

**REPUBLIQUE ALGERIENNE
DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la



Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA

Faculté de Technologie

Département de Génie des

Procédés

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

En vue de l'obtention du diplôme de

Master

En Génie des Procédés des matériaux

Thème

Étude de la bioactivité d'une poudre d'os de poisson

Présenté par :

Ait Habib Lynda

Encadré par :

Mme. Naïma AKILAL

Soutenu devant les membres de jury :

Mr. Y. KHELFAOUI Professeur Université A-Mira de Bejaïa. Président.

Mr. D. AMARI M.C.B. Université A-Mira de Bejaïa. Examineur.

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Dieu merci pour m'avoir donné la santé, la volonté et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas abouti.

Les travaux de ce mémoire ont été réalisés au sein du laboratoire de génie des procédés de l'université de Bejaia.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à ma promotrice Mme. AKILAL Naïma pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail et pour avoir bien voulu m'encadrer et pour ses précieux conseils et orientation. Je la remercie pour avoir su partager son expérience et sa passion.

Je tien aussi à remercier les membres de jury Mr Y. kHELFAOUI et Mr D. AMARI, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

Mes remerciements à Mme Assia HABI, technicienne de laboratoire de chimie de la faculté Sciences Exactes de l'Université de Béjaia.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont apporté aides et conseils durant la réalisation de tout ce travail.

Dédicaces

C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail :

- ❖ A l'être le plus chère de ma vie ma mère qui m'a entouré d'amour et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde.*
- ❖ A mon père que dieu le garde.*
- ❖ A mon cher oncle Abd-El-Karim qui a été toujours là pour moi, et sa femme et leurs enfants : (amine,imane,yasmine, ,kamilia).*
- ❖ A mon cher grand père et ma chère grand-mère que dieu les garde.*
- ❖ A mon cher fiancé pour son soutien et son encouragement. Et sa famille.*
- ❖ Mes chères tantes, naouel,karima,naima,souad et leurs enfants.*
- ❖ Mes chères copines : (Assia,khadija,cilia,lydia,katia,kahina)*
- ❖ Ma promotrice Mme akilal, son soutien et ses compétences m'ont été d'une aide inestimable.*

A toute ma famille et mes amis.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Chapitre I Etude bibliographique

I.1. Le tissu osseux.....	3
I.2. les types du tissu osseux.....	3
I.2.1. L'os compact	3
I.2.2. L'os spongieux	4
I.3. Les fonctions du tissu osseux.....	4
I.3.1.Fonction mécanique.....	4
I.3.2. Fonction métabolique.....	4
I.3.3. Fonction hématopoïétique.....	5
I.4. Composition chimique du tissu osseux.....	5
I.4.1.Matrice extracellulaire.....	5
I.4.2.Minéral hydroxyapatite de calcium.....	6
I.4.3. L'eau.....	6
I.4.4.Cellules osseuses.....	6
I.5.Les pathologies osseuse.....	7
I.5.1.L'ostéoporose.....	7
I.5.2.L'ostéogenèse imparfaite.....	8
I.6.Le remodelage osseux.....	8
I.7.La réparation osseus.....	9
I.7.1. L'auto-cicatrisation.....	9
I.7.2. La greffe osseuse.....	10
I.7.2.1. Les différents types de greffes.....	10
I.8.Les biomatériaux.....	11
I.8.1. Définition général des biomatériaux.....	11
I.8.2. Les domaines d'application des biomatériaux.....	12
I.9.Les biomatériaux de comblement osseux.....	13
I.10.Les substituts osseux.....	14
I.10.1. Les substituts osseux d'origine naturelle.....	14
I.10.2. Les substituts osseux d'origine synthétique.....	16
I.11.Propriété des biomatériaux de comblement osseux.....	18
I.11.1. La biocompatibilité.....	18
I.11.2. La bioactivité.....	19
I.11.3. L'ostéoconduction.....	20
I.11.4. L'ostéoinduction.....	20
I.11.5. La porosité.....	22

Chapitre II. Techniques expérimentales

II.1. Elaboration de la poudre d'os de poisson.....	23
II.2. Le milieu physiologique SBF	23
II.3. Préparation du SBF.....	24
II.4. Préparation des suspensions.....	26
II.5. Spectroscopie Infra Rouge a Transformée de Fourier (IRTF)	26
II.5.1. Préparation des pastilles.....	27
II.6. Diffraction des Rayons X (DRX)	27

Chapitre III. Résultats et discussion

III .1 Caractérisation physicochimique de la poudre d'os de poisson.....	29
III .1.1 Caractérisation de la poudre d'os de poisson par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF)	29
III .1.2 Caractérisation de la poudre d'os de poisson par la DRX	30
III .2 Caractérisation physicochimique de la poudre d'os de poisson après immersion dans le milieu physiologique simulé (SBF)	31
III .2.1 Caractérisation de la poudre d'os de poisson par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) après immersion dans le milieu physiologique simulé (SBF).....	31
III .2.2 Caractérisation par Diffraction des Rayons X (DRX) de la poudre d'os de poisson après immersion dans le milieu physiologique simulé (SBF).....	35

<i>Conclusion.....</i>	38
-------------------------------	-----------

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure I.1.a. Photomicrographie d'un ostéon complet

Figure I.1.b. Schéma d'un ostéon

Figure I.2. Organisation structurale des os

Figure I.3. Les cellules du tissu osseux

Figure I.4. Schéma du remaniement osseux

Figure I.5. Présentation schématique de l'ensemble des facteurs qui influencent la biocompatibilité

Figure I.6. Biomatériaux répertoriés en fonction de leur bioactivité

Figure I.7. Les cellules adéquates

Figure II.1. Principe de fonctionnement du dispositif FTIR

Figure II.2. Appareil shimadzu Irapfinity-1 IR

Figure III.1 Spectre IR de la poudre de l'os de poisson

Figure III.2 Diffractogramme de la poudre de l'os de poisson

Figure III.3 Spectre IR de la poudre de l'os de poisson après quatre jours d'immersion dans le SBF

Figure III.4 Spectre IR de la poudre de l'os de poisson après sept jours d'immersion dans le SBF

Figure III.5 Spectre IR de la poudre de l'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF

Figure III.6 Diffractogramme de la poudre de l'os de poisson après quatre jours d'immersion dans le SBF

Figure III.7 Diffractogramme de la poudre de l'os de poisson après sept jours d'immersion dans le SBF

Figure III.8 Diffractogramme de la poudre de l'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF

Liste des tableaux

Tableau I.1. Quelques domaines d'applications des biomatériaux

Tableau I.2. Quelques biomatériaux naturels et leurs usages

Tableau II.1. concentration ionique (m/p) du Sbf et du plasma sanguin humain

Tableau II.2. Réactifs pour la préparation du SBF (PH=7.4, 1litre) d'après Kokubo.....

INTRODUCTION

Les biomatériaux sont définis comme des matériaux travaillant sous contrainte biologique, voués au remplacement d'une fonction ou d'un organe, ils sont présents dans de très nombreuses stratégies thérapeutiques.

La science des biomatériaux existe depuis très longtemps. Concernant la chirurgie dentaire et orthopédique, les égyptiens essayaient déjà de remplacer une partie ou la totalité des organes défaillants par des substituts (fer, argent et cuivre) et des traces de biomatériaux ont été retrouvées chez leurs momies. Dans le cas de prothèse totale de la hanche, plusieurs tentatives, furent généralement assez catastrophiques. Il faudra attendre les années 50 pour obtenir une prothèse totale susceptible de redonner à la hanche une articulation performante. Deux anglais, K. Mc Kee et J. Charnley sont à l'origine de l'arthroplastie totale moderne. K. Mc Kee et W. Farrar de Norwich publient dès 1951 leurs premiers résultats d'une prothèse totale dont les deux pièces en Cobalt Chrome articulées entre elles sont fixées par du polyméthacrylate de méthyle.

Professeur J. Charnley (à Wrightington) expérimente à partir de 1959 une prothèse fémorale en acier inoxydable articulée avec une cupule en plastique, d'abord du téflon puis à partir de 1962 du polyéthylène de haute densité. Les deux pièces sont fixées à l'os par du ciment acrylique, mais il attendra 1969 pour autoriser la commercialisation de sa prothèse.

L'allongement de la durée de vie et l'exigence d'une bonne qualité de vie, ont conduit à une augmentation rapide du nombre de systèmes implantés. Les progrès de la chirurgie reconstructive, orthopédique et vasculaire sont traduits par une demande de plus en plus pressante de matériaux pour implantation.

Si jusqu'à peu on recherchait des matériaux inertes, qui avaient un minimum d'effets sur le corps humain, on privilégie maintenant des matériaux bioactifs, qui interagissent avec les systèmes biologiques

Introduction

Les chercheurs travaillant sur les biomatériaux de restauration osseuse essaient de concevoir des biomatériaux présentant des propriétés physico-chimiques adéquates, des propriétés mécaniques adaptées au site d'implantation (proche de celle de l'os) et permettant une bonne bioactivité.

Le présent travail consiste à étudier la bioactivité de l'os de poisson, qui est un matériau d'origine naturelle, en vue d'une utilisation comme matériau de comblement osseux.

Ce mémoire est composé en trois chapitres :

Le premier chapitre est une étude bibliographique.

Dans le chapitre II on s'est intéressé à la présentation des techniques expérimentales utilisées pour l'étude de la bioactivité de notre matériau.

Le Chapitre III regroupe les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, ce mémoire s'achève par une conclusion générale et par des perspectives.

Chapitre I

Etude bibliographique

I.1. Le tissu osseux :

Le tissu osseux est un tissu vivant, conjonctif qui se renouvelle régulièrement caractérisé par la nature solide de la matrice extracellulaire (MEC). [1]

I.2. Les types du tissu osseux :

Le tissu osseux se divise en deux différents types anatomiques :

- l'os cortical ou compact.
- l'os spongieux.

I.2.1. L'os compact : [2]

L'os compact est un os lamellaire dont la structure est dense et complexe. L'unité structurale de l'os compact est appelée ostéon ou système de Havers. Chaque ostéon présente une forme cylindrique et se trouve parallèle à l'axe longitudinal de l'os. Il est constitué d'un canal central de l'ostéon, ou canal de Havers, dans lequel passent les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques et les neurofibres. Ce canal est lui-même entouré de lamelles concentriques composées de matrice osseuse extra-cellulaire. Toutes les fibres de collagène présentes à l'intérieur d'une lamelle sont parallèles, mais les fibres collagéniques de deux lamelles adjacentes présentent toujours une orientation différente, ce qui a pour effet d'offrir une résistance importante aux forces de torsion que peut subir l'os.

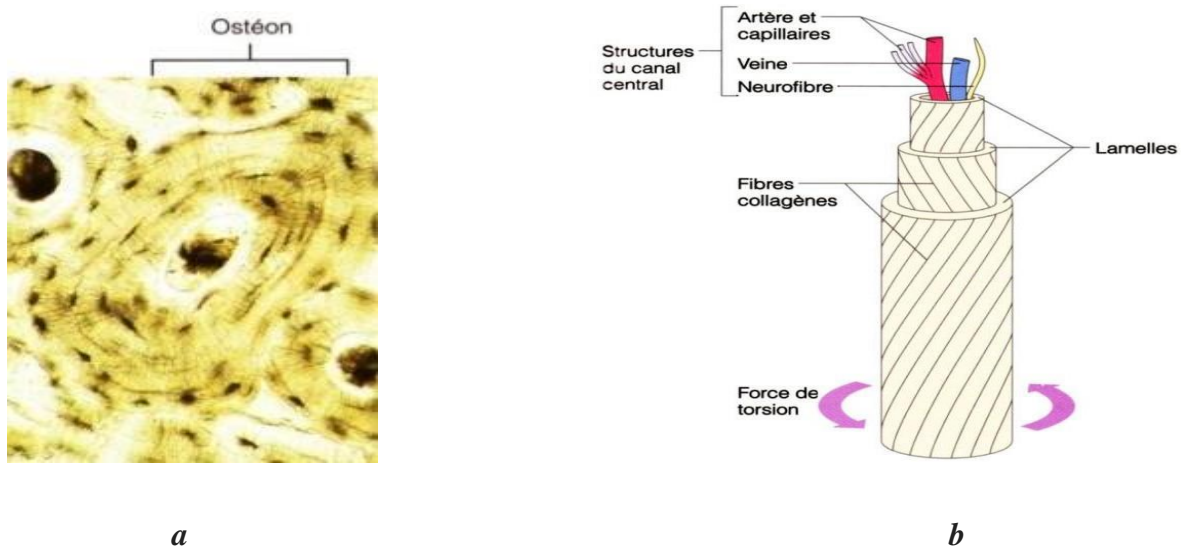


Figure I. 1 : a) Photomicrographie d'un ostéon complet. (MARIEB E. N., 1999) ; b) Schéma d'un ostéon. (MARIEB E. N., 1999)

Chapitre I

Etude bibliographique

I.2.2. L'os spongieux : [3]

Il est formé d'une trame irrégulière de trabécules osseuses. Les espaces situés entre les trabécules sont appelés cavités médullaires et contiennent la moelle osseuse (moelle rouge). Les trabécules sont formées de lamelles osseuses irrégulières entre lesquelles on retrouve des ostéocytes reliés entre eux par des canalicules. L'unité fonctionnelle est un héli-ostéon. Les trabécules forment ainsi un réseau tridimensionnel dont l'orientation est ajustée en fonction des sollicitations mécaniques. La résistance mécanique de l'os spongieux est faible par rapport à celle de l'os compact, raison pour laquelle on ne le retrouve pas dans les zones de forte contrainte mécanique.

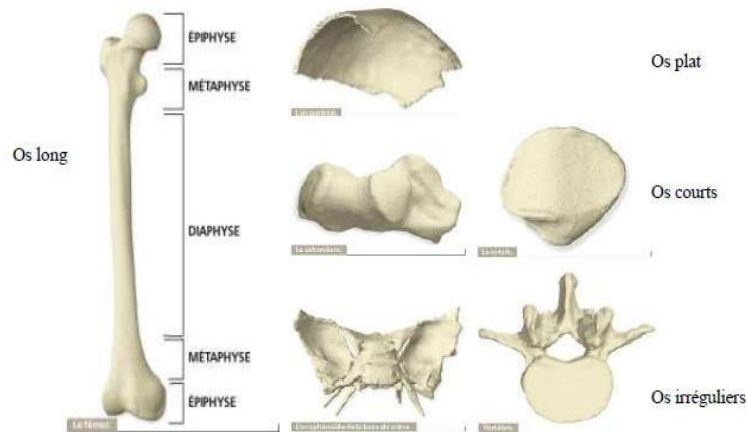


Figure I. 2: Organisation structurale des os [4]

I.3. Les fonctions du tissu osseux: [2]

I.3.1. Fonction mécanique : où le tissu osseux est un tissu résistant, ayant un rôle de soutien du corps, de locomotion et de protection des organes.

I.3.2. Fonction métabolique : dans laquelle le tissu osseux est un tissu dynamique, servant de réservoir de minéraux.

Chapitre I

Etude bibliographique

I.3.3. Fonction hématopoïétique : dans laquelle les os renferment dans leur espace médullaire la moelle hématopoïétique, dont les cellules souches qui sont à l'origine des cellules sanguines.

On peut citer quelques exemples de chaque fonction:

- **Mécanique :** le squelette fournit une charpente au corps.
- **Protectrice :** la boîte crânienne protège le cerveau, la colonne vertébrale la moelle épinière et la cage thoracique le cœur et les poumons.
- **Métabolique :** le squelette assure l'homéostasie des minéraux et peut être assimilé à un réservoir de sels minéraux en particulier de calcium et de phosphore. Selon les besoins, le squelette libère ou incorpore ces minéraux, permettant de maintenir constante la concentration de ces éléments dans le sang et le liquide extracellulaire. On parle d'homéostasie phosphocalcique car l'os renferme 99 % du calcium et 90 % du phosphore de l'organisme.
- **Hématopoïétique :** la moelle osseuse rouge assure la production des cellules sanguines : Leucocytes, érythrocytes et thrombocytes.

I.4. la composition chimique du tissu osseux :

Le tissu osseux est un tissu conjonctif principalement composé de la matrice extracellulaire (32%), de microcristaux minéraux (43%), d'eau (25%) ainsi que de cellules osseuses ostéoblastes, Ostéoclastes et ostéocytes. [5]

I.4.1. Matrice extracellulaire

La MEC du tissu osseux est calcifiée, elle comporte une partie organique et une phase minérale.

✓ **Fraction organique : [6]**

La MEC organique est composée de microfibrilles de collagène (90%), les 10 % restants correspondant à des protéines non collagéniques : protéoglycanes, ostéopontine (reliant l'hydroxy-apatite aux cellules osseuses), ostéonectine (intervenant dans la minéralisation par son affinité pour le collagène I et le calcium), ostéocalcine (marqueur des ostéoblastes matures, intervenant dans la minéralisation), sialoprotéine osseuse et de thrombospondine (permettant l'attache des cellules osseuses à la MEC via un récepteur membranaire de la

Chapitre I

Etude bibliographique

famille des intégrines). Ces constituants sont synthétisés par les ostéoblastes. La MEC osseuse contient des cytokines et des facteurs de croissance sécrétés par les ostéoblastes et jouant un rôle fondamental dans la régulation du remodelage du tissu osseux et de la minéralisation de la MEC osseuse.

✓ *Fraction minérale* : [6]

Elle est constituée de cristaux d'hydroxy-apatite (phosphate de calcium cristallisé) et de carbonate de calcium. Ces cristaux sont visibles en microscopie électronique entre les fibres de collagène et/ou à l'intérieur de celles-ci, sous la forme de petites aiguilles hexagonales. Les ions Ca^{++} et PO_4^{3-} situés en surface des cristaux participent à des échanges rapides avec le liquide interstitiel et donc avec le courant sanguin. L'os, qui contient 98 % du calcium de l'organisme, représente un réservoir de calcium et joue un rôle primordial dans le métabolisme phosphocalcique. La minéralisation de la MEC osseuse rend compte de la dureté de l'os.

I.4.2. Minéral : hydroxy-apatite de calcium : [7]

La matrice minérale est constituée essentiellement de cristaux d'hydroxy-apatite de calcium de formule générale $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ et de densité égale à 3,16 g/cm³. Ces cristaux ont la forme de petites aiguilles déposées de 25-50 nm de longueur et sont associées à la matrice organique.

I.4.3. L'eau : [3]

L'os contient une quantité variable d'eau suivant l'âge et le degré de minéralisation.

I.4.4. Cellules osseuses : [8]

Le tissu osseux est un tissu de soutien en constant renouvellement. Les cellules responsables du remodelage osseux sont des cellules conjonctives qui se différencient au cours de l'ossification. **Les ostéoclastes** sont d'énormes cellules, de 20 à 100 µm de diamètre, plurinucléées (entre deux et dix noyaux). **Les ostéoblastes** sont des cellules de forme cuboïde ayant un grand noyau et qui font partie de la matrice osseuse. Elles régulent le flux de calcium et de phosphate dans l'os. Il existe un troisième type de cellules osseuses appelées ostéocytes. **Les ostéocytes** sont très abondants dans le tissu osseux, on compte 10 fois plus d'ostéocytes que d'ostéoblastes dans un tissu osseux d'adulte. C'est une cellule fusiforme (15 à 30 µm de long et 10 à 15 µm de large), aplatie, au noyau condensé et central (**Figure I. 3**). Elle est

Chapitre I

Etude bibliographique

moins active que l'ostéoblaste mais participe au maintien de la matrice extracellulaire (la matrice osseuse) en élaborant ses constituants ou en la détruisant.

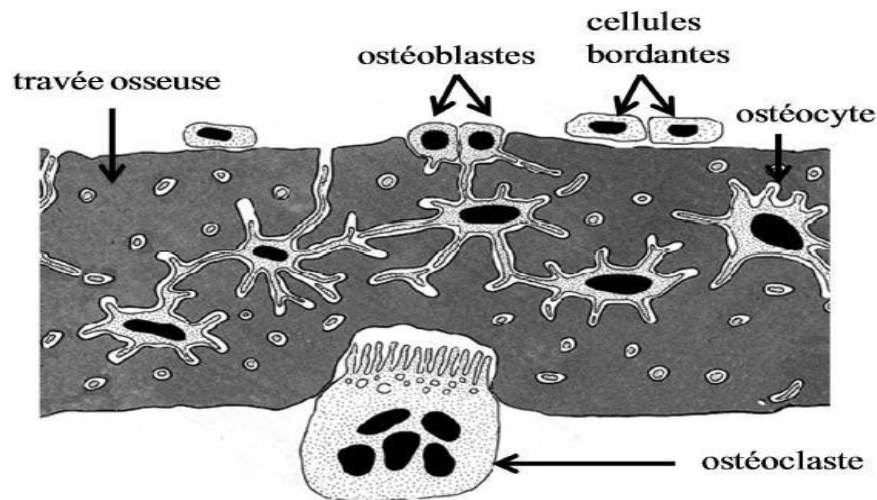


Figure I. 3: Les cellules du tissu osseux [9]

I.5. Les pathologies osseuses : [10]

Les maladies constitutionnelles de l'os sont les maladies osseuses en rapport avec des anomalies du fonctionnement des gènes impliqués dans la formation de l'os, ou avec un dysfonctionnement hormonal, que ce soit dans des composants spécifiques de l'os ou dans des composants communs à d'autres tissus de l'organisme. Certaines de ces maladies ne se manifesteront que très tardivement au cours de la vie, d'autres entraîneront le décès dès les premiers jours de la vie. Parmi ces maladies affectant l'os, l'ostéoporose, et l'ostéogénèse imparfaite. [10]

I.5.1. L'ostéoporose : [11,12]

L'ostéoporose ou déminéralisation osseuse est une maladie chronique caractérisée par une perte de la solidité des os au point qu'un traumatisme anodin ou qu'un événement banal se solde par une fracture.

La définition de l'ostéoporose a évolué au cours des années et elle est actuellement définie par une masse osseuse faible et une détérioration de la microarchitecture osseuse conduisant à une fragilité osseuse et une augmentation du risque de fractures.

Chapitre I

Etude bibliographique

I.5.2. L'ostéogenèse imparfaite : [13]

L'ostéogenèse imparfaite, appelée aussi «maladie des os de verre», est un groupe de maladies caractérisées par une fragilité osseuse excessive, due à un défaut congénital. Tous les types se caractérisent par une extrême fragilité des os, signe le plus typique de la maladie. Cependant, tous les tissus contenant du collagène sont aussi touchés (os, peau, tendon). Il s'agit d'une maladie rare du tissu conjonctif. Sans cause apparente, les os d'une personne affectée par la maladie peuvent se fracturer. Ceci peut arriver à n'importe quel âge, même avant la naissance. Cette maladie se manifeste très différemment d'une personne à l'autre : il ne s'agit pas d'une entité unique, mais plutôt d'un groupe de maladies. Le terme «maladie de Lobstein» est parfois utilisé pour désigner l'ostéogenèse imparfaite. Il est employé plutôt pour les formes modérées alors que les formes sévères et mortelles (latérales) sont parfois appelées «maladie de Porak et Durante». La maladie se révèle à un âge variable selon la gravité (durant la vie intra-utérine pour les formes sévères, à l'âge adulte pour les formes les moins graves). Le plus souvent, on voit apparaître les premières fractures lors de l'apprentissage de la marche.

L'ostéogenèse imparfaite est une maladie héréditaire et n'est pas contagieuse, elle touche chaque personne atteinte de façon différente et se manifeste sous six différentes formes ; elle peut se présenter sous différents déficits génétiques et peut apparaître spontanément et se transmettre à travers plusieurs générations. La plupart du temps, cette maladie est due à une mutation génétique spontanée «de novo», mais la transmission peut aussi être de type autosomique dominant.

I.6. Le remodelage osseux : [14, 15, 16, 17,18]

Tout au long de la vie, l'os est le siège de remaniements permanents (**Figure I. 4**). Ce processus, qui lui permet de préserver ses propriétés biomécaniques et qui participe au contrôle du métabolisme phosphocalcique de l'organisme (3ème fonction du tissu osseux : fonction métabolique), se déroule selon une chronologie bien précise. Celle-ci débute par une phase d'activation des ostéoclastes qui conduit à la résorption osseuse. Puis, suite à une phase de transition (=inversion) conduisant au recrutement et à la différenciation des cellules ostéogéniques en ostéoblastes, une nouvelle matrice ostéoïde se forme (=apposition). Celle-ci, une fois minéralisée, permettra le remplacement plus ou moins complet de l'os. [14]

Chapitre I

Etude bibliographique

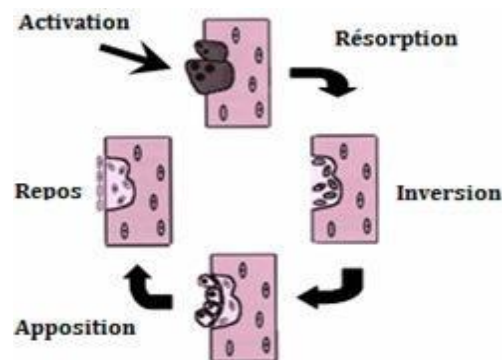


Figure I. 4 : Schéma du remaniement osseux (d'après Baron 1976). [15]

Ce processus de remaniement implique un couplage étroit entre la phase de résorption et la phase de formation. Ainsi, activation-résorption-inversion-formation traduit la succession impérative des événements au cours du remodelage osseux.

Il convient enfin de préciser qu'une séquence de remodelage dure en moyenne de 4 à 6 mois et que c'est sur ce processus que va reposer, entre autre, l'intégration d'une greffe osseuse. D'après Capelli, le bloc osseux greffé subit en effet un remodelage osseux complet, comme les os vascularisés.

1.7. La réparation osseuse :

Les pertes de substance, surtout lorsqu'elles sont de grande taille, mettent souvent à mal les capacités naturelles de réparation de l'os. Alors que le traitement de référence repose sur l'apport d'os autologue, les chirurgiens peuvent être amenés à utiliser, lorsque le recours à l'autogreffe est impossible, des allogreffes ou des substituts osseux. [19]

1.7.1. L'auto-cicatrisation (consolidation osseuse) : [20]

La guérison d'une fracture de l'os se définit comme étant la restauration physiologique du tissu et de la fonction des os : c'est ce qu'on appelle la «consolidation d'une fracture». Pour le fémur elle est de 3 à 4 mois. Elle comprend la formation du «**cal osseux**», ainsi que, le rétablissement normal du tissu osseux.

Ce phénomène physiologique (donc naturel) assurant la réparation, la reconstitution du tissu osseux et ce, en fonction du type d'os fracturé, l'os cortical des diaphyses par exemple, «se répare» sur environ 4 à 5 mois, alors que, l'os spongieux consolide en 1 mois et demi) ; en fonction de l'âge du patient (sauf s'il y a immobilisation insuffisante de l'os fracturé, mais la

Chapitre I

Etude bibliographique

consolidation de la fracture peut aussi être perturbée par une infection lorsqu'il s'agit d'une fracture ouverte par exemple).

I.7.2. La greffe osseuse :[21]

La greffe osseuse est la transplantation dans le corps d'une personne d'un organe nécessaire, soit parce que c'est vital, soit parce qu'il va servir à retrouver une existence normale. Dans le cas d'une greffe osseuse, L'os est le meilleur substitut de comblement osseux. Il est le seul à présenter l'ensemble des propriétés requises pour une parfaite intégration du substitut osseux. Il existe différents types de greffes osseuses, qui peuvent être classées selon l'origine du greffon.

I.7.2.1. Les différents types de greffes : [22, 14,23]

Face à un déficit osseux, nous avons le choix de la greffe osseuse autogène, l'allogreffe, la xéno greffe ou les matériaux alloplastiques.

Autogreffe :

Une autogreffe est une greffe où donneur et receveur sont une seule et même personne. Une greffe osseuse autogène est donc une autogreffe qui consiste à prélever du tissu osseux et à le greffer, cela sur un même individu. Largement utilisée, cette greffe représente une technique des plus intéressantes en raison de son potentiel ostéogénique.

Allogreffe :

L'allogreffe est une greffe prélevée chez un individu et implantée chez un autre individu de la même espèce. Les allogreffes sont des tissus d'origine humaine issus d'os longs (généralement des têtes fémorales congelées à -197°C dans de l'azote liquide), prélevés sur cadavres ou sur donneurs vivants et subissant un certain nombre de traitements. Par rapport au greffon d'os autogène, les allogreffes subissent tout d'abord un traitement d'élimination de moelle osseuse, de façon à les rendre indemnes d'agents infectieux, puis une congélation et enfin une lyophilisation qui détruit les cellules et réduit l'antigénicité du greffon.

La xéno greffe :

La xéno greffe est une greffe prélevée chez une espèce et implantée chez une espèce différente. En général le greffon correspond à un prélèvement animal, le plus souvent des bovidés. Les xéno greffes sont donc des matrices osseuses issues de la portion anorganique de l'os animal au moyen d'un traitement thermique éliminant la trame collagénique. Afin de supprimer les difficultés liées à l'antigénicité, un traitement doit ensuite être réalisé. Divers

Chapitre I

Etude bibliographique

traitements de greffon existent. Il s'agit généralement de traitements d'élimination cellulaire, de délipidation, d'inactivation virale et de prion, et de stérilisation par irradiation. La xéno greffe déprotéinée limite de cette manière les risques de contamination et montre, par la même occasion, une réponse immunitaire réduite ; elle perd en contrepartie toute propriété ostéoinductive. Cette greffe possède uniquement un pouvoir ostéoconducteur.

La greffe alloplastique : [23]

La greffe alloplastique correspond à la greffe d'un matériau d'origine chimique ou synthétique. Les matériaux alloplastiques sont des matériaux synthétiques, obtenus à partir de différentes sources possibles et considérés comme des céramiques bioactives à base de phosphate ou de carbonate de calcium. Ils peuvent également être constitués de silicate, comme les bios verres, avec des proportions de calcium et de phosphate identiques à celles du tissu osseux. Ces matériaux synthétiques sont soit anorganiques, soit organiques, c'est-à-dire issus de substances naturelles complètement modifiées. Ils doivent être biocompatibles, bio réactifs, autrement dit capables d'établir des liaisons chimiques avec le tissu osseux et ne pas induire de contamination infectieuse ou de risque immunologique. Les matériaux alloplastiques n'ont pas de propriétés ostéoinductrices par eux-mêmes, ni de propriétés ostéogéniques. Ces biomatériaux de comblement sont biologiquement inertes et ne servent, au mieux, que de support passif à la réparation osseuse. Ils ne sont qu'ostéoconducteurs.

I.8. Les biomatériaux:

I.8.1. Définition général des biomatériaux : [24]

Il ne peut sans doute pas exister une définition totalement satisfaisante des biomatériaux. La Conférence de Chester de la Société Européenne des Biomateriaux, dite conférence du consensus a retenu, en 1986, la définition suivante : "matériaux non vivants utilisés dans un dispositif médical destiné à interagir avec les systèmes biologiques.

Les plus grandes catégories de biomatériaux synthétiques qui peuvent être envisagées sont :

- Les métaux et alliages métalliques,
- Les polymères
- Les céramiques au sens large

Chapitre I

Etude bibliographique

I.8.1. Les domaines d'application des biomatériaux : [25,26]

Les biomatériaux sont aujourd'hui utilisés dans de nombreux domaines thérapeutiques

Les tableaux ci-après représentent les domaines d'applications des biomatériaux :

Tableau I.1 : Quelques domaines d'application des Biomatériaux : [25]

Catégories	Domaines d'application
Chirurgie orthopédique	Prothèses articulaires (hanche, coude genou, poignet), orthèses, ligaments, et tendons artificiels, cartilage, matériel de remplacement ou comblement osseux, chirurgie de rachis, réparation de fractures (vis, plaques, clous, broches),
Endocrinologie	Pancréas artificiel, pompes portables
Cardiovasculaire	Valve cardiaque, matériel pour circulation extracorporelle, cœur artificiel, assistance ventriculaire, stimulateurs cardiaques, prothèses et endoprothèses (stents) vasculaires, matériels pour angioplastie liminale, cathéters
Radiologie et imagerie	Produits de contraste, produits pour embolisation, produits pour radiologie interventionnelle
Chirurgie plastique et reconstructive	Matériaux et implants pour chirurgie esthétiques, drains de chirurgie
Ophthalmologie	Implants, lentilles, coussinets de récupération, produits visqueux de chambre Postérieure
Odontologie et stomatologie	Matériaux de restauration, comblement dentaire et osseux, traitements prophylactiques, orthodontie, traitement du parodonte et de la pulpe, Implants,

Chapitre I

Etude bibliographique

	reconstruction maxillo-faciale
Urologie et néphrologie	Dialyseurs, poches, cathéters et tubulures pour dialyse, rein artificiel portable, prothèses, matériaux pour traitement de l'incontinence
Autres domaines	Systèmes de libération contrôlée de médicaments ou de gènes, biocapteurs, encapsulation cellulaire, néo-intestin

Tableau I.2 : Quelques biomatériaux naturels et leur usage [26]

Biomatériaux « Naturels »	Utilisations
Le collagène et la gélatine	La chirurgie esthétique, pansements, ingénierie tissulaire, échafaudage cellulaire
La chitine	Plaies pansements, échafaudage cellulaire
Céramique ou céramique déminéralisée	Greffon osseux substitut
Alginate	cellule encapsulation
L'acide hyaluronique	La prévention des adhérences postopératoires, lubrifiant ophtalmique et orthopédique, échafaudage cellulaire

1.9. Les biomatériaux de comblement osseux : [27]

Les biomatériaux de comblement peuvent être utilisés sous forme de granules ou de petits fragments pour remplir de petits défauts osseux. Ils peuvent être préparés avec un broyeur pour les autogreffes, les biomatériaux synthétiques ou les allogreffes sont fournis sous forme de granules par l'industrie. L'arrangement tridimensionnel (3D) des biomatériaux granulaires a été peu étudié. Ils occupent l'espace 3D de manière à créer une porosité devant permettre l'invasion de cellules vasculaires et osseuses si les diamètres de pores sont suffisants.

I.10. Les substituts osseux : [28]

Substitut osseux : « biomatériau d'origine humaine, animale, végétale ou synthétique destiné à l'implantation dans la perspective d'une reconstitution du stock osseux par le renforcement d'une structure osseuse ou le comblement d'une perte de substance osseuse.

Les substituts osseux servent à combler un défaut après un traumatisme ou une chirurgie, et apportent un support mécanique et une éventuelle cicatrisation osseuse. Ils constituent une alternative à l'autogreffe osseuse, qui reste la référence malgré le risque de complications postopératoires. Le choix d'un substitut osseux par le clinicien est alors fonction du volume osseux nécessaire, des propriétés du matériau utilisé (temps de durcissement, propriétés mécaniques, résorbabilité, etc.) et de sa manipulation (injectabilité, malléabilité, etc.).

I.10.1. Les substituts osseux d'origine naturelle : [29,30]

a) Allogreffe :

Les banques d'os sont utilisées en Odonto-Stomatologie depuis les années 1970, et en chirurgie orthopédique depuis plus de 50 ans.

Inconvénients :

- Transmission possibles : pathologies bactérienne ou virales (VIH, hépatite) ;
- Altération de l'ostéo-induction par stérilisation (rayons gamma) ;
- Réaction immunitaire, même si le greffon est irradié.
- ostéo-conduction aléatoire au sein du greffon.

b) Xéno greffe :

Les origines sont diverses : corail, seiche, mammifères (cheval, vache, cochon, mouton). L'origine bovine est la plus fréquente. La structure (porosité) est proche de celle de l'os humain, elle réalise l'intérêt de ces xéno greffes. Leur ostéointégration dépend du potentiel ostéogène du site receveur. Leurs propriétés biomécaniques sont intéressantes car quasiment identiques à celle du tissu humain.

Leur indication réside dans les zones soumises à des contraintes (propriétés mécaniques intéressantes), mais non utilisables pour les grandes pertes de substance. Dans la classification

Chapitre I

Etude bibliographique

des tissus et organes d'origine bovine en fonction de leur infectiosité (classification O.M.S.), l'os est classé dans la catégorie IV (pas d'infection détectable). Le risque de transmission (virus, prions) est faible, mais non nul. Les traitements consistent en l'élimination des débris cellulaires, la déprotéinisation, la délipidation, l'inactivation des virus et des prions, une stérilisation par irradiation.

c) Les carbonates de calcium :

Origines : corail, nacre, seiche...etc

Le corail naturel est purifié (élimination de la matrice organique) et stérilisé. Ce matériau correspond à un carbonate de calcium, de formule CaCO_3 , cristallisé sous forme d'aragonite. Différentes espèces sont utilisées selon leurs caractéristiques structurales et les indications cliniques : le corail *Porites lutea* est préconisé en Odontologie. D'une porosité de 100 à 200 microns, similaire à celles de l'os spongieux, le carbonate de calcium est biocompatible et résorbable. La cinétique de résorption dépend de l'espèce, du site d'implantation, du volume, de la taille et du volume des pores. Le processus est lié à l'action des cellules et des ostéoclastes, ainsi qu'à l'action des fluides interstitiels (dissolution de surface).

Exemple : BIOCORAL®. Il possède une résistance à la compression importante, mais est fragile et possède une faible résistance à la traction. Récemment, il a été employé comme support de facteurs ostéoinducteurs (BMP (bone morphogenetic protein ou protéine osseuse morphogénétique)) et de facteurs de croissance

I.10.2. Les substituts osseux d'origine synthétique :

La CNEDiMETS (la commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé) définit ces substituts comme ne comportant aucun dérivé ou tissu d'origine biologique et n'étant pas issus de tels dérivés [31]. Ils constituent 60 % du marché des substituts osseux [32]. Le risque de transmission de maladie est nul et ils peuvent être utilisés pour des nécessités éthiques ou religieuses.

Leurs caractéristiques (composition chimique, porosité, rapport entre les phases cristallines et amorphes, morphologie des particules et des blocs) et leurs propriétés peuvent être adaptées, dans une certaine mesure, pour une indication clinique spécifique [33].

a) Sulfate de calcium : [34, 35,36]

Ce substitut osseux synthétique, le plus ancien, est utilisé depuis la fin du XIX^e siècle, Le sulfate de calcium hemihydrate, de formule CaSO_4 , Dès 1959, Peltier le décrit comme biocompatible, biorésorbable et radio-opaque . Le sulfate de calcium inorganique est ostéoconducteur mais il présente une faible résistance mécanique.

b) Les bioverres : [37, 38, 39, 40,35]

Le premier verre bioactif, initialement nommé 45S5 puis Bioglass®, a été inventé par l'Américain L. Hench en 1969. De formule chimique $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$, les bioverres sont composés de calcium, de phosphore et de dioxyde de silicium. Des bioverres résorbables ou non peuvent être obtenus en fonction de la proportion des éléments qui les composent. Les bioverres sont biocompatibles, durs, granuleux et non poreux. Ils possèdent des propriétés d'ostéointégration et sont ostéoconducteurs. Leurs propriétés ostéogéniques seraient dues aux produits de dissolution et à la re-précipitation en apatites biologiques qui s'effectue à leur surface, permettant de stimuler les cellules ostéogéniques. Leur structure offre une résistance à la compression, mais elle ne fournit pas de support structurel. À terme, le bioverre ne peut être retiré sans fracture de l'os.

c) *Phosphate de calcium* : [35, 41, 42,39]

Ce sont des céramiques bioactives qui réalisent des échanges entre les cellules et les fluides biologiques. Leur composition chimique est similaire à celle de la phase minérale de l'os et fournissent un échafaudage ostéoconducteur. Les céramiques, cassantes, présentent une faible résistance mécanique (à la traction et au cisaillement). Elles sont utilisées majoritairement pour le comblement. Elles sont disponibles sous forme de blocs, poreux ou non, présentant diverses tailles, ou de granulés. Elles sont préparées à partir de poudres synthétisées chimiquement dont les cristaux à grains sont agrégés par frittage à haute température.

Les céramiques sont biocompatibles. Pour la plupart, elles ne présentent pas, à elles seules, d'activité ostéogénique. Elles sont ostéoconductrices en fournissant un support pour les cellules osseuses et les protéines morphogénétiques osseuses. Au contact avec de l'os sain, un tissu ostéoïde se forme puis se minéralise, avec l'acquisition progressive d'une résistance mécanique semblable à celle de l'os.

Parmi les céramiques phosphocalciques, on retrouve notamment :

➤ **L'hydroxyapatite (HA) : [43]**

Ce sont des xenogreffes céramisées à très haute température et transformées en hydroxyapatites biologiques, minéral constitutif de l'os. Matériaux ostéoconducteurs, biocompatibles, de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, peu résorbé, voire non résorbable.

➤ **Le phosphate tricalcique (TCP) : [42, 44, 33,45]**

De formule $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, sous la forme cristalline α ou β^4 , et de rapport Ca/P de 1,5. Le TCP le plus utilisé est le β -TCP. Sa résistance à la compression est faible. Il s'agit d'une céramique poreuse qui se transforme partiellement en hydroxyapatite *in vivo*. Le TCP est considéré comme ostéoconducteur et présente une résorption rapide par solubilisation des ions calcium et phosphate, qui sont utilisés dans la néoformation osseuse. L'espace ménagé par la résorption du TCP permet le dépôt d'os nouveau.

➤ **Les céramiques biphasées (BCP) : [43]**

Associant l'HA et le TCP, généralement du β -TCP. À noter que l'HA ou le β -TCP purs sont difficiles à préparer en raison de leur contamination, lors de la synthèse, par d'autres phases minérales, du β -TCP par l'HA, et de l'HA par le β -TCP. Rares sont les

produits monophasés réellement purs qui soient commercialisés. Les BCP allient les propriétés physico-chimiques de chacun des composés : une forte bioactivité, due à la plus grande solubilité du TCP ; une stabilité à long terme nécessaire à l'adhérence cellulaire, à la mise en place du néo-tissu osseux, et le maintien de l'espace grâce à la non-résorbabilité de l'hydroxyapatite . Ainsi, le ratio HA/TCP peut être modulé selon la vitesse de résorption et la substitution osseuse souhaitée. C'est le concept de bioactivité contrôlée

➤ **Les ciments de phosphate de calcium injectables et solutions injectables : [46, 47,48]**

Ces substituts se présentent sous forme d'une pâte injectable obtenue par le mélange de poudre de phosphates de calcium (pouvant être de l'hydroxyapatite, du β -TCP et/ou phosphate dicalcique dihydraté dit « brushite » en proportions variables), avec une solution aqueuse. La solidification du mélange s'opère après l'injection, en quelques minutes, avec la formation d'une apatite carbonatée de faible cristallinité similaire à celle trouvée dans la phase minérale de l'os .Ces substituts présentent deux inconvénients majeurs. En effet, leur injectabilité varie considérablement en fonction de la composition de la poudre de ciment, du rapport poudre/liquide, du temps après le début du mélange poudre/liquide .L'absence de porosité adéquate retarde d'autre part la résorption du matériau et la croissance cellulaire. Certains fabricants incorporent des microparticules d'acide poly-lactique-glycolique à dégradation rapide afin d'améliorer la résorption.

I.11. Propriétés des biomatériaux de comblement osseux :

I.11.1. La biocompatibilité : [49, 50,51]

La biocompatibilité est la capacité d'un matériau à être accepté par un être vivant. Elle se définit aujourd'hui, comme le contrôle permanent des influences réciproques entre l'organisme et le matériau de façon que l'un n'ait pas d'effets défavorables sur l'autre (aucun phénomène de rejet ni de toxicité n'est observé).

□ La biocompatibilité d'un matériau est régie par deux mécanismes :

- Les effets du matériau sur le milieu ;
- Et les effets du milieu sur le matériau.

Les principaux facteurs qui influencent la biocompatibilité sont :

- La composition chimique du matériau ;
- Et leurs propriétés physiques tels que (la topographie de surface, la géométrie, l'énergie de surface...).

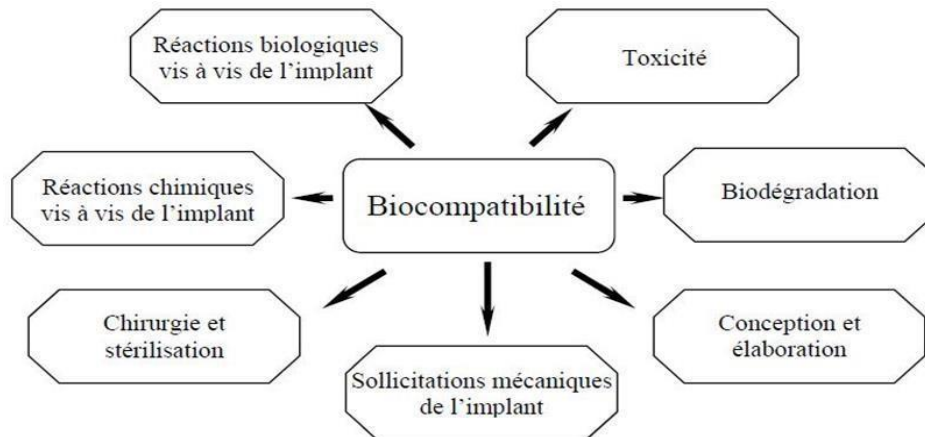


Figure I.5 : Présentation schématique de l'ensemble des facteurs qui influencent la biocompatibilité [51].

I.11.2. La bioactivité : [50,52]

Selon Hench (1990) la bioactivité désigne les caractéristiques d'un matériau lui permettant d'obtenir une liaison avec les tissus environnants sans interposition d'une couche fibreuse (contact direct entre le tissu et le matériau). Elle dépend directement des propriétés chimiques et physico-chimiques du matériau, et s'oppose à la bio-inertie (aucune réaction n'a lieu entre le matériau et les tissus vivants, la couche fibreuse d'encapsulation est de faible épaisseur, voire difficilement observable).

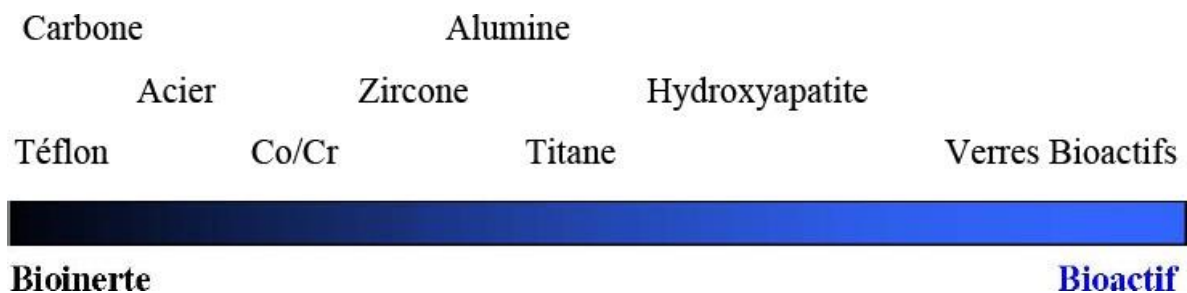


Figure I.6 : Biomateriaux répertoriés en fonction de leur bioactivité [52].

I.11.3. ostéoconduction : [53, 54,55]

Ce terme signifie que l'os se développe sur une surface. Une surface ostéoconductrice est une surface qui permet la croissance osseuse sur sa surface ou dans des pores, des canaux ou des tuyaux Wilson-Hench a suggéré que l'ostéoconduction est le processus par lequel l'os est dirigé de manière à se conformer à la surface d'un matériau. Cependant, Glantz souligné que cette façon de considérer la conduction osseuse est quelque peu limitée, car la définition originale n'a que peu ou pas de rapport avec les biomatériaux. Les matériaux d'implant à faible biocompatibilité tels que le cuivre, l'argent et le ciment osseux présentent peu ou pas d'ostéoconduction.

L' ostéoconduction et son importance pour la guérison osseuse : [56,57]

La croissance osseuse sur la surface d'un implant dépend de l'action de cellules osseuses différenciées. Ces cellules peuvent provenir soit dans des préostéoblastes/ostéoblastes préexistants qui sont activés par un traumatisme, soit de cellules recrutées à partir de cellules mésenchymateuses primitives par ostéoinduction. Dans la situation pratique l'ostéoconduction dépend donc dans une assez large mesure d'une ostéoinduction préalable. Le débat sur la question de savoir si un biomatériau particulier agit comme ostéoinducteur peut être un peu théorique, puisque la lésion au moment de la mise en place est suffisante pour recruter des éléments précédemment indifférenciés.

I.11.4. L'ostéoinduction : [58]

L'ostéoinduction est le processus par lequel l'ostéogenèse est induite. C'est un phénomène régulièrement observé dans tout type de processus de cicatrisation osseuse. L'ostéoinduction implique le recrutement de cellules immatures et la stimulation de ces cellules pour se développer en préostéoblastes. Dans une situation de cicatrisation osseuse telle qu'une fracture, la majorité de la cicatrisation osseuse dépend de l'ostéoinduction.

L'ostéoinduction et son importance pour la guérison osseuse : [59, 56,57]

Outre les cellules osseuses différenciées, c'est-à-dire les ostéoblastes, les ostéoclastes et les ostéocytes, les os et les tissus adjacents contiennent un certain

nombre de cellules moins différenciées. Ces cellules indifférenciées sont de la plus haute importance pour la bonne cicatrisation des os ou l'ancrage des implants, car elles peuvent être recrutées pour former des cellules ostéoprogénitrice et, avec le temps, se transformer en cellules osseuses différenciées (Figure 1. 10). Avec un stimulus approprié (l'agent inducteur), une cellule mésenchymateuse indifférenciée peut être transformée en préostéoblaste, un processus qui constitue l'induction osseuse.

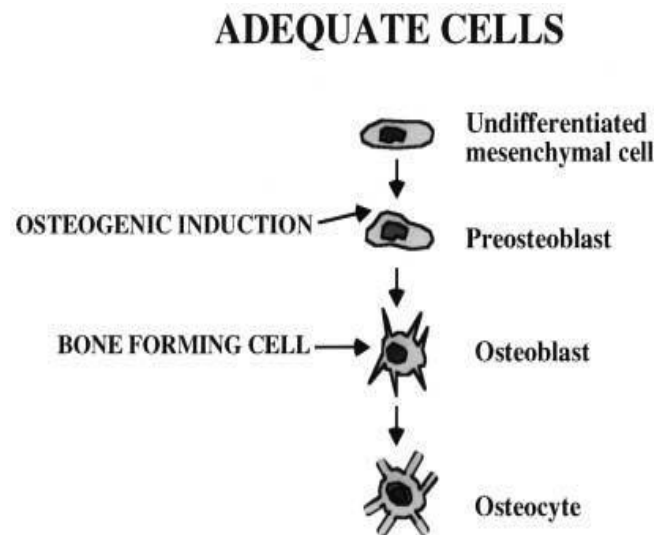


Figure I.7 : Au moment de la blessure, les cellules adéquates pour la réparation osseuse sont à la fois cellules osseuses indifférenciées et différenciées. [59]

La majorité de l'os nouvellement formé dépend des cellules indifférenciées qui sont induites à devenir des préostéoblastes.

L'ostéoinduction, c'est-à-dire le recrutement de cellules immatures et la stimulation de ces cellules à se développer en préostéoblastes, est un mécanisme biologique de base qui se produit régulièrement, par exemple dans la guérison des fractures et l'incorporation des implants. Même si les ostéoblastes préexistants (c'est-à-dire avant la blessure) peuvent contribuer à la formation d'un nouvel os, on s'accorde généralement à dire que ces cellules préexistantes ne contribuent qu'à une partie mineure de l'os nouveau nécessaire dans une situation de guérison d'une fracture.

I.11.5. la porosité : [60]

La porosité correspond au rapport du volume des espaces vides de matière sur le volume global du matériau. Elle est exprimée en %.

La porosité est dite continue si les pores sont interconnectés entre eux et ouverte si les pores débouchent à l'extérieur. La quantification de la porosité dépend des matériaux considérés. En ce qui concerne les matériaux utilisés comme substituts osseux, on parle de macroporosité lorsque les pores font plus de 100 μm de diamètre et de microporosité si leur diamètre est inférieur à 5 μm et de mésoporosité quand les pores ont un diamètre intermédiaire entre les deux valeurs qui précèdent. Les rapports respectifs de la microporosité et de la macroporosité ainsi que la taille des pores et leur interconnection conditionnent les propriétés mécaniques et la repousse osseuse dans le matériau.

Chapitre II

Techniques expérimentales

II.1. Elaboration de la poudre d'os de poisson

Les os de poisson ont été lavés à l'eau distillée, puis séchés dans une étuve à 37°C, ensuite broyés à l'aide d'un mortier. Enfin, le tamisage nous a permis d'obtenir une poudre d'une granulométrie inférieure ou égale à 250µm.

II.2. Le milieu physiologique SBF (simulated body fluid): [61, 62,63]

Le SBF « Simulated Body Fluid » est un milieu physiologique simulé dont la composition ionique vise à mimer celle du plasma sanguin humain, avec un ph variant de 7.2 à 7.4

Le plasma sanguin est la partie liquide du sang, de couleur jaunâtre, dans laquelle baignent les cellules. Le plasma constitue environ 55% du volume sanguin totale et 5% environ du volume des liquides de l'organisme humain.

Le tableau ci-après regroupe Concentrations ioniques (mM) du SBF et du plasma sanguin.

Tableau II.1: Concentrations ioniques (m/p) du SBF et du plasma sanguin

Ion	Simuler un fluide corporel	Plasma sanguin
Na ⁺	142,0	142,0
K ⁺	5.0	5.0
mg ²⁺	1.5	1.5
Ca ²⁺	2.5	2.5
Cl ⁻	148,8	103,0
HCO ₃ ⁻	4.2	27,0
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,5

D'après le tableau on remarque une concentration totale en ions dans la SBF est égale à celle du plasma sanguin, à l'exception de la concentration de HCO₃⁻ (sa concentration dans le plasma est plus élevée par rapport à sa concentration dans la solution SBF) et la concentration du Cl⁻ (sa concentration dans la solution SBF est plus élevée par rapport à sa concentration dans le plasma sanguin). Le carbonate de calcium se précipite dans le SBF donc la diminution du HCO₃⁻ empêche cette précipitation. Pour la concentration en ions Cl⁻,

Chapitre II

Techniques expérimentales

aucune modification de la stabilité du SBF n'a été observée si on en introduit une teneur identique à celle du plasma humain dans le SBF.

II.3. Préparation du SBF : [63]

Le tableau 2.2 regroupe les réactifs nécessaires pour la préparation du milieu physiologique simulé (SBF).

Tableau II.2 : Réactifs nécessaires pour la préparation de la solution SBF (ph=7.4)

Ordre	Réactifs	Quantité
1	NaCl	7.996 g
2	NaHCO ₃	0.350 g
3	KCl	0.224 g
4	K ₂ HPO ₄ -3H ₂ O	0.228 g
5	MgCl ₂ (6H ₂ O)	0.305 g
6	1M-HCl	40ml
7	CaCl ₂	0.278 g
8	Na ₂ SO ₄	0.071 g
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6.057 g
10	1M-HCl	utilisé pour ajuster le pH

Lors de nos manipulations nous avons utilisé :

-Potassium phosphate dibasic (K₂HPO₄) au lieu du Potassium Phosphate dibasictrihydrate (K₂HPO₄-3H₂O).

-Chlorure de Calcium dihydrate (CaCl₂-2H₂O), au lieu du Chlorure de Calcium (CaCl₂)

Un nouveau calcul des nouveaux dosages était alors nécessaire:

- Potassium phosphate dibasic(K₂HPO₄) :

Les masses molaires :

$$M(\text{K}_2\text{HPO}_4-3\text{H}_2\text{O}) = 228.18 \text{ g/mol.}$$

Chapitre II

Techniques expérimentales

$M(\text{K}_2\text{HPO}_4) = 174.18 \text{ g/mol}$.

Masse de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dans la formule de Kokubo : $m(\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 0.228 \text{ g}$.

En utilisant la règle de trois nous avons obtenu la masse de K_2HPO_4 à utiliser :

$M(\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}) \quad \longrightarrow \quad M(\text{K}_2\text{HPO}_4)$

$m(\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}) \quad \longrightarrow \quad m(\text{K}_2\text{HPO}_4)$

$m(\text{K}_2\text{HPO}_4) = (m(\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}) * M(\text{K}_2\text{HPO}_4)) / (M(\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}))$

$m(\text{K}_2\text{HPO}_4) = 0.174 \text{ g}$

- Chlorure de Calcium dihydrate ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Même procédure que la précédente :

$m(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 0.368 \text{ g}$

Avec :

$M(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 147.01 \text{ g/mol}$

$M(\text{CaCl}_2) = 110.98 \text{ g/mol}$

$M(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) \quad \longrightarrow \quad M(\text{CaCl}_2)$

$m(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) \quad \longrightarrow \quad m(\text{CaCl}_2)$

$m(\text{CaCl}_2) = (m(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) * M(\text{CaCl}_2)) / (M(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}))$

$m(\text{CaCl}_2) = 0.278 \text{ g}$

Nous avons versé 700ml de l'eau distillé dans une fiole de 1 litre, ensuite nous avons introduit les différents réactif dans l'ordre comme indiqué dans le tableau, puis on a agité à l'aide d'un agitateur magnétique pour dissoudre les réactifs un par un ; nous avons ajusté le volume totale de la solution à 1000ml avec du l'eau distillé, enfin nous avons ajusté le ph de la solution à 7.39 à l'aide du HCL (1M).

Chapitre II

Techniques expérimentales

II.4. Préparation des suspensions :

L'étude de la bioactivité de notre poudre a été réalisée *in vitro* par immersion de cette dernière dans un milieu physiologique stimulé (SBF) à raison de 1 mg / ml à température ambiante pour des intervalles de temps, tout en renouvelant le SBF tous les deux jours.

Après les périodes d'immersions prédéterminées, les poudres ont été retirées de la solution SBF, légèrement rincées avec de l'eau distillée et séchées à température ambiante avant l'analyse par FTIR, DRX.

II.5. Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) : [64,65]

La Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Red spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par l'échantillon à analyser. Cet échantillon peut être solide, liquide ou gazeux. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, de déterminer la présence de certaines fonctions chimiques présentes dans la matière.

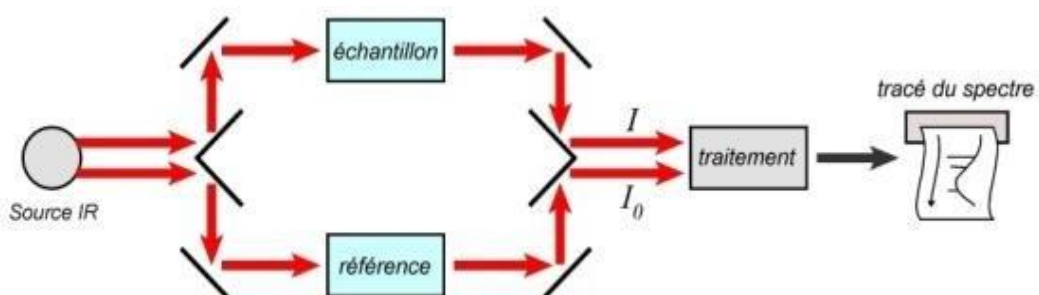


Figure II.1: Principe de fonctionnement du dispositif FTIR

Un spectromètre à transformée de Fourier comporte essentiellement cinq parties :

- Une source lumineuse,
- Un dispositif permettant de générer les interférences (l'interféromètre).
- Un compartiment d'échantillon qui permet d'accueillir plusieurs types d'accessoires dépendant du mode des mesures et de la nature de l'échantillon.

Chapitre II

Techniques expérimentales

- Un détecteur ou capteur photosensible : les détecteurs les plus utilisés sont : les détecteurs (DTGS) et les détecteurs (MCT) à l'azote liquide.
- Le convertisseur qui transforme le signal analogique en un signal numérique

Afin de déterminer les groupements fonctionnels de notre poudre à l'état brut et après différents temps d'immersion, nous avons utilisé un Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier de marque « SHIMADZU IRAffinity-1 » (Figure II. 2).

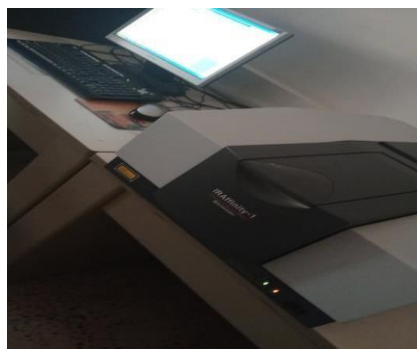


Figure II. 2 : Appareil SHIMADZU IRAffinity-1

II.5.1. Préparation des pastilles

Pour chaque échantillon, nous avons pesé 80mg du KBr sec et 2mg de poudre. Le mélange est broyé puis compacté à l'aide d'une presse hydraulique sous 80kN et sous vide pendant deux minutes.

Pourquoi on a utilisé le KBr ? : Le KBr est une molécule qui n'absorbe pas les rayons infrarouge (elle possède une fenêtre de transparence aux IR). Elle permet ainsi de limiter les effets de diffusion de rayonnements dans l'échantillon

II.6. Diffraction des Rayons X (DRX) : [66]

La diffraction des rayons X est une technique d'analyse structurale non destructive. Elle permet de fournir des données sur la structure cristalline des matériaux et sur leurs orientations préférentielles. Elle permet également d'identifier les phases cristallines présentes dans un échantillon et de remonter à la taille des cristallites. Son principe de base est fondé sur la diffusion élastique du rayonnement X par un matériau cristallin.

Chapitre II

Techniques expérimentales

Le diffractogramme (spectre) est obtenu en enregistrant l'intensité détectée en fonction de l'angle de déviation 2θ du faisceau par rapport au faisceau incident. La relation entre l'angle de diffraction et la distance interatomique du réseau cristallin est donnée par la relation de BRAGG :

$$\lambda \cdot n = 2 \cdot d \cdot \sin\theta$$

Où :

- d : la distance entre deux plans réticulaires
- θ : Angle d'incidence des rayons X
- n : ordre de la diffraction
- λ : longueur d'onde de diffraction

Pour déterminer les phases cristallines présentes dans notre poudre à l'état brut et après différents temps d'immersion, nous avons analysé ces dernières par Diffraction aux Rayons X.

III .1. Caractérisation physicochimique de la poudre d'os de poisson

III .1.1. Caractérisation de la poudre d'os de poisson par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF)

Le spectre IRTF de la poudre de poisson à l'état brute est présenté dans la figure ci-après

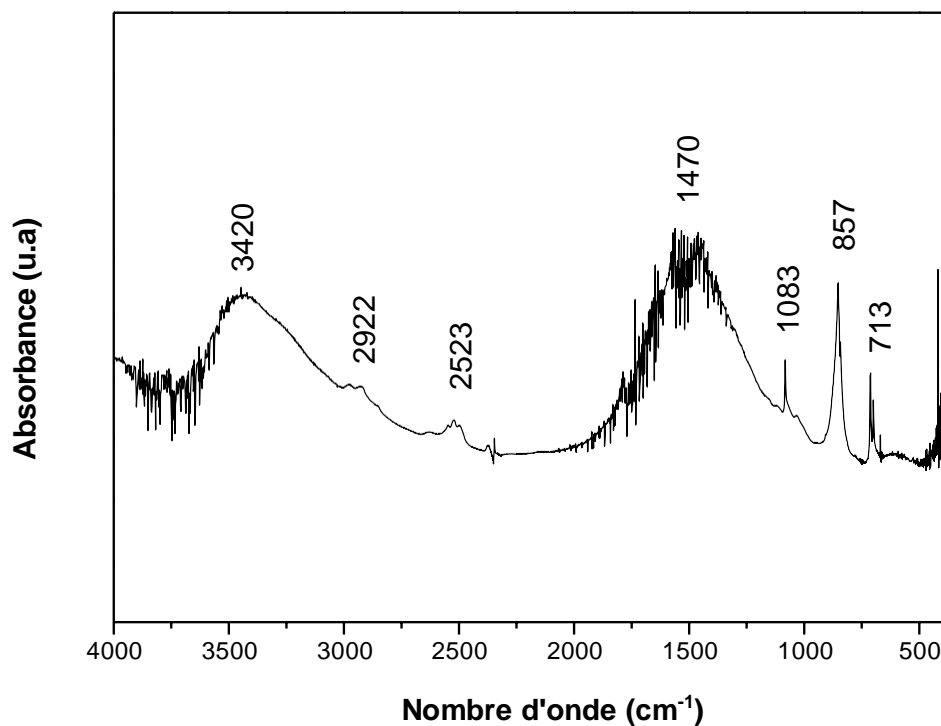


Figure III.1 : Spectre IR de la poudre de l'os de poisson

La Figure III.1 présente le spectre IRTF de la poudre d'os de poisson dans la gamme de 4000-400 cm⁻¹.

- On observe sur le spectre les bandes d'absorption suivantes :
- 713, 857, 1083, 1470 cm⁻¹ qui correspondent aux liaisons CO₃²⁻
- 2523, 2922 et 3420 cm⁻¹ sont respectivement attribuées aux groupements OH d'acide carboxylique, C-H et OH et / ou NH

Les bandes d'absorption présentes sur le spectre IRTF de la poudre de poisson sont des bandes caractéristiques d'aragonite [67-70]

III .1.2. Caractérisation de la poudre d'os de poisson par Diffraction des Rayons X (DRX)

Afin de déterminer les phases cristallines présentes dans la poudre de poisson, nous avons utilisé la technique de diffraction des rayons X (XRD).

Les phases en présence sont identifiées par comparaison avec les références du fichier International Center for Diffraction Data – Powder Diffraction Files (ICDD-PDF) à l'aide du logiciel X'Pert HighScore.

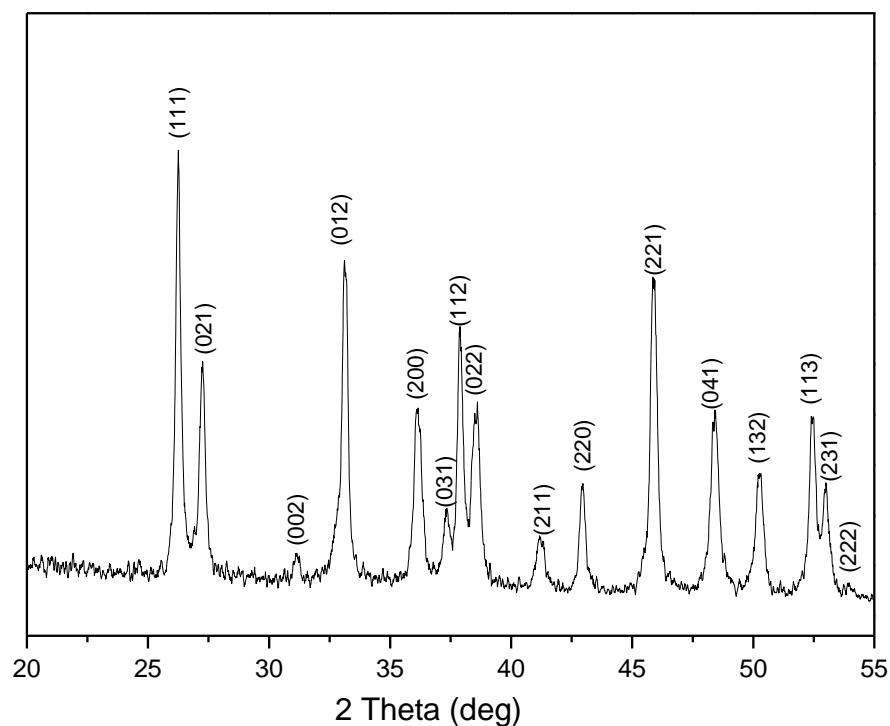


Figure III.2: Spectre DRX de la poudre de l'os de poisson.

L'identification des pics de diffraction de la poudre d'os de poisson, selon les fichiers du Centre international pour les données de diffraction (ICDD), montre que la poudre est composée de carbonate de calcium sous forme d'aragonite. (Fichier ICCD n° 00-005-0453). Le résultat de l'analyse DRX est en accord avec la caractérisation IRTF.

Chapitre III

Résultats et Discussion

II .2. Caractérisation physicochimique de la poudre d'os de poisson après immersion dans le milieu physiologique simulé (SBF)

Nous avons réalisé l'étudier la bioactivité, in vitro, de la poudre d'os de poisson par immersion de cette dernière dans un milieu physiologique stimulé (SBF) à raison de 1 mg / ml à température ambiante tout en renouvelant le SBF tous les deux jours. Nous avons réalisé notre étude pour des temps d'immersion de 4, 7 et 10 jours

Après les périodes d'immersions prédéterminées, les poudres d'os de poisson ont été retirées de la solution SBF, légèrement rincées avec de l'eau distillée et séchées à température ambiante puis analysées par IFTIR et DRX.

III .2.1. Caractérisation de la poudre d'os de poisson par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) après immersion dans le milieu physiologique simulé (SBF)

a) Après quatre jours d'immersion de la poudre d'os de poisson dans le SBF

Le spectre IRTF de la poudre de poisson après quatre jours d'immersion dans le SBF est présenté dans la figure ci-après

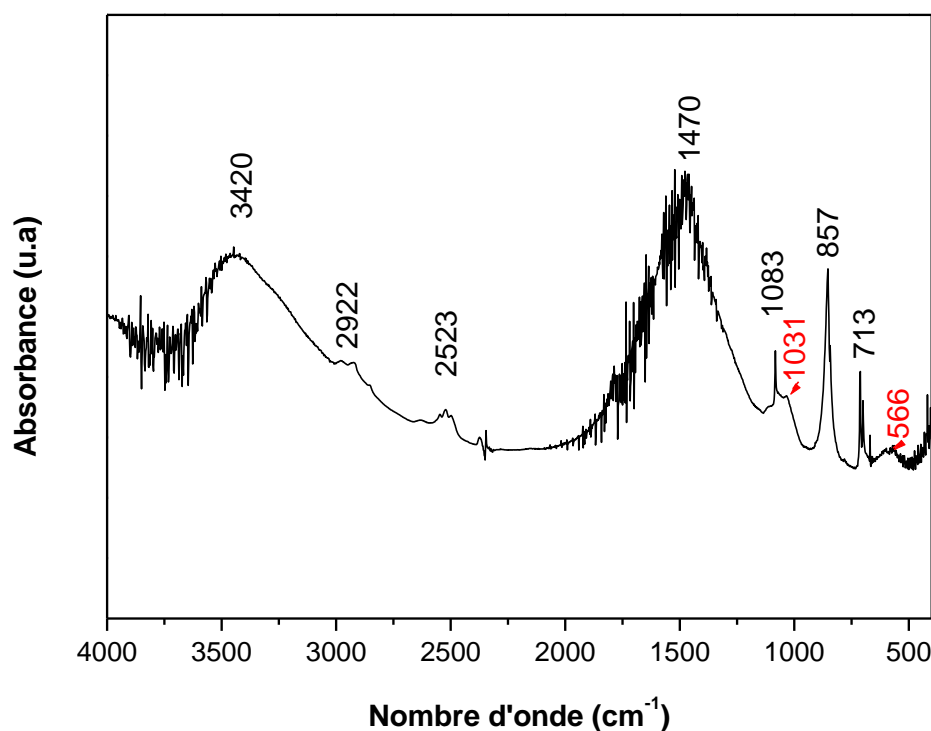


Figure III.3 : Spectre IR de la poudre de l'os de poisson après quatre jours d'immersion dans le SBF

Comme le montre la figure III.3, l'analyse IRTF de la poudre d'os de poisson immergée durant quatre jours dans le SBF met en évidence l'apparition de deux nouveaux pics de longueurs d'ondes (566,1031cm⁻¹). Ces pics sont des pics caractéristiques du groupement PO₄³⁻ [71, 72] qui signifie la formation d'une apatite après immersion de la poudre dans le SBF.

b) Après sept jours d'immersion de la poudre d'os de poisson dans le SBF

Le spectre IRTF de la poudre d'os de poisson après sept jours d'immersion dans le SBF est illustré dans la figure ci-dessous.

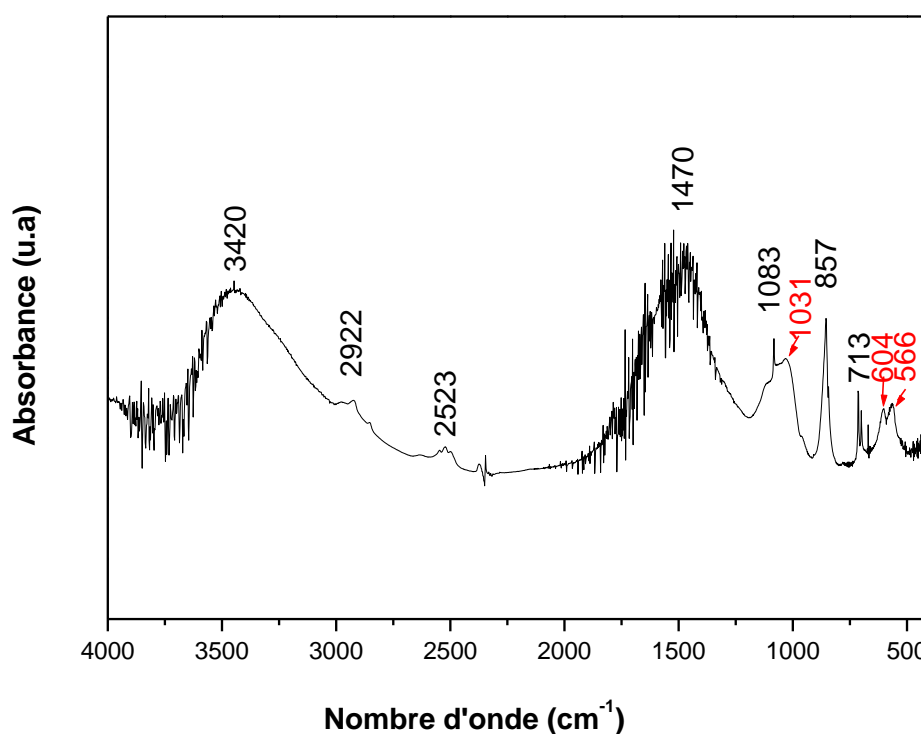


Figure III.4 : Spectre IR de la poudre de l'os de poisson après sept jours d'immersion dans le SBF.

Après sept jours d'immersion de la poudre dans le SBF, le spectre IR de cette dernière montre :

- Une diminution de l'intensité des pics qui correspondent au groupement de CO_3^{2-} . Cette diminution est due à la dissolution du CaCO_3 (aragonite).
- Une augmentation de l'intensité des pics correspondants aux groupements de PO_4^{2-} existants (1031 et 566 cm^{-1}) et l'apparition d'un nouveau pic à 604 cm^{-1} qui correspond aussi au groupement PO_4^{2-} [72]. Ce résultat confirme la précipitation de l'apatite.

c) Après dix jours d'immersion de la poudre d'os de poisson dans le SBF

Le spectre IRTF de la poudre d'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF est présenté dans la figure III.5.

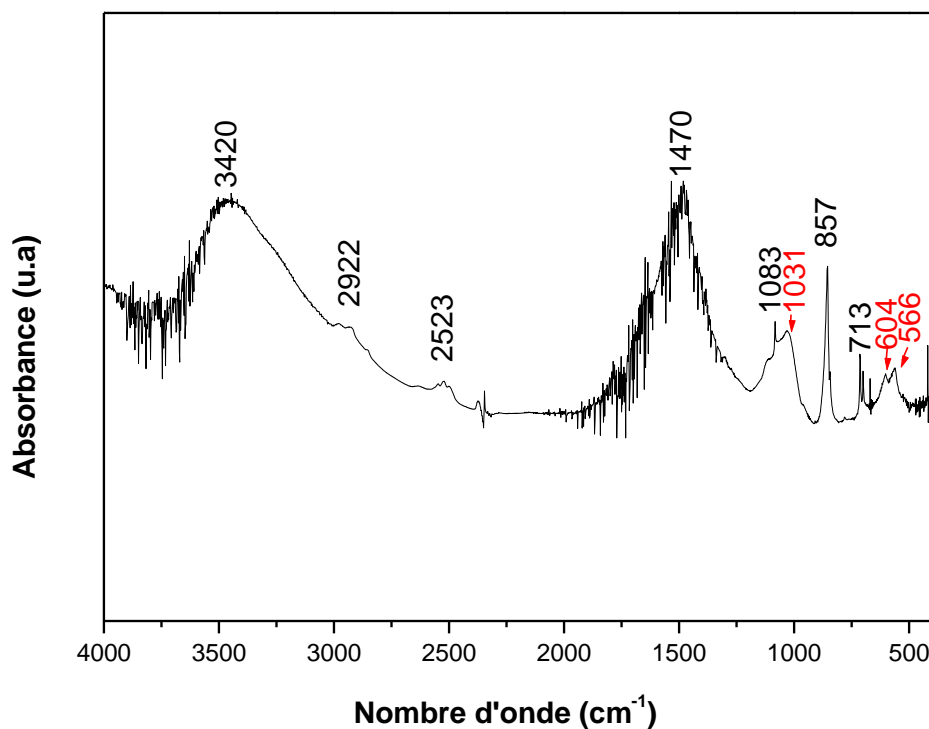


Figure III.5 : Spectre IR de la poudre de l'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF

Comme on peut le voir, le spectre IR de la poudre d'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF présente les mêmes groupements fonctionnels que le spectre IR de la poudre après sept jours d'immersion. Ce spectre montre la présence des pics (566, 604 et 1031 cm⁻¹) caractéristiques des groupements PO₄³⁻. Ce résultat confirme la formation de l'apatite après immersion de la poudre durant dix jours dans le SBF.

III .2.2 Caractérisation par Diffraction des Rayons X (DRX) de la poudre d'os de poisson après immersion dans le milieu physiologique simulé (SBF)

a) Après quatre jours d'immersion de la poudre d'os de poisson dans le SBF

Le spectre DRX de la poudre d'os de poisson après quatre jours d'immersion dans le SBF est présenté dans la figure ci-après.

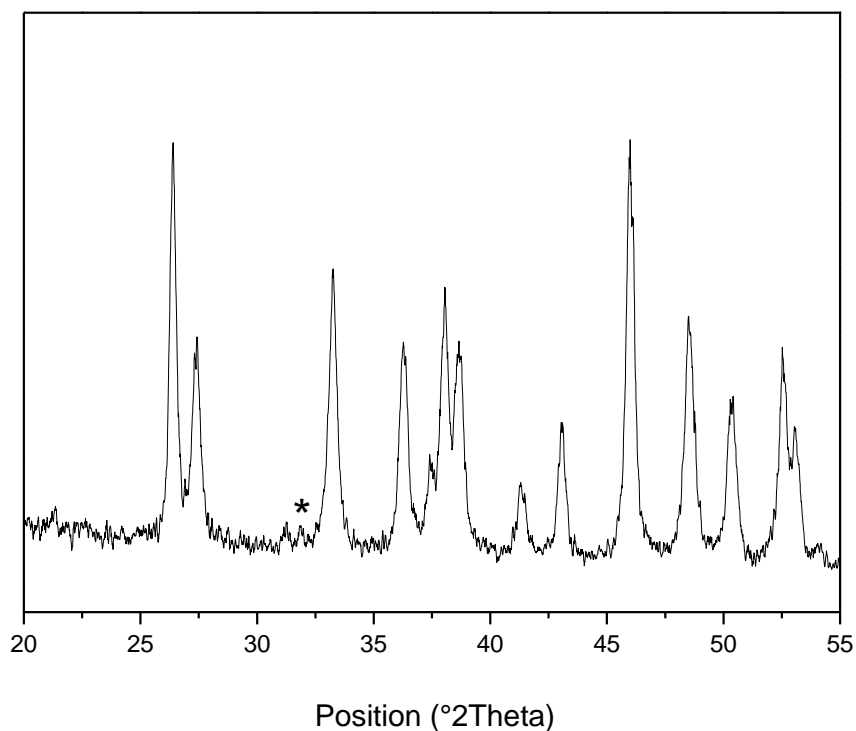


Figure III.6 : Spectre DRX de la poudre de l'os de poisson après quatre jours d'immersion dans le SBF ; * Carbonate apatite

Après quatre jours d'immersion dans le SBF, le spectre DRX de la poudre d'os de poisson montre l'apparition d'un nouveau pic à 31.71°. Ce pic selon la fiche (ICCD n ° 00-004-0697) correspond à la phase cristalline « carbonate apatite »

b) Après sept jours d'immersion de la poudre d'os de poisson dans le SBF

Le spectre DRX de la poudre d'os de poisson après sept jours d'immersion dans le SBF est illustré dans la figure ci-dessous.

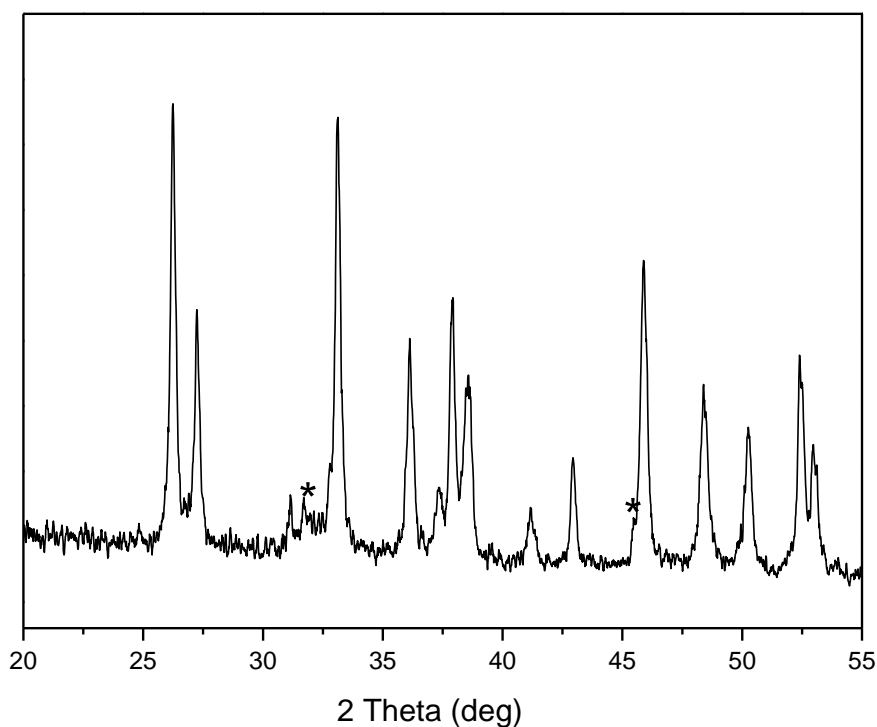


Figure III.7 : Spectre DRX de la poudre de l'os de poisson après sept jours d'immersion dans le SBF ; * Carbonate apatite

Après sept jours d'immersion dans le SBF, le spectre DRX de la poudre d'os de poisson montre l'apparition de deux nouveaux pics à 31.71° et 45.30°. Ces pics selon la fiche (ICCD n ° 00-004-0697) correspondent à la phase cristalline « carbonate apatite »

Chapitre III

Résultats et Discussion

c) Après dix jours d'immersion de la poudre d'os de poisson dans le SBF

Le spectre DRX de la poudre d'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF est présenté dans la figure III.8.

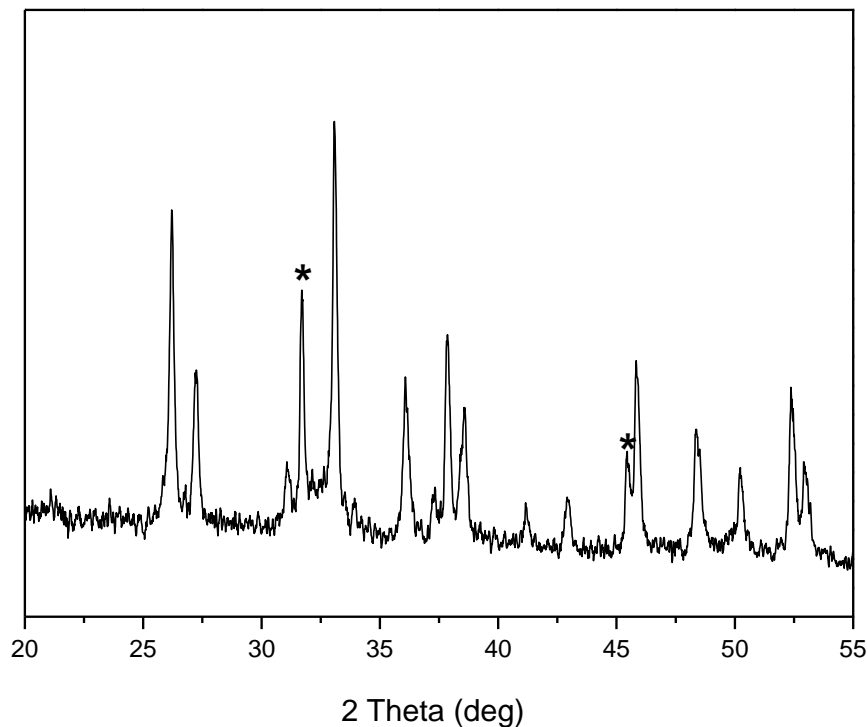


Figure III.8: Spectre DRX de la poudre de l'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF ; * Carbonate apatite

- Le spectre DRX de la poudre d'os de poisson après dix jours d'immersion dans le SBF, montre la présence des deux pics à 31.71° et 45.30° caractéristiques de la phase cristalline carbonate apatite. Ces pics sont plus intenses après dix jours d'immersion comparativement à ceux enregistrés après sept jours d'immersion de la poudre dans le SBF.
- L'analyse DRX de la poudre d'os de poisson après différents temps d'immersion dans le SBF, montre que la précipitation de la phase carbonate apatite augmente avec le prolongement du temps d'immersion de cette dernière dans le SBF.
- La bioactivité de la poudre d'os de poisson est confirmée par la formation de cette apatite après immersion dans le milieu physiologique simulé (SBF).

CONCLUSION

Le but de ce travail était d'étudier la bioactivité de la poudre d'os de poisson en vue d'utilisation comme un biomatériau de régénération osseuse. L'étude de la bioactivité est réalisée après différents temps d'immersion de la poudre dans un milieu physiologique simulé (SBF).

La poudre d'os du poisson a été analysée, à l'état brut, par la spectroscopie infra rouge et la diffraction aux rayons X afin de définir sa composition chimique. Les deux techniques d'analyse ont indiqué que la poudre d'os de poisson est composée essentiellement de carbonate de calcium cristallisé sous forme d'aragonite.

Après différents temps l'immersion dans le milieu physiologique simulé, nos échantillons ont été analysés par les deux techniques (FTIR et DRX). L'analyse des résultats obtenus montre la formation d'une nouvelle phase « carbonate apatite » dans la composition de la poudre d'os de poisson après immersion dans le milieu physiologique simulé. Cette formation d'apatite confirme la bioactivité de la poudre d'os de poisson.

Comme perspectives pour ce modeste travail, nous proposons de:

- Compléter cette étude par des observations MEB de la poudre d'os de poisson après différents temps d'immersion dans le SBF.
- Réaliser l'étude de la biocompatibilité de la poudre d'os de poisson et démontrer la non toxicité de cette dernière pour une utilisation comme biomatériau.

Références bibliographique

Références bibliographiques

- [1] DOE, Alvin Nah. *Effet de recours aux bases de données féminines sur la dérivation du t-score chez les hommes*. 2009. PhD Thesis.
- [2] MARIEB E.N *Anatomie et physiologie humaines*. 4ème édition. Paris, Bruxelles : Editions De Boeck Université, 1999, 1194p.
- [3] TOPPETS, Vinciane, et al. Morphologie, croissance et modélisation du tissu osseux. Dans *Annales de Médecine Vétérinaire*. Annales Médecine Vétérinaire, 2004. p. 1-13.
- [4] **Cornuelle A.G, Gronefeld. D.H**, Radiographic anatomy and positioning: an integrated approach. McGraw-Hill Medical Publishing, New York, 1997.
- [5] ROBINSON, ROBERT A.; ELLIOTT, STUART R. The Water Content of Bone: I. The Mass of Water, Inorganic Crystals, Organic Matrix, and " CO: 2: Space" Components in a Unit Volume of Dog Bone. *JBS*, 1957, 39.1: 167-188.
- [6] ANDRÉ, Jean-Michel, et al. Histologie: les tissus. *Faculté de Médecine, Université Pierre et Marie Curie, PAES* (2007–2008), <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/histoP1.pdf>, 2008.
- [7] WAGNER, H. Daniel; WEINER, Steve. Sur la relation entre la microstructure de l'os et sa rigidité mécanique. *Journal of Biomechanics* , 1992, 25.11 : 1311-1320.
- [8] LEES, RL ; SABHARWAL, VK ; HEERSCHE, JNM L'état de résorption et la taille des cellules influencent la régulation du pH intracellulaire dans les ostéoclastes de lapin cultivés sur des films de collagène-hydroxyapatite. *Os*, 2001, 28.2 : 187-194].
- [9] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/POLY.Chp.5.2.html#ID-114> . Consulté le 22/07/2021.
- [10] Diard et al, 2000 ; Diard F, Moinard. M, Soussotte. C et Hauger O. Approche diagnostique des tumeurs osseuses. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris)*. *Radiodiagnostic-Neuroradiologie-Appareil locomoteur*, 31-480-A-10, 19 p, 2000.
- [11] FRANÇOIS, Alain. L'ostéoporose.
- [12] FONTANA, Aurélie; DELMAS, Pierre D. L'ostéoporose: épidémiologie, clinique et approches thérapeutiques. *médecine/sciences*, 2001, 17.12: 1297-1305.
- [13] SAVARD, Hélène, et al. Ostéogenèse imparfaite. *Fiches sur les handicaps. Trouble organique*. 2015.
- [14] PRINC, Guy; PIRAL, Thierry. *Chirurgie osseuse préimplantaire*. Wolters Kluwer France. Paris : Cdp, 2008, 121 p.

Références bibliographique

- [15] TULASNE, Jean-François; ANDRÉANI, Jean-François. *Les greffes osseuses en implantologie*. Quintessence international, 2004 117p.
- [16] Cf Principes de cicatrisation p.193.
- [17] BRIFFAUT, Karine. *Greffes osseuses autogènes du bas fonds sinusien à visée implantaire*. 2005. PhD Thesis. Thèse d'exercice: Chirurgie dentaire: Lille 2).
- [18] - CAPELLI.M. Augmentation du volume osseux par greffe d'os autogène prélevée dans la branche horizontale de la mandibule. *Parod. Dent. Restaur.*, 2003, 23, 3, p. 277-284.
- [19] (1) - PRYOR (L.), GAGE (E.), LANGEVIN (C.-J.), HERRERA (F.), BREITHAUPT (A.), GORDON (C.), AFIFI (A.), ZINS (J.), MELTZER (H.), GOSMAN (A.), al - Review of bone substitutes. - Vol. 2, no 3, p. 151-160, juin 2009.
- [20] DIEUDONN, Jean Damascène. Prise en charge des fractures du fémur par enclouage centro médullaire au chu de Kigali : a propos de 204 cas. *Université nationale du Rwanda-doctorat en médecine générale*, 2008.
- [21] S. FACCA, « *Développement de biomatériaux nanostructures pour la régénération osseuse et osteoarticulaire* », Thèse de doctorat, UNIVERSITE DE LORRAINE, 2012.
- [22] SEBBAG, P.; MISSIKA, P. Les matériaux de comblement: classification et propriétés. *Implant*, 1995, 1.3: 217-233.
- [23] KHAN, Safdar N., et al. The biology of bone grafting. *JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 2005, 13.1: 77-86.
- [24] DOYLE, Barbara Brodsky; BENDIT, E. G.; BLOUT, Elkan R. Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 1975, 14.5: 937-957.
- [25] 2. Anne Meddahi-Pellé, Isabelle Bataille, Pascale Subra et Didier Letourneur, « Biomatériaux vasculaires : du génie biologique et médical au génie tissulaire », médecine sciences, Volume 20, numéro 6-7, juin-juillet 2004, p. 679-684.
- [26] Anne SIMON, « Intérêt de la microscopie de force atomique sur la biofonctionnalisation de matériaux : Caractérisation du greffage et de l'adhésion cellulaire », THÈSE DE DOCTORAT UNIVERSITÉ BORDEAUX I, DU 05 NOVEMBRE 2002.
- [27] CHAPPARD, Daniel, et al. Microarchitecture tridimensionnelle des granules de biomatériaux de comblement osseux. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique*, 2017, 103.7: S131-S132.

Références bibliographique

- [28] Mainard D. Les substituts de l'os, du cartilage et du ménisque en 2011 Paris : Romillat, 2011 : 202 p.
- [29] Aichelmann-Reidy, Mary E. et RA Yukna. "Les greffes de remplacement osseux. Les substituts osseux." *Cliniques dentaires d'Amérique du Nord* 42.3 (1998): 491-503.
- [30] ANAGNOSTOU F, OUHAYOUN JP, 2000 : Valeur biologique et nouvelles orientations dans l'utilisation des matériaux de substitution osseuse. *J Parodontol Implantol Orale*, 19, 3 : 317- 343.
- [31] Haute Autorité de Santé Substituts osseux Saint-Denis La Plaine : HAS, 2013 : 134.
- [32] Allison D, Lindberg A, Samimi B, *et al.* A comparison of mineral bone graft substitutes for bone defects. *US Oncol Hematol* 2011; 7: 38–49.
- [33] Buser D. 20 years of guided bone regeneration in implant dentistry, 2nd ed. Berlin : Quintessence Publishing Co, 2009 : 272 p.
- [34] PELTIER, Leonard F. The use of plaster of Paris to fill defects in bone. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 1961, 21: 1-31
- [35] FINKEMEIER, Christopher G. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *JBJS*, 2002, 84.3: 454-464.
- [36] Jordana F, Dupuis V, Colat-Parros J. Plâtres dentaires. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Médecine buccale 2014 ; 28–225-B10, 14 p.
- [37] Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med* 2006; 17: 967–978.
- [38] VITALE-BROVARONE, Chiara, et al. Biocompatible glass–ceramic materials for bone substitution. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2008, 19.1: 471-478.
- [39] GIANNOUDIS, Peter V.; DINOPOULOS, Haralambos; TSIRIDIS, Eleftherios. Bone substitutes: an update. *Injury*, 2005, 36.3: S20-S27.
- [40] Daculsi G, Passuti N. Bioactive ceramics, fundamental properties and clinical application: the osteocoalescence process. *Bioceramics* 1989 ; 2 : 3–10.
- [41] BUCHOLZ, Robert W.; CARLTON, Ann; HOLMES, Ralph E. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthopedic Clinics of North America*, 1987, 18.2: 323-334.
- [42] [JARCHO, Michael. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 1981, 157: 259-278.
- [43] DACULSI, G. L'os artificiel, une solution pour la reconstruction osseuse et une alternative aux allogreffes et aux autogreffes. *J Biomat Dent*, 2001, 16: 21-27.

Références bibliographique

- [44] HOLLINGER, Jeffrey O., et al. Role of bone substitutes. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 1996, 324: 55-65.
- [45] BUSER, Daniel, et al. Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs. *Clinical oral implants research*, 1998, 9.3: 137-150.
- [46] [CONSTANTZ, Brent R., et al. Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone. *Science*, 1995, 267.5205: 1796-1799.
- [47] KHAIROUN, I., et al. Some factors controlling the injectability of calcium phosphate bone cements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1998, 9.8: 425-428.
- [48] BONGIO, Matilde, et al. Preclinical evaluation of injectable bone substitute materials. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 2015, 9.3: 191-209.
- [49] PARIENTE, Jean-Louis; BORDENAVE, Laurence; CONORT, Pierre. Biomatériaux, biomatériels et biocompatibilité. *Progrès en urologie (Paris)*, 2005, 15.5: 887-890.
- [50] **Mansouri, 2009**, Contribution à l'étude du comportement mécanique des prothèses dentaires totales. Mémoire du master. Université de Batna (Algérie), 122 p.
- [51] JACOTA POPESCU, Simona Andreia. *Films minces de dioxyde de titane déposés sur titane par mocvd: microstructure et biocomptabilité*. 2008. PhD Thesis.
- [52] **Arioua, 2007**, Elaboration et caractérisation d'un substitut osseux poreux à base de verre bioactif. Thèse du doctorat. Université de Valenciennes. Lyon, 115 p.
- [53] Wilson-Hench J (1987) Osteoinduction. In: Williams DF (ed) Progress in biomedical engineering, vol 4. Definitions in biomaterials. Elsevier, Amsterdam, p 29
- [54] aGlantz PO (1987) Comment. In: Williams DF (ed) Progress in biomedical engineering, vol 4. Definitions in biomaterials. Elsevier, Amsterdam, p 24
- [55] ALBREKTSSON, T.; JOHANSSON, C. Ostéoinduction, ostéoconduction et ostéointégration. *Revue européenne de la colonne vertébrale*, 2001, 10.2 : S96-S101.]
- [56] FROST, H. M. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clinical orthopaedics and related research*, 1989, 248: 283-293.
- [57] Frost HM (1989) The biology of fracture healing. An overview for clinicians, part II. *Clin Orthop Rel Res* 248:294–309.
- [58] Wilson-Hench J (1987) Osteoinduction. In: Williams DF (ed) Progress in biomedical engineering, vol 4. Definitions in biomaterials. Elsevier, Amsterdam, p 29.

Références bibliographique

- [59] Young RW (1963) Nucleic acids, protein synthesis and bone. *Clin Orthop Rel Res* 26:147–156
- [60] Mounir El hassouni ; biomatériaux pour la reconstruction osseuse ; Université sidi mohamed Ben Abdellah de fès-licence chimie analytique et industrielle 2012.
- [61] WANG, Yan. *Elaboration de modèles collagène/apatite pour l'étude de la biominéralisation du tissu osseux*. 2012. PhD Thesis. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.
- [62] **SOLLIER E. (2009)**. Microsystèmes pour la préparation d'échantillons sanguins. Thèse de doctorat. Grenoble : Université Joseph Fourier, Grenoble.
- [63] KOKUBO, Tadashi et al. Solutions capables de reproduire in vivo les changements de structure de surface dans la vitrocéramique bioactive A-W3. *Journal de recherche sur les matériaux biomédicaux*, 1990, 24.6 : 721-734.
- [64] VAN KREVELEN, Dirk Willem ; TE NIJENHUIS, Klaas. *Propriétés des polymères : leur corrélation avec la structure chimique ; leur estimation numérique et prédiction à partir de contributions de groupes additifs*. Elsevier, 2009.
- [65] PENGTHAMKEERATI, P.; SATAPANAJARU, T.; SINGCHAN, O. Sorption de colorant réactif à partir d'une solution aqueuse sur des cendres volantes de biomasse. *Journal des matières dangereuses*, 2008, 153,3 : 1149-1156.
- [66] L. Zourane, Y.Felkaou, Mémoire de Master, Université de Bejaia, (2011).
- [67] L. Qiao, Q.L. Feng, Y.Liu, A novel bio-vaterite in freshwater pearls with high thermal stability and low dissolubility, *Materials Letters* 62 (2008) 1793–1796.
- [68] GuoHongxia, Qin Zhenping, QianPeng, Yu Peng, Cui Suping, Wang Wei, Crystallization of aragonite CaCO_3 with complex structures, *Advanced Powder Technology* 22 (2011) 777–783.
- [69] Kh. Nurul Islam, Md. Eaqub Ali, Md. Zuki Bin Abu Bakar, M.Y. Loqman, Aminul Islam, Md. Saiful Islam, MdMahfujurRahman, MahbubUllah, A novel catalytic method for the synthesis of spherical aragonite nanoparticles from cockle shell, *Powder Technology* 246 (2013) 434–440.
- [70] Y.P. Guo, Y. Zhou, Conversion of nacre powders to apatite in phosphate buffer solutions at low temperatures, *Materials Chemistry and Physics* 106 (2007) 88–94.
- [71] FuzengRen, Yonghui Ding, Yang Leng, Infrared spectroscopic characterization of carbonated apatite: A combined experimental and computational study, *JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH A VOL 102A, ISSUE 2(2014)* 494-505.

Références bibliographique

[72] Moo-Chin Wang, Wei-Jen Shih, I-Ming Hung, Hui-Ting Chen, Min-Hsiung Hon, Hong-Hsin Huang, Characterization of calcium phosphate apatite with variable Ca/P ratios sintered at low temperature, *Ceramics International* 41 (2015) 1223–1233.
