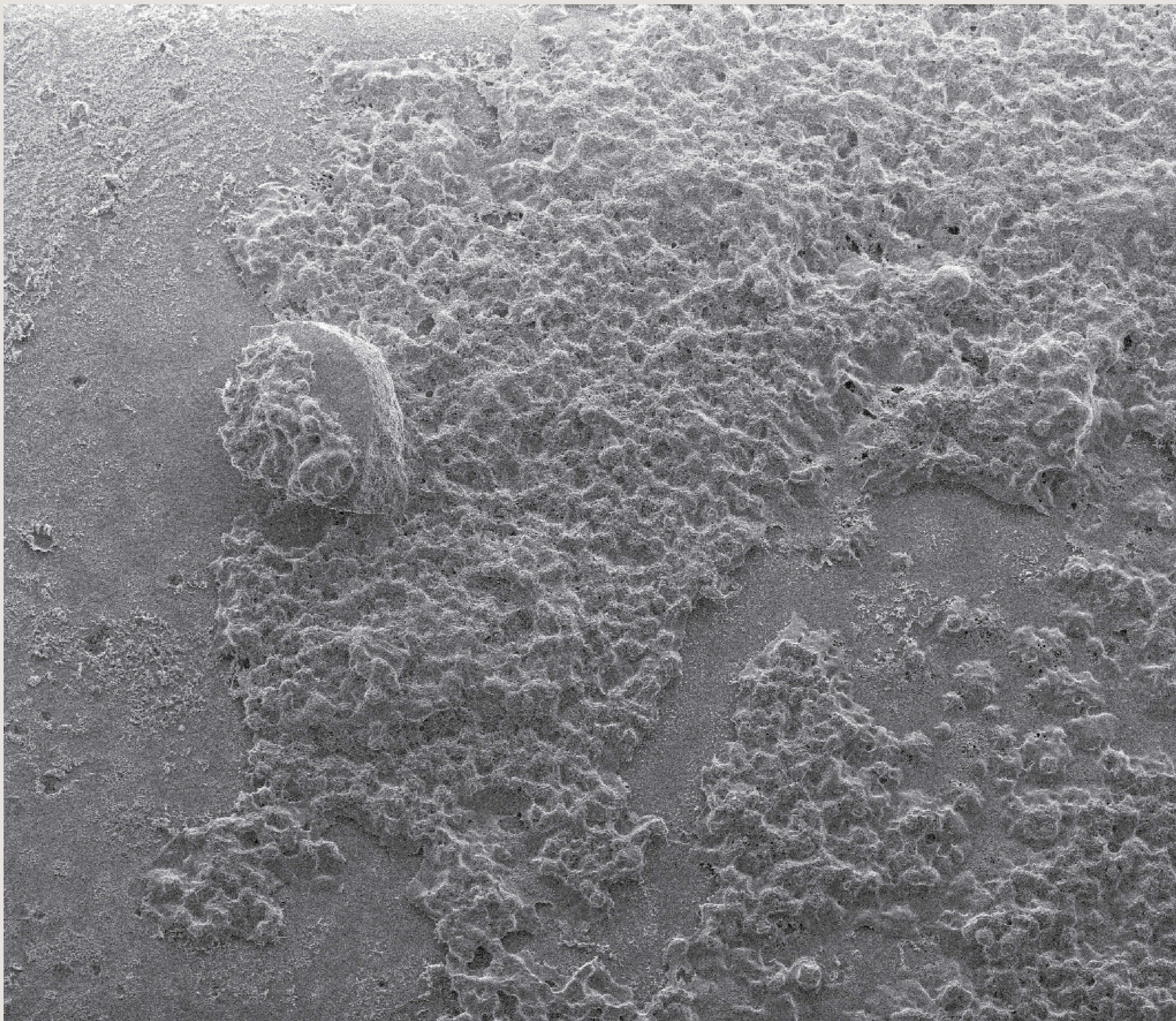


HV	pressure	det	mag	WD	← 300 μm →
10.00 kV	9.74e-1 Torr	LFD	200 x	5.8 mm	

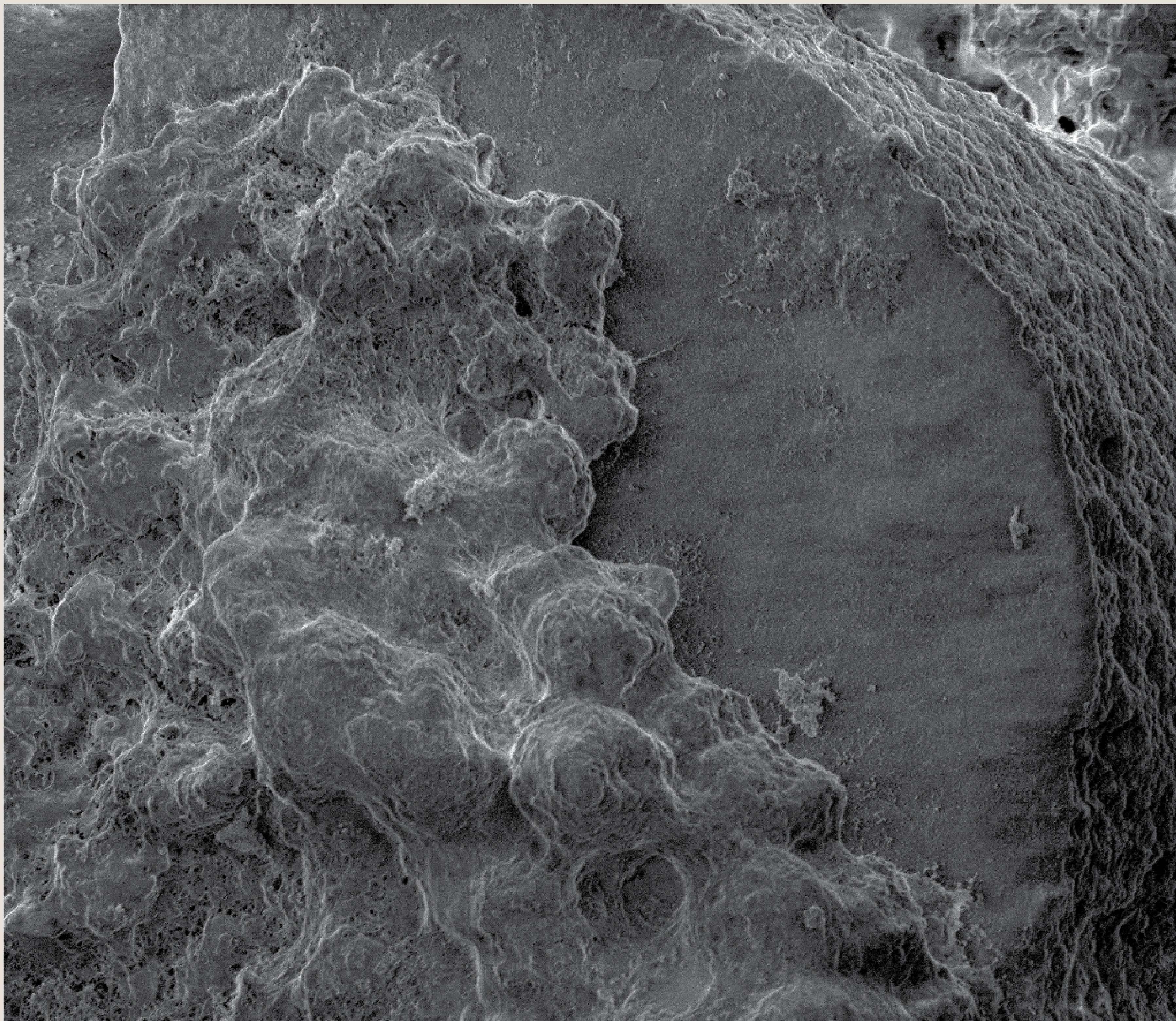




HV	pressure	det	mag	WD	50 μ m
10.00 kV	9.74e-1 Torr	LFD	800 x	5.9 mm	

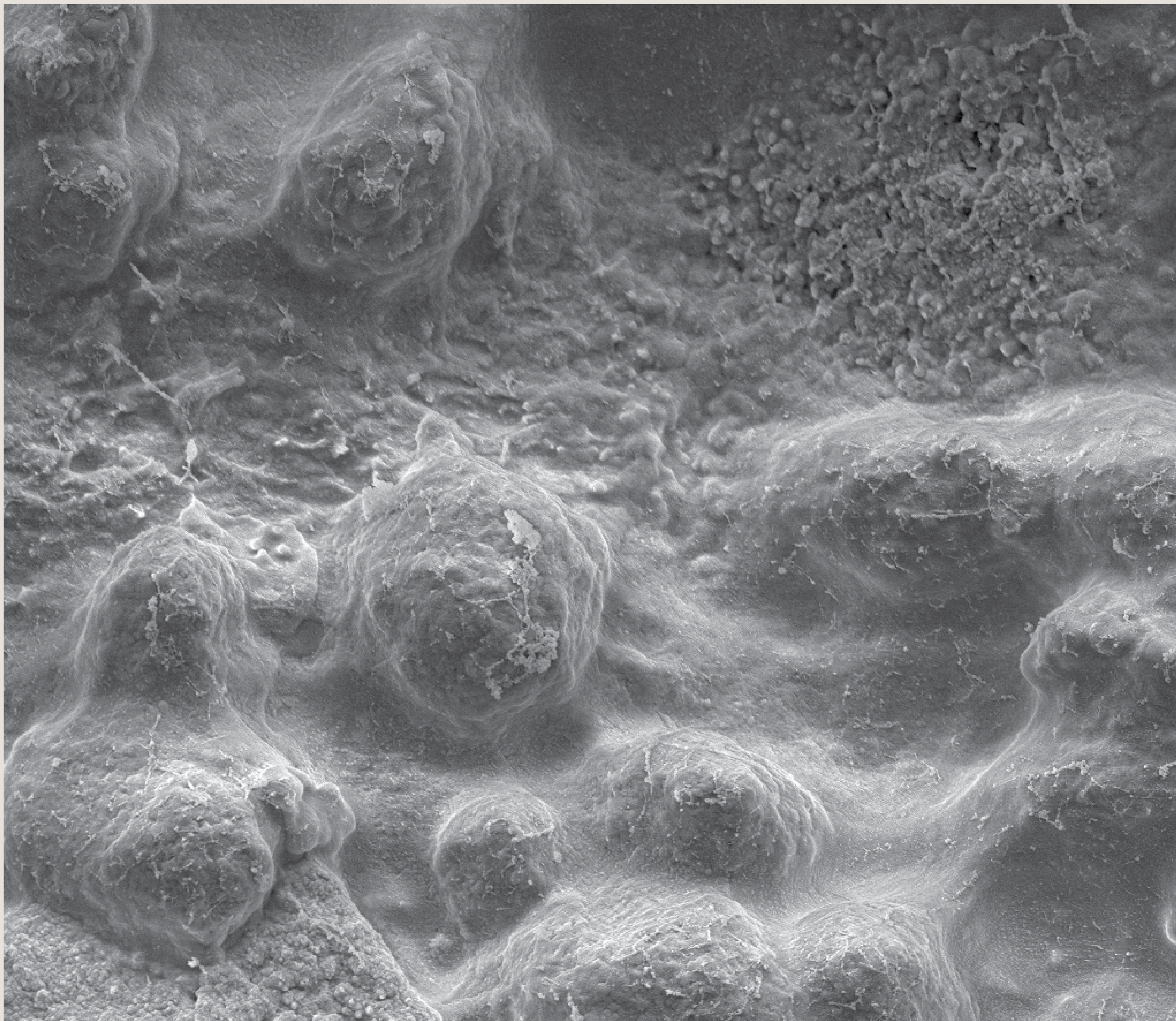


HV	pressure	det	mag	WD	← 200 μm →
1.50 kV	3.38e-7 Torr	ETD	300 x	10.0 mm	



HV	pressure	det	mag	WD	20 μ m
2.00 kV	3.54e-7 Torr	ETD	2 400 x	9.9 mm	

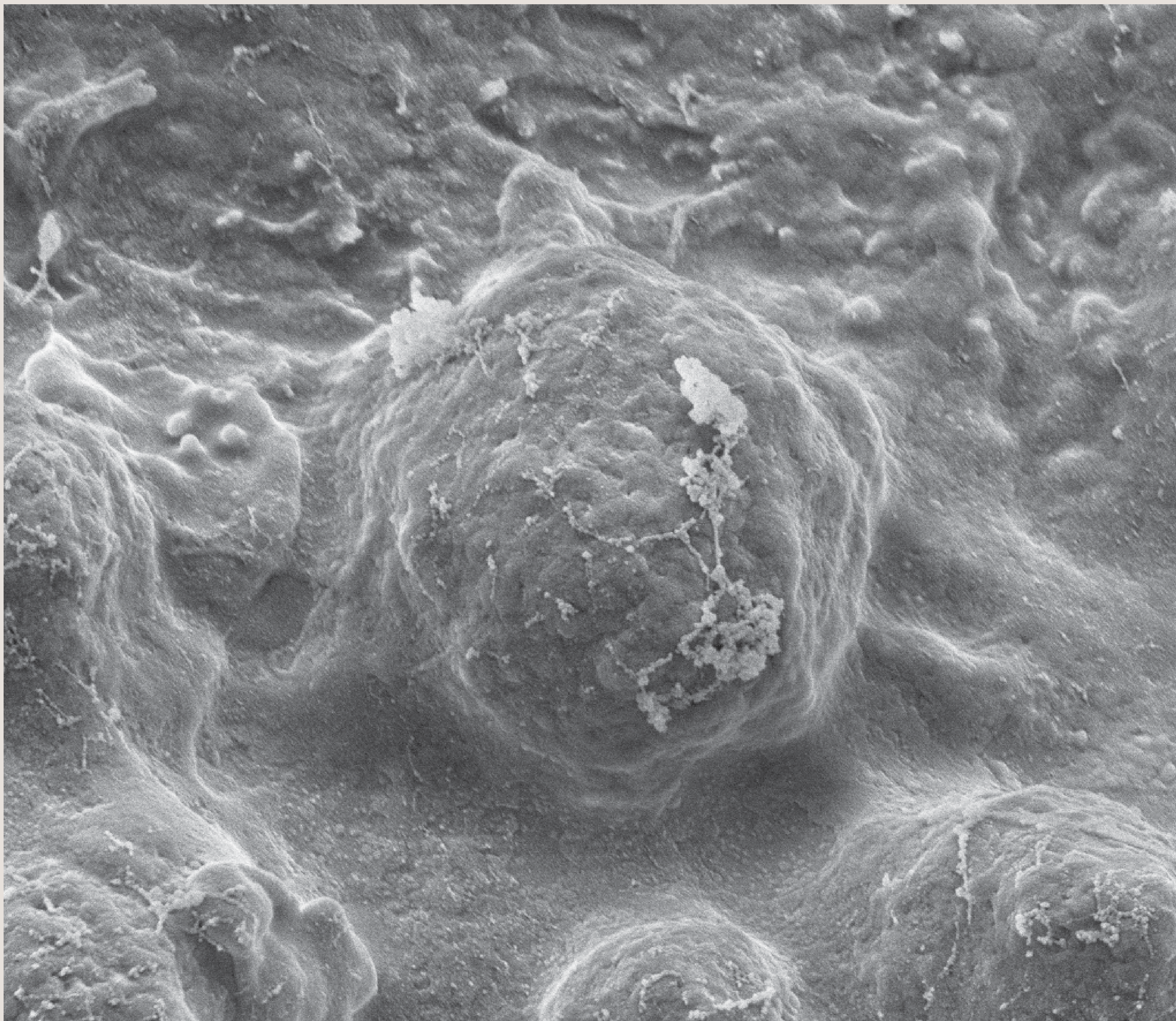




HV	pressure	det	mag	WD	20 μm
5.00 kV	4.24e-7 Torr	ETD	2 500 x	7.9 mm	

R4P2 -4semaines





HV	pressure	det	mag	WD	10 μ m
5.00 kV	4.24e-7 Torr	ETD	5 000 x	7.9 mm	

R4P2 -4semaines



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutané chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

CONCLUSIONS / Hydrogels implantés

- P1 difficile à retrouver et à visualiser (confirme l'histologie)
- P2 recouvert en surface mais pas colonisé (confirme l'histologie)
- CryoMEB pas indispensable pour le suivi de colonisation cellulaire mais pour comparer le gel avant et après implant
- Congélation azote pateux : « couche » formée sur les cellules et en surface assez gênante (Cf. Marilyn Carey)
- Congélation EMPact difficile (orientation, taille de l'échantillon)

HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutané chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

- Etat natif des matériaux
- Conservation de l'échantillon pendant l'observation
- Rapidité de l'observation / ESEM et déshydratation
- Méthode de choix pour l'observation des hydrogels

CONTRAINTES

- Méthode de congélation
- Givre au fur et à mesure de la journée
- Cassure aléatoire: pour de la congélation EMPact, nécessité d'acheter les coupelles de cryofractures pour une bonne fracture
- Métallisation +/- efficace, phénomènes de charges
- Coût



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation sous-cutané chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

LE CHITOSANE
CONTEXTE

ÉLABORATION
DES GELS

MICROSCOPIE
UTILISÉE

HYDROGELS
RÉFÉRENCES

HYDROGELS
IMPLANTÉS

CONCLUSIONS
PERSPECTIVES

PERSPECTIVES

- Congélation EMPact des hydrogels bicouches
- Utilisation des coupelles de cryofracture pour une meilleure cassure
- Essai de congélation EMPact d'échantillons implantés
- Essai en Cryo / Low Vac



HYDROGELS DE CHITOSANE,

Relations structure-propriétés après implantation
sous-cutanée chez le rat

Contribution de l'imagerie
PAR CRYO-MEB FEG

SÉBASTIEN MALAISE

Thèse ANR

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

