



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Année 2007

Thèse N°9

PREPARATION DE L'OS LYOPHILISE : RESULTATS
PRELIMINAIRES

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE: 07/02/2007

PAR

Mlle Wafae EL HYMER

Née le 13 Décembre 1981 à Beni-Mellal
POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Os lyophilisé- Substituts Osseux- Allogreffe- Greffe Osseuse- Reconstruction
Osseuse.

JURY

M.	M. LATIFI	PRESIDENT
	Maître de conférence agrégé de Traumatologie Orthopédie	
M.	B. ESSADKI	RAPPORTEUR
	Professeur de Traumatologie Orthopédie	
Mme.	B.BELAABIDIA	JUGE
	Maître de conférence agrégée d'Anatomie Pathologique	
M.	A.BARROUG	MEMBRES ASSOCIES
	Professeur de Chimie	
M.	H.KADDAMI	
	Professeur de Chimie	
M	A.BOUSSAID	
	Professeur de Microbiologie	

UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

DOYENS HONORAIRES : Pr. MEHADJI Badie-azzaman

VICE DOYENS HONORAIRES : Pr. FADOUACH Sabah
: Pr. AIT BEN ALI Said

ADMINISTRATION

DOYEN : Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

VICE DOYEN: Pr. Najib BOURAS

PROFESSEURS D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

Pr. ALAOUI YAZIDI	Abdelhaq	Pneumo- Phtisiologie
Pr. ABBASSI	Hassan	Gynécologie-Obstétrique
Pr. ABOUSSAD	Abdelmounaim	Pédiatrie
Pr. AIT BEN ALI	Said	Neurochirurgie
Pr. BOUSKRAOUI	Mohamed	Pédiatrie
Pr. EL IDRISSE DAFALI	My Abdelhamid	Chirurgie Générale
Pr. ESSADKI	Boubker	Traumatologie
Pr. FIKRY	Tarik	Traumatologie
Pr. KRATI	Khadija	Gastro -entérologie
Pr. OUSEHAL	Ahmed	Radiologie
Pr. RAJI	Abdelaziz	Oto –Rhino- Laryngologie
Pr. SBIHI	Mohamed	Pédiatrie
Pr. SOUMMANI	Abderraouf	Gynécologie-Obstétrique

PROFESSEURS AGREGES

Pr. AMAL	Said	Dermatologie
Pr. ASRI	Fatima	Psychiatrie
Pr. ASMOUKI	Hamid	Gynécologie –Obstétrique
Pr. BELAABIDIA	Badia	Anatomie – Pathologique
Pr. BEN ELKHAIAT	Ridouan	Chirurgie générale
Pr. BOURAS	Najib	Radiothérapie
Pr. CHABAA	Laila	Biochimie
Pr. EL HASSANI	Selma	Rhumatologie
Pr. ESSAADOUNI	Lamiaa	Médecine Interne
Pr. FINECH	Benasser	Chirurgie Générale
Pr. GUENNOUN	Nezha	Gastro- Entérologie
Pr. KISSANI	Najib	Neurologie
Pr. LATIFI	Mohamed	Traumatologie- orthopédie
Pr. MOUDOUNI	Said mohammed	Urologie
Pr. MOUTAOUAKIL	Abdeljalil	Ophtalmologie
Pr. TAZI	Imane	Psychiatrie
Pr. SARF	IsamaiL	Urologie

PROFESSEURS ASSISTANTS

Pr. ABOULFALAH	Abderrahim	Gynécologie-Obstétrique
Pr. AKHDARI	Nadia	Dermatologie
Pr. AIT SAB	Imane	Pédiatrie
Pr. AMINE	Mohamed	Epidémiologie-clinique
Pr. BOUMZEBRA	Drissi	Chirurgie- Cardio –Vasculaire
Pr. BOURROUS	Monir	Pédiatrie
Pr. DAHAMI	Zakaria	Urologie
Pr. EL ADIB	Ahmed rhassane	Anesthésie- Réanimation
Pr. EL ATTAR	Hicham	Anatomie Pathologique
Pr. EL HATTAOUI	Mustapha	Cardiologie
Pr. EL HOUDZI	Jamila	Pédiatrie
Pr. EL FEZZAZI	Redouane	Chirurgie pédiatrique
Pr. ETTALBI	Saloua	Chirurgie réparatrice
Pr. GHANNANE	Houssine	Neurochirurgie
Pr. LOUZI	Abdelouahed	Chirurgie- Générale
Pr. LMEJJATI	Mohamed	Neurochirurgie
Pr. MAHMAL	Aziz	Pneumo Phtisiologie
Pr. MAHMAL	Lahoucine	Hématologie Clinique
Pr. MANOUDI	Fatiha	Psychiatrie
Pr. NAJEB	Youssef	Traumatologie –orthopédie
Pr. NEJMI	Hicham	Anesthésie- Réanimation
Pr. OULAD SAIAD	Mohamed	Chirurgie Pédiatrique
Pr. SAMKAOUI	Mohamed abdenasser	Anesthésie- Réanimation
Pr. TAHRI JOUTEI HASSANI	Ali	Radiothérapie
Pr. TASSI	Nora	Maladies infectieuses
Pr. SAIDI	Halim	Traumatologie- orthopédie
Pr. YOUNOUS	Said	Anesthésie- Réanimation
Pr. ZOUGARI	Laila	Parasitologie-Mycologie

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سُبْحَانَكَ يَا عَلِيمُ

مَا عَلَّمْنَا ابْنَكَ الْعِلْمَ

الْكَبِيرَ

بِصَلَاةِ
الْعِظِيمِ

REMERCIEMENTS

Tout d'abord mes remerciements s'adressent à notre cher Maître et Rapporteur de Thèse :

Monsieur le Professeur B. ESSADKI Professeur de Traumatologie Orthopédie.

Merci de m'avoir fait l'honneur de rapporter et de juger mon travail.

Merci de m'avoir consacré votre temps précieux et votre aimable sollicitude.

Je tiens à vous manifester ma gratitude pour l'aide que vous m'avez apportée, pour votre disponibilité et vos grandes qualités humaines.

Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de mes vifs remerciements et de mon estime.

A notre cher Maître et Président de Thèse :

Monsieur le Professeur M.LATIFI, Maître de conférence agrégé de Traumatologie Orthopédie

Merci de m'avoir fait l'honneur de présider et de juger mon travail.

A notre chère Maître et Juge de Thèse :

Madame le Professeur B.BELAABIDIA, Maître de conférence agrégée d'Anatomie Pathologique

Merci pour l'aide que vous m'avez apportée

Merci d'accepter de juger mon travail.

A notre Maître et juge de Thèse :

Monsieur le professeur A.BARROUG , Professeur de Chimie

Merci d'accepter de juger mon travail.

A notre Maître et juge de Thèse :

Monsieur le Professeur H.KADDAMI , Professeur de Chimie

Merci d'accepter de juger mon travail.

A notre Maître et Juge de Thèse :

Monsieur le Professeur A.BOUSSAID, Professeur de Microbiologie.

Merci d'accepter de juger mon travail.

Je remercie de tout mon coeur mes parents qui m'ont soutenue et encouragée durant toutes mes années d'études.

Je remercie chaleureusement **Mr Tarik Ait Ahmed**, pour son aide et son soutien et sa disponibilité.

Je remercie aussi **Dr A.Messouss** qui m'a aidée dans mes recherches bibliographiques.

*Un merci particulier à Mr H.EL IDRISSI Chef du bureau de Scolarité 2^{ème} cycle,
pour tout son aide.*

DEDICACES

A Ma très chère MAMAN

Qui a toujours été là pour moi, qui m'a soutenue et guidée par ses encouragements et ses prières durant toutes ces années.

Meri pour ton aide capital et ton soutien, Merci pour tout ce que tu as fait pour moi, Merci d'être ma maman.

*J'espère réaliser en ce jour l'un de tes rêves
Avec tout mon amour, je te dédie cette thèse*

A Mon très cher PAPA

Je te dédie ce travail comme modeste témoignage de mon profond amour et de mon respect illimité pour toi.

J'espère que tu trouveras dans ce travail le fruit de ton dévouement ainsi que l'expression de ma gratitude et mon profond amour.

A Mon très cher frère HAKIM

*Pour tout ce que tu as fait pour moi, pour ton aide et ton soutien
Avec tout mon amour, je te dédie cette thèse*

A Mon très cher frère JAMAL

*Pour les moments de joie et de taquineries que nous avons passé ensemble
Avec tout mon amour, je te dédie cette thèse*

A Mon adorable sœur NEZHA

*Je ne saurais exprimer mes profonds sentiments envers toi ma chère
Merci de m'avoir soutenue durant toutes ces années
Avec tout mon amour, je te dédie cette thèse*

A toute ma famille

Je vous aime tous

A toutes mes chères amies

Dr Fatiha Bennaoui, Dr Zahira Zouizra, Dr Loubna Bassi, Dr Dalal El Badri, Dr Fatim Zahra El Atiqui, Dr Ghizlane El Hariri, Dr Hanane El Hamlili, Dr Mina Tarbi, et Dr Karima El Abidi

Avec toute mon affection

A tous ceux qui ont contribué à ma formation de médecin

Merci à tous et à toutes

A ceux que je n'ai pas cité et qui ont su transformer des instants anodins en précieux moments de pur bonheur, un grand MERCI.

ABREVIATIONS

Cm : Centimètre
Fig : Figure
 μm : Micromètre
Art : Article
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
KGy : Kilo Gray
Mrad : Méga radian
Mev : Méga électronvolte
PES : Stérilisation par l'acide peracétique et l'éthanol
Min : Minute
H : Heure
HCL : Acide Chloridrique
E.B.S : Encéphalopathie Bovine Spongiforme
HAP : Hydroxyapatite
D-PTC : Le Phosphate Tricalcique Béta
Ca : Calcium
BPMs : Protéine morphogénique osseuse

PLAN

Introduction	2
Matériel et Méthodes	3
I. Matériel.....	4
1 – Os humain.....	4
2– Os bovin.....	4
II. Méthodes.....	5
1– Traitement de l'os.....	5
2– Lyophilisation de l'os.....	9
3– Emballage de l'os.....	11
4– Stérilisation.....	13
Résultats	14
1 – Macroscopie.....	15
2– Microscopie	17
Discussion	18
I. Impératifs Juridiques.....	20
1 – Loi.....	20
2– Asepsie.....	20
2.1 Sélection des donneurs.....	21
2.2 Bilan biologique réalisé par la banque sur le donneur	21
2.3 Quarantaine.....	22
3– Prélèvement.....	22
4– Conditionnement initial et transport jusqu'à la banque de tissus.....	23
4.1 Conditionnement.....	23
4.2 Transport.....	24
4.3 Traçabilité.....	25
II. Techniques de préparation.....	26
1 – Traitement de l'os.....	26
1.1 La déprotéination.....	26
1.2 Le dégraissage.....	27
2– Lyophilisation.....	27
3– Emballage.....	28
4– Stérilisation.....	28
4.1 L'oxyde d'éthylène.....	29
4.2 L'irradiation.....	30
4.3 La Stérilisation Chimique.....	31
4.4 L'autoclavage.....	32

III. Préparations Particulières.....	33
1 – Soxhlet.....	33
2– L'os lyophilisé décalcifié.....	35
IV. Autres substituts.....	36
1– Autres allogreffes.....	36
1.1 Os autoclavé.....	36
1.2 Os congelé.....	37
1.3 Os pasteurisé.....	38
2– Biomatériaux organiques.....	39
2.1 Xénogreffes.....	39
2.2 Corails.....	41
3– Biomatériaux non organique.....	42
3.1 Céramiques de Phosphates de Calcium.....	42
3.2 Sulfates de Calcium.....	45
3.3 Ciments Phosphocalciques.....	45
3.4 Protéines morphogéniques osseuses.....	47
Conclusion.....	48
Résumés.....	50
Références.....	54

INTRODUCTION

Les pertes de substances osseuses sont devenues de plus en plus nombreuses, que ce soit dans le domaine de la chirurgie ostéoarticulaire, maxillo-faciale, ou dans la chirurgie réparatrice. Le besoin en substituts osseux de comblement est donc en croissance permanente. Et là se pose le problème de leur sécurité et de leur devenir dans l'organisme.

L'os lyophilisé est un substitut osseux, très utilisé actuellement et présente une très bonne tolérance. Il présente aussi l'avantage d'une conservation facile.

Il a été étudié par plusieurs travaux (1, 2, 3,4).

Le but de ce travail est de préparer localement de l'os lyophilisé. Dans un 2^{ème} temps, on lui fera subir les différents tests biologiques et mécaniques.

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

Il était constitué par de l'os épiphysaire, humain et bovin.

1- Os humain

Le prélèvement de l'os était constitué par des têtes fémorales récupérées après arthroplastie de hanche (résidus chirurgicaux).

2- Os bovin

Le prélèvement de l'os était constitué par des condyles fémoraux de bœufs d'origine nationale, abattus dans des abattoirs agréés au niveau communautaire et inspectés par les services vétérinaires.

II. Méthodes

1 – Traitement de l'os

1^{ère} étape :

L'os prélevé était débarrassé des parties molles puis coupé en fragments de 1 à 3 cm.

2^{ème} étape :

Lavage répété par une solution de peroxyde d'hydrogène à 10 volumes pendant 48 heures.

3^{ème} étape :

Le dégraissage a été fait de deux manières différentes:

- Classique: En trempant les fragments osseux dans un mélange de chloroforme et méthanol selon un rapport de 2/1, opération répétée pendant 48 heures (fig.1).
- Nouvelle: En utilisant un Soxhlet (fig.2).

Les fragments osseux ont été enveloppés dans un tissu et mis dans le Soxhlet. Le solvant utilisé était le mélange de chloroforme méthanol selon un rapport 2/1 et porté à ébullition. La durée de l'opération était de 48 heures (fig. 3).



Fig.1 : Solvant récupéré après dégraissage par la méthode classique



Fig.2 : Solvant récupéré après dégraissage par Soxhlet



Fig. 3 : Les fragments osseux sont enveloppés d'un tissu et mis dans l'appareil d'extraction Soxhlet (Faculté des Sciences et Techniques - Marrakech)

4^{ème} étape :

Les fragments étaient trempés dans une solution de peroxyde d'hydrogène à 10 volumes pendant 24 heures.

5^{ème} étape :

Elle n'a concerné que l'os bovin, qui a été traité par une solution de soude à 1N pendant une heure.

6^{ème} étape :

Les fragments étaient trempés de façon répétée, dans des récipients contenant de l'eau distillée pendant 6 heures.

2 - Lyophilisation de l'os

Les fragments étaient mis dans des récipients, puis congelés à -80°C pendant trois jours. Ensuite ils étaient placés dans un lyophilisateur type LP3 (fig. 4). Le vide était de $2,5 \cdot 10^{-4}$ bar. La température du condenseur était de -45°C . La durée de la lyophilisation était de 06 heures.



Fig. 4: Lyophilisateur type LP3 (Faculté de Médecine et de Pharmacie -Marrakech)

3- Emballage de l'os

L'os a été emballé dans deux sachets thermo soudables présentant une face papier et une face polyester polypropylène (fig.5 et 6). L'emballage a été fait sous vide.



Fig. 5 : Os humain lyophilisé, emballé et stérilisé à l'oxyde d'éthylène



Fig. 6 : Os bovin lyophilisé, emballé et stérilisé à l'oxyde d'éthylène

4- Stérilisation

La stérilisation a été faite par l'oxyde d'éthylène.

RESULTATS

I. Macroscopie

Les fragments obtenus étaient blanchâtres et résistants.

La porosité était bien visible et dégagée (Fig.7 et 8).



Fig.7 : Aspect macroscopique d'un os humain lyophilisé



Fig. 8 : Aspect macroscopique d'un os bovin lyophilisé

II. Microscopie

L'étude microscopique après légère décalcification et coloration a mis en évidence des lamelles osseuses de structure et d'architecture conservées, délimitant des logettes désertiques. Ces dernières sont dépourvues d'éléments cellulaires (Fig. 9).

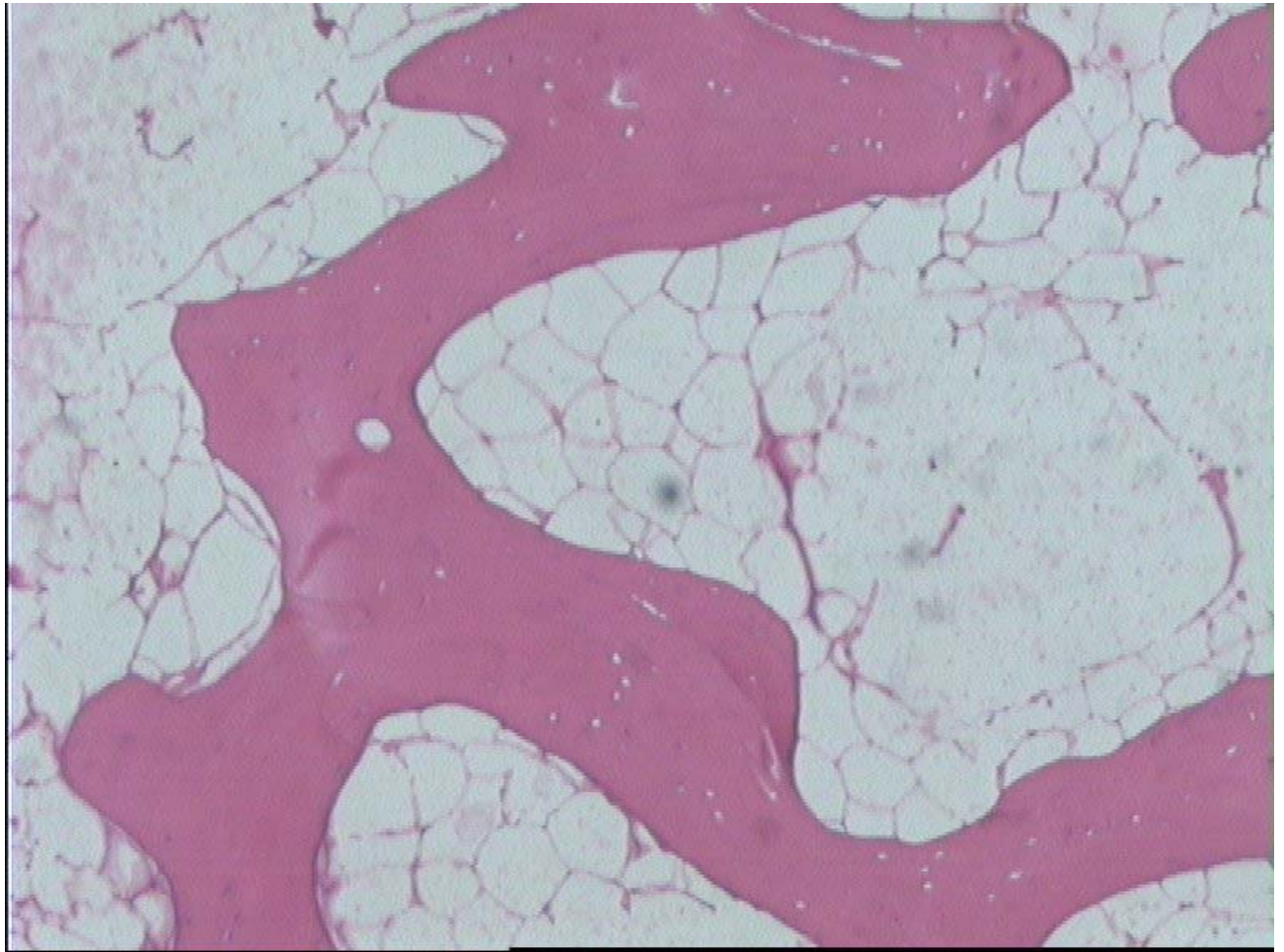


Fig. 9 : Aspect microscopique montrant des pores acellulaires. Le diamètre des pores est d'environ 500 μm

DISCUSSION

L'os lyophilisé est un substitut osseux qui rentre dans la reconstruction des pertes de substances osseuses.

Les substituts osseux sont utilisés en visant deux propriétés principales: l'ostéoconduction et l'ostéoinduction.

L'incorporation osseuse d'un matériau fait appel à un processus d'invasion vasculaire et cellulaire du matériau permettant une néoformation osseuse. L'origine, les propriétés intrinsèques et la morphologie du matériau sont des paramètres qui influent sur sa résorption. Dans un premier temps, la formation osseuse se produit grâce aux propriétés d'ostéoconduction des greffons.

L'ostéoconduction caractérise la croissance osseuse par apposition à partir de l'os environnant.

Le matériau est dit ostéoconducteur lorsqu'il permet l'apposition de nouvel os sur ses surfaces.

L'ostéo-induction est une possibilité de néoformation osseuse, à partir de cellules mésenchymateuses qui se sont différenciées en cellules ostéoprogénitrices sous l'influence d'agents présents dans la matrice osseuse. Ainsi, placé dans un site ectopique en absence d'os, le matériau est capable d'induire une formation osseuse (5).

L'os lyophilisé n'a pas d'effet inducteur, mais il présente plus d'avantages par rapport aux autres substituts osseux.

Sa préparation et son utilisation doivent respecter des règles juridiques et techniques.

I. Impératifs Juridiques

L'usage de substituts osseux d'origine humaine, doit respecter un ensemble d'impératifs d'ordre juridique essentiellement, mais également d'ordre organisationnel.

1- LOI

Le don, le prélèvement et la transplantation d'organes et de tissus humains sont régularisés au Maroc par la loi n° 16-98, promulguée par dahir n° 1-99-208 du 13 Joumada I 1420 (25 août 1999) (6).

– Peuvent être agréer pour la transplantation d'organes et de tissus humains, les hôpitaux publics civils et militaires disposant d'une organisation et de conditions de fonctionnement permettant l'exécution satisfaisante de ces opérations (Art 6 de la loi précitée).

–Les directeurs des hôpitaux publics, civils et militaires agréés, doivent faire parvenir un rapport annuel sur leur activité de prélèvement et/ou de greffes, au ministre de la santé, qui adresse une copie dudit rapport au conseil consultatif de transplantation d'organes humains (Art 15 de la loi précitée).

–Le prélèvement d'organes et/ou de tissus humains à des fins thérapeutiques est interdit sur les personnes vivantes ou décédées, présentant ou ayant présenté les pathologies suivantes :

- tumeurs malignes ;
- hémopathies malignes ;
- infections virales évolutives (hépatite B, C et Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ;
- tuberculose évolutive.

La liste des pathologies mentionnées au présent article peut être complétée ou modifiée, en tant que de besoin, par arrêté du ministre de la santé, sur proposition du conseil consultatif de transplantation d'organes humains (Art 17 de la loi précitée).

2- ASEPSIE

Les bilans de sécurisation concernant les greffes tissulaires comprennent trois étapes majeures impératives.

-En premier lieu, la sélection des donneurs, vérifiant lors du prélèvement l'absence de contre-indication à l'utilisation ultérieure du greffon.

-La réalisation d'un bilan biologique visant à détecter la présence d'agents infectieux transmissibles.

-Au terme de ces deux premières étapes, un troisième volet correspondant soit à un bilan biologique complémentaire, soit à un traitement stérilisateur, est nécessaire pour autoriser l'utilisation des greffons. Le délai nécessaire à l'obtention de toutes les données pertinentes pour la décision finale d'utilisation (validation), ou quarantaine, impose une conservation au sein de la banque dans des conditions appropriées (7).

2.1 Sélection des donneurs

La première étape consiste à sélectionner les donneurs susceptibles de ne pas faire courir le risque accru de contamination au receveur par un agent transmissible : infection bactérienne ou virale, néoplasie, agent transmissible non conventionnel (ATNC, encore appelé prion).

Il est par ailleurs important de s'assurer de la qualité de l'os prélevé.

Sont ainsi des contre-indications formelles au prélèvement et à l'utilisation :

- La notion de tuberculose évolutive ;
- Tout antécédent de tumeurs malignes ;
- Tout antécédent d'hémopathies malignes ;
- Toute infection virale évolutive (hépatite B, C et Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (6).

2.2 Bilan biologique réalisé par la banque sur le donneur

- La recherche de l'infection par les VIH1 et VIH2 ;
- de l'infection par le virus de l'hépatite C ;
- de l'infection par le virus de l'hépatite B ;
- de la syphilis ;
- Des analyses complémentaires ne sont obligatoires qu'en cas de prélèvement d'organe, de moelle osseuse ou de cellules, à la recherche d'infection à cytomégalovirus, virus d'Epstein Barr et toxoplasmose (8).

2.3 Quarantaine

La quarantaine est définie par les textes comme le délai nécessaire à l'obtention des résultats des examens réalisés dans le cadre du bilan de sécurisation, permettant une décision définitive quant à leur utilisation ultérieure.

Les critères de la levée de la quarantaine :

- absence de critères d'exclusion dans les antécédents, négativité du bilan biologique réalisé et :
 - soit négativité d'un deuxième bilan sérologique réalisé chez le donneur 4 mois, voire au mieux 6 mois après le prélèvement ;
 - soit négativité d'un bilan de biologie moléculaire (réaction de polymérisation en chaîne (PCR)), réalisé dans le même temps que le bilan initial, et concernant au moins les virus de l'hépatite C et le VIH.
- soit la réalisation d'un traitement stérilisateur complémentaire, les plus classiques étant les irradiations bêta ou gamma (9).

3- PRELEVEMENT

La source la plus courante de tissus humains est le prélèvement sur l'organisme lors d'interventions à visée diagnostique ou thérapeutique. Il s'agit de tissus malades ou de tissus excisés en surplus, principalement des résidus chirurgicaux (tête fémorale après arthroplastie de hanche).

Le recueil de résidus opératoires est la conséquence d'un geste chirurgical faisant intervenir le personnel de bloc opératoire.

Fonctions et responsabilités du médecin préleveur

En cas de recueil de résidus opératoires, le chirurgien :

- vérifie le dossier médical du donneur ;
- s'assure qu'il n'existe pas de contre-indications réglementaires au recueil de ces résidus ;
- remplit la fiche de prélèvement qui accompagnera le greffon jusqu'à la banque de tissus et il est responsable des informations transmises ;
- est responsable du conditionnement et de l'organisation de l'envoi du produit à la banque de tissus ;
- informe le patient avant l'intervention, du recueil des résidus opératoires en vue de greffe et de la nécessité de pratiquer des examens sanguins permettant d'éliminer certaines maladies qui pourraient être transmises par le greffon à un receveur. Il informe le patient des résultats de ces examens, dans le cadre d'un entretien médical (10).

Afin de retrouver facilement le fragment osseux désiré dans la banque il est nécessaire de remplir avec précision une fiche technique et de réaliser des radiographies sans agrandissement ou avec un témoin d'agrandissement situé à côté de la pièce osseuse.

4- Conditionnement initial et transport jusqu'à la banque de tissus

Tout tissu prélevé doit nécessairement être adressé à une banque autorisée.

4.1 Conditionnement

Le conditionnement initial commence sur le lieu de prélèvement et va jusqu'à la réception par la banque de tissus. Les conteneurs de conditionnement doivent être propres, adaptés et la température contrôlée ou validée selon le type de prélèvement. Le conditionnement doit être appropriée à la taille du greffon. L'étiquetage apposé sur le conditionnement extérieur doit comporter toutes les informations nécessaires au suivi et à la traçabilité du greffon, et notamment:

- la mention "élément ou produit du corps humain à usage thérapeutique" ;
- sa nature, sa description et ses caractéristiques précises ;
- un numéro d'identification du donneur ;
- le lieu et la date (jour mois, année) du prélèvement ;
- le numéro de l'établissement de santé où a été prélevé le greffon ;
- le nom et les coordonnées de la banque de tissus destinataire (7).

4.2 Transport

Le choix du mode de transport se fait selon des critères de sécurité et de respect des conditions de conservation correspondant aux caractéristiques de chaque tissu ; la traçabilité et la transmission des informations concernant le greffon sont assurées. Le transport des tissus s'établit selon les circuits validés, en assurant l'information entre les différents intervenants quant à la nature du tissu et aux conditions de transport. La sécurité des personnes intervenantes est assurée.

La durée du transport doit être la plus courte possible et en fonction de chaque tissu.

La fiche de prélèvement est jointe systématiquement au récipient de transport. Elle a pour but de

transmettre à la banque de tissus toutes les informations nécessaires à la validation du greffon. Ces informations concernent le donneur, les conditions du prélèvement et les caractéristiques du greffon (6).

4.3 Traçabilité

Il s'agit d'un ensemble de règles majeures qui doivent impérativement être respectées par les chirurgiens et les établissements au sein desquels ils pratiquent.

La définition de la traçabilité est précise : « Ensemble des informations et des mesures prises pour suivre et retrouver rapidement l'ensemble des étapes allant de l'examen clinique du donneur à l'utilisation thérapeutique de cet élément ou produit du corps humain, en passant par le prélèvement, la transformation, la conservation, le transport, la distribution et la dispensation à un patient. La Traçabilité permet d'établir un lien entre le donneur et le ou les receveurs. Elle est établie à partir d'une codification préservant l'anonymat des personnes. »

En pratique, le lien entre donneur et receveur n'est possible qu'au sein de la banque, qui collecte des tissus sous les noms des donneurs, puis leur attribue un code anonyme dans le déroulement de son processus de sécurisation. Un double archivage papier et informatique permet de garder durablement toutes les informations utiles. Les normes d'étiquetage, ainsi que les règles devant être respectées au sein de la banque sont définies réglementairement.

En ce qui concerne le praticien, il doit garder une trace précise de tous les prélèvements réalisés dans son établissement sous sa responsabilité (registre des prélèvements) et une trace précise de toutes les implantations réalisées (registre des allogreffes implantées).

Afin de pouvoir donner l'« alerte » en cas de problème découvert ultérieurement chez un donneur ou un receveur, le dossier du donneur doit comporter la trace du prélèvement, et toute greffe implantée doit être clairement signalée dans le dossier du receveur. Dans les deux cas, les références précises de la banque doivent figurer sur le signalement choisi.

Enfin, l'ensemble des étapes de la sécurisation et les résultats des examens biologiques, ainsi que

les techniques utilisées et les laboratoires les ayant réalisés, doivent figurer sur les documents joints à l'allogreffe utilisée, et le chirurgien doit impérativement en prendre connaissance avant toute utilisation. Ces documents doivent être archivés dans le dossier du patient greffé (9).

II. Techniques de préparation

1 – Traitement de l'os

L'os prélevé est coupé en formes standardisées, ensuite, il est nettoyé.

Le nettoyage de l'os comporte deux étapes essentielles, la déprotéination et le dégraissage.

1-1 La déprotéination

La déprotéination des cavités médullaires se fait par un lavage répété par une solution de peroxyde d'hydrogène à 10 volumes pendant 48 heures. Cela permet d'éliminer les cellules et protéines contenues dans les pores, ainsi que les autres constituants des tissus médullaires encore présents.

Fages et coll. (11) ont utilisé le dioxyde de carbone supercritique pour assurer l'élimination des lipides médullaires. Pour ces auteurs, les avantages du traitement par le dioxyde de carbone supercritique résident dans sa capacité de diffusion dans les micro pores de l'os sans aucun problème de mouillabilité, son pouvoir solvant élevé, l'absence de toxicité, l'absence de corrosion, et la possibilité de travailler à des températures non dénaturantes pour les molécules biologiques.

Dans notre étude, nous n'avons pas pu utiliser cette méthode parce que c'est un traitement breveté, et par conséquent plus coûteux.

1-2 Le dégraissage

Le dégraissage se fait par un mélange de chloroforme et méthanol selon des rapports variables, de 1/1 pour Kakiuchi et coll. (12), et de 2/1 pour Ulrich et coll. (13). Cette solution est renouvelée plusieurs fois pendant quarante-huit heures.

Pour Kakuichi et ONO. (14) ce dégraissage permet de faciliter une stérilisation ultérieure par l'oxyde d'éthylène, en éliminant la barrière à la diffusion de ce gaz dans l'os, d'abaisser les niveaux résiduels de l'oxyde d'éthylène et de ses sous-produits toxiques après stérilisation, d'éliminer les iso- antigènes et de rendre possible un stockage à la température de la pièce.

Ce traitement laisse un implant dont les mailles sont entièrement libérées d'éléments cellulaires, offrant ainsi un espace immédiatement disponible pour la recolonisation par les cellules de l'hôte.

2- Lyophilisation

La lyophilisation est une technique de conservation. Elle consiste à éliminer l'eau contenue dans l'os par sublimation qui est le passage direct de la phase solide (glace) à la phase gazeuse (vapeur), sans passer par la phase liquide. On évite de passer par la phase liquide pour essayer de conserver l'ouverture maximale des pores et la structure cristalline de l'os.

Les manipulations de base de la lyophilisation sont simples. Il suffit de congeler l'os et de le soumettre à un vide le temps nécessaire à la sublimation complète de l'eau.

Le produit à lyophiliser doit être totalement congelé à -80°C pendant la durée nécessaire à la congélation totale de l'os. Cette durée était de cinq jours pour Nather et coll. (15).

Ensuite, le produit est mis à basse pression pour permettre la sublimation. Le produit va dégager une certaine quantité de vapeur d'eau. Il faut piéger cette vapeur sur un condenseur froid. La température du produit doit toujours être supérieure à celle du piège froid (ou condenseur) pour garder un sens de migration de la vapeur (produit) vers le piège, évitant ainsi d'altérer la pompe. La tension de vapeur est inversement proportionnelle à la température (16).

Pour que la sublimation se fasse correctement, il faut donc avoir un maximum d'écart de

température (donc de tension de vapeur) entre le produit et le condenseur.

L'opération de lyophilisation est réalisée par un appareil appelé lyophilisateur.

La quantité d'eau résiduelle sera un facteur important de la durée de conservation. Elle ne doit pas dépasser 5–8% (1,15)

3– Emballage

Le produit lyophilisé est une matière sèche et stable de façon quasi indéfinie, car l'humidité résiduelle représente moins de 5% du poids final de l'échantillon (1).

Outre l'eau, l'oxygène peut aussi influencer la stabilité du produit lyophilisé. C'est pourquoi il faut que l'échantillon soit emballé sous une atmosphère inerte ou sous vide. Le type d'emballage dépend de la méthode de stérilisation. La stérilisation par l'oxyde d'éthylène impose un emballage en deux sachets thermo soudables présentant une face papier et une face polyester polypropylène.

4– Stérilisation

La stérilisation répond à une définition statistique : La probabilité de détecter un microorganisme dans l'échantillon stérile doit être inférieure à 10^{-6} .

Plusieurs méthodes de stérilisation sont admises : l'exposition à l'oxyde d'éthylène, l'irradiation, la stérilisation chimique et l'autoclavage.

L'efficacité dépendra de la quantité de germes présents au début de la stérilisation, du contact de l'agent stérilisant avec les germes à détruire, de leur sensibilité à l'agent stérilisant, du maintien pendant un temps suffisant des paramètres de stérilisation et de la perméabilité éventuelle de l'emballage à l'agent stérilisant (17).

4-1 L'oxyde d'éthylène

C'est un gaz alkylant qui a été utilisé comme agent stérilisant pour les greffes osseuses et de tissus conjonctifs après l'étude de son efficacité en fonction de différents paramètres (humidité, température, pression) et de la toxicité des résidus (18).

Kakiuchi et coll. (12,14) ont prouvé l'efficacité de cette méthode de stérilisation en étudiant les effets de ce gaz sur des allogreffes osseuses traitées par dégraissage dans du chloroforme et du méthanol et ensuite lyophilisées.

Le but du dégraissage et de la lyophilisation était de faciliter la stérilisation en éliminant la barrière à la diffusion du gaz d'oxyde d'éthylène dans les os, d'abaisser les niveaux résiduels de l'oxyde d'éthylène et de ses sous produits toxiques après la stérilisation et de rendre possible un stockage à la température de la pièce.

Ces mêmes auteurs ont rapporté deux cas d'infections postopératoires, vérifiées par culture bactérienne sur 396 cas soit 0.5% recevant cette allogreffe préparée dans des conditions propres, mais non stériles.

Des sections histologiques de la zone autour de l'interface de l'allogreffe et de l'assise de l'os receveur ont montré :

- 1- des ostéoblastes bordant la surface de l'allogreffe osseuse corticale avec des appositions d'os néo-formé,
- 2- le développement du nouvel os dans les canaux vasculaires haversiens,
- 3- une légère infiltration de petites cellules rondes inflammatoires.

L'incidence négligeable de l'infection postopératoire a permis de confirmer l'efficacité de la stérilisation par le gaz d'oxyde d'éthylène.

Les sections histologiques de spécimens biopsiques ont montré la préservation de la capacité de la greffe à supporter la formation d'un os nouveau.

Fuchs et coll. (19) ont comparé l'effet de différentes techniques de stérilisation sur l'oxydation du matériau. Ils ont conclu que l'oxyde d'éthylène n'a que peu d'effet sur l'oxydation de l'os.

4-2 L'irradiation

Si on s'intéresse aux mécanismes d'action de la stérilisation par irradiation, on remarque que les rayons sont efficaces quand ils détruisent les molécules d'ARN ou d'ADN virales par choc direct ou par transformation des liquides péri viraux. Il faut donc des doses importantes d'électrons ou de rayons pour détruire toutes les particules virales, et surtout celles intracellulaires.

La destruction des virus ne sera jamais totale et ce n'est qu'un pourcentage, certes de plus en plus important de virus que l'on détruira en augmentant la dose d'irradiation, mais il en restera toujours et ce n'est qu'à des doses prohibitives que l'on peut être sûr d'avoir stérilisé toute la pièce (20).

Hernigou et coll. (21) ont étudié l'influence de l'irradiation sur le risque de transmission des virus par allogreffe osseuse notamment la transmission du virus HIV, cette étude précise à partir de la détermination de la radiosensibilité du virus, de son pouvoir contaminant et du nombre potentiel de virus pouvant être présent dans une tête fémorale, l'influence de l'irradiation sur le risque de transmission du virus HIV par allogreffe osseuse.

La radiosensibilité du virus a été déterminée par des irradiations effectuées avec un accélérateur délivrant des électrons d'énergie de 6.2 Mev.

Pour une dose de 25000 Grays, on observe une réduction du titre infectieux de 1000 fois.

A partir de ces données, la probabilité de retrouver une tête fémorale contaminante après irradiation parmi une population de donneurs où a été effectué un dépistage sérologique a été calculé, la probabilité est très faible, très vraisemblablement inférieure à 10^{-9} .

Komender et coll. (3) ont étudié les effets thérapeutiques de la transplantation de greffons d'os lyophilisés stérilisés par irradiation.

Le travail s'est effectué sur 1014 patients et l'on a évalué les résultats sur deux ans de suivi.

Les résultats furent excellents dans 91.3% des cas, surtout quand l'indication de la greffe était le comblement des défauts osseux secondaires à des tumeurs bénignes ou à des malformations congénitales. Ces patients ont gardé une bonne activité physique et ont pu rapidement reprendre

leur travail, alors que dans les 8.7% des cas restants, il y a eu une limitation de leur activité physique.

En pratique, les fragments osseux sont stérilisés aux rayons gamma émis par une source de Cobalt à une dose de 2.5 Mrad (25 KGy) (1, 3, 15,21).

Fuchs et coll. (19) ont montré que la stérilisation par irradiation gamma sous air provoque une oxydation plus élevée que la stérilisation par irradiation gamma sans air.

Pruss et coll. (22) pensent que l'irradiation gamma est une méthode sûre et efficace pour la stérilisation de l'os sans influencer de manière significative les propriétés biologiques de celui ci, mais ils recommandent une dose de 34 kgy pour réduire l'infectiosité au moins de 4 log10 à une température de $-30\pm 5^{\circ}$ C. Les virus employés étaient: le virus de l'immunodéficience acquise (HIV), le virus de l'hépatite A (HAV), le virus polio (PV-1), les virus de l'herpes, et le parvovirus.

4-3 La stérilisation chimique

Pour Pruss et coll. (23) la meilleure méthode de stérilisation est la stérilisation chimique par un mélange de l'acide peracétique et de l'éthanol. Cette technique de préparation repose d'abord sur une congélation des greffons à une température de -70° C pendant sept jours, ensuite, dégraissage dans une solution de chloroforme/méthanol, puis rinçage dans de l'eau distillée stérile et enfin traitement avec le PES (2 volumes de l'acide peracétique, 1 volume d'éthanol de 96% et 1 volume d'eau) pendant 4 heures. Ces auteurs ont montré que le traitement des implants par de l'acide peracétique et de l'éthanol entraîne une réduction de 5 log10 du risque de transmission des germes.

4-4 L'autoclavage

Un autoclave est une enceinte close qui permet en présence de vapeur d'eau sous pression de potentialiser les effets de la chaleur. Il s'agit d'une méthode efficace de stérilisation dont le matériel est largement diffusé dans les services de santé.

Nous n'avons pas trouvé d'étude évaluant l'autoclavage de l'os lyophilisé. Cependant cette technique a été utilisée pour l'allogreffe fraîche.

Chiron (24) a introduit dans des têtes humaines, par l'intermédiaire d'un canal de forage, des virus et des bactéries avec des concentrations élevées (10^9). Il a utilisé le virus HIV, le staphylocoque doré et le *Pseudomonas aeruginosa*. Il a également utilisé des bacilles résistants à la chaleur comme le *Bacillus subtilis* et le *Clostridium sporogenes*.

Par la suite, il a autoclavé les têtes fémorales à 120°C pendant 20 min. Les cultures à 30 jours du virus et des bactéries n'ont pas poussé pour le lot autoclavé, alors qu'ils ont poussé dans le lot témoin.

III- Préparations particulières

1- Soxhlet

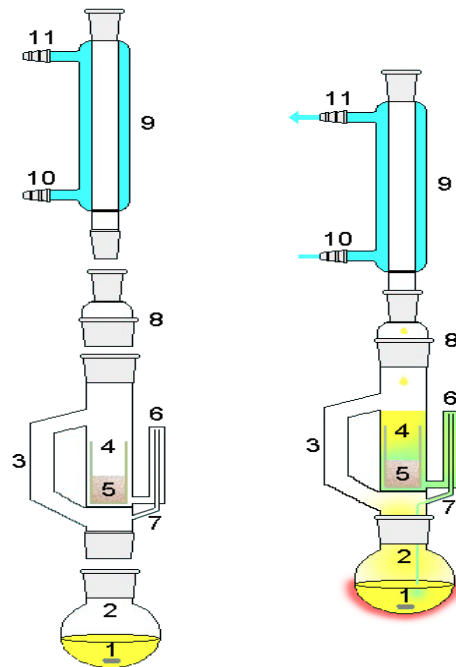
Nous avons introduit cette méthode pour le dégraissage de l'os à une température de 60°C pendant 48h. Nous pensons qu'une chaleur de 60°C améliorera l'effet du dégraissage par le mélange chloroforme méthanol et aura probablement un effet stérilisateur. Ceci reste à confirmer dans la suite de l'étude.

Les fragments osseux ne paraissaient pas altérés macroscopiquement et ressemblaient à l'os traité par la méthode classique.

Aucune étude dans ce sens n'a été publiée dans la littérature.

Le principe du Soxhlet est basé sur l'extraction liquide solide par recirculation continue sur l'échantillon de solvant porté à ébullition et recondensé.

L'échantillon est placé dans une cartouche qui est régulièrement remplie par le solvant porté à ébullition dans un ballon de distillation et qui en se recondensant redescend et imprègne l'échantillon (fig. 10).



1: Barre d'agitateur	2: pot d'extraction
3: Chemin de distillation	4: Dé de Soxhlet
5: Solide d'extraction	6: Admission de bras de siphon
7: Sortie de bras de siphon	8: Adapteur d'expansion
9: Condensateur	10: L'eau de refroidissement dedans
11: L'eau de refroidissement dehors	

Fig. 10: Schéma du montage d'une extraction Soxhlet

2- L'os lyophilisé décalcifié

Itoman et Makamura. (25) ont étudié les effets des différentes techniques de préparation (lyophilisation, lyophilisation puis décalcification), sur les propriétés biomécaniques des greffons et sur leur incorporation histologique.

L'os lyophilisé décalcifié a été préparé par l'immersion de l'os lyophilisé dans une solution de 0.6 N d'HCL.

Les résultats de l'étude ont montré que la rigidité osseuse était augmentée après la greffe d'un os lyophilisé, alors que l'os décalcifié était très mou, cependant, son incorporation était rapide.

D'autre part, Mellonig et coll. (26) ont montré que l'os lyophilisé décalcifié est un matériel de potentiel ostéogénique élevé, après greffe de ce substitut, la formation du nouvel os a eu lieu rapidement.

En effet, l'os lyophilisé décalcifié est mou, donc il ne peut pas être utilisé là où des propriétés mécaniques sont exigées. Par contre, la décalcification paraît faciliter l'incorporation de l'os.

L'indication principale de l'os lyophilisé décalcifié serait le remplissage de cavités initialement rigides ou des cavités rigidifiées par un implant.

L'os lyophilisé a aussi beaucoup d'avantages par rapport aux autres substituts: Il a une structure presque identique à l'os humain, le traitement qu'il subit diminue de façon importante le risque de transmission de maladies. Le coût de stockage est très faible, puisqu'il se fait à température ambiante.

IV. AUTRES SUBSTITUTS

1 – Autres allogreffes

1.1 Os autoclavé

Les normes européennes standards recommandent pour la stérilisation par la chaleur un contact de l'agent à stériliser à 121° pendant 15 min.

Pour se conformer aux normes de stérilisation européenne par la chaleur il faut tenir compte du fait que l'os est un isolant, propriété responsable d'un temps de latence de 2 min environ par rapport à la température de l'autoclave. Une solution peut être la section en deux des têtes fémorales ce qui diminue le volume et le temps de latence en exposant l'os spongieux moins isolant que l'os cortical et le cartilage.

Cette solution permet également l'évacuation des résidus de collagène, de graisse et de moelle qui sont en fait des obstacles à la repousse osseuse (24).

Après autoclavage, l'aspect macroscopique de l'os est modifié. Il semble calciné; les radiographies comparatives d'hémi têtes chauffées et non chauffées sont plus rassurantes; des coupes histologiques sur un os non décalcifié mettent en évidence une altération complète de la moelle hématopoïétique avec une conservation de la trame calcique. L'altération de la moelle est un facteur favorable puisque c'est elle qui est l'élément antigénique de la greffe et qui reste le réservoir principal de germes pathogènes tels que les prions.

Massin et coll. (27) ont comparé les résultats à moyen voire à long terme de l'autoclavage avec des allogreffes irradiés. Le travail avait pour but de tester l'ostéointégration des allogreffes osseuses cortico-spongieuses congelées implantées en région métaphysaire inférieure du fémur chez le chien. Le protocole de l'autoclavage dans cette étude, consistait en une exposition des greffons pendant 20 minutes à une température de 121°C. Cette étude a montré que les scores d'ostéointégration des allogreffes non autoclavées sont inférieurs à ceux des allogreffes

autoclavées. Nous pensons que ceci est le résultat d'un nettoyage partiel des pores du greffon par la chaleur ce qui a permis une colonisation plus rapide.

Cependant, Fuchs et coll. (19) ont prouvé que l'autoclavage provoque une oxydation importante. L'oxydation des lipides a un effet toxique comme on va le voir plus bas.

1-2 Os congelé

Les normes internationales indiquent que les allogreffes d'os pour l'usage humain doivent être stockés à -40°C et le temps d'entreposage peut aller jusqu'à 5 ans.

Les allogreffes d'os contiennent les lipides qui en s'oxydant deviennent toxiques avec le temps.

Laitinen et coll. (28) ont constaté que l'oxydation de lipides dans les allogreffes d'os frais congelé a été influencée par la température de stockage et le temps d'entreposage. L'os contient une grande quantité de lipides. Pour une tête fémorale d'adulte, cette quantité varie entre 60 à 70%. La détérioration oxydante des lipides implique des réactions auto oxydatives des acides gras insaturés, accompagnées de diverses réactions secondaires.

Ces mêmes auteurs ont rapporté que les produits d'oxydation induisent l'apoptose de cellules et empêchent l'ostéogénèse. Ils peuvent également abaisser la qualité des greffons en induisant la résorption de l'os et en diminuant la nouvelle formation de celui-ci.

Nicholas et Drabu (4) ont montré que l'os frais congelé est cher à stocker et porte un risque théorique de transmission d'infection, alors que ce risque peut être réduit si le greffon osseux a été traité par lyophilisation et stérilisé avec de l'oxyde d'éthylène.

Pour comparer la force biomécanique de l'os congelé à celle de l'os lyophilisé, Nather et coll. (15) ont comparé des allogreffes d'os cortical large. Ils ont utilisé deux groupes de chats adultes, et ont greffé dans un groupe de l'os congelé, dans l'autre groupe de l'os lyophilisé.

L'étude a prouvé une supériorité de l'os congelé par rapport à l'os lyophilisé.

Cornu et coll. (29) ont comparé des allogreffes morcelées d'os lyophilisé et irradié à celle d'os congelé dans une reconstruction fémorale.

Les résultats ont été meilleurs avec l'allogreffe lyophilisée.

1-3 Os pasteurisé

Selon Zoricic et coll. (30) La pasteurisation consiste en l'exposition des greffons à une température de 56 °C pendant 20 minutes. Pour eux, il constitue un procédé très efficace puisqu'il permet l'inactivation du virus HIV et autres virus, sans compromettre les propriétés biologiques d'ostéoinduction des greffons osseux, et l'activité des facteurs de croissance dans la matrice de l'os elle-même responsables de l'ostéoinduction.

Cette étude a montré que les greffons d'os pasteurisé induisent le même taux de formation d'os que les greffons d'os congelé.

Pour Yongyudh (2), la pasteurisation consiste en un stockage de l'os à une température de 60°C pendant 03heures.

L'analyse histologique après greffe de l'os pasteurisé montre que ses particules ont été rapidement résorbées après transplantation, ce qui montre que l'os pasteurisé a un pouvoir rapide d'ostéoinduction de même que l'os congelé, tandis que l'os autoclavé, il a besoin de beaucoup plus de temps pour s'intégrer après transplantation.

Sakayama et coll. (31) ont utilisé des greffons d'os pasteurisé pour la reconstruction squelettique dans la chirurgie des tumeurs osseuses. Ils ont prouvé que la pasteurisation de l'os peut être employée avec des résultats favorables supérieurs à la stérilisation à l'autoclave.

2- Biomatériaux organique

2-1 Xénogreffes

Dans les années 1950, Maatz proposa de traiter l'os hétérologue provenant des jeunes porcins ou ovins par différents procédés de macération permettant de le déprotéiniser. Il avait connu un large succès d'implantation pendant une dizaine d'années, mais le traitement insuffisant qui laissait en place des résidus organiques fut à l'origine d'échecs et de mauvais résultats cliniques.

L'amélioration des techniques de purification a redonné un nouvel élan aux substituts osseux d'origine hétérologue.

Les xénogreffes actuellement commercialisées font appel à des procédés chimiques de préparation visant à faire disparaître toute antigénicité, tout en conservant les qualités biologiques du tissu osseux.

D'autres xénogreffes sont céramisées à très haute température, et transformées en hydroxyapatite.

La plupart des substituts osseux d'origine animale proviennent de bovins. La possibilité de transmission à l'homme d'une maladie virale ou due à des prions (en particulier l'encéphalopathie bovine spongiforme) est possible.

Pour minimiser les risques de transmission de l'E.B.S, il faut éviter les animaux provenant des pays à risque, et utiliser des méthodes spécifiques d'inactivation ou d'élimination des agents infectieux.

D'une manière générale, les substituts d'origine bovine subissent plusieurs étapes de traitement: élimination des débris cellulaires, déprotéination plus ou moins complète et spécifique, délipidation, traitement d'inactivation virale et contre les prions, enfin stérilisation finale par irradiation (7).

Pour Colombier et coll. (5), les xénogreffes offrent des propriétés ostéoconductrices en se comportant comme un substrat minéralisé permettant la migration des cellules vasculaires et ostéogéniques au sein de la structure trabéculaire. Elles sont souvent utilisées en association avec

de l'os autogène, palliant ainsi le manque quantitatif de greffon autogène. Cette association offre également l'intérêt d'incorporer un tissu organique contenant des facteurs de croissance à la xéno greffe.

Levai et coll. (32) ont mené un travail pour évaluer la tolérance d'une xéno greffe, utilisée dans le but de remplacer l'autogreffe et de diminuer la morbidité en rapport avec le prélèvement iliaque.

La xéno greffe utilisée a été prélevée au niveau des condyles fémoraux de bovins âgés de moins de 6 mois ayant bénéficié d'une alimentation exempte de farine protéique animale. Le procédé de fabrication fait appel à une série d'extractions chimiques sous haute pression aboutissant à l'élimination des éléments médullaires sans dénaturer la matrice collagénique dans le but de conserver les propriétés biomécaniques et les capacités d'adhérence des cellules.

L'analyse et les expérimentations in vitro et animales ont montré que cette xéno greffe est ostéoconductive et bio résorbable, dont l'intégration se fait selon le mécanisme physiologique du remodelage osseux.

Begley et coll. (33) ont mené une étude pour évaluer les propriétés ostéoinductives de la xéno greffe. Les résultats ont montré des réactions allergiques secondaires à la greffe, une réponse inflammatoire intense et aucun signe d'une nouvelle formation de l'os n'a été objectivé.

2-2 Corails

C'est Patat en 1976 qui, en étudiant les architectures poreuses capables d'être colonisées par le tissu osseux, découvrit les possibilités d'utilisation du corail naturel comme substitut de greffon osseux. En collaboration avec Guillemin, il effectua les premières études expérimentales sur ce biomatériau (34).

Ils ont montré que le corail est fait essentiellement de carbonate de calcium sous la forme cristalline d'aragonite: c'est donc une biocéramique naturelle à architecture poreuse.

Dupoirieux et coll. (35) ont comparé des greffons d'os lyophilisé décalcifié stérilisés à l'oxyde d'éthylène avec des greffons de corail. Les résultats, évalués par des études macroscopiques, des

examens radiographiques et des analyses histologiques ont montré que la formation du nouvel os a eu lieu dans 90% des cas avec l'os lyophilisé, alors qu'elle était de 50% avec le corail.

Pour Leize et coll. (36) le corail n'a aucune propriété d'induction osseuse.

3- Biomatériaux non organiques

3-1- Céramiques de Phosphate de Calcium

L'hydroxyapatite de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, est un phosphate de calcium qui présente de grandes similitudes avec l'os, celui-ci étant composé essentiellement d'apatite carbonatée et de collagène. C'est pourquoi l'HAP est l'un des biomatériaux les plus utilisés que ce soit pour le recouvrement des tiges fémorales, les implants dentaires, les ciments osseux ou les matériaux de comblement. (37)

Parmi les biomatériaux en phosphate de calcium, l'HAP pur est le moins soluble.

Le Phosphate tricalcique bêta ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) pur est plus soluble que l'HAP pur. Il est généralement admis qu'il est plus dégradable in vitro et in vivo.

L'HAP ou le D-PTC purs sont difficiles à préparer; les contrôles chimiques de pureté révèlent très souvent la présence d'autres phases minérales, certaines pouvant ne pas être biocompatibles. (37)

Après implantation, le matériau est le siège d'une dissolution extracellulaire et d'une dégradation d'origine cellulaire. Celles-ci dépendent de la structure chimique, physique (pores du matériau), et de l'environnement du matériau. Les fluides biologiques occupant les micropores s'enrichissent en Ca, ce qui aboutit à la précipitation de cristaux d'apatite similaires à ceux de l'os avoisinant (processus de calcification et non d'ossification).

Si la taille des macro pores est adéquate, les processus d'ostéoconduction peuvent entrer en jeu ainsi que le remodelage osseux.

Les céramiques de Phosphate de Calcium sont ostéoconductrices (mais pas ostéoinductrices) et nécessitent un contact intime avec l'os receveur et l'absence de mouvements entre os et implant.

La résorption des implants ne doit pas être trop rapide pour permettre une colonisation des macro pores par les cellules mésenchymateuses, plus au moins différenciées qui permettent l'apposition osseuse.

Le résultat clinique dépend donc de la cinétique de colonisation et de résorption qui est conditionnée par les caractères chimiques et physico-chimiques de l'implant ; ces critères devront donc être parfaitement contrôlés.

Un des inconvénients des céramiques de phosphate de calcium macroporeuse est leur fragilité et leur faible résistance mécanique qui limitent leur utilisation isolée en cas de contrainte importante (leur résistance en flexion ou torsion est encore plus faible qu'en compression) (38).

Un matériau dense n'a pas les mêmes propriétés mécaniques qu'un matériau poreux, or le matériau acquiert sa porosité au cours des étapes de chauffage. Il existe deux types de porosité dans un échantillon:

- la microporosité (diamètre des pores de moins de 10 μm), due aux espaces qui existent entre les cristaux du biomatériau; les hautes pressions et les hautes températures diminuent fortement cette microporosité;
- la macroporosité (diamètre des pores compris entre 100 et 500 μm) se définit par l'existence de pores plus ou moins calibrés. Ceux-ci sont obtenus au cours de la calcination par l'addition, au phosphate de calcium, d'eau oxygénée ou de billes de naphtalène, ou encore d'un squelette de cire, qui disparaissent au cours de la calcination. Au cours de la disparition de ces additifs, subsisteront des pores du volume désiré dans le matériau, pores qui pourront être colonisés par les cellules et les tissus vivants.

Oonishi. (39) a publié en 1997 quarante cas de reprises d'arthroplasties totales de hanche avec défaut acétabulaire volumineux comblé par des granules d'hydroxyapatite. L'étude a montré que les granules d'hydroxyapatite impactés peuvent être un bon moyen de comblement du défaut.

Une autre étude a été menée par Gouin et coll. (40) pour étudier les résultats à court terme de l'utilisation d'une céramique phosphocalcique macroporeuse biphasée dans les pertes de substances osseuses.

Dans cette étude, aucun effet néfaste local ou général n'a été imputable à la céramique.

Radiologiquement, les zones de jonction montraient une consolidation dans tous les cas, avant 3 mois dans 21 des 23 cas.

Aucune fracture de fatigue n'a été notée dans le substitut.

Des biopsies effectuées dans 3 cas ont conforté les résultats expérimentaux obtenus avec cette même céramique macroporeuse, en montrant une repousse osseuse au sein des pores et l'absence d'encapsulation fibreuse.

La présence de cette repousse osseuse explique l'adaptation mécanique d'un tel substitut après implantation. Ces résultats font de cette céramique une alternative aux autogreffes spongieuses lorsque les conditions mécaniques initiales sont respectées.

Si on compare les céramiques de phosphates de calcium à l'os lyophilisé, ce dernier paraît avoir un potentiel ostéoconducteur beaucoup plus élevé que les céramiques, ceci a été montré par Barnett et coll. (41) qui ont mené une étude pour comparer les deux implants utilisés dans le comblement des défauts osseux en parodontologie chez sept patients.

La surveillance post opératoire (6 à 11 mois), a montré une meilleure intégration de l'os lyophilisé.

3-2 Sulfates de calcium

Le sulfate de calcium, généralement connu sous le nom de plâtre de Paris est un substitut osseux fabriqué par réaction entre une solution de chlorure de calcium et une solution d'acide sulfurique. ($\text{CaSO}_4, 2 \text{H}_2\text{O}$)

Le sulfate de calcium est facilement stérilisé et peut être employé dans diverses tailles des défauts osseux.

La stérilisation se fait par rayonnements gamma à une dose minimale de 25 kGy. (38)

L'utilisation du sulfate de calcium en clinique humaine a été rapportée régulièrement depuis un siècle. Il a été utilisé en tant que matériau de comblement.

Mirzayan et coll. (42) ont mené une étude pour évaluer l'efficacité du sulfate de calcium comme produit de remplacement dans le traitement des patients ayant une lésion bénigne d'os.

Dans cette étude, le sulfate de calcium a été complètement résorbé en une durée de temps relativement courte grâce à son pouvoir d'ostéoconduction, il a été facilement remplacé par du nouvel os. Le degré de résorption a été analysé radiologiquement parce que le sulfate de calcium est un produit radio opaque.

La greffe n'a causé aucune réaction inflammatoire excessive et aucune réaction de rejet n'a été mise en évidence.

Sur la base de ces résultats, ces auteurs ont pu conclure que le sulfate de calcium peut être un produit de remplacement efficace pour la greffe d'os dans le traitement des défauts osseux secondaires à des lésions bénignes de l'os.

3-3 Ciments phosphocalciques

Les ciments phosphocalciques forment une nouvelle classe de substituts osseux qui se caractérisent par une prise et un durcissement en milieu humide. Ils résultent d'une réaction d'hydrolyse ou d'une réaction de type acide base, donnant naissance à un sel phosphocalcique qui précipite.

Pour fabriquer un ciment de propriétés mécaniques convenables, il faut mettre en œuvre des matières premières qui se dissolvent puis recristallisent de façon adéquate. Cette dissolution recristallisation n'est possible que si le niveau énergétique du système avant la prise en masse est supérieur au niveau énergétique du système après la prise en masse. (38)

Les précipités de phosphate de calcium obtenus après la prise du ciment ont des caractéristiques différentes de celle des céramiques de phosphate de calcium. Ils ne sont densifiés par aucun processus thermique après leur prise et ont donc une microporosité et une surface spécifique très élevées par rapport aux céramiques. Cela signifie que, même lorsque la prise est parfaite et

à composition comparable, la dégradation de ces matériaux est beaucoup plus élevée que celle des céramiques, la surface est beaucoup plus instable, la taille des particules est beaucoup plus faible. Les échanges ioniques entre la surface des cristaux et le milieu extracellulaire sont très importants.

En fonction des caractéristiques, les mécanismes d'ostéointégration de ces matériaux peuvent être également différents de ceux des céramiques. Pour les matériaux ayant des caractéristiques proches de la phase minérale du tissu osseux, ce mécanisme est identique. Des ostéoblastes se différencient au contact du matériau et l'ossification progresse à partir de celui-ci de manière centrifuge. Lorsque le matériau est plus instable, il n'existe pas de différenciation ostéoblastique au contact du matériau. La progression osseuse se fait à partir de la périphérie. (38)

Liverneaux. (43) a étudié l'utilisation d'un ciment phosphocalcique dans le traitement d'un cas de dysplasie fibreuse. Le capital osseux greffable de la patiente étant épuisé, le substitut osseux a permis de combler 2 lacunes, l'une à l'extrémité supérieure de l'humérus, l'autre à la diaphyse radiale.

Le traitement a consisté chaque fois en un curetage puis un comblement par un ciment phosphocalcique composé de cristaux d'hydroxy-apatite. Le type en a été choisi pour ses caractéristiques particulières : structure minérale proche de l'os, microporosité, résistance à la compression comprise entre celles de l'os trabéculaire et l'os cortical, composition favorable aux échanges entre cristaux et milieu interstitiel.

Le résultat a été favorable d'emblée à l'épaule et secondairement à l'avant-bras.

3-4 Protéines morphogéniques osseuses

Les propriétés particulières d'ostéo-induction des protéines morphogéniques osseuses (Bone Morphogenetic Proteins-BMPs) ont été identifiées pour la première fois en 1965 par Marshall Urist. (44)

La BMPs est une protéine extracellulaire qui joue un rôle de signal par fixation sur des protéines réceptrices présentes à la surface des cellules cibles. Ces protéines de la surface cellulaire, connues sous le nom de « récepteurs de type I et II », traversent la membrane cellulaire et interagissent avec des protéines de signalisation internes à la cellule. Les protéines présentes dans le cytoplasme de la cellule appartiennent à une classe de protéines appelées « Smad ». Ces protéines Smad interagissent ensuite avec des facteurs de transcription qui perpétuent alors la transduction du signal de façon à activer l'expression du gène nécessaire au processus de formation osseuse. (45)

Les expériences in vitro sur les cellules de lignée ostéoblastique montrent que la BMPs active la synthèse du collagène, la phosphatase alcaline, l'ostéocalcine, et favorise la formation des nodules osseux. La BMPs joue un rôle de facteur de croissance et de facteur de différenciation. Elle se comporte comme un commutateur biologique qui oriente les cellules souches vers une voie de formation osseuse. En d'autres termes, la BMPs peut être décrite comme un commutateur qui déclenche en cascade les événements cellulaires nécessaires à la formation osseuse.

Une étude clinique prospective, randomisée et contrôlée a été menée sur le traitement des fractures non consolidées à l'aide d'une BMPs. Il s'agissait de fractures non consolidées datant de 9 mois minimum et ne s'étant pas rétablies depuis le traumatisme d'origine. Le traitement des patients nécessitait la pose d'un enclouage intra médullaire. Ces patients ont alors été soumis de façon aléatoire à l'implantation d'une BMPs ou à une autogreffe.

Cette étude qui a porté sur 122 patients a conclu que la BMPs constituait une solution alternative à l'autogreffe. (46)

CONCLUSION

L'os lyophilisé a une structure presque identique à l'os humain, il a moins de risque de transmission d'infection, et son coût de stockage est très faible puisqu'il se fait à température ambiante et pendant de longues années.

Tous ces avantages, font de lui un substitut osseux de choix qui permet aux chirurgiens d'accroître les possibilités thérapeutiques dans le comblement des pertes de substances osseuses.

La préparation de l'os lyophilisé pour la première fois à Marrakech est possible. Ceci permettra l'utilisation d'un substitut osseux de qualité avec un coût modeste.

REFERENCES

1- DELLOY CH, ALLINGTON N, MUNTING E, VINCENT A

L'os de banque lyophilisé

Technique et résultats après trois années d'utilisation

Acta Orthop Belgica 1987, 53,2-10.

2- YONGYUDH V

Bone Banking in Thailand

Clin Orthop 1996, 323, 173-180.

3- KOMENDER J, MALCZEWSKA H, KOMENDER A

Therapeutic Effects of Transplantation of Lyophilized and Radiation-Sterilized, Allogenic Bone

Clin Orthop 1991, 272, 38-48.

4- NICHOLAS J, DRABU K

Impaction Bone Grafting Using Freeze-Dried Allograft in Revision Hip Arthroplasty

J Arthrop 2001, 16, 201-206.

5- COLOMBIER ML, LESCLOUS P, TULSANE JF

La cicatrisation des greffes osseuses

Rev Stom Chi Maxillo-Faciale 2005, 3, 157-165.

6- Décret n° 2-01-1643 du 2 chaabane 1423 pris pour l'application de la loi n° 16-98 relative au don, au prélèvement et à la transplantation d'organes et de tissus humains

7- POITOUT DG, NOVILLE Y

Banque d'os: aspects techniques de préparation et de conservation des allogreffes articulaires

Rev Chi Orthop 1998, 84, 42-47.

8- LOTY B

Réglementation des allogreffes de tissus

Maitrise Orthopédique 1999.

9- VASTEL L, LEMERCIER V, KERBOULL L

Fonctionnement d'une banque de tissus osseux en 1998

Rev Ch Orthop 1999, 85, 164-175.

10- APOIL D

Règles de bonne pratique de prélèvement d'organes 1998

www.chu-rouen.fr

11- FAGES J, MARTY A, DELGA C, CONDORET JS, COMBES D, FRAYSSINET P

Use of supercritical CO2 for bone delipidation (Abstract)

Biomaterials 1994, 15, 650-656.

12- KAKUICHI M, ONO K, NISHIMURA A, SHIOKAWA H

Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilization with ethylene oxide gas

Part 1. Experimental evaluation of its efficacy and safety

Int Orthop 1996, 20, 142-146.

13- ULRICH K, MULLER H, BAUDISCH H, BIRKHAHN HJ, RUDIGER V, HANSEN A, PRUSS A

A method for the determination of the residual chloform in defatted cancellous bone transplants

Cell Tiss Banking 2005, 6, 71-75.

14- KAKIUCHI M, ONO K

Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilization with ethylene oxide gas
Part 2. Clinical evaluation of its efficacy and safety

Int Orthop 1996, 20, 147-152.

15- NATHER A, THAMBYAH A, GOH JCH

Biomechanical strength of deep-frozen versus lyophilized large cortical allografts

Clini Biom 2004, 19, 526-533.

16- FOLLET H

Caractérisation Biomécaniques et Modélisation 3D par Imagerie X et IRM haute résolution de l'os spongieux humain: Evaluation du risque fracturaire

Thèse de Doctorat en Génie Mécanique. Lyon 2002, n° 02 ISAL 0105

17- DELLOY C, CORNU O

Allogreffes de l'appareil locomoteur et banques de tissus

Encycl Méd Chir (Paris, France), Appareil locomoteur, 14-015-A-10, 1999.

18- PROLO DJ, PEDROTTI PW, WHITE DH

Ethylene oxide sterilization of bone, dura mater, and fascia lata for human transplantation
(Abstract)

Neurosurgery 1980, 6, 529-539.

19- FUCHS S, LINNENBECKER S, LANGENBRINCK A, CHYALARECKI CH

Oxydation du polyéthylène de très haut poids moléculaire lors de la stérilisation

Rev Chi Orthop 2000, 86, 15-20.

20- POITOUT D, NOUAÏLLE DE GORCE E, TROPIANO P, RIPOLL B, MARCK G

Devenir à long terme des allogreffes osseuses et ostéo-cartilagineuses massives cryopréservées

e-mémoire de l'Académie Nationale de Chirurgie 2003, 2, 37-45.

21- HERNIGOU PH, MARINELLO G, DORMONT D

Influence de l'irradiation sur le risque de transmission du virus HIV par allogreffe osseuse

Rev Chir Orthop 1998, 84, 493-499.

22- PRUSS A, KAO M, GOHS U, KOSCIELNY J, RUDIGER V V, PAULI G

Effect of Gamma Irradiation on Human Cortical Bone Transplants Contaminated with Enveloped and Non-enveloped Viruses

Biologicals 2002, 30, 125-133.

23- PRUSS A, BAUMANN B, SEIBOLD M, KAO M, TINTELNOT K, RUDIGER VV, RADTKE H, DOREN T, PAULLI G, GOBEL B

Validation of the Sterilization Procedure of Allogenic Avital Bone Transplants Using Peracetic Acid-Ethanol

Biologicals 2001, 29, 59-66.

24- CHIRON PH

La stérilisation par la chaleur humide

Rev Chi Orthop 1998, 84, 49-51.

25- ITOMAN M, NAKAMURA S

Experimental study on allogenic bone grafts

Int Orthop 1991, 15, 161- 165.

26- MELLONIG JT, BOWERS GM, COTTON WR

Comparison of Bone Graft Materials

Part II. New Bone Formation With Autografts and Allografts: A Histological Evaluation

J Periodontol 1981, 52, 297-301.

27- MASSIN P, BOUCQUET L, HUTEN D, BADELON O, DUPARC J

Observations radiographiques et histologiques d'allogreffes autoclavées et non autoclavées dans la métaphyse fémorale inférieure du chien

Rev Chi Orthop 1995, 81, 189- 197.

28- LAITINEN M, KIVIKARI R, HIRN M

Lipid oxidation may reduce the quality of a fresh-frozen bone allograft. Is the approved storage temperature too high?

Acta Orthop 2006, 77, 418- 421.

29- CORNU O, BAVADEKAR A, GODTS B, TOMME JV, DELLOY C, BANSE X

Impaction bone grafting with freeze-dried irradiated bone. Part I. Femoral stability

Cadaver experiments in a hip simulator

Acta Orthop Scand 2003, 74, 547-552.

30- ZORICIC S, BOBINAC D, LAH B, MARIC I, CVIJANOVIC O, BAJEK S, GOLUBOVIC V, MIHELIC R

Study of the Healing Process after Transplantation of Pasteurized Bone Grafts in Rabbits

Acta Med Okayama 2002, 56, 121-128.

31- SAKAYAMA K, KIDANI T, FUJIBUCHI T, KAMOGAWA J, YAMAMOTO H, SHIBATA T

Reconstruction surgery for patients with musculoskeletal tumor, using a pasteurized autogenous bone graft

Int J Clin Oncol 2004, 9, 167-173.

32- LEVAI JP, BRINGER O, DESCAMPS S, BOISGARD S

Complications en rapport avec l'utilisation d'une xéno greffe pour le comblement de l'ouverture médiale dans l'ostéotomie tibiale de valgisation

Rev Chir Orthop 2003, 89, 707-711.

33- BELGEY TC, DOHERTY MJ, MOLLAN RAB, WILSON DJ

Comparative study of the osteoinductive properties of bioceramic, coral and processed bone graft substitutes

Biomatériaux 1995, 16, 1181-1185.

34- DELAGOUTTE JP

Les substitutes osseux

Conférences d'enseignement de la Sofcot 1992, 42, 239-252.

35- DUPORIEUX L, COSTES V, JAMMET P, SOUYRIS F

Experimental study on demineralized bone matrix (DBM) and coral as bone graft substitutes maxillofacial surgery

Int J Oral Maxillofac Surg 1994, 23, 395-398.

36- LEIZE EM, HEMMERLE J, VOEGEL JC, LEIZE M

Characterization and histological analyses of a coral-collagen composite used for bone-replacement graft material: a report of clinical cases

J Materials Science 1999, 10, 47-51.

37- BANU M

Mise en Forme d'Apatites Nanocristallines: Céramiques et Ciments

Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique.Toulouse 2005, n°2228

38- MAINARD D, GOUIN F, CHAUVEAUX D, LOTY B, MASSIN PH

Les substituts osseux en 2005

GESTO/ SOFCOT, Ed Romillat 2005, 12-72.

39- OONISHI H, IWAKI Y, KIN N, KUSHITANI S, MURATA N, WAKITANI S, IMOTO K

Hydroxyapatite in Revision of Total Hip Replacements with Massive Acetabular Defects

4 to 10 year clinical results

J Bone J Surg 1997, 79, 87-92.

40- GOUIN F, DELECRIN J, TOUCHAIS S, POIRIER P, BAINVEL JV

Complements osseux par céramique phosphocalcique biphasé macroporeuse

A propos de 23 cas

Rev Chi Orthop 1995, 81.

41- BARNETT D, MELLONIG T, GRAY L, TOWLET H

Comparison of Freeze-Dried Bone Allograft and Porous Hydroxylapatite in Human Periodontal Defects

J Periodontol 1989, 60, 231-236.

42- MIRZAYAN, PANOSSIAN V, AVEDIAN R, FORRESTER D, MENDENDEZ L

The use of Calcium in the Treatment of Bening Lesions

A Preliminary Report

J Bone J Surg 2001, 83, 355-358.

43- LIVERNEAUX P

Utilisation d'un ciment dans le traitement de la dysplasie fibreuse

A propos d'un cas

Rev Chi Orthop 2003, 89, 532- 536.

44- BEDOUELLE J

Induction osseuse - Réparation osseuse Protéine osseuse morphogénétique (BMP)

Protéine osseuse morphogénétique humaine recombinante (rh BMP)

Rev Chi Orthop 1994, 80, 165-170.

45- KAWAI T, MIEKI A, OHNO Y

Osteoinductive activity of composites of bone morphogenetic protein and pure titanium

Clin Orthop 1993, 290, 296-305.

46- WOZNEY J, WANG R

The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein

J Bone Joint Surg 1992, 74, 659-267.