



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ACADÉMIE DE NANCY-METZ

---

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE  
FACULTÉ D'ODONTOLOGIE**

**Année 2015**

**N° 6709**

---

**THÈSE**

Pour le

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR  
EN CHIRURGIE DENTAIRE**

Par

**JEANCOLAS Aline**  
née le 4 novembre 1989 à Épinal (Vosges)

|                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>TRAITEMENTS MÉCANIQUES, CHIMIQUES ET THERMIQUES<br/>UTILISÉS DANS LA PRODUCTION DES GREFFONS OSSEUX<br/>ALLOGÉNIQUES</b></p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Présentée et soutenue publiquement le **7 juillet 2015**

**Examineurs de la thèse :**

|                        |                                     |                        |
|------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| <u>Pr P. AMBROSINI</u> | <u>Professeur des Universités</u>   | Président et Directeur |
| Dr D. JOSEPH           | Maître de conférences               | Juge                   |
| Dr K. YASUKAWA         | Maître de conférences               | Juge                   |
| Dr E. BÖLÖNI           | Assistant Hospitalier Universitaire | Juge                   |
| Dr F. CAMELOT          | Assistant Hospitalier Universitaire | Juge                   |

Président : Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen : Professeur Jean-Marc MARTRETTE

Vice-Doyens : Pr Pascal AMBROSINI — Dr Céline CLEMENT

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr M. VIVIER – Pr ARTIS -

Doyen Honoraire : Pr J. VADOT, Pr J.P. LOUIS

Professeur Emérite : Pr J.P. LOUIS

Maître de conférences CUM MERITO : Dr C. ARCHIEN

|                                                                                                                                                                           |                                                     |                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Sous-section 56-01</b><br>Odontologie pédiatrique                                                                                                                      | Mme<br>M.<br>Mlle<br>Mlle<br>Mlle                   | <b><u>DROZ Dominique (Desprez)</u></b><br>PREVOST Jacques<br>HERNANDEZ Magali<br>JAGER Stéphanie<br>LAUVRAY Alice                                                                   | Maître de Conférences*<br>Maître de Conférences<br>Assistante*<br>Assistante*<br>Assistante                                                               |
| <b>Sous-section 56-02</b><br>Orthopédie Dento-Faciale                                                                                                                     | Mme<br>M.<br>Mlle<br>Mlle                           | <b><u>FILLEUL Marie Pierryle</u></b><br>EGLOFF Benoît<br>BLAISE Claire<br>LACHAUX Marion                                                                                            | Professeur des Universités*<br>Maître de Conf. Associé<br>Assistante<br>Assistante                                                                        |
| <b>Sous-section 56-03</b><br>Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé,<br>Odontologie légale                                                                       | Mme<br>M.<br>Mme                                    | <b><u>CLEMENT Céline</u></b><br>CAMELOT Frédéric<br>LACZNY Emily                                                                                                                    | Maître de Conférences*<br>Assistant*<br>Assistante                                                                                                        |
| <b>Sous-section 57-01</b><br>Parodontologie                                                                                                                               | M.<br>Mme<br>M.<br>M.<br>Mlle<br>Mlle               | <b><u>AMBROSINI Pascal</u></b><br>BISSON Catherine<br>PENAUD Jacques<br>JOSEPH David<br>BOLONI Eszter<br>PAOLI Nathalie                                                             | Professeur des Universités*<br>Maître de Conférences*<br>Maître de Conférences<br>Maître de Conf. Associé<br>Assistante<br>Assistante*                    |
| <b>Sous-section 57-02</b><br>Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique<br><br>Anesthésiologie et Réanimation                                                         | Mme<br>M.<br>Mlle<br>M.<br>Mlle<br>M.<br>Mlle<br>M. | <b><u>GUILLET-THIBAUT Julie</u></b><br>BRAVETTI Pierre<br>PHULPIN Bérengère<br>VIENNET Daniel<br>BALZARINI Charlotte<br>DELAITRE Bruno<br>KICHENBRAND Charlene<br>MASCHINO François | Maître de Conférences*<br>Maître de Conférences<br>Maître de Conférences*<br>Maître de Conférences<br>Assistante<br>Assistant<br>Assistante*<br>Assistant |
| <b>Sous-section 57-03</b><br>Sciences Biologiques (Biochimie, Immunologie, Histologie,<br>Embryologie, génétique, Anatomie pathologique,<br>Bactériologie, Pharmacologie) | M.<br>M.<br>M.                                      | <b><u>YASUKAWA Kazutoyo</u></b><br>MARTRETTE Jean-Marc<br>WESTPHAL Alain                                                                                                            | Maître de Conférences*<br>Professeur des Universités*<br>Maître de Conférences*                                                                           |
| <b>Sous-section 58-01</b><br>Odontologie Conservatrice,<br>Endodontie                                                                                                     | M.<br>M.<br>M.<br>M.<br>M.<br>Mlle<br>M.            | <b><u>ENGELS-DEUTSCH Marc</u></b><br>AMORY Christophe<br>BALTHAZARD Rémy<br>MORTIER Éric<br>BON Gautier<br>MUNARO Perrine<br>VINCENT Marin                                          | Maître de Conférences<br>Maître de Conférences<br>Maître de Conférences*<br>Maître de Conférences<br>Assistant<br>Assistante<br>Assistant*                |
| <b>Sous-section 58-02</b><br>Prothèse complète, Prothèse maxillo-faciale)                                                                                                 | M.<br>x<br>M.<br>Mlle<br>M.<br>M.<br>Mlle<br>Mme    | <b><u>DE MARCH Pascal</u></b><br>xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx<br>SCHOUVER Jacques<br>CORNE Pascale<br>LACZNY Sébastien<br>MAGNIN Gilles<br>SIMON Doriane<br>VAILLANT Anne-Sophie       | Maître de Conférences<br>Maître de Conférences*<br>Maître de Conférences<br>Assistante*<br>Assistant<br>Assistant<br>Assistante<br>Assistante*            |
| <b>Sous-section 58-03</b><br>Sciences Anatomiques et Physiologiques<br>Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysique, Radiologie                                            | Mlle<br>M.<br>Mme<br>M.<br>M.                       | <b><u>STRAZIELLE Catherine</u></b><br>RAPIN Christophe (Sect. 33)<br>MOBY Vanessa (Stutzmann)<br>SALOMON Jean-Pierre<br>HARLE Guillaume                                             | Professeur des Universités*<br>Professeur des Universités*<br>Maître de Conférences*<br>Maître de Conférences<br>Assistant Associé                        |

souligné : responsable de la sous-section

\* temps plein

Mis à jour le 21.10.2014

*Par délibération en date du 11 décembre 1972,  
la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que  
les opinions émises dans les dissertations  
qui lui seront présentées  
doivent être considérées comme propres à  
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner  
aucune approbation ni improbation.*

# **REMERCIEMENTS**

## **À notre Président et Directeur de thèse**

### **Monsieur le Professeur Pascal AMBROSINI**

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I

Vice-Doyen au budget et aux affaires hospitalières

Habilité à diriger des Recherches

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Responsable de la sous-section : Parodontologie

*Vous nous avez fait l'honneur de présider ce jury.*

*Veillez trouver dans ce travail notre reconnaissance pour la qualité de votre enseignement pratique et théorique, votre rigueur scientifique, vos conseils et votre sympathie tout au long de notre cursus. Notre séjour dans votre service nous a permis d'apprécier la grande qualité de votre geste chirurgical et de vos compétences.*

*Soyez assuré de notre profonde admiration.*

## **À notre Juge et Co-directrice de thèse**

### **Madame le Docteur Eszter BÖLÖNI**

Docteur en Chirurgie Dentaire

Assistante Hospitalo-Universitaire

Sous-section : Parodontologie

Ancienne interne en Odontologie

*Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de siéger parmi nos juges. Avec la même gentillesse et le même dévouement que vous nous avez témoigné durant nos études, vous avez accepté de codiriger cette thèse.*

*Nous tenions tout particulièrement à vous remercier pour votre patience, votre disponibilité et vos conseils.*

*Veuillez trouver à travers ce travail l'expression de notre profonde gratitude et toute notre considération.*

## **À notre Juge**

### **Monsieur le Docteur David JOSEPH**

Docteur en Chirurgie Dentaire

Maître de Conférences des Universités Associé

Sous-section : Parodontologie

*Vous avez très aimablement accepté de prendre part à ce jury.*

*Nous souhaitons que vous trouverez de l'intérêt à lire ce travail et espérons qu'il sera digne de l'honneur que vous nous faites en acceptant de le juger.*



## **À notre Juge**

### **Monsieur le Docteur Kazutoyo YASUKAWA**

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur en Sciences de la Vie et de la Santé

Maître de Conférences des Universités

Praticien Hospitalier Responsable de la sous-section Sciences biologiques [CNU 57-03]

Sous-section : Sciences Biologiques (biochimie, immunologie, histologie, embryologie, génétique, anatomie, pathologique, bactériologie, pharmacologie)

*C'est avec intérêt que vous avez accepté de prendre part à ce jury. Nous vous en remercions chaleureusement.*

*Nous garderons en mémoire votre gentillesse et votre écoute attentive au cours de notre dernière année.*

## **À notre Juge**

### **Monsieur le Docteur Frédéric CAMELOT**

Docteur en Chirurgie Dentaire

Assistant Hospitalo-Universitaire

Sous-section : Prévention, Épidémiologie, Économie de la Santé, Odontologie Légale

*C'est avec spontanéité que vous avez accepté de prendre part à ce jury.*

*C'est avec beaucoup d'émotion que nous vous remercions pour votre soutien et votre bonne humeur tout au long de notre cursus, nous vous en sommes très reconnaissants.*

*Vous resterez un exemple tant pour vos qualités humaines que pour votre rigueur et votre conscience professionnelle.*

Aux personnes ayant contribué à l'élaboration de ce travail :

- **Docteur Esnault** : Je vous remercie pour votre disponibilité et votre soutien durant la rédaction de ce travail. Vos précieuses compétences ont contribué à la qualité de mon apprentissage.
- **Docteur Eschewege** : Je vous remercie d'avoir répondu de façon précise et bienveillante à toutes mes questions.
- **Docteur Zarrine** : Je vous remercie pour votre investissement et la qualité de la formation à laquelle j'ai eu l'honneur d'assister.
- **Gauthier et Romain** : Que je remercie pour leur réactivité et leurs photographies/vidéos au bloc opératoire de chirurgie orthopédique.

Aux docteurs Boissin et Valsesia :

Merci de m'avoir permis d'intégrer votre équipe et d'accumuler de l'expérience au sein de votre cabinet.

À ma famille :

- **Mes très chers parents** : Pour qui les mots me manquent pour témoigner mon amour et ma reconnaissance. Présents à toute heure du jour ou de la nuit, vous m'avez donné un modèle de labeur et persévérance et m'avez toujours soutenue. Vous nous avez donné toutes les cartes en main pour bien démarrer dans la vie. Je vous aime fort et vous remercie de tout cœur.

- **Delphine et Anne-Laure** : Pour avoir toujours veillé sur moi, pour nos moments de complicité et de partage, pour les liens forts qui nous unissent. Vous avez toujours été mes modèles de réussite. Je suis fière d'être votre petite sœur.
- **Mon Pierre précieux** : Lumière qui a intensifié les couleurs de ma vie.
- **Nicolas** : Sans qui cette thèse n'aurait pas pris forme.
- **Mes cousins** : Pour tous ces instants partagés depuis notre enfance et gravés dans ma mémoire.
- **Ma belle Belle-Famille**

À mes amis (pensez bien que passer la première peut conférer un incroyable avantage) :

- **Amélie** : Pour notre complicité qui n'a cessé de grandir, notre stress et nos fous rires (je garde précieusement nos photos du CSCT) durant les longues heures de travail partagées. Sourire aux lèvres, tu as toujours été là dans les bons moments (et les moins sympas aussi) le cœur sur la main. Tu es une amie en or.
- **Armande** : Parce que tu as été la première personne avec qui j'ai parlé à la rentrée en P2 et avec laquelle j'ai tissé des liens de profonde amitié. Nos caractères pourtant divergents se sont avérés d'excellents comparses. Je garde des souvenirs mémorables de nos soirées, en espérant qu'il y en aura une foultitude d'autres. Je te sur-kiffe ma vosgienne !
- **Audrey** : Mon exceptionnelle voisine de rue. Ta bonne humeur et ton entrain m'accompagnent depuis maintenant 6 années. Malgré ta tentative d'empoisonnement à la crème pistache, ma conversion à un certain jeu d'oiseaux en colère (qui nous aura valu un sacré fou-rire) et notre expérience de la fin du monde lors des gros orages, je t'adore !

- **Claire** : Pour les conseils avisés et posés que tu auras su donner à tous mes problèmes existentiels durant ces années (et que, je l'espère, tu continueras à me donner). Éternelle optimiste, tu auras boosté mon moral plus d'une fois. je n'oublierai jamais ta présence à mes côtés et je souhaite tout le bonheur du monde à la future mariée !
- **Julie** : Acolyte indétrônable de l'Aventure dentaire, tu m'as offert l'hospitalité plus d'une fois lorsque je n'avais plus d'appartement. Une belle amitié est née, je te remercie pour tous ces bons moments passés ensemble que je garderai précieusement en mémoire.

~

- **Mes binômes Ève, Lina, Quentin, Rachid** : Pour les liens que nous avons conservés tout au long de nos études. Je suis ravie d'avoir fait un bout de chemin en votre compagnie. Une petite pensée pour nos patients les plus exceptionnels !
- **Maxime** : Avec qui je me suis entendue dès les premières heures de TP et dont le premier souvenir que je garderai restera une toile cirée cochonou.
- **Quentin** : Ma petite assistante personnelle (et parfois bodyguard à ses heures perdues) qui me manque déjà au cabinet ! De bonne humeur à toute épreuve, tu m'as aidé à traverser en légèreté la crise du CSCT. C'est avec grand plaisir que je retravaillerai avec toi si l'occasion se présente, Confrère.
- **Rachid** : Mon super-fillot. Si la dentisterie ne te plaît plus tu pourras toujours te reconverter en cuisinier-pâtissier (ou guide Bisontin), je serai ta première fan !
- **David et Romain** : Indispensables à notre bonne humeur au cours de notre D3 (et encore aujourd'hui).
- **Sophie** : Amitié improbable née dans le stress absolu du concours. On en a fait du chemin depuis !

- **Anne :** Pour nos fous rires de première année (et on sait qu'elle a été longue celle-là !), les tocs de Clint, les avions en papier, les soupirs en cours de chimie, notre hantise d'être "touriste" à notre tour... Tu as grandement participé à ma réussite en faisant de cette année un bon souvenir.
- **Lucie :** Parce que la vie est dure quand on est une petite patate. Merci de m'avoir accompagnée dans cette aventure.

Tous mes camarades de promos que je n'ai pas cités : Pour avoir participé de près ou de loin à ma vie étudiante, merci de l'avoir rendue encore plus agréable.

# **TABLE DES MATIÈRES**

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>INTRODUCTION</b> .....                                                 | 19 |
| <b>CHAPITRE I : HISTOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DE L'OS</b> .....               | 21 |
| 1. Fonctions.....                                                         | 22 |
| 2. Composition.....                                                       | 22 |
| 2.1. Cellules.....                                                        | 22 |
| 2.1.1. <i>Ostéoblastes</i> .....                                          | 23 |
| 2.1.2. <i>Ostéocytes</i> .....                                            | 24 |
| 2.1.3. <i>Ostéoclastes</i> .....                                          | 25 |
| 2.2. Matrice extra-cellulaire .....                                       | 26 |
| 2.2.1. <i>Phase organique</i> .....                                       | 26 |
| 2.2.2. <i>Phase minérale</i> .....                                        | 26 |
| 3. Remodelage.....                                                        | 26 |
| 4. Propriétés .....                                                       | 31 |
| 4.1. Ostéogénèse.....                                                     | 31 |
| 4.2. Ostéoconduction.....                                                 | 31 |
| 4.3. Ostéoinduction .....                                                 | 31 |
| <b>CHAPITRE II : HISTOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DES GREFFES OSSEUSES</b> ..... | 33 |
| 1. Définition d'une greffe osseuse.....                                   | 34 |
| 2. Les différents types de greffes osseuses .....                         | 34 |
| 2.1. Autogreffe .....                                                     | 34 |
| 2.2. Allogreffe .....                                                     | 35 |
| 2.3. Xénogreffe.....                                                      | 38 |
| 2.4. Matériaux alloplastiques .....                                       | 39 |



|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| 3. Physiologie du greffon.....             | 40 |
| 3.1. Indications d'une greffe osseuse..... | 40 |
| 3.2. Incorporation du greffon .....        | 41 |

## **CHAPITRE III : LES GREFFES OSSEUSES ALLOGÈNES ..... 45**

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| 1. Origine des greffons.....                               | 46 |
| 1.1. Critères de sélection clinique des donneurs .....     | 47 |
| 1.2. Têtes fémorales lors d'arthroplasties de hanche ..... | 53 |
| 1.3. Contre-indications au don de tissu osseux .....       | 56 |
| 2. Banques de tissus et biovigilance .....                 | 57 |
| 2.1. Rôles.....                                            | 57 |
| 2.2. Traçabilité.....                                      | 58 |
| 3. Aspects éthiques et législatifs .....                   | 60 |
| 3.1. Concernant les banques de tissus .....                | 60 |
| 3.2. Notion de sécurité sanitaire .....                    | 60 |
| 3.3. Loi de bioéthique du 6 août 2004.....                 | 61 |
| 3.4. Autorisation pour les cabinets dentaires.....         | 64 |

## **PIT E I T PE ET P O ÉDÉS DE TRANSFORMATION DES GREFFONS ..... 65**

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| 1. Découpe des greffons.....                               | 69 |
| 2. Délipidation.....                                       | 69 |
| 2.1. Procédé SUPERCIT® .....                               | 70 |
| 2.1.1. Délipidation au CO <sub>2</sub> supercritique ..... | 71 |
| 2.1.2. Avantages .....                                     | 74 |

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.3. Inconvénients.....                                                   | 75 |
| 2.2. Procédé TUTOPLAST® .....                                               | 76 |
| 2.2.1. Acétone .....                                                        | 76 |
| 2.2.2. Avantages .....                                                      | 78 |
| 2.2.3. Inconvénients.....                                                   | 79 |
| 2.3 Procédé PHOENIX® .....                                                  | 80 |
| 2.3.1. Ethanol et chloroforme.....                                          | 80 |
| 2.3.2. Avantages .....                                                      | 81 |
| 2.3.3. Inconvénients.....                                                   | 82 |
| 3. Peroxyde d'hydrogène.....                                                | 82 |
| 4. Traitements chimiques complémentaires: .....                             | 85 |
| 4.1. Procédé Supercrit® : Soude molaire Na(OH).....                         | 85 |
| 4.2. Procédé Tutoplast® : Traitement osmotique par lavages successifs ..... | 86 |
| 4.3. Procédé Phoenix® : Hypochlorite de sodium .....                        | 86 |
| 5. Procédés de conservation de l'os : .....                                 | 87 |
| 5.1. Froid .....                                                            | 87 |
| 5.2. Lyophilisation.....                                                    | 87 |
| 5.3. Déshydratation .....                                                   | 88 |
| 6. Réduction secondaire de taille .....                                     | 89 |
| 7. Conditionnement sous vide.....                                           | 91 |
| 8. Stérilisation par irradiation gamma.....                                 | 91 |
| 8.1. Définition .....                                                       | 91 |
| 8.2. Quelle dose utiliser.....                                              | 92 |
| 8.3. Conséquences de l'irradiation gamma sur l'os.....                      | 94 |
| 8.3.1. Sur les propriétés structurales des greffons.....                    | 94 |
| 8.3.2. Sur le potentiel ostéoconductif des greffons : .....                 | 95 |
| 8.3.3. Sur le potentiel ostéoinductif des greffons .....                    | 95 |
| 8.4. Conséquences de l'irradiation gamma sur les pathogènes.....            | 95 |

|                                                       |         |
|-------------------------------------------------------|---------|
| 8.4.1. Les prions .....                               | 96      |
| 8.4.2. Les bactéries.....                             | 96      |
| 8.4.3. Les virus .....                                | 97      |
| <br><b>CHAPITRE V : PERSPECTIVES D'AVENIR</b> .....   | <br>101 |
| 1. Généralités et notion d'ingénierie tissulaire..... | 102     |
| 1.1. Définitions.....                                 | 102     |
| 1.2. Principes de base .....                          | 103     |
| 2. Les cellules souches.....                          | 104     |
| 3. Les facteurs de croissance.....                    | 105     |
| <br><b>CONCLUSION</b> .....                           | <br>107 |
| <br><b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....                        | <br>109 |
| <br><b>TABLEAUX</b> .....                             | <br>123 |

# **INTRODUCTION**

Chez l'Homme comme chez les animaux, après toute lésion, un tissu atteint cherche à retrouver son état initial. Le phénomène de réparation permet aux tissus de retrouver une continuité mais ne restaure pas de façon complète l'architecture ou la fonction des tissus détruits. Ces deux dernières caractéristiques sont obtenues après régénération. Seules des espèces telles que la salamandre ou les planaires (vers plats) sont capables de se régénérer complètement après une blessure. Cette propriété est recherchée chez l'humain. De multiples expérimentations cellulaires et moléculaires permettent aujourd'hui une meilleure compréhension de ces phénomènes, ainsi que la validation de nombreux biomatériaux de substitution et la découverte de nouvelles stratégies aux fins régénératrices telles que les allogreffes. Ces dernières sont depuis longtemps utilisées comme éléments naturels pour réparer les déficits osseux. C'est une alternative intéressante aux autogreffes car leur quantité est moins limitée, elles permettent une restauration de la structure squelettique et leur surface sert de support pour la formation osseuse. La demande d'allogreffe connaît une expansion rapide, en relation avec l'augmentation du nombre de révisions de hanches et le vieillissement de la population. Il s'agit du substitut osseux le plus utilisé en Europe. Mais bien que largement utilisé en dentisterie, de nombreux cliniciens semblent être peu familiarisés avec leur préparation et leur traitement. Pour rassurer le patient, le chirurgien-dentiste doit être en mesure de citer les informations et recommandations faites par les organismes responsables en matière de sécurité des allogreffes. Le traitement de la greffe, son suivi ainsi que les connaissances de son acquisition peuvent permettre aux dentistes de mieux informer les patients et répondre aux préoccupations de ceux-ci en matière d'efficacité ou de risque de transmission de maladies.

# **CHAPITRE I : HISTOLOGIE ET** **PHYSIOLOGIE DE L'OS**

Il existe trois types d'os composant le squelette : les os longs (la plupart des os des membres), les os courts (carpe, tarse et vertèbres), et les os plats (essentiellement la face et le crâne). Parmi eux, l'os maxillaire et l'os mandibulaire, qui sont tous deux issus du premier arc pharyngien de la crête neurale chez l'embryon (1). Ils présentent une ossification membraneuse et cartilagineuse pour une partie de la mandibule (2). Durant la croissance de l'individu et pour garantir sa bonne santé, un remodelage osseux permanent est initié tout au long de sa vie. Ce processus physiologique indispensable permet à l'os de s'adapter aux différentes contraintes qui lui sont appliquées et de répondre aux besoins de l'organisme. Toute greffe fait donc intervenir la notion de remaniement osseux, et il est essentiel de comprendre les bases de ce phénomène.

## **1. Fonctions**

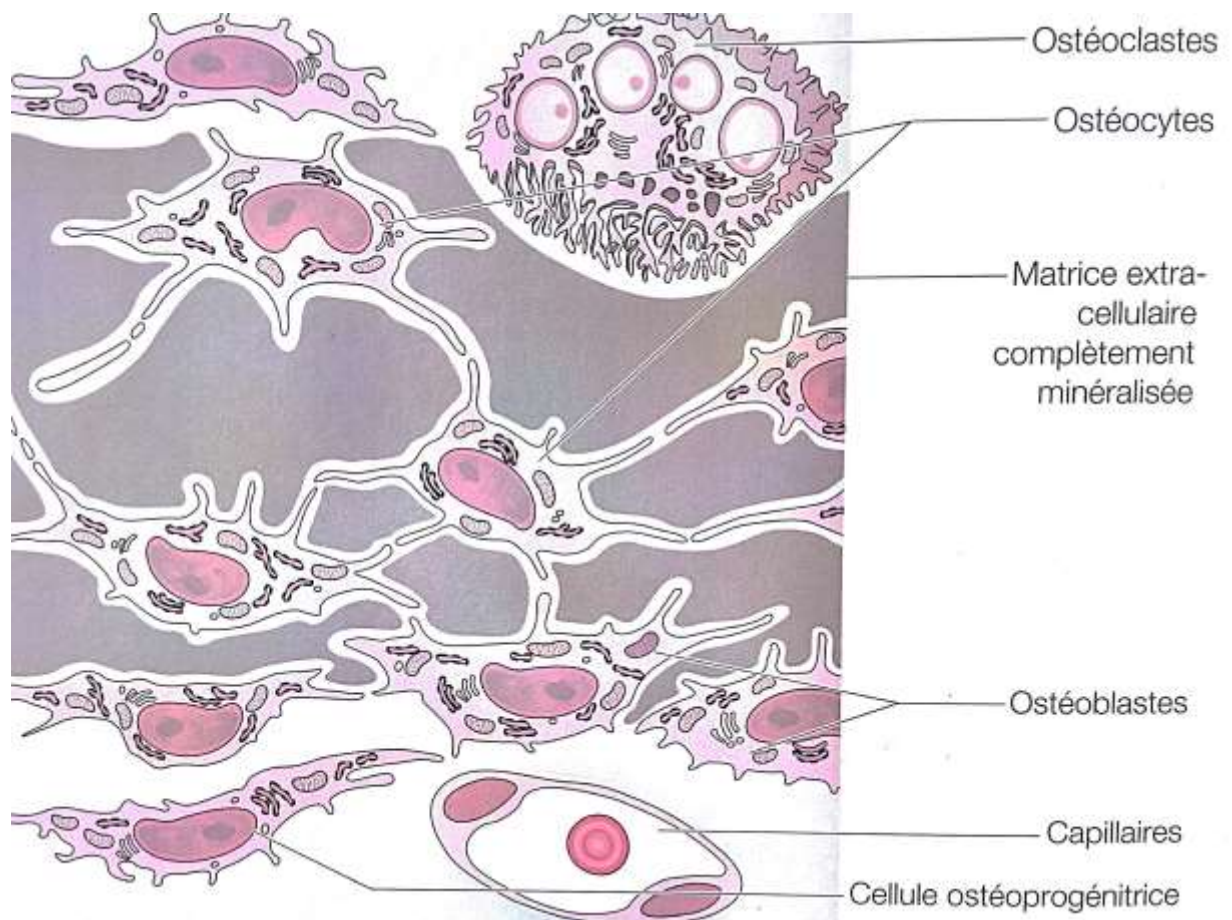
L'os est un tissu présentant plusieurs rôles (3, 4, 5):

- ❖ Un rôle de charpente permettant à la fois support mécanique et protection des organes vitaux (moelle osseuse, cerveau...), ainsi que des zones d'attaches musculaires
- ❖ Un rôle dans le métabolisme du corps humain en offrant un réservoir de sels minéraux et en permettant l'homéostasie du compartiment calcique,
- ❖ Un rôle dans la production de cellules sanguines avec l'hématopoïèse, la granulopoïèse, la lymphopoïèse et la mégacaryocytopoïèse.

## **2. Composition**

### ***2.1. Cellules***

Les cellules osseuses représentent à elles seules approximativement 10% de la composition de l'os (5).



**Figure 1. Représentation schématique des cellules osseuses**

Traduction de Ruffieux et Köhli (3), d'après de Schünke : Funktionelle Anatomie, Topographie und Funktion des Bewegungssystems (Anatomie fonctionnelle, topographie et fonctionnement de l'appareil locomoteur), Thieme, Stuttgart 2000 (6).

### 2.1.1. Ostéoblastes

Les ostéoblastes, d'origine mésenchymateuse, sont responsables de la synthèse de la substance ostéoïde c'est à dire la matrice osseuse non minéralisée, ainsi que de sa minéralisation par synthèse de vésicules matricielles (4). Ces dernières permettent l'accumulation des ions calcium et phosphates et sont les points d'initiation de la précipitation des premiers cristaux d'hydroxyapatite.

10 à 30% d'entre eux seront enclavés dans l'os néoformé alors que les autres se transformeront soit en cellules inactives bordant l'os ou disparaîtront par apoptose pour 65% d'entre eux (7). Les cellules enclavées se transformeront peu à peu en ostéocytes durant environ 3 jours, pendant lesquels les ostéoblastes synthétiseront jusqu'à trois fois



leur volume en matrice extracellulaire (8). Leur durée de vie dans l'os humain est estimée à 3 mois et 15 jours dans de l'os alvéolaire de souris (7).

**Figure 2. Schéma explicatif montrant la transition cellulaire entre pré-ostéoblaste, ostéoblaste et ostéocyte ainsi que leurs relations.**

Les pré-ostéoblastes [1] sont responsables de la prolifération cellulaire. Des gap junctions permettent la communication entre les différentes cellules (zone agrandie). Le front de formation de tissu ostéoïde par les ostéoblastes [3] est représenté par la flèche. [4] [5] et [6] représentent un pré-ostéocyte à ses différents stades d'évolution, devenant par la suite un jeune ostéocyte riche en canalicules [7] puis un plus âgé [8].

Les ostéocytes, qui sont des ostéoblastes différenciés inactifs et non apoptosés, sont emmurés dans des lacunes osseuses (ostéoplastes) et représentent le composant cellulaire

le plus abondant de l'os (environ 95% chez les mammifères, soit 20000 à 80000 cellules par millimètre cube d'os). Leur demi-vie est d'environ 25 ans mais si on considère le remodelage osseux permanent, elle est souvent plus courte. Ils communiquent entre eux dans la matrice osseuse par l'intermédiaire de canalicules qui leur procurent une large surface d'échanges (7).

Ils jouent un rôle:

- ❖ De régulateurs dans la formation osseuse, permettant notamment de libérer de petites quantités de calcium en effectuant une ostéolyse autour de la matrice les entourant (4).
- ❖ De mécanorécepteurs (de tension et dilatation) par l'intermédiaire de la pression appliquée aux flux liquidiens contenus dans leurs canalicules (3, 8). Ils jouent probablement un rôle dans l'initiation du remodelage osseux (5).

La physiologie du tissu osseux dépend donc directement de la capacité de ces cellules à reconnaître et répondre aux différents stimuli mécaniques et chimiques (8).

### 2.1.3. *Ostéoclastes*

Ce sont des cellules géantes multinucléées (de 20 à 30 noyaux) probablement formées par fusion de cellules mononucléées, et responsables de la résorption osseuse grâce à leur microvillosités de surface. Ces dernières, en excréant des protons dans la matrice extracellulaire, permettent d'acidifier le compartiment de résorption. On observe alors une dissolution minérale avec libération d'ions calcium et phosphates. Secondairement, les ostéoclastes vont sécréter des enzymes telles que les metalloprotéases matricielles et protéases lysosomales de façon à dégrader la matrice organique déminéralisée (9).

Ces cellules précèdent les ostéoblastes qui viendront combler le cône de résorption ainsi formé. Ces zones d'érosions sont aussi appelées lacunes de Howship et peuvent être provoquées en réponse à une hypocalcémie (4). En effet, lorsque la concentration de vitamine D chute considérablement, elle est associée à une augmentation de sécrétion d'hormone parathyroïdienne (PTH). Cette dernière favorise la production de calcium en

amplifiant sa réabsorption intestinale et en stimulant la transformation de pré-ostéoclastes en ostéoclastes (10).

A la différence des ostéoblastes et ostéocytes, ce sont des cellules mobiles qui peuvent progresser jusqu'à 40 micromètres par jour, et 10 micromètres en profondeur (3).

## **2.2. Matrice extra-cellulaire**

### **2.2.1. Phase organique**

La matrice osseuse est composée à 30% d'éléments organiques dont 90% sont des fibrilles de collagène, principalement de type I (3, 5). Lorsque ces dernières sont entourées de glycosaminoglycanes, elles forment la substance ostéoïde (encore appelée substance fondamentale) riche en protéines non collagéniques (de type ostéocalcine permettant la fixation du calcium, ou ostéonectine) et en facteurs de croissance (4).

### **2.2.2. Phase minérale**

Le tissu osseux est constitué de 60% à 70% par des composants minéraux, en particulier de l'hydroxyapatite sous forme microcristalline qui lui confère sa solidité et une large surface d'échanges (3, 5).

## **3. Remodelage**

L'os est en constant remaniement (entre 4% et 10% par an (7)) pour répondre de façon dynamique à ses différentes fonctions et aux contraintes mécaniques locales qui lui sont appliquées (4). Ce processus physiologique permet le remplacement d'os âgé ou endommagé par un nouvel os (5). L'alternance de l'activité ostéoblastique et ostéoclastique entraîne des phases de régénérations suivies de phases de résorptions, plus communément appelées cycle ARIF :

❖ Activation (5) :

En phase quiescente, la surface osseuse est recouverte par une monocouche de cellules bordantes issues de la lignée ostéoblastique.

Cette première étape du processus consiste à initier le remodelage osseux au niveau d'un site spécifique .

Il est admis aujourd'hui que les ostéocytes ont un rôle de mécanorécepteurs qui détectent des défauts mécaniques ou des microlésions. Ils sont capables de transmettre des signaux de nature inconnue aux précurseurs des ostéoclastes, et de les attirer sur le site lésé. Le recrutement de ces derniers s'effectue à partir des capillaires ou de la moelle osseuse en traversant la couche de cellules bordantes. Leur fixation à la matrice osseuse leur permet de se différencier en ostéoclastes grâce à leurs récepteurs RANKL (*receptor activator of nuclear factor k ligand*) et M-CSF (*monocyte/macrophage colony stimulating factor*). Ces derniers ont pour ligands des facteurs de transcription ou de croissance.

❖ Résorption (5):

Une fois les ostéoclastes différenciés et sous l'impulsion de différents facteurs, débute leur travail de résorption osseuse grâce à la sécrétion d'enzymes lysosomales et de métalloprotéases. En parallèle, des cellules souches mésenchymateuses ainsi que des ostéoprogéniteurs permettent la différenciation de pré-ostéoblastes grâce à l'expression de facteurs de transcription (notamment Runx2/Cbfa1 reconnu comme gène majeur de différenciation ostéoblastique (11)). Ils sont également recrutés par l'intermédiaire de la moelle osseuse ou des capillaires.

❖ Inversion (5):

La différenciation progressive des pré-ostéoblastes en ostéoblastes permet la synthèse de substance ostéoïde qui supprime peu à peu l'activité ostéoclastique jusqu'à atteindre un équilibre. Les ostéoclastes quant à eux, disparaissent progressivement par apoptose.

❖ Formation (5):

La minéralisation progressive du tissu ostéoïde complète et achève le cycle de remodelage osseux.

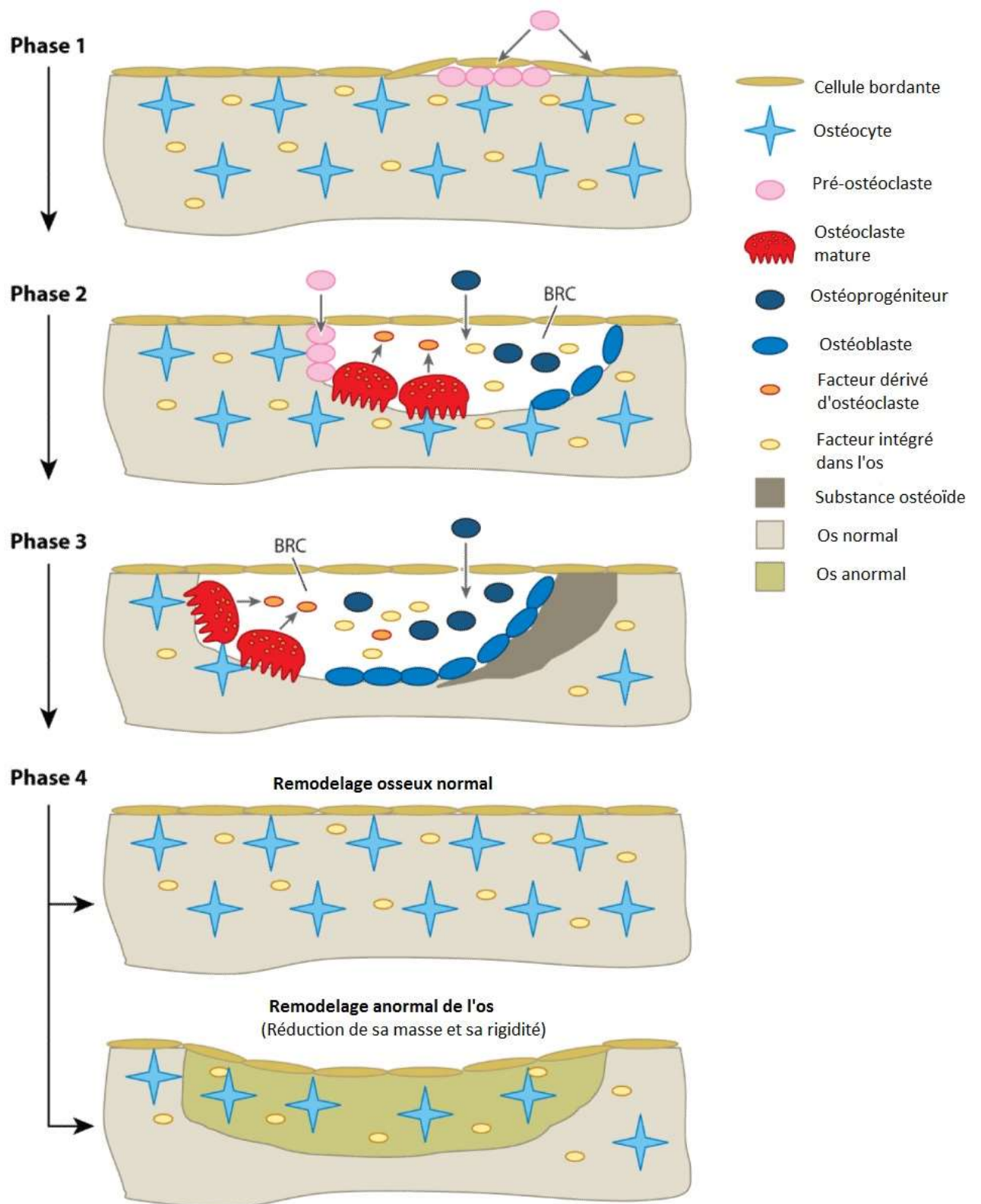


Figure 3. Modèle classique de remodelage osseux

Schéma issu de *Disorders of Bone Remodeling* de Xu Feng et Jay M. McDonald (5).

Habituellement pour l'os mature, la balance entre résorption et formation est hautement régulée et n'engendre ni gain ni perte, sa masse restant identique (4, 5). Cependant, il arrive que ces activités soient déséquilibrées et génèrent des remodelages anormaux dans certaines pathologies telles que la maladie de Paget (activité accrue des ostéoclastes) ou l'ostéoporose (réduction de la masse osseuse) (4, 5).

Trois objectifs principaux à ce remodelage :

- ❖ Répondre à une hypocalcémie en augmentant la libération d'ions calcium par activité ostéoclastique (4).
- ❖ Préserver la substance osseuse (3).
- ❖ Adapter de façon fonctionnelle les structures osseuses aux différentes sollicitations comme la réponse aux traitements orthodontiques ou l'ostéointégration des implants (3).

## En odontologie:

Différentes étapes de cicatrisation au niveau des crêtes alvéolaires :

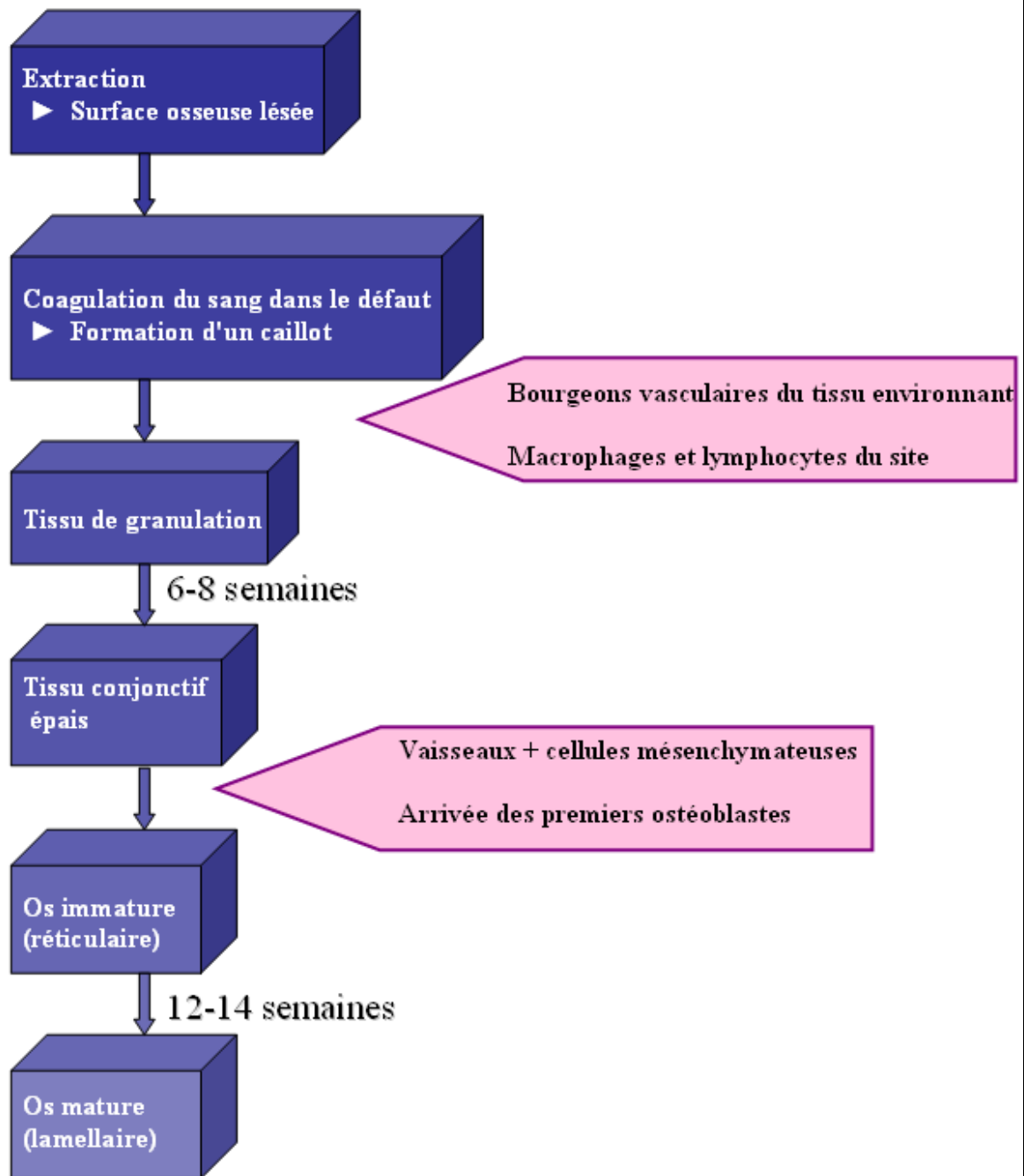


Figure 4. Schéma réalisé par l'auteur représentant les différentes étapes de cicatrisation au niveau des crêtes alvéolaires. D'après *Reconstruction osseuse* de Ruffieux et Kölhi (3)

## **4. Propriétés**

### **4.1. Ostéogénèse**

Un matériau est considéré comme ostéogénique si il contient des cellules vivantes capables d'engendrer une croissance osseuse (12). En clair, il est capable de fournir lui-même les ostéoblastes responsables de la néoformation d'os.

Cela se produit uniquement lors de l'implantation immédiate d'os autogène ou d'un substitut enrichi avec des cellules autogènes cultivées (13).

### **4.2. Ostéoconduction**

L'ostéoconduction consiste en une croissance osseuse par colonisation d'ostéoblastes du site receveur à la surface d'un matériel utilisé comme squelette.

L'os est considéré comme matériel ostéoconducteur lorsque sa structure sert de support passif pour la migration des cellules ostéogéniques de l'hôte. La formation du nouvel os se produira alors par invasion vasculaire et repopulation des cellules à l'intérieur de l'échafaudage (13).

L'ostéoconduction peut être dosée et mesurée expérimentalement. Cette propriété n'est pas spécifique à l'os, des substituts tels que les céramiques par exemple, présentent la même capacité d'ostéoconduction grâce à une composition similaire à celle de l'os (14).

### **4.3. Ostéoinduction**

Un matériau est considéré comme ostéoinducteur lorsqu'il peut entraîner, sous l'influence de protéines morphogénétiques osseuses (*Bone Morphogenetic protein, BMP*), une différenciation de cellules mésenchymateuses en ostéoblastes (13). Ces derniers permettent ainsi une néoformation d'os au niveau de sites qui en étaient initialement exempts (12). Cette propriété a été découverte en 1964 par URIST (15).



Pour qu'une ostéoinduction se produise, la présence trois critères est primordiale:

- ❖ des protéines osseuses morphogéniques (les BMP)
- ❖ un support (le plus souvent, du collagène de type I)
- ❖ une réponse de cellules inductibles

À moins qu'il ne contienne un facteur ostéoinducteur préservé (tel que les BMP) permettant une différenciation de cellules ostéocompétentes, aucun matériel de greffe osseuse ne peut être considéré comme ostéoinducteur (13).

**CHAPITRE II : HISTOLOGIE ET**  
**PHYSIOLOGIE DES GREFFES**  
**OSSEUSES**

## **1. Définition d'une greffe osseuse**

Selon Docquier et Delloye, une greffe osseuse est un "transfert de tissu osseux, quelle que soit sa qualité, vers un site osseux receveur" (16). Elle permet la reconstruction anatomique d'un défaut squelettique par (13) :

- ❖ l'union biologique avec l'os hôte à travers la formation de cals osseux,
- ❖ l'adhérence des tissus mous l'environnant.

Le but de l'utilisation d'une greffe osseuse est d'initier une réponse de guérison du lit receveur. Cette dernière s'effectue grâce au nouvel os produit à l'interface hôte-greffe et à l'intérieur du corps poreux du matériau de greffe.

## **2. Les différents types de greffes osseuses**

Les reconstructions squelettiques de larges défauts osseux après traumatisme, infection, nécrose d'os avasculaire ou tumeurs sont des défis pour le chirurgien (17).

Les greffes et matériaux de reconstruction osseuse favorisent la régénération de ces défauts (18). Ils sont classés selon leur origine, on distingue les greffes autologues et les substituts osseux qui représentent une solution alternative (3). Leurs objectifs consistent à favoriser et stabiliser le développement des structures environnantes et empêcher la perte de volume sur le site du défaut. On distingue parmi ces substituts des matériaux allogéniques, xénogéniques et synthétiques (3).

### ***2.1. Autogreffe***

Le site de prélèvement du greffon et le site receveur appartiennent tous deux au patient, en général dans sa cavité buccale. Le greffon, qui présente ainsi des homologies embryologiques et une compatibilité immunologique avec le site receveur, contient des cellules autologues ostéogènes et des facteurs de croissances ostéoinducteurs (14, 19). Ces facteurs de croissance stimulent la régénération osseuse et permettent une substitution de type rampante. Cette dernière fait intervenir la résorption ostéoclastique de l'os mort et son remplacement par un nouvel os vivant grâce aux ostéoblastes de l'hôte (19).

Les propriétés structurales de l'os autogène, notamment la proportion corticale/spongieux, permettent une incorporation optimale du greffon (19).

Il est généralement admis que ces greffes représentent le "gold standard" d'un point de vue biologique et en terme de performances cliniques (3, 13, 18). L'autogreffe d'os cortico-spongieux reste la norme optimale à laquelle chaque substitut doit être comparé, en effet elle présente l'avantage majeur de fournir non seulement une matrice osseuse tridimensionnelle mais également des cellules ostéogéniques qui formeront le nouvel os (13). Elles présentent cependant quelques inconvénients:

- ❖ D'abord, le prélèvement ne peut concerner qu'une quantité limitée d'os pour être retiré en toute sécurité. Les greffons sont donc parfois insuffisants lorsqu'un volume important est nécessaire (18).
- ❖ Ensuite, le prélèvement d'une autogreffe peut provoquer une morbidité accrue du site. Dans certains cas, deux interventions sont nécessaires et entraînent dans 55% des cas des douleurs résiduelles persistantes selon les sites et les techniques utilisées (3, 18).
- ❖ Enfin, les prélèvements de grande ampleur nécessitent une intervention lourde en milieu hospitalier. Un prélèvement sur crête iliaque par exemple, nécessite l'intervention d'un chirurgien spécialisé (18).

De plus, il est important de bien poser l'indication selon le rapport bénéfices/risques. En effet, la résorption est difficilement prévisible, bien que son taux soit plus faible de par l'ossification membranaire et non enchondrale des os crâniens (19). L'os autologue offre de nombreux avantages, en particulier dans le cas de défauts osseux minimes, mais outre la douleur au niveau du site donneur et la quantité disponible limitée, il peut être à l'origine de complications locales (tels que hématomes ou fractures) rendant l'acquisition de matériel provenant d'autres sources parfois plus attractive (13).

## **2.2. Allogreffe**

Le site de prélèvement du greffon et le site receveur proviennent de deux sources différentes mais appartenant à la même espèce. Il s'agit d'os humains traités qui permettent

de remplacer ou compléter des autogreffes de grande étendue. Elles fournissent d'excellents résultats, égalant dans certains cas les greffes autogènes pures (18). Ce matériau est principalement ostéoconducteur mais on lui prête également de faibles propriétés ostéoinductives (3)(13)(18)(19)(20). En effet, pour éliminer le contenu cellulaire et réduire l'antigénicité de l'allogreffe, cette dernière subit une congélation et lyophilisation. Employée sous cette forme (*FDBA freeze-dried bone allograft*) la matrice osseuse est uniquement ostéoconductrice car la corticale n'est pas exposée. Mais si elle subit une déminéralisation supplémentaire (*DFDBA decalcified freeze-dried bone allograft*), les protéines d'induction contenues dans la corticale sont exposées. De ce fait, outre pour son rôle primordial d'espacement, la conservation de la corticale est importante lorsque l'effet ostéoinducteur est recherché car celle-ci contient une concentration en BMP plus élevée que dans l'os spongieux (21). L'utilisation de la matrice osseuse sous cette forme a pour but d'associer à l'effet ostéoconducteur un potentiel effet ostéoinducteur (19, 13). La différence dans les traitements appliqués pour traiter les allogreffes se fera donc principalement sur ce point.

La quantité d'os limitée autorisée par les autogreffes ainsi que la morbidité des sites donateurs ont encouragé progressivement durant la dernière décennie l'utilisation d'allogreffes pour le traitement de grands défauts osseux. Au Royaume-Uni, les greffes osseuses allogènes sont largement employées en chirurgie avec une utilisation de 68% pour les greffes de hanches (17). Les greffes osseuses allogènes sont également indiquées dans les cas de tumeurs osseuses, kystes osseux bénins, traumatismes, fractures non cicatrisées, pathologies de la colonne vertébrale... (17). Elles sont également largement utilisées dans le cadre de chirurgies maxillo-faciales et parodontales pour restaurer un capital osseux et fournir un soutien mécanique.

Malgré leurs nombreux avantages, ces greffes sont cependant moins bien revascularisées et peuvent entraîner un défaut de consolidation osseuse (13). En chirurgie orthopédique, des complications de type fractures ou infections surviennent dans 15 à 20% des cas (13). De plus, une préoccupation est toujours d'actualité : il subsiste en effet un risque de transmission d'agents pathogènes par le greffon. Pour le minimiser, des normes ont été mises en place afin d'optimiser la qualité et la sécurité des allogreffes par des organismes professionnels et plus récemment, par l'Union Européenne. La contamination du greffon par source endogène est contrôlée par une sélection rigoureuse des donateurs, alors que la

source exogène est influencée par l'équipe d'approvisionnement et impose ainsi des conditions d'asepsies rigoureuses lors du recueil (13).

En 1997, une analyse de la contamination bactérienne de 1999 allogreffes osseuses, en conditions d'exploitations stériles et issues de 200 donneurs décédés a démontré la présence d'organismes. Pour 50% des greffes, des organismes faiblement pathogènes (principalement commensaux de la peau) ont été isolés et pour 3% des allogreffes, des bactéries de haute pathogénicité (principalement issues du tractus gastro-intestinal) ont été retrouvées (22). Cette étude montre l'importance de l'analyse et du traitement de chaque allogreffe de façon à minimiser les risques de transmission à un niveau acceptable. De plus, il a été calculé que le risque résiduel de transmission d'hépatite B ou d'hépatite C à travers une greffe osseuse après sélection et dépistage des donneurs est inférieur à 1 pour 2,3 millions. Au rythme actuel d'utilisation de greffes osseuses, cela correspond à un potentiel de transmission tous les 500 ans (18).

*Cas d'une transmission de virus d'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) suite à une greffe allogénique aux Etats Unis (23):*

Des cas de transmission de VIH par allogreffes de donneurs infectés ont déjà été rapportés. Dans la plupart des cas, la transplantation avait été réalisée avant 1985 c'est à dire avant que le statut sérologique des donneurs devienne obligatoire aux Etats-Unis. Cependant, le virus a été transmis dans de rares cas par des donneurs de sang séronégatifs, à cause de la fenêtre sérologique. En 1991, une femme de 77 ans dont l'unique risque d'infection au VIH-1 fut la réception d'une allogreffe de tête fémorale en décembre 1985 a été identifiée comme porteuse du virus. Les investigations subséquentes révélèrent que le donneur était un jeune homme âgé de 22 ans, séronégatif, décédé d'une blessure par balle en octobre 1985. Les études démontrèrent que sur les 4 organes cédés et 54 tissus distribués, 7 receveurs au total furent infectés par le VIH. Les recherches médicales et interviews avec la famille et les partenaires sexuels du donneur n'ont révélé aucun facteur de risque d'infection au virus. De plus, les deux échantillons de sérum testés au moment du prélèvement étaient négatifs aux anticorps anti-VIH-1. La banque de sang ayant prélevé le plasma a confirmé que les lots d'où provenaient les unités obtenues n'avaient pas été impliqués dans d'autres cas de transmission. Il s'est avéré que le donneur de cette enquête était probablement à un stade précoce de l'infection car aucun anticorps anti-VIH n'avait été détecté au moment de son décès. D'autres explications telles qu'une hémodilution (lors de transfusions répétées)

juste avant un test anticorps anti-VIH masquant ainsi l'infection ou une transfusion péri-opératoire d'un produit de sang infecté du donneur sont exclus. En effet, le seul produit sanguin qu'il reçut fut une fraction protéique de plasma, or le traitement de ce produit inactive le virus.

Il y a en général une période de plusieurs semaines à six mois entre l'infection au VIH et l'apparition des anticorps anti-VIH (23). Parce que le VIH-1 a été transmis depuis un sang de donneur récemment infecté dans lequel les anticorps anti-VIH ne s'étaient pas encore développés lors de l'analyse, la transmission du virus à un receveur provenant d'organe ou tissu de donneur séronégatif, comme cela s'est produit dans ce cas, n'est pas exclu. Le risque exact de transmission est inconnu mais probablement très faible. Aucun autre cas de transmission de VIH attribuable à une transplantation provenant d'un donneur séronégatif n'a été rapporté. Cependant la transmission par transplantation ne peut pas être définitivement exclue en tenant compte des autres facteurs de risques. Pour prévenir ces risques, de nouvelles barrières de sécurité ont été mises en place :

- ❖ Une méthode de sélection rigoureuse des donneurs
- ❖ L'utilisation de nouvelles techniques sérologiques (détection combinée antigène p24 et anticorps anti-VIH-1 et 2) ainsi que de biologie moléculaire (amplification génique pour le VIH, le VHB et le VHC par Polymerase in Chain Reaction) méthodes plus sensibles et plus spécifiques.
- ❖ Des techniques d'inactivation virales plus efficaces

### En odontologie:

Aucun cas de contamination virale ou de pathologies acquises (infections bactériennes) par l'intermédiaire de DFDBA n'a été rapporté . Il peut s'agir d'une conséquence des processus de traitement. C'est pourquoi ce matériau connaît une utilisation croissante (24).

## 2.3. Xénogreffe

L'os greffé est d'origine non humaine (porcin, bovin ou équin) et sa disponibilité est qualifiée d' "illimitée". L'os subit également un traitement thermique pour éliminer la partie organique et ainsi éviter le rejet ou la transmission de maladies. De nombreuses études

permettent d'affirmer le succès de ce type de matériau de substitution osseuse à vitesse de dégradation lente. C'est un matériau ostéoconducteur (3).

#### ***2.4. Matériaux alloplastiques***

Ces matériaux qui sont générés à partir de matière minérale brute, présentent une disponibilité illimitée et permettent d'exclure tout risque de transmission de maladies ainsi que toute problématique d'ordre éthique. Leur liaison à l'os permet un effet d'ostéoconduction. Le plus utilisé est le phosphate de calcium qui donne de bons résultats depuis plus de vingt ans (3). Ils sont cependant biologiquement inactifs et de ce fait, moins propices à engendrer une réparation complète de larges défauts osseux (14). En effet, il a été prouvé histologiquement que ces matériaux fonctionnent par encapsulation des particules synthétiques par du tissu conjonctif, et non par véritable remplacement (25).



## En odontologie: résumé

Plusieurs types de greffons aux propriétés différentes ont été étudiés au cours du temps et la recherche vers un matériau de substitution idéal se poursuit toujours.

| Matériaux               | Contenu                                                                                                    | Ostéogénique | Ostéo-inducteur | Ostéo-conducteur |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----------------|------------------|
| Os autogène.            | Matrice osseuse.<br>Cellules ostéogéniques.<br>Facteurs de croissance.                                     | +/-          | +               | +                |
| Allogreffe.             | Matrice osseuse despecifiée.<br>Absence de cellules.<br>Facteurs de croissance.                            | -            | +               | +                |
| Xéno greffe.            | Matrice inorganique minéralisée despecifiée.<br>Absence de cellules.<br>Absence de facteurs de croissance. | -            | -               | +                |
| Matériaux synthétiques. | Absence de cellules.<br>Absence de facteurs de croissance.                                                 | -            | -               | +                |

**Tableau 1 : Propriétés des différents matériaux de greffe selon Tulasne et Andréani (12)**

L'allogreffe osseuse est utilisée en dentisterie depuis les quatre dernières décennies (21).

Il convient de souligner que les allogreffes fraîches ou congelées ne sont généralement pas utilisées dans la chirurgie parodontale et pré-implantaire, à la différence de l'os lyophilisé non déminéralisé (FDBA) utilisé depuis 1970 et de l'os lyophilisé et déminéralisé (DFDBA) utilisé depuis 1975. Le délai nécessaire pour traiter les os DFDBA ainsi que les os FDBA assure suffisamment de temps pour tester les agents pathogènes potentiels et aider à la sécurité de ces matériaux (24, 21).

### **3. Physiologie du greffon**

#### ***3.1. Indications d'une greffe osseuse***

Lorsque le déficit osseux n'est que de quelques millimètres et que le défaut est formé de quatre murs osseux (par exemple lors de l'extraction d'une dent), ces conditions sont idéales pour que l'os se répare seul (14). L'absence d'un mur résultant d'un trauma, d'une

résorption de longue date ou de la fonte d'une paroi osseuse trop fine nécessite souvent une technique supplémentaire pour recréer le volume osseux (26). Face aux multiples choix de greffes offerts au chirurgien, ce dernier doit être attentif à plusieurs facteurs, notamment (Dr Zarrine S., Formation professionnelle sur les greffes osseuses, Saint-Dié des Vosges, vendredi 29 janvier 2015) :

❖ La taille du défaut

❖ L'apport sanguin

Il est déterminant dans l'incorporation du greffon (19). Le tabac est connu pour contribuer significativement à l'aggravation des pathologies parodontales (27). Il exerce des effets néfastes sur les neutrophiles et altère les réponses inflammatoires (28). Ainsi un patient tabagique sera peu favorable à une greffe osseuse, la nicotine réduisant cet apport de par son effet vasoconstricteur (29).

❖ La compétitivité cellulaire

Les cellules osseuses étant plus lentes à se régénérer que les fibreuses, le maintien de l'espace par un substitut devient indispensable à une bonne cicatrisation osseuse.

❖ L'instabilité mécanique du caillot

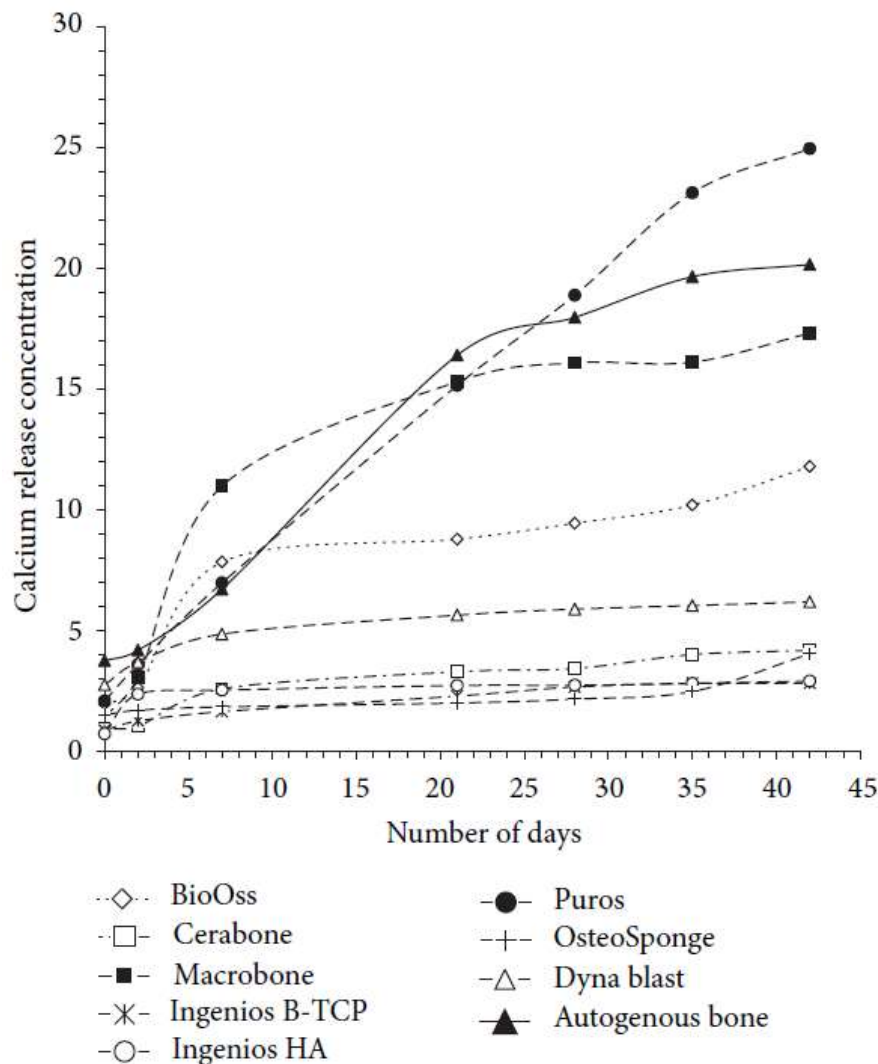
Comme lors d'une avulsion dentaire, la présence d'un caillot sanguin dans l'alvéole est primordiale à la cicatrisation correcte du défaut osseux. Ainsi, la création d'un espace tridimensionnel est nécessaire à la stabilité de ce dernier.

La greffe jouera donc principalement le rôle **d'élément d'espacement** et de **surface d'ostéoconduction** pour les cellules hôtes et les vaisseaux, entraînant progressivement son incorporation au sein de l'os receveur.

### ***3.2. Incorporation du greffon***

L'incorporation fait suite à une série d'évènements conduisant à un remplacement progressif de l'os greffé qui sera peu à peu résorbé. La néoformation osseuse succède à un mécanisme de substitution rampante défini par une résorption ostéoclastique suivie d'une apposition osseuse (13, 17). Le taux de résorption du greffon doit être identique à celui de néoformation osseuse car une dégradation plus rapide que la vascularisation présenterait

des effets néfastes sur le processus de régénération et la colonisation osseuse serait incomplète. Plus la concentration en calcium du greffon sera importante, plus il présentera d'affinités avec le milieu acide lors de l'activité ostéoclastique et plus ce matériau sera enclin à la dégradation (30).



**Figure 5. Libération de calcium dans le temps selon les différents substituts**

Cette figure issue de l'article Physicochemical Characteristics of Bone Substitutes Used in Oral Surgery in Comparison to Autogenous Bone (30) montre la concentration en calcium de différents substituts durant une certaine période. L'axe des Y représente la libération de calcium en mg/g de greffon et l'axe des X représente le temps en jours. L'étude s'intéresse ici aux substituts Puros (allogreffe), BioOss (xélogreffe), et à la courbe de l'os autogène. Nous pouvons remarquer que le taux de calcium libéré au cours du temps par l'allogreffe

est relativement constant et se rapproche de celui libéré par l'autogreffe jusqu'à 28 jours. Ainsi, l'os autogène et le Puros sont plus sensibles à l'activité ostéoclastique que le BioOss.

Une greffe est considérée comme intégrée lorsqu'il n'y pas de changement histologique brusque entre l'os hôte et le greffon. Outre les propriétés de la greffe en elle-même, la vascularisation du lit et la stabilité mécanique de la greffe sont d'une importance cruciale:

- ❖ Le lit receveur doit contenir des cellules pré-ostéogéniques ou ostéogéniques (13, 17).
- ❖ L'interface greffon-hôte doit être stable afin de permettre aux vaisseaux d'envahir la greffe (13, 17). En effet si l'immobilité du greffon ne peut être obtenue, les néo-vaisseaux seront rompus. Ainsi, pour entraîner une intégration biologique optimale, la taille des pores du greffon doit présenter un diamètre supérieur à 100-150 nm (30).

Ces facteurs sont largement tributaires du chirurgien et soulignent l'importance de l'approche chirurgicale et de la préparation du site receveur (13, 17).

En résumé, pour obtenir un bon résultat, il faut réunir trois conditions (17):

- ❖ Le chirurgien, qui doit définir l'indication, préparer le lit hôte et fixer la greffe
- ❖ La qualité du greffon
- ❖ Le patient, qui doit être suffisamment apte à la réception d'une greffe et qui doit se conformer au traitement post-opératoire prescrit. Pour une cicatrisation optimale, le patient doit posséder un potentiel ostéogénique suffisant. Cependant ce paramètre reste impossible à prévoir de nos jours.

## En odontologie:

Selon PRINC et PIRAL, un greffon contenant un os cortical dense sera moins perméable qu'un greffon majoritairement spongieux. " Les bourgeons vasculaires contournent la greffe sans pouvoir la pénétrer et ne peuvent progresser qu'au moment de la résorption ostéoclastique. Cela se traduit par une incorporation beaucoup plus longue et incomplète du greffon corticalisé (31).

Il est depuis admis que la corticale d'un greffon présente un rôle d'espacement mais ne se revascularise que rarement. La partie spongieuse, quant à elle, est apte à la colonisation par les vaisseaux sanguins (19). De ce fait, un bloc d'os iliaque (corticospongieux) présente l'intérêt de se revasculariser et se régénérer de façon importante mais est sujet à une résorption accrue. A contrario, un bloc d'os autogène mandibulaire (constitué essentiellement de corticale) présentera une régénération moins efficace car sa revascularisation sera beaucoup plus longue (voire inexistante) mais sera très peu sujet à la résorption.

Ainsi, lors d'une greffe, on cherche à tirer avantage de ces deux particularités : le **maintien grâce à la corticale** peu résorbable et la **revascularisation grâce au spongieux**.

# **CHAPITRE III : LES GREFFES**

## **OSSEUSES ALLOGÈNES**

## **1. Origine des greffons**

La principale source d'os allogéniques est représentée par les têtes fémorales données par des patients subissant une arthroplastie de hanche (18). Exceptionnellement, elle peut également provenir de donneurs décédés dans les cas qui nécessitent une grande quantité d'os (après résection de tumeur par exemple) (13, 18). Mais cela soulève de nouvelles préoccupations. En effet le prélèvement de tissu réalisé dans les morgues engendre une contamination bactérienne plus importante que dans une salle d'opération, impliquant un taux de rejet plus élevé (13). Seule une poignée de banques d'os dans chaque pays pratique ce type de prélèvement qui concerne les os longs et massifs (13, 17, 32). Cette source n'est pas utilisée pour les allogreffes de la sphère orale en France, et est uniquement pratiquée sur les patients en état de mort cérébrale (32).

C'est pourquoi les donneurs vivants doivent être privilégiés lors de sélection de dons. Ceux-ci sont stockés dans des banques spécialisées locales, régionales ou nationales, réglementées par des textes législatifs nationaux et internationaux (18).

*Scandale de la société de récupération de tissus humains BTS (Biomedical Tissue Services) aux Etats-Unis en 2005 (21):*

Le 8 octobre 2005, l'entreprise de récupération des tissus BTS a été fermée par la Food and Drug Administration (FDA) des Etats-Unis et jugée responsable d'avoir prélevé illégalement des organes, os et tissus provenant de cadavres en attente de crémation, souvent contre la volonté écrite des familles. Les os ainsi retirés étaient remplacés par du polychlorure de vinyle (PVC). Selon la FDA, ces prélèvements ont été commercialisés sans avoir été analysés et testés au préalable et pire encore, récupérés sur des cadavres préalablement détériorés ou sur des corps atteints de maladie cancéreuse. Les receveurs sont aujourd'hui suivis pour contrôler la compatibilité. Certains ont déjà été victimes de choc septique, ont contracté la syphilis ou le VHC. Ce scandale a ébranlé la confiance du public dans cette option de traitement, et les dommages causés ont affecté les spécialités médicales et dentaires. Il est du devoir des cliniciens utilisant des allogreffes de fournir une assurance aux patients receveurs qui doivent être informés sur la méthodologie des banques de tissus.

### ***1.1. Critères de sélection clinique des donneurs***

La réduction du risque de transmission d'agents pathogènes au receveur débute par une sélection drastique des donneurs, destinée à écarter tout sujet pouvant porter potentiellement une maladie ou dont les os ne conviennent pas à la transplantation pour d'autres raisons, par exemple une résistance mécanique trop faible due à une ostéoporose, ou un passé de malignité chez le donneur entraînant un risque potentiel de transfert de cellules malignes contenues dans le greffon (18). Cette sélection est réalisée en deux étapes:

- ❖ Premièrement : examen approfondi des antécédents médicaux et comportementaux.

Le but de cette étape est d'identifier les agents pathogènes auxquels le donneur a pu être exposé. Il peut s'agir de virus, de bactéries ou de champignons, de prions ou de cellules malignes (18).

L'historique médical, sur la base d'un questionnaire, identifie les risques spécifiques permettant de déterminer si le donneur est porteur d'une maladie transmissible. Tandis que l'historique comportemental étudie les activités et habitudes du donneur pouvant entraîner une exposition aux agents causant les pathologies (par exemple : usage de drogue en intraveineux, tatouage récent, voyage dans des zones sources d'agents transmissibles comme le paludisme...) (13, 18).



| <b>Classes d'agents</b>         | <b>Risques Spécifiques</b>                                                                   | <b>Méthodes d'analyses</b>                                                                                 |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Virus</b>                    | Transmission de maladies virales                                                             | Antécédents médicaux et comportementaux<br><br>Analyse sérologique<br><br>Diagnostic génomique viral (DGV) |
| <b>Bactéries et champignons</b> | Transmission d'états septiques<br><br>Contamination de greffes avec des toxines microbiennes | Antécédents médicaux (infection active ou récente)                                                         |
| <b>Prions</b>                   | Transmission de prions pouvant provoquer des maladies comme encéphalopathies spongiformes    | Antécédents médicaux (exemple: démence inexpliquée ou antécédents de transfusion sanguine)                 |
| <b>Cellules malignes</b>        | Transmission de cellules malignes                                                            | Antécédents médicaux (cancer actif ou rémission)                                                           |

**Tableau 2. Maladies dérivées de donneurs potentiels causées par des agents pathogènes.**

**D'après Lomas et al.(18)**

Cette phase initiale est très efficace, en effet les données montrent qu'après cette pré-analyse, le risque qu'un donneur soit testé positif pour des agents pathogènes en étape deux est inférieur à 1 pour 1500 (18).

| Nombre total de donneurs testés                 |        |
|-------------------------------------------------|--------|
|                                                 | 34 750 |
| Hépatite C positifs                             | 13     |
| Hépatite B positifs                             | 10     |
| Virus d'Immunodéficience Humaine (VIH) positifs | 0      |
| Virus T-Lymphotrophique Humain (HTLV) positifs* | 0      |
| * depuis 2004                                   |        |

**Tableau 3. Résultats des tests de dépistage d'infections virales chez des donneurs vivants de 2001 à 2010. D'après Lomas et al.(18)**

- ❖ Deuxièmement : prélèvement sanguin collecté au moment de la donation (ou dans les sept jours en cas d'impossibilité).

Le Journal Officiel de l'Union Européenne stipule que ces prélèvements réalisés sur le sérum ou le plasma doivent être effectués "par un laboratoire homologué ayant reçu l'autorisation de l'autorité compétente de l'État membre, en utilisant des dispositifs d'examen portant le label CE, le cas échéant" (13, 33). La première directive technique (2006/17/CE) fut imposée par le Parlement européen et le Conseil concernant "certaines exigences techniques relatives au don, à l'obtention et au contrôle de tissus et de cellules d'origine humaine" pour tous les pays membres de l'Union Européenne (33). Elle requiert le dépistage par prélèvement sanguin des infections suivantes : VIH-1; VIH-2, VHB, VHC, syphilis. Selon les antécédents du donneur, son historique médical et comportemental, des examens complémentaires doivent être effectués (par exemple concernant le virus T-lymphotrophique Humain (HTLV), le cytomégalovirus (CMV), l'Epstein-Barr-Virus (EBV), le paludisme, la toxoplasmose...) (33). Chaque pays ou banque de tissus a la possibilité d'établir des critères beaucoup plus sévères que les directives européennes fixées. Ainsi, au Royaume-Unis l'examen concernant l'anticorps HTLV est effectué pour tous les donneurs de tissus, alors que le Journal Officiel de l'Union Européenne dispose qu'il doit être effectué chez les

donneurs "vivants dans des régions à forte incidence ou provenant de ces régions ou dont les partenaires sexuels ou les parents proviennent de ces régions" (18).

Deux techniques de base sont utilisées :

- L'analyse sérologique qui détecte les anticorps ou antigènes viraux (18).
- Le diagnostic génomique viral qui détecte des séquences nucléotidiques microbiennes (obligatoire uniquement dans le cadre de greffes non viro-inactivées telles que les greffes orthopédiques) (18).

L'avantage de l'analyse sérologique d'anticorps est la mise en évidence d'une infection passée même si la maladie n'est pas active longtemps après. Ce test repose toutefois sur la réponse de l'hôte à l'infection, et dans les tous premiers stades d'infection d'un donneur potentiel il n'y a pas toujours une génération suffisante d'anticorps pour être détectée (18). Le temps compris entre le début de l'infection et sa détection est appelé fenêtre sérologique. Durant cette dernière, un donneur est capable de transmettre une infection sans pour autant être positif aux tests. Le diagnostic génomique viral, qui détecte directement d'infimes quantités de nucléotides microbiens est beaucoup plus sensible que le test sérologique et réduit ainsi cette période fenêtre (18). Cependant, il nécessite que le microorganisme se réplique dans le plasma. C'est l'association de ces deux tests qui réduit grandement les possibilités de faux-négatifs et donne une indication sur tout risque comportemental (13, 18).

Avec l'émergence de nouvelles infections comme ce fut le cas avec le VIH et le VHC, il y aura une période où l'agent pathogène sera présent dans la population de donneurs mais pas décelable. Toutefois, les étapes d'inactivation de ces agents (comme les processus de stérilisation et traitements) aident à réduire le risque de transmission d'agent pathogène connu ou non et permettent de répondre à deux objectifs fondamentaux des allogreffes osseuses:

- ❖ Les rendre cliniquement plus efficaces en éliminant les lipides contenus dans la moelle qui interfèrent avec la revascularisation et l'incorporation des greffes, favorisant ainsi l'ostéoconductivité (18).
- ❖ Les rendre plus sûres en supprimant le contenu en sang et moelle de l'os, réduisant ainsi le potentiel infectieux (18). Ceci est particulièrement important pour les prions, pour lesquels il n'y a pas de méthode de détection mise au point, et qui sont résistants à de nombreux procédés de stérilisation.



ZA Lavoisier - 4 rue Lebon  
77220 Presles-en-Brie - France  
Tél. 01 64 42 59 66  
Fax 01 64 42 59 60  
biobank@biobank.fr

## FICHE DE PRÉLÈVEMENT

selon le modèle de fiche de recueil de résidus opératoires  
établi par l'Agence de la Biomédecine

### Exemplaire à retourner à BIOBank avec la tête fémorale

#### INFORMATIONS SUR LE DON

Nom du donneur : ..... Etablissement : .....  
Prénom : ..... Ville : .....  
Sexe : ☐ M ☐ F Chirurgien préleveur : .....  
Né(e) le : ..... à : ..... Tissu prélevé le : .....

#### CRITERES CLINIQUES DE SELECTION DU DONNEUR

- | Oui                      | Non                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <b>Appartenance à un groupe à risque de transmission de maladies infectieuses</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Partenaires sexuels multiples homo ou hétérosexuels, concernant le donneur ou son partenaire régulier</li><li>- Toxicomanie par voie intraveineuse concernant le donneur ou son partenaire régulier</li><li>- Accident d'exposition à du sang ou des dérivés suspects d'être contaminés</li><li>- Séjour en milieu carcéral</li></ul>                                                                                                                                                              |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <b>Risque de transmission des maladies dues aux agents transmissibles non conventionnels</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Traitement par hormones hypophysaires extractives (notamment de croissance)</li><li>- Greffe de dure-mère d'origine humaine ou antécédents chirurgicaux du système nerveux central</li><li>- Démence ou maladie neurologique pouvant évoquer une encéphalopathie subaiguë spongiforme</li><li>- Antécédents familiaux pouvant évoquer une encéphalopathie subaiguë spongiforme</li><li>- Maladie d'Alzheimer ou affection dégénérative du système nerveux central (Parkinson)</li></ul> |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <b>Infection généralisée active</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Infection ou suspicion d'infection par le VIH ou le HTLV ou Hépatite virale B ou C</li><li>- Maladies virales avérées ou probables (notamment hépatites virales, VIH, HTLV, rage)</li><li>- Mycose ou infection bactérienne systémique, tuberculose active, lèpre, syphilis</li><li>- Maladies parasitaires (protozooses) : paludisme, leishmaniose, maladie de Chagas, maladie du sommeil</li></ul>                                                                                                                                             |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <b>Autre pathologie authentifiée</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Hémopathie maligne</li><li>- Cancer : si oui, préciser type et date : .....</li><li>- Maladie de système ou autres : maladie de Paget, sclérose multiple, troubles métaboliques de l'acide urique, inflammation articulaire (arthrite), polyarthrite rhumatoïde, ostéomyélite</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <b>Traitement connu</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Stéroïdes au long cours (&gt; 90 jours)</li><li>- Irradiation, chimiothérapie</li><li>- Transfusion sanguine (&lt; 6 mois) : Date : ..... Quantité : .....</li><li>- Autres, en particulier habituel (préciser) : .....</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <b>Pathologie locale (tissu à prélever)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Antécédents d'irradiation ou de pathologie locale connue</li><li>- Infection bactérienne pouvant contaminer le tissu à prélever</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <b>Examen lors du prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Adénopathies multiples, hépato-splénomégalie, ictère</li><li>- Traces de piqûres pouvant évoquer une toxicomanie intraveineuse</li><li>- Pathologie au niveau de la zone à prélever : kyste, infection</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

#### VALIDATION MEDICALE

Je certifie que le patient a été sélectionné et informé selon les procédures BIOBank et a donné son consentement.

Nom : .....  
☐ Anesthésiste  
☐ Chirurgien  
Signature : .....

#### PARTIE RESERVEE A BIOBank

| RECEPTION                                                               |            | CONTROLE RECEPTION/SAISIE                               |                                                   | SAISIE INFORMATIQUE |            |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------|------------|
| Tissu par : .....                                                       | Le : ..... | O N O N                                                 |                                                   | Par : .....         | Le : ..... |
| Sang par : .....                                                        | Le : ..... | Tissu <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> |                     |            |
| Sang prélevé le : .....                                                 |            | Sérum <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> |                     |            |
| Laboratoire : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |            | FdP <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> |                     |            |
| Poids : ..... Local : .....                                             |            |                                                         |                                                   |                     |            |
| Remarques : .....                                                       |            |                                                         |                                                   |                     |            |

Fiche de prélèvement TRAN-ENR-0014 - Version 4 du 04/01/2011

Figure 6. Exemple d'une fiche de prélèvement fournie par le laboratoire BIOBank aux chirurgiens (34)

## **1.2. Têtes fémorales lors d'arthroplasties de hanche**

La source d'os la plus courante en Europe reste la tête de fémur non transformée acquise en conditions stériles chez un patient subissant une arthroplastie de hanche (13). Avant 2011, le patient était examiné un mois avant l'opération puis à nouveau quatre à six mois après. Durant cette période nécessaire aux analyses de laboratoire, l'os était mis en quarantaine (13). Depuis l'utilisation du diagnostic génomique viral permettant d'obtenir rapidement des résultats au laboratoire, cette fenêtre de précaution a été largement réduite. Les os sont prélevés sous conditions stériles dans la salle d'opération et leurs propriétés mécaniques sont excellentes. Ils sont livrés non transformés en têtes complètes, ou ont été préalablement coupés en conditions stériles en deux ou plusieurs unités (13, 18).



**Figure 7. Prélèvement d'une tête fémorale lors d'une arthroplastie de hanche par Docteur G.Menu, Chirurgien orthopédiste, février 2015**

Au Royaume-Uni, 48% des donneurs potentiels de têtes fémorales sont rejetés après évaluation médicale et parmi les 52% acceptés 22% seront rejetés après analyses plus poussées (13). À Nancy, le service d'Unité de Thérapie Cellulaire et banque de Tissus (UTCT) du Centre Hospitalier Régional Universitaire est un établissement autorisé par l'Agence Nationale de la Sécurité du Médicament (ANSM) à préparer, conserver et distribuer des têtes fémorales. En 2014, environ 10% d'entre elles ont été renvoyées à des banques spécialisées en viro-inactivation (telles que BIOBank® , Zimmer® ou TBF®) car porteuses d'un virus tel l'hépatite B (Dr Eschwege V., Unité de Thérapie cellulaire, CHRU de Nancy, Communication personnelle, décembre 2014). Ce dernier peut être éliminé grâce à des procédés particuliers : Article 9 de l'arrêté du 5 juillet 2013 paru dans le Journal Officiel « Les os provenant de donneurs non porteurs de l'antigène HBs (Ag HBs) et présentant une sérologie positive pour les Ac anti-HBc associée à une sérologie positive pour les Ac anti-HBs peuvent être greffés dès lors qu'ils ont subi des processus de préparation incluant des étapes de viro-inactivation validées au regard du risque de transmission du virus de l'hépatite B » (35).

Toutes les têtes fémorales enlevées lors du remplacement de hanche ne seront pas propices pour la transplantation. En effet, tous les patients ne seront pas consentants ou seront médicalement inaptes à donner leurs os et tous les hôpitaux où le remplacement par greffes de hanches est réalisé n'ont pas de programmes de donation en place des têtes fémorales à des banques de tissus (18).



## PROCEDURE RECUEIL DE TETES FEMORALES

### 1 Kit de prélèvement contient 3 éléments :

- 1 boîte et son sachet de transport dans un emballage double stérile
- 2 tubes de sang et leur sachet de transport
- 1 dossier de traçabilité intitulé « Formulaire de Prélèvement » contenant : fiche de prélèvement, lettre d'information du donneur, étiquettes autocollantes Biobank, plus 2 petites étiquettes «code-barre» à utiliser pour votre traçabilité interne (cahier de bloc...)

### PROCEDURE :

1. Ouvrir le double sachet et poser la boîte sur la table stérile, ou bien encore présenter la boîte à l'instrumentiste en dehors du champ (à votre convenance). Garder hors de la zone stérile les tubes de sang et le dossier de traçabilité.
2. Compléter les étiquettes du formulaire de prélèvement ou coller les étiquettes « patient » sur toutes les étiquettes autocollantes Biobank.
3. Mettre la tête fémorale telle qu'elle a été réséquée dans la boîte sans rien d'autre. Verrouiller le couvercle puis coller l'étiquette autocollante Biobank sur la boîte. Mettre la boîte dans son sachet de transport. Enlever la protection de l'adhésif et fermer avec précaution pour assurer l'étanchéité. Une fois fermé on ne peut plus l'ouvrir.
4. Avant, pendant ou après l'intervention, prélever 2 tubes de sang veineux (tube sec avec gel séparateur). Coller les étiquettes autocollantes Biobank sur les tubes de sang. Mettre les tubes dans leur sachet de transport. Enlever la protection de l'adhésif et fermer avec précaution pour assurer l'étanchéité.
5. Dossier de traçabilité :  
Remplir les critères d'exclusions de la Fiche de prélèvement (blanche pour Biobank, bleu pour dossier patient) et faire signer par le chirurgien ou l'anesthésiste.  
Demander au chirurgien la Lettre d'information du donneur signée par le patient.  
Transmettre la Lettre d'information vierge du kit aux consultations pour les prochains patients.
6. Après l'intervention :  
Prendre le sac transparent du kit et mettre dedans :
  - Le sachet avec la tête fémorale
  - La fiche de prélèvement blanche
  - La lettre d'information du donneur signée par le patient

**PLACER DANS LE CONGELATEUR**

Prendre le sachet des tubes sang avec les 2 tubes dedans :

**PLACER AU REFRIGERATEUR**

Figure 8. Exemple de fiche de prélèvement donnée au chirurgien par le laboratoire BIOBank®



### **1.3. Contre-indications au don de tissu osseux**

Il est important de garder à l'esprit que tous les patients consentant à un don d'os ne sont pas toujours des candidats idéaux. En effet un donneur doit être en bonne santé générale et exempt de maladie infectieuse présentant un risque potentiel de transmission. Les contre-indications au don de tissu osseux comprennent (21, 24, 36) :

#### ❖ Élimination par la clinique :

- Les donneurs appartenant à un groupe à haut risque, déterminé par les tests médicaux et/ou l'évaluation de risques comportementaux.
- Les donneurs à risque de transmission de maladies à prions (maladie de Creutzfeldt-Jakob, démences dégénératives...).
- Les donneurs présentant une maladie d'étiologie inconnue.
- Les donneurs présentant une infection systémique non contrôlée au moment du don (y compris bactérienne, virale, fongique, parasitaire).
- Les autopsies de donneurs révélant des maladies ayant évolué sans signe clinique au cours du vivant, ou présentant une cause du décès inconnue.

#### ❖ Élimination par les tests réalisés au laboratoire :

- Les donneurs positifs aux anticorps et/ou antigènes du VIH.
- Les donneurs et les os testés positifs aux antigènes de surface du virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C.
- Les donneurs positifs au test de syphilis.
- Les dons osseux contaminés par une bactérie ou un champignon.

## **2. Banques de tissus et biovigilance**

### **2.1. Rôles**

La demande ainsi que l'utilisation croissante des allogreffes ont encouragé le développement de banques d'os, en premiers lieux aux Etats-Unis puis progressivement dans les autres pays (17). Elles ont pour rôles:

- ❖ D'assurer la qualité et la sécurité des greffons distribués. Ce but est satisfait par le respect strict de normes communes, approuvées par des associations spécifiques:
  - The American Association of Tissue Banks (AATB) a développé à la fois un rôle de conseiller mais également de régulateur de cette activité. Le manuel d'instruction publié en 1991 a fait office de guide pour les banques d'os dans plusieurs autres pays (17). Fondé en 1976 par un groupe de médecins et scientifiques, cet organisme national à but non lucratif représente aujourd'hui la grande majorité de la distribution du tissu humain aux Etats-Unis, permettant d'élaborer des normes de sécurité, qualité et disponibilité tout en promouvant l'éthique et les dons (37). En acceptant l'accréditation AATB, les banques de tissus contribuent à assurer leur conformité à la réglementation de la Food and Drug Administration (FDA) concernant l'acquisition le traitement et l'utilisation d'allogreffes (21). En effet, produire une greffe digne de la distribution nécessite une attention rigoureuse tout au cours d'un processus global.
  - The European Association of Tissue Banks (EATB) a développé un guide similaire en Europe. Créée en 1991 à l'occasion de la première conférence européenne sur les banques de tissus, elle est le fruit d'un projet commun de 18 pays. Elle compte aujourd'hui parmi ses membres, des adhérents non européens (Argentine, Australie, Egypte, Japon...) (38).
  - The European Association of Musculo Skeletal Transplantation (EAMST)
- ❖ De réaliser des traitements de greffons osseux dans des conditions adéquates et sécurisées (congelés, déminéralisés, lyophilisés, irradiés...)

- ❖ De suivre des procédures strictes de prélèvement, stockage, dépistage, distribution des tissus.

Selon l'article L.1243-2 du code de la santé publique, les établissements de tissus sont accrédités par des organismes nationaux responsables, et soumis à des normes réglementaires : en France, l'Etablissement Français des Greffes accrédite les banques d'os grâce aux normes définies par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFFSAPS), substituée depuis mai 2012 par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM). Les greffes osseuses allogéniques sont considérées comme des "tissus" et non des dispositifs médicaux, leur distribution est donc assurée par certains Etablissements Français du Sang, certains Centres Hospitaliers Universitaires et certains centres privés dont la liste est fournie par l'ANSM et qui nécessitent un renouvellement tous les 5 ans. Ils existent dans le but de fournir au chirurgien un tissu sûr et efficace, au potentiel biologique et biomécanique, qui convient à l'application clinique prévue et disponible lorsque le besoin s'en fait ressentir. Elles ont permis d'augmenter considérablement les options de traitement, notamment en parodontologie dans la gestion de larges défauts osseux. Les procédés de greffes osseuses ne sont plus limités par la disponibilité de l'os autogène. La possibilité de transmission d'agents pathogènes par des allogreffes osseuses est très peu probable de nos jours si le matériel est acheté et traité conformément aux protocoles des banques de tissus (21).

## **2.2. Traçabilité**

Les normes actuelles imposées à ces établissements européens ont pour fonction principale d'assurer sécurité et qualité. Chaque tissu de banque doit être contrôlé par l'autorité nationale et doit être traçable (13).

Le code de la santé publique dispose que tout tissu prélevé et distribué doit être complété par des documents nécessaires à sa traçabilité, du prélèvement jusqu'à l'utilisation. Selon la directive 2006/86/CE de la commission du 24 octobre 2006 paru au Journal Officiel de l'Union Européenne, ceux-ci concernent plus particulièrement (39) :

## ❖ L'étiquetage en vue de la distribution

### ➤ identification du don

- Date et lieu de prélèvement
- Tests biologiques effectués
- Organisme de conservation et identification de l'établissement (nom, coordonnées, N°FINESS (fichier national des établissements sanitaires et sociaux) )

### ➤ identification du produit

- Numéro ou code d'identification unique, lot et numéro de lot
- Nature
- Description (définition)
- Caractéristiques (dimensions ...)
- Date de distribution
- Date d'expiration

## ❖ L'étiquetage du récipient de transport

- Identification de l'établissement expéditeur (avec adresse et numéro de téléphone)
- Mention "fragile" et "contenu d'origine humaine"
- Conditions de transport (au frais, position debout...)
- Consignes de sécurité

## ❖ L'identification du destinataire

Il convient toutefois de garder à l'esprit que les banques de tissus examinent un nombre limité de virus connus, et il reste encore la possibilité de transmission d'agents pathogènes inconnus (13).

### **3. Aspects éthiques et législatifs**

La réglementation en vigueur pour les banques de tissus est régie par le Code de la Santé Publique, plus particulièrement le livre II intitulé "Don et utilisation des éléments et produits du corps humain".

#### ***3.1. Concernant les banques de tissus***

Sont concernés les articles R1243-1 à R1243-19 relatant des dispositions générales, de la procédure et des conditions d'autorisation. Il est stipulé à l'article L1243-2 : "Peuvent assurer la préparation, la conservation, la distribution et la cession, à des fins autologues ou allogéniques [...] les établissements et les organismes autorisés à cet effet, après avis de l'Agence de la biomédecine, par l'Agence nationale du médicament et des produits de santé" (40) pour une durée de 5 ans, renouvelable. La loi exige une organisation et une structure de l'établissement répondant à des règles de bonnes pratiques qui concernent notamment les locaux, le personnel, le matériel, et la documentation. Elles assurent le respect de normes de qualité et traçabilité pour garantir un niveau de sécurité optimal des tissus traités.

Les établissements concernés sont :

- ❖ Les établissements de santé publics
- ❖ Les organisations à but non lucratif
- ❖ Certaines sociétés privées utilisant une haute technicité dont les procédés de fabrication sont validés

#### ***3.2. Notion de sécurité sanitaire***

Le décret N°97-928 du 9 octobre 1997 précise les examens biologiques nécessaires lors de prélèvements de tissus et après sélection des donneurs. Il y est stipulé :

" Si aucune contre-indication n'est décelée, la sélection clinique réalisée en application de l'article R. 665-80-2 est complétée avant tout prélèvement d'éléments ou toute collecte de produits du corps humain à des fins thérapeutiques par l'exécution des analyses de biologie médicale destinées à faire le diagnostic des maladies infectieuses transmissibles suivantes :

- 1° L'infection par les virus de l'immuno-déficience humaine VIH 1 et VIH 2 ;
- 2° L'infection à virus HTLV I ;
- 3° L'infection par le virus de l'hépatite B ;
- 4° L'infection par le virus de l'hépatite C ;
- 5° La syphilis" (41)

Toute sérologie positive parmi ces cinq analyses obligatoires interdit l'utilisation du tissu prélevé. Chaque échantillon doit être conservé et un compte rendu des analyses effectuées doit être annexé au prélèvement.

### ***3.3. Loi de bioéthique du 6 août 2004***

Elle complète dix ans plus tard la loi du 29 juillet 1994 et ses principaux changements concernent :

- ❖ La création de l'Agence de Biomédecine, qui reprend les missions dévolues à l'Etablissement Français des Greffes (EFG)
- ❖ La notion d'information et de consentement au don et à l'utilisation d'éléments du corps humain. D'après la directive 2006/17/CE de la commission du 8 février 2006 parue au Journal Officiel de l'Union Européenne, annexe IV : "Le professionnel de la santé chargé de recueillir les antécédents médicaux [du donneur] doit s'assurer :
  - que le donneur a compris les informations données
  - que le donneur a eu la possibilité de poser des questions et qu'il a reçu des réponses satisfaisantes

- que le donneur a confirmé que toutes les informations fournies étaient exactes à sa connaissance" (33)



ZA Lavoisier - 4 rue Lebon - 77220 Presles en Brie - Fra

Administratif : Tél. : 33 (0)1 64 42 00 75 - Fax : 33 (0)1 64 42 08 02 - e-mail : biobank@bioban

Commercial : Tél. 33 (0)1 64 42 59 65 (dentaire) / 33 (0)1 64 42 59 66 (orthopédie) - Fax : 33 (0)1 64 42 5

**LETTRE D'INFORMATION DU DONNEUR DE TISSUS**

Madame, Monsieur,

Votre chirurgien est amené à vous opérer la hanche afin de vous poser une prothèse. Pour cela, l'extrémité de votre fémur, appelée tête fémorale, doit être enlevée. Avec votre accord, cette tête fémorale pourra être utilisée ultérieurement comme greffon osseux chez d'autres patients qui souffrent d'un traumatisme ou d'une pathologie osseuse ou éventuellement à des fins de recherche scientifique. Votre don est important car il permettra de soigner de nombreuses personnes.

BIOBank, banque de tissus française, est agréée par l'AFSSAPS pour récupérer et traiter certains tissus osseux humains en vue d'une utilisation thérapeutique. A ce titre, BIOBank sollicite votre accord pour la récupération de votre tête fémorale qui pourra être utilisée ultérieurement pour soigner d'autres patients ou être utilisée à des fins de recherche scientifique. Ce don de tissu est réalisé avec le concours de votre chirurgien, il n'entraîne aucun risque ni aucun frais à votre charge.

BIOBank engage sa responsabilité sur le strict respect de l'éthique et des règles de sécurité sanitaire en conformité avec le Code de la Santé Publique et en application des principes suivants :

- le don est gratuit, anonyme (le bénéficiaire n'a pas connaissance de l'identité du donneur) et sans publicité.
- un dépistage sérologique obligatoire est effectué comprenant la recherche d'infections transmissibles, notamment par le virus HIV, les virus des hépatites B et C, le virus HTLV et par la syphilis. Les résultats de ces examens sont confidentiels, conservés par la banque de tissus et transmis au chirurgien, chargé d'en donner la signification au donneur.
- l'identité du donneur est enregistrée sur ordinateur par la banque de tissus qui a déclaré cette activité auprès de la Commission Nationale Informatique et Libertés.

Concernant ce dernier point, la transmission de votre identité à BIOBank a pour but de faciliter la gestion des données biologiques et médicales nécessaires à la sécurisation de votre tête fémorale. Conformément aux dispositions de la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, vous conservez un droit d'accès et de rectification de ces informations par l'intermédiaire de votre chirurgien ou de tout médecin de votre choix.

Votre décision permettra de faciliter le traitement d'autres patients.

BIOBank vous en remercie par avance.

---

Partie à compléter par le donneur en cas d'acceptation

Je reconnais avoir pris connaissance des informations ci-dessus. J'autorise la récupération de ma tête fémorale par BIOBank et la réalisation d'un dépistage sérologique de maladies transmissibles.

Nom :

Prénom :

Fait le :

Signature précédée de la mention  
« Lu et approuvé »

Société anonyme au capital de 1 399 855 481 €  
RCS Melun B 424 604 767 - Siret 424 604 767 00014 - Code APE - NAF 2110Z

REME-ENR-03 / Version 3

Figure 9. Exemple de lettre d'information donnée au donneur par le laboratoire BIOBank® (34)

- ❖ L'obligation au chirurgien d'informer le receveur ainsi qu'un suivi de ce dernier

**LETTRE D'INFORMATION DU RECEVEUR**

Madame, Monsieur,

Au cours de l'intervention chirurgicale, votre chirurgien pourra être amené à vous greffer un tissu osseux d'origine humaine.

Il s'agit d'un matériau qui permettra de réparer et de consolider un éventuel défaut de votre propre tissu osseux. Votre chirurgien a choisi d'utiliser le greffon PHOENIX® pour son efficacité clinique, sa conformité aux plus récentes exigences de qualité, traçabilité, sécurité et enfin pour son origine.

Chaque tissu osseux PHOENIX® utilisé par votre chirurgien, provient exclusivement de têtes fémorales de donneurs vivants qui sont opérés de prothèse totale de hanche en France.

Le procédé de sécurisation de ce tissu osseux est identique depuis 1992 et réalisé par TBF (Tissus Banque de France), Banque de Tissus autorisée par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Il se fait dans le cadre des règles de sécurité sanitaire, garantissant que toutes les précautions ont été prises pour assurer la réussite de votre intervention.

Une traçabilité est assurée pour ce greffon et votre nom est alors enregistré dans la base de données de la Banque de Tissus qui a déclaré cette activité auprès de la Commission Nationale Informatique et Liberté.

Votre chirurgien est à votre disposition pour vous fournir toute explication complémentaire concernant l'utilisation de ce produit.

Version 2012

Figure 10. Exemple de lettre d'information donnée au receveur pour les greffons Phoenix® (42)



### ***3.4. Autorisation pour les cabinets dentaires***

Selon la loi de bioéthique du 6 août 2004, seuls les établissements de santé sont autorisés à réaliser des greffes de tissus. Cependant, l'Ordonnance N°2000-548 du 15 juin 2000 dispose que :

" Art. L. 1243-4. - Les greffes de tissus et de cellules [...] ne peuvent être effectuées que dans des établissements de santé. Toutefois, les produits figurant sur une liste arrêtée par le ministre chargé la santé, après avis de l'Etablissement français des greffes, peuvent être utilisés par les chirurgiens-dentistes et les médecins stomatologues en dehors des établissements de santé." (43).

**CHAPITRE IV : T PE ET**  
**P O ÉDÉS DE TRANSFORMATION**  
**DES GREFFONS**

Les traitements appliqués aux greffes concernent toute activité effectuée sur les tissus récupérés. Les os peuvent être traités dans des conditions strictes d'asepsie ou être stérilisés à l'étape finale, généralement par une irradiation. Il est également nécessaire d'inactiver et éliminer tous les agents nocifs de l'os pour réduire le risque de transmission d'agents pathogènes, car les allogreffes fraîches congelées ont été documentées comme sources d'infection virale chez les receveurs (13). Parmi les étapes les plus importantes du traitement, l'élimination de la moelle osseuse et du contenu cellulaire laisse une matrice osseuse peu immunogène et améliore la capacité ostéoconductrice de l'os (13). Cette dernière joue ainsi le rôle de soutien biomécanique immédiat, permettant une colonisation cellulaire sur le site receveur et est remplacée progressivement par de l'os hôte (13). La moelle osseuse du donneur n'est pas censée contribuer à ce processus et peut même le retarder (13). Les greffons fournis par les banques de tissus sont traités par combinaisons de solvants et/ou détergents, associées à des températures élevées et des pressions positives ou négatives. La mise sous pression de fluides permet la pénétration complète de l'agent inactivateur ou éliminateur (18). Les méthodes de traitement peuvent aussi être antimicrobiennes, soit par le retrait de matière porteuse d'agents infectieux ou par l'intermédiaire des effets antimicrobiens directs des réactifs de traitement ou par des températures élevées (18). Il convient de souligner que le traitement de tous les types de tissus ne dispense pas d'une sélection rigoureuse des donneurs.

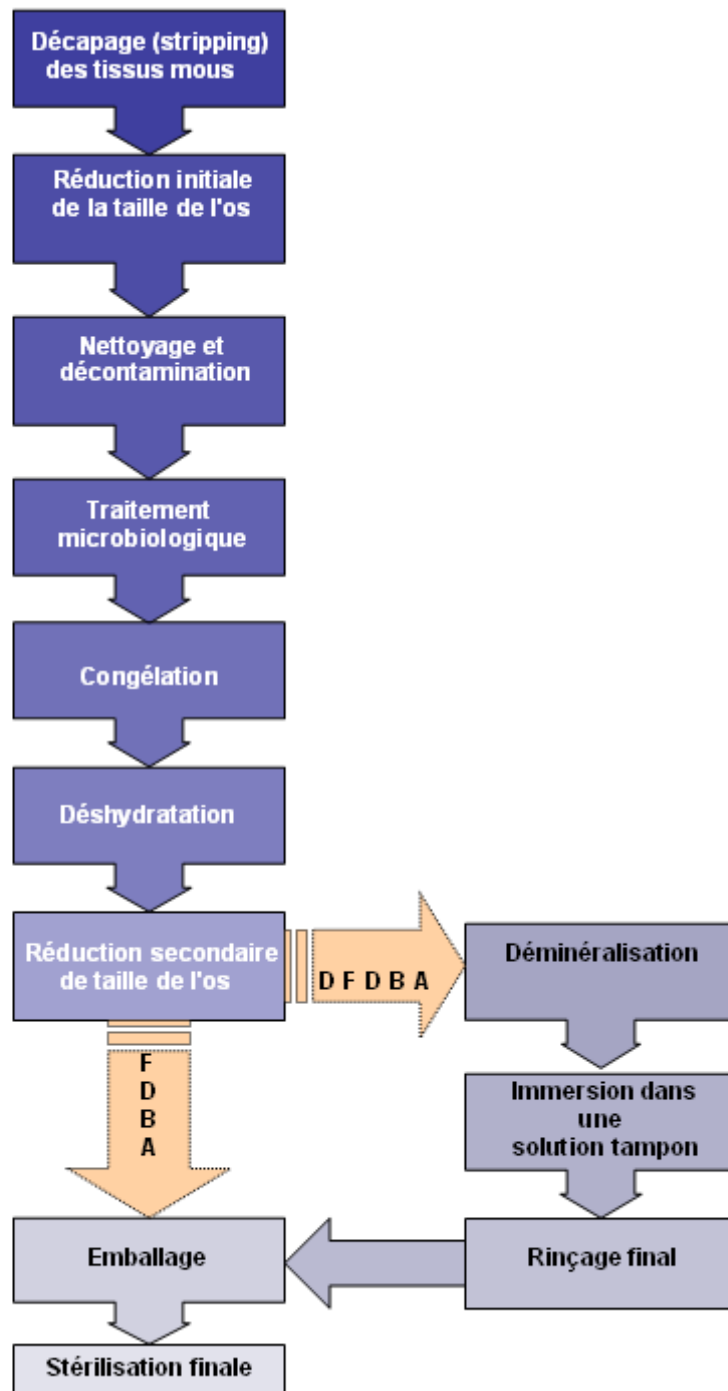


Figure 11. Schéma réalisé par l'auteur représentant les différentes étapes de traitement d'un greffon osseux d'après *The Safety of Bone Allografts Used in Dentistry* (44).

Après plus de 130 années de recherches concernant les préparations d'os allogènes, il existe une grande variété de techniques actuellement utilisées (45). Nous nous intéresserons dans cette thèse aux procédés Tutoplast®, Phoenix® et Supercrit®.

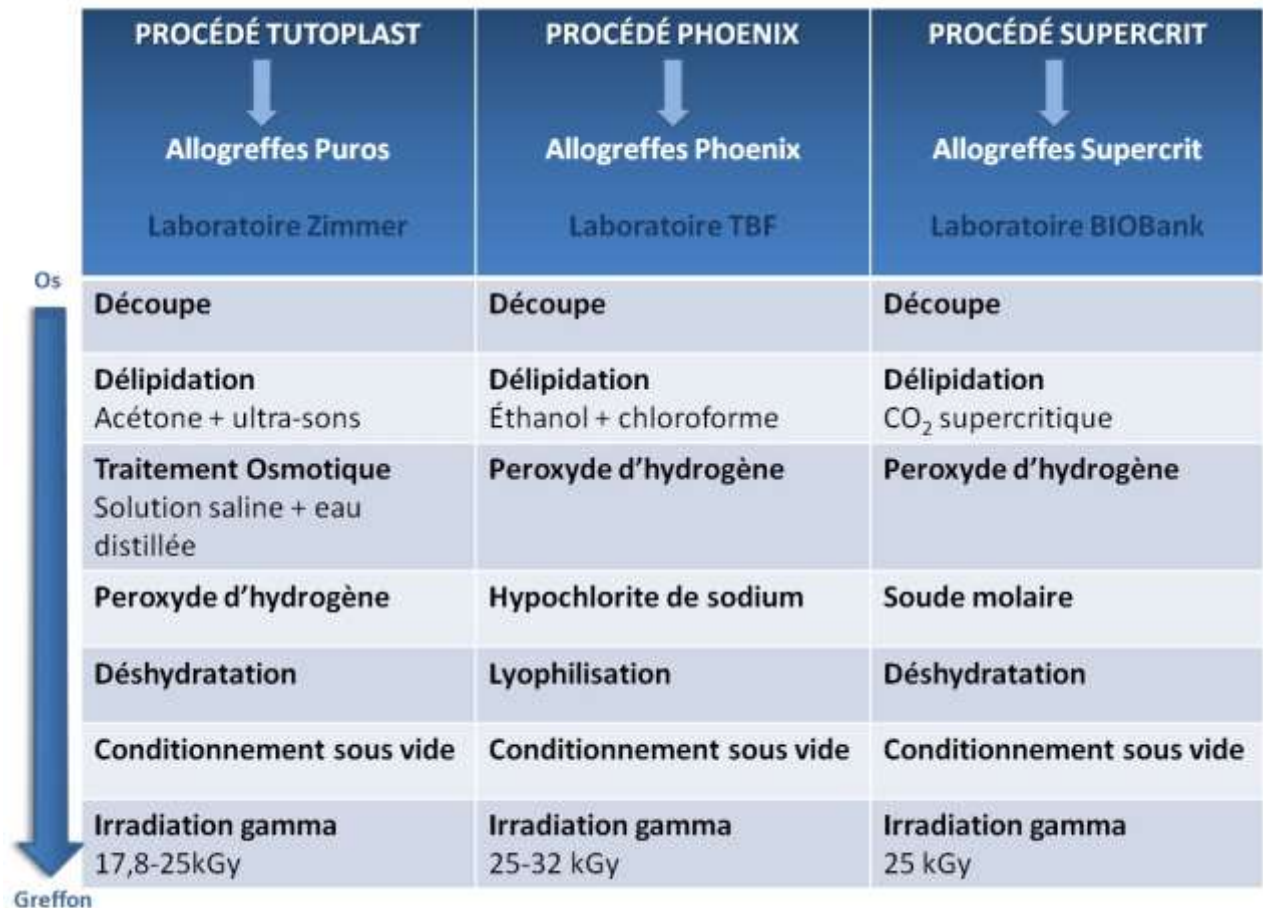


Figure 12. Schéma récapitulatif des étapes successives suivies par les greffons osseux selon les différents procédés étudiés, réalisé par l'auteur.

### En odontologie:

La sécurité virale d'un produit ayant une origine biologique repose sur trois points majeurs (46):

- ❖ Une **sélection** rigoureuse des donneurs
- ❖ Des **procédés de traitements** incluant des étapes d'inactivations virales : les virus non enveloppés (tel celui de l'hépatite A) étant généralement plus résistants aux procédés que les virus enveloppés (47, 48)
- ❖ Des **études pertinentes** sur l'inactivation virale

## **1. Découpe des greffons**

Après un décapage doux des tissus mous (résidus de muscles, tendons, ligaments...) (21) et élimination mécanique des ostéophytes, l'os est découpé en particules grossières qui peuvent être usinées sous diverses formes, y compris en morceaux, en disques, en coins... selon leur utilisation et les différentes indications cliniques (13).

On distingue différents types d'allogreffes selon leur utilisation et leur découpe :

- ❖ Les allogreffes structurelles et massives : elles font au moins cinq centimètres de long et représentent toute la circonférence du segment d'os à remplacer.
- ❖ Les allogreffes non structurelles: elles sont sous forme de fragments ou copeaux et placées dans un défaut limité.

Cette fragmentation renforce l'efficacité de délipidation de l'os, dont la teneur en lipides atteint environ 60% à ce stade, ainsi que sa déminéralisation ultérieure en augmentant la surface de contact avec les solvants (21).

## **2. Délipidation**

Cette étape est primordiale car les lipides en général interfèrent avec l'ostéointégration en ralentissant la colonisation du greffon (49) : Ils représentent un excellent substrat à la croissance bactérienne et lorsqu'ils sont irradiés, se transforment en oxydes lipidiques hautement toxiques (50).

La délipidation permet d'inactiver les virus enveloppés (tel que le VIH) et peut réduire de 2log la charge en prions (50).

Il a été démontré que la délipidation améliore l'ostéoconduction et entraîne une meilleure incorporation du greffon (51, 52). L'élimination complète de sang et débris permet d'éliminer tous les antigènes tissulaires du donneur (53). Ce qui permet, contrairement aux

transplantations d'organes solides, de passer outre les tests de compatibilité donneur-receveur.

### 2.1. Procédé SUPERCRIT®

Les fluides supercritiques sont exploités depuis longtemps en pharmaceutique, dans l'industrie cosmétique, dans l'industrie pétrolière et agro-alimentaire (caféine, théine, parfums...). Les manipuler dans le cadre du traitement de greffons osseux est plus récent (54). Le procédé permettant l'extraction des lipides a été décrit par Fages et al. en 1994 en réponse à une volonté de limiter l'utilisation de solvants organiques. Au dessus d'une pression critique et d'une température critique, les composés purs (tel que le dioxyde de carbone qui est le plus utilisé) ne sont ni gazeux ni liquides. Ils sont dans un troisième état physique appelé "fluide supercritique" (49, 55).

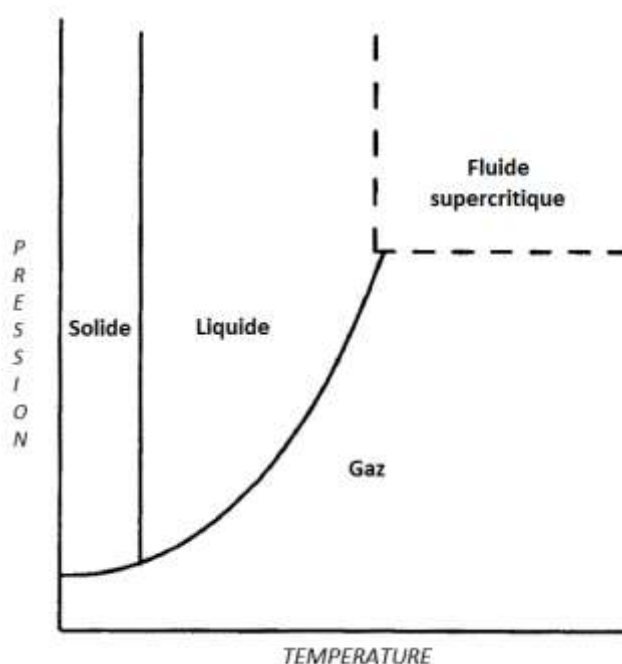


Figure 13. Diagramme Pression-Température pour obtenir un composé pur selon Fages (55)

Grâce à leurs propriétés physicochimiques de densité de diffusion et viscosité, les fluides supercritiques sont utilisés en remplacement des solvants :

- ❖ Des propriétés proches de celles de l'eau : Comme les liquides, ils présentent une haute densité et par conséquent un pouvoir solvant élevé pouvant être modulé en variant simplement la pression ou température de travail (49, 55).
- ❖ Des propriétés proches de celles des gaz : Avec leur très basse viscosité et leur coefficient de diffusion particulièrement élevé, ils présentent l'avantage de pouvoir se propager au sein de tissus poreux tels des éléments gazeux, et bien mieux que des liquides (49, 55).

Les fluides supercritiques sont particulièrement efficaces dans l'extraction de composés piégés dans une matrice solide et poreuse comme de l'os : Dans le tissu médullaire il existe un grand nombre de lipides difficiles à extraire au moyen de solvants liquides en raison de leur faible mouillabilité. Cependant, ils peuvent être aisément et complètement extraits grâce à la technologie des fluides supercritiques, capables de solubiliser des substances lipophiles (49). Leur utilisation pour éliminer les graisses est une méthode ayant fait ses preuves depuis plus de 15 ans. Selon une étude de Li et al. de 2007, cette dernière serait plus efficace que les traitements classiques par solvants (56). De plus, les résultats des études montrent son efficacité à inactiver les virus des têtes fémorales à un niveau similaire aux autres méthodes plus traditionnelles (49). Il a été démontré que le degré d'inactivation est fonction du temps d'exposition ainsi que du couple pression/température appliqué (52). Néanmoins, les mécanismes d'inactivation virale sont peu connus (52). Outre ses propriétés virucides, Spilimbergo et al. et Russell et al. lui prêtent également des propriétés bactéricides (52, 57).

#### *2.1.1. Délipidation au CO<sub>2</sub> supercritique*

L'utilisation d'un composé tel que le dioxyde de carbone sous forme supercritique apolaire fournit un procédé sûr et efficace car il est connu pour être à la fois non toxique pour les tissus et un excellent solvant pour les lipides (49). Ce solvant étant sélectif (il solubilise plus ou moins certaines molécules selon les conditions), le laboratoire BIOBank® a étudié la solubilité des lipides dans le CO<sub>2</sub> supercritique selon des couples pression/température donnés. Le rendement de l'extraction est conditionné par :

- ❖ La solubilité des lipides dans le CO<sub>2</sub> supercritique
- ❖ Le temps de diffusion du CO<sub>2</sub> supercritique à travers l'os



### Objectifs :

- ❖ Elimination des lipides
- ❖ Elimination virale et bactérienne
- ❖ Réduction de l'antigénicité par destruction des antigènes membranaires
- ❖ Absence de toxicité
- ❖ Restriction de la durée d'action des produits lors des étapes suivantes

### Méthodes (55) :

Une usine pilote (Separex® à Champigneulle en France) a permis la mise en oeuvre du procédé en travaillant avec BIObank® pour développer une machine permettant l'extraction et la séparation des lipides. Cette entreprise propose des services de développement et traitement de produits utilisant la technologie supercritique.

Les allogreffes osseuses sont chargées dans des autoclaves résistants à la pression et fermés de façon étanche.



Une pompe à membrane métallique puise le CO<sub>2</sub> liquide qui est sur-refroidi dans un condenseur pour le maintenir liquide. Le système pressurise le CO<sub>2</sub>, puis le liquide est chauffé à température d'extraction dans un échangeur chaud : Le débit de CO<sub>2</sub> supercritique est alors maintenu à 2kg/heure sous une pression de 250 à 260 bars à environ 50°C.



L'extracteur permet alors le passage du solvant supercritique à travers les os. Grâce à ses propriétés de diffusion et sa viscosité proche de celle d'un gaz, le CO<sub>2</sub> supercritique dissout les lipides contenus dans les travées osseuses jusqu'à saturation. La durée de cette étape est de 10 minutes pour chaque gramme d'os traité.



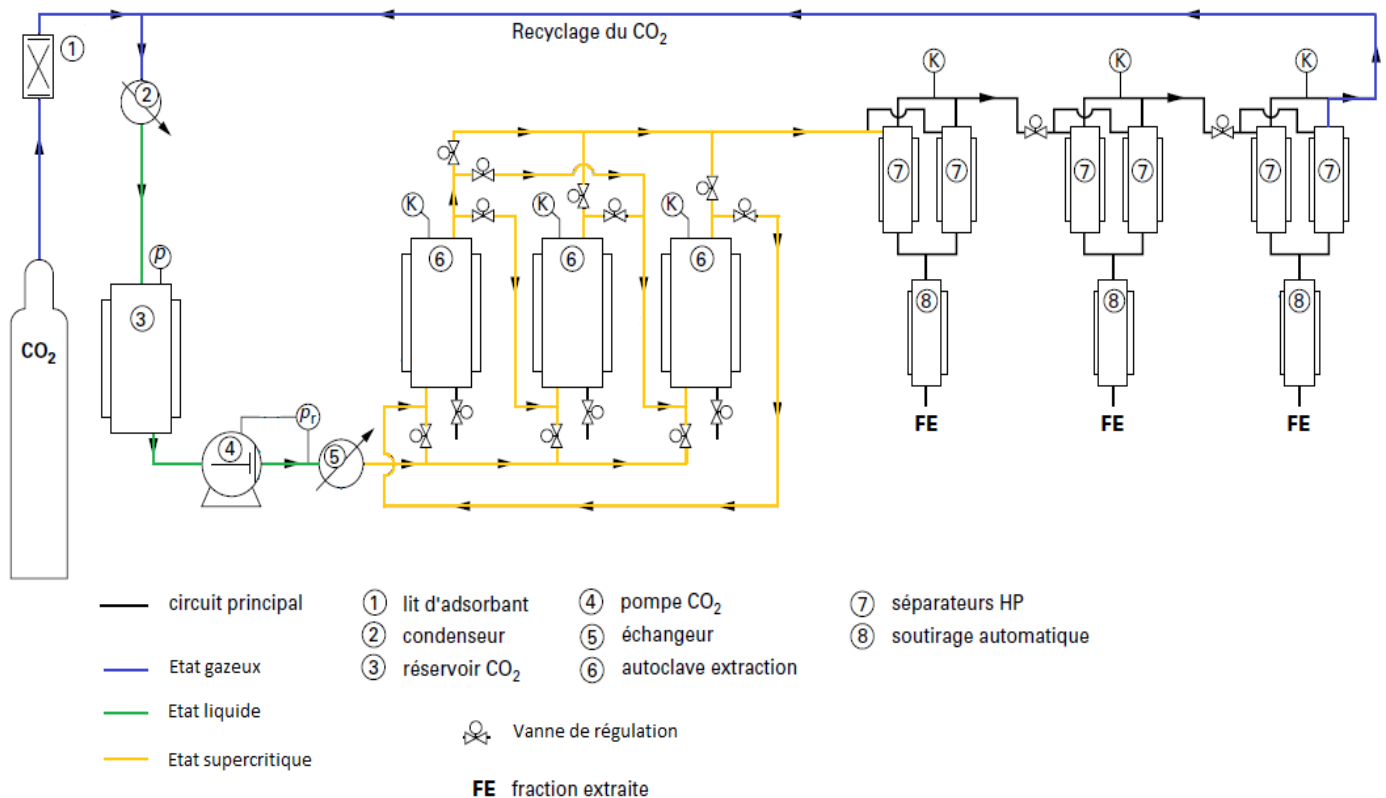
Après extraction des lipides, le fluide saturé passe à travers trois cuves de séparation thermostatiques dans lesquelles la pression est réduite de manière échelonnée.



À la sortie du dernier séparateur, le CO<sub>2</sub> se trouve à l'état gazeux (car à pression atmosphérique) et les lipides à l'état liquide.



Lorsqu'il est ramené en entrée de machine et de nouveau condensé, cela permet au cycle de tourner de manière continue.



**Figure 14. Schéma de procédé d'une installation industrielle d'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique**

### 2.1.2. Avantages

L'utilisation de fluide supercritique, en particulier le CO<sub>2</sub>, présente de nombreux avantages :

- ❖ Les composants non polarisés ainsi que les lipides sont solubles dans le CO<sub>2</sub> supercritique (55). Il permet une délipidation en profondeur de l'os poreux. Quelle que soit sa dimension, le fragment osseux est totalement dégraissé avec une teneur résiduelle en lipides inférieure à 0,1% (34).
- ❖ Cet élément naturel, outre son absence de toxicité, n'est ni inflammable, ni corrosif (55).
- ❖ Il détruit virus et bactéries tout en préservant la trame minérale et collagénique de l'os (34). En effet, la forte pression nécessaire à l'état supercritique du CO<sub>2</sub> suivie de la dépressurisation de fin de cycle engendre un éclatement des cellules à l'intérieur desquelles il a pénétré grâce à sa diffusibilité. Ce phénomène s'explique par le fort coefficient de dilatation du CO<sub>2</sub> au moment de son retour à l'état gazeux.

- ❖ Facilement disponible et peu onéreux, il est également recyclable (55).
- ❖ Son retour à l'état gazeux à pression atmosphérique et température ambiante assure une absence de résidus toxiques au sein du greffon osseux (55).

Trois étapes supplémentaires sont cependant requises pour parfaire le traitement de l'os au CO<sub>2</sub> supercritique (49) :

- ❖ L'utilisation du peroxyde d'hydrogène afin d'éliminer les débris protéiques et cellulaires
- ❖ L'hydroxyde de sodium afin d'inactiver les prions potentiels
- ❖ L'éthanol pour le nettoyage final et ses propriétés virucides

Grâce au nettoyage en profondeur du greffon osseux par le CO<sub>2</sub> supercritique, la durée d'action de ces étapes de finition est grandement réduite.

Le tissu osseux animal traité par ces quatre étapes a été décrit comme rapidement ostéointégré tout en conservant ses propriétés mécaniques (49). De plus, cette étape entraîne une réduction de la charge virale dans le greffon préalablement chargé en virus (notamment VIH) ce qui augmenterait la sécurité du greffon (49). On ne peut pas transposer exactement ces résultats pour des greffons provenant de donneurs humains infectés.

Selon Vastel et al., qui ont conduit une récente étude comparative sur les propriétés osseuses après différents traitements, le procédé Supercrit® est le seul des trois procédés étudiés ici à préserver au maximum les propriétés architecturales et structurales de l'os (58).

### *2.1.3. Inconvénients*

- ❖ Cette méthode nécessite un investissement initial très onéreux.
- ❖ Le traitement des allogreffes nécessite une forte consommation d'énergie pour maintenir des conditions de pression et température particulières.
- ❖ Certaines molécules, notamment les polaires, sont moins solubles dans le CO<sub>2</sub> supercritique que certains solvants, et nécessitent donc un temps d'extraction plus long. Il

est cependant possible d'ajouter au système un solvant polaire à hauteur de 15-20% en masse de CO<sub>2</sub> dans des conditions particulières.

## **2.2. Procédé TUTOPLAST®**

Le procédé Tutoplast® a été développé à la demande de chirurgiens allemands à la fin des années 60 comme alternative à la lyophilisation (50). Initié par Tutogen Medical® en Allemagne, il traite les têtes fémorales d'origine humaine prélevées sur donneurs issus de la communauté européenne. Il a pour but l'obtention d'allogreffes viro-inactivées et stérilisées appelée Puros® (59). Ces dernières étaient initialement commercialisées par le laboratoire Zimmer, mais depuis peu ce dernier a décidé de ne plus relancer ce produit en France aux vues des lourdeurs administratives (Mr Laurent R. directeur marketing, communication personnelle, décembre 2014) .

### *2.2.1. Acétone*

La première étape du traitement osseux par procédé Tutoplast® débute par l'utilisation d'acétone pure et d'ultra-sons.

#### Objectifs (60)(61) :

- ❖ Eliminer des lipides (60, 61).
- ❖ Inactiver les virus enveloppés (notamment VIH et VHB) (60, 61).
- ❖ Réduire de 2 log<sub>10</sub> l'activité des prions (61).
- ❖ Favoriser la pénétration des produits lors des étapes suivantes (60).

#### Méthodes (46)(60)(62)(63) :

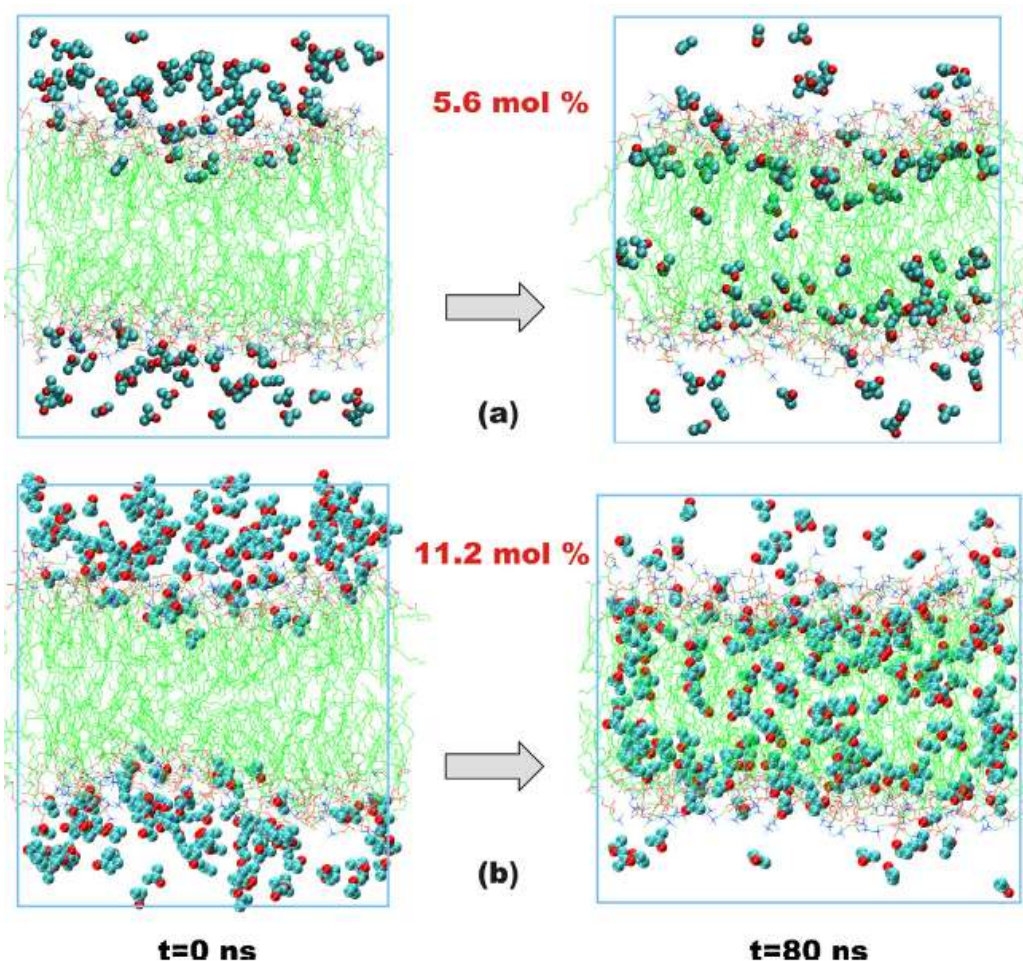
Les greffons osseux sont rincés dans les bains d'acétone sous ultra-sons durant 10 minutes à température ambiante (46, 60).



**Figure 15. Représentation d'une molécule d'acétone selon Posokhov et al.(63)**

**La molécule présente deux groupes méthyles. C'est la présence de sa double liaison carbone = oxygène qui la rend réactive.**

L'acétone est un solvant aprotique polaire aux propriétés physicochimiques particulièrement favorables à la délipidation, notamment les lipides apolaires hydrophobes (cholestérols, esters de cholestérol, triglycérides et acides gras) (62). Cependant, son mécanisme d'action moléculaire sur les membranes lipidiques reste peu documenté et mal compris. Il serait admis que l'acétone, en perturbant la perméabilité de la barrière membranaire et en s'y accumulant, faciliterait le passage de solvants dans et à travers la bicouche phospholipidique de celle-ci (63).



**Figure 16. Représentation de l'accumulation de l'acétone dans la bicouche phospholipidique selon Posokhov et Kyrchenko (63).**

Sur la figure 16, les chaînes lipidiques hydrophobes sont représentées en vert. Les schémas en (a) représentent l'accumulation de molécules d'acétone d'une solution concentrée à 5,6 % dans la bicouche lipidique en 80 nanosecondes. Les changements apportés sont faibles. Les schémas en (b) représentent l'accumulation de molécules d'acétone d'une solution concentrée à 11,2 % dans la bicouche lipidique en 80 nanosecondes. À cette concentration, une légère diminution de l'épaisseur de la membrane a été observée. Comme le montrent ces figures, la plupart des molécules d'acétone sont initialement liées à la région interfaciale de la bicouche puis viennent se lier profondément dans la couche hydrophobe (63). Leur proximité avec les groupes carbonyles des molécules lipidiques en font des éléments d'espacement en poussant les têtes lipidiques. De ce fait, l'acétone rend la bicouche lipidique moins rigide et entraîne une plus grande instabilité des lipides (63). L'utilisation de faibles concentrations d'acétone perturbe peu la structure de la membrane. À une teneur en acétone supérieure à 11,2 %, des désordres drastiques de la bicouche ont été observés (63).

### 2.2.2. Avantages

La validation des études portant sur l'inactivation virale au cours du processus de traitement Tutoplast® a été menée par l'institut Pasteur Texcell, créé en 1987 dans le but de répondre aux besoins de l'industrie concernant la réglementation internationale sur la sécurité virologique des produits dérivés du sang (46). Quatre étapes ont été étudiées dont trois d'entre elles considérées comme théoriquement capables d'inactiver les virus (46) :

- ❖ Le bain d'acétone sous ultra-sons durant 10 minutes
- ❖ Le traitement par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pendant 72h
- ❖ La déshydratation par acétone durant 24h

Le lavage dans une solution à 10% de NaCl étant seulement capable théoriquement d'éliminer les virus mais pas de les inactiver.

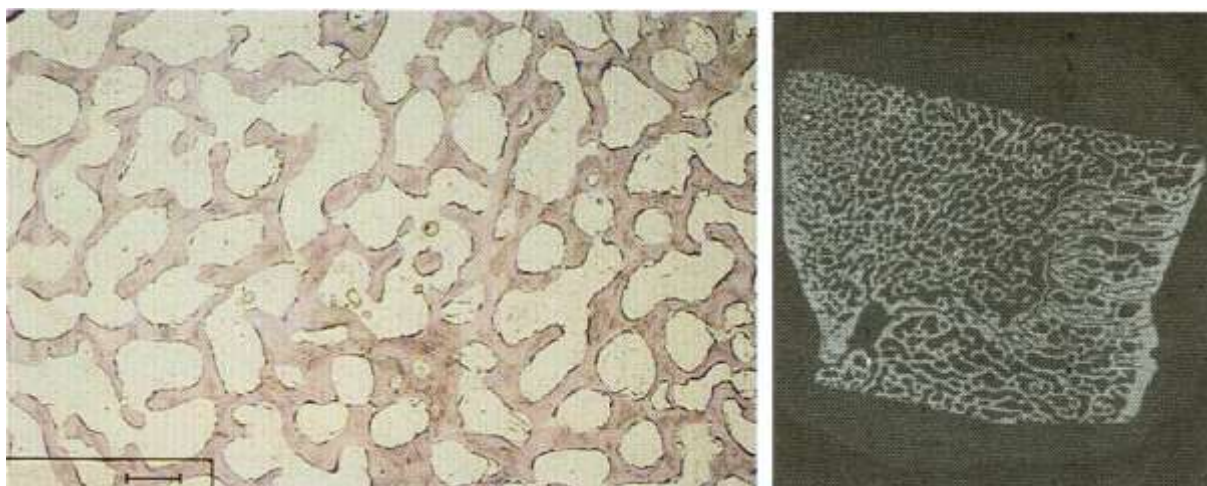
Ainsi le procédé Tutoplast® ne semble pas sujet à la transmission de virus : inactivation des virus par l'acétone et le peroxyde d'hydrogène, et élimination mécanique par lavage avec les bains de NaCl.

Dans une étude rétrospective sur 14 ans basée sur des résultats cliniques, Vargel et al. ont étudiés l'incorporation de greffons osseux Tutoplast® dans des défauts de la voûte crânienne. Les auteurs ont observé un taux de réussite satisfaisant et selon eux, ce processus de

traitement et de stérilisation diminuerait le risque de transmission de maladies sans compromettre l'incorporation et la qualité de l'allogreffe (45, 64).

Parmi les greffons traités par ce procédé, aucun signe d'infections telles que VIH ou hépatite B n'a été détecté, et une capacité d'inactivation virale supérieure à  $10 \log_{10}/\text{cm}^3$  de tissu lui est associée (50). Il fut le premier procédé validé pour contribuer à l'inactivation des prions (50).

D'excellents résultats cliniques au long terme en chirurgie orale, comparables à ceux d'autogreffes, témoignent d'une bonne compatibilité avec les fibroblastes et ostéoblastes ainsi qu'un total remodelage dans les zones greffées (50).



**Figure 17. Coupe histologique issue du livre 3D Block Technique (50) : Histologie d'un greffon osseux humain traité par procédé Tutoplast® après 6 mois d'implantation : Le défaut osseux est fermé par la néoformation d'os spongieux et le substitut osseux est complètement remplacé. Le nouvel os formé peut être différencié par la taille des trabéculations ainsi que par leur organisation.**

### *2.2.3. Inconvénients*

- ❖ Une étude menée par Vastel et al. en 2003 a permis d'évaluer les effets de certaines méthodes de traitements sur les propriétés mécaniques et biologiques de l'os allogénique. Pour cela, la vitesse de propagation d'ondes ultrasonores dans des échantillons a été mesurée et une machine de mesure de compression et traction a été utilisée. Chaque donnée obtenue a été comparée aux échantillons avant traitement. Ces mesures ont révélé une détérioration de 2,5% de ces propriétés lors de l'extraction des lipides avec 50mL



d'acétone pure durant 17 heures dans deux bains successifs et utilisation d'alcool (65). On peut donc déduire de cette étude un effet délétère relatif du solvant cétonique sur les propriétés mécaniques et biologiques des allogreffes osseuses.

- ❖ De plus, l'acétone est connu pour être un produit néfaste pour l'environnement de par sa synthèse et son utilisation.

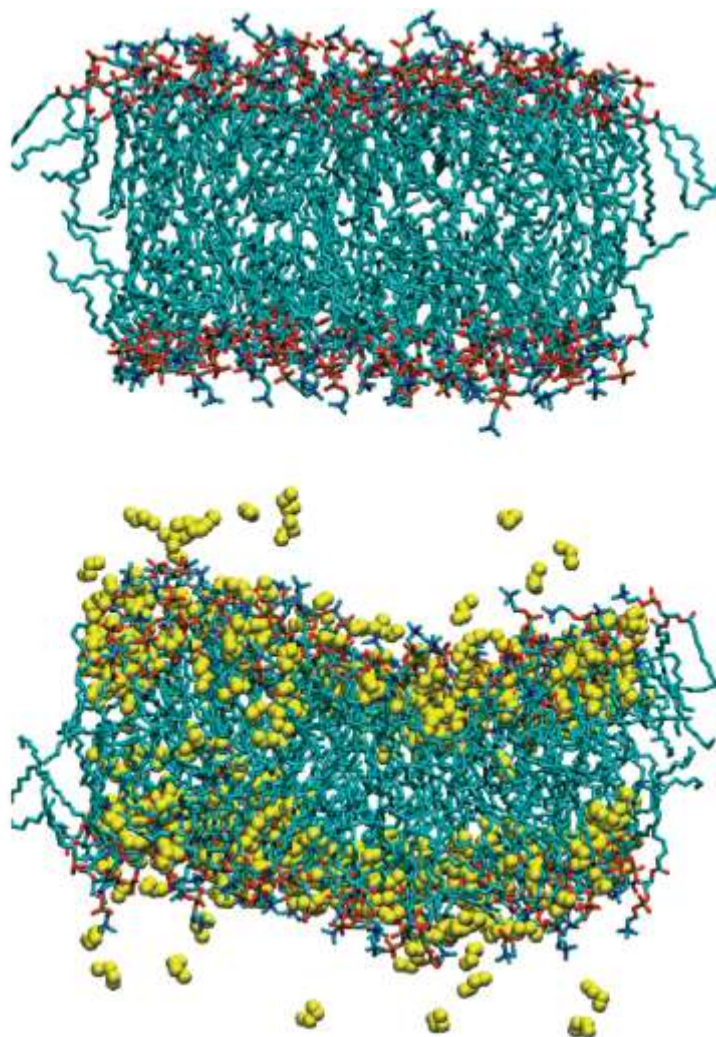
### **2.3 Procédé PHOENIX®**

Depuis 1992, la banque de tissus lyonnaise TBF Génie Tissulaire® exploite des têtes fémorales provenant de plus de 150 Établissements de Santé en France et issues de donneurs vivants. Pour assurer la sécurité de leurs greffons, le procédé Phoenix® leur est appliqué. Ce dernier utilise des solvants tels que l'éthanol et le chloroforme pour la délipidation et l'inactivation de virus enveloppés (tels que VIH ou VHB). Ces solvants, en détruisant la membrane des cellules, entraînent une mise à nu des protéines suivie de leur coagulation (66). Ce procédé est validé par le CNRS (Centre National de Recherche Scientifique) et l'institut Pasteur Texcell.

#### *2.3.1. Ethanol et chloroforme*

- ❖ Ethanol

Selon Gurtovenko et Anwar, une concentration inférieure à 30,5 % v/v d'éthanol entraînerait une dilatation de la membrane, une diminution d'épaisseur ainsi que des désordres des chaînes d'acyles des lipides (68). Cependant la bicouche lipidique de la membrane est toujours maintenue et Chanda et Bandyopadhyay ont démontré que seuls de faibles changements dans la bicouche lipidique des membranes et des chaînes d'hydrocarbure ont été observés (67). À des concentrations supérieures (idéalement un ratio de 1:1 lipide : éthanol) l'éthanol présente une affinité pour les chaînes acyles et les groupes phosphocholines (63, 67). En présence d'éthanol, la dynamique des lipides est modifiée et les mouvements de rotation et translation des têtes lipidiques est plus rapide (67). Cet effet est majoré lorsque les bicouches sont insaturées (63).



**Figure 18 : Représentation de l'action d'une solution à 5% d'éthanol (en jaune) avec les structures lipidiques (en bleu ciel) d'après Gurtovenko et Anwar (68).**

#### ❖ Chloroforme

Le chloroforme est utilisé en association à l'éthanol, qui joue le rôle de stabilisant. L'action solvante du premier est combinée à l'action dissociante du second, permettant de désorganiser les membranes lipidiques (69, 70). L'analyse structurale de celles-ci révèle que l'interaction du chloroforme avec le cholestérol est principale responsable de cette désorganisation en déréglant sa chaîne solide (69).

#### 2.3.2. Avantages

- ❖ Il a été constaté expérimentalement que l'association de solvants organiques tels l'éthanol, le chloroforme... déstabilisent la structure membranaire de façon à rendre celle-ci plus mince et augmenter la surface de têtes lipidiques (63).

- ❖ Prolo et al. ont testé les effets d'un traitement au chloroforme et autres produits chimiques sur l'intégration d'une allogreffe osseuse. Ils ont démontrés que les greffons traités chimiquement avaient une capacité de remodelage supérieure à ceux non traités ou seulement irradiés (45).
- ❖ Les virus de l'hépatite B et de l'hépatite C étant entourés par une enveloppe lipidique, l'action combinée de ces solvants est efficace dans leur inactivation (71).

### *2.3.3. Inconvénients*

- ❖ Selon l'étude menée par Vastel et al. en 2003 citée précédemment, la mesure de la vitesse de propagation d'ondes ultrasonores au sein des échantillons osseux a révélé une détérioration de 2,5% des qualités mécaniques et biologiques de ceux-ci lors de l'extraction des lipides avec de l'alcool et de l'acétone (65).
- ❖ Katz a démontré qu'une réponse immunitaire peut se produire même après retrait de la moelle osseuse par délipidation et lavage à l'éthanol seul (45).

## **3. Peroxyde d'hydrogène**

### Objectifs :

- ❖ Elimination des protéines solubles (61)
- ❖ Inactivation des virus enveloppés et non enveloppés (50, 61)
- ❖ Destruction des virus non enveloppés (61)
- ❖ Destruction des spores bactériennes (61)

### Principes :

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) a longtemps été utilisé comme agent de blanchiment puis découvert comme potentiellement virucide et bactéricide grâce à sa capacité à former des radicaux libres (44). Cette étape oxydative permet de dénaturer les résidus de protéines non collagéniques (tels que les résidus non lipidiques et débris cellulaires) éliminant ainsi toute antigénicité résiduelle (55) alors que le collagène insoluble n'est quant à lui pas affecté

(50). L'utilisation de peroxyde d'hydrogène est alors susceptible d'endommager les BMP et ainsi l'ostéoinductivité du greffon. DePaula et al. ont démontré que le temps d'exposition à ce composé chimique oxydant diminue le potentiel ostéoinductif des greffons d'os cortical (72). L'ostéoinductivité de l'os cortical est ainsi préservée si l'exposition au peroxyde d'hydrogène à 3% est inférieure à soixante minutes (44, 72). Les propriétés mécaniques ne semblent, quant à elles, pas affectées (52).

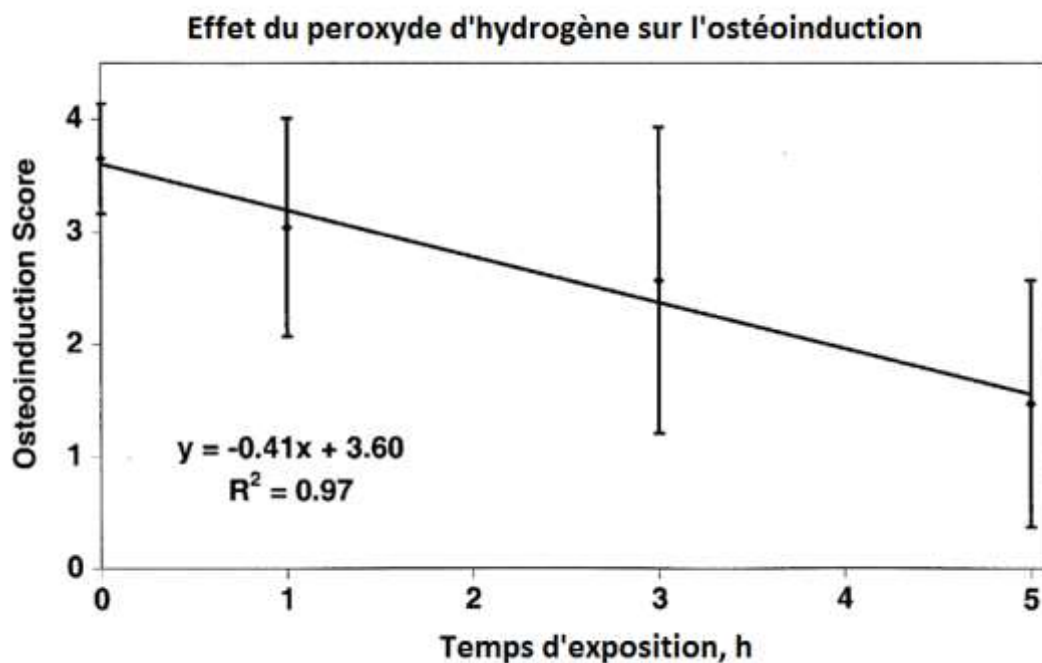
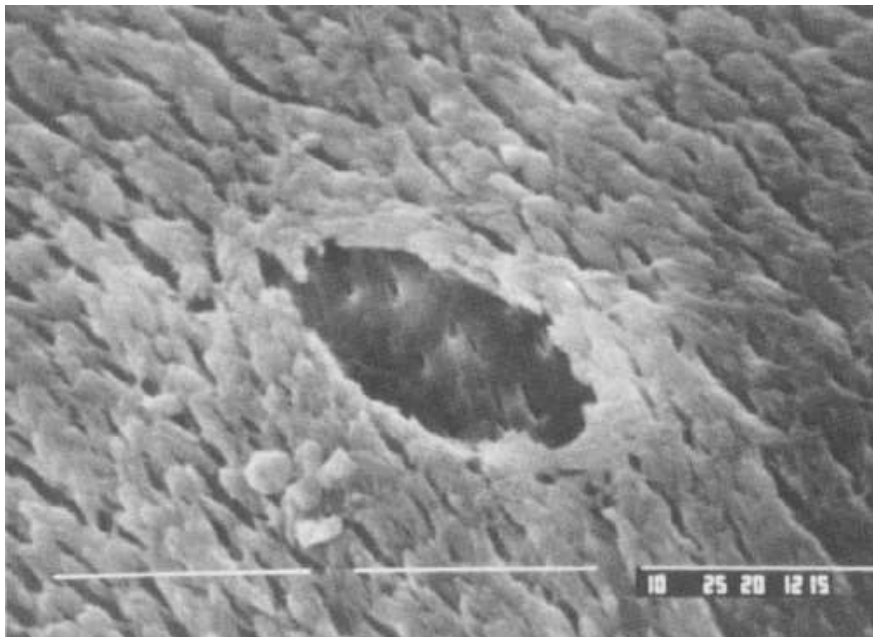


Figure 19 : Effet de l'exposition au peroxyde d'hydrogène sur l'ostéoinduction. D'après DePaula et al. (72)

C'est ici que les virus enveloppés (tel le VIH) et non enveloppés (tel le virus de l'hépatite A) sont inactivés (50, 61). Seuls les virus non enveloppés ainsi que les spores bactériennes sont détruits (61). La stérilisation bactérienne est obtenue à l'étape finale d'irradiation à dose habituelle de 25kGy si l'os a été correctement géré avant sa stérilisation finale (13). Toutefois cette dose n'est pas virucide pour le VIH pour lequel la prévention des risques de transmission doit s'appuyer sur les procédures de sélections des donneurs et sur les traitements d'inactivation, par exemple avec de l' $H_2O_2$  (13).

❖ Le procédé Supercrit® :

Après l'étape de délipidation aux fluides supercritiques, ce procédé utilise une solution à 35% de  $H_2O_2$  durant 2 heures à 40°C (54, 49). Selon Russell et al. l'association du  $CO_2$  supercritique suivie du peroxyde d'hydrogène n'altère pas les propriétés mécaniques d'un greffon d'origine bovine (52). D'après lui, l'action du fluide supercritique suivie de l'utilisation d'un agent sporicide et bactéricide tel que le peroxyde d'hydrogène améliore l'efficacité du traitement en permettant l'utilisation de pressions moins élevées et une exposition réduite (52).



**Figure 20. Image de microscopie électronique montrant une lacune ostéoplastique vide dans laquelle était emmuré un ostéocyte. Le traitement au  $CO_2$  supercritique et au peroxyde d'hydrogène a permis d'éliminer les débris cellulaires à la surface osseuse (55).**

❖ Le procédé Tutoplast® :

Ce dernier utilise deux étapes de traitements à 3% de  $H_2O_2$ , la première dure 24 heures alors que la seconde dure 72 heures. (46).

❖ Le procédé Phoenix® :

Ce procédé utilise une étape de traitement au  $H_2O_2$  de 19 heures (58). La concentration du  $H_2O_2$  est conservée par le laboratoire.

## **4. Traitements chimiques complémentaires:**

### ***4.1. Procédé Supercrit® : Soude molaire Na(OH)***

#### Objectifs :

- ❖ Inactivation des Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC)

#### Méthodes :

La soude est une solution issue de la dissolution de l'hydroxyde de sodium qui est un produit cristallisé. Cette étape d'immersion, conformément aux recommandations internationales, est spécifique de l'inactivation des prions notamment l'agent responsable de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (64). Celle-ci peut aller jusqu'à  $6 \log_{10} / \text{cm}^3$  de tissu. Le nettoyage à l'aide d'une solution saline entraîne une destruction osmotique des cellules par augmentation de leur osmolalité et ainsi leur lyse par expansion volémique (64). Pour que la pénétration du produit dans l'os soit totale, et plus particulièrement dans la corticale, le traitement devrait prendre de nombreuses heures voire plusieurs jours. Cela signifierait une exposition plus longue des zones périphériques de l'os ainsi qu'un affaiblissement de collagène au cours du temps. Ainsi, un traitement aussi long se traduirait par une diminution de la résistance biomécanique car le collagène contribue à environ 70% à la résistance à la compression et à près de 100% de l'élasticité. En réalité, le traitement de petits fragments osseux nécessite une exposition moindre et abouti à une perte de résistance à la compression de seulement 15% (50) : comme décrit par l'instruction applicable au 1er janvier 2012 de la Direction Générale de la Santé : " L'immersion dans la soude molaire à 1 N (soit 1mol/L) pendant 60 minutes à température ambiante" permet une inactivation totale des Agents Transmissibles Non Conventionnels (73).

Le procédé Supercrit® utilise une solution à 1mol/L de NaOH durant 1 heure à 20°C (49). Les greffons sont alors neutralisés dans une solution aqueuse de dihydrogénophosphate de sodium, encore appelé phosphate de sodium monobasique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) à 12g/L durant 30 minutes (54).

Les procédés Phoenix® et Tutoplast® n'utilisent pas cette étape pour les greffes osseuses, de façon à préserver leur structure et leurs propriétés biomécaniques. Elle est cependant effectuée dans le cadre du traitement Tutoplast® de tissus mous tels que le péricarde, derme, fascia lata...(50, 60,61).

#### **4.2. Procédé Tutoplast® : Traitement osmotique par lavages successifs**

Objectifs : (50)(60)(61)

- ❖ Destruction des membranes cellulaires permettant ainsi l'élimination des bactéries(60, 61)
- ❖ Elimination des débris cellulaires(60, 61)
- ❖ Suppression de l'antigénicité(60, 61)
- ❖ Exposition des virus potentiellement contenus dans les cellules, les rendant accessibles aux étapes suivantes(50, 61)

Méthodes : (45)(46)(50)(60)(61)(74)

Les greffons sont traités par de multiples lavages successifs dans une solution hyper-osmolaire de chlorure de sodium (NaCl) à différentes concentrations (46, 50, 60). Cette étape permet d'éclater les cellules et ainsi réduire l'antigénicité qui est principalement portée par les protéines des membranes cellulaires. De plus les bactéries sont aussi détruites (50, 61).

Van der Donk et al.ont analysé histologiquement la croissance osseuse après rinçage des greffons dans une solution saline sous haute pression. À 6 semaines, les auteurs ont observé que l'incorporation des allogreffes pouvait être améliorée par ce type de rinçage et pouvait entraîner une intégration similaire à celle des autogreffes (45, 74).

#### **4.3. Procédé Phoenix® : Hypochlorite de sodium**

Comme décrit par l'instruction applicable au 1er janvier 2012 de la Direction Générale de la Santé : " L'immersion dans l'hypochlorite de sodium à la concentration de 2% de chlore actif , soit une quantité de chlore actif de 20,4 g/L (eau de Javel à 20 000 ppm) pendant 60 minutes à température ambiante" permet une inactivation totale des ATNC (73).

Le procédé Phoenix, quant à lui, utilise un bain d'hypochlorite de sodium à 2% de chlore actif durant 2 heures à pression atmosphérique pour l'inactivation des prions (42, 58).

## **5. Procédés de conservation de l'os :**

Les principaux moyens de préserver l'os sont :

- ❖ Le froid
- ❖ La lyophilisation
- ❖ La déshydratation

### ***5.1. Froid***

La conservation de greffes à basse température fut observée en 1867 par Ollier puis véritablement considérée comme efficace sur les tissus en 1912 grâce à Alexis Carrel (66). La congélation de  $-40^{\circ}\text{C}$  à  $-196^{\circ}\text{C}$  fait passer l'eau contenue dans le greffon à l'état solide isolant ainsi les liaisons hydrogènes des réactions chimiques. L'azote liquide (à  $-196^{\circ}\text{C}$ ) permet quant à elle une plus grande conservation des tissus mais nécessite une infrastructure onéreuse (13,66). Reikeras et al. ont montré qu'à 4 mois chez le rat, la congélation ne présentait aucun effet délétère sur la résistance à la torsion du greffon osseux, son immunogénicité, sa rigidité ou encore sa densité minérale (45, 75, 76). Ce procédé est généralement utilisé dans les banques de tissus de l'appareil locomoteur (66), mais pas dans le cadre de la dentisterie.

### ***5.2. Lyophilisation***

Elle implique un processus de sublimation nécessitant une congélation à  $-80^{\circ}\text{C}$  sous une pression négative. L'eau contenue dans le greffon passe ainsi directement de l'état solide à l'état gazeux (66) : cela permet une conservation des greffons d'environ 5 ans (selon les normes européennes) sans dénaturer ses constituants, ainsi qu'un taux d'humidité résiduel inférieur à 5% du poids final (77). Il a été démontré que cette technique, très onéreuse, ne nuit pas à la potentielle capacité ostéoinductrice de l'allogreffe mais entraînerait une perte de résistance à la torsion (66, 77). La légère fragilité mécanique engendrée explique que cette technique soit plus utilisée pour les éléments de petites tailles que pour les greffons massifs (79). Leur utilisation reste toute indiquée en chirurgie parodontale (79).



Les résultats de l'étude Boyce et al. ont permis de démontrer que cette étape n'est pas efficace pour l'inactivation des virus suivants : VIH, VHB, VHC, CMV, polio, et doit donc être nécessairement complétée par les étapes précédentes (78).

Il est recommandé d'utiliser l'os lyophilisé pour les petits défauts inférieurs à 5cm<sup>3</sup>. Il présente un avantage logistique permettant en outre le stockage du tissu à température ambiante (13).

Cette technique de conservation est utilisée par le procédé **Phoenix®**.

### **5.3. Déshydratation**

Elle nécessite l'usage d'agents chimiques. Certains fabricants estiment que cette méthode préserve d'avantage la structure minérale que la lyophilisation, engendrant un matériau plus ostéoconductif.(21) Ainsi, le procédé **Tutoplast®** utilise l'acétone pour ôter l'eau des tissus, alors que le procédé **Supercrit®** utilise l'éthanol (80).

#### ❖ Déshydratation par acétone (Tutoplast®) (46)(50)(60)(61):

Les tissus sont placés sept fois dans un bain d'acétone pure durant environ 24 heures (46, 60). Cette étape permet à la fois d'extraire l'eau contenue dans ceux-ci mais également d'éliminer les agents pathogènes résiduels tels que les prions (50, 60, 61). Celle-ci permet également d'inactiver les virus enveloppés, propriétés propres à l'acétone comme décrit dans l'étape de délipidation (61). Le solvant s'évapore ensuite à température ambiante : Cette étape entraîne une teneur en eau résiduelle inférieure à 5% au sein des greffons, n'entraîne pas de résidus délétères et n'affecte pas sa biomécanique (50, 60).

#### ❖ Déshydratation par éthanol (Supercrit®) :

Le procédé Supercrit® termine par une étape de traitement à l'éthanol où les greffons sont immergés dans une solution aqueuse contenant 95 à 96% d'éthanol durant 3 heures à 20°C (49), puis dans une solution à 99% durant 2 heures (54). En raison de la déshydratation induite, l'os devient plus fragile et sa ténacité s'en trouve réduite, que l'os ait ou non été traité par fluide supercritique (52).

L'éthanol, l'acétone et l'éther sont souvent utilisés pour leur propriété d'inactivation de virus enveloppés comme le VIH ou VHC, ainsi que de l'agent responsable de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (64, 71).

L'éthanol est un additif particulièrement utilisé dans le traitement des allogreffes osseuses pour sa particularité à dissoudre les lipides (71).

## **6. Réduction secondaire de taille**

A ce stade, les greffes osseuses sont pratiquement stériles et sont composées uniquement de leur matrice extra-cellulaire. Celle-ci est biochimiquement et biomécaniquement presque inchangée et sans résidus tels que des débris organiques (50). Les tissus peuvent maintenant être découpés et façonnés à leur taille finale : sous forme de particules (de 0,25 à 2mm), de blocs ou de cylindres de quelques millimètres. Dans tous les cas, la taille des pores est de plusieurs centaines de micromètres de façon à assurer une bonne revascularisation par une porosité adéquate du produit (50, 30).

La taille des particules affecte non seulement la surface de contact mais également les caractéristiques de conditionnement des matériaux, et présente un rôle majeur dans l'interaction avec les cellules ostéogéniques (30). Plus la surface de contact est élevée, plus il y aura d'interactions avec les cellules cibles de l'hôte (21).



**Figure 21. Produit fini d'allogreffe d'os humain sous forme particulaire (44)**

## En odontologie:

Lorsque le DFDBA est utilisé sous forme particulaire, la taille des particules apparaît comme une variable importante dans le succès du potentiel ostéo-inductif. En effet, l'os déminéralisé permet l'exposition des protéines ostéoinductives, les BMP, contenues dans la corticale de l'os. Plus la taille des particules est petite, plus la surface de contact est augmentée, potentialisant l'action des BMPs. Cependant si celles-ci sont trop petites, elles provoquent une réponse des macrophages et sont trop rapidement résorbées sans libération de BMP et avec très peu voire sans formation osseuse. Il faut donc trouver un compromis adéquat. Ainsi, on peut dire que celles de l'ordre de 125 à 1000 microns possèdent un potentiel ostéoinductif plus élevé que celles entre 100 et 300 microns (21, 44).

### Point important :

C'est à ce stade que l'os peut être décalcifié (DFDBA) à l'aide d'acide chlorhydrique à 0,6N puis rincé dans une solution tampon de phosphate de sodium qui élimine l'acide résiduel. Cette étape permet à la fois d'extraire le calcium de la matrice ainsi que d'exposer les protéines ostéoinductives (21, 44). Elle n'est pas nécessaire si seul du FDBA est recherché, notamment pour sa stabilité structurelle comme vu précédemment (21).

Il est important de noter que les éléments sanguins de l'os décalcifié sont efficacement éliminés par les solutions de traitements précédemment décrits qui pénètrent la matrice (cet os est surtout utilisé en France). À contrario, les allogreffes minéralisées (très prisées aux Etats-Unis) présentent une architecture plus complexe avec de potentiels réservoirs de virus VIH, VHB et VHC (notamment les espaces entre travées osseuses et vaisseaux sanguins y compris les canaux de Havers et Volkmann de l'os cortical) (78).

## **7. Conditionnement sous vide**

Les prélèvements d'échantillons de références (qui seront conservés durant un minimum de 15 ans) ainsi que les greffes osseuses sous forme anatomiques et géométriques sont conditionnés sous double emballage (50, 61). Les copeaux et granules, quant à eux sont conditionnés dans des flacons de 30 ou 50 ml (80). Le scellage effectué sous vide dans des récipients en verre protège contre la contamination et la dégradation de la matière, tout en permettant un stockage à température ambiante (21).

## **8. Stérilisation par irradiation gamma**

Les greffes osseuses, peu importe leur traitement, doivent finir stérilisées avant utilisation. Selon Delloye et Cornu, "La stérilisation répond à une définition statistique : la probabilité de détecter un microorganisme dans l'échantillon stérile doit être inférieure à une par million" (66). La méthode la plus courante est la gamma irradiation qui présente l'avantage d'être la plus pénétrante, donc de pouvoir être appliquée après que l'os ait été traité et scellé dans son emballage final (18, 72, 82).

### ***8.1. Définition***

L'irradiation consiste à exposer les greffons à des doses contrôlées de rayons durant un temps déterminé (82). Cette technique nécessite un équipement spécifique et coûteux mais présente l'avantages d'éviter le risque de recontamination du greffon (82). L'action du rayonnement électromagnétique sur la matière biologique relève du domaine des probabilités : Les collisions produites entre les particules gamma (photons de haute énergie) et les électrons orbitaux des matériaux irradiés sont aléatoires (83). Celles-ci provoquent une ionisation et ainsi la formation de radicaux libres responsables de changements biochimiques et de dommages sur la matière nucléaire des cellules (83, 84). Les principales cibles sont les acides nucléiques (ADN, ARN) des micro-organismes, qui sont sensibles aux rayonnements ionisants (84). Les dommages sont causés directement, ou indirectement par radiolyse de l'eau produisant des radicaux hydroxyles hautement

toxiques (84, 85). Ces dommages sont limités grâce aux techniques de conservations telles que la lyophilisation ou déshydratation, qui diminuent le taux d'humidité du greffon (85).

## **8.2. Quelle dose utiliser**

### ❖ Le procédé Tutoplast® :

Il utilise une irradiation gamma comprise entre 17,8 et 20,1 kGy (61). Selon Schoepf, celle-ci permet d'éradiquer toute contamination microbienne pouvant survenir au cours de la manipulation greffon lors du procédé (61). Elle réduit le risque de survie de micro-organismes au sein des greffons Puros® à un pour un million (61).

### ❖ Le procédé Supercrit® :

Il utilise une irradiation gamma de 25kGy (34).

### ❖ Le procédé Phoenix® :

Il utilise une irradiation gamma comprise entre 25 et 32 kGy (42).

Alors que l'utilisation de rayons gammas pour la stérilisation finale des allogreffes est aujourd'hui devenue un standard, la dose à utiliser est toujours controversée (86). Le cahier des charges consiste à obtenir un Niveau d'Assurance Strériorité (NAS) des greffons de  $10^{-6}$ , tout en conservant au maximum les propriétés biologiques et mécaniques de ceux-ci. Cela signifie que seulement un produit sur un million peut potentiellement être porteur d'un germe viable (50, 87). Depuis plusieurs décennies une dose de 25 kGy est recommandée pour finaliser la stérilisation des produits médicaux dont les allogreffes osseuses (86). En pratique, les doses varient d'une banque à l'autre. Alors que la plupart utilisent une dose de 25 kGy, certaines ont adopté une dose plus élevée alors qu'inversement, d'autres utilisent des doses plus faibles, dépendamment des systèmes utilisés. Ces variations ont donné naissance à des standards d'assurance qualité (86) : ainsi l'AATB, l'EAMST, l'IAEA (International Atomic Energy Agency) et les norme ISO (organisation internationale de normalisation) recommandent une dose standard de 25 kGy pour les produits médicaux ou non-biologiques (86, 87), cependant une dose moindre peut être utilisée dans les banques de tissus où le niveau de contamination et la charge microbienne, associées à des procédés

de traitements, sont relativement faibles (86, 87). De nombreuses études ont tenté de déterminer des valeurs seuils, sans réel consensus :

- ❖ Selon Schöpf et al. une dose minimum de 17,8 kGy garantit un NAS de  $10^{-6}$  (50), alors que Nguyen et al. émettent l'hypothèse que ce seuil est atteint à des doses comprises entre 10 et 15 kGy (87). Dans leurs expériences, les échantillons d'os présentant un niveau très élevé de charges microbiennes ( $10^3$ ) étaient efficacement traités par des doses de 20 à 25 kGy (87). Les échantillons inoculés à  $10^1$  voire  $10^2$  de charges microbiennes (qui correspondent aux charges microbiennes maximales atteintes après traitements primaires dans la plupart des banques d'os) ont été stérilisés à faible dose (10 kGy) (87) :

| Dose (kGy) | N  | Nombre d'échantillons positifs avant irradiation |                    |                    |
|------------|----|--------------------------------------------------|--------------------|--------------------|
|            |    | $10^3$ inoculation                               | $10^2$ inoculation | $10^1$ inoculation |
| 0          | 16 | 16                                               | 16                 | 16                 |
| 5          | 16 | 16                                               | 5                  | 0                  |
| 10         | 16 | 0                                                | 0                  | 0                  |
| 15         | 16 | 9                                                | 0                  | 0                  |
| 20         | 16 | 0                                                | 0                  | 0                  |
| 25         | 16 | 0                                                | 0                  | 0                  |
| P          |    | $<10^{-6}$                                       | $<10^{-6}$         | $<10^{-6}$         |

**Tableau 4. Effets des doses de gamma irradiation sur la croissance de *B.Pumilus* inoculé à différentes concentrations (87).**

| Dose (kGy) | N  | Nombre d'échantillons positifs avant irradiation |                    |                    |
|------------|----|--------------------------------------------------|--------------------|--------------------|
|            |    | $10^3$ inoculation                               | $10^2$ inoculation | $10^1$ inoculation |
| 0          | 16 | 16                                               | 16                 | 16                 |
| 5          | 16 | 11                                               | 5                  | 4                  |
| 10         | 16 | 2                                                | 0                  | 0                  |
| 15         | 16 | 6                                                | 0                  | 0                  |
| 20         | 16 | 0                                                | 0                  | 0                  |
| 25         | 16 | 0                                                | 0                  | 0                  |
| P          |    | $<10^{-6}$                                       | $<10^{-6}$         | $<10^{-6}$         |

**Tableau 5. Effets des doses de gamma irradiation sur la croissance de *S.epidermidis* inoculé à différentes concentration (87).**

Ainsi selon eux, grâce aux avancées des traitements utilisés dans les banques d'os, les données biologiques récentes convergent sur 15 kGy comme seuil pour la stérilisation par irradiation des allogreffes osseuses (87). Cette dose fournit un NAS acceptable et permet le maintien des propriétés et une résistance améliorée par rapport à un traitement par dose standard (87).

- ❖ Il a été déterminé qu'une dose maximale de 20,1 kGy garantit quant à elle la préservation des propriétés biomécaniques de l'os sans modification biochimique et sans affectation des protéines matricielles (50, 86).
- ❖ Selon Akkus et Rimnac, une dose de 25 kGy est insuffisante pour éliminer la totalité des micro-organismes et ils recommandent une dose allant jusqu'à 35 kGy, notamment pour inactiver le VIH.(88)

### ***8.3. Conséquences de l'irradiation gamma sur l'os***

#### ***8.3.1. Sur les propriétés structurales des greffons***

L'irradiation affaiblit la matrice structurale des greffes osseuses par formation de composants cytotoxiques (45) : l'altération de ces propriétés est largement tributaire de la dénaturation du collagène (87). En effet, dans leur étude Moreau et al. ont isolé deux à trois fois plus de lipides peroxydés dans les échantillons de têtes fémorales traitées par lavages à l'acétone et éthanol puis gamma irradiées à 25kGy que dans les têtes traitées mais non irradiées (89). Cela conduit à une réduction dose-dépendante de leurs propriétés biomécaniques selon une étude menée par Nguyen et al. de 2007 (81). Pour cela la dose utilisée doit être supérieure à 25kGy, en deçà les effets ne sont pas définitifs (81). Ainsi l'irradiation joue sur la performance biomécanique des greffons et donc sur l'intégration des greffes (18).

Selon Nguyen et al., une dose de 10 à 15 kGy suffit à diminuer la déformation à la rupture et la ténacité de l'os cortical, ces effets étant bien plus importants à doses de 20 et 25 kGy (87). En revanche, aucune modification significative des propriétés de l'os spongieux n'ont été rapportées, celui-ci se montrant plus résistants (87).

L'irradiation ne semble pas avoir d'effet sur l'attachement et la prolifération des ostéoblastes (87). Cependant, l'incorporation de la greffe est dépendante du remodelage osseux. Celui-ci est initié par l'activité ostéoclastique après activation des ostéoclastes et l'attachement ainsi que la fusion de ces cellules semblent se dégrader de façon significative à des doses supérieures à 15 kGy (87).

#### *8.3.2. Sur le potentiel ostéoconductif des greffons :*

La gamma irradiation peut présenter des effets délétères sur les propriétés ostéoconductives du greffon (45). En effet, elle altère sa matrice collagénique et libère des radicaux libres toxiques (45). Ces effets se font ressentir dès l'utilisation de la dose standard de 25 kGy (87).

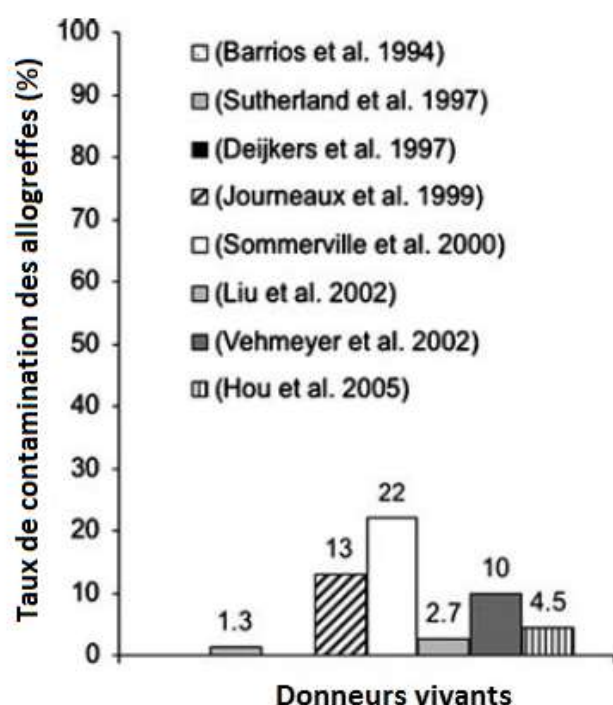
#### *8.3.3. Sur le potentiel ostéoinductif des greffons*

Voggenreiter et al. ont démontrés que les autogreffes irradiées conservent leur potentiel biologique jusqu'à 5kGy mais le perdent significativement au delà de 25kGy (45). Par déduction, les propriétés ostéoinductives des allogreffes peuvent être potentiellement réduites car la gamma irradiation entraîne une scission des chaînes protéiques (45). Les protéines ostéoinductives voient ainsi leur potentiel fortement altéré (89) et lorsque les greffes sont traitées et déminéralisées, ce potentiel est totalement éliminé au delà de 20 kGy selon les anciennes études de Urist et Hernandez (90). Cependant, d'après des études plus récentes de Nguyen et al. publiées en 2013, ces effets néfastes n'apparaîtraient qu'à partir de la dose standard de 25 kGy (87).

### ***8.4. Conséquences de l'irradiation gamma sur les pathogènes***

Malgré une sélection rigoureuse des donneurs ainsi que des techniques de traitements et transformations des greffons, dans de rares cas une contamination peut persister avant irradiation. Comme vu précédemment, cette contamination peut provenir de manière intrinsèque (par le donneur) ou extrinsèque (lors des procédés de manipulation). Les taux de celle-ci varient de 2,7 à 22% (86). Ces taux justifient la nécessité d'une stérilisation finale.





**Figure 22. Taux de contamination bactérienne d'allogreffes osseuses selon différents auteurs, d'après Nguyen et al.(86)**

#### 8.4.1. Les prions

Elle n'est pas efficace sur les prions. Il n'y a à ce jour aucun procédé de stérilisation capable de les inactiver sans détruire la greffe osseuse (18). Ainsi la prévention de transmission d'ATNC repose essentiellement sur la sélection rigoureuse des donneurs ainsi que sur les traitements complémentaires précédemment décrits.

#### 8.4.2. Les bactéries

Il existe différents types de bactéries pouvant contaminer les greffons osseux. Certains ne sont pas pathogènes mais d'autres le sont hautement et sont résistants aux rayons gamma. Il est donc crucial pour les banques d'os de déterminer les espèces contaminantes les plus fréquentes. Le genre *Staphylococcus* (*epidermis*, *aureus*, *warneri* et *nominus*) est révélé sur 79% des têtes fémorales prélevées (86). En réalité le nombre de cfu (*colony forming unit*) de bactéries présentes sur un greffon osseux est habituellement inférieure à 100 (86), et aux vues des faibles niveaux de contaminations dans les banques d'os, une dose d'irradiation comprise entre 15 et 25 kGy semble suffisante pour les éliminer efficacement (66, 86, 89).

#### 8.4.3. Les virus

Les effets sur les virus sont discutables (66, 89). Ceux-ci sont modérément voire très radiorésistants et d'après Campbell et al. la plupart d'entre eux sont éliminés à une dose comprise entre 20 et 40 kGy (83). Il semblerait que le VIH soit radiosensible, nécessitant des doses plus faibles pour être complètement inactivé (66, 83). Selon Hamer et al. à température ambiante une dose d'irradiation inférieure à 25 kGy permet d'obtenir une inactivation virale complète du VIH (85). Entre 25 et 30 kGy une stérilisation est observée pour les virus à ARN (83,91).

Après leur traitement, les allogreffes sont de nouveau examinées par le personnel d'assurance qualité et doivent subir certains tests qui comprennent (21, 61):

- ❖ Une inspection visuelle (défauts d'emballage, d'étiquetage...),
- ❖ Un test d'humidité résiduelle qui doit être inférieure ou égale à 6%,
- ❖ Une mesure du calcium résiduel contenu dans les DFDBA qui doit être inférieur ou égal à 8%.

## En résumé

| Étapes<br>Effets                           | Acétone | Traitement<br>Osmotique | Éthanol<br>+<br>Chloroforme | Hypochlorite<br>de sodium<br>(NaCl) | CO <sub>2</sub><br>supercritique | Soude<br>Molaire<br>(NaOH) | Peroxyde<br>d'hydrogène<br>(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) | Irradiation<br>gamma |
|--------------------------------------------|---------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------|
| Élimination<br>des lipides                 | ●       |                         | ●                           |                                     | ●                                |                            |                                                             |                      |
| Élimination<br>des bactéries<br>et spores  |         | ●                       |                             |                                     | ●                                |                            | ●                                                           | ●                    |
| Élimination<br>virale                      |         |                         |                             | ●                                   | ●                                |                            | ●                                                           | ●                    |
| Inactivation<br>virale                     | ●       |                         |                             |                                     |                                  |                            | ●                                                           |                      |
| Réduction de<br>l'activité des<br>prions   | ●       |                         |                             | ●                                   |                                  | ●                          |                                                             |                      |
| Élimination<br>des protéines<br>solubles   |         |                         |                             |                                     |                                  |                            | ●                                                           | ●                    |
| Destruction<br>des antigènes<br>de surface |         | ●                       | ●                           |                                     | ●                                |                            |                                                             |                      |

Tutoplast®

Phoenix®

Supercrit®

Étapes communes

Figure 23. Schéma récapitulatif de l'action des différentes étapes de chaque procédé, réalisé par l'auteur.

❖ Concernant la sécurité du procédé Tutoplast® (61):

➤ Sur les virus

L'institut Pasteur Texcell à Paris a mesuré la capacité d'inactivation du procédé Tutoplast pour toutes les classes de virus (61). Pour ce faire, des blocs d'os spongieux ont été enrichis en virus cultivés à forte concentration. Cette dernière a été mesurée après chaque étape du procédé. Excepté à l'étape de traitement par bains osmotiques qui a laissé quelques virus intacts, toutes les autres se sont avérées efficaces dans l'éradication de tout contenu viral (61). Une fois l'ADN et/ou l'ARN des virus exposés au cours du processus, ce dernier les décompose en fragments si courts qu'ils sont incapables de se répliquer et ainsi de transmettre des maladies (61). Cette étude confirme que le procédé Tutoplast® est efficace contre tout type de virus (61).

➤ Sur les prions

Les étapes d'acétone se sont révélées efficaces dans l'inactivation des prions (61). Cette propriété a été testée sur des échantillons de dure-mère initialement contaminés. Une réduction de 90% à 99% de l'infectivité des prions est obtenue par le procédé Tutoplast® dans le cadre d'allogreffes osseuses (61).

➤ Sur les bactéries et spores bactériennes

Plusieurs étapes du procédé Tutoplast® permettent d'éliminer bactéries et spores bactériennes (61).

➤ Sur les propriétés propres au greffon

Une étude sur des rats n'a montré aucun signe de réaction au greffon confirmant que le procédé supprime l'antigénicité (61).

Le processus de déshydratation par solvant ainsi que l'irradiation gamma à faible dose n'endommage ni la structure ni les propriétés biomécaniques de l'os (61).

❖ Concernant le procédé Supercrit®

➤ Sur les virus

Fages et al. ont démontré dès 1998 un fort effet virucide du procédé par CO<sub>2</sub> supercritique sur les têtes fémorales (49, 92). Il fournit un niveau d'inactivation similaire à celui obtenu par des techniques plus traditionnelles par solvants (49). La succession des étapes du procédé Supercrit® permet une inactivation ou élimination des virus, générant un facteur de réduction supérieur à 4log<sub>10</sub> (seuil au delà duquel un procédé est considéré comme hautement efficace pour inactiver ou éliminer les virus selon les directives de la Communauté Européenne) (49).

➤ Sur les prions

À ce jour, aucune étude n'a été effectuée pour évaluer le procédé Supercrit® dans l'inactivation des prions.

➤ Sur les bactéries, spores bactériennes et champignons

Des études ont montré l'efficacité du procédé, notamment sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus niger* (57, 93). La destruction des micro-

organismes par CO<sub>2</sub> supercritique à haute pression est liée à son fort coefficient de dilatation entraînant une rupture mécanique et/ou des dommages physiologiques à la cellule (93). L'inactivation des spores avec du CO<sub>2</sub> supercritique requiert une longue exposition au produit ainsi que des températures élevées (au moins 60°C) (57).

➤ Sur les propriétés propres au greffon

Selon Vastel et al. le procédé Supercrit® permet la préservation maximale des propriétés architecturales et structurales du greffon (65).

❖ Concernant le procédé Phoenix®

À ce jour, aucune étude n'a évalué ni la sécurité, ni l'impact sur les propriétés biomécaniques des greffons traités par le procédé Phoenix®.

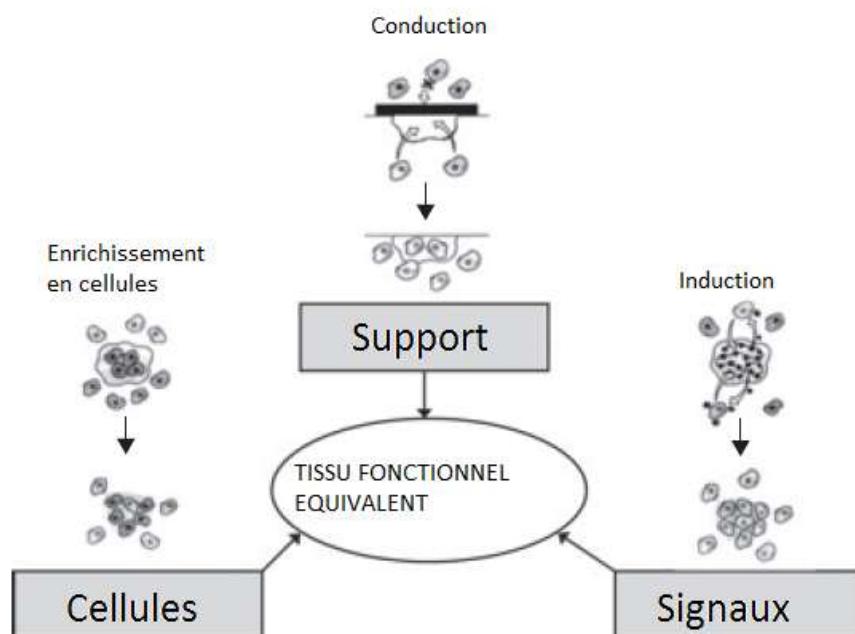
# **CHAPITRE V : PERSPECTIVES**

## **D'AVENIR**

## **1. Généralités et notion d'ingénierie tissulaire**

### ***1.1. Définitions***

Selon Scheller et al., l'ingénierie tissulaire consiste en l'association des interactions entre les molécules de la matrice extracellulaire et les cellules attachées, ainsi que la compréhension de l'expression des gènes nécessaires pour induire la différenciation et la croissance des tissus (95). Elle représente l'ensemble des techniques qui mènent à la régénération d'un tissu. Son objectif est d'associer des molécules biologiquement actives ou des cellules spécifiques à un matériau biocompatible. La réussite de ces techniques dépend de la réponse de cellules progénitrices indifférenciées aux signaux inductifs induits par les facteurs de croissances (95).



**Figure 24. Triade de base des principaux composants de l'ingénierie tissulaire selon Scheller et al.(95) : les cellules, leur matrice extracellulaire et les signaux.**

Chacun des composants représente une stratégie pour la régénération d'un tissu osseux fonctionnel : la transplantation de cellules, l'amélioration de la conduction ou de l'induction qui peuvent être utilisés individuellement ou en combinaison (96).

La notion d'ingénierie tissulaire s'associe à celle de thérapie cellulaire définie selon le Parlement Européen comme : " L'administration de cellules autologues, allogéniques, voire xénogéniques, à l'homme, dans le but de prévenir, de traiter ou d'atténuer une maladie " (96). Il s'agit de cellules modifiées dans un but thérapeutique, diagnostique ou préventif (96).

## **1.2. Principes de base**

La biocompatibilité des matériaux utilisés est aujourd'hui une notion fondamentale en odontologie qui concerne (94) :

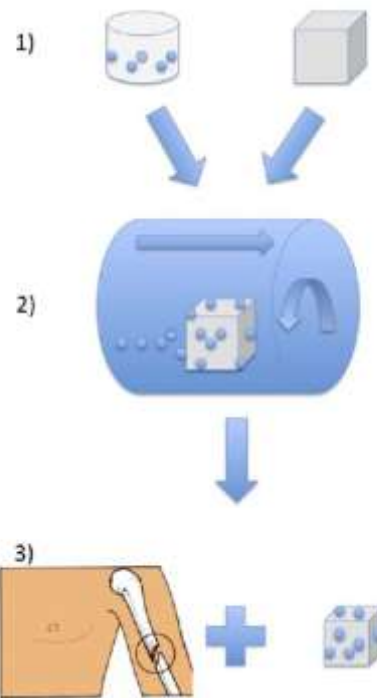
- ❖ La sécurité du patient (ne pas nuire)
- ❖ Une conformité réglementaire
- ❖ Une responsabilité juridique

Selon Grégoire et al. il s'agit de "la capacité d'un matériau à provoquer une réponse biologique appropriée dans une application donnée", c'est à dire une interaction de l'allogreffe osseuse avec le site receveur dont l'objectif est de reconstruire les structures tissulaires détruites (94). De façon à se rapprocher au maximum de celle induite par les autogreffes, des stratégies thérapeutiques associent le matériau à d'autres composants biologiques tels que des cellules ostéogènes ou des facteurs de croissance pour engendrer une activité ostéoinductive (94). De plus, le processus d'incorporation du greffon dans l'os hôte est complexe et limité dans le temps et l'espace. Il persiste souvent une masse finale d'os qui n'a pas été résorbé ni substitué par de l'os nouveau (13). Ces techniques dites d'ingénieries tissulaires ont été expérimentées pour améliorer cette substitution qui est limitée par une revascularisation imprévisible. En dépit de cela, aucun progrès majeur n'a été accompli à ce jour (13).

Tandis que des recherches approfondies ont été menées sur le mouvement des cellules des tissus parenchymateux transplantés, on sait peu de choses sur la migration cellulaire des cellules du receveur dans un greffon osseux (97). En revanche, il est admis que les os traités par différents procédés peuvent être utilisés comme supports pour des facteurs de croissance (50). Des xélogreffes osseuses traitées par procédé Tutoplast® ont déjà fait



l'objet de mises en cultures avec des cellules autologues et utilisées avec succès (50). Cette technique permettrait la reconstruction de défauts complexes.



**Figure 25. Schéma général d'ingénierie tissulaire osseuse selon Myon et al.(96)**

L'étape 1 comprend la mise en culture de cellules souches et l'obtention d'un support. L'étape deux représente l'association de ces deux éléments par mise en culture. Cette étape permet la création de signaux biologiques. L'étape trois représente l'utilisation concrète de cette technique dans le cadre de réparations osseuses.

## **2. Les cellules souches**

C'est ici que la notion de thérapie cellulaire prend tout son sens. Utilisée dans le cadre de l'ingénierie tissulaire pour réparer certains défaut osseux, elle consiste en la manipulation de cellules souches qui peuvent être (96, 98) :

- ❖ Prélevées
- ❖ Amplifiées en culture
- ❖ Manipulées génétiquement

- ❖ Ensemencées sur une matrice servant de support
- ❖ Activées par des facteurs de croissance
- ❖ Administrées sur le site déficitaire

Selon Myon et al. " les principales sources de cellules souches ou progénitrices adultes sont représentées par les cellules issues de la moelle osseuse, du tissu adipeux et des germes dentaires " (96). Elles sont capables de se différencier en plusieurs lignées dont la lignée ostéoblastique (99, 100).

### **3. Les facteurs de croissance**

Outre pour son rôle structural, la matrice-extracellulaire sert également de support pour reproduire des ligands d'adhésion et autres signaux qui permettent un réglage plus précis de la fonction des cellules et de la formation du nouveau tissu (95). Ces signaux, médiés par des facteurs de croissance, présentent un rôle primordial dans la réparation osseuse car ils ont pour fonction de stimuler ou inhiber la croissance des cellules et notamment leur réplication et différenciation (95, 101). Ainsi, l'incorporation à la matrice extracellulaire de motifs peptidiques aux séquences reconnues par les récepteurs de l'intégrine sont aujourd'hui connus pour améliorer la prolifération et différenciation d'un grand nombre de cellules dont les ostéoblastes et les fibroblastes (95). L'utilisation clinique de facteurs de croissance recombinants tels que les BMP-2 et BMP-7 (approuvée par la Food And Drug Administration aux Etats-Unis depuis 2004) ainsi que PDGF (Platelet Derived Growth Factors), FGF (Fibroblast Growth Factors) et IGF-1 (Insulin-Like Growth Factors) améliorent considérablement la réparation de l'os alvéolaire dans le cas d'un défaut local (14, 95, 98). Cette réparation va varier selon les protéines utilisées et leur quantité, ainsi que leur mode d'application. Dans certains cas, l'utilisation de ces facteurs entraîne des résultats équivalents voire supérieurs à l'utilisation d'autogreffes (95). Cependant, l'activité biologique de ces facteurs promoteurs de formation osseuse est limitée in vivo par leur demi-vie courte due à une diffusion et dégradation rapide (96, 98).

De nombreux matériaux telles que les matrices osseuses déminéralisées ont été testés comme supports de ces facteurs pour permettre, selon un système de libération, de potentialiser localement les effets biologiques (98). De nombreuses études sont en cours sur ce sujet.

Il a été notamment prouvé que l'association de DFDBA et de protéines ostéogéniques entraîne une régénération parodontale significative en comparaison à du DFDBA seul ou tout autre matériel de greffe (25).

L'ingénierie tissulaire présente des méthodes variées de plus en plus expérimentées et utilisées pour la réparation du tissu osseux. Cependant, ces techniques demandent encore un peu de recul avant de faire partie de notre pratique quotidienne.

## **CONCLUSION**

Il est certain aujourd'hui que le traitement des allogreffes osseuses permet une réduction exponentielle du potentiel de contamination ainsi que des transmissions de maladies. Celles utilisées à des fins odontologiques présentent un NAS (niveau d'assurance stérilité) de  $10^{-6}$  (44). Ainsi, les chances de survie d'un organisme sont inférieures à 1 million et lorsqu'une sélection rigoureuse de donneurs est effectuée, ce risque passe de 1 à 8 millions. Si la banque de tissus déminéralise le greffon, ce risque diminue de façon significative à 2,8 milliards (44). Les inquiétudes des cliniciens sur les méthodes de traitements et de stérilisations finales pouvant affecter les propriétés et les performances des allogreffes osseuses ont initié de nombreuses recherches. De récentes études ont analysé la capacité des allogreffes commerciales à induire une néoformation osseuse in vivo. Leur objectif était de déterminer si les grandes diversités de réponses cliniques étaient dues aux différentes méthodes de traitements appliquées aux greffes dans les banques, ou simplement à la variabilité de réponse des hôtes. D'abord il a été constaté de grandes variations d'induction osseuse au sein de mêmes banques. Ensuite les différences de traitements propres à chaque banques d'os ne suffisent pas à elles seules, à expliquer cette grande variabilité. En effet, il a été démontré que l'âge du donneur pouvait également jouer un rôle dans la réponse de l'hôte (24). Cependant, parce que chaque banque est propriétaire de sa méthode de traitement, ces études n'ont pas pu déterminer quelles procédures préservent au maximum la capacité d'induction. Ainsi, l'impact des traitements sur les propriétés biomécaniques est le prix à payer pour garantir la sécurité des greffons allogéniques. Mais l'ingénierie tissulaire pourrait augmenter le potentiel ostéoinductif des greffons, de par l'addition au sein de ceux-ci de molécules actives ou de cellules souches. À juste titre, on peut espérer des résultats équivalents cliniquement aux autogreffes d'ici quelques années.

## **BIBLIOGRAPHIE**

1. Fi JD, Dudek W , Défossez A. Embryologie humaine. Paris: Pradel; 2004. 285p.
2. Norton NS, Netter FH, Duparc F. Précis d'anatomie clinique de la tête et du cou. Issy-les-Moulineaux, France: Elsevier Masson; 2009. 610p.
3. Ruffieux K, Köhli M. Reconstruction osseuse. [Schlieren]: Degradable Solutions AG; 2010. 167 p.
4. Stevens A, Lowe J. Histologie humaine. Paris; Bruxelles: De Boeck Université; 1997. 408p.
5. Feng X, McDonald JM. Disorders of Bone Remodeling. Annu Rev Pathol Mech Dis. 28 févr 2011;6(1):121-45.
6. Sch n ke M. Funktionelle Anatomie - Topographie und Funktion des Bewegungssystems. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2000. 478p.
7. Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. Dev Dyn Off Publ Am Assoc Anat. janv 2006;235(1):176-90.
8. Knothe Tate ML, Adamson JR, Tami AE, Bauer TW. The osteocyte. Int J Biochem Cell Biol. janv 2004;36(1):1-8.
9. Desoutter J, Mentaverri R, Brazier M, Kamel S. Le remodelage osseux normal et pathologique. Rev Francoph Lab. 25 oct 2012;42(446):33-42.
10. Holick MF. Vitamin D deficiency. N Engl J Med. 2007;357(3):266-81.
11. Shui C, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Changes in Runx2/Cbfa1 Expression and Activity During Osteoblastic Differentiation of Human Bone Marrow Stromal Cells. J Bone Miner Res. 1 févr 2003;18(2):213-21.
12. Tulasne J-F, Andréani J-F. Les greffes osseuses en implantologie. Paris; Berlin; Chicago [etc.]: Quintessence international; 2004. 117p.
13. Delloye C, Cornu O, Druez V, Barbier O. Bone allografts what they can offer and what they cannot. J Bone Joint Surg Br. 2007;89(5):574-80.

14. Degat M-C, Ferreira E, Logeart-Avramoglou D. Utilisation de facteurs de croissance pour la réparation osseuse. *Pathol Biol.* avr 2005;53(3):131-41.
15. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science.* 12 nov 1965;150(3698):893-9.
16. Docquier P-L, Delloye C. Techniques et indications des greffes osseuses et ostéocartilagineuses. *EMC Techniques chirurgicales-Orthopédie-Traumatologie.* 2013;8(2):1-13. [Article 44-030].
17. Michaud RJ, Drabu KJ. Bone allograft banking in the United Kingdom. *J Bone Joint Surg Br.* mai 1994;76(3):350-1.
18. Lomas R, Chandrasekar A, Board TN. Bone allograft in the UK: perceptions and realities. *Hip Int.* 2013;23(5):427-33.
19. Colombier M-L, Lesclois P, Tulasne J-F. La cicatrisation des greffes osseuses. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2005;106(3):157-65.
20. Wolf HF, Rateitschak KH, Rateitschak EM. *Parodontologie.* 3e éd. Paris: Masson; 2005. 532p.
21. Grover V, Malhotra R, Kapoor A, Sachdeva S. Bone allografts: a review of safety and efficacy. *Indian J Dent Res.* 2011;22(3):496.
22. Deijkers RLM, Bloem RM, Petit PLC, Brand R, Vehmeyer SBW, Veen MR. Contamination of bone allografts analysis of incidence and predisposing factors. *J Bone Joint Surg Br.* 1997;79(1):161-6.
23. Simonds RJ, Holmberg SD, Hurwitz RL, Coleman TR, Bottenfield S, Conley LJ, et al. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor. *N Engl J Med.* 12 mars 1992;326(11):726-32.
24. Committee on Research, Science and Therapy of the American Academy of Periodontology. Tissue banking of bone allografts used in periodontal regeneration. *J Periodontol.* juin 2001;72(6):834-8.
25. Mellonig JT. Bone allografts in periodontal therapy. *Clin Orthop.* 1996;324:116-25.



26. Garrett S, Loos B, Chamberlain D, Egelberg J. Treatment of intraosseous periodontal defects with a combined adjunctive therapy of citric acid conditioning, bone grafting, and placement of collagenous membranes. *J Clin Periodontol*. 1988;15(6):383-9.
27. Malhotra R, Kapoor A, Grover V, Kaushal S. Nicotine and periodontal tissues. *J Indian Soc Periodontol*. janv 2010;14(1):72-9.
28. Obeid P, Bercy P. Effects of smoking on periodontal health: a review. *Adv Ther*. oct 2000;17(5):230-7.
29. Mosely LH, Finseth F. Cigarette smoking: impairment of digital blood flow and wound healing in the hand. *The Hand*. juin 1977;9(2):97-101.
30. Berberi A, Samarani A, Nader N, Noujeim Z, Dagher M, Kanj W, et al. Physicochemical Characteristics of Bone Substitutes Used in Oral Surgery in Comparison to Autogenous Bone. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1-9.
31. Princ G, Piral T, Benhamou A. Chirurgie osseuse préimplantaire. Rueil-Malmaison (Hauts-de-Seine): CdP; 2008. 121p.
32. France ADOT, fédération des Associations pour le Don d'Organes et de Tissus humains. France ADOT [en ligne]. [consulté le 25 février 2015] Disponible sur: [www.france-adot.org](http://www.france-adot.org)
33. Directive 2006/17/CE de la commission du 8 février 2006 portant application de la directive 2004/23/CE du Parlement européen et du Conseil concernant certaines exigences techniques relatives au don, à l'obtention et au contrôle de tissus et de cellules d'origine humaine. *Journal Officiel de l'Union Européenne*. 2006;49(L38):40.
34. Biobank. Biobank: l'os humain préservé et régénéré [en ligne]. c2015 [consulté le 3 décembre 2014] Disponible sur: [www.biobank.fr](http://www.biobank.fr)

35. Ministre des Affaires sociales et de la Santé. Arrêté du 5 juillet 2013 modifiant l'arrêté du 23 décembre 2010 pris en application des articles R. 1211-14, R. 1211-15, R. 1211-16, R. 1211-21 et R. 1211-22 du code de la santé publique et l'arrêté du 19 septembre 2011 relatif aux conditions d'utilisation d'organes ou de cellules provenant de donneurs porteurs de marqueurs du virus de l'hépatite B. Journal Officiel de la République Française. 2013;0163:11848. Texte n°3.
36. Ministre des Affaires sociales et de la Santé. Arrêté du 4 novembre 2014 fixant les modalités de sélection clinique des donneurs d'organes, de tissus et de cellules. Journal Officiel de la République Française. 2014;0263:19180. Texte n°20.
37. The American Association of Tissue Banks. The American Association of Tissue Banks [en ligne]. c2014 [consulté le 9 août 2014]. Disponible sur: <http://www.aatb.org/Landing-Page>
38. European Association of Tissue Banks. European Association of Tissue Banks [en ligne]. c2013 [consulté le 9 août 2014]. Disponible sur: <http://www.eatb.org/>
39. Directive Européenne 2006/86/CE de la Commission portant application de la directive 2004/23/CE du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les exigences de traçabilité, la notification des réactions et incidents indésirables graves, ainsi que certaines exigences techniques relatives à la codification, à la transformation, à la conservation, au stockage et à la distribution des tissus et cellules d'origine humaine. Journal Officiel de l'Union Européenne. 2006;49(L294):32.
40. France. Code de la santé publique. 26<sup>e</sup> éd. Paris: Dalloz; 2012. Article L1243-2.
41. Ministère de l'emploi et de la solidarité. Décret n°97-928 du 9 octobre 1997 relatif aux règles de sécurité sanitaire applicables à tout prélèvement d'éléments ou toute collecte de produits du corps humain et à leur utilisation à des fins thérapeutiques, à l'écoulement des gamètes, du sang et de ses composants et de leurs dérivés, ainsi que des réactifs, pris en application des articles L. 665-10 et L. 665-15 du code de la santé publique et modifiant ce code (deuxième partie : Décrets en Conseil d'Etat). Journal Officiel de la République Française. 1997;238:14865. NOR: MESP9722535D.
42. TBF Tissue Engineering. TBF Tissue Engineering [en ligne]. [consulté le 21 janvier 2015]. Disponible sur: [www.tbf-lab.com](http://www.tbf-lab.com)

43. Ministère de l'emploi et de la solidarité. Ordonnance n° 2000-548 du 15 juin 2000 relative à la partie Législative du code de la santé publique. Journal Officiel de la République Française. 2000;143:9340.
44. Holtzclaw D, Toscano N, Eisenlohr L, Callan D. The safety of bone allografts used in dentistry: a review. J Am Dent Assoc 1939. sept 2008;139(9):1192-9.
45. Katz J. The effects of various cleaning and sterilization processes on allograft bone incorporation. J Long Term Eff Med Implants. 2010;20(4):271-6.
46. Barin F. Expert opinion on viral safety of TUTOPLAST. 1994.
47. Maris P, Fresnel R. Activité de divers désinfectants sur sept virus non enveloppés. Ann Rech Vét. [en ligne]. 1986 [consulté le 26 févr 2015];17(4):433-9. Disponible sur: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00901679/document>
48. Huraux JM. Virologie médicale. Paris: Estem; 2003. 712 p.
49. Fages J, Poirier B, Barbier Y, Frayssinet P, Joffret ML, Majewski W, et al. Viral inactivation of human bone tissue using supercritical fluid extraction. ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs 1992. août 1998;44(4):289-93.
50. Schöpf C, Daiber W, Tadic D. Tutoplast processed allografts and xenografts. Dans: Jacotti M, Antonelli P. 3D Block Technique in from Image Diagnostics to Block Graft Bone Regeneration. Milano: RC libri; 2005. p. 54-75.
51. Thorén K;Aspenberg P;Thorngren KG. Lipid extracted bank bone. Bone conductive and mechanical properties. Clin Orthop Relat Res. 1995;(311):232-46.
52. Russell N, Rives A, Pelletier MH, Wang T, Walsh WR. The effect of supercritical carbon dioxide sterilization on the anisotropy of bovine cortical bone. Cell Tissue Bank. mars 2015;16(1):109-21.
53. Binet C, Zandecki M, Société française d'hématologie. Hématologie. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2011.

54. Mitton D, Rappeneau J, Bardonnet R. Effect of a supercritical CO<sub>2</sub> based treatment on mechanical properties of human cancellous bone. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 1 déc 2005;15(4):264-9. 329p.
55. Condoreti DC, Frayssinet P. Use of supercritical CO<sub>2</sub> for bone delipidation. *Biomaterials*. 1994;15(9):650-6.
56. Li Q, Lu Q, Li L, Zhou C. [A new preparation process of natural bone material and its characterization]. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi J Biomed Eng Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi*. avr 2007;24(2):332-5.
57. Spilimbergo S, Dehghani F, Bertuccio A, Foster NR. Inactivation of bacteria and spores by pulse electric field and high pressure CO<sub>2</sub> at low temperature. *Biotechnol Bioeng*. 5 avr 2003;82(1):118-25.
58. Vastel L, Masse C, Mesnil P, Crozier E, Padilla F, Laugier P, et al. Comparative ultrasound evaluation of human trabecular bone graft properties after treatment with different sterilization procedures. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 7 janv 2009;90B(1):430-7.
59. Zimmer Dental. Zimmer Dental [en ligne]. c2015 [consulté le 23 février 2015]. Disponible sur: [www.zimmerdental.com](http://www.zimmerdental.com)
60. Yumpu. Le procédé Tutoplast: un perfectionnement pur, des résultats éprouvés [en ligne]. c2008 [consulté le 29 déc 2014]. Disponible sur: <https://www.yumpu.com/fr/document/view/6706717/le-procede-tutoplast-zimmer-dental>
61. Schoepf C. The Tutoplast® Process: a review of efficacy. *Zimm Dent*. 2008;17:40-50.
62. Adams CWM, Bayliss OB. Histochemistry of Myelin VI. Solvent Action of Acetone on Brain and Other Lipid-Rich Tissues. *J Histochem Cytochem*. 2 janv 1968;16(2):115-8.
63. Posokhov YO, Kyrychenko A. Effect of acetone accumulation on structure and dynamics of lipid membranes studied by molecular dynamics simulations. *Comput Biol Chem*. oct 2013;46:23-31.

64. Vargel İ, Tunçbilek G, Mavili E, Cila A, uacan Ş, Benli K, et al. Solvent-Dehydrated Calvarial Allografts in Craniofacial Surgery: Plast Reconstr Surg. août 2004;114(2):298-306.
65. Vastel L, Meunier A, Siney H, Sedel L, Courpied J-P. Effect of different sterilization processing methods on the mechanical properties of human cancellous bone allografts. Biomaterials. mai 2004;25(11):2105-10.
66. Delloye C, Cornu O. Allogreffes de l'appareil locomoteur et banques de tissus. EMC - Appareil locomoteur 1998;1-0 [Article 14-015-A-10]
67. Chanda J, Bandyopadhyay S. Perturbation of Phospholipid Bilayer Properties by Ethanol at a High Concentration. Langmuir. 1 avr 2006;22(8):3775-81.
68. Gurtovenko AA, Anwar J. Interaction of Ethanol with Biological Membranes: The Formation of Non-bilayer Structures within the Membrane Interior and their Significance. J Phys Chem B. 19 févr 2009;113(7):1983-92.
69. Reigada R. Influence of Chloroform in Liquid-Ordered and Liquid-Disordered Phases in Lipid Membranes. J Phys Chem B. 24 mars 2011;115(11):2527-35.
70. Audigé C, Zonszain F. Biochimie structurale. Nouvelle éd. Paris: Doin; 1991. 266 p.
71. Feinstone SM, Mihalik KB, Kamimura T, Alter HJ, London WT, Purcell RH. Inactivation of hepatitis B virus and non-A, non-B hepatitis by chloroform. Infect Immun. 1983;41(2):816-21.
72. DePaula CA, Truncale KG, Gertzman AA, Sunwoo MH, Dunn MG. Effects of Hydrogen Peroxide Cleaning Procedures on Bone Graft Osteoinductivity and Mechanical Properties. Cell Tissue Bank. déc 2005;6(4):287-98.
73. Ministère du travail, de l'emploi et de la santé. Instruction n° DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à l'actualisation des recommandations visant à réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels lors des actes invasifs. Bulletin Officiel. 2012;1:378. NO : ETSP1132741J.

74. Van der Donk S, Weernink T, Buma P, Aspenberg P, Slooff TJJH, Schreurs BW. Rinsing morselized allografts improves bone and tissue ingrowth. *Clin Orthop*. mars 2003;(408):302-10.
75. Reikerås O, Sigurdson UW, Shegarfi H. Impact of freezing on immunology and incorporation of bone allograft. *J Orthop Res*. 1 mars 2010;28(9):1215-9.
76. Pelker RR, Friedlaender GE, Markham TC, Panjabi MM, Moen CJ. Effects of freezing and freeze-drying on the biomechanical properties of rat bone. *J Orthop Res*. 1984;1(4):405-11.
77. Conrad EU, Ericksen DP, Tencer AF, Strong DM, Mackenzie AP. The effects of freeze-drying and rehydration on cancellous bone. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;290:279-84.
78. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone: the influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am*. 1999;30(4):571-81.
79. Gardella JP, Borghetti A. Mise au point sur les allogreffes osseuses dans la thérapeutique parodontale. *Actual Odonto-stomatol*. 1989;43(167):505-24.
80. Ministère du travail, de l'emploi et de la santé. Instruction n° DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à l'actualisation des recommandations visant à réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels lors des actes invasifs. *Bulletin Officiel*. 2012;1:378. NO : ETSP1132741J.
81. Nguyen H, Morgan DAF, Forwood MR. Sterilization of allograft bone: effects of gamma irradiation on allograft biology and biomechanics. *Cell Tissue Bank*. juin 2007;8(2):93-105.
82. Phillips GO, Morales J. Catalysts for better health care. *Int At Energy Agency Bull*. 2002;44(1):17-20.
83. Campbell DG, Li P, Stephenson AJ, Oakeshott RD. Sterilization of HIV by gamma irradiation. *Int Orthop*. 1994;18(3):172-6.

84. Dziedzic-Goclawska A, Kaminski A, Uhrynowska-Tyszkiewicz I, Stachowicz W. Irradiation as a Safety Procedure in Tissue Banking. *Cell Tissue Bank*. sept 2005;6(3):201-19.
85. Hamer AJ, Stockley I, Elson RA. Changes in allograft bone irradiated at different temperatures. *J Bone Joint Surg Br*. 1999;81(2):342-4.
86. Nguyen H, Morgan DAF, Forwood MR. Sterilization of Allograft Bone: is 25 kGy the Gold Standard for Gamma Irradiation? *Cell Tissue Bank*. juin 2007;8(2):81-91.
87. Nguyen H, Cassady AI, Bennett MB, Gineyts E, Wu A, Morgan DAF, et al. Reducing the radiation sterilization dose improves mechanical and biological quality while retaining sterility assurance levels of bone allografts. *Bone*. nov 2013;57(1):194-200.
88. Akkus O, Rimnac CM. Fracture resistance of gamma radiation sterilized cortical bone allografts. *J Orthop Res*. 2001;19(5):927-34.
89. Moreau MF, Gallois Y, Baslé MF, Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomaterials*. 2000;21(4):369-76.
90. Urist MR, Hernandez A. Excitation transfer in bone. Deleterious effects of cobalt 60 radiation-sterilization of bank bone. *Arch Surg Chic Ill* 1960. oct 1974;109(4):586-93.
91. Sullivan R, Fassolitis AC, Larkin EP, Read RB, Peeler JT. Inactivation of thirty viruses by gamma radiation. *Appl Microbiol*. 1971;22(1):61-5.
92. Frayssinet P, Rouquet N, Mathon D, Autefage A, Fages J. Histological integration of allogeneic cancellous bone tissue treated by supercritical CO<sub>2</sub> implanted in sheep bones. *Biomaterials*. 1998;19(24):2247-53.
93. Ishikawa H, Shimoda M, Shiratsuchi H, Osajima Y. Sterilization of Microorganisms by the Supercritical Carbon Dioxide Micro-Bubble Method. *Biosci Biotechnol Biochem*. janv 1995;59(10):1949-50.
94. Grégoire G, Magne S, Populer P, Guyonnet JJ. Biocompatibilité des matériaux utilisés en odontologie. *EMC Médecine buccale*. 2008:1-12. [Article 28-225-H-10].

95. Scheller EL, Krebsbach PH, Kohn DH. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J Oral Rehabil.* mai 2009;36(5):368-89.
96. Myon L, Ferri J, Chai F, Blanchemain N, Raoul G. Ingénierie du tissu osseux oro-maxillofacial par combinaison de biomatériaux, cellules souches, thérapie génique. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2011;112(4):201-11.
97. Willems WF, Larsen M, Friedrich PF, Bishop AT. Cell lineage in vascularized bone transplantation: Intragraft Chimerism in Bone Transplantation. *Microsurgery.* janv 2014;34(1):37-43.
98. Fischer J, Kolk A, Wolfart S, Pautke C, Warnke PH, Plank C, et al. Future of local bone regeneration – Protein versus gene therapy. *J Cranio-Maxillofac Surg.* janv 2011;39(1):54-64.
99. Grinnemo KH, Sylvén C, Hovatta O, Dellgren G, Corbascio M. Immunogenicity of human embryonic stem cells. *Cell Tissue Res.* janv 2008;331(1):67-78.
100. Gimble JM, Zvonic S, Floyd ZE, Kassem M, Nuttall ME. Playing with bone and fat. *J Cell Biochem.* 15 mai 2006;98(2):251-66.
101. Zérath E. Facteurs de croissance, thérapie génique et os. *J Traumatol Sport.* 2008;17(3):157.



## **FIGURES**

FIGURE 1. Représentation schématique des cellules osseuses

FIGURE 2. Schéma explicatif montrant la transition cellulaire entre pré-ostéoblaste, ostéoblaste et ostéocyte ainsi que leurs relations.

FIGURE 3. Modèle classique de remodelage osseux

FIGURE 4. Schéma réalisé par l'auteur représentant les différentes étapes de cicatrisation au niveau des crêtes alvéolaires. *D'après Reconstruction osseuse de Ruffieux et Kölhi (3)*

FIGURE 5. Libération de calcium dans le temps selon les différents substituts

FIGURE 6. Exemple d'une fiche de prélèvement fournie par le laboratoire BIOBank aux chirurgiens (34)

FIGURE 7. Prélèvement d'une tête fémorale lors d'une arthroplastie de hanche par Docteur G.Menu, Chirurgien orthopédiste, février 2015

FIGURE 8. Exemple de fiche de prélèvement donnée au chirurgien par le laboratoire BIOBank® (34)

FIGURE 9. Exemple de lettre d'information donnée au donneur par le laboratoire BIOBank® (34)

FIGURE 10. Exemple de lettre d'information donnée au receveur pour les greffons Phoenix® (42)

FIGURE 11. Schéma réalisé par l'auteur représentant les différentes étapes de traitement d'un greffon osseux d'après *The Safety of Bone Allografts Used in Dentistry* (44).

FIGURE 12. Schéma récapitulatif des étapes successives suivies par les greffons osseux selon les différents procédés étudiés, réalisé par l'auteur.

FIGURE 13. Diagramme Pression-Température pour obtenir un composé pur selon Fages (55)

FIGURE 14. Schéma de procédé d'une installation industrielle d'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique

FIGURE 15. Représentation d'une molécule d'acétone selon Posokhov et al.(63)

FIGURE 16. Représentation de l'accumulation de l'acétone dans la bicouche phospholipidique selon Posokhov et Kyrychenko (63).

FIGURE 17. Coupe histologique issue du livre 3D Block Technique (50)

FIGURE 18 : Représentation de l'action d'une solution à 5% d'éthanol (en jaune) avec les structures lipidiques (en bleu ciel) d'après Gurtovenko et Anwar (68).

FIGURE 19 : Effet de l'exposition au peroxyde d'hydrogène sur l'ostéoinduction. D'après DePaula et al. (72)

FIGURE 20. Image de microscopie électronique montrant une lacune ostéoplastique vide dans laquelle était emmuré un ostéocyte. Le traitement au CO<sub>2</sub> supercritique et au peroxyde d'hydrogène a permis d'éliminer les débris cellulaires à la surface osseuse (55).

FIGURE 21. Produit fini d'allogreffe d'os humain sous forme particulaire (44)

FIGURE 22. Taux de contamination bactérienne d'allogreffes osseuses selon différents auteurs, d'après Nguyen et al.(86)

FIGURE 23. Schéma récapitulatif de l'action des différentes étapes de chaque procédé, réalisé par l'auteur.

FIGURE 24. Triade de base des principaux composants de l'ingénierie tissulaire selon Scheller et al.(95) : les cellules, leur matrice extracellulaire et les signaux.

FIGURE 25. Schéma général d'ingénierie tissulaire osseuse selon Myon et al.(96)

# **TABLEAUX**

TABLEAU 1 : Propriétés des différents matériaux de greffe selon Tulasne et Andréani (12)

TABLEAU 2 : Maladies dérivées de donneurs potentiels causées par des agents pathogènes.  
D'après Lomas et al.(18)

TABLEAU 3 : Résultats des tests de dépistage d'infections virales chez des donneurs vivants  
de 2001 à 2010. D'après Lomas et al.(18)

TABLEAU 4 : Effets des doses de gamma irradiation sur la croissance de *B.Pumilus* inoculé à  
différentes concentrations (87).

TABLEAU 5 : Effets des doses de gamma irradiation sur la croissance de *S.epidermidis*  
inoculé à différentes concentration (87).

Jury : Président : P.AMBROSINI – Professeur des Universités  
Juges : D.JOSEPH – Maître de Conférences des Universités associé  
K.YASUKAWA – Maître de Conférences des Universités  
E. BÖLÖNI – Assistante Hospitalier Universitaire  
F. CAMELOT – Assistant Hospitalier Universitaire

Thèse pour obtenir le diplôme D'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par: Mademoiselle JEANCOLAS Aline, Justine

né(e) à: EPINAL (Vosges)

le 4 novembre 1989

et ayant pour titre : « Traitements mécaniques, chimiques et thermiques utilisés dans la production des greffons osseux allogéniques ».

Le Président du jury

  
P. AMBROSINI

Le Doyen,  
de la Faculté d'Odontologie

  
J.M. MARTRETTE

Autorise à soutenir et imprimer la thèse

6709

NANCY, le

**15 MAI 2015**

Le Président de l'Université de Lorraine

  
P. MUTZENHARDT

**JEANCOLAS Aline - Traitements mécaniques, chimiques et thermiques utilisés dans la production de greffons osseux allogéniques.**

Nancy 2015. 124 p., 25 f. et ill., 5 tab.

Th : Chir.-Dent. : Nancy 2015

**Mots clés :** Allogreffes - Banques osseuses – Traitements

**RÉSUMÉ :**

La demande d'allogreffe connaît une expansion rapide. Il est nécessaire d'assurer une qualité irréprochable à ces produits afin d'éviter la transmission d'agents pathogènes et de conserver leurs propriétés biomécaniques. Pour cela, outre la sélection rigoureuse des donneurs, les greffons fournis par les banques de tissus sont traités par combinaisons de solvants et/ou détergents, associées à des températures élevées et sous pressions positives ou négatives. Une des étapes les plus importantes du traitement consiste en l'élimination de la moelle osseuse et du contenu cellulaire, laissant une matrice osseuse peu immunogène et améliorant la capacité ostéoconductrice du greffon.

Il est certain aujourd'hui que le traitement des allogreffes osseuses permet une réduction exponentielle du risque de contamination par des agents pathogènes viraux ou bactériens. L'altération de leurs propriétés biomécaniques par les traitements est le prix à payer pour garantir la sécurité des greffons. Néanmoins, le développement de l'ingénierie tissulaire pourrait palier à ce déficit dans les années à venir.

**Jury :**

|                        |                                     |                        |
|------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| <u>Pr P. AMBROSINI</u> | <u>Professeur des Universités</u>   | Président et Directeur |
| Dr D. JOSEPH           | Maître de conférences               | Juge                   |
| Dr K. YASUKAWA         | Maître de conférences               | Juge                   |
| Dr E. BÖLÖNI           | Assistant Hospitalier Universitaire | Juge                   |
| Dr F. CAMELOT          | Assistant Hospitalier Universitaire | Juge                   |

Adresse de l'auteur :  
Aline JEANCOLAS  
2 rue de la Plaine  
88190 GOLBEY