(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
12 août 2004 (12.08.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/067051 A1

(51) Classification internationale des brevets[7] :
A61L 27/34, 27/54, A61F 2/08

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/000103

(22) Date de dépôt international :
19 janvier 2004 (19.01.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
03/00495 17 janvier 2003 (17.01.2003) FR

(71) Déposant *(pour tous les États désignés sauf US)* : **L.A.R.S. - LABORATOIRE D'APPLICATION ET DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE** [FR/FR]; 5, rue de la Fontaine, F-21560 Arc-sur-Tille (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants *(pour US seulement)* : **BRULEZ, Bernard** [FR/FR]; 22, rue Amiral Pierre, F-52400 Bourbonne-les-Bains (FR). **LABOUREAU, Jacques-Philippe** [FR/FR]; 109, Chemin des Lauriers, F-06530 le Tignet (FR). **MIGONNEY, Véronique** [FR/FR]; 19, rue des Callais, F-95600 Eaubonne (FR). **CIOBANU, Mihaela** [RO/RO]; St. Ciurchi 119, B1 S8 et 3, Ap 21, RO-6600 Iasi (RO). **PAVON-DJAVID, Graciela** [FR/FR]; 23, rue Louis Pouey, F-92800 Puteaux (FR). **SIOVE, Alain** [FR/FR]; 15, rue Jean Mermoz, F-95230 Soisy sous Montmorency (FR).

(74) Mandataire : **GUIU, Claude**; Cabinet Claude Guiu, 10, rue Paul Thénard, F-21000 Dijon (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :
— *avec rapport de recherche internationale*
— *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues*

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) **Title:** BIOMIMETIC PROSTHETIC LIGAMENT AND PRODUCTION METHOD THEREOF

(54) **Titre :** LIGAMENTS PROTHETIQUE BIOMIMETIQUE ET PROCEDE D'OBTENTION

(57) **Abstract:** The invention relates to biomimetic artificial prostheses which are made from polyester, such as polyethylene terephthalate, and to a method for the biomimetic functionalization of said prostheses. The inventive method is characterized in that it comprises a step involving the grafting of biologically-active polymers or copolymers to the polyester surface of the aforementioned prostheses, said grafting step consisting of the peroxidation of the surface by means of ozonation followed by a step comprising the radical polymerization of a solution of at least one monomer. Said method also comprises an optional step consisting in impregnating the prostheses with type I and/or II collagen and/or fibronectins. The prostheses thus obtained enable a normal and uniform regrowth of the fibroblasts, thereby significantly improving the biological integration of such polyester prostheses.

(57) **Abrégé :** La présente invention concerne des prothèses artificielles biomimétiques en polyester et notamment en polyéthylène téréphtalate ainsi que le procédé de fonctionnalisation biomimétique desdites prothèses. Ce procédé est remarquable en ce qu'il comporte une étape de greffage de polymères ou copolymères biologiquement actifs à la surface en polyester desdites prothèses, laquelle étape de greffage consiste à réaliser une peroxydation de la surface par ozonation suivie d'une étape de polymérisation radicalaire d'une solution d'au moins un monomère. Ce procédé comporte en outre une étape optionnelle d'imprégnation des prothèses par des fibronectines et/ou du collagène de type I et/ou II. Les prothèses obtenues selon l'invention permettent une repousse homogène et normale des fibroblastes, augmentant considérablement l'intégration biologique de telles prothèses en polyester.

WO 2004/067051 A1

LIGAMENT PROTHETIQUE BIOMIMETIQUE ET PROCEDE D'OBTENTION

La présente invention concerne un ligament prothétique biomimétique ainsi que son procédé d'obtention.

Les ligaments artificiels pour le remplacement de ligaments articulaires biologiques, et notamment ceux du genou, sont dans certains cas spécifiques préférés aux techniques de suture directe ou de reconstitution par greffe autogène. En effet, la qualité de ces ligaments tant sur le plan mécanique que celui de la biocompatibilité s'est considérablement améliorée ces vingt dernières années.

Ainsi par exemple, on connaît par le brevet français FR-96.14263, un ligament prothétique en polyéthylène téréphtalate (PET) dit à « fibres orientées ». Ce ligament est constitué d'une laize roulée ou pliée sur elle-même, laquelle laize comporte deux parties extrêmes intra-osseuses et une partie intermédiaire intra-articulaire constituée par un écheveau de fils de trame actifs longitudinaux, adjacents et non liés entre eux transversalement. Au montage du ligament, on donne une torsion longitudinale à chaque fil actif, aboutissant à un ligament dextrogyre ou lévogyre reproduisant le vrillage naturel des ligaments en flexion. Ce type de ligament en PET, matériau dont la biocompatibilité est bien connue, présente une résistance extrêmement élevée aux efforts de traction, flexion et torsion, laissant présumer une espérance de vie supérieure à celle des ligaments connus.

Toutefois, malgré ces énormes progrès sur le plan biomécanique, on constate encore chez les patients des ruptures de ces ligaments artificiels. Des études menées sur les causes de ces échecs ont mis en évidence une mauvaise repousse des fibroblastes après implantation. En effet, la distribution de ces cellules est inhomogène à la surface du ligament, les fibroblastes ne se développant pas dans les zones prothétiques intra-osseuses et se groupant en amas sur les fibres dans la zone intra-articulaire. En outre, ces fibroblastes présentent une morphologie arrondie

anormale, avec peu de points d'ancrage à la surface du ligament. La sécrétion de collagène par ces cellules est de fait désordonnée et entraîne une individualisation des fibres de la zone intra-articulaire avec accumulation de tissus fibreux entre l'enveloppe et la partie centrale des prothèses, contribuant ainsi à leur défaillance.

Face à ce problème d'assurer une bonne « réhabitation » fibroblastique des prothèses, le brevet FR 2.651.994 propose d'imprégner le ligament prothétique de collagène, les fibres de collagène étant orientée selon l'axe longitudinal du ligament en vue d'obtenir une bonne direction de sa « réhabitation » par un tissu conjonctif vivant. Outre une efficacité limitée et peu satisfaisante, cette solution a pour inconvénient majeur de dépendre de la qualité difficilement reproductible du collagène utilisé.

La présente invention vise donc à remédier à ces problèmes en proposant un procédé de fonctionnalisation biomimétique de ligaments, notamment, procédé leur conférant notamment la capacité de mimer les matériaux vivants afin d'améliorer leur intégration biologique.

A cet égard et conformément à l'invention, il est proposé un procédé de fonctionnalisation biomimétique de prothèses en polyester, et notamment en polyéthylène téréphtalate (PET) remarquable en ce qu'il comporte au moins une étape de greffage de polymères ou copolymères biologiquement actifs à la surface en polyester desdites prothèses, laquelle étape de greffage consiste à réaliser une peroxydation de la surface par ozonation suivie d'une étape de polymérisation radicalaire d'une solution d'au moins un monomère. On notera que par prothèse en polyester, on entend toute prothèse constituée de fibres de PET ou de dérivé de polyester donnant des performances convenables pour son utilisation dans des ligaments ainsi que toute prothèse présentant à sa surface ou celle de ses fibres une couche de polyester et notamment de PET.

On comprend bien qu'en créant à la surface d'un ligament fabriqué selon le brevet FR-96.14263 susmentionné un « tapis » de polymères biologiquement actifs, on modifie

ainsi ses propriétés d'adhérence et de prolifération cellulaire, les rendant favorables à une réhabitation fibroblastique normale et homogène, comme le montrent les résultats de culture cellulaire obtenus.

Par ailleurs, on peut améliorer ces propriétés en procédant, selon une autre caractéristique de l'invention, à une étape supplémentaire de préparation de la surface en polyester en milieu solvant seulement, ou en milieu solvant puis en milieu aqueux, qui précède l'étape de greffage.

Ces deux variantes de cette étape de préparation contribuent considérablement à améliorer l'efficacité de l'étape de greffage, en augmentant la qualité de la surface greffée ainsi que la quantité de (co)polymères greffés. Elles jouent également un rôle non négligeable dans le caractère biocompatible du ligament ainsi traité.

D'autres avantages et caractéristiques ressortiront mieux de la description qui va suivre, de la variante d'exécution complète, donnée à titre d'exemple non limitatif, du procédé de fonctionnalisation selon l'invention.

Le procédé selon l'invention est ici appliqué à des prothèses ligamentaires déjà formées ou encore aux trames de tissu en polyester entrant dans la fabrication desdites prothèses ; le procédé se décompose selon les étapes suivantes :

Etape 1 : Préparation de la surface en polyester

1A) En milieu solvant :

Cette étape dite de désensimage est nécessaire afin d'éliminer les graisses et impuretés incorporées lors de la fabrication de la trame en polyester servant de structure au ligament. Elle permet ainsi d'éviter des réactions pathologiques de type synovite aiguë lors de l'implantation chez le patient. En outre, cette étape permet d'assurer une croissance des fibroblastes sur une surface en polyester ainsi nettoyée, croissance non observée sur des surfaces non nettoyées.

On distingue deux variantes de cette préparation en

milieu solvant, selon la nature du solvant choisi.

Variante 1 : Désensimage sans gonflement de la surface :

On applique un minimum de 12 cycles d'extraction dans un appareil de SOHXLET et un contrôle des résidus de corps gras après le 12ème cycle de nettoyage à l'hexane. On fait suivre ces cycles de nettoyage à l'hexane par des cycles de lavage à l'éther éthylique (RPE), trois lavages minimum avec contrôle des résidus après le troisième lavage.

Variante 2 : Désensimage avec un solvant apte à gonfler la surface en polyester :

L'utilisation d'un solvant apte à gonfler la surface du polyester offre l'avantage d'améliorer le greffage en augmentant le nombre de peroxydes sur la surface traitée lors de l'étape d'ozonation.

Un tel solvant a pour caractéristique d'avoir une constante diélectrique supérieure à 30. De préférence, ce solvant est de type éther cyclique ou aliphatique. En outre, on le choisira dans le groupe de solvant suivant : tétrahydrofuranne (THF), diméthylsulfoxyde (DMSO), N,N-diméthylformamide (DMF), N,N-diméthylacétamide (DMA), N-méthylpyrrolidone (NMP). Ces solvants ont l'avantage de présenter une toxicité faible ou nulle et permettent ainsi une utilisation facile en milieu industriel.

Le traitement se fait par immersion des pièces en polyester dans le solvant pendant une durée de l'ordre de 5 minutes à une heure environ, de préférence en 10 à 25 minutes. Ainsi, à titre d'exemple, on choisira une durée de 15 minutes à température ambiante pour une immersion dans du tétrahydrofuranne (THF).

1B) En milieu aqueux :

Le but de cette étape optionnelle de préparation de la surface en milieu aqueux est d'éliminer les résidus de fabrication du polyester présent à sa surface, tels que des acides organiques de faible poids moléculaire comme par exemple, l'acide téréphtalique pour le PET. On obtient

ainsi une surface parfaitement apprêtée avant ozonation.

Le traitement consiste à laver les pièces en polyester dans une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 5% en poids dans l'eau distillée. Ce lavage est effectué à chaud, c'est-à-dire à plus de 60°C et moins de 120°C et de préférence à légère ébullition, soit 100°C ± 5°C, pendant une dizaine de minutes. Bien entendu, tout autre carbonate alcalin ou alcalino-terreux tel que K_2CO_3 ou $CaCO_3$ peut être utilisé. Le lavage est suivi de rinçages successifs à l'eau distillée jusqu'à ce que le pH de l'eau de rinçage soit revenu à 7.

1C) Nettoyage :

Quelles que soient les étapes précédemment effectuées (variante 1 ou 2 de l'étape 1A, puis l'étape 1B, ou seulement l'étape 1A), le produit en polyester est ensuite nettoyé, par exemple par un rinçage à l'éthanol absolu ou au tétrahydrofuranne (THF) suivi d'un séchage en étuve d'une durée de 30 minutes, par exemple.

Etape 2 : Greffage de polymères ou de copolymères biologiquement actifs sur la surface en polyester :

2A) Choix et préparation des monomères :

Les monomères utilisés selon l'invention sont des monomères susceptibles de polymérisation et de copolymérisation radicalaire donnant naissance à des polymères bio-compatibles stimulant la prolifération et la différenciation cellulaire et plus particulièrement celle des fibroblastes. De tels monomères contenant des groupes carboxylate, phosphate, sulfonate et sulfate sont, par exemple, décrits dans le brevet US 6.365.692 et peuvent être utilisés selon l'invention seuls ou en mélange. On préfèrera utiliser de l'acide méthacrylique et du styrène sulfonate, ainsi que leurs mélanges. Avant de les utiliser pour la polymérisation, ces monomères seront purifiés au préalable. Ainsi par exemple, pour du styrène sulfonate de sodium, on le purifie par recristallisation dans un mélange d'eau bidistillée/alcool (10/90,v:v), puis on le dissout à 70°C dans cette solution. On le filtre ensuite sous vide

avec un disque en verre fritté d'indice de porosité 3 et on le conserve à 4°C. Les cristaux de sulfonate de sodium formés sont récupérés par filtration et le solide obtenu est séché sous vide à 50°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

2B) Ozonation :

Les prothèses ou les trames en polyester constitutives de ces prothèses préalablement traitées selon l'étape 1 sont introduites dans un dispositif d'ozonation tel que classiquement utilisé.

Par exemple, on pourra utiliser un réacteur tubulaire de 500 cm3 contenant 100 cm3 d'eau bidistillée, lequel réacteur est muni d'un tube plongeur d'alimentation en ozone. On pourra, par exemple, utiliser un flux gazeux équivalent en ozone à 50 g/m3 d'oxygène. Pour une telle quantité d'ozone, la durée optimale d'ozonation du PET est de 20 à 90 minutes. Les mesures du taux de peroxyde montre que le taux optimal est obtenu entre 30 et 60 minutes d'ozonation, toujours pour ce même flux d'ozone. On notera également qu'une durée d'ozonation supérieure à 90 minutes dégrade fortement la surface en PET.

On relèvera par ailleurs l'apport de la variante 2 de l'étape 1A. En effet, l'utilisation d'un solvant apte à gonfler la surface augmente le taux de peroxyde d'un facteur 5, par rapport à l'utilisation d'un solvant sans gonflement. Une fois l'ozonation terminée, les prothèses ou les trames en polyester introduites dans le dispositif d'ozonation sont rincées et nettoyées, par exemple selon le protocole suivant : rincer trois fois à l'eau bidistillée, puis trois fois à l'alcool absolu, puis trois fois au tétrahydrofuranne (THF). Ensuite, sécher à l'étuve à vide pendant 30 minutes à 25°C.

2C) Polymérisation :

Le ou les monomères choisis et préparés selon l'étape 2A sont mis en solution dans de l'eau, de préférence bidistillée. On peut choisir toute concentration compatible

avec la mise en œuvre de la réaction de polymérisation radicalaire avec un minimum de 5% en poids. On choisira avantageusement des concentrations proches de la solubilité limite du ou des monomère(s)dans la solution, avec un milieu visqueux favorisant ainsi des réactions de propagation polymérique radicalaire par rapport à des réactions de terminaison : on obtient ainsi des chaînes polymériques greffées de plus grande taille. Cela revient à choisir une concentration pondérale $k = s - \epsilon$, ou s est la solubilité limite et ϵ vaut 1 à 7% en poids. Ainsi par exemple, dans le cas du polystyrène sulfonate dont la limite de solubilité est de 20% en poids, on choisira une concentration de 15%.

La durée de l'étape de polymérisation dépend de la nature du monomère. Elle est estimée au temps nécessaire à la gélification du milieu à la température de réaction. Ainsi, par exemple, on retiendra pour le polystyrène sulfonate qu'à 70°C, la polymérisation durera 1 heure et qu'à 65°C, elle durera 1 heure 30.

La réaction de polymérisation est conduite dans une enceinte hermétiquement fermée et débarrassée de tout oxygène, par exemple, en réalisant un bullage à l'argon. On introduit dans cette enceinte la solution de monomères ou de comonomères que l'on veut faire réagir et les prothèses ou bandes de tissus en polyester préalablement ozonées. Le récipient hermétiquement fermé est chauffé au bain-marie à la température et à la durée déterminées comme exposé précédemment.

En fin de réaction, les éléments en polyester qui ont été greffés sont extraits du réacteur. On peut ensuite laver ces matériaux greffés afin d'éliminer notamment des résidus de monomère(s) qui n'ont pas réagit. Par exemple, on peut laver la surface fonctionnalisée plusieurs fois avec un solvant adéquat du ou des monomère(s), de l'eau bidistillée par exemple, et on peut optionnellement finir le lavage avec tout solvant adéquat, de l'éthanol absolu par exemple, afin d'éliminer d'éventuelles traces de polymères non greffés.

Etape 3 : Imprégnation avec des agents biochimiques :

Cette étape est optionnelle. Elle vise à renforcer la capacité d'intégration biologique du ligament auquel on a précédemment greffé des polymères biomimétiques tel qu'exposé aux étapes 1 et 2. Ainsi, l'imprégnation de la prothèse par un ou plusieurs agents biochimiques vise à augmenter ses propriétés d'adhérence et de prolifération cellulaire. Ces agents biochimiques favorisant la colonisation par des fibroblastes sont une protéine de la famille des fibronectines et/ou du collagène de type I et/ou III. On utilisera avantageusement un mélange des précédentes protéines, c'est-à-dire un mélange de fibronectines et collagène de type I et/ou III : on observe un effet synergique sur l'adhérence des fibroblastes. L'imprégnation de la prothèse par ces agents pourra, par exemple, être effectuée par trempage dans un bain contenant du collagène.

Il va de soi que cette étape d'imprégnation ne suit pas forcément l'étape de greffage et qu'elle peut s'insérer et s'intercaler entre d'autres étapes de préparation du ligament en fonction de son stade de fabrication. En outre, on fera avantageusement suivre cette étape d'imprégnation par une étape de stérilisation du ligament.

Afin de mesurer l'efficacité du procédé qui vient d'être décrit, des essais comparatifs ont été menés sur des portions de tissus en fibres de PET tricotées, le polyester étant semi-cristalin avec un taux de cristallinité de 40% C ± 5% et ayant une température de fusion proche de 260°C ± 5°C. Ces tissus en fibre sont constitutifs de ligaments artificiels tels que fabriqués et commercialisés par la demanderesse. On a ainsi préparé des fibres de PET témoin non greffées et deux types de fibres de PET greffées par du poly(styrène sulfonate de sodium) et greffées également par un mélange équipondéral d'acide méthacrylique (AM) et de styrène sulfonate de sodium (SSNa). On trouvera au tableau 1 les différentes conditions de préparation.

Tableau 1 : Préparation des échantillons

	Préparation de la surface	Ozonation	Greffage
Fibre PET non greffées	Hexane et éther éthylique ; Na_2CO_3 à 5 %	—	—
Fibres PET greffées (1)	THF : 15 min ; Na_2CO_3 : 5%	60 min à 50g O_3/m^3 O_2	Solution de SSNa 15% en poids ; 1h30 à 65°C
Fibres PET greffées (2)	THF : 15 min ; Na_2CO_3 : 5%	60 min à 50g O_3/m^3 O_2	Solution à 15%SSNa et 15% AM (en poids) ; 1h30 à 65°C

On a ensuite procédé à différents tests d'évaluation biologique et notamment de cultures de fibroblastes et d'adhérence de fibroblastes sur ces différentes surfaces et les résultats obtenus figurent dans le tableau ci-après :

Tableau 2 :Evaluation biologique

Paramètres	PET non greffé	PET greffé (1) et (2)
Nombre de cellules à confluence (culture dans des plaques de 24 puits)	1.10^5 cellules/puit	1.10^5cellules/puit
Développement des fibroblastes	Répartition en amas inhomogène le long des fibres	Répartition homogène sur toute la surface du tissu
Morphologie	Forme arrondie	Forme allongée et étalée
Force d'adhérence (unité relative)	1	5-8
Adsorption de collagène de type I (proportions relatives en ng/cm²)	100	143

On observe donc que le greffage de polymères biomimétiques, et en particulier de styrène sulfonate à la surface de ligaments en polyester permet un développement

normal et homogène des fibroblastes sur cette surface.

On relèvera en outre que la surface traitée présente une affinité plus élevée vis-à-vis des protéines ce qui permet d'avoir une meilleure adsorption de collagène et d'autres facteurs biochimiques favorisant la colonisation par des fibroblastes. On comprend donc bien que des ligaments, dont la surface aura été traitée selon les étapes 1 et 2 du procédé, et auxquels on fait ensuite subir l'étape 3 d'imprégnation par de tels facteurs biochimiques, verront encore leurs capacités à faire adhérer les fibroblastes et à orienter correctement leur développement, nettement améliorées.

Enfin, il va de soi que le procédé de fonctionnalisation biomimétique selon l'invention peut être appliqué à tout type de prothèse en polyester pour lesquelles on veut améliorer l'intégration biologique et que les exemples que l'on vient de donner ne sont que des illustrations particulières en aucun cas limitatives des domaines d'application de l'invention.

REVENDICATIONS

1- Procédé de traitement de prothèses artificielles en polyester, et notamment en polyéthylène téréphtalate, afin de leur conférer la capacité de mimer les matériaux vivants, dit procédé de fonctionnalisation biomimétique **caractérisé** en ce qu'il comporte au moins une étape de greffage de polymères ou copolymères biologiquement actifs à la surface en polyester desdites prothèses, laquelle étape de greffage consiste à réaliser une peroxydation de la surface par ozonation suivie d'une polymérisation radicalaire d'une solution d'au moins un monomère.

2- Procédé selon la revendication 1 **caractérisé** en ce que le polyéthylène téréphtalate est semi-cristallin.

3- Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2 **caractérisé** en ce que la durée d'ozonation pour une teneur d'ozone de l'ordre de 50g/cm3 est comprise entre 20 et 90 min.

4- Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que le monomère est du styrène sulfonate de sodium

5- Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 **caractérisé** en ce que la solution de monomères a une concentration en monomère(s) comprise entre 5% et k%, où k est une concentration proche de la solubilité limite du ou des monomère(s)dans la solution.

6- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes **caractérisé** en ce que l'étape de greffage est précédée par une étape supplémentaire de préparation de la surface en polyester en milieu solvant seulement, ou en milieu solvant puis en milieu aqueux.

7- Procédé selon la revendication 6 caractérisé en ce que le milieu solvant est constitué d'hexane et d'éther éthylique.

8- Procédé selon la revendication 6 **caractérisé** en ce que le milieu solvant est constitué par au moins un solvant apte à modifier la surface par gonflement.

9- Procédé selon la revendication 8 **caractérisé** en ce que le solvant apte à modifier la surface par gonflement

est du type éther cyclique ou aliphatique ayant une toxicité faible ou nulle.

10- Procédé selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 **caractérisé** en ce que le solvant apte à modifier la surface par gonflement a une constante diélectrique supérieure à 30.

11- Procédé selon l'une quelconque des revendications 8, 9 ou 10 **caractérisé** en ce que le solvant apte à modifier la surface par gonflement est choisi dans le groupe de solvants suivants : tétrahydrofuranne (THF), diméthylsulfoxyde (DMSO), N,N-diméthylformamide (DMF), N,N-diméthylacétamide (DMA), N-méthylpyrrolidone (NMP).

12- Procédé selon la revendications 6 **caractérisé** en ce que l'étape de préparation de la surface en milieu aqueux consiste à traiter la surface en polyester à chaud avec une solution aqueuse de sels de carbonates alcalins ou alcalino-terreux, comme par exemple Na_2CO_3 ou $CaCO_3$, afin d'éliminer les résidus de fabrication du polyester présents à sa surface.

13- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes **caractérisé** en ce qu'il comporte une étape supplémentaire d'imprégnation de la prothèse après l'étape de greffage par un ou plusieurs agents biochimiques favorisant la colonisation par des fibroblastes.

14- Procédé selon la revendication 13 **caractérisé** en ce que l'agent biochimique est une protéine de la famille des fibronectines et/ou du collagène de type I et/ou III.

15- Application du procédé conforme à l'une quelconque des revendications 1 à 14 à un ligament artificiel en fibres tissées ou tricotées de PET.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2004/000103

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61L27/34 A61L27/54 A61F2/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61L A61F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, CHEM ABS Data, COMPENDEX, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 143 354 A (KOULIK EDOUARD ET AL) 7 November 2000 (2000-11-07) column 4, line 41 - line 52 column 5, line 22 - column 7, line 10 column 9, line 30 - column 10, line 8 claims	1,4,13
X	US 4 743 258 A (IKADA YOSHITO ET AL) 10 May 1988 (1988-05-10) column 2, line 51 - column 3, line 55	1
Y	EP 0 891 998 A (BIOCOMPATIBLES LTD) 20 January 1999 (1999-01-20) page 16, line 31 - line 46 example 26	1

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
8 July 2004	15/07/2004

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Fey-Lamprecht, F

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 0 727 233 A (FREY RAINER H ;SELLIN LOTHAR (DE); BREHM HANS PETER (DE)) 21 August 1996 (1996-08-21) column 2, line 30 - column 5, line 26	1
Y	US 6 200 626 B1 (AMMON JR DANIEL M ET AL) 13 March 2001 (2001-03-13) column 1, line 8 - line 19 column 9, line 18 - column 12, line 44	1
A	DEANTONIO P ET AL: "Free radical graft polymerization onto polymer substrates. 1. Method and quantification of active perioxide sites on polyethylene" POLYM PREPR DIV POLYM CHEM AM CHEM SOC; POLYMER PREPRINTS, DIVISION OF POLYMER CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY AUG 1990 PUBL BY ACS, WASHINGTON, DC, USA, vol. 31, no. 2, August 1990 (1990-08), pages 448-449, XP009033307 the whole document	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/FR2004/000103

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6143354 A	07-11-2000	NONE	
US 4743258 A	10-05-1988	JP 1553876 C	04-04-1990
		JP 60227763 A	13-11-1985
		JP 63051035 B	12-10-1988
EP 0891998 A	20-01-1999	EP 0891998 A1	20-01-1999
		EP 0601041 A1	15-06-1994
		WO 9305081 A1	18-03-1993
		JP 6510322 T	17-11-1994
		US 5453467 A	26-09-1995
EP 0727233 A	21-08-1996	DE 19517727 C1	25-04-1996
		DE 19517754 C1	25-04-1996
		EP 0727233 A2	21-08-1996
		EP 0724905 A2	07-08-1996
		US 5998024 A	07-12-1999
		US 5681657 A	28-10-1997
		US 5863654 A	26-01-1999
		US 5817272 A	06-10-1998
US 6200626 B1	13-03-2001	AU 765537 B2	18-09-2003
		AU 4844500 A	12-12-2000
		BR 0011611 A	06-08-2002
		CA 2373556 A1	30-11-2000
		CN 1351629 T	29-05-2002
		DE 60007862 D1	26-02-2004
		EP 1187872 A1	20-03-2002
		JP 2003500507 T	07-01-2003
		WO 0071612 A1	30-11-2000
		ZA 200109523 A	19-02-2003

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No
PCT/FR2004/000103

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61L27/34 A61L27/54 A61F2/08

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 A61L A61F

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, CHEM ABS Data, COMPENDEX, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 6 143 354 A (KOULIK EDOUARD ET AL) 7 novembre 2000 (2000-11-07) colonne 4, ligne 41 - ligne 52 colonne 5, ligne 22 - colonne 7, ligne 10 colonne 9, ligne 30 - colonne 10, ligne 8 revendications	1,4,13
X	US 4 743 258 A (IKADA YOSHITO ET AL) 10 mai 1988 (1988-05-10) colonne 2, ligne 51 - colonne 3, ligne 55	1
Y	EP 0 891 998 A (BIOCOMPATIBLES LTD) 20 janvier 1999 (1999-01-20) page 16, ligne 31 - ligne 46 exemple 26	1

-/--

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités.

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de depôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison speciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de depôt international, mais postérieurement à la date de priorite revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'inven tion revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'inven tion revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
8 juillet 2004	15/07/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Fey-Lamprecht, F

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	EP 0 727 233 A (FREY RAINER H ;SELLIN LOTHAR (DE); BREHM HANS PETER (DE)) 21 août 1996 (1996-08-21) colonne 2, ligne 30 - colonne 5, ligne 26	1
Y	US 6 200 626 B1 (AMMON JR DANIEL M ET AL) 13 mars 2001 (2001-03-13) colonne 1, ligne 8 - ligne 19 colonne 9, ligne 18 - colonne 12, ligne 44	1
A	DEANTONIO P ET AL: "Free radical graft polymerization onto polymer substrates. 1. Method and quantification of active perioxide sites on polyethylene" POLYM PREPR DIV POLYM CHEM AM CHEM SOC; POLYMER PREPRINTS, DIVISION OF POLYMER CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY AUG 1990 PUBL BY ACS, WASHINGTON, DC, USA, vol. 31, no. 2, août 1990 (1990-08), pages 448-449, XP009033307 le document en entier	1-15

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No
PCT/FR2004/000103

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
US 6143354	A	07-11-2000	AUCUN		
US 4743258	A	10-05-1988	JP	1553876 C	04-04-1990
			JP	60227763 A	13-11-1985
			JP	63051035 B	12-10-1988
EP 0891998	A	20-01-1999	EP	0891998 A1	20-01-1999
			EP	0601041 A1	15-06-1994
			WO	9305081 A1	18-03-1993
			JP	6510322 T	17-11-1994
			US	5453467 A	26-09-1995
EP 0727233	A	21-08-1996	DE	19517727 C1	25-04-1996
			DE	19517754 C1	25-04-1996
			EP	0727233 A2	21-08-1996
			EP	0724905 A2	07-08-1996
			US	5998024 A	07-12-1999
			US	5681657 A	28-10-1997
			US	5863654 A	26-01-1999
			US	5817272 A	06-10-1998
US 6200626	B1	13-03-2001	AU	765537 B2	18-09-2003
			AU	4844500 A	12-12-2000
			BR	0011611 A	06-08-2002
			CA	2373556 A1	30-11-2000
			CN	1351629 T	29-05-2002
			DE	60007862 D1	26-02-2004
			EP	1187872 A1	20-03-2002
			JP	2003500507 T	07-01-2003
			WO	0071612 A1	30-11-2000
			ZA	200109523 A	19-02-2003