



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche  
scientifique

*INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES*

**THESE**

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat En Sciences Vétérinaires

Présenté par :

**BOUDRA Abdellatif**

## **Etude d'une greffe osseuse traitée couverte par la propolis chez les petits animaux**

Devant le jury composé de:

Président	Mr AMARA Karim	Professeur	Université de TIARET
Encadreur	Mr BENALLOU Bouabdellah	Professeur	Université de TIARET
Examineur	Mr MEZIANE Toufik	Professeur	Université de BATNA
Examineur	Mr BENNOUNE Omar	Professeur	Université de BATNA
Examineur	Mr BENSOUILAH Mourad	Professeur	Université de ANNABA
Examineur	Mr KHIATI Baghdad	MCA	Université de TIARET

**Année universitaire : 2018-2019**

# Remerciements

Je loue et rends grâce à Allah de m'avoir donné la détermination et le courage tout au long de ce parcours de recherche et d'expérimentation pour mener à bien ce travail.

Je remercie notre prophète et éducateur que la paix et le salut d'Allah soient sur lui.

J'adresse mes remerciements les plus vifs :

À Monsieur le **Professeur BENALLOU Bouabdellah**, le directeur de cette thèse pour la qualité de son encadrement, ses conseils précieux et ses qualités humaines. Merci pour votre soutien et votre patience. Je vous prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie d'avance les membres de jury qui viendront consacrer leur précieux temps à prendre connaissance de ce travail et de considérer sa valeur dans tous ses aspects.

## **Monsieur le Professeur AMARA Karim**

De l'institut vétérinaire de TIARET pour avoir accepté de présider ce jury. Qu'il trouve ici l'expression de mes hommages respectueux.

## **Monsieur le Professeur MEZIANE Toufik**

De l'institut vétérinaire de BATNA pour avoir accepté de participer à ce jury et de juger ce travail. Sincères remerciements.

## **Monsieur le Professeur BENNOUNE Omar**

De l'institut vétérinaire de BATNA pour avoir accepté de participer à ce jury et de juger ce travail. Sincères remerciements.

**Monsieur le Professeur BENSOUILAH Mourad**

De l'université de ANNABA pour avoir accepté de participer à ce jury et de juger ce travail. Sincères remerciements.

**Monsieur le Professeur KHIATI Baghdad**

De l'institut vétérinaire de Tiaret pour avoir accepté de participer à ce jury et de juger ce travail. Sincères remerciements.

Je remercie aussi chaleureusement :

Dr CHIKHOUI Djillali, centre d'imagerie médical de Tiaret, pour avoir mis à ma disposition les moyens techniques d'imagerie de son service ainsi que son personnel.

DR GHLAMALAH Sofiane, laboratoire d'analyse médicale de Tiaret, pour avoir mis à ma disposition les moyens techniques de son service.

Je remercie Dr BENAICHATA Lazreg, enseignant à la faculté des sciences de Tiaret pour sa gentillesse, son aide. Sincères remerciements.

Je remercie Dr RAHAI Fadila et Dr HOUARI Hmida, enseignants à l'institut vétérinaire de Tiaret pour leur gentillesse, leur aide. Sincères remerciements.

Je remercie tous le personnel de l'institut vétérinaire de Tiaret.

*Mes remerciements à tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à réaliser ce travail.....*

# Dédicace

*Je dédie cet humble travail à:*

*La femme qui m'a donné la vie, qui a toujours cru en mes capacités et qui n'a jamais quitté mon esprit, ma très chère défunte mère.*

*L'homme qui a toujours su être présent à mes côtés, mon idole, mon très cher père, emblème de bonté et de simplicité.*

*La femme de ma vie avec laquelle tout est facile et réalisable, que dieu la garde, ma très chère épouse.*

*Mes deux princes SAMI et MOHAMED KAMIL*

*Mes chers beaux parents.*

*Mes sœurs, mon frère, ainsi que mes beaux frères, belles sœurs, mes neveux et nièces.*

*Tous mes amis BENHAMOUDA Salim, HAMDI Mohamed, HEBRI Moatez*

*Billah, AYADE Amine, BENBELKACEM Nadir, MERATI Rachid, BACHA*

*Salima, ADIL Abdelkader, TIAR Kamel, GRAYA Yacine, CHELIK*

*Abderrahmane, TAKERRAT Mohamed, BELHOUDJEB Amine, MARKEN*

*Mhamed, MIMICHE Hicham, Merabat Mohamed Abdeldjalil, MERIMECHE*

*Amel, , BENALLOU Mohamed, Merabet Khaled et REZK ALLAH Mourad.*

# Liste des figures

<b>Figure N°I-1</b> : Structure macroscopique organisée en os cortical et spongieux.....	5
<b>Figure N° I-2</b> : A: L'irrigation de la cuisse. B :L'angiographie des artères de la région de la cuisse. C: Le drainage de la cuisse .....	9
<b>Figure N°I-3</b> : Membre postérieur face externe.....	11
<b>Figure N°I-4</b> : Le trajet du nerf sciatique chez le lapin d'après .....	13
<b>N°I-5</b> :Le chimiotactisme et la prolifération cellulaire durant la cicatrisation osseuse ....	14
<b>Figure N°I-6</b> : Phase inflammatoire .....	15
<b>Figure N° I-7</b> : Formation du cal mou et d'but de l'ossification intramembraneuse.....	17
<b>Figure N° II-1</b> : Fixateur externe .....	25
<b>Figure N°II-2</b> : Les différentes opacités sur une radiographie .....	29
<b>Figure N° II-3</b> : Radiographie normale du fémur en projection latérale.....	31
<b>Figure N° III-1</b> : Abeille race Apis mellifica .....	33
<b>Figure N°III-2</b> : Propolis dépôt sur cadres .....	34
<b>Figure N°III-3</b> :Butineuses récoltant et portant deux gouttelettes de propolis .....	35
<b>Figure N°III-5</b> : Les effets biologiques et pharmacologiques de la propolis .....	39
<b>Figure N°IV-1</b> : P.LAGHOUAT (La zone Agricole HAMDA) .....	42
<b>Figure N°IV-2</b> : P.MILA (AHMED RACHEDI).....	42
<b>Figure N°IV-3</b> : P.RELIZANE.....	42
<b>Figure N°IV-4</b> : P.SOUK AHRAS (Bir bouhouche) .....	42
<b>Figure N°IV-5</b> : P.SOUK AHRAS HNANCHA.....	42
<b>Figure N°IV-6</b> P.TIARET OULED BOUGHADOU .....	42
<b>Figure N°IV-7</b> : P.TIARET Bouchakif .....	43
<b>Figure N°IV-8</b> :P. LAGHOUAT ( Lakhneg) .....	43
<b>Figure N°IV-9</b> : P.TIPAZA .....	43
<b>Figure N°IV-10</b> : P.BLIDA .....	43
<b>Figure N°IV-12</b> : Agitation de la propolis brute en obscurité.....	45
<b>Figure N°I-13</b> : A: Ethanol 96% , B :éthanol dilué 70%, C: pesée de 10 gr de propolis brute.....	45
<b>Figure N°IV-14</b> : Filtration du mélange de propolis brute .....	45

<b>Figure N°IV-15:</b> Evaporation de éthanol par étuve.....	45
<b>Figure N°IV-16:</b> Extrait de la propolis.....	45
<b>Figure N°IV-17:</b> Collecte de la propolis par grattage .....	45
<b>Figure N°IV-18:</b> Boîtes de différentes propolis brutes étiquetées .....	46
<b>Figure N°IV-29 :</b> Régions de récolte des échantillons (P1 à P10) de la propolis Algérienne .....	47
<b>Figure N°IV-20:</b> Préparation d'une solution aqueuse de propolis.....	48
<b>Figure N°IV-21:</b> Détermination du pH .....	48
<b>Figure N°IV-22 :</b> L'alimentation donnée aux animaux de cette expérimentation.....	50
<b>Figure N°IV-23 :</b> Les animaux de l'expérimentation mis en cage .....	50
<b>Figure N°IV-24 :</b> Cage métallique superposée équipées conçues spécialement pour l'élevage de lapin .....	50
<b>Figure N°IV-25 :</b> Peroxyde d'hydrogène, produit désinfectant des greffons .....	51
<b>Figure N° IV-26:</b> La fermeture du papier d'autoclavage à l'aide d'une soudeuse thermocollante .....	51
<b>Figure N°IV-27:</b> Des greffons allogéniques autoclavées .....	51
<b>Figure N°IV-28:</b> Matériel chirurgical de routine .....	52
<b>Figure N°IV-29:</b> Matériel orthopédique.....	52
<b>Figure N°IV-33:</b> Rasage des poiles .....	53
<b>Figure N°IV-31:</b> La coupe des poiles à l'aide d'un ciseau.....	53
<b>Figure N°IV-32:</b> Tenue chirurgicale .....	54
<b>Figure N°IV-33:</b> stérilisation du matériel chirurgical .....	54
<b>Figure N°IV-34:</b> incision de la peau.....	55
<b>Figure N°IV-35:</b> Mise en place du champ opératoire stérile.....	55
<b>Figure N°IV-36:</b> la section du fascia latta .....	56
<b>Figure N°IV-37:</b> A- fascia latta B-vaste latéral.....	56
<b>Figure N°IV-38:</b> La section de la diaphyse fémorale.....	56
<b>Figure N°IV-39:</b> Alignement des deux abouts par une lime inoxydables .....	56
<b>Figure N°IV-40:</b> Sortie de la broche par la fosse trochantérique .....	57
<b>Figure N°IV-41:</b> L'enfoncement du clou par le bout proximal .....	57
<b>Figure N°IV-42:</b> Méchage + instillation de l'eau salée .....	58
<b>Figure N°IV-43:</b> Bout proximal après méchage.....	58
<b>Figure N°IV-44:</b> Greffons couverts et non couverts de EEPA10.....	58
<b>Figure N°IV-45:</b> Réalisation d'une suture métallique .....	58

<b>Figure N°IV-46:</b> Mise en place du greffon sans alignement.....	59
<b>Figure N°IV-47:</b> Alignement du greffon sans EEPA10.....	59
<b>Figure N°IV-48:</b> Mise en place d'un greffon allogénique orthotopique autoclavé Non couvert de EEPA10. ....	59
<b>Figure N°IV-49:</b> Fil métallique inoxydable de 0.4mm de diamètre monobrin, stérile .....	59
<b>Figure N°IV-50:</b> Mise en place d'un greffon allogénique orthotopique autoclavé couvert de EEPA10. ....	59
<b>Figure N°IV-51:</b> Mise en place du matériels d'ostéosynthèse.....	60
<b>Figure N°IV-52:</b> Coupe broche .....	60
<b>Figure N°IV-53:</b> A: peau suturée avec des points simples B:fascia latta suturé par un surjet au point passé .....	61
<b>Figure N°IV-54:</b> suture des deux plaies .....	61
<b>Figure N°IV-55:</b> Animal un jour PO.....	62
<b>Figure N°IV-56:</b> Animal après le réveil .....	62
<b>Figure N°IV-57:</b> AAP12L1 jour PO. ....	64
<b>Figure N°IV-58:</b> Prise de température.....	64
<b>Figure N°IV-59:</b> Les tubes de prélèvements étiquetés .....	65
<b>Figure N°IV-60:</b> Rasage et application de gel xylocaine 2%.....	65
<b>Figure N°IV-61:</b> Salle plombé anti rayons X.....	66
<b>Figure N°IV-62:</b> Matériels de mise en forme et développement de cliché.....	66
<b>Figure N°IV-63:</b> Animal en place pour une prise de cliché. ....	66
<b>Figure N°IV-64 :</b> Incidence latérale .....	67
<b>Figure N°IV-65:</b> A :Photo per PO.B: un cliché en PO.....	67
<b>Figure N°IV-66:</b> Pièce d'exérèse, fémur gauche .....	69
<b>Figure N°IV-67:</b> Pièces d'exérèses après parage.....	69
<b>Figure N°IV-68:</b> Conservation de la pièces d'exérèses dans le formol à 10% .....	69
<b>Figure N°IV-69:</b> Les lames histologiques .....	69
<b>Figure N°IV-70:</b> Microscope à caméra numérique .....	69
<b>Figure N° V-1 :</b> Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux .....	71
<b>Figure N°V-2 :</b> Le rendement du EEPA en % .....	73
<b>Figure N°V-3 :</b> Le pH de la propolis Algérienne de différentes régions.....	73
<b>Figure N°V-4:</b> Mauvaise posture du membre opéré.....	75
<b>Figure N°V-5:</b> Animal dans un bac en plastique.....	75
<b>Figure N°V-6:</b> Plaies groupe ASP.....	78

<b>Figure N°V-7: Plaies groupe AAP</b> .....	78
<b>Figure N°V-8 : Le liquide ponctionné des animaux AAP</b> .....	79
<b>Figure N°V-9: Suivi de la température pour le groupe AAP et ASP en °C</b> .....	80
<b>Figure N°V-10 : Variations des taux de l'hémoglobine en PRE OP et POST OP</b> .....	81
<b>Figure N°V-11 : Variations des taux des leucocytes en PRE OP et POST OP</b> .....	81
<b>Figure N°V-12 : Variations des taux des plaquettes en PRE OP et POST OP</b> .....	82
<b>Figure N°V-13: l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline sérique en PRE OP et POST OP</b> .....	82
<b>Figure N°V-14: Variation du taux de calcium en PRE OP et POST OP</b> .....	83
<b>Figure N°V-15:Variation du taux de phosphore en PRE OP et POST OP</b> .....	83
<b>Figure N°V-16:Variation du taux d'hémoglobine en PRE OP et POST OP</b> .....	84
<b>Figure N°V-17: Variation du taux de leucocytes en PRE OP et POST OP</b> .....	84
<b>Figure N°V-18: Variation du taux des plaquettes en PRE OP et POST OP</b> .....	85
<b>Figure N°V-19: La phosphatase alcaline sérique en PRE OP et POST OP</b> .....	85
<b>Figure N°V-20: Variation du taux de calcium en PRE OP et POST OP</b> .....	86
<b>Figure N°V-21: Variation du taux du phosphore en PRE OP et POST OP.</b> .....	86
<b>Figure N°V-22:Variation du taux d'hémoglobine en POST OP</b> .....	87
<b>Figure N°V-23:Variation du taux des leucocytes en POST OP.</b> .....	87
<b>Figure N°V-24:Variation du taux des plaquettes en POST OP</b> .....	88
<b>Figure N°V-25: Variation du taux de la phosphatase alcaline sérique en POST OP</b> .....	88
<b>Figure N°V-26: Variation du taux de calcium en POST OP</b> .....	89
<b>Figure N°V-27:Variation du taux du phosphore en POST OP</b> .....	89
<b>Figure N°V-28:AAP+12L1 PO.</b> .....	91
<b>Figure N°V-29 :AAP+12L1 1MOIS</b> .....	91
<b>Figure N°V-30:AAP+12L1 2MOIS</b> .....	91
<b>Figure N°V-31: AAP+12L1 3MOIS</b> .....	91
<b>Figure N°V-32: AAP+12L2 PO.</b> .....	92
<b>Figure N°V-33:AAP+12L2 1mois</b> .....	92
<b>Figure N°V-34 :AAP+12 2 mois</b> .....	92
<b>Figure N°V-35 :AAP+12 3 mois</b> .....	92
<b>Figure N°V-36:AAP+12L3 PO.</b> .....	93
<b>Figure N°V-37:AAP+12L3 1 mois</b> .....	93
<b>Figure N°V-38:AAP+12L3 2 mois</b> .....	93
<b>Figure N°V-39: AAP+12L3 3 mois</b> .....	93

<b>Figure N°V-40</b> :ASP+12 L1 PO.....	95
<b>Figure N°V-41</b> :ASP+12 L1 1 Mois.....	95
<b>Figure N°V-42</b> :ASP+12 L1 2 mois.....	95
<b>Figure N°V-43</b> : ASP+12 L1 3Mois.....	95
<b>Figure N°:V-44</b> : ASP+12 L2 PO.....	96
<b>Figure N°V-48</b> :ASP+12 L2 1 mois.....	96
<b>Figure N°V-46</b> :ASP+12 L2 2 mois.....	96
<b>Figure N°V-47</b> : ASP+12L3 PO.....	96
<b>Figure N°V-48</b> :ASP+12L3 1 mois.....	96
<b>Figure N°V-49</b> :Allogreffe sans propolis à j 3 10X montre la présence d'un tissu fibro-cartilagineux score 2.....	100
<b>Figure N° V-50</b> : Allogreffe sans propolis à j 3 10X montre la présence d'un tissu cartilagineux score 2 non minéralisé.....	100
<b>Figure N° V-51</b> : Allogreffe sans propolis à j 7 10X montre la présence d'un tissu cartilagineux qualifié du score 2.....	101
<b>Figure N° V-52</b> : Allogreffe avec propolis à j 7 10X montre présence d'un tissu cartilagineux mature minéralisé estimé à score 3.....	101
<b>Figure N° V-53</b> : Allogreffe sans propolis à j 10 40X montre tissu cartilagineux,mature, développé et minéralisé estimé à score 3.....	102
<b>Figure N° V-54</b> :Allogreffe avec propolis à j 10 40X montre présence d'un tissu cartilagineux,mature,trés développé et minéralisé estimé à score 3.....	102
<b>Figure N° V-55</b> : Allogreffe sans propolis à j 12 10X montre présence un cartilage mature, minéralisé score 3.....	103
<b>Figure N° V-56</b> : Allogreffe avec propolis à j 12 4X montre la présence d'un tissu osseux en voie de maturation estimé à score 4.....	103
<b>Figure N° V-57</b> : Allogreffe sans propolis à j 12 4X montre la présence d'un tissu osseux en voie d'organisation, Moelle osseuse bien développée score 4.....	104
<b>Figure N°: V-58</b> Allogreffe avec propolis à j 12+ 4X montre la présence d'un tissu osseux avec une moelle osseuse bien développée, estimé à score 4.....	104

# Liste des tableaux

<b>Tableau N°II-1 :</b> Propriétés biologiques des différents matériaux utilisés pour les greffes	21
<b>Tableau N° II-2 :</b> Contraintes mécaniques et moyens de fixation .....	24
<b>Tableau N° II-3 :</b> Avantages et inconvénients de la radiographie numérique .....	28
<b>Tableau N°II-4 :</b> Les constantes radiologiques de la région de la cuisse chez l'espèce lapine .....	31
<b>Tableau N°IV-1 :</b> Etiquetage de propolis selon la région de récolte. ....	46
<b>Tableau N°IV-2 :</b> La répartition des groupes selon les événements biologiques. ....	63
<b>Tableau N°IV-3 :</b> Classification des événements biologiques observés lors de l'implantation de protéine ostéoinductrice.....	63
<b>Tableau N°IV-4 :</b> L'évaluation des clichés selon le score radiologique.....	67
<b>Tableau N°IV-5 :</b> L'évaluation de l'ostéoinduction et l'ostéoconduction .....	68
<b>Tableau N°IV-6 :</b> L'évaluation de la position et la durée de l'avancement du cal .....	68
<b>Tableau N°IV-7 :</b> L'évaluation histologique .....	70
<b>Tableau N°V-1 :</b> Valeurs moyennes des polyphénols et des flavonoïdes des différents échantillons de propolis collectées. ....	72
<b>Tableau N°V-2 :</b> Comparaison de pH et du rendement de l'extraction éthanolique entre les quatre régions de récolte .....	74
<b>Tableau N°V-3 :</b> Résultats du suivi l'appui du membre opéré pour le groupe ASP.....	76
<b>Tableau N°V-4 :</b> Résultats du suivi l'appui du membre opéré pour le groupe AAP. ....	77
<b>Tableau N°V-5 :</b> L'évaluation des clichés selon le score radiologique .....	90
<b>Tableau N°V-6 :</b> Le score après l'évaluation radiographique des deux interfaces.....	97
<b>Tableau N°V-7 :</b> L'évaluation de l'ostéoinduction et l'ostéoconduction hôte-greffon. ....	97
<b>Tableau N°V-8 :</b> Suivi de l'évolution de la position et la durée de l'avancement du cal ...	98
<b>Tableau N°V-9 :</b> Les complications constatées au cours du suivi radiologique. ....	98
<b>Tableau N°V-10 :</b> L'évaluation histologique.....	99
<b>Tableau N°V-11 :</b> Le score histologique pour les deux lots ASP et AAP. ....	99

# Liste des abréviations

- °C : degré Celsius
- cm : centimètre
- g : gramme
- h : heure
- IV : intraveineuse
- IM : intramusculaire
- SC : sous-cutanée
- j : jour
- Kg : kilogramme
- mg : milligramme
- min : minute
- N : Nerf
- ml : millimètre
- N° : numéro
- T° : température
- EEPA: extrait éthanolique de propolis algérienne
- ASP :Allogreffe sans propolis
- AAP: Allogreffe avec propolis
- L1 : lapin numéro 1
- L2: lapin numéro 2
- L3: lapin numéro 3
- ATB: antibiotique
- PO : Post opératoire
- ++ : Présence d'appui
- - : Absence d'appui
- Sem : semaine
- <+> : élimination de l'effet réalisée
- <<->> : Neutralisation de l'effet n'est pas réalisée
- <<+>> : Neutralisation de l'effet est réalisée
- MEC : Matrice Extracellulaire
- -/+ /++ /+++ : étendu de l'activité
- +++ :activité maximale
- - : Absence
- ECMS : enclouage centromédullaire simple
- DM : dispositif médical
- IC : intervalle de confiance
- P : Propolis
- Rdt : rendement
- % : pourcentage
- IRP : interface proximale
- IRD: interface distale
- BMP: Bone morphogenetic protein

# SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1

## Partie bibliographique

### Chapitre I: Rappel anatomo-physio-histologique

I-1.Introduction .....	3
I-2. Morphologie générale des os longs .....	3
I-3.Le périoste .....	4
I-4.L'os cortical .....	4
I-5.La cavité médullaire .....	5
I-6.L'os trabéculaire .....	6
I-7.Les cellules du tissu osseux .....	6
I-7-1.Les cellules ostéoprogénitrices .....	6
I-7-2. Les ostéoblastes .....	6
I-7-3.Les ostéocytes .....	7
I-7-4.Les ostéoclastes .....	7
I-8.La matrice extracellulaire .....	8
I-8-1.La portion organique .....	8
I-8-2.La portion minérale .....	8
I-9.L'anatomie de la cuisse du lapin .....	9
I-10.Le processus de cicatrisation osseuse .....	13
I-10-1.Formation d'un hématome .....	13
I-10-2. Phase inflammatoire (dès la 1ère heure et jusqu'à 3 semaines après traumatisme).....	13
I-10-3. Formation du cal mou (de la 1ère à la 48e heure après le traumatisme).....	15
I-10-4.Formation du cal dur (de 3 semaines à 3-4 mois après le traumatisme) .....	16
I-10-5.Phase de remodelage (à partir de la 3ème semaine).....	18

### Chapitre II: Greffe osseuse , Ostéosynthèse et Radiologie

II-1-1.Historique de la greffe osseuse .....	19
II-1-2. Les différents types de la greffe osseuse .....	19
II-2-1.Autogreffe .....	19
II-1-2-2.Allogreffe .....	20
II-1-2-3.Xénogreffe .....	20
II-1-4.Fonction du greffon osseux .....	20
II-1-4-1.L'ostéoinduction .....	20
II-1-4-2. L'ostéoconduction .....	21
II-1-4-3. L'ostéointégration .....	21
II-1-4-4. L'ostéogénèse .....	21
II-1-5. Incorporation des greffons allogéniques .....	22
II-1-5-1.Mécanisme.....	22

II-1-6. Les allogreffes autoclavées .....	22
II-1-7. Moyens de fixation .....	23
II-2-1.L'ostéosynthèse .....	23
II-2-1-1. L'enclouage centro-médullaire .....	24
II-2-2.Les plaques .....	25
II-2-3.Fixateur externe .....	25
II-2-4. Autres points importants lors et après la mise en place d'un matériel d'ostéosynthèse .....	26
II-2-4-1. La gestion de la douleur .....	26
II-2-4-2. L'antibiothérapie postopératoire .....	26
II-3.Moyen de diagnostique .....	26
II-3-1.Introduction .....	26
II-3-2.Radiologie numérisée .....	26
II-3-3. Les composants de l'Appareil radiologique .....	27
II-3-3-1. Le statif .....	27
II-3-3-2. La table .....	27
II-3-3-3. Le diaphragme .....	27
II-3-3-4. Le pupitre .....	28
II-3-4.Les différentes densités radiographiques .....	28
II-3-5. Relativité des différentes densités radiologiques .....	28
II-3-6. Les préparatifs avant toutes prises radiographiques .....	29
II-3-6-1. Préparation des animaux .....	30
II-3-6-2. Contention chimique .....	30
II-3-7. Positions radiologiques et incidences .....	31
II-3-7-1. Projection latérale .....	31
II-3-8. Choix des constantes .....	31

---

### **Chapitre III: Propolis**

---

III-1. Introduction .....	32
III-2. L'origine botanique de la propolis .....	33
III-3. Les conditions de récolte de la propolis .....	33
III-3-1. L'âge de l'abeille .....	33
III-3-2. La race .....	33
III-3-3. La saison .....	34
III-3-4. Le climat .....	34
III-3-5. La géographie .....	34
III-4. Fabrication de la propolis par les abeilles .....	34
III-5. Caractéristiques organoleptiques .....	36
III-5-1. Couleur .....	36
III-5-2. Saveur .....	36
III-5-3. Odeur .....	36
III-5-4. Consistance .....	36
III-5-5. Solubilité .....	36
III-5-6. Densité .....	36
III-6. Composition de la propolis brute .....	36
III-7. Composition de la propolis purifiée .....	37

III-7-1. Les flavonoïdes .....	37
III-7-2. Les composés phénoliques .....	37
III-7-3. Les oligo-éléments .....	38
III-8. La propolis algérienne .....	38
III-9. Les propriétés pharmacologiques de la propolis .....	38
III-9-1. Propriétés anti-infectieuse .....	39
III-9-2. Propriétés Anti inflammatoire .....	39
III-9-3. Autres propriétés .....	40
III-11. Conservation .....	40
III-10. Toxicité .....	40

## Partie expérimentale

### Chapitre IV: Matériel et Méthodes

IV-I. Première partie (IN VITRO) .....	42
IV-I-1. Propolis, récolte et préparation .....	42
IV-I-1-1. Provenance des échantillons du propolis .....	42
IV-I-1-2. L'extraction de la propolis .....	44
IV-I-1-2-1. Le matériel nécessaire à l'extraction .....	44
IV-I-1-2-2. Mode opératoire .....	44
IV-I-2. Détermination du dosage des polyphénols et flavonoïdes .....	44
IV-I-3. Détermination du pH de la propolis .....	46
IV-I-4. Détermination du rendement de la propolis .....	48
IV-II. Deuxième partie (INVIVO) .....	48
IV-II-1. Choix et préparation des animaux d'expérimentation .....	49
IV-II-2. Préparation des greffons .....	50
IV-II-2-1. Le matériel utilisé pour la préparation des greffons .....	50
IV-II-2-2. Technique de préparation .....	50
IV-II-3. Le matériel utilisé en pré et per opératoire .....	51
IV-II-3-1. Le matériel utilisé en pré opératoire .....	51
IV-II-3-2. Le matériel utilisé en per opératoire .....	51
IV-II-3-2-1. Le matériel chirurgical de base .....	51
IV-II-3-2-2. Le matériel orthopédique .....	52
IV-II-3-2-3. Le matériels d'ostéosynthèse .....	52
IV-II-3-2-4. Autre materiel utilisé .....	52
IV-II-4. Etape pré opératoire .....	52
IV-II-5. Protocole anesthésique .....	54
IV-II-6. Etape per opératoire" l'intervention chirurgicale" .....	55
IV-II-7. Suivi cliniques et para cliniques .....	63
IV-II-7-1. Suivi clinique .....	64
IV-II-7-2. Suivi para clinique .....	64
IV-II-7-2-1. Suivi hémo-biochimique .....	64
IV-II-7-2-1-1. Technique de prélèvement .....	65
IV-II-7-2-2. Suivi radiologique .....	66
IV-II-7-3. Suivi histologique .....	68
IV-III. Partie statistique .....	70

---

## Chapitre V: Résultats

---

V-I. Résultats IN VITRO .....	71
V-I-1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux des différents échantillons de propolis Algérienne .....	71
V-I-1-1. Dosage des polyphénols totaux .....	71
V-I-1-2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	72
V-I-2. Le rendement des EEPA (extraits éthanolique de propolis Algérienne) en % .....	73
V-I-3. Détermination du pH de la propolis .....	74
V-II. Les Résultats du Suivi clinique et para clinique .....	74
V-II-1. Résultats du suivi clinique .....	74
V-II-1-1. L'appui .....	75
V-II-1-2. L'état des plaies .....	78
V-II-1-3. Le transit intestinal .....	79
V-II-1-4. Température corporelle .....	79
V-II-1-5. Etat de la broche .....	80
V-II-1-6. Comportement des animaux .....	80
V-II-2. Résultats para clinique .....	80
V-II-2-1. Résultats des analyses hémato-biochimiques .....	80
V-II-2-1-1. Résultats des analyses hémato-biochimiques pour les ASP .....	81
V-II-2-1-2. Résultats des AAP .....	84
V-II-2-1-3. Comparaison des résultats ASP/AAP .....	87
V-II-2-2. Les résultats radiologiques .....	90
V-II-2-2-1. Les clichés radiographiques pour les cas AAP .....	91
V-II-2-2-2. Interprétation des clichés AAP .....	94
V-II-2-2-3. Les clichés radiographiques pour les cas ASP .....	95
V-II-2-2-4. Interprétation des clichés ASP .....	97
V-II-2-3. Les Résultats histologiques .....	99

---

## Chapitre VI: Discussion

---

VI -I. Discussion des résultats IN VITRO .....	105
VI -II. Discussion des résultats IN VIVO .....	106
VI -II-1. Cliniques .....	106
VI -II-2. Para-cliniques .....	108
VI -II-2-1. Hémato-biochimiques .....	108
VI -II-2-2. Radiologiques .....	109
VI -II-2-3. Histologiques .....	110
Conclusion .....	112
Recommandations et perspectives .....	114
Références bibliographiques .....	115
Annexes	
Résumé	
Article	

# **Introduction**

L'os est un tissu qui entre dans la liste des organes légalement transplantable (Houari, 2015), c'est le deuxième tissu le plus souvent greffé (Oryan et *al.*, 2014). Les greffes osseuses sont souvent nécessaires pour fournir un soutien, combler les vides et améliorer la réparation biologique du squelette (Boyce et *al.*, 1999), son utilisation est courante en orthopédie et ses indications ne cessent d'augmenter ces dernières décennies (Alencar et Vieira, 2010 ; Houari, 2015).

Les greffes osseuses autologues sont les os les plus favorables pour la transplantation «norme d'or» (Zoricic et *al.*, 2002 ; Kohli et *al.*, 2018). La douleur, la morbidité du site donneur, l'infection, le risque chirurgical ainsi que sa quantité sont certains de ses inconvénients (Razafimhandry et *al.*, 2001; Oryan et *al.*, 2014; Kohli et *al.*, 2018), cela signifie que l'utilisation des allogreffes est plus appropriée dans la plupart des situations (Alencar et Vieira, 2010).

Les allogreffes ont des propriétés d'incorporation plus faibles que les autogreffes malgré cela elles représentent une alternative pour le comblement osseux massif (Boudra et *al.*, 2014 ; Obert et *al.*, 2016), grâce à sa disponibilité dans les banques d'os, et également la diminution de la morbidité du geste opératoire. Ce type de greffe nécessitant une préparation visant à réduire la charge antigénique et le risque de transmission de maladies infectieuses d'où l'importance de la stérilisation des os allogéniques (Kohli et *al.*, 2018).

Les principales méthodes de stérilisation des matériaux biologiques utilisées aujourd'hui sont les rayons gamma, l'oxyde d'éthylène et l'autoclavage (Almeida et *al.*, 2013), ce dernier doit être réévalué et ne pas être considéré comme un procédé appliqué juste au traitement de la malignité osseuse (Asmara et *al.*, 2014).

La greffe osseuse peut être utilisée comme un matériel implanté qui favorise la cicatrisation osseuse, seul ou en combinaison avec une autre substance (Oryan et *al.*, 2014).

Actuellement, la plupart des recherches sur les polyphénols de propolis et leurs effets sur l'os sont issues d'études *in vitro* et *in vivo*, et seules quelques études cliniques sont disponibles (Rao et *al.*, 2012), alors que l'application d'une fine couche d'extrait de propolis commercial sur une allogreffe autoclavée accélère le passage du cal au niveau des deux interfaces (Boudra et *al.*, 2014), et améliore la formation osseuse (Meimandi-Pariz et *al.*, 2018).

L'objet de ce travail est de présenter une nouvelle matière biologique à base d'extrait de propolis algérienne et essayer de montrer ses vertus thérapeutiques sur l'os cortical autoclavé allogénique.

Les objectifs ciblés:

- Le choix d'une propolis riche en substance active collectée de différentes régions du territoire national;
- Estimer l'effet analgésique, anti-inflammatoire, et immunostimulant de la propolis ;
- Montrer le pouvoir ostéoconducteur et ostéoinducteur des allogreffes orthotopiques autoclavées couvertes par la propolis algérienne ;
- Etudier le stade d'action de la propolis Algérienne par rapport aux événements biologiques de la cicatrisation.

**Partie**

**bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Rappel anatomo-physio- histologique**

### I-1.Introduction:

L'ensemble des os constituent la charpente du corps des mammifères vertébrés. Les forces mécaniques supportées par les os sont plus liées aux efforts musculaires et aux mouvements qu'aux effets de la pesanteur. En effet, les contractions musculaires protègent l'os lors des chocs et impacts liés aux déplacements et à la pesanteur : une personne vigile subit moins de dommages osseux lors d'un accident de voiture par le fait de la contraction musculaire qu'une personne endormie (Sedel et *al.*,1993). L'os est un tissu vivant capable de se remodeler tout au long de la vie, éminemment dynamique, objet de remaniements constants associant des processus d'ostéogénèse et d'ostéolyse. C'est un tissu conjonctif calcifié et vascularisé (Gartner et Hiatt, 1994) selon André et *al.*, (2008) le squelette a 3 fonctions :

1. Fonction hématopoïétique : les os renferment dans leurs espaces médullaires, la moelle hématopoïétique, dont les cellules souches, à l'origine des 3 lignées de globules du sang qui se trouvent au voisinage des cellules osseuses ;
2. Fonction métabolique : le tissu osseux est un tissu dynamique, constamment remodelé sous l'effet des tensions mécaniques, entraînant la libération ou le stockage des sels minéraux, et assurant ainsi dans une large mesure (conjointement avec l'intestin et les reins) le contrôle du métabolisme phosphocalcique ;
3. Fonction mécanique : C'est le tissu les plus résistant de l'organisme, capable de supporter des contraintes mécaniques, donnant à l'os son rôle de soutien du corps et de protection des organes.

### I-2. Morphologie générale des os longs :

Les os longs se divisent chacun en un corps ou diaphyse, et deux extrémités ou épiphyses. La diaphyse est presque toujours prismatique et triangulaire, voire irrégulièrement cylindrique (humérus, fémur), et présente donc à décrire généralement trois faces et trois bords. Le calibre de la diaphyse d'un os long n'est réellement constant qu'au niveau médio-diaphysaire, il s'élargit vers les épiphyses (Bry, 2015). Les épiphyses sont, pour la plupart des os longs, plus volumineuses et présentent une ou plusieurs surfaces articulaires sur les pourtours desquelles s'insère la capsule articulaire, ainsi que des tubercules ou des fossettes d'insertions tendino-musculaires et ligamentaires.

Existente également à la surface de ces os, des protubérances, des crêtes ou des sillons. Le terme d'épiphyse proximale s'applique à l'extrémité qui regarde la racine du membre et le

terme d'épiphyse distale à l'extrémité opposée. La jonction entre l'épiphyse et la diaphyse correspond à la métaphyse, où se situe le cartilage de croissance chez les jeunes (Testut et Latarjet, 1948 ; Kamina, 2002).

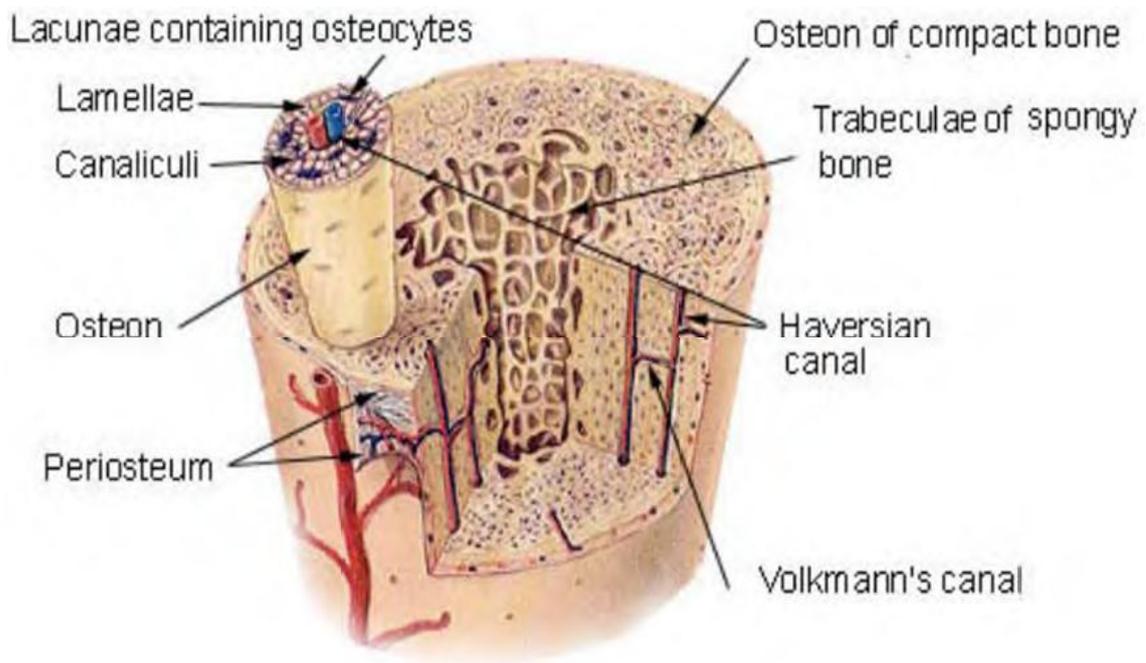
A la coupe d'un os long frais, on décrit classiquement quatre éléments anatomiques fondamentaux de la superficie à la profondeur : le périoste, l'os cortical, la cavité médullaire et l'os trabéculaire (Bry, 2015).

### **I-3.Le périoste :**

Le périoste est une fine membrane fibreuse conjonctivo-élastique implantée tout autour de l'os, sauf au niveau des surfaces cartilagineuses, des insertions tendineuses et des os sésamoïdes. Il assure la croissance en épaisseur de l'os et contient le réseau lymphatique périosté (Bry, 2015 ; Wheater et *al.*, 2001). Il est composé d'une couche externe de tissu conjonctif dense, et d'une couche interne ostéogénique hypervascularisée (cambium) (Wheater et *al.*, 2001). Il est fermement attaché à l'os cortical par des fibres perforantes (Dwek, 2010).

### **I-4.L'os cortical :**

L'os cortical est compact et dense. Ses parois sont de structure fibrillaire longitudinale. Son épaisseur, ainsi que celle du canal médullaire, varient selon le niveau considéré. C'est au tiers moyen de l'os qu'elle est la plus importante. Plus on s'approche des extrémités, plus corticale voit son épaisseur diminuer au profit d'une augmentation du volume de l'os trabéculaire (Bry, 2015). Il est principalement constitué d'ostéones ou système de Havers fait de lamelles osseuses cylindriques disposées concentriquement autour du canal de Havers (Chavassieux et Meunier, 2003; André et *al.*, 2008).



**Figure N°I-1** : Structure macroscopique organisée en os cortical et spongieux (Aubry, 2015).

### **I-5. La cavité médullaire :**

Elle est située au centre de l'os. Elle est tapissée par l'endoste, qui contient la moelle jaune chez l'adulte ainsi que les vaisseaux nourriciers et les nerfs sensitifs et autonomes (sympathiques).

Les fibres sensibles véhiculent les informations nociceptives (douleurs métastatiques) et celles liées aux contraintes mécaniques qui s'exercent sur l'os. Les fibres autonomes transmettent les informations liées au contrôle de la douleur et jouent un rôle actif dans le remodelage osseux (Chenu et Marenzana, 2005; Hinoi, 2012; Togari *et al.*, 2012). A partir du tissu périosté, les nerfs pénètrent dans les canaux de l'os cortical jusqu'aux cellules hématopoïétiques et osseuses ou suivent le trajet des vaisseaux nourriciers, via les forams (Chenu, 2001). Cette moelle, riche en molécules lipidiques, remplace progressivement la moelle hématopoïétique au cours de la vie et possède des propriétés métaboliques (Leckaczernik, 2012).

## I-6.L'os trabéculaire

Ou l'os spongieux, il est constitué d'un réseau tridimensionnel de travées osseuses faites d'unités structurales élémentaires en plaques ou en arches, à texture lamellaire régulière. Entre les travées osseuses se trouve la moelle hématopoïétique (Chavassieux et Meunier, 2003).

Le tissu osseux spongieux siège essentiellement dans les os courts et les os plats (sternum, ailes iliaques) ainsi que dans les épiphyses des os longs. Il est formé par un lacis tridimensionnel de spicules ou trabécules de tissu osseux, ramifiés et anastomosés, délimitant un labyrinthe d'espaces inter communicants occupés par de la moelle osseuse et des vaisseaux (André et *al.*, 2008).

## I-7.Les cellules du tissu osseux :

Il existe quatre principaux types de cellules osseuses :

- Les cellules ostéoprogénitrices ;
- Les ostéoblastes ;
- Les ostéocytes ;
- les ostéoclastes (Toppets et *al.*, 2004; André et *al.*, 2008).

### I-7-1.Les cellules ostéoprogénitrices :

Les cellules ostéoprogénitrices dérivent des cellules mésenchymateuses primitives et forment une population de cellules souches qui peuvent se différencier en cellules plus spécialisées formant l'os : les ostéoblastes et les ostéocytes. Dans l'os mature, où le taux de renouvellement est faible, les cellules ostéoprogénitrices apparaissent petites et fusiformes, ressemblant à des fibroblastes. Apparemment quiescentes, ces cellules recouvrent les surfaces osseuses. On les appelle également « resting ostéoblast » ou « endosteal lining cells » (Toppets et *al.*, 2004).

### I-7-2. Les ostéoblastes :

Les ostéoblastes dérivent de cellules mésenchymateuse situées dans un feuillet interne, l'endoste ou externe, le périoste (Cross et Mercer, 1993). Ils sont reliés entre eux et avec les ostéocytes par des jonctions communicantes. Leur membrane plasmique renferme en abondance de la phosphatase alcaline (Chavassieux et Meunier, 2003 ; Toppets et *al.*, 2004). L'ostéoblaste joue également un rôle de régulation et d'information à la surface de l'os (Shuto et *al.*, 1997) elles synthétisent le composant organique de la MEC (ostéoïde) (Stevens et Lowe, 1997) ; de ce fait, leur cytoplasme est riche en organites impliqués dans la synthèse

protéique (réticulum endoplasmique granulaire abondant (appareil de Golgi volumineux) et la sécrétion de macromolécules matricielles (Chavassieux et Meunier ; 2003, Toppets et *al.*, 2004).

Selon André et *al* (2008) Le devenir des ostéoblastes peut se faire selon trois (03 voies) :

- Transformation en ostéocytes en s'entourant complètement de MEC ;
- Mise au repos sous la forme de cellules bordantes tapissant les surfaces osseuses ;
- Mort par apoptose.

### **I-7-3.Les ostéocytes :**

Ce sont des ostéoblastes différenciés, incapables de se diviser, entièrement entourés (emprisonnés) dans la matrice qu'ils ont synthétisée (Toppets et *al.*, 2004). Les ostéocytes sont des ostéoblastes inactifs reposants dans l'os minéralisé (Stevens et Lowe, 1997). Elles siègent dans des logettes (ostéoplastes) d'où partent des canalicules anastomosés contenant leurs prolongements cytoplasmiques, fins, nombreux, plus ou moins longs, reliés entre eux par des jonctions communicantes (Gartner et Hiatt, 1994). Leur corps cellulaire est de plus petite taille que celui des ostéoblastes, fusiforme, possédant moins d'organites que les ostéoblastes. Les ostéocytes, avec des capacités de synthèse et de résorption limitées, participent au maintien de la matrice osseuse et contribuent à l'homéostasie de la calcémie (André et *al.*, 2008). Ils n'augmentent pas la masse osseuse, mais sont essentiels pour le renouvellement continu de la matrice extracellulaire (Cross et Mercer, 1993).

Les ostéoblastes et les ostéocytes dérivent d'une cellule mésenchymateuse primitive appelée cellule ostéoprogénitrice (Wheater et *al.*, 2001).

### **I-7-4.Les ostéoclastes :**

La résorption osseuse est assurée par de grandes cellules multinucléées appelées ostéoclastes (Chavassieux et Meunier, 2003) qui s'observent souvent dans des dépressions creusées à la surface de l'os appelées lacune de howship (Wheater et *al.*, 2001) et peuvent contenir plus de 50 noyaux (Kühnel, 2003). La membrane de ostéoclaste en face de l'os forme une bordure en brosse constituée de profond replis, une pompe à proton située dans la bordure maintient un pH bas dans la lacune, ce qui provoque la dissolution des cristaux d'hydroxyapatite de la matrice inorganique (Cross et Mercer, 1993).

Les ostéoclastes et les ostéoblastes participent également de la maintenance à long terme des bilans calciques et phosphatés de l'organisme (Gartner et Hiatt, 1994) par leur réponse à l'hormone parathyroïdienne et à la calcitonine. L'hormone parathyroïdienne stimule

la résorption ostéoclastique et la libération d'ions calcium à partir de l'os, tandis que la calcitonine inhibe l'activité ostéoclastique (Wheater et *al.*, 2001).

### **I-8.La matrice extracellulaire :**

La MEC de l'os comporte une partie organique et une minérale (Gartner et Hiatt, 1994; Dadoune et Siffori, 2000; Toppets et *al.*, 2004; André et *al.*, 2008). La matrice extracellulaire occupe entre 92 et 95 % du volume tissulaire. La teneur en eau, environ 9%, est très variable en fonction de l'âge et du degré de minéralisation (Toppets et *al.*, 2004).

#### **I-8-1.La portion organique :**

La matrice organique représente 22% de la masse osseuse et constitue ce que l'on appelle l'ostéoïde ou substance préosseuse (Toppets et *al.*, 2004).

Elle est composée principalement de collagène de type I, de glycoprotéines sulfatés ; ainsi que quelques protéoglycanes (Gartner et Hiatt 1994), d'ostéopontine (reliant l'hydroxyapatite aux cellules osseuses), d'ostéonectine (intervenant dans la minéralisation par son affinité pour le collagène I et le calcium), d'ostéocalcine (marqueur des ostéoblastes matures, intervenant dans la minéralisation), de sialoprotéine osseuse et de thrombospondine (permettant l'attache des cellules osseuses à la MEC via un récepteur membranaire de la famille des intégrines).

La MEC osseuse contient des cytokines et 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 (André et *al.*, 2008).

#### **I-8-2.La portion minérale :**

La portion inorganique de la matrice osseuse confère à l'os sa résistance mécanique et représente aussi une importante réserve minérale.

Elle est essentiellement composée de phosphate de calcium cristallisé sous forme d'hydroxyapatite. Les cristaux d'hydroxyapatite ont une forme hexagonale, aplatie et sont disposés dans les espaces inter fibrillaires (Chavassieux et Meunier, 2003).

Les ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  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 (André et *al.*, 2008).

### I-9.L'anatomie de la cuisse du lapin :

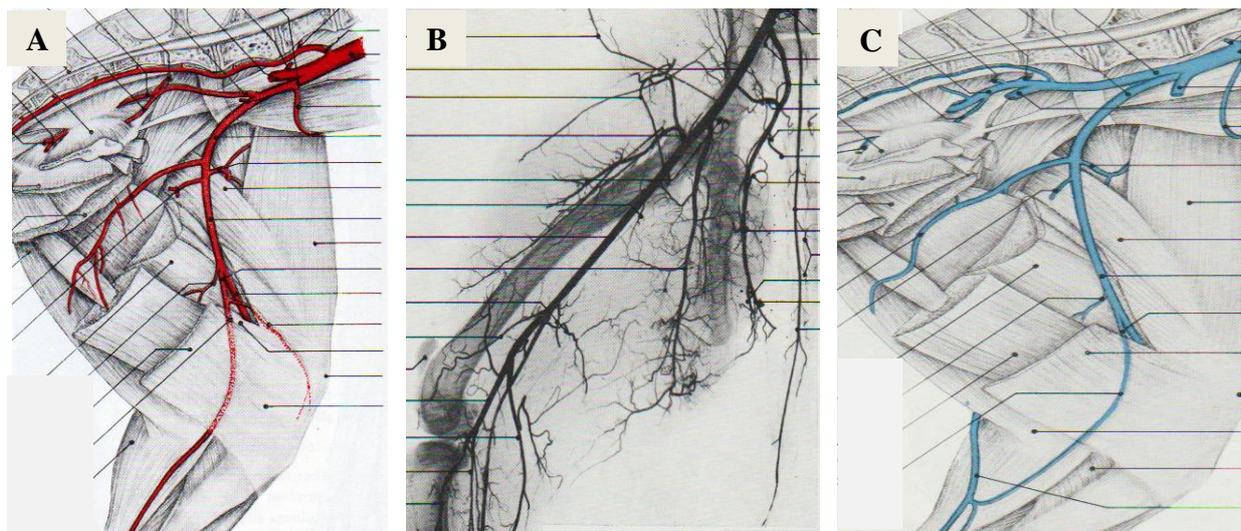
Le squelette de la cuisse ne comporte qu'un seul os : le fémur est un os long, asymétrique et pair; il est articulé par son extrémité proximale à l'acetabulum de l'os coxal et par sa partie distale aux os de la jambe. Il est chez tous les mammifères domestiques fortement oblique en direction cranio-ventrale et légèrement latérale ( Barone, 1978).

L'irrigation est assurée par l'artère fémorale qui n'est pas vraiment superficielle dans le triangle fémorale car elle est couverte dans cette région par le muscle sartorius elle croise le bord médial du fémur en passant entre les insertions musculaires du muscles grand adducteur et semi-membraneux.

L'artère circonflexe latérale de la cuisse naît presque au même niveau que la profonde de la cuisse mais sur le bord opposé de la fémorale. Elle est volumineuse. Son rameau ascendant, particulièrement développé, donne une riche irrigation au muscle tenseur du fascia lata.

Dans son origine procède l'artère nourricière du fémur, qui contourne la terminaison du muscle psoas-iliaque pour atteindre le foramen nourricier, très proximal dans cette espèce.

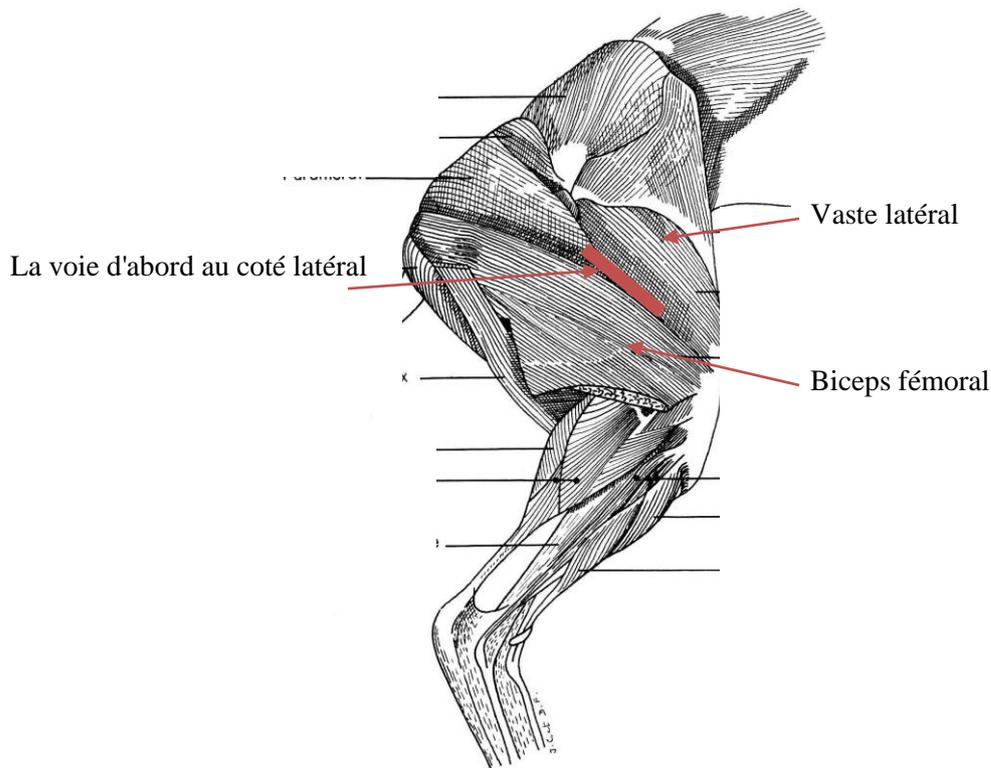
L'artère épigastrique caudale superficielle quitte la fémorale un à deux millimètre au-delà de précédant. Elle traverse le muscle muscle gracile et le fascia fémoral. L'artère saphène naît un peu distalement au milieu de la cuisse. Elle très volumineuse, elle est dépourvue de rameau cranial. Elle passe entre les muscle semi membraneux et gracile puis perfore l'aponévrose de ce dernier pour devenir superficielle (Barone, 1996).



**Figure N° I-2 :** A: L'irrigation de la cuisse. B :L'angiographie des artères de la région de la cuisse. C: Le drainage de la cuisse (Barone, 1973).

Les veines de la cuisse ont pour collecteur axial la veine fémorale, à laquelle aboutissent, outre les veines profondes qui reproduisent la disposition des artères. La veine fémorale est toujours volumineuse et simple. Elle fait suite à la poplitée sous la partie distale du grand adducteur de la cuisse et accompagne l'artère homonyme dans le canal fémoral ; du hiatus tendineux à la lacune vasculaire, au niveau de laquelle elle se continue par la veine iliaque externe. Dans ce trajet, elle est placée à la face caudale puis médio-caudal de l'artère et le nerf saphène l'accompagne latéralement. Elle reçoit les veines : fémorales caudales, saphène latérale, descendante du genou, saphène médiale et circonflexe latéral de la cuisse (Barone, 1996).

Les muscles de la région de la cuisse du lapin sont: le tenseur du fascia lata recouvre la face antérieure de la cuisse ; par l'intermédiaire de sa vaste aponévrose, le fascia lata, il s'attache sur la rotule et les ligaments rotuliens d'une part et au bord externe du fémur, jusqu'au troisième trochanter, d'autre part ; son insertion supéro-antérieure s'effectue sur l'angle externe de l'ilium. Le paraméral, situé sur la face externe de la cuisse, représenterait une portion antérieure du long vaste, nettement distincte, chez le Lapin, de la fraction postérieure constituant le biceps fémoral qui le recouvre sur ses deux tiers inférieurs. Son insertion haute se fait sur la crête du sacrum, tandis que son autre extrémité est fixée par un fort tendon sur la rotule. Le biceps fémoral a ses attaches hautes sur la tubérosité ischiale, son angle supéro-postérieur étant recouvert par un petit faisceau superficiel du demi-tendineux, lui-même fixé par une petite aponévrose sur le ligament sacro-sciatique et l'épine sacrée. (Alezaïs, 1900). Il se termine vers le bas par une large aponévrose qui se continue par l'aponévrose jambière et lui offre une vaste insertion sur le côté externe de la jambe qui se continue par l'aponévrose jambière et lui offre une vaste insertion sur le côté externe de la jambe (Chantier et Vezinhet, 1968).



**Figure N°I-3:** Membre postérieur face externe (Chantier et Vezinhet, 1968).

Le droit interne est un muscle quadrilatère, translucide, mince, qui forme le plat de la cuisse. Il se fixe par tout son bord supérieur à la symphyse ischio-pubienne en commun avec son homologue ; son aponévrose antéro-inférieure atteint le ligament rotulien interne et la face interne du tibia. Le couturier (sartorius) longeant le bord antéro-supérieur du droit interne, est un muscle étroit et plat, qui part de l'angle antéro-externe de l'ilium et rejoint l'aponévrose jambière, par laquelle il se lie à l'extrémité supérieure de la face interne du tibia. Le demi-membraneux forme le bord postéro-interne de la cuisse et la pointe de la fesse. Mis à jour après l'enlèvement du demi-tendineux, il a ses attaches postéro-supérieures au niveau de l'aponévrose coccygienne, de la tubérosité ischiatique et de la face interne de l'ischium. Ses tendons inférieurs se fixent sur le condyle interne du fémur et sur l'extrémité supérieure de la tubérosité interne du tibia. Le demi-membraneux renferme dans sa masse un gros faisceau rouge foncé, conoïde, facile à isoler, auquel appartient un long tendon qui va s'insérer à l'angle postérieur de la tubérosité interne du tibia (Alezais, 1900).

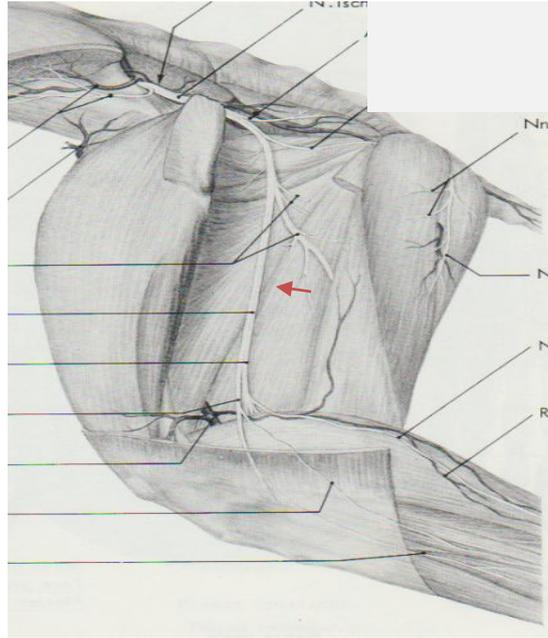
Le vaste interne a ses insertions basses sur le ligament tibio-rotulien interne et le bord interne de la rotule ; vers le haut il rejoint le bord interne de la face postérieure du fémur. Le droit antérieur est un épais cylindre dont le cône aponévrotique inférieur se fixe sur la face

antérieure de la rotule ; son tendon supérieur bifide se termine en avant et en dehors, sous le sourcil de la cavité cotyloïde. Le vaste externe situé à l'avant du fémur, est un muscle épais et large se terminant d'une part sur la face supérieure et le côté externe de la rotule, d'autre part au bord externe de la face postérieure du fémur, et formé de deux faisceaux associés. Le vaste intermédiaire est un muscle rouge foncé plaqué à la face antérieure du fémur et situé dans la gouttière formée par les vastes interne et externe. Il est constitué de faisceaux prenant naissance sur toute l'étendue de la face antérieure du fémur, son insertion inférieure sur la rotule étant commune avec le droit antérieur. L'adducteur situé en arrière, est un muscle prismatique formé, chez le Lapin, par la réunion du petit et du grand adducteur de la cuisse. Il s'insère en haut sous la face interne de l'ischium et sur la lame tendineuse impaire qui s'attache à la symphyse pelvienne. Le pectiné au-dessus et intérieurement par rapport au précédent, est situé au fond du triangle de Scarpa et formé de deux faisceaux partant du bord antérieur et de la face inférieure du pubis. Par ailleurs, il s'attache par des tendons sur le côté interne de la partie supérieure du fémur (Alezaïs, 1900 ; Chantier et Vezinhet, 1968).

L'innervation de cette région est assurée par le nerf fémoral qui pénètre entre le droit fémoral et le vaste médial pour fournir des branches différentes à tout le muscle. Le nerf fémoral abandonne également des branches motrices au couturier, à l'articulaire de la hanche et à l'iliopsoas (Piérard, 1972). L'abord latéral du fémur est peu gêné par la présence du nerf sciatique, situé caudalement à la diaphyse est facilement repérable (Cossu et *al.*, 2005).

Le nerf saphène descend de la cuisse le long du bord caudal du muscle couturier pour se placer ensuite crânialement à l'artère saphène. Il suivra ensuite le rameau crânial de cette artère et, finalement, descendra le long de l'aspect médial et dorsal du pied.

Le nerf sciatique c'est le nerf le plus volumineux de l'animal. Son trajet est extrêmement important. Chez toutes les espèces, le nerf quitte la cavité pelvienne, presque immédiatement après sa formation pour la grande échancrure sciatique, il passe ensuite entre le fessier profond et les autres fessiers et descend entre le biceps fémorale latéralement et les demi-tendineux et demi-membraneux médialement (Piérard, 1972).



**Figure N°I-4:** Le trajet du nerf sciatique chez le lapin d'après (Barone, 1973).

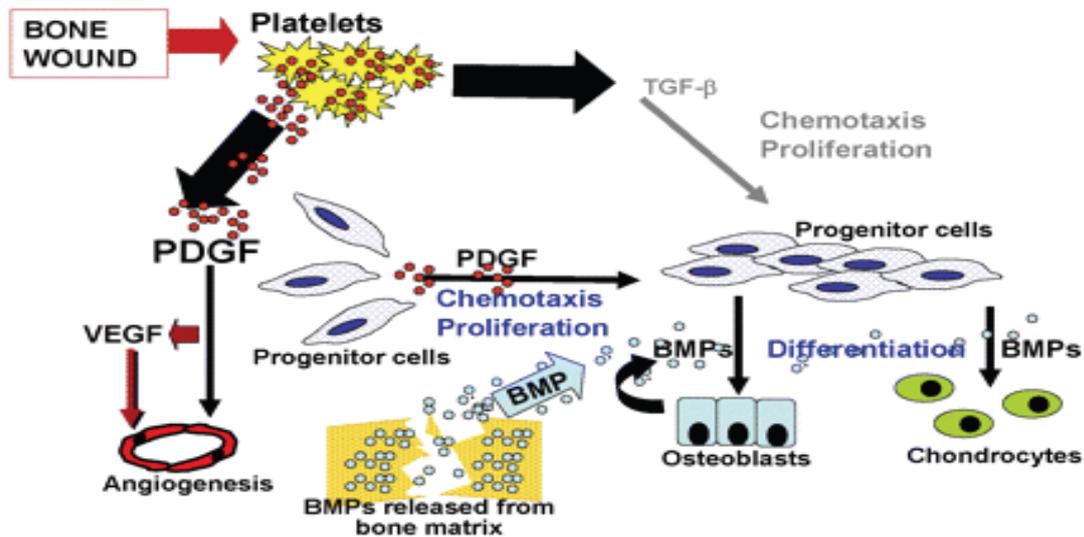
## **I-10. Le processus de cicatrisation osseuse:**

### **I-10-1. Formation d'un hématome :**

La cicatrisation débute après la formation d'un hématome fracturaire, consécutive au traumatisme initial. L'extravasation sanguine provient des lésions des vaisseaux de la cavité médullaire, du périoste, mais aussi des tissus mous et muscles adjacents, voire des vaisseaux voisins. L'hématome s'organise en un caillot sanguin, réseau de fibrine, réticuline et collagène (Wraighte et Scammell, 2006).

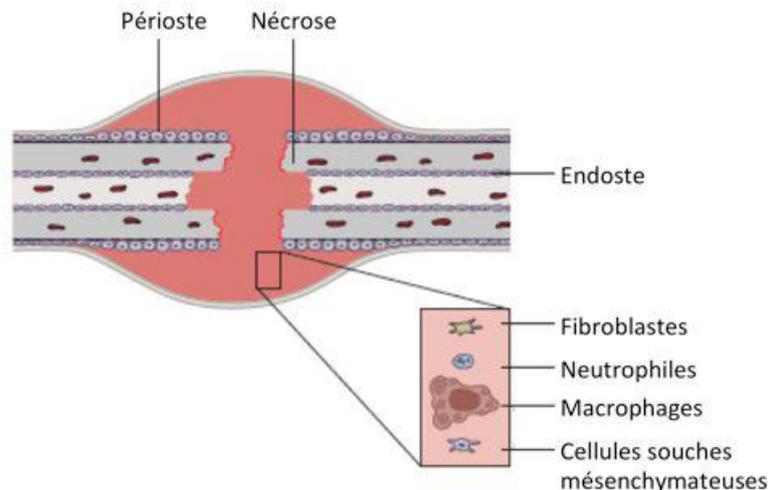
### **I-10-2. Phase inflammatoire (dès la 1<sup>ère</sup> heure et jusqu'à 3 semaines après traumatisme):**

Suite au traumatisme, les bouts fracturaires subissent une ischémie et présentent une zone dévascularisée, qui nécrose. Le réseau de fibrine de l'hématome constitue un support pour l'afflux de diverses cellules migrantes, attirées par les facteurs chimiotactiques libérés par les cellules de l'os nécrotique et de l'hématome et par l'exsudation plasmatique de médiateurs de l'inflammation, conduisant à une réponse inflammatoire typique. L'inflammation aiguë se développe en regard du foyer fracturaire, de la cavité médullaire et des tissus mous environnants. Elle est caractérisée par une vasodilatation, une hyperémie, une augmentation de la perméabilité vasculaire une migration et prolifération de cellules inflammatoires (polynucléaires neutrophiles, macrophages) dans l'ensemble de l'os affecté, puis uniquement dans la zone fracturaire.



**Figure N°I-5 :**Le chimiotactisme et la prolifération cellulaire durant la cicatrisation osseuse (Ghodadra et Singh, 2008)

Elle s'accompagne également d'une douleur et d'une tuméfaction de la zone fracturaire. Les cellules inflammatoires et les plaquettes libèrent de nombreuses cytokines, activant la migration, la prolifération et la différenciation de cellules souches, conduisant à la réparation. L'inflammation persiste jusqu'à l'apparition de cartilage ou d'os. Un envahissement vasculaire du foyer fracturaire par angiogenèse s'effectue depuis le périoste et les tissus mous environnants. Parallèlement, l'os nécrotique des bouts fracturaires commence à subir une résorption par les ostéoclastes et les tissus dévitalisés une phagocytose par les macrophages apportés par la néovascularisation (Verset, 2013).



**Figure N°I-6** : Phase inflammatoire (Ruedi et *al.*, 2017).

### **I-10-3. Formation du cal mou (de la 1<sup>ère</sup> à la 48<sup>e</sup> heure après le traumatisme):**

Consolidation conjonctive: L'hématome est colonisé par une migration et prolifération de cellules mésenchymateuses indifférenciées, provenant de la couche ostéogène (ou cambium) du périoste et de l'endoste, de la moelle osseuse et du sang. Ces cellules se différencient en fibroblastes, qui forment un tissu de granulation remplaçant progressivement l'hématome. En parallèle, une néovascularisation se met en place à partir des artères médullaires et des tissus environnants (Postacchini, 1995). Les cellules du tissu de granulation synthétisent du collagène, aboutissant à sa maturation en tissu conjonctif englobant les abouts fracturaires (Einhorn, 1998).

Cela constitue la 1<sup>ère</sup> phase de stabilisation du foyer fracturaire. Par la suite, le tissu conjonctif évolue en fonction des conditions de stabilité locale. Consolidation cartilagineuse (entre 48h et 3 semaines après le traumatisme) : Lors d'instabilité relative du foyer fracturaire, on observe une différenciation des cellules mésenchymateuses en chondroblastes (moins exigeants que les ostéoblastes sur le plan biologique). Ces cellules synthétisent une matrice cartilagineuse (divers types de collagène), dont l'apparition s'effectue généralement depuis les extrémités osseuses avant de s'étendre radialement vers le centre du foyer fracturaire. Le cal conjonctif se transforme ainsi en cal fibro-cartilagineux (ou cal mou), améliorant la stabilité du foyer fracturaire. Une interruption temporaire de la circulation sanguine médullaire à travers la fracture survient par la présence de la couche fibrocartilagineuse dans le canal médullaire. La quantité de cartilage formé dépend de l'importance des sollicitations mécaniques du cal conjonctif. Une prolifération vasculaire s'effectue au sein du cal. Vers la

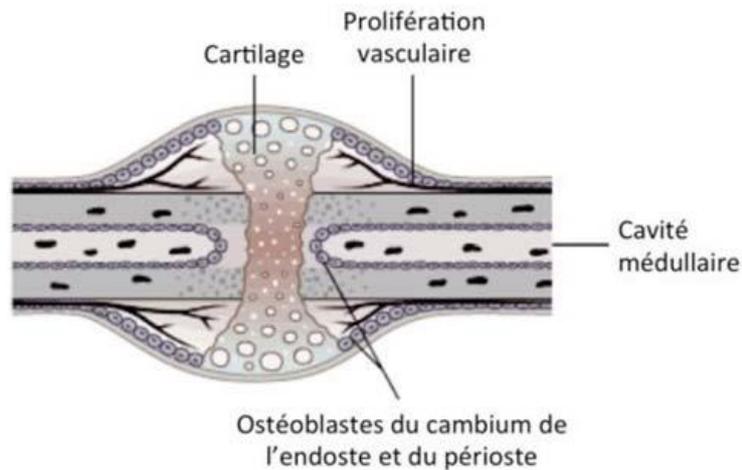
fin de la consolidation cartilagineuse, les conditions locales de stabilité sont suffisantes pour éviter un raccourcissement de l'espace fracturaire, bien qu'une angulation de la fracture puisse encore survenir (Claes, 1997).

#### **I-10-4. Formation du cal dur (de 3 semaines à 3-4 mois après le traumatisme):**

Consolidation osseuse: dès les 1<sup>ers</sup> jours après la fracture, et en parallèle de la consolidation cartilagineuse, les cellules souches du cambium du périoste et de l'endoste se différencient en ostéoblastes. Ceux-ci synthétisent alors la matrice osseuse selon une ossification intramembraneuse de l'endoste et du périoste, débutant à distance de l'écart interfragmentaire et se poursuivant en direction de celui-ci (Einhorn, 1998).

Ce processus est très précoce et rapide dans le cas du périoste et plus tardif et lent dans le cas de l'endoste. Un manchon d'os immature (également appelé os réticulaire) finit ainsi par recouvrir le périoste et remplir le canal médullaire, constituant le support du cal externe (ou périosté) et du cal interne (ou médullaire), dont l'association forme le cal de pontage. Le cal externe est vascularisé par des vaisseaux extra-osseux et le cal interne par des vaisseaux dérivés des artérioles médullaires (Verset, 2013).

Plus tardivement, quand les abouts fracturaires se trouvent liés ensemble par le cal mou et la cal de pontage, le gain de stabilité autorise la poursuite de la formation du cal dur par ossification endochondrale, qui continue jusqu'à l'union complète des abouts par de l'os néoformé. Pendant que l'ossification intramembraneuse se poursuit, les tissus au sein du foyer fracturaire (cal périosté et cal cortical) subissent donc une ossification endochondrale. Les chondrocytes constituant le tissu cartilagineux (cal mou) s'hypertrophient, se calcifient et meurent. Les ostéoblastes synthétisent l'os immature en le déposant sur la matrice collagénique laissée par les chondrocytes, convertissant de cette façon le cal mou en un cal dur, tissu calcifié et rigide. L'ossification endochondrale débute en périphérie du site fracturaire, où les déformations sont les plus faibles (Verset, 2013).



**Figure N° I-7 :** Formation du cal mou et d'but de l'ossification intramembraneuse (Ruedi et *al.*, 2017).

La néoformation osseuse diminue les déformations dans la zone centrale du foyer, qui se transforme alors à son tour en os immature. La formation du cal dur s'effectue donc depuis la périphérie vers le centre de la fracture, jusqu'à réunification des bords proximal et distal du cal, c'est-à-dire jusqu'au pontage des fragments par ce cal osseux. Au final, la formation d'os immature (constituant le cal dur) lors de cicatrisation secondaire est ainsi obtenue par l'association d'une ossification endochondrale et d'une ossification intramembraneuse (Verset, 2013).

La phase de consolidation permet donc une stabilisation du foyer fracturaire par augmentation de sa raideur, résultant à la fois d'une augmentation du diamètre de l'os (amélioration des propriétés structurelles par le cal externe) mais aussi des différenciations tissulaires successives (amélioration des propriétés matérielles par minéralisation progressive du cal (Augat, 2005).

Au fur et à mesure de ce processus, les mouvements interfragmentaires diminuent, jusqu'au pontage des fragments osseux, qui réduit les mouvements interfragmentaires à un niveau si faible que la formation d'os lamellaire peut se produire dans le foyer fracturaire. Bien que la structure de l'os diffère encore de sa structure originelle, à l'issue de la phase de consolidation, l'os a retrouvé une résistance et une raideur suffisantes pour autoriser une reprise d'activité (Verset, 2013).

Dans le cas où le tissu de granulation serait soumis à un défaut d'apport en oxygène ou à une relative mobilité, les cellules mésenchymateuses se différencient en des chondroblastes

et non en ostéoblastes. On observe la formation de foyers de métaplasie cartilagineuse dans le tissu de granulation et l'on parle alors de cal fibrocartilagineux (Aro et *al.*, 1989). Si l'oxygène est présent en quantité suffisante, les cellules mésenchymateuses se différencient en ostéoblastes, qui vont alors constituer un cal « osseux » (Bonnel et Tachot, 1989; Toppets et *al.*, 2004).

#### **I-10-5.Phase de remodelage (à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine):**

La phase de remodelage débute après le pontage du foyer fracturaire par l'os immature. L'os immature est progressivement et lentement remplacé par de l'os lamellaire (également appelé os compact ou os cortical), mécaniquement compétent. Cette longue transformation (70% du temps total de cicatrisation) s'effectue par un double processus de résorption-reconstruction (catabolisme-anabolisme), effectué par les ostéoclastes et ostéoblastes et similaire au renouvellement physiologique du tissu osseux. Il fait appel à une érosion de surface et un remodelage ostéonal (Chavassieux et Meunier, 2003). Un dépôt d'os est observé dans les zones de contraintes élevées et une résorption dans les zones de contraintes plus faibles. Ce phénomène a été défini, empiriquement, par la loi de Wolff, au 19<sup>e</sup> siècle (Wolff, 1869).

Le cal externe devient fusiforme et disparaît progressivement. Le remodelage du cal interne rétablit la continuité du canal médullaire. Le remodelage aboutit donc, au bout d'une période s'étendant de plusieurs mois à 6 voire 9 ans après le traumatisme initial, à la restauration de la forme et du diamètre de l'os et du canal médullaire. Son intensité et sa durée sont fortement liées aux contraintes appliquées au niveau du foyer fracturaire (Verset, 2013).

# **Chapitre II**

## **Greffe osseuse , Ostéosynthèse et Radiologie**

**II-1-1. Historique de la greffe osseuse :**

Depuis le premier essai réussi fait par Merrem en 1809, les recherches ne se sont pas arrêtées (Peer, 1955; Bowerman et Hughes, 1975) les questions et les contradictions ont pris de l'ampleur concernant la meilleure qualité de la greffe osseuse et son devenir (Peer, 1955). En 1867, le chirurgien et physiologiste Français Ollier a pu réaliser un examen de la greffe osseuse (Peer, 1955; Friedlaener, 1983). Cette recherche a été considérée comme une base et un début pour d'autres recherches qui ont contribué à l'instauration des principes de la greffe osseuse, utilisés par la suite en chirurgie générale en 1915 (Stevenson, 1985; Brinker et *al.*, 1994).

La greffe osseuse a su prouver sa compétence en chirurgie vétérinaire, ce qui lui a valu son authentification (Olds, 1981; Nunamaker, 1985; Szentimrey et *al.*, 1995). La majorité des chirurgiens se sont mis d'accord sur le fait que la meilleure matière pour remplacer la perte osseuse est l'autogreffe (Albee, 1923; Bacher et Schmidt, 1980; Schena et Mccurnin, 1983, Shena et *al.*, 1984).

Certains auteurs pensent que si le but de la greffe est de combler une grande perte de l'os, l'utilisation de l'os cortical est préférée (Stevenson, 1985; Slatter, 1995), assurant ainsi une immobilisation interne (Albee, 1923) ; en particulier, pour les fractures qui présentent une perte osseuse massive car il est impossible de reconstituer l'os. Dans ces cas-là, les chirurgiens ont trouvé que la greffe corticale est le seul moyen pour éviter l'amputation des membres (Stevenson, 1985).

**II-1-2. Les différents types de la greffe osseuse :****II-2-1. Autogreffe:**

Une autogreffe correspond au prélèvement d'un greffon et à son implantation chez le même individu. Le greffon osseux autologue comprend une trame organique, cellulaire vivante et une portion minérale. Les cellules osseuses du greffon sont les ostéoblastes et les ostéoclastes et les cellules souches précurseurs qui lui confèrent son caractère ostéogénique. Grâce à sa structure, à sa composition chimique et à la présence de protéines inductrices, l'os autologue est aussi ostéoconducteur, ostéoinducteur et parfaitement biocompatible (Giannoudis et *al.*, 2005 ; Wang et Yeung, 2017).

L'os autologue reste aujourd'hui le « gold-standard » en régénération osseuse, malgré ses inconvénients (augmentation de la durée d'intervention et du risque chirurgical, douleurs résiduelles, quantité limitée) (Razafimhandry et *al.*, 2001), D'où l'intérêt de rechercher et de développer d'autres substituts osseux idéals (Giannoudis et Dinopoulos, 2005).

**II-1-2-2.Allogreffe:**

L'allogreffe est une greffe qui consiste à transférer un tissu d'un donneur vers un receveur appartenant à la même espèce mais n'ayant pas le même code génétique (Deloye, 2017). Les allogreffes sont utilisées à la fois sous forme morcelée et sous forme structurale et sont fournies sous forme de greffe corticale, spongieuse ou cortico-spongieuse (Oryan et *al.*, 2014). Les limitations associées à la récolte d'autogreffes font que les allogreffes ont été appliqués cliniquement et expérimentalement comme une alternative (Wang et Yeung, 2017).

**II-1-2-3.Xénogreffe :**

La xénogreffe est la transplantation d'un organe ou d'un tissu entre deux individus appartenant à des espèces différentes (Aubry, 2015), ce type de greffe est le moins efficace car c'est le plus exposé au risque de rejet (Shena, 1983).

Les xénogreffes osseuses ont connu un grand succès par le passé. Mais depuis la fin des années 70, elles ont progressivement été remplacées par les allogreffes et l'os de banque (Doherty et *al.*, 1994).

D'après Shena et McCurnin, (1983) la greffe peut être classée aussi selon l'endroit anatomique, le groupe sanguin et l'antécédent génétique:

- **Isogreffe** : c'est la greffe de tissu entre des sujets qui ont les mêmes antécédents génétiques ;
- **Syngenesiogreffe** : greffon obtenu à partir des individus du même groupe sanguin ;
- **Greffon orthotopique** : greffon implanté chirurgicalement dans un tissu du même endroit anatomique .
- **Greffe hétérotopique** : greffon implanté chirurgicalement dans un tissu d'endroits anatomiquement différents.

**II-1-4.Fonction du greffon osseux :**

Les greffes osseuses interviennent dans plusieurs fonctions, telles que l'ostéogénèse, l'ostéoinduction, l'osteoconduction, l'ostéointégration (Miller et Block, 2011) assurant ainsi un support mécanique (Houari, 2015).

Pour toute greffe osseuse il existe quatre caractéristiques recherchées (Miller et Block, 2011):

**II-1-4-1.L'ostéoinduction:**

Se définit comme la possibilité d'une néoformation osseuse à partir de cellules mésenchymateuses (Wang et Yeung, 2017). Il s'agit de la capacité d'induire une différenciation des cellules mésenchymateuses vers la lignée ostéogénique pour synthétiser une matrice osseuse minéralisable. Ces facteurs sont représentés notamment par les BMPs un

matériau ostéoinducteur est donc capable de provoquer une néoformation osseuse (Feneyrou, 2014). Selon Miller et Block, (2011) c'est le recrutement des cellules mésenchymateuses qui entoure le greffon qui se transforment en ostéoblastes ou en chondroblastes.

Le recrutement et la différenciation sont modulés par un facteur de croissance induit par la matrice de greffe, dont l'activité est déclenchée lorsque le minéral osseux est retiré (Khan et al., 2005).

**II-1-4-2. L'ostéoconduction:**

L'ostéoconduction est définie comme la croissance osseuse par apposition à la surface d'un matériau, dit « ostéoconducteur » à partir de l'os environnant. Autrement dit, le matériau va servir de support passif aux ostéoblastes et à la vascularisation provenant du site receveur de la greffe par contact (Albrektsson et Johansson, 2001; Miller et Block, 2011; Feneyrou, 2014).

**II-1-4-3. L'ostéointégration:**

C'est la capacité d'unir chimiquement deux surfaces d'os, sans l'intervention d'une couche de tissu fibreux (Miller et Block, 2011).

**II-1-4-4. L'ostéogénèse:**

L'ostéogénèse est la synthèse d'un nouvel os par des cellules dérivées de d'hôte (Khan, 2005) ou transportées par le greffon (Miller et Block, 2011). Selon Slatter, (1995) le mot ostéogénèse est utilisé ; afin de décrire l'action de formation de l'os sans indiquer l'origine des cellules. Au moment de la formation du nouvel os au niveau du greffon ou à sa périphérie, il est possible que son origine soit les cellules mésenchymateuses du greffon ou de l'hôte, soient recrutées pour la formation d'os et du cartilage lors de l'osteoinduction.

**Tableau N°II-1:** Propriétés biologiques des différents matériaux utilisés pour les greffes (Colombier et al., 2005).

Matériaux	Contenu	Ostéogénique	Ostéoinducteur	Ostéoconducteur
Autogreffe.	-Matrice osseuse. -Cellules ostéogéniques. -Facteurs de croissance.	+/-	+	+
Allogreffe.	-Matrice osseuse despécifiée. -Absence de cellules. -Facteurs de croissance.	-	+	+
Xéno greffe.	-Matrice inorganique minéralisée despécifiée. -Absence de cellules. -Absence de facteurs de croissance.	-	-	+
Matériaux synthétiques.	-Absence de cellules. -Absence de facteurs de croissance.	-	-	+

**II-1-5. Incorporation des greffons allogéniques :****II-1-5-1.Mécanisme:**

La première étape est une réaction inflammatoire :

Elle aboutit à la production de bourgeons conjonctivo-vasculaires qui infiltrent l'hématome et le greffon. Cette étape fait intervenir les qualités trophiques du lit de greffe.

Les phases ultérieures diffèrent en fonction de la nature spongieuse ou corticale de la greffe.

**Pour la greffe spongieuse :** les bourgeons vasculaires pénètrent directement par ses interstices et les ostéoblastes déposent de l'ostéoïde sur les travées. ultérieurement, l'action des ostéoclastes aboutira au remplacement de la zone greffée par l'os lamellaire neuf (criping substitution). cette incorporation est rapide et complète pour une autogreffe.

L'incorporation des allogreffes spongieuse ce fait selon le même processus , mais avec des délais plus longs et un résultat moins complet. La phase de revascularisation est retardée par l'importance de la réaction inflammatoire et toutes les cellules du greffon sont nécrosées.

**Pour la greffe corticale :** l'incorporation est beaucoup plus logue est incomplète qu'il s'agisse d'une auto ou une allogreffe, les bourgeons conjonctivovasculaires entourent le greffon sans pouvoir y pénétrer et ce n'est qu'au fur et à mesure de l'avancée de la résorption ostéoclastique périphérique que les bourgeons pourront avancer. L' apposition ostéoblastique ne débute que vers la 12ème semaine. Les cellules des greffons corticaux ne peuvent pas survivre du fait des difficultés de nutrition par imbibition et du temps de latence de la revascularisation en site cortical par rapport à l'autogreffe non vascularisée (Houari, 2015) On peut dire que l'incorporation du greffon est une opération lente, l'approvisionnement du greffon en vaisseaux sanguins, la résorption de l'ancien système haversien et la formation d'un nouveau os à la fin. Toutes ces opérations sont lentes, même après cinq ans une grande quantité du greffon est toujours présente. La majorité de la consolidation est assuré par le cal périphérique, qui est dérivé à partir de la corticale de l'os receveur qui couvre les extrémités du greffon (Szentimrey et *al.*, 1995).

**II-1-6. Les allogreffes autoclavées :**

Le greffon autoclavé a prouvé sa compétence clinique en empêchant la transmission des maladies du donneur au receveur. Une étude a montré que l'ablation d'une tumeur osseuse, et sa stérilisation par autoclavage entraine l'élimination des cellules cancéreuses, d'où la possibilité de sa réimplantations sans aucune crainte de récdivité (Olds, 1981; Friedlaender,1983). Malgré ses avantages en termes de coût et de faible réponse

immunologique cette méthode de stérilité engendre la fragilité mécanique des os (Asmara et *al.*, 2014).

### **II-1-7. Moyens de fixation :**

En 1979, Hendricks a publié son rapport pratique concernant sa réussite dans la reconstitution complète d'un segment d'os cortical d'un chat blessé par balle. La radiographie a montré une fracture comminutive de la diaphyse fémorale. A ce moment, ils ont ramené un autre chat donneur. Le greffon récolté a été fixé à l'aide d'une plaque vissée mais il n'y avait pas suffisamment de place à l'extrémité de l'os pour avoir une bonne fixation de la plaque. Le chirurgien était dans l'obligation d'utiliser un enclouage centromédullaire et un fil métallique, l'animal a pu être sauvé de l'amputation (Henricksen, 1979).

Différentes méthodes d'immobilisation des fractures peuvent être utilisées dans chaque situation, et chaque cas doit être traité individuellement. Les fractures fermées, en fonction de leur siège et de leur nature, peuvent être stabilisées à l'aide d'un bandage externe, d'un enclouage centro-médullaire, de cerclages, de fixateur externe ou de plaque (Ithier, 2005).

### **II-2-1.L'ostéosynthèse:**

Elle consiste à privilégier un alignement des abouts fracturaires principaux du site de fracture, permettant de cette façon un respect de la vascularisation de l'os et des tissus mous (hématome fracturaire, périoste, insertions musculaires, etc) (Piermattei, 2006). La fixation est assurée par un montage d'ostéosynthèse pontant le foyer fracturaire en s'ancrant sur les fragments osseux principaux proximal et distal. Le but est la formation rapide d'un cal osseux permettant de soulager l'implant d'une partie des efforts qui lui sont appliqués (Beale, 2004). Cette technique présente ainsi de nombreux avantages comme un temps opératoire plus court et une cicatrisation plus rapide avec un taux de complications moindre (Horstman, 2004).

Il est capitale, lorsque on veut faire une étude sur le devenir des greffons, de bien étudier les modalités de l'ostéosynthèse réalisée et d'analyser la qualité du contact entre l'os receveur et l'allogreffe, ainsi que la stabilité du montage, de même que l'environnement musculaire de celui ci. En effet, si le contact entre les extrémités osseuses n'est pas parfait il n'y aura pas de criping-substitutions, mais la formation d'une pseudo-arthrose. Un clou centromédullaire, la queue d'une prothèse, ou une plaque mise en compression permettant d'avoir un contact optimal, si les coupes osseuses sont parfaitement congruentes. Si une zone du greffon n'est pas protégée par un clou ou une plaque, on constatera la survenue d'une fracture du greffon (Poitout et *al.*, 2003).

**II-2-1-1. L'enclouage centro-médullaire :**

L'enclouage centro-médullaire est utilisable dans de très nombreuses situations. Le clou doit occuper 50 à 70% de la cavité médullaire (Brinker, 1994). La taille des os du lapin ne permet donc pas d'utiliser de matériel plus gros que des broches de Kirschner.

L'enclouage permet d'obtenir un bon alignement, la stabilité en angulation et le maintien de la longueur de l'os par l'implantation rigide dans les deux extrémités de l'os. Il ne confère cependant aucune stabilité rotationnelle, sauf dans le cas particulier d'engrènement des abouts osseux au site de fracture. L'enclouage peut se faire à foyer fermé en cas de fracture simple et facilement réductible, mais il doit se faire à foyer ouvert en cas de fracture plus complexe ou nécessitant une immobilisation complémentaire (Flecknell, 2000).

Les cerclages, c'est-à-dire l'enserrement complet de la circonférence de l'os par un fil métallique, ne sont utilisés que comme moyen d'immobilisation complémentaire, principalement sur des fractures obliques longues, spiroïdes ou certaines fractures comminutives ou multi-esquilleuses avec un about intermédiaire. Ils permettent de maintenir les fragments osseux en position réduite (Brinker, 2016) .

Lors de l'utilisation de l'enclouage centromédullaire, il faut prendre en considération la force de rotation, la force de cisaillement et la maîtrise de la technique .Pour cette raison, il est nécessaire d'utiliser une immobilisation supplémentaire avec un fil métallique (Brinker et al., 1994) ou un fixateur externe pour les fractures transverses ou obliques courtes (Johnson et Dunning, 2006), afin de neutraliser la force de rotation et de cisaillement ( Brinker, 2016) (Tableau N° II-2).

**Tableau N° II-2 : Contraintes mécaniques et moyens de fixation (Slatter et al.,1995).**

<b>Contrainte mécaniques</b>	<b>Rotation</b>	<b>Angulation</b>	<b>Cisaillement</b>
<b>Moyen de fixations</b>			
<b>Enclouage centromédullaire simple</b>	<<->>	<<+>>	<<->>
<b>Fil métallique</b>	<+>	<+>	<+>

<+> : Neutralisation de l'effet est réalisée, l'immobilisation supplémentaire est nécessaire.

<<->> : Neutralisation de l'effet n'est pas réalisée.

<<+>> : Neutralisation de l'effet est réalisée.

### II-2-2. Les plaques :

Les plaques ont un intérêt très limité chez le lapin. Elles permettent d'avoir une cicatrisation rapide et solide, et des plaques de très petite taille (1.5 et 2.0 mm) sont utilisables sur certaines fractures fermées du fémur ou de l'humérus. Cependant, la pose des vis est délicate du fait de la finesse de la corticale osseuse du lapin qui a tendance à casser. D'autre part, les contraintes passent alors par la plaque et non plus par l'os, ce qui a tendance à induire des phénomènes de déminéralisation sous plaque. Enfin, c'est un matériel très cher et il faut envisager de retirer la plaque lorsque la consolidation osseuse est effective, ce qui augmente encore le coût de la chirurgie et les risques anesthésiques pour l'animal (Ithier, 2005).

### II-2-3. Fixateur externe :

L'immobilisation par fixateur externe est sans doute la méthode la plus fréquemment utilisée chez le lapin car elle est facile à appliquer, résistante et légère. Elle procure une bonne stabilité lorsqu'elle est techniquement bien appliquée, s'adapte bien à la taille de ces animaux et provoque peu de dommages tissulaires. On utilise généralement des fixateurs en hémifixation ou en montage transfixiant (uniquement sur les fractures des segments situés distalement au coude et au genou) (Ithier, 2005 ; Brinker, 2016).

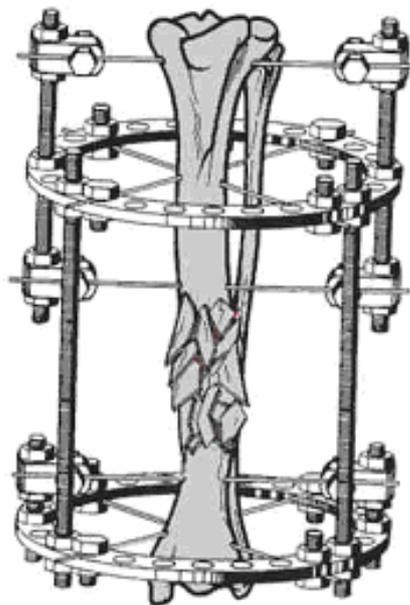


Figure N° II-1 : Fixateur externe selon Savet, (2005)

**II-2-4. Autres points importants lors et après la mise en place d'un matériel d'ostéosynthèse :****II-2-4-1. La gestion de la douleur :**

L'analgésie doit être soigneusement respectée ; la gestion de la douleur durant la période pré-opératoire diminue les risques d'apparition d'une stase digestive. L'administration d'analgésiques doit être effectuée 1 à 2 heures avant le début de la chirurgie, et poursuivie de 12 à 72h après selon le comportement du patient, la difficulté de l'intervention, la gravité des dommages tissulaires (Popesko, 1992).

**II-2-4-2. L'antibiothérapie postopératoire:**

La mise en œuvre d'une antibiothérapie postopératoire doit être adaptée au type de lésion ainsi qu'à la difficulté et la durée de l'intervention chirurgicale. Elle est recommandée pendant 3 à 5 jours dans tous les cas pour protéger l'animal contre une surinfection bactérienne. Elle est indispensable en cas de fracture ouverte, de blessure cutanée, de site chirurgical contaminé ou d'ostéomyélite et doit alors durer au minimum de 7 à 14 jours (Pollock, 2002 ; Rich, 2002).

Le choix des molécules à administrer au lapin doit prendre en compte la sensibilité de la flore digestive de cette espèce aux antibiotiques à spectre étroit Gram+ (principalement (lactamines, lincosamides, macrolides) qu'il faudra exclusivement administrer par voie parentérale (Kapatkin, 1997).

**II-3. Moyen de diagnostique:****II-3-1. Introduction :**

La radiographie est une technique permettant d'obtenir une représentation en 2 dimensions d'un objet à partir d'un faisceau de rayon X ayant traversé cet objet. La première image radiographique a été obtenue en 1895 par ROENTGEN.

Aujourd'hui la radiographie est un outil très utilisé en médecine vétérinaire et la technologie numérique tend à se développer rapidement (Decoupigny, 2011).

**II-3-2. Radiologie numérisée :**

Ce système a été développé au début des années 1990. Il permet d'obtenir une image numérique directement sur l'écran d'ordinateur sans avoir à manipuler de cassette et ne nécessite donc pas de posséder un lecteur (Decoupigny, 2011).

La technologie numérique repose sur le même système d'obtention de l'image. Le matériel pour créer le faisceau de rayons X est le même que pour une radiographie conventionnelle (Baudhuin et al., 2004 ; Dillenseger et Moerschel, 2009).

Ce système comporte un générateur de rayons X, un détecteur à numérisation directe et une station informatique avec des moniteurs de visualisation des images ainsi qu'un logiciel de traitement des images. Il est aussi possible d'imprimer les radiographies obtenues à l'aide d'un reprographe (Decoupigny, 2011).

C'est une méthode indirecte d'obtention de l'image. C'est, dans un premier temps, une image latente (virtuelle) qui est enregistrée sur la plaque stimulable avant d'être lue par un laser dans le lecteur et enregistrée sur l'ordinateur (Decoupigny, 2011).

Par ce procédé, nous passons donc d'un signal analogique (l'image de rayonnement) à un signal numérique (Baudhuin et al., 2004 ; Dillenseger et Moerschel, 2009).

### II-3-3. Les composants de l'Appareil radiologique:

Selon Deasachy, (2009) les composants de l'Appareil radiologique sont :

**II-3-3-1. Le statif :** Génère les rayons X, Composé de : **Tube à rayons X** selon Monnier et Tubiana (2002) est fixé soit sur une colonne plancher-plafond, soit sur une suspension.

- **La transformatrice haute tension :** Ce tube à rayons X nécessite un courant de faible intensité et de très haute tension. Cette alimentation est fournie par des générateurs de haute tension.
- **Câble haute tension** (Decoupigny, 2011).
- **La mise à la terre du transformateur** (Deasachy, 2009) ; Ce faisceau de rayons X traverse ensuite l'objet placé dans le champ et peut y subir deux effets. Il peut être absorbé, c'est l'effet photo-électrique qui permet l'obtention du contraste entre les tissus. Il peut aussi être absorbé avec la production d'un rayon X diffracté de forte énergie, c'est l'effet Compton à l'origine du rayonnement diffusé (Decoupigny, 2011).

**II-3-3-2. La table :** sur laquelle doit être déposé l'animal, la plaque se met soit sur la table, soit sur un tiroir « le potter » situé en dessous. Selon Monnier et Tubiana, (2002) les potters verticaux sont incorporés dans un plateau vertical fixe et peuvent coulisser verticalement pour s'adapter aux différents examens.

**II-3-3-3. Le diaphragme :** Agrandit ou rétrécit la taille du faisceau de rayon X. Le diaphragme à volets multiples possède une source lumineuse qui permet de visualiser sur la table, la surface du champ. Son centre est souvent indiqué par l'ombre d'une croix portée sur une feuille transparente (Deasachy, 2009) ;

**II-3-3-4. Le pupitre :** Panneau de commande ; il contient les options suivantes :

- Marche/arrêt
- Réglage KV
- Réglage MAI s

**II-3-3-5. Le déclencheur :** Le commutateur manuel et le commutateur à pédales (Deasachy, 2009).

**Tableau N° II-3 :Avantages et inconvénients de la radiographie numérique (Decoupigny, 2011).**

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meilleure qualité des images.</li> <li>• Post-traitements possibles.</li> <li>• Annotations et mesures.</li> <li>• Rapidité d'obtention des images.</li> <li>• Economie financière à long terme.</li> <li>• Archivage et stockage plus aisés.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le coût d'installation.</li> <li>• Apparition de nouveaux artéfacts.</li> </ul>

#### **II-3-4.Les différentes densités radiographiques :**

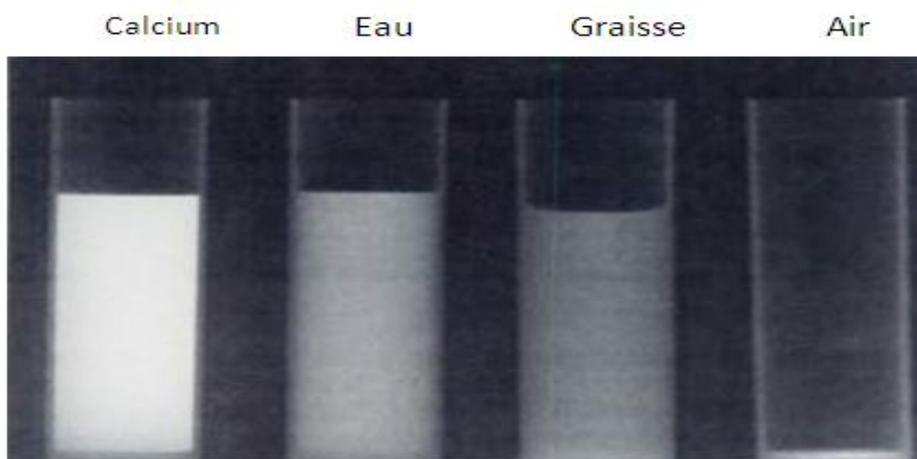
Les molécules comportant des atomes lourdes (calcium, iode, baryum) vont se comporter vis-à-vis des rayons X comme un écran, les empêchant plus ou moins d'atteindre le film ; la conséquence au point de vue radiographique est une plage plus au moins blanche sur le film ; à l'opposé, s'il n'y a que de l'air interposé entre le tube à rayon X et le film, celui-ci sera impressionné au maximum, donnant une surface noire (Tubiana *et al.*, 2004).

#### **II-3-5. Relativité des différentes densités radiologiques :**

Lors d'augmentation de l'opacité, l'image sur la radiographie apparaît plus blanche que celle que l'on attendait normalement ; ce terme se réfère donc à une augmentation de masse volumique qui se reflète sur la radiographie. Lors de la diminution de l'opacité, l'image sur la radiographie apparaît plus sombre que celle que l'on prévoyait.

On peut reconnaître cinq opacités radiographiques : métallique, osseuse ou minérale, liquidienne ou tissulaire (tissu mou), gazeuse (air) et graisseuse.

- Les corps métalliques sont très denses et s'opposent virtuellement au passage de tous les rayons incidents et apparaissent blanches (radio-opaque) sur la radiographie ;
- L'os n'est pas aussi dense que le corps métallique. Il laisse passer très peu de rayons par rapport aux tissus corporels. Les parties du film recouvertes d'os apparaissent presque denses sur la radiographie. Les liquides arrêtent plus de rayons incidents que les gaz, mais en laissent passer plus que l'os. L'opacité liquidienne est comprise entre la blancheur de l'opacité osseuse et la noirceur de l'opacité gazeuse. Elle apparaît grise sur la radiographie. Comme les tissus mous sont composés en grande partie de liquide, l'opacité tissulaire est similaire. Toutes les opacités liquidiennes ont le même aspect. Il est donc impossible sur une radiographie de faire la différence entre du sang, du chile, un transsudat ou un exsudat. L'opacité graisseuse se trouve entre l'opacité liquidienne et l'opacité gazeuse (Kealy et Allister, 2008).



**Figure N°II-2** : Les différentes opacités sur une radiographie (Monnier et Tubiana, 2002).

### **II-3-6. Les préparatifs avant toutes prises radiographiques :**

Selon Deasachy, (2009) les points importants avant la prise de radio sont : la région exacte à radiographier, la position : face et/ou profil, la pathologie à mettre en évidence, une préparation préalable (produits à avaler, produits à injecter, tranquillisation).

**II-3-6-1. Préparation des animaux :**

Une autre exigence importante dans la préparation du patient, c'est d'éviter la formation d'ombres trompeuses dues à des causes, telles que les fèces ou des gaz intestinaux, de la saleté ou un harnais à l'extérieur du corps. Quant aux causes externes à envisager et à éliminer, elles sont nombreuses. C'est le cas de tous les colliers, harnais et manteaux. Les pieds des animaux doivent toujours être examinés avant la radiographie de cette région. Il faut ôter la boue, les graviers et, dans le cas des grands animaux, les pierres qui y sont fixées. Des bandages légers ou de minces couches d'ouate sur les membres n'altèrent pas l'image radiographique ; tandis que les pansements et les plâtres doivent être, si possible, enlevés avant la radiographie. Les plâtres après leur enlèvement laissent de nombreux fragments adhérents au poil qui nécessitent un nettoyage sérieux. Si le plâtre ou le pansement ne peut pas être enlevé, le temps de pose doit être augmenté (Deasachy, 2009).

**II-3-6-2. Contention chimique :**

Un animal conscient peut être maintenu d'une manière satisfaisante dans toutes les positions, pour lesquelles l'anesthésie générale est indispensable, pourvu qu'il soit d'un tempérament calme et que deux personnes soient disponibles pour le maintenir. Dans le cas contraire, on peut envisager une sédation ou une anesthésie. L'anesthésie générale fournit les conditions idéales pour la mise en place du patient quoique la relaxation complète qui l'accompagne nécessite des coussins supplémentaires. Elle évite au personnel d'avoir à tenir l'animal et lui épargne les risques d'irradiation (Deasachy, 2009).

Le lapin est facilement stressé, la contention nécessaire à l'induction de l'anesthésie rajoute une source de stress supplémentaire. Ceci augmente les risques de complication anesthésique et peut altérer la réponse aux anesthésiques. Il est donc fortement conseillé d'intégrer aux protocoles anesthésiques une prémédication adaptée. Plusieurs molécules sont disponibles (acépromazine, diazépam, médétomidine), elles produisent toutes une sédation et permettent de potentialiser les effets des autres agents anesthésiques (Flecknell, 2000).

La voie sous cutanée est disponible pour l'administration de sédatifs ou tranquillisants (Winn, 2006). Les voies intramusculaires et intraveineuses sont toutes les deux utilisables, la voie intramusculaire restant la plus pratique, notamment pour les lapins de petit format (Mason, 1997).

### II-3-7. Positions radiologiques et incidences:

#### II-3-7-1. Projection latérale:

Le lapin est couché en décubitus latéral sur le coté du membre à radiographier. Le membre opposé est fléchi et tiré en dehors du champ d'exposition. Le faisceau est centré au milieu de la diaphyse fémorale (Winn, 2006).



**Figure N° II-3 :** Radiographie normale du fémur en projection latérale (Winn, 2006).

#### II-3-8. Choix des constantes :

Selon Monnier et Tubiana, (2002) les kilos volts, les milliampères et les secondes contribuent au noircissement du film. Les mAs représentent schématiquement la quantité de rayons X et les KV, leurs quantité responsable de la pénétration et du contraste. Ce réglage est essentiel car il détermine la qualité de l'image radiographique obtenue (Jossier et *al.*, 2013).

**Tableau N°II-4 :** Les constantes radiologiques de la région de la cuisse chez l'espèce lapine (Winn, 2006).

Région anatomique	Lapin
Membres	<b>40 kV</b> <b>11 mAs.</b>

# **Chapitre III**

## **Propolis**

**III-1. Introduction:**

Les produits de la ruche sont depuis des millénaires exploités par l'homme. Ils sont issus de substances naturelles, produits par les abeilles. Leurs utilisations assurent un bon marché et représentent un revenu d'appoint pour l'apiculteur (Soltani, 2017).

L'apithérapie est une science qui évolue d'une année à l'autre en fonction de la pollinisation, du type de plante butinée et de l'abeille. Les produits qui en découlent ne sont donc jamais identiques dans leur composition et les recherches scientifiques sur le bienfait des composés de la ruche se poursuivent (Cuvillier, 2015). De tout temps, l'homme a utilisé les ressources naturelles pour survivre et évoluer dans son environnement (Cousin, 2014).

L'essor des médecines naturelles, dites douces, inclut les produits de la ruche, comme le miel, la gelée royale ou la propolis, qui complètent le traitement conventionnel de certaines pathologies. Les patients en quête de traitements de plus en plus naturels, à base de plantes, peuvent accéder à des compléments thérapeutiques afin d'améliorer et de maintenir leur santé (Cuvillier, 2015).

Parmi ces produits, la propolis est définie comme un remède naturel utilisé depuis l'antiquité, et aussi est une résine végétale (Soltani, 2017). Elle connaît traditionnellement de nombreuses applications (Mutsaers et al., 2005), Elle est collectée par les abeilles et elle a une odeur balsamique et une couleur variable selon ses origines végétales. En effet, la propolis ou colle d'abeille est un mélange complexe de plusieurs composés organiques, et inorganiques, utilisée par l'abeille comme colle, enduit et antibiotique (Soltani, 2017). Dans la ruche, la propolis a de multiples usages : c'est un mortier qui sert au colmatage des fissures ou interstices, à l'étanchéité (face à l'humidité et au développement des moisissures) et à la protection de la colonie par la réduction de l'entrée de la ruche. En effet, l'ouverture à l'entrée de la ruche est constamment remodelée afin d'ajuster ses dimensions et son orientation aux conditions climatiques (Boisard, 2014).

Les abeilles l'utilisent à l'entrée de leur ruche pour en protéger l'accès, c'est ce qui indique son étymologie Grecque « Pro » signifiant devant ou défense, et « Polis » signifiant la cité (Ferhoum, 2010).

La propolis est aussi une véritable arme chimique contre les microorganismes et sert à momifier les animaux intrus et morts (rats et souris par exemple) trop gros pour être évacués par les abeilles, évitant ainsi leur décomposition (Boisard, 2014).

### III-2. L'origine botanique de la propolis :

La propolis est un complexe d'une série de substances résineuses gommeuses. Elle est recueillie principalement par les abeilles à partir de plantes, arbres, de bourgeons d'arbres (Arjun et *al.*, 2004). Il est bien connu qu'en Europe et dans les régions au climat tempéré, les abeilles récoltent ses précieuses substances sur les bourgeons de Peupliers, les Bouleaux, les Aulnes, les Marronniers d'Inde, les Frênes, les Saules, les Epicéas et les Chênes, etc (Bankova et *al.*, 2000). La provenance de la propolis dépend de la région, de la flore botanique qui se situe à proximité immédiate des ruches et aussi aux préférences de l'abeille (Torres et *al.*, 2018).

### III-3. Les conditions de récolte de la propolis :

Cette récolte ne répond pas à des règles bien définies et constantes, elle dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons dégager et analyser les plus notables .

#### III-3-1. L'âge de l'abeille:

Il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui récoltent la propolis. L'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées, l'âge minimal est de dix-huit jours (Ferhoum, 2010).

#### III-3-2. La race:

La tendance à propoliser dépend de la race d'abeille. Il est reconnu que l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasienne (*Apis mellifica caucasia*) et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres, c'est le cas de l'abeille carniolienne (*Apis mellifica carnica*) et l'abeille Tellienne (*Apis mellifera*) (Adam, 1985). En algérie nous rencontrons deux races d'abeilles *Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica Shariensis* (Bendjedid et Achou, 2014).



Figure N° III-1 : Abeille race *Apis mellifica* (Cousin, 2014).

**III-3-3. La saison :**

La récolte a lieu, soit, en début de printemps, mais le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche d'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage (Marchenay et Bérard, 2007 ; Ferhoum, 2010) ;

**III-3-4. Le climat :**

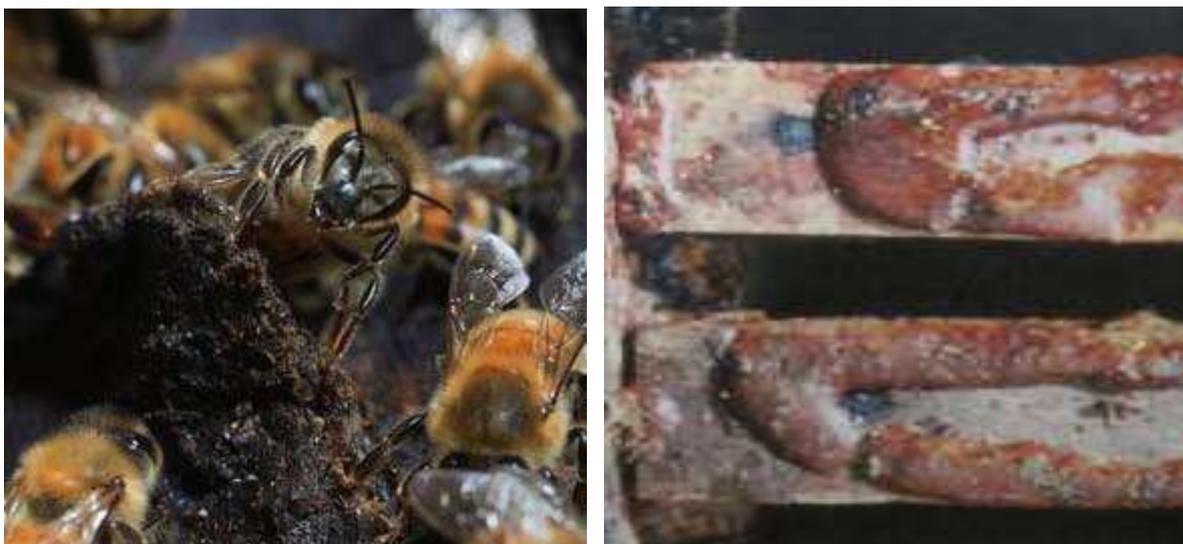
Les abeilles récolteuses de propolis déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C) et en outre, pendant les heures les mieux exposées, à cette chaleur (soit entre 10 h et 15 h 30 en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires (Ferhoum, 2010).

**III-3-5. La géographie :**

C'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées propolisent davantage que les ruches de plaine (Jean-Prost et Leconte, 2005 ; Ferhoum, 2010).

**III-4. Fabrication de la propolis par les abeilles :**

La propolis est récoltée durant tout l'été jusqu'à la fin de l'automne, par les abeilles butineuses. Elles trouvent cette substance sur les arbres à résine, au niveau des bourgeons ou de l'écorce de certains arbres (peuplier, boulot, hêtre, écorce des pins, sapin.) (Ferhoum, 2010 ; Cuvillier, 2015).



**Figure N°III-2 :** Propolis dépôt sur cadres (Gharbi, 2011).

L'abeille attrape la résine avec ses pattes avant et après remodelage elle place la propolis au niveau de ses pattes arrière afin de faciliter le transport jusqu'à la ruche. C'est un travail long et fastidieux au cours duquel l'abeille réalise une boule de propolis.

Une fois rapportée à la ruche, les abeilles ouvrières vont étirer cette pelote pour en faire un fil. Elles vont y ajouter de la cire et des sécrétions salivaires pour obtenir la propolis (Mutsaers et *al.*, 2005).

La propolis sert de mastic et de ciment aux ouvrières de la maintenance. Elles réparent avec la propolis les dégâts occasionnés par les intempéries ou les activités de l'apiculteur (Jean-Prost et Leconte, 2005). La propolis est utilisée pour réparer les rayons en mauvais état et pour consolider en général tout ce qui apparaît comme d'une solidité douteuse (d'où le fait que les abeilles collent entre eux les cadres mobiles de la ruche). Les ouvrières vernissent les surfaces internes de la ruche avec de la propolis pour en réduire les aspérités (Donadieu, 2008).

La propolis a un bon pouvoir thermique et permet de maintenir une température adéquate au bon développement des abeilles et de leurs descendances (Cuvillier, 2015).

Une colonie produit entre 50 g et 300g de propolis par an (Marchenay et Bérard, 2007 ; Jean-Prost et Leconte, 2005). La propolis est récupérée, soit en raclant les cadres de la ruche, soit sur des grilles de plastique alimentaire à propolis, constituées de nombreux interstices, placées sur le dessus de la ruche. Les abeilles comblent les trous de la grille avec la propolis qui est ensuite récoltée par les apiculteurs (Cuvillier, 2015).



**Figure N°III-3 :** Butineuses récoltant et portant deux gouttelettes de propolis (Gharbi, 2011).

**III-5. Caractéristiques organoleptiques :**

**III-5-1. Couleur:** Sa couleur varie du jaune au noir en passant par l'orangé, le mauve et le brun. Ces couleurs sont dues aux pigments qu'elle contient (chrysine, anthocyanes).

**III-5-2. Saveur:** Elle est souvent amère, pimentée et âcre avec une sensation brûlante (Tosi, 2006).

**III-5-3. Odeur:** Son odeur est douce, variant selon la provenance (Cuvillier, 2015).

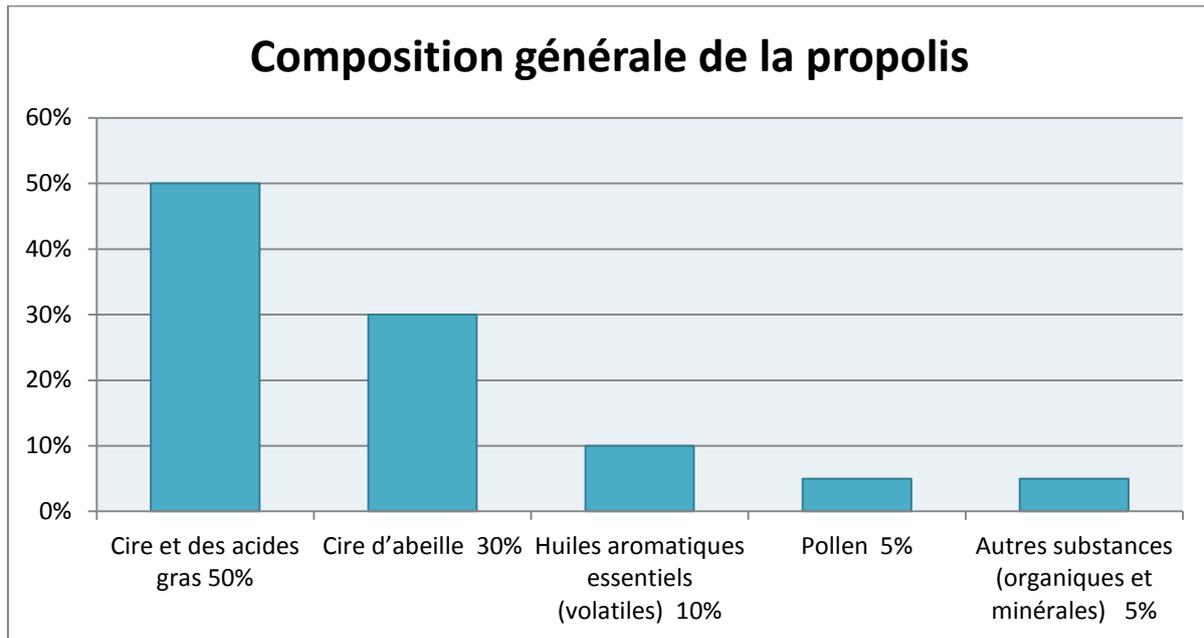
**III-5-4. Consistance:** En dessous de 15 °C, la propolis est dure et friable. A partir de 30°C, elle devient très malléable. Elle fond entre 60 et 70 °C (Krell, 1996 ; Philippe, 1999).

**III-5-5. Solubilité:** La propolis d'abeille est soluble de façon partielle dans l'Alcool, l'Acétone, l'Ether, le chloroforme, le benzène, le trichloréthylène...etc. seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants. La partie insoluble est constituée de tissus végétaux, de grains de pollen, de débris de cuticule et de soie d'abeille (Tosi, 2006). Elle se dissout à la longue dans l'acide éthylique, la propolis pure est obtenue en faisant macérer le produit brute pendant un mois dans un excès d'alcool à 95 % ; la partie non dissoute est à rejeter (Philippe, 1999).

**III-5-6. Densité:** Elle est de l'ordre de 1,2 en moyenne (Ferhoum, 2010).

**III-6. Composition de la propolis brute :**

La composition chimique de la propolis varie selon les saisons, l'origine géographique la flore locale, la variété d'arbres et les espèces de plantes utilisées lors de la collecte (Philippe, 1999 ; Donadieu, 2008). Parmi les types de substances habituellement trouvés dans la propolis brute est incluse approximativement 50% de résine (fraction polyphénolique composée de flavonoïdes et des acides phénoliques liés), 30% de la cire d'abeille (cire et des acides gras), 10% des huiles aromatiques essentiels (volatiles), 5 % le pollen d'abeille (protéine de pollen et des acides aminés libres), 5 % d'autres substances (organiques et minérales) (Farooqui et Farooqui, 2012).



**Figure N°III-4 :** La composition générale de la propolis (Farooqui et Farooqui, 2012).

### III-7. Composition de la propolis purifiée :

#### III-7-1. Les flavonoïdes :

Ils sont présents dans plusieurs plantes, notamment dans les fruits et les légumes. Ils sont également présents dans le thé, les céréales, les épices et les herbes aromatiques (Berreghioua, 2016).

Tels que les flavones, flavonoles, chalcones, la quercétine, la chrysin, la galangine, la pinocembrine. La pinobanksine est le principal représentant de la propolis et agit comme antimicrobien et anti inflammatoire (Cuvillier, 2015).

Les flavonoïdes luttent contre le stress oxydatif et permettent une bonne oxygénation.

Ils ont également un rôle antihémorragique et stimulent l'action protectrice de la vitamine C sur les vaisseaux sanguins, réduisant la fragilité et la perméabilité des capillaires (Cuvillier, 2015).

#### III-7-2. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Parmi les

composés phénoliques; les flavonoïdes, les quinones phénoliques, les lignanes, les xanthones, les coumarines et d'autres classes existent en nombres considérables (Berreghioua, 2016).

On retrouve de l'acide caféique (aux propriétés antalgiques et anti-inflammatoires), de l'acide ferrulique (anti inflammatoire, anti oxydant et favorisant la régénérescence cellulaire), l'acide myristique. L'ester phényléthylique de l'acide caféique est une molécule qui possède de nombreuses propriétés (entre autres, des activités anti-virales, anti-inflammatoires ou encore anti-cancéreuses) (Cuvillier, 2015).

### **III-7-3. Les oligo-éléments :**

Comme du magnésium, zinc, fer, nickel, aluminium, cuivre, strontium, silicium ou encore du manganèse (Cuvillier, 2015).

### **III-8. La propolis algérienne :**

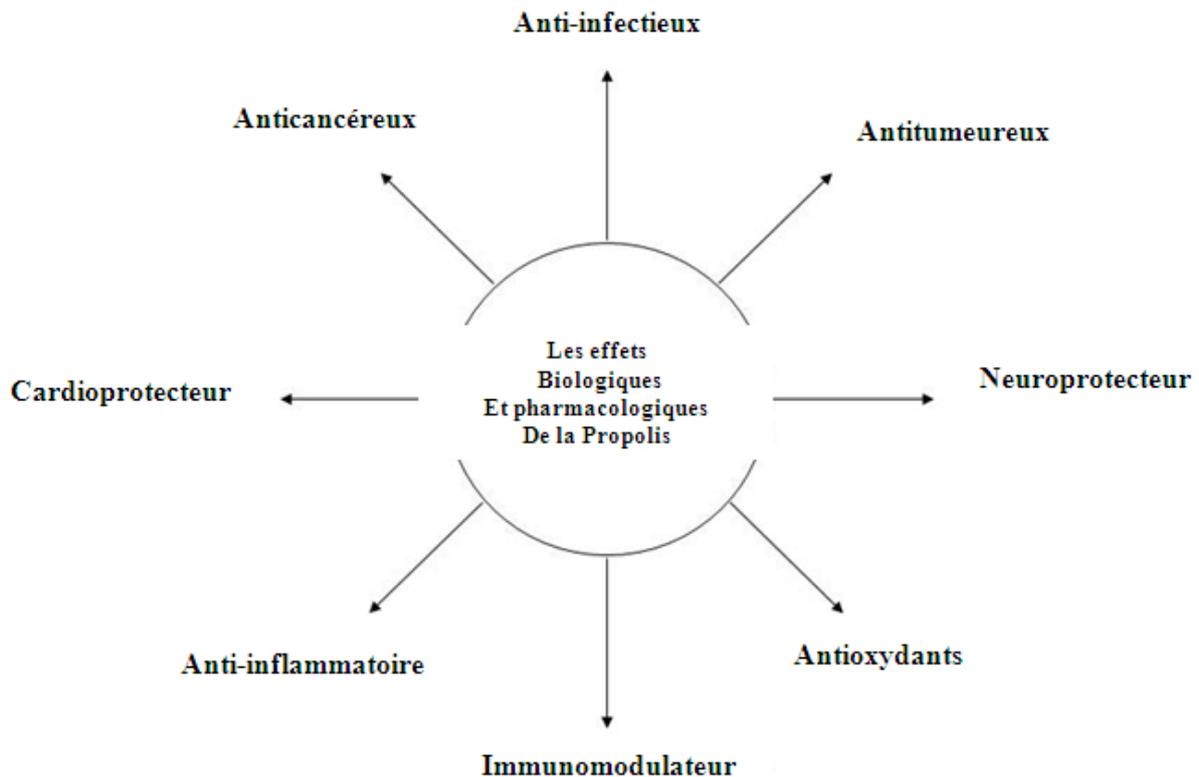
L'Algérie est caractérisée par sa diversité florale: Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paleo Tropicale, estimée à plus de trois milles (3000) espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plus part spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques ; ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable (Berreghioua, 2016).

Selon la flore botanique disponible en Algérie, on peut déduire que notre propolis est d'origine du pin qui occupe les zones semi-arides, le chêne (chêne liège et chêne zeen) qu'on trouve au nord-est du pays, châtaignier, Cyprès (*Cupressus* sp) casuarina, et le peuplier (*Populus* sp) (Ferhoum, 2010).

### **III-9. Les propriétés pharmacologiques de la propolis :**

La propolis ne comprend pas de protéines, d'hydrates de carbone ou de graisses et n'a de ce fait aucune valeur énergétique. Elle est quand même employée comme supplément nutritif du fait de ces qualités thérapeutiques.

La propolis a aussi un effet fortifiant sur la peau et les os du corps humain. Elle s'introduit à travers la peau dans les tissus et agit sur la consolidation osseuse après fracture ainsi que sur l'apaisement des affections musculaires comme les bursites. Elle est douce pour la peau, apaisante et cicatrisante (Mutsaers et *al.*, 2005).



**Figure N°III-5 :** Les effets biologiques et pharmacologiques de la propolis (Farooqui et Farooqui, 2012).

### III-9-1. Propriétés anti-infectieuse :

D'après une étude menée au Japon, la propolis inhibe la division cellulaire des bactéries et agit au niveau de la paroi bactérienne en la détruisant. La propolis doit ses propriétés antibactériennes à sa composition, avec entre autres, des flavonoïdes (ex : pinocembrine, galangine), des molécules aromatiques et phénoliques (acide cinnamique, acide caféique, acide férulique). La galangine serait un des composés les plus importants, car elle aurait une action anti-staphylococcique (Cushnie et al., 2007).

Quand le germe d'une bactérie, d'une moisissure, d'un virus ou d'une levure est enveloppée de propolis, il ne peut plus respirer ni absorber d'eau (Mutsaers et al., 2005).

### III-9-2. Propriétés Anti inflammatoire :

La Propolis inhibe de manière dose dépendante l'activité des cyclo-oxygénases, enzymes intervenant dans la formation des prostaglandines impliquées dans l'inflammation (Castaldo et Capasso, 2006). De plus, les extraits de Propolis stimulent les macrophages,

inhibent l'agrégation plaquettaire et la synthèse des éicosanoïdes. Ce qui a pour finalité l'activation des mécanismes de protection naturelle, et confère à la propolis ses propriétés anti-inflammatoires (Martini et Seiller, 2006). Cet effet est dû à l'acide caféique et l'acide phénéthyle ester présent dans la propolis (Parolia et *al.*, 2010).

### **III-9-3. Autres propriétés :**

Beaucoup d'autres propriétés biologiques et pharmacologiques des propolis ont été décrites par divers auteurs, y compris son pouvoir anesthésique puissant; les études ont démontré que cette résine est 52 fois plus puissante que la cocaïne dans les tests sur les cornées de lapin (Segueni, 2011). L'application locale de la propolis peut assurer une anesthésie locale avant une intervention (Senne, 2010). Selon Parolia et *al.*, (2010) les propriétés anti-oxydantes de la propolis sont dues à son pouvoir de captation des radicaux libres, ainsi à la vitamine C qu'elle contient. Selon Grange et Davey, (1990) la propolis a un effet toxique contre les cellules tumorales. La propolis engendre une inhibition du stress oxydatif qui peut être partiellement responsable de sa fonction neuro-protectrice contre la mort cellulaires *in vitro* et l'ischémie cérébrale *in vivo* (Shimazawa et *al.*, 2005) ses flavonoïdes ont une action directe sur la formation osseuse (Yamaguchi et *al.*, 2007).

L'application d'une fine couche de propolis sur les allogreffes osseuses diaphysaires autoclavées accélère et stimule la vitesse du cal au niveau des deux interfaces pour les allogreffes diaphysaires (Boudra et *al.*, 2014), la littérature suggère que son utilisation peut prévenir même la perte osseuse (Sowmya et *al.*, 2017).

### **III-10. Toxicité :**

Les études en rapport avec la toxicité de la propolis sont rares. certaines études montrent que cette résine n'est pas toxique pour les hommes et les animaux, si elle est consommée en quantités raisonnables. L'administration orale de 200 à 1220 mg/kg/J d'extrait éthanolique de propolis (EEP) pendant 7-10 jours n'entraîne aucun effet nocif de plus, l'extrait alcoolique de propolis incorporé dans l'eau potable (rat et souris) et utilisé aux doses 1875 et 2470 et 4000 mg/kg/J pendant 30, 60 et 90 jours respectivement, ne montre aucun effet toxique (Segueni, 2011).

### **III-11. Conservation :**

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions. Mais il paraît néanmoins préférable de la garder dans des récipients opaques (Segueni, 2011), bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 4°C de préférence) (Zeighampour et

*al.*, 2014). De nombreuses expériences ont montré que le stockage de longue durée de la propolis ne diminue pas sa teneur en composants chimiques, ni ses activités biologiques. Cependant, pour en obtenir de meilleurs effets et résultats, il vaut toujours mieux l'utiliser la plus fraîche possible. Il faut signaler enfin, que la lyophilisation de la propolis (dessiccation obtenue par congélation brutale à basse température, suivie d'une sublimation sous vide, permettant d'obtenir une poudre poreuse qui se conserve indéfiniment sous vide) maintient aussi ses propriétés biologiques (Segueni, 2011).

# **Partie**

# **expérimentale**

# **Chapitre IV**

## **Matériel et Méthodes**

**IV-I. Première partie (IN VITRO) :****IV-I-1. Propolis, récolte et préparation :****IV-I-1-1. Provenance des échantillons du propolis :**

Dix échantillons de propolis Algérienne provenant de différentes origines florales et géographiques, récoltés par des apiculteurs réputés, définis avec une fiche technique stipulant tout les détails nécessaires (voir annexe1). La récolte a eu pour but la sélection de la propolis la plus riche en polyphénols et flavonoïdes (figure N° IV-1 - N° IV-10).

La récolte de tout ces échantillons a été effectuée durant Mars-Avril 2015 des quatres écosystèmes est, ouest, centre et sud, après avoir rassemblé tout les échantillons, selon Zeighampour et *al.*, (2014) leurs conservations a été faite dans l'obscurité à 4°C.



**Figure N°IV-1:** P.LAGHOUAT  
(La zone Agricole HAMDA)



**Figure N°IV-2:** P.MILA (AHMED  
RACHEDI)



**Figure N°IV-3 :** P.RELIZANE



**Figure N°IV-4 :** P.SOUK AHRAS  
(Bir bouhouche)



**Figure N°IV-5:** P.SOUK AHRAS  
HNANCHA



**Figure N°IV-6** P.TIARET  
OULED BOUGHADOU



Figure N°IV-7: P.TIARET Bouchakif



FigureN°IV-8 :P. LAGHOUAT ( Lakhneg)



FigureN°IV-9: P.TIPAZA



FigureN°IV-10: P.BLIDA

Abdellatif BOUDRA

afboudra@gmail.com

Doctorant en médecine vétérinaire

Institut vétérinaire, UNIVERSITE IBN KHALDOUN ,TIARET ,ALGERIE



QUESTIONNAIRE PROPOLIS

LE PRODUCTEUR

Nom :.....

Prénom :.....

Adresse :..... Ville :.....

Téléphone :.../.../.../.../... Fax :.../.../.../.../... Mail .....

LE PRODUIT

- Nombre de ruches:.....
- Race de d'abeille:.....
- Année de récolte :.....
- Quantité fournie :.....
- Lieu de récolte :.....
- Description de la végétation :.....
- Type de Conservation:.....

• Depuis combien d'années produisez-vous de la Propolis ? .....

• La Propolis a-t-elle été lavée ? OUI NON

Si OUI, comment a-t-elle été séchée ? .....

Figure N° IV-11 : Modèle des fiches techniques communiquées aux apiculteurs.

#### IV-I-1-2. L'extraction de la propolis :

La propolis ne peut pas être utilisée à son état brut, elle doit être purifiée par extraction avec des solvants. Ce processus devrait éliminer les matières inertes et préserver les fractions polyphénoliques (Pietta et *al.*, 2002) utiles dans notre expérimentation.

##### IV-I-1-2-1. Le matériel nécessaire à l'extraction :

Cette partie a nécessité l'utilisation de grands et petits matériels, des verreries, consommable de laboratoire ainsi que d'autres matériels (Figure N° IV-12, IV-13 et IV-14).

- **Verreries :**

Entonnoir, éprouvette, bécher, flacon en verre.

- **Petits matériels:**

Agitateurs avec baros magnétiques, balance, pH-mètre, spatule, ciseau, pince de préhension, entonnoir en plastique.

- **Grand matériels:**

Etuve, autoclave, bain marie, réfrigérateur.

**Autres matériels :**

Propolis brute, papier wattman, éthanol 96% , eau distillée, boîtes noires de conservation, papier aluminium.

##### IV-I-1-2-2. Mode opératoire:

Cette extraction a été effectuée au sein du laboratoire de technologie alimentaire et de biochimie de la faculté des sciences (karman) de Tiaret, les 10 échantillons de propolis ont été purifiés par une méthode dite traditionnelle consistant à mélanger 10 gr de la propolis brute pesée avec une balance analytique<sup>1</sup> avec 100 ml d'éthanol à 70%<sup>2</sup> dans des fioles à l'abri de la lumière avec une agitation périodique à l'aide d'un agitateur électromagnétique<sup>3</sup> pendant 15 jours en obscurité (Figure N° IV-12, IV-13 et IV-14).

---

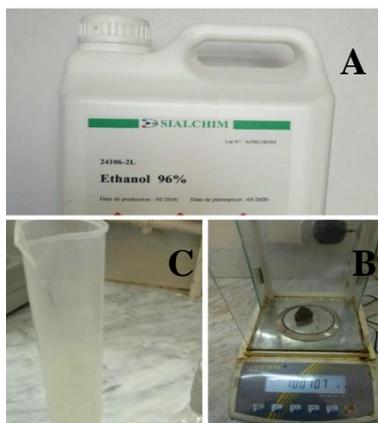
<sup>1</sup> Balance analytique Kern -max 120mg-Germany.

<sup>2</sup> SCIALCHIM-Ethanol 96%-Lot N SZBG1810H-Tlemcen-Algérie.

<sup>3</sup> Agitateur électromagnétique IKA-Germany.



**Figure N°IV-12:** Agitation de la propolis brute en obscurité.



**Figure N°I-13:** A: Ethanol 96%, B: L'éthanol dilué à 70%, C: La pesée de 10 gr de propolis brute.



**Figure N°IV-14:** Filtration du mélange de propolis brute.

Selon la méthode recommandée par Lahouel et *al.*, (2010) ; Hendi et *al.*, (2011) ; Pereira et *al.*, (2018) la filtration de la solution éthanolique de la propolis brute est assurée à l'aide de papier de woltman N°1, le filtrat a été mis dans des boîtes de pétries l'évaporation de l'éthanol est faite dans une étuve<sup>4</sup> à une température de 45°C, l'extrait de propolis est obtenu par grattage et conservé en obscurité à une température de 4°C (Figure N° IV-12, IV-13, IV-14, IV-15, IV-16 et IV-17).

**Ps:** l'éthanol 96% a été dilué à 70% selon la loi de  $C1V1 = C2V2$



**Figure N°IV-15:** Evaporation de l'éthanol par étuve.



**Figure N°IV-16:** Extrait de la propolis.



**Figure N°IV-17:** Collecte de la propolis par grattage.

<sup>4</sup> Etuve Heraeus instrument -fabric number :95111970-Germany.

#### IV-I-2. Détermination du dosage des polyphénols et flavonoïdes :

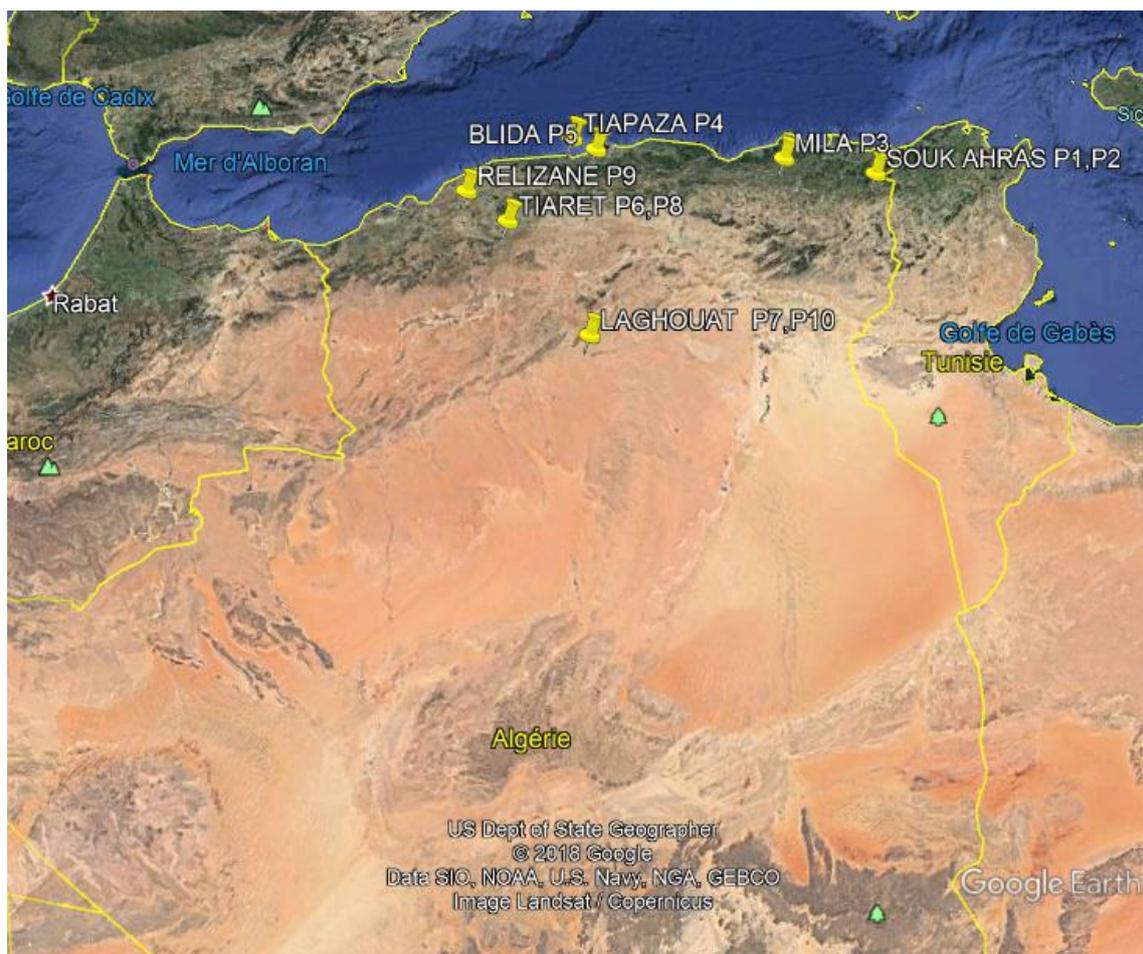
Afin de déterminer la quantité des polyphénols et flavonoïdes, les 10 échantillons ont été étiquetés (Tableau N° IV-1 ) de P1 à P10 puis confiés a un laboratoire spécialisé dans les produits de la ruche en Belgique *CARI ASPL* utilisant la méthode de *Folin ciocalteu* pour le dosage des polyphénols totaux et la méthode de *Woisky and salatino* pour le dosage des flavonoïdes totaux (Kumazawa et al., 2003) (Figure N° IV-18).



Figure N°IV-18: Boîtes de différentes propolis brutes étiquetées.

Tableau N°IV-1 : L'étiquetage de propolis selon la région de récolte.

Etiquetage	Région de récolte	Altitude	Longitude
P1	SOUK AHRAS (Bir bouhouche)	36° 0'50.52"N	7°25'48.08"E
P2	SOUK AHRAS (HNANACHA)	36°15'40.69"N	7°47'16.29"E
P3	MILA (AHMED RACHEDI)	36°20'39.48"N	6° 7'53.37"E
P4	TIPAZA	36°37'4.36"N	2°23'28.45"E
P5	BLIDA	36°28'32.85"N	2°49'47.13"E
P6	TIARET (BOUCHAKIF)	35°21'23.00"N	1°30'48.96"E
P9	RELIZANE	35°44'2.17"N	0°33'31.96"E
P8	TIARET (OULED BOUGHADOU)	35°22'32.12"N	1°18'54.17"E
P7	LAGHOUAT ( EL kheneg)	33°44'43.42"N	2°47'43.48"E
P10	LAGHOUAT ( HAMDA agricultural zone)	33°48'0.46"N	2°52'10.96"E



**Figure N°IV-19 :** Régions de récolte des échantillons (P1 à P10) de la propolis Algérienne.

### **IV-I-3. Détermination du pH de la propolis :**

Dans des béchers, des petits morceaux des dix échantillons de propolis avec trois fois le volume de chacun d'eau distillée sont chauffés au bain marie<sup>5</sup> pendant une demi heure, en remuant de temps en temps avec une baguette en verre. Après filtration, la solution aqueuse obtenue est versée dans des petits béchers afin de déterminer leurs pH à l'aide d'un pH mètre<sup>6</sup> en prenant soin d'immerger l'électrode complètement dans la solutions (Figure N° IV-20, IV-21) (Afnor, 1982).

<sup>5</sup> Bain marie Nemmert -Gremany.

<sup>6</sup> pH mètre Leybold-Heraeus-628 65.



**Figure N°IV-20:**Préparation d'une solution aqueuse de propolis .



**Figure N°IV-21:** Détermination du pH

#### IV-I-4. Détermination du rendement de la propolis :

Le filtrat de propolis est mis dans des boites de pétries et pesé (**Bp**) avec une balance électronique, ces mêmes boites ont été préalablement pesées vides (**Bv**), après grattage de l'EEPA, le poids de ces boites avec les résidus a été calculé (**Br**).

**L'extrait de propolis = (Bp-Bv) - (Br -Bv)**

D'après Niken et *al.*, (2014) le rendement de l'extraction de la propolis pour chaque région a été obtenu selon l'équation suivante :

**Rdt = (PE/PM) 100%**

- **PE** poids de l'extrait de propolis en gr
- **PM** poids de la propolis brute en gr

#### IV-II. Deuxième partie (INVIVO) :

Cette partie consiste à tester l'EEPA10 in vivo par l'utilisation des greffons corticaux cylindriques allogéniques implantés dans des fémurs de lapins afin de démontrer son pouvoir sur l'ostéointégration .

Cette expérimentation a été effectuée sur cinquante (50) lapins de race néozélandais (mâles) adulte d'âge compris entre 6 mois et 1an, d'un poids vif moyen estimé à 3 kg, 20 d'entre eux ont servi de donneur.

Les lapins receveurs au nombre de trente ont été répartis en deux groupes de quinze, chaque groupe est divisé en cinq lots de trois lapins (tableau N° IV-2), le premier représente le groupe témoin et dont les animaux ont reçu une greffe allogénique corticale cylindrique autoclavée orthotopique, immobilisée par un enclouage centromédullaire simple de type kushner 2.2 mm de diamètre et renforcée par une suture métallique avec un fil inoxydable de 0.4 mm de diamètre afin de neutraliser les contraintes mécaniques, rotation, cisaillement et angulation sauf la tension axiale. Le deuxième groupe a subi le même procédé chirurgical mise à part que l'allogreffe autoclavée sera couverte d'une fine couche d'extrait de propolis algérienne en per opératoire (**EEPA10**), l'extrait le plus riche en substance active selon le dosage réalisé en Belgique par le laboratoire *CARI ASPL*.

#### **IV-II-1. Choix et préparation des animaux d'expérimentation :**

Le lapin étant un animal facilement disponible et moins agressif, largement utilisé comme animal de laboratoire pour la chirurgie expérimentale, il est aussi couramment utilisé pour le dépistage d'implant avant de les tester dans un modèle animal plus grand, ce sont les raisons pour lesquelles nous l'avons choisi, l'approvisionnement s'est fait auprès d'un éleveur réputé, l'ensemble des animaux a été déparasités par l'ivermectine à raison de 0.4 mg/kg. Par la suite, dans une salle à température ambiante, aérée les animaux ont été mis dans des cages métalliques superposées conçues spécialement pour l'élevage de lapin, équipées d'un système d'abreuvement à tétine; d'alimentation et d'évacuation de déchets, et laissés en quarantaines pendant deux semaines.

La composition de l'alimentation<sup>7</sup> donnée aux lapins est à base de Maïs, tourteaux de soja, issues, calcium, phosphates, acides aminés, oligo minéraux, poly vitamines, antioxidant, luzerne, acide folique et huile de soja, la quantité journalière était de 140gr (figure N° IV-22, IV-23 et IV-24).

---

<sup>7</sup> Coopérative Agricole Oucheffoune-Boumerdess-Algérie.



**Figure N°IV-22 :** L'alimentation donnée aux animaux de cette expérimentation.



**Figure N°IV-23 :** Les animaux de l'expérimentation mis en cage .



**Figure N°IV-24 :** Cage métallique superposée équipée conçues spécialement pour l'élevage de lapin .

## IV-II-2. Préparation des greffons :

### IV-II-2-1. Le matériel utilisé pour la préparation des greffons :

Pour bien mener cette étape, la disponibilité de fémurs de lapins, scie inoxydable, peroxyde d'hydrogène<sup>8</sup>, morceaux de broche, papier d'autoclavage, autoclave, soudeuse et une lime inoxydable est nécessaire (figure N° IV-25, IV-26 et IV-27).

### IV-II-2-2. Technique de préparation :

Cette étape est effectuée au sein de l'institut vétérinaire de Tiaret, service de chirurgie. Les greffons sont obtenus à partir de la diaphyse des fémurs gauches de lapins donneurs males néozélandais sacrifiés. La première étape consiste à l'élimination des deux épiphyses, moelle, périoste, et les restes des insertions musculaires; la diaphyse est coupée à l'aide d'une scie métallique inoxydable en plusieurs fragments cylindriques de 1 cm de longueur soigneusement limés. Après nettoyage, et désinfection à l'aide de peroxyde d'hydrogène.

<sup>8</sup> SCIALCHIM-Hydrogène pyroxyde 35 Lot N SILH1235-Tlemcen-Algérie.



**Figure N°IV-25 :** Peroxyde d'hydrogène, produit désinfectant des greffons.



**Figure N° IV-26:** La fermeture du papier d'autoclavage à l'aide d'une soudeuse thermocollante.



**Figure N°IV-27 :** Des greffons allogéniques autoclavés.

Les greffons allogéniques corticaux sont mis directement dans du papier d'autoclavage<sup>9</sup>, et hermétiquement fermés<sup>10</sup> (figure N° IV-26). Les greffons préparés sont ensuite autoclavés<sup>11</sup> à une température de 134C° pendant 15 minute selon Zoricic et *al.*, (2002) ; Almeida et *al.*, (2013) ; Asmara et *al.*, (2014) ; Boudra et *al.*, (2014) (figure N° IV-27).

### **IV-II-3. Le matériel utilisé en pré et per opératoire :**

Pour le bon déroulement de cette expérimentation l'utilisation d'un matériel en pré et post opératoire est primordiale, le matériel utilisé comprend :

#### **IV-II-3-1. Le matériel utilisé en pré opératoire :**

Ce matériel englobe tout les instruments utilisés pendant l'étape pré opératoire, rasoir, ciseau, thermomètre, stérilisateur, savon liquide, table d'examen.

#### **IV-II-3-2. Le matériel utilisé en per opératoire :**

Ce matériel englobe tout les instruments chirurgicaux de base, d'orthopédie, d'ostéosynthèse ainsi qu' un autre matériel cité ci-dessous:

##### **IV-II-3-2-1. Le matériel chirurgical de base :**

Au sein d'une salle de chirurgie éclairée et désinfectée, l'équipement et les instruments de base utilisé sont : table chirurgicale, champ opératoire, pinces à champs (Backhaus et

<sup>9</sup> SteriClean ISO 11607 REF 230112 LOT 3006715 062011 20cm /200 m.

<sup>10</sup> (thermocollante) (IMPULSE SEALER TYPE : PFS-300 SOURCE: 110 v / 240 v 50/60 Hz watt: 450W (impulse).

<sup>11</sup> Webeco GmbH type A N°919995 made in Germany Watt 2700 Amp 12.

jones), lame bistouri N°24 ; pinces à dissection (Bakey et d'Adson), ciseaux (Metzenbaum, Kelly et Mayo), pinces hémostatiques (Kocher et Mosquito), écarteurs (Farabeuf et autostatique), pince porte aiguille (Mathieu), fils de suture résorbables et non résorbables (figure N° IV-28).

#### IV-II-3-2-2. Le matériel orthopédique :

Une scie-fil inoxydable avec poignets, mandrin Jacobson et sa clé, coupe broche, pince coupante et lime inoxydable (figure N° IV-29).

#### IV-II-3-2-3. Le matériels d'ostéosynthèse:

Broches de type Kushner à deux pointes de 2.2 mm de diamètre, fils métallique inoxydable stérile de 0,4 mm de diamètre stérile.

#### IV-II-3-2-4. Autre matériel utilisé :

EEPA10, greffons corticaux cylindriques allogéniques autoclavés orthotopiques de 1 cm de longueur, gants stériles, tenue de bloc, compresses stériles, bétadine, Antibiotique (pencilline G), seringues 2.5ml /10 ml, serum salé.



Figure N°IV-28: Matériel chirurgical de routine.



Figure N°IV-29: Matériel orthopédique.

#### IV-II-4. Etape pré opératoire :

Pour la réalisation d'un geste chirurgical aseptique certains paramètres doivent être respectés. Par rapport au risque infectieux, les dispositifs médicaux peuvent être classés en trois catégories :

\*Non critique : s'il est en contact avec une peau saine

\*Semi-critique : s'il est en contact avec une muqueuse sans effraction de celle-ci ou une peau non intacte ;

\*Critique : si le dispositif pénètre dans un tissu « stérile » ou le système vasculaire (Berthelot, 2005).

D'où l'intérêt d'une stérilisation rigoureuse vu la lourdeur du geste opératoire. le matériel d'anesthésie, ainsi que les consommables (fils, compresse) et les implants (broches, fils métalliques), tout ce matériel doit donc être aseptique. Une stérilisation du matériel chirurgical à une température sèche à 170°C pendant 30 minutes est assurée afin de détruire tout les micro-organismes, même les spores bactériennes les plus résistantes (figure N° IV-33) (Tredez, 2006).

L'utilisation de tenue spéciale en per opératoire à la salle de chirurgie est l'une des premières étapes dans les techniques d'asepsie (figure N° IV-32). C'est un moyen d'éviter la contamination des animaux par le personnel et les assistants, vecteurs d'une contamination du milieu extérieur vers l'intérieur (salle chirurgicale).

Une prise de température rectale est faite aux lapins avant de commencer toute préparation de ces derniers à l'intervention chirurgicale.



**Figure N°IV-30:** Rasage des poiles.



**Figure N°IV-31:** La coupe des poiles à l'aide d'un ciseau.

Le site opératoire (cuisse gauche) doit être rigoureusement rasé (figure N° IV-30) ensuite méticuleusement nettoyé à l'eau et au savon puis avec un détergent germicide Dettol pour assurer l'élimination de la flore transitoire et résidante (Les espèces bactériennes les plus représentatives sont les Staphylocoques à coagulase négative, les *Staphylococcus aureus* et les Corynébactéries) (Galy, 2001).

Avant la mise en place du champ opératoire stérile pour un animal en position latérale sur la table d'opérations, une désinfection à base de Povidone iodée (10%) est appliquée<sup>12</sup>.



Figure N°IV-32: Tenue chirurgicale



Figure N°IV-33: Stérilisation du matériel chirurgical

#### IV-II-5. Protocole anesthésique :

Les lapins sont sujets à la déshydratation, il faut donc s'assurer qu'ils ont toujours l'eau à leur disponibilité, ces animaux peuvent recevoir de l'eau environ 60 minutes avant le début de l'anesthésie (Mapara et *al.*, 2012). Alors une diète hydrique de 3 heures est suffisante.

L'association kétamine / xylazine / acépromazine est un schéma utilisé dans cette étude car d'après Lipman et *al.*, (1990) il offre un temps d'anesthésie supérieur à celui produit par la kétamine /xylazine seule.

Selon Lipman et *al.*, (1990 ); Wurtz et *al.*, (2015) le protocole anesthésique est entamé par une prémédication avec une double injection, d'acépromazine<sup>13</sup> et de xylazine<sup>14</sup> à raison de 0,75 mg/Kg (IM) et 2,5 mg/Kg (SC) respectivement.

L'induction et le maintien sont assurés par la kétamine<sup>15</sup> à raison de 50 mg/kg en IM. Une première injection(1/2 de la dose) assure la profondeur de l'anesthésie 45 minute après, une deuxième injection assure l'entretien de cette profondeur.

<sup>12</sup> SEPTIDINE®; Laboratoire PHARMAGHREB ; Algérie.

<sup>13</sup> CALMIVET® (0.5 %) : Vetoquinol ; Luxembourg.

<sup>14</sup> ROMPUN® 2 %; Belgique.

<sup>15</sup> IMALGEN1000,10ml, France.

**IV-II-6. Etape per opératoire" l'intervention chirurgicale":**

Tout les gestes chirurgicaux de cette étude ont été effectués au sein de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret, service de chirurgie, la durée de chaque intervention est estimée en moyenne à 90 minutes.

Animal en décubitus latéral droit, champs opératoire en place, une incision longitudinale de 4 cm est pratiquée sur la peau avec une lame bistouri N°23 d'après la voie d'abord recommandée par Cossu et *al.*, (2005) et Brinker et *al.*, (2014), au niveau de la diaphyse fémorale selon une ligne imaginaire, s'étendant du grand trochanter jusqu'à la face latérale de la rotule (figure N° IV-34, N° IV-35).



**Figure N°IV-34:** incision de la peau

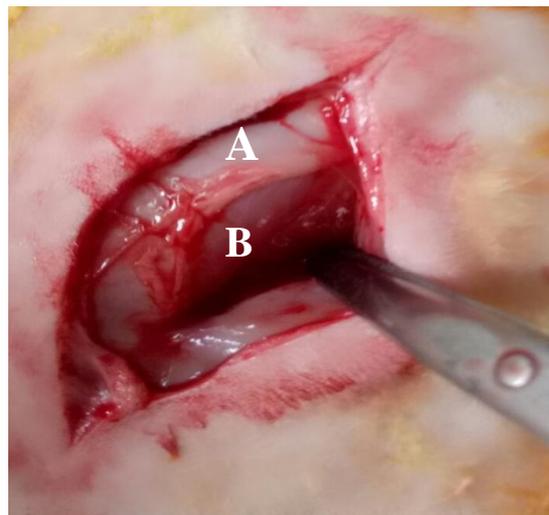


**Figure N°IV-35:** Mise en place du champ opératoire stérile.

La mise en évidence de la plus grande partie de la diaphyse fémorale est faite par la section de l'insertion crâniale du muscle biceps fémoral sur le fascia latta (figure N° IV-36, N° IV-37) après réclinaison du corps du muscle biceps fémoral vers l'arrière et du muscle vaste latéral avec le fascia latta vers l'avant .

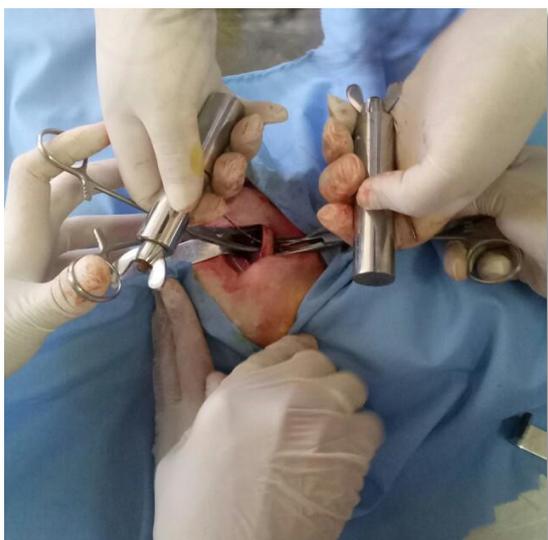


**Figure N°IV-36:** la section du fascia latta



**Figure N°IV-37:** A- fascia latta B-vaste latéral

Après la section des insertions musculaires de la diaphyse fémorale gauche, une scie fil inoxydable stérile a été passée sous l'os en protégeant les muscles par deux pinces hémostatiques courbées ouvertes l'un en face de l'autre une ostéotomie transversale médio-diaphysaire est réalisée par mouvements parallèles du scie fils (cigiclé) (figure N° IV-38), un segment cortical cylindrique d'un centimètre est retiré sans trop léser les insertions musculaires (source d'approvisionnement) du reste de l'os. La mise à égalité des deux bouts nécessaire pour avoir un bon alignement avec le greffon allogénique est réalisé à l'aide d'une lime inoxydable (figure N° IV-39).



**Figure N°IV-38:**La section de la diaphyse fémorale

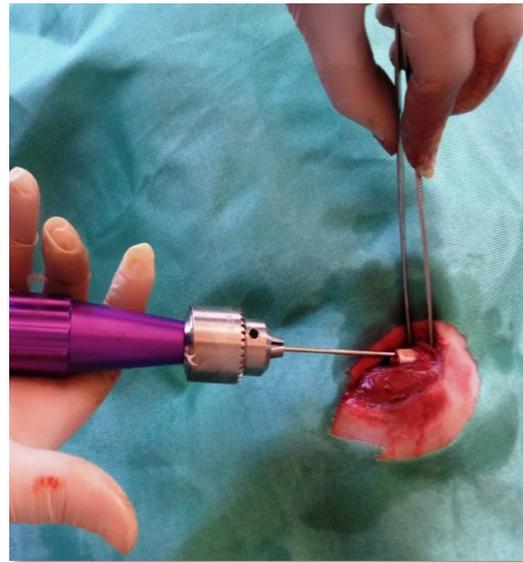


**Figure N°IV-39:** Alignement des deux bouts par une lime inoxydable.

Le clou est enfoncé dans le canal médullaire de façon rétrograde par l'extrémité proximale à l'aide d'un mandrin Jacobson (figure N° IV-41) le diamètre de la broche choisi doit représenter 50 à 70% de celui du canal médullaire. La broche non verrouillée est glissée le long de la cavité médullaire jusqu'à sa sortie par la fosse trochantérique, la peau soulevée par la broche est incisée, laissant sortir le 3/4 de la broche à travers cette incision (figure N° IV-40).



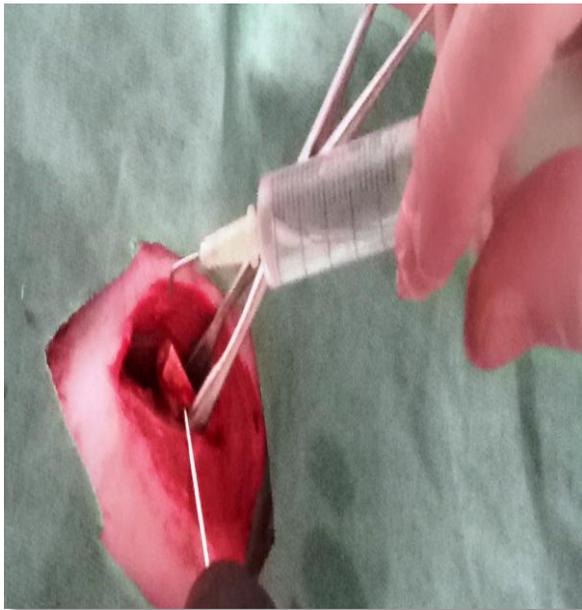
**Figure N°IV-40:** Sortie de la broche par la fosse trochantérique.



**Figure N°IV-41:** L'enfoncement du clou par le bout proximal.

Le méchage des deux bouts de la partie proximale et distale du fémur est réalisé à l'aide d'une broche Kushner de 1 mm de diamètre, pour permettre par la suite le passage du fil métallique inoxydable monofilament de 0.4 mm de diamètre<sup>16</sup> réalisant ainsi une suture métallique neutralisant les contraintes mécaniques (rotation, angulation, cisaillement). l'instillation de l'eau salé pendant cette opération est obligatoire pour éviter la carbonisation du tissu osseux. (figure N° IV-42, IV-43).

<sup>16</sup> Fil en acier inoxydable-BRINS 0.40mm-067804242-Laboratoires Bruneau, France.



**Figure N°IV-42:** Méchage + instillation de l'eau salée



**Figure N°IV-43:** Bout proximal après méchage

Le passage du fil métallique<sup>16</sup> se fait d'abord par le trou réalisé dans le bout diaphysaire proximal, puis dans le canal médullaire du greffon allogéniques autoclavé orthotopique non couvert de EEPA, et enfin par le trou percé dans le bout diaphysaire distale (figure N° IV-47).

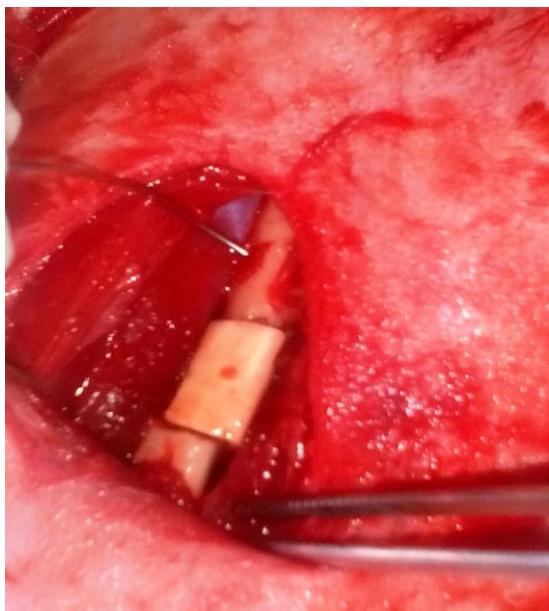


**Figure N°IV-44:** Greffons couverts et non couverts de EEPA10.

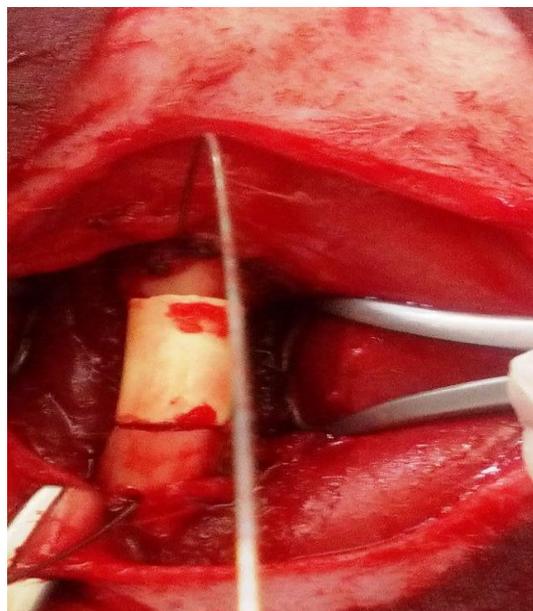


**Figure N°IV-45:** Réalisation d'une suture métallique.

Pour les allogreffes autoclavées orthotopiques couvertes de **EEPA10** l'application de cet extrait en fine couche de **62mg** de poids (le 1/4 de la quantité du travail antérieur) à une concentration de **100mg/ml** est faite en per opératoire (figure N° IV-46, N° IV-47).

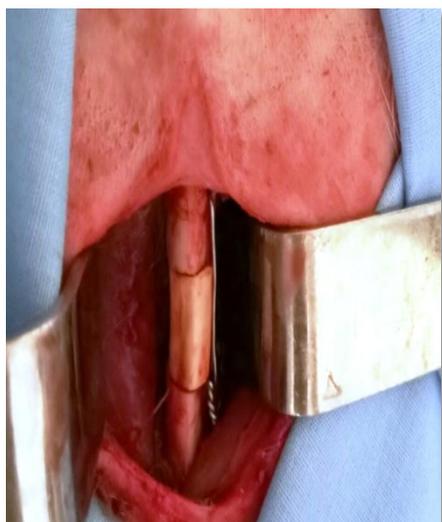


**Figure N°IV-46:** Mise en place du greffon sans alignement .



**Figure N°IV-47:** Alignement du greffon sans **EEPA10**.

Après alignement du greffon et l'os receveur (figure N° IV-47), un nœud est réalisé avec les deux bouts du fil métallique, en gardant toujours le nœud loin du greffon et plaqué à la corticale afin d'éviter tout type de traumatisme (figure N° IV-48, N° IV-50).



**Figure N°IV-48:** Mise en place d'un greffon allogénique orthotopique autoclavé Non couvert de **EEPA10**



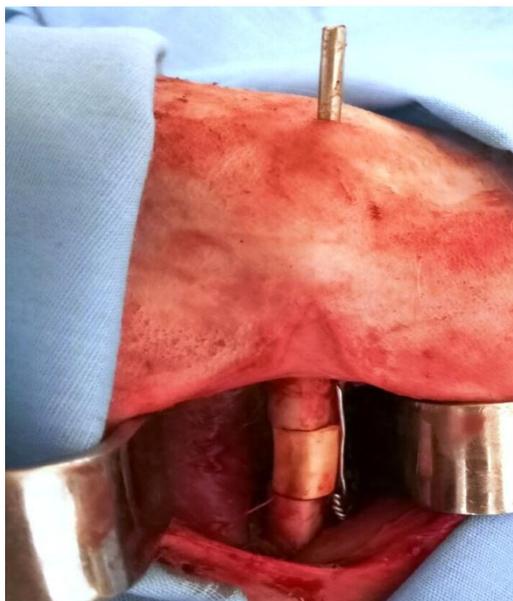
**Figure N°IV-49:** Fil métallique inoxydable de 0.4mm de diamètre monobrin, stérile.



**Figure N°IV-50:** Mise en place d'un greffon allogénique orthotopique autoclavé couvert de **EEPA10**

Ensuite, l'ECMS est glissé dans la partie distale; la portée de l'os légèrement vers l'arrière offre une immobilisation plus fiable par un passage plus profond du clou dans la partie spongieuse de l'épiphyse distale.

L'estimation de la broche enfoncée est fait grâce à au dépôt d'une broche de la même longueur parallèlement à celle enfoncée, le surplus de cette dernière est coupé par un coupe broche (figure N° IV-51, N° IV-52).



**Figure N°IV-51:** Mise en place du matériels d'ostéosynthèse

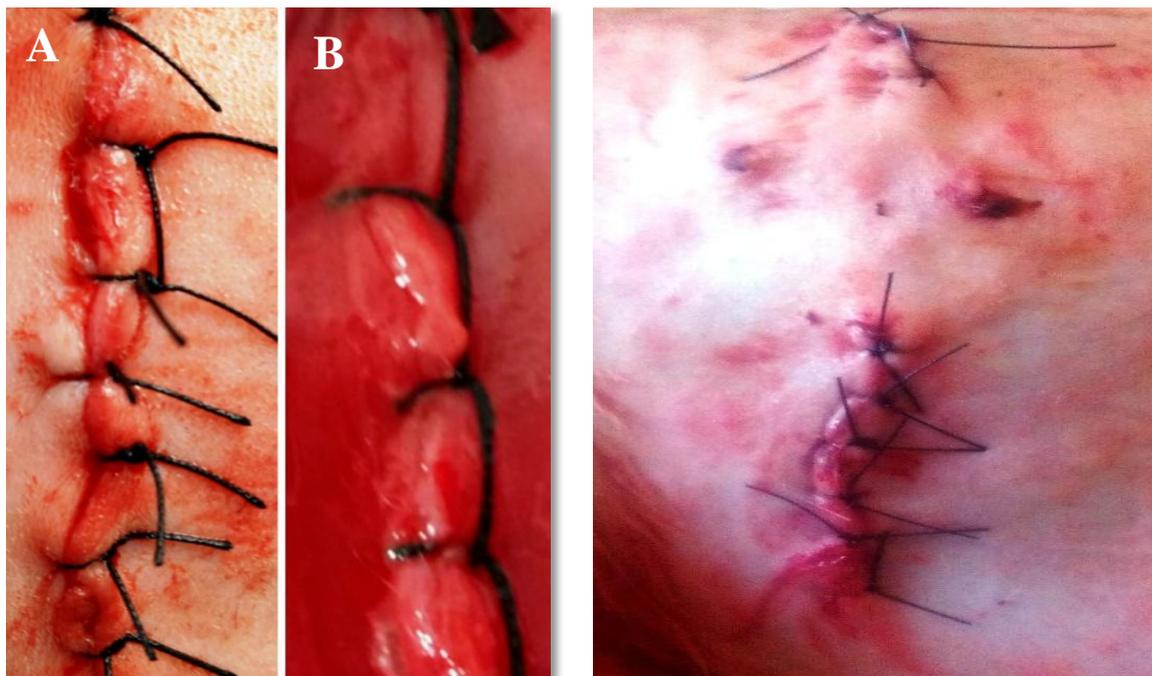


**Figure N°IV-52:** Coupe broche

1 ml d'antibiotique (pénicilline G)<sup>17</sup> est appliquée au niveau des deux plaies avant leur fermeture, le fascia est suturé en surjet à point passé avec un fil résorbable synthétique d'acide polyglycolyque 0/3 et la peau par des points simples séparés de polyamide 0/3 (figure N° IV-53, N° IV-54).

---

<sup>17</sup> Pénicilline<sup>®</sup>; BIOCARE LABORATOIRES; Algérie.



**Figure N°IV-53:** A: peau suturée avec des points simples B: fascia latta suturé par un surjet au point passé .

**Figure N°IV-54:** suture des deux plaies

Pour mieux gérer la douleur en post opératoire, d'après Pignon, (2015) la buprénorphine<sup>18</sup> est injectée à raison de 0,05 mg/kg en sous cutané, cette dernière est l'un des opioïdes le plus utilisés chez le lapin à cause de sa durée d'action longue (4-6 heures) et ses faibles effets secondaires, l'animal est surveillé jusqu'au réveil, puis placé dans des cages spécialement conçues pour cette expérimentation (figure N° IV-55, N° IV-56).

---

<sup>18</sup> Temgesic<sup>®</sup> (0,3mg/ml) : Schering-plough; Levallois-Perret; France.



**Figure N°IV-55:** Animal un jour PO



**Figure N°IV-56:** Animal après le réveil

**Ps:** La rupture de la suture métallique au moment de son serrage et l'ostéotomie transversale nécessitaient parfois un temps supplémentaire pouvant aller jusqu'à deux heures pour réinstaller le matériel d'ostéosynthèse et d'assurer une bonne stabilité.

**IV-II-7. Suivi cliniques et para cliniques :**

Pour bien gérer le suivi clinique et para clinique, une répartition des groupes est faite sur les événements biologiques indiqués dans le tableau N°IV-2 et N°IV-3.

**Tableau N°IV-2 : La répartition des groupes selon les événements biologiques**

ASP														
ASP3			ASP7			ASP10			ASP12			ASP+12 (3Mois)		
L2	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3
AAP														
AAP3			AAP7			AAP10			AAP12			AAP+12		
L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3

**Tableau N°IV-3 : Classification des événements biologiques observés lors de l'implantation de protéine osteoinductrice (Sautier et Forest, 1996 ).**

Jours	0-3	4-7	8-10	10-12	+12 (3Mois)
Evénements biologiques	Prolifération des cellules mésenchymateuses	Chondrogenèse	Maturation cartilagineuse	-Résorption cartilagineuse -Formation osseuse	Remaniement osseux

D'après Sautier et Forest, (1996) ; cette séquence d'événements biologiques mise en route par la BMP dans un site ectopique récapitule les différentes étapes de l'ossification endochondrale telle que l'on peut l'observer au cours du développement embryonnaire du squelette ou lors d'une réparation de fracture .

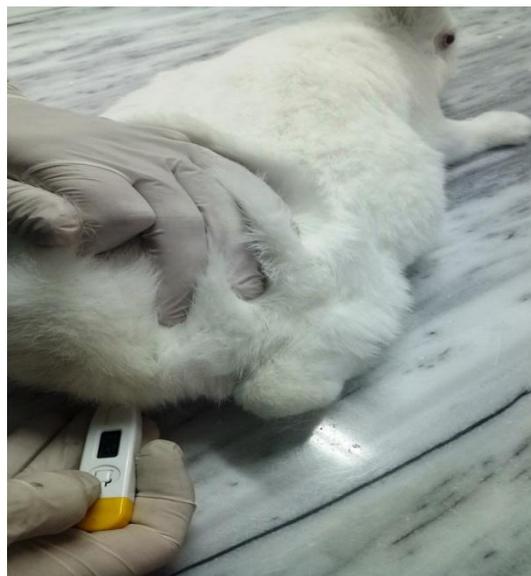
La répartition suivant la fin de chaque événement biologique représente la date de sacrifice des animaux et l'ablation des fémurs gauches pour une préparation ultérieure des lames histologiques .

**IV-II-7-1. Suivi clinique :**

Une antibiothérapie à base de pénicilline G<sup>17</sup> à raison de 84.000 IU/kg est administrée pendant les dix jours suivant le geste opératoire. Une prise de température corporelle rectale quotidienne est effectuée durant 15 jours au maximum. L'appui, l'état des deux plaies, le transit intestinal de l'animal, la surveillance de la broche et le comportement des animaux représentent les principaux paramètres sur lesquels nous nous sommes basés dans le suivi clinique (figure N° IV-57, N° IV-58).



**Figure N°IV-57:** AAP12L1 jour PO



**Figure N°IV-58:** Prise de température

**IV-II-7-2. Suivi para clinique :****IV-II-7-2-1. Suivi hémato-biochimique :**

Tout en respectant les événements biologiques cités dans le tableau N IV-3, l'approche était de prélever le sang de chaque animal avant et après le geste opératoire, ceci à la fin de chaque événement biologique à 3j, 7j, 10j, 12j et +12j (3 mois) comme mentionné dans le tableau N° IV-2.

Les paramètres qui ont été pris en charge dans notre protocole expérimental (examen hémato-biochimique) sont :

- Les leucocytes
- L'hémoglobine
- Les plaquettes sanguines
- Le calcium
- Le phosphore

- La phosphatase alcaline

Ces paramètres ont été déterminés pour les deux lots, témoins et le lot où les allogreffes sont couvertes d'EEPA10. Après chaque série de prélèvements, les tubes ont été confiés à un laboratoire d'analyses hémato-biochimiques privé siégé dans la wilaya de Tiaret. La méthode utilisée pour la FNS est le comptage automatique des globules blancs et des plaquettes ainsi que le dosage de l'hémoglobine par un automate de type « Mithyc 22 ». Les analyses de biochimie (calcium, phosphore et la phosphatase alcaline) basées sur le principe de la colorimétrie, ont été obtenues par un automate de type «Targa 1500 ».

#### IV-II-7-2-1-1. Technique de prélèvement :

La région de la veine saphène droite de chaque animal est rasée adéquatement et désinfectée à l'aide d'alcool puis une quantité de gel à base de xylocaine 2%<sup>19</sup>, est déposée sur l'endroit propice pour éviter la sensation de pique (Killi, 2004) et le traumatisme des vaisseaux (figure N° IV-59, N° IV-60).



**Figure N°IV-59:** Les tubes de prélèvements étiquetés .



**Figure N°IV-60:** Rasage et application de gel xylocaine 2%.

D'après Boucher et Nouaille, (2013), chez le lapin le prélèvement de sang de 0.5-5 ml peut être sans danger.

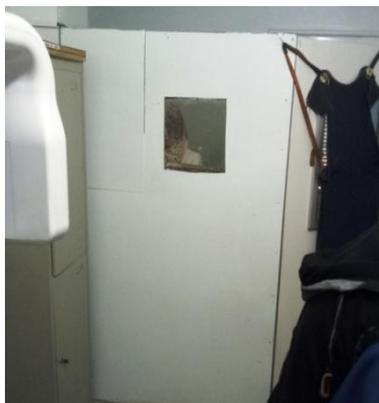
<sup>19</sup> Xylocaine® visqueuse 2%-100ml-Astra Zeneca.

Une seringue de 2.5 ml a été utilisée pour le prélèvement sanguin, une quantité de 2ml est versée à chaque opération dans des tubes héparinés pour la biochimie et dans des tubes EDTA pour la FNS.

#### **IV-II-7-2-2. Suivi radiologique :**

La réalisation des radiographies est assurée par le centre d'imagerie du Dr CHIKHAOUI Mohamed en utilisant un matériels de radiologie numérique<sup>20</sup>. Les clichés radiographiques sont pris en vue latérale, afin de bien mettre en évidence le fémur. L'animal est anesthésié par l'administration d'un mélange de xylazine à la posologie de 5 mg/kg et de kétamine à 35 mg/kg (Mason, 1997) et couché sur le côté opéré (fémur gauche) avec l'avant train tourné de 45° (Desachy, 2009). Le membre indemne est fléchi et tenu verticalement en dehors du champ d'exposition le faisceau est centré au milieu de la diaphyse fémorale. les constantes sont fixées à 40 kV, 11 mAs (Combaret, 2004).

Afin de travailler en toute sécurité le port d'un tablier plombé de radioprotection est obligatoire (figure N° IV-61, N° IV-62 et N° IV-63).



**Figure N°IV-61:** Salle plombée anti rayons X.



**Figure N°IV-62:** Matériels de mise en forme et développement de cliché.



**Figure N°IV-63:** Animal en place pour une prise de cliché.

<sup>20</sup> Appareil de radiologie numérique X-RAYS PRODUCTS manufactured at : Varian Interay .3235 fortune drive -VARIAN MEDICAL SYSTEMS; U.S.A.



Figure N°IV-64 : Incidence latérale.

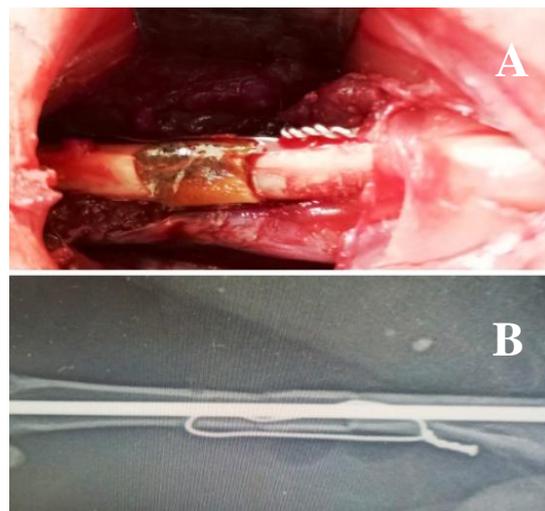


Figure N°IV-65: A :Photo per PO.  
B: un cliché en PO.

Un cliché radiographie post opératoire est nécessaire pour s’assurer de la bonne mise en place de la broche non verrouillée, la suture métallique et le bon choix du greffon .

Un cliché numérique réalisé (figure N° IV-64, N° IV-65) chaque mois pour les animaux ASP+12 et AAP+12 a permis d’apprécier l’évolution de la consolidation au niveau des deux interfaces selon le score radiologique mentionné dans le tableau N°IV-4 .

**Tableau N°IV-4** : L'évaluation des clichés selon le score radiologique de Asmara et *al.*, (2014).

Critères	score
Absence de cicatrisation	0
Cicatrisation avec :	
• Formation de cals	1
• Formation d'os	2
• Perte de ligne d'ostéotomie	3
• Consolidation partielle *	3.5
• Consolidation complète	4

\* Légère modification apportée.

L'évaluation de l'ostéoinduction et l'ostéoconduction hôte-greffon est fait selon le tableau ci dessous :

**Tableau N°IV-5** : L'évaluation de l'ostéoinduction et l'ostéoconduction selon Kahan et *al.*, (2005).

Allogreffe	Osteoinduction	Osteoconduction
Os cortical	-/+	-/+

- Absence d'activité , -/+ /++ /+++ étendu de l'activité , +++ activité maximale

La position et la durée de l'avancement du cal sont évalués par le tableau ci dessous :

**Tableau N°IV-6** : L'évaluation de la position et la durée de l'avancement du cal selon Boudra et *al.*, (2014).

Animaux et type de l'allogreffe	Durée de passage du cal		Position du cal	Consolidation complète
	Interface proximale	Interface distale		
Cas N	Durée en semaine	Durée en semaine	Loin / plaqué au greffon	Durée en semaine

### IV-II-7-3. Suivi histologique :

Pour chaque lot de 15 lapins néozélandais le sacrifice des animaux à été effectué selon la chronologie suivante: à 3 jours, 7 jours, 10jours, 12 jours et à +12 jours selon l'évolution, pour les deux lots avec et sans propolis suivant le tableau N°IV-2 :

Après le sacrifice de l'animal, le fémur gauche est enlevée aseptiquement, la pièce d'exérèse subit un parage afin d'éliminer tout les muscles, graisses et fascia. Après l'ablation de la broche les pièces de tout les animaux sont mises dans des bouteilles contenant du formol liquide à une concentration de 10% pour conservation (figure N° IV-68) après cela 30 échantillons ont été étiquetés et communiqués à un laboratoire d'anatomo-histo-pathologique pour la préparation des coupes histologiques (figure N° IV-66 et N° IV-67) selon la méthode conventionnelle de BANCROFT (Bancroft et Gamble, 2008) pour chaque fin d'événement biologique mentionné dans le tableau N°IV-3.



**Figure N°IV-66:**  
Pièce d'excrèse,  
fémur gauche.



**Figure N°IV-67:** Pièces d'excrèses  
après parage .



**Figure N°IV-68:** Conservation  
de la pièces d'excrèses dans le  
formol à 10%.

Après la réception des lames et des blocs suivant l'étiquetage des pièces d'excrécées envoyées (figure N° IV-69) la prise des photos et l'interprétation des lames histologiques est faite au sein de l'ISV de Tiaret avec un microscope à caméra numérique<sup>21</sup> (figure N° IV-70).



**Figure N°IV-69:** Les lames histologiques.



**Figure N°IV-70:** Microscope à caméra  
numérique.

<sup>21</sup> Primo star Zeiss-Axio Cam ERc5s-Germany.

La structure histologique des os fémoraux a été inspectée à l'aide du score de Asmara et *al.*, (2014).

**Tableau N°IV-7:** L'évaluation histologique selon Asmara et *al.*, (2014).

Qualité de guérison	Score
Pas de cicatrisation	0
Cicatrisation avec :	
Un tissu fibreux	1
Un tissu Fibreux cartilagineux	2
*Un cartilage non minéralisé	2.5
Un cartilage minéralisé	3
Un os mature	4

\* Légère modification apportée.

#### IV-III. Partie statistique :

- Afin de comparer la variations des paramètres hémato-biochimiques pour les ASP et les AAP, nous avons utilisé la méthode statistique qu'on a jugé approprié, la méthode en question est la comparaison des moyens sous l'analyses de la variance (ANOVA). Pour le calcul et l'analyse nous avons utilisé la version **R-5.2** du logiciel **R** (*R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL: <http://www.R-project.org>*).
- Pour bien définir la différence entre les dix échantillons de propolis brutes des différentes régions algériennes nous avons utilisé L'ANOVA comme analyse. Le logiciel utilisé est le **SPSS** version **20**.

# **Chapitre V**

## **Résultats**

## V-I. Résultats IN VITRO :

### V-I-1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux des différents échantillons de propolis Algérienne:

Dans ce volet le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes représente un test d'orientation primordial afin de choisir la propolis la plus riche en substance active pour l'utiliser par la suite in vivo comme une fine couche appliquée directement sur les greffons diaphysaires autoclavés en per opératoire. D'autres paramètres ont été étudiés, tel que le pH et le rendement après extraction éthanolique in vitro .

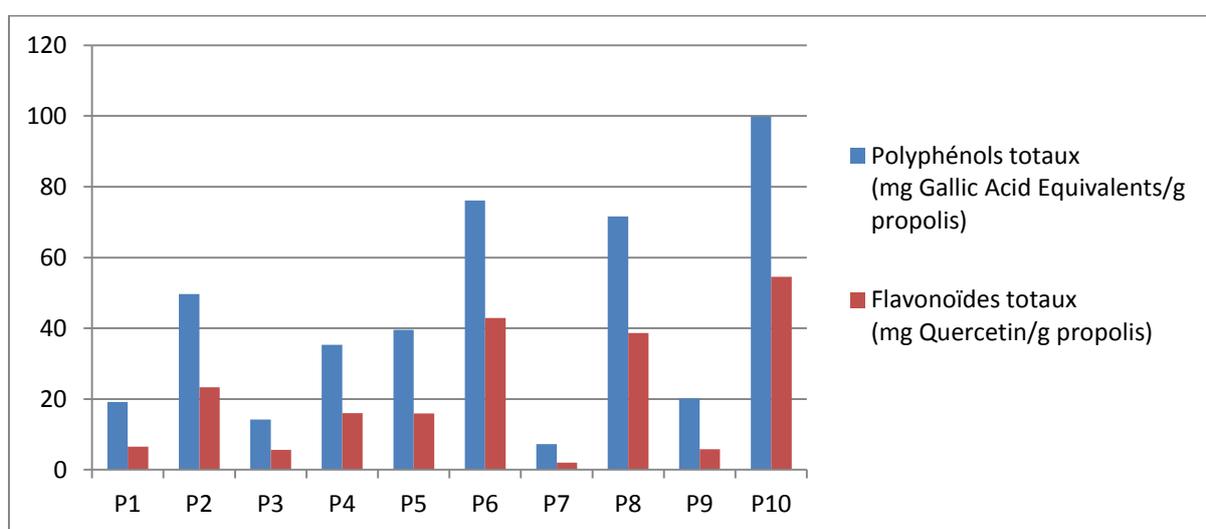


Figure N° V-1 : Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux .

#### V-I-1-1. Dosage des polyphénols totaux :

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent une valeur élevée pour la propolis de la région du sud (Laghouat P10) de 99.98 mg Acide Gallique /g de propolis et une valeur très basse de 7.3 mg Acide Gallique /g de propolis pour la même wilaya .

Une valeur de 71.6 et 76.1 mg Acide Gallique /g de propolis pour la région de l'ouest (Tiaret). 20.2 pour la wilaya de Relizane .

Concernant l'est, deux valeurs différentes ont été enregistrées dans la willaya de (SOUK AHRAS) 19.2 et 49.7, et 14.2 mg Acide Gallique /g de propolis pour la wilaya de Mila. Au centre le dosage a révélé une valeur de 35.3 et 39.6 respectivement pour les wilayas de Tipaza et Blida (figure N° V-1) (tableau N°V-1).

**V-I-1-2. Dosage des flavonoïdes totaux :**

Les échantillons les plus riches en polyphénols sont tout aussi riches en flavonoïdes. Pour la région sud, la wilaya de Laghouat, le dosage des deux variétés était de 54.4 et 2 mg Quercétine/g de propolis représentant la valeur la plus élevée et la plus basse.

Par ailleurs celle de la wilaya de Tiaret était de 38.7 et 42.9 Quercétine/g de propolis et celle de la wilaya de Relizane était de 5.8 mg Quercétin/g de propolis .

La propolis de l'est (SOUK AHRAS) a donné les valeurs de 6.5 et 23.3 mg Quercétin/g de propolis et 5.6 mg Quercétin/g de propolis pour la wilaya de MILA.

Enfin celle du centre était de 16 et 15.9 mg Quercétin/g de propolis (TIPAZA et BLIDA) (figure N° V-1) (tableau N°V-1).

**Tableau N°V-1 :** Valeurs moyennes des polyphénols et des flavonoïdes des différents échantillons de propolis collectées.

Echantillons	Polyphénols (mg acide gallique/g de propolis)	Flavonoïdes (mg de quercétin/g de propolis)
P1	19,00±0,71 <sup>a</sup>	6,50±0,71 <sup>a</sup>
P2	49,70±2,12 <sup>b</sup>	23,25±1,06 <sup>b</sup>
P3	14,20±4,81 <sup>ac</sup>	5,60±0,42 <sup>ac</sup>
P4	35,25±5,59 <sup>d</sup>	15,95±0,07 <sup>d</sup>
P5	39,55±4,03 <sup>d</sup>	15,90±0,85 <sup>d</sup>
P6	76,10±0,71 <sup>e</sup>	42,85±0,49 <sup>e</sup>
P7	7,30±1,41 <sup>c</sup>	2,00±0,14 <sup>f</sup>
P8	71,55±1,48 <sup>e</sup>	38,70±0,28 <sup>g</sup>
P9	20,25±4,45 <sup>ac</sup>	5,80±0,14 <sup>ac</sup>
P10	99,80±8,06 <sup>f</sup>	54,50±1,41 <sup>h</sup>

Les moyennes suivies de la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes (P > 0,05).

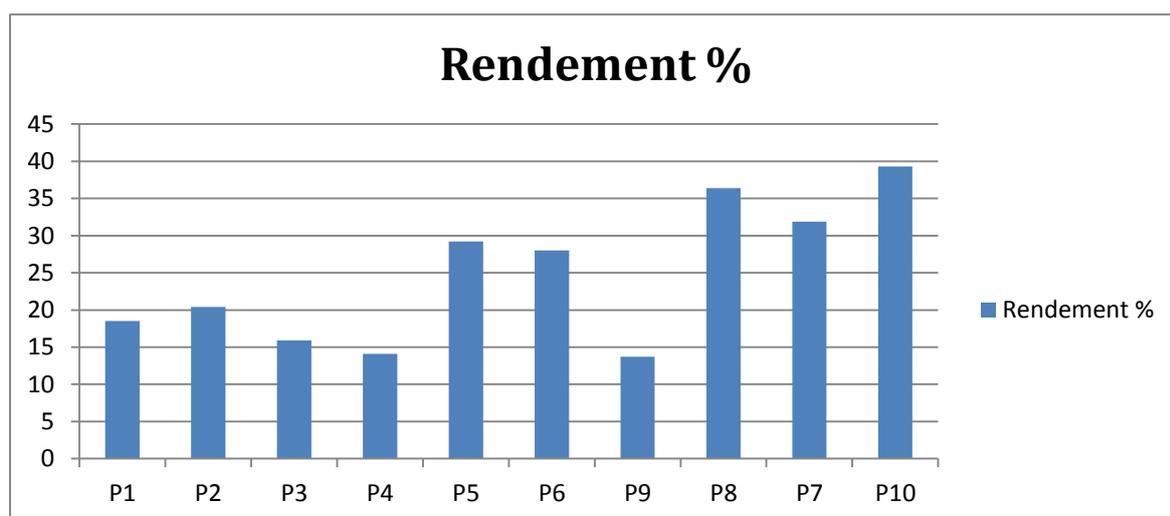


Figure N°V-2 : Le rendement du EEPA en % .

### V-I-2. Le rendement des EEPA (extraits éthanolique de propolis Algérienne) en % :

Les résultats du rendement de propolis algérienne des quatre régions après l'extraction éthanolique ont révélé un rendement moyen de  $24.74 \pm 9.42\%$ , une valeur maximale a été notée pour la propolis de la région du sud qui est de l'ordre de  $35.59 \pm 5.26\%$  et un rendement minimal pour la région de l'est qui est de l'ordre de  $18.28 \pm 2.62\%$  (figure N° V-2).

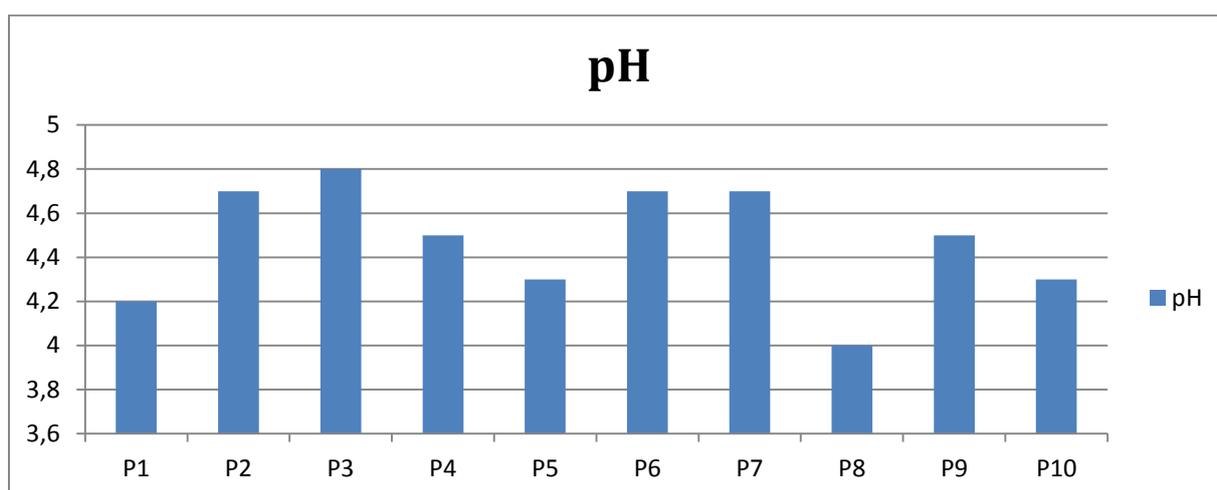


Figure N°V-3 : Le pH de la propolis Algérienne de différentes régions.

### V-I-3. Détermination du pH de la propolis:

Les différents échantillons de propolis ont montré un pH variant entre 4 - 4.8 avec une moyenne de  $4.47 \pm 0.26$  ce qui signifie que toutes les propolis sont de nature acide. Les valeurs maximales qui ont été enregistrées dans l'est sont de l'ordre de  $4.56 \pm 0.32$  tandis que les valeurs minimales dans le centre sont de l'ordre de  $4.4 \pm 0.14$ . (figure N° V-3) (tableau N°V-2).

**Tableau N°V-2 :** Comparaison de pH et du rendement de l'extraction éthanolique entre les quatre régions de récolte .

Région	Etiquetage	Région de récolte	pH	pH (IC)	Rdt %	Rdt % (IC)
Est	P1	SOUK AHRAS (Bir bouhouche)	4.2	<b>4.56±0.32</b>	18.5	<b>18.28±2.62</b>
	P2	SOUK AHRAS (HNANACHA)	4.7		20.43	
	P3	MILA (AHMED RACHEDI)	4.8		15.92	
Centre	P4	TIPAZA	4.5	<b>4.4± 0.14</b>	14.11	<b>21.66±10.68</b>
	P5	BLIDA	4.3		29.22	
Ouest	P6	TIARET (BOUCHAKIF)	4.7	<b>4.46±0.40</b>	28.01	<b>26.03±11.46</b>
	P9	RELIZANE	4.5		13.71	
	P8	TIARET (OULED BOUGHADOU)	4		36.38	
Sud	P7	LAGHOUAT ( Lakhneg)	4.7	<b>4.5±0.28</b>	31.87	<b>35.59 ± 5.26</b>
	P10	LAGHOUAT ( La zone Agricole HAMDA)	4.3		39.32	

## V-II. Les Résultats du Suivi clinique et para clinique :

Après tout les actes chirurgicaux réalisés l'ensemble des animaux a survécu jusqu'à la fin du suivi.

### V-II-1. Résultats du suivi clinique:

Les paramètres du suivi clinique qui sont au nombre de six (L'appui , l'état des deux plaies, le transit intestinal de l'animal, la température corporelle, la surveillance de la broche et le comportement des animaux) surveillés pour les deux lots AAP (allogreffe avec propolis) et ASP (allogreffe sans propolis ).

### V-II-1-1. L'appui:

L'absence de l'appui est le signe le plus évident de douleur en cas d'atteinte du membre; c'est un comportement protecteur qui vise à prévenir d'autres dommages et minimise la douleur ressentie.

L'obtention d'un appui complet et permanent est constaté pour les **AAP** dès le début de la première semaine alors que pour les **ASP** il n'a été observé qu'après la septième semaine (tableau N°V-3 et N°V-4).



**Figure N°V-4:** Mauvaise posture du membre opéré.



**Figure N°V-5:** Animal en PO dans un bac en plastique.

**Ps:** lors du suivi de l'appui, une attitude a été observée concernant le positionnement du membre opéré à un jour en post opératoire (figure N° V-4) position à risque pour la stabilité du greffon, d'ou l'idée d'utiliser un bac en plastique afin d'éviter l'inclinaison du membre, la mauvaise posture et la bonne évaluation de l'appui.

Tableau N°V-3 : Résultats du suivi l'appui du membre opéré pour le groupe ASP.

	Suivi de l'appui pour le groupe ASP														
	ASP3			ASP7			ASP10			ASP12			ASP+12		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3
1 <sup>ère</sup> Se	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!
2 <sup>ème</sup> Se							!	!	!	!	!	!	!	!	!
3 <sup>ème</sup> Se													!	!	!
4 <sup>ème</sup> Se													!	!	!
5 <sup>ème</sup> Se													!	!	
6 <sup>ème</sup> Se													!	!	
7 <sup>ème</sup> Se													++	++	
8 <sup>ème</sup> Se													++	++	
9 <sup>ème</sup> Se													++		
10 <sup>ème</sup> Se													++		
11 <sup>ème</sup> Se													++		
12 <sup>ème</sup> Se													++		

- ++ : Présence d'appui / ! : Absence d'appui

Tableau N°V-4 : Résultats du suivi l'appui du membre opéré pour le groupe AAP.

Suivi de l'appui pour le groupe AAP															
	AAP 3			AAP 7			AAP 10			AAP 12			AAP +12		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3
1 <sup>ère</sup> Se	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2 <sup>ème</sup> Se							++	++	++	++	++	++	++	++	++
3 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
4 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
5 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
6 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
7 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
8 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
9 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
10 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
11 <sup>ème</sup> Se													++	++	++
12 <sup>ème</sup> Se													++	++	++

- ++ : Présence d'appui



**Figure N°V-6:** Plaies groupe ASP



**Figure N°V-7:** Plaies groupe AAP

#### **V-II-1-2. L'état des plaies :**

La plaie au dessus de la fosse trochetrique a été intact pour tout les animaux. Pour les animaux dont nous avons utilisé les greffons couverts de l'EEPA10 l'évolution clinique a été caractérisée par l'apparition d'un gonflement au niveau de la plaie (fémur gauche) dès le 10 éme jour du suivi, l'étendu du gonflement a été estimé à 1Cm<sup>2</sup>, trois jours ensuite une légère ouverture de la plaie a été constaté pour les cas AAP+12L2, AAP+12L1; pour soulager les animaux, nous avons procédé à la vidange et au nettoyage de la plaie tous les jours. Pour le reste des cas, le gonflement a disparu 7 jours après son apparition.

Le gonflement apparu pour le lot des allogreffes autoclavées couvertes d'EEPA10, remarqué lors du suivi clinique a été ponctionné (figure N° V-6 et N° V-8) et envoyé chez le laboratoire privé pour une étude cyto bactériologique.



**Figure N°V-8 :** Le liquide ponctionné des animaux AAP.

La quantité du liquide ponctionné est estimée à 1 ml .

Le résultat de l'étude à montré :

- L'examen cytologique : la présence de quelques leucocytes.
- L'examen bactériologique: négatif (absence de germe).

Pour le lot des allogreffes autoclavées sans propolis aucun gonflement n'a été enregistré (figure N° V-7).

#### **V-II-1-3. Le transit intestinal :**

La présence des selles est observé dès le deuxième jour pour les AAP et les ASP sauf les cas AAP7L1, ASP10L3, ASP3L2 ou les selles normaux ont été remarqués qu'après le troisième jour.

#### **V-II-1-4. Température corporelle :**

La prise de température corporelle rectale à révélé:

- Pour le groupe AAP la température moyenne notée était de  $38.28^{\circ}\text{C} \pm 0.28$ , la maximale étant de  $38.7^{\circ}\text{C}$  et la minimale était de  $37.3^{\circ}\text{C}$  (figure N° V-9).

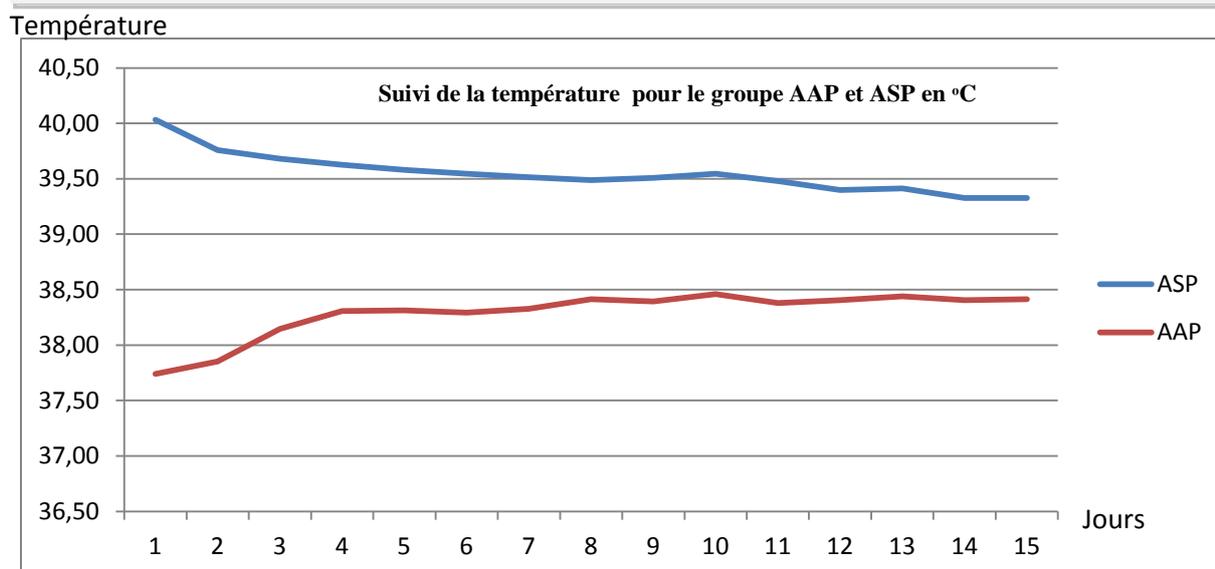


Figure N°V-9: Suivi de la température pour le groupe AAP et ASP en °C.

- Pour le groupe ASP une température moyenne de  $39.54\text{ °C} \pm 0.26$  a été enregistrée, la maximale étant de  $41.3\text{ °C}$  et la minimale était de  $39\text{ °C}$  (figure N° V-9).

#### V-II-1-5. Etat de la broche :

Aucune sortie de la broche n'a été observée soit pour les animaux avec une allogreffe non couverte de propolis ou pour les animaux dont les greffons allogéniques ont été couverts d'une fine couche d'EEPA10.

#### V-II-1-6. Comportement des animaux:

Aucun comportement turbulent ou agressif n'a été observé soit pour les animaux ASP ou pour les animaux à AAP.

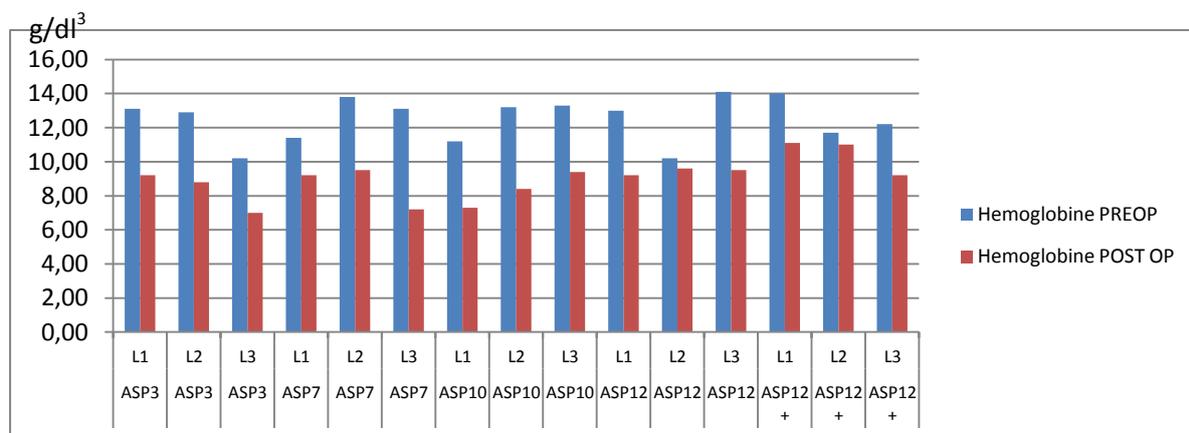
### V-II-2. Résultats para clinique :

#### V-II-2-1. Résultats des analyses hémato-biochimiques:

Dans la présente étude, nous avons tenté de cibler quelques paramètres hémato-biochimiques (l'hémoglobine, les leucocytes, les plaquettes, la phosphatase alcaline, le calcium et le phosphore) afin de suivre l'ostéointégration du greffon allogénique autoclavé couvert et non couvert d'EEPA10.

V-II-2-1-1. Résultats des analyses hémato-biochimiques pour les ASP

Hémoglobine :

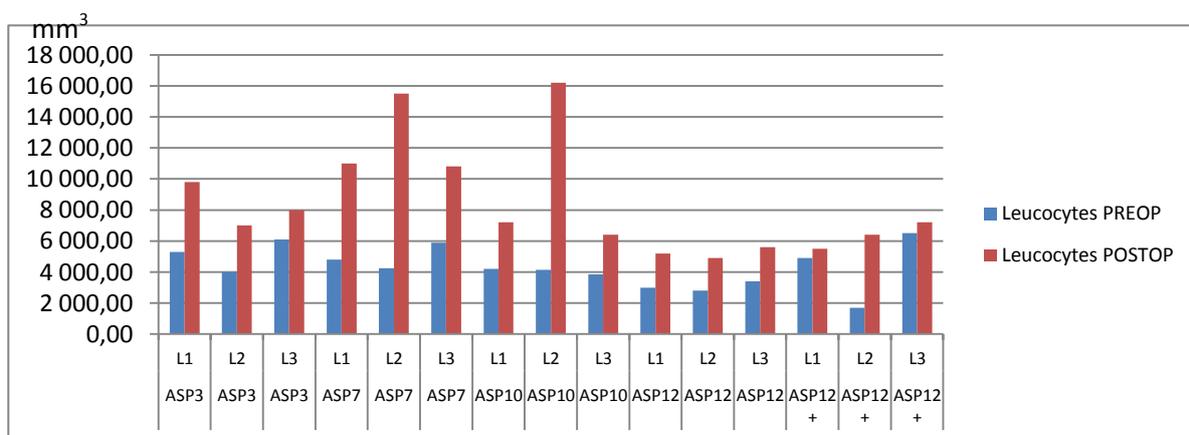


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

Figure N°V-10 : Variations des taux de l'hémoglobine en PRE OP et POST OP.

La figure N°V-10 montre des variations des taux d'hémoglobine très significatives (p < 0.001) pour le groupe ASP avant et après le geste opératoire, avec des diminutions du taux de l'hémoglobine dans le POST OP.

Leucocytes :



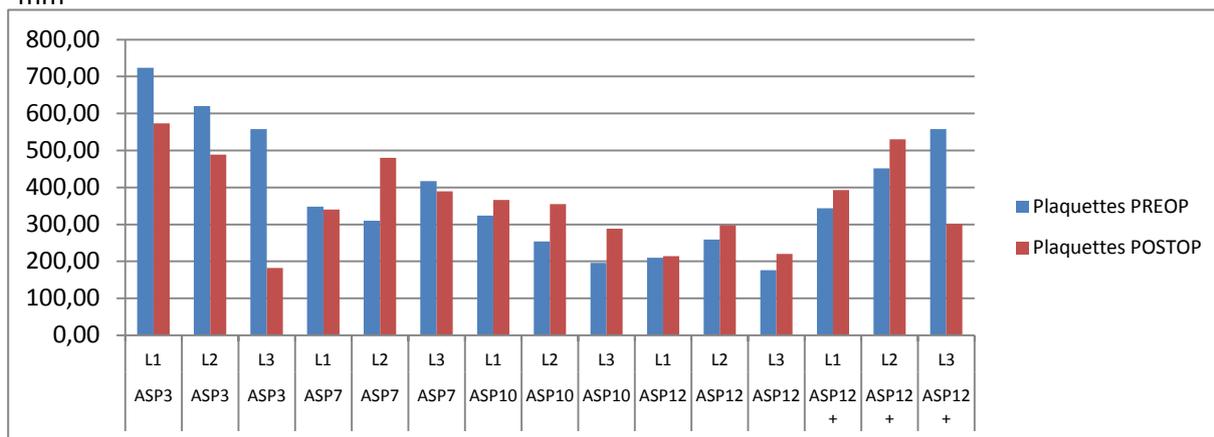
\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

Figure N°V-11 : Variations des taux des leucocytes en PRE OP et POST OP.

Le taux de leucocytes a été très significativement élevé (p < 0.001) (après l'intervention chirurgicale) et a même dépassé les valeurs usuelles (2000-15000 / mm³) dans les cas ASP7L2 et ASP10L2 (Figure N°V-11).

**Plaquettes :**

mm<sup>3</sup>



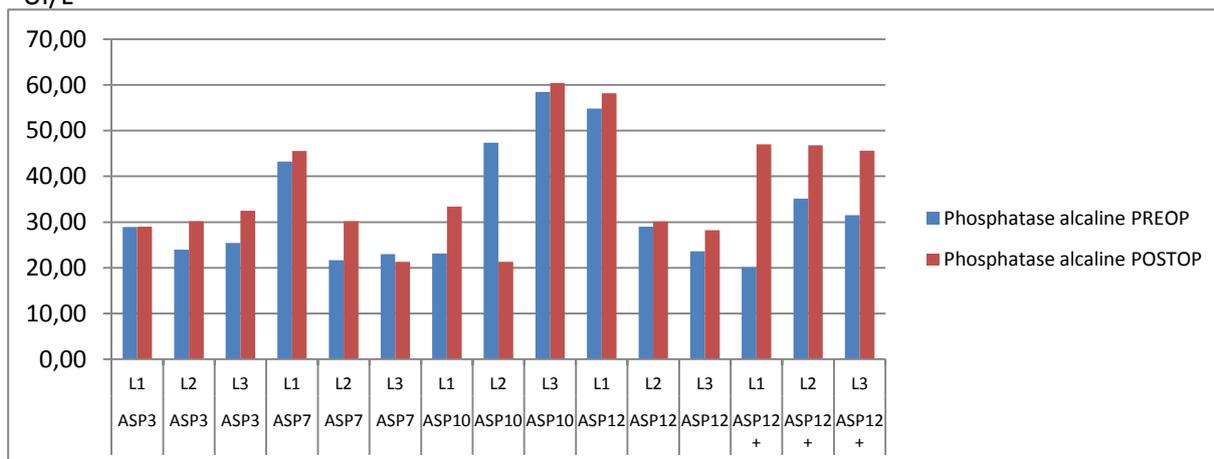
\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-12 :** Variations des taux des plaquettes en PRE OP et POST OP.

La Figure N°V-12 révèle les variations du taux des thrombocytes non significatives pour le lot sans propolis avant et après l'acte chirurgical.

**Phosphatase alcaline:**

UI/L

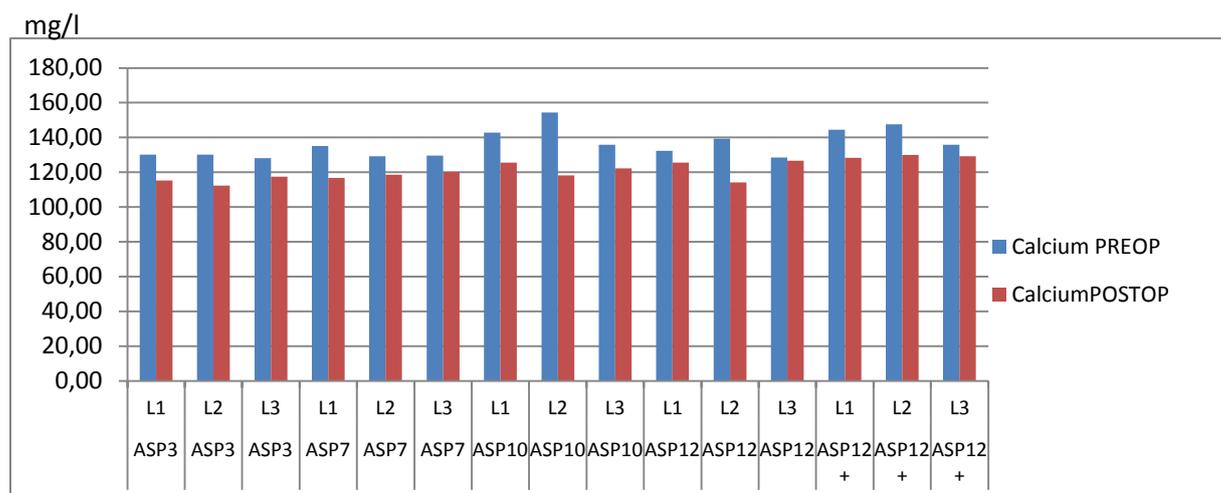


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-13:** l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline sérique en PRE OP et POST OP.

Sur la figure N°V-13, nous avons noté que la recherche de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline sérique a révélé des résultats dans les normes avec des variations non significatives pour le groupe ASP en pré et post opératoire.

**Calcium:**

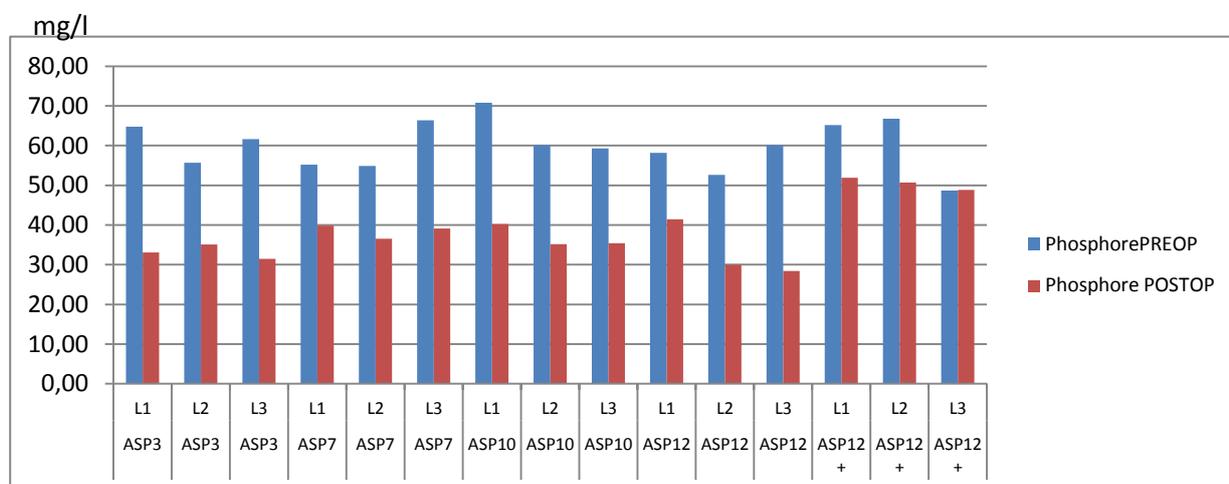


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-14:** Variation du taux de calcium en PRE OP et POST OP.

Des variations non significatives du calcium ont été notées en pré opératoire par rapport au post opératoire; en outre, une très légère diminution de la charge calcique par rapport aux normes a été enregistrée (Figure N°V-14).

**Phosphore:**



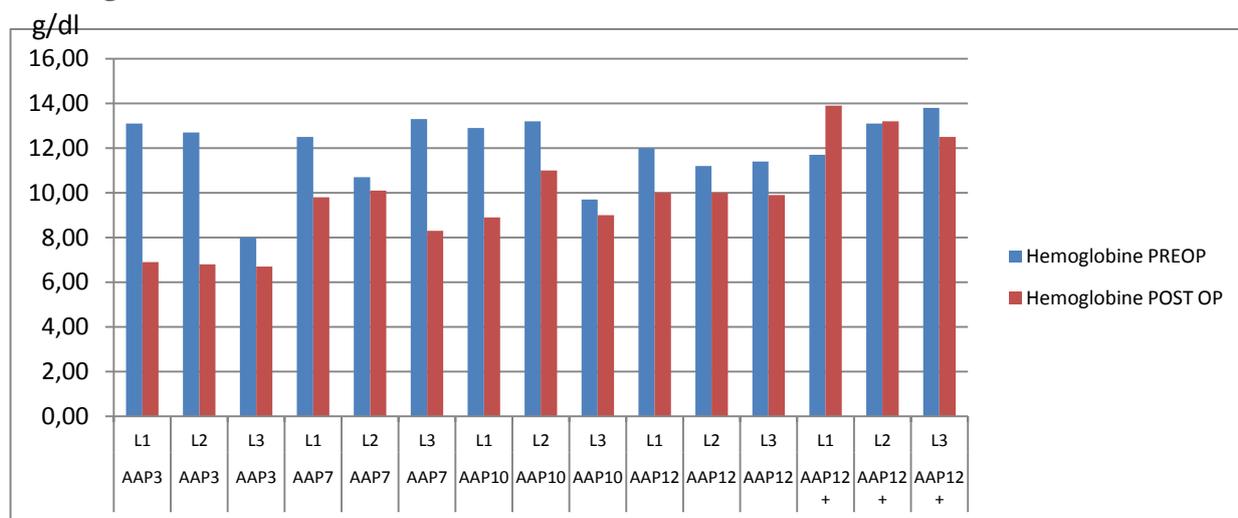
\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-15:** Variation du taux de phosphore en PRE OP et POST OP.

La figure N°V-15 montre des résultats avec des variations hautement significatives (p < 0.001) avec une diminution du taux de phosphore pour les animaux qui ont reçu une greffe sans propolis en post opératoire.

V-II-2-1-2. Résultats des AAP :

Hémoglobine :

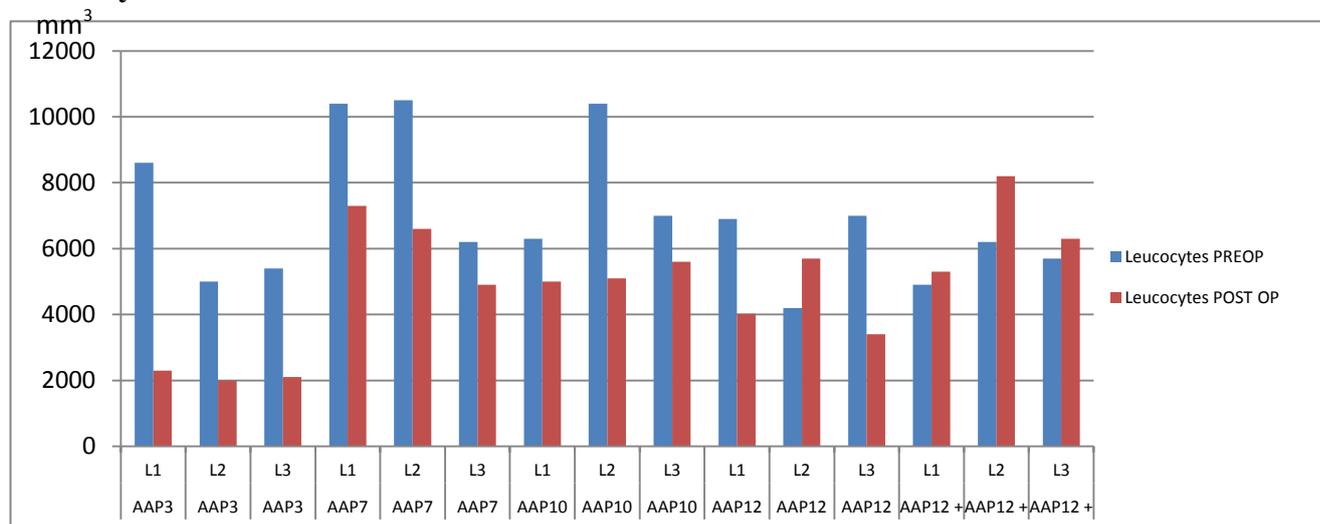


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

Figure N°V-16: Variation du taux d'hémoglobine en PRE OP et POST OP.

Concernant les résultats hémato-biochimiques des AAP, nous avons enregistré des variations très significatives ( $p < 0.01$ ) des taux d'hémoglobine pour le groupe ASP avant et après le geste opératoire (Figure N°V-16).

Leucocytes :

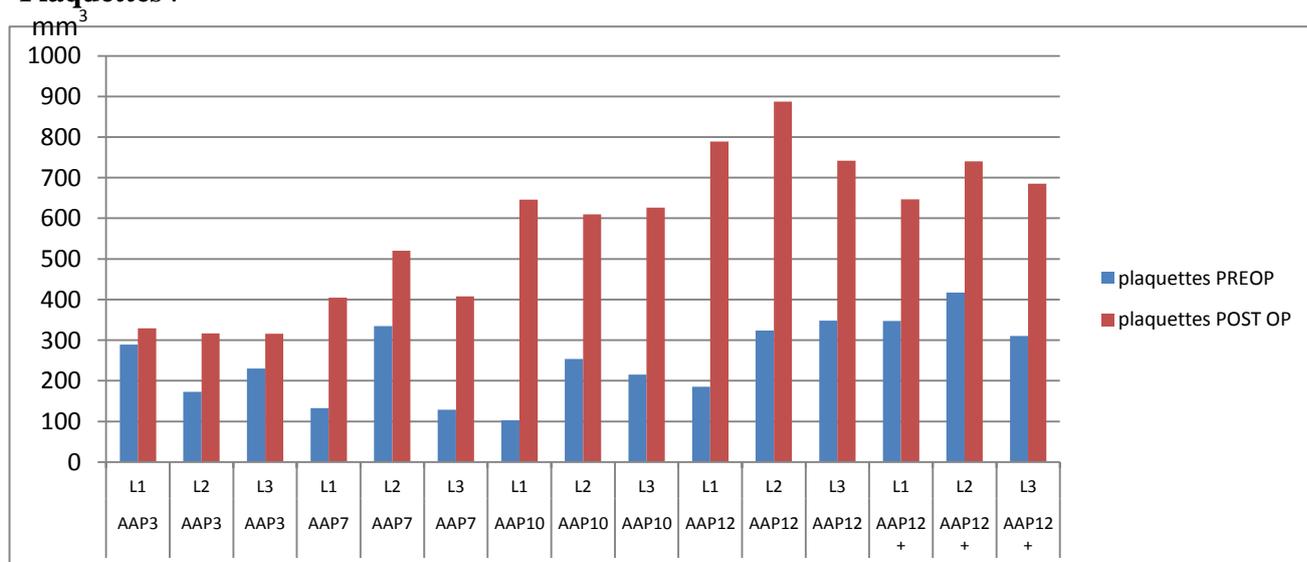


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

Figure N°V-17: Variation du taux de leucocytes en PRE OP et POST OP.

Une baisse du taux de leucocytes significative a été constatée ( $p < 0.01$ ) après l'intervention chirurgicale avec conservation du taux dans les valeurs usuelles (2000-15000/mm<sup>3</sup>) (Figure N°V-17).

**Plaquettes :**

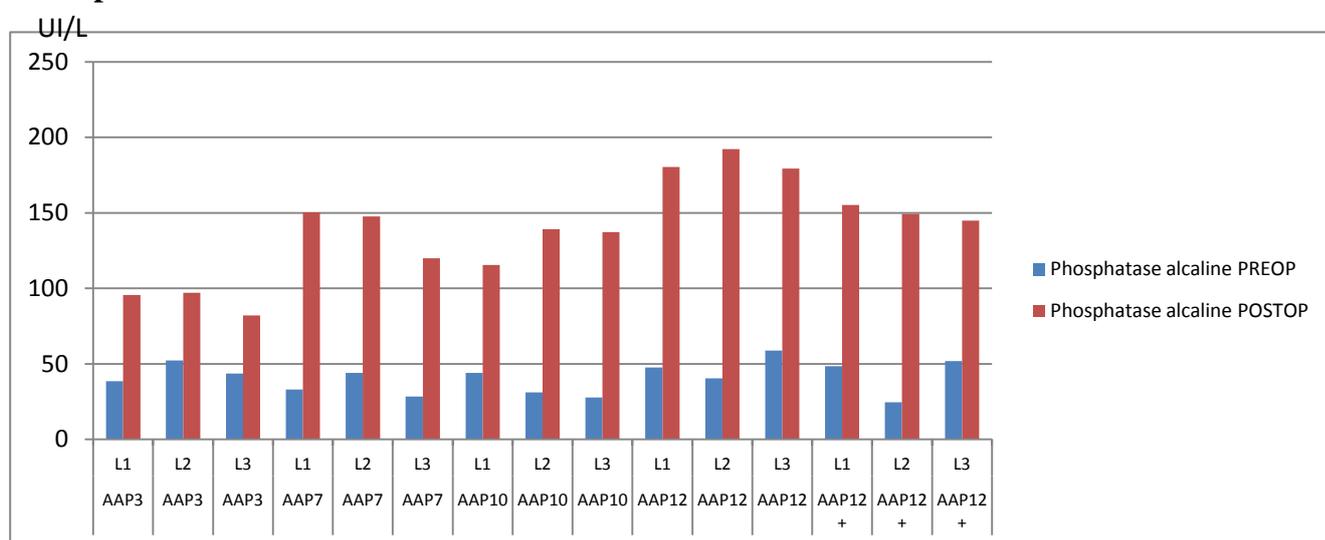


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-18:** Variation du taux des plaquettes en PRE OP et POST OP.

Les variations enregistrées du taux des plaquettes ont été très significatives ( $p < 0.001$ ) pour le lot des allogreffes couvertes de EEPA10 après l'intervention chirurgicale et dépasse même les valeurs usuelles (120 000-800 000/  $\text{mm}^3$ ) pour le cas AAP12L2 (Figure N°V-18).

**Phosphatase alcaline :**

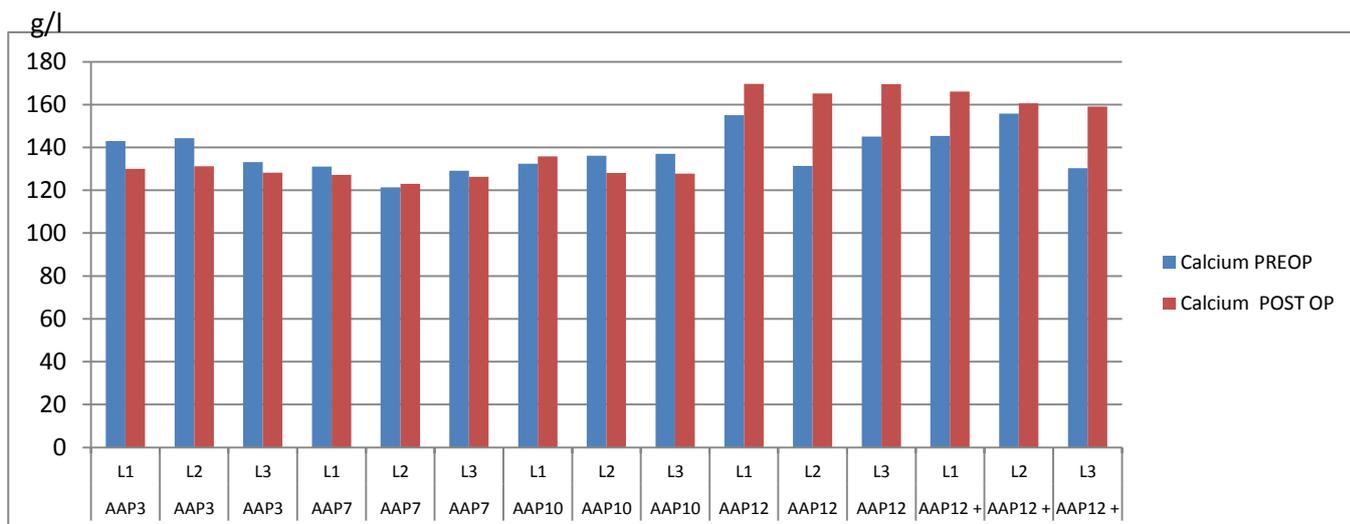


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-19:** La phosphatase alcaline sérique en PRE OP et POST OP.

Dans la figure N°V-19, les résultats de la phosphatase alcaline sérique ont révélé des variations très significatives ( $p < 0.001$ ) pour le groupe AAP en pré et post opératoire .

**Calcium :**

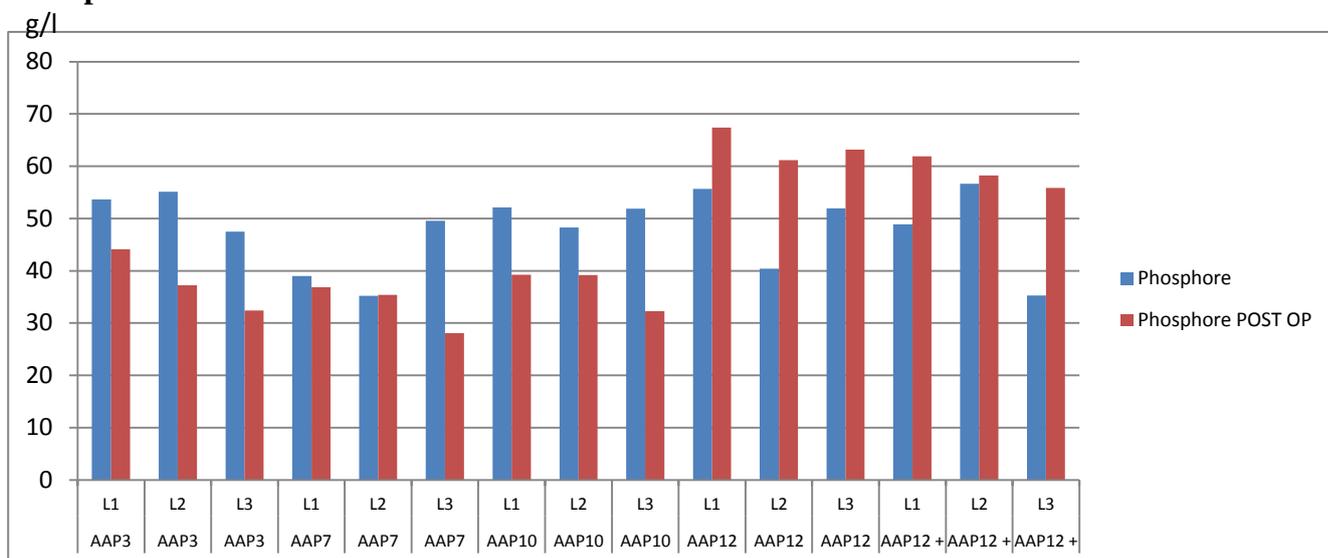


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-20:** Variation du taux de calcium en PRE OP et POST OP.

Des variations non significatives du calcium ont été constatées, en pré et post opératoire, avec seulement une élévation minimale du calcium qui a été notée par rapport aux normes pour les lots AAP12 et AAP +12 (Figure N°V-20).

**Phosphore :**



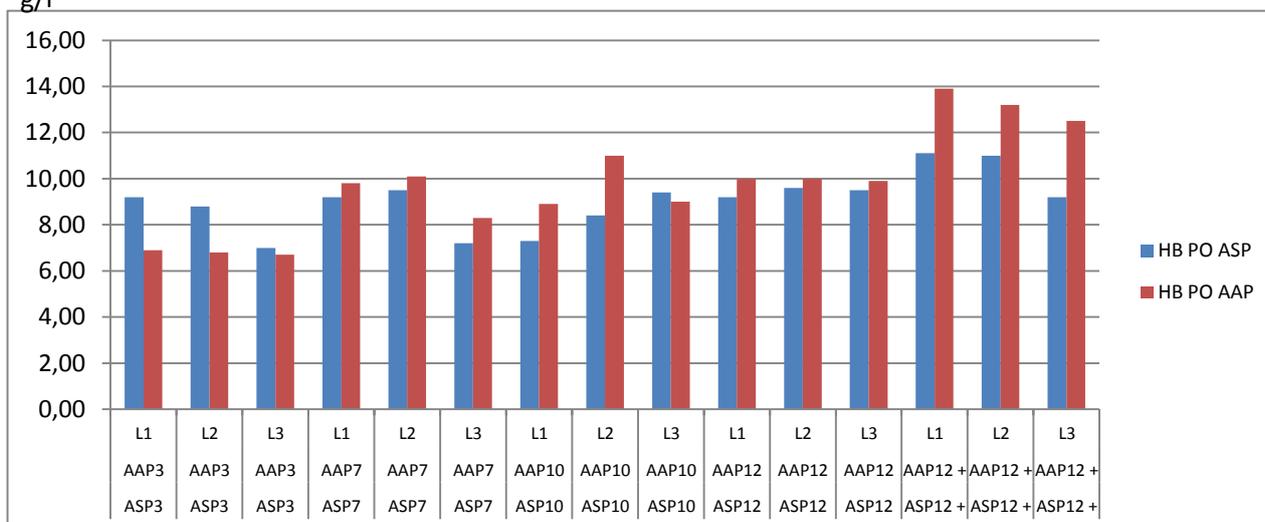
\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-21:** Variation du taux du phosphore en PRE OP et POST OP.

Nous avons remarqué des variations non significatives quant au taux du phosphore pour les animaux du groupe AAP en pré et post opératoire (Figure N°V-21).

V-II-2-1-3. Comparaison des résultats ASP/AAP :

Hémoglobine :  
g/l

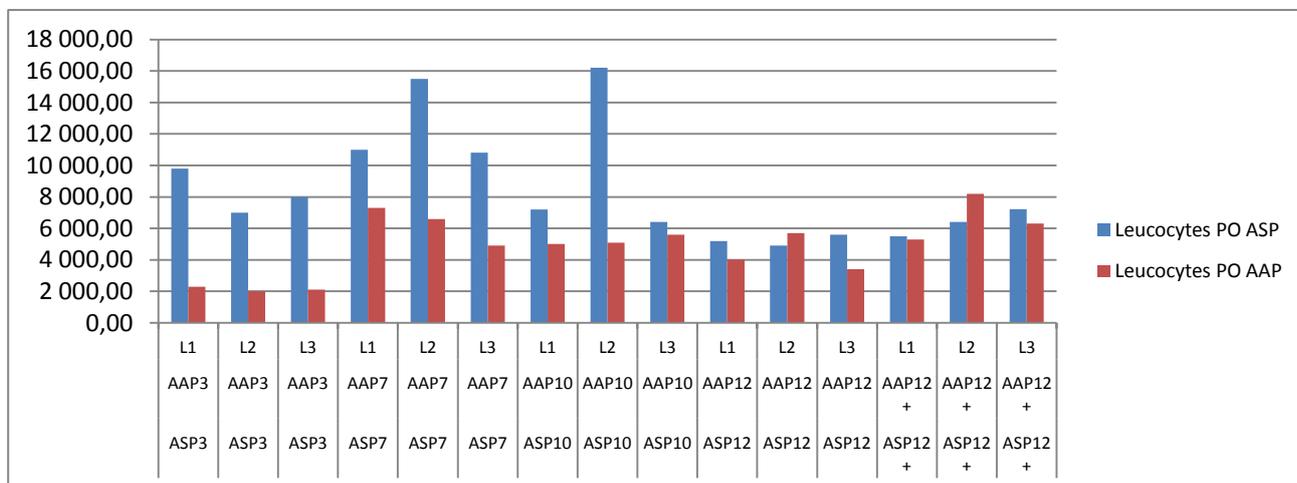


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

Figure N°V-22: Variation du taux d'hémoglobine en POST OP.

Sur la Figure N°V-22, nous avons rapporté des variations non significatives des taux d'hémoglobine pour le groupe ASP et AAP après le geste opératoire.

Leucocytes :  
mm<sup>3</sup>

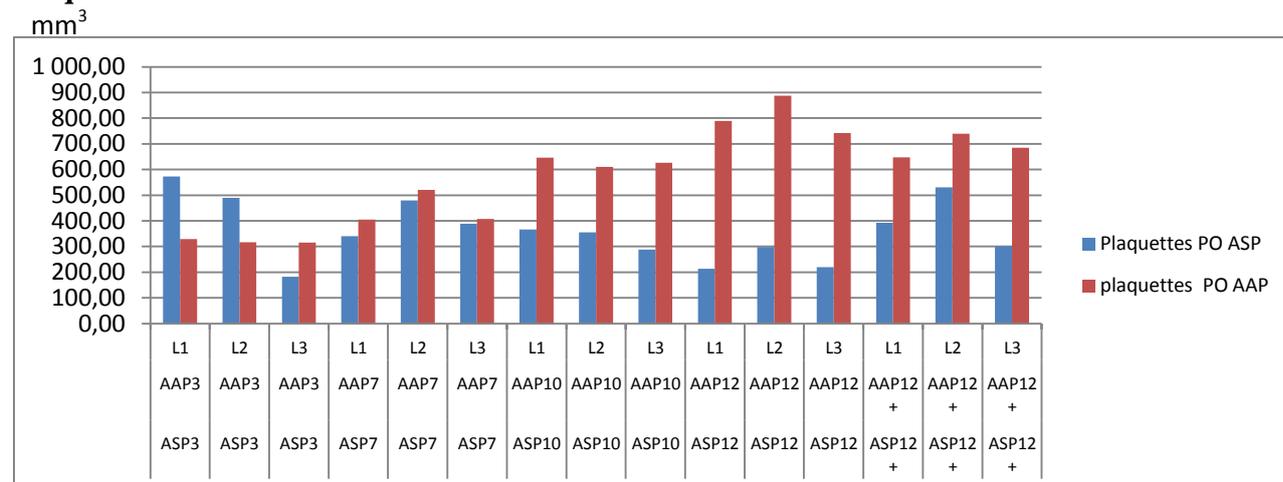


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

Figure N°V-23: Variation du taux des leucocytes en POST OP.

La figure N°V-23 montre une variation très significative (p < 0.001) du taux de leucocytes constatée après l'intervention chirurgicale pour le lot AAP et ASP avec des valeurs usuelles (2000-15000/ mm<sup>3</sup>) pour le groupe AAP.

**Plaquettes :**

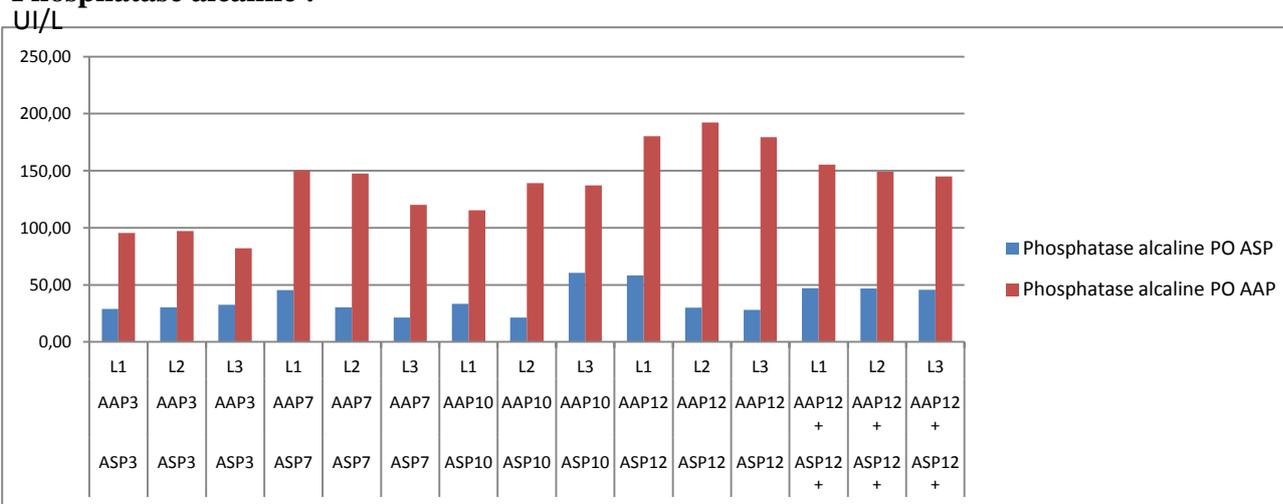


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-24:** Variation du taux des plaquettes en POST OP.

Les variations du taux des plaquettes pour le lot AAP et ASP ont été très significativement ( $p < 0.001$ ) notées après le geste opératoire et dépasse même les valeurs usuelles (120 000-800 000/mm<sup>3</sup>) pour le groupe AAP (cas AAP12L2) (Figure N°V-24).

**Phosphatase alcaline :**

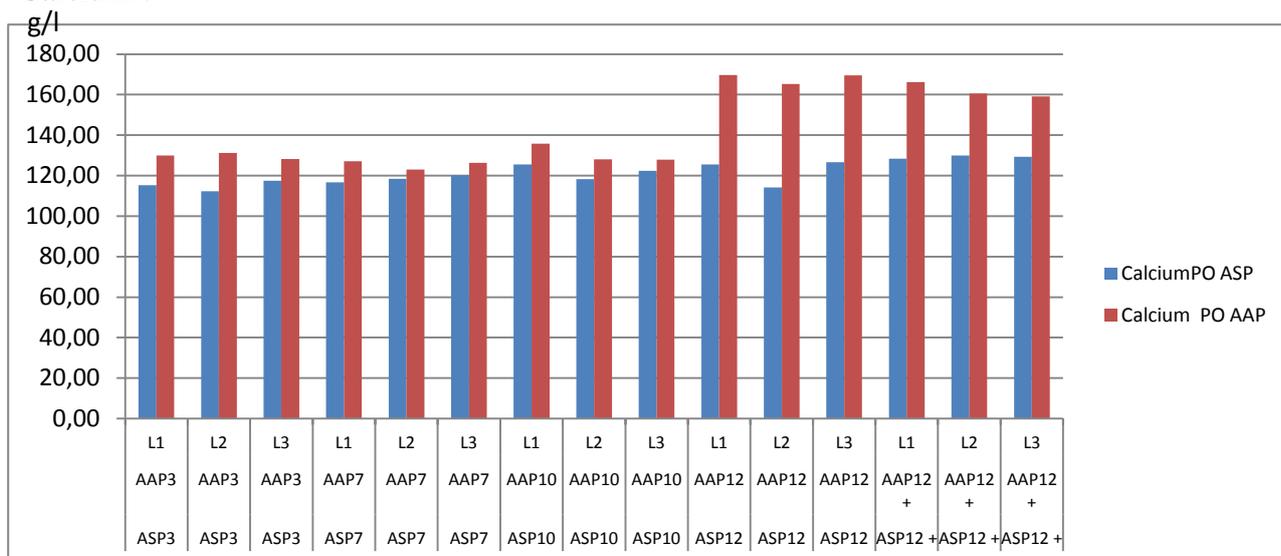


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-25:** Variation du taux de la phosphatase alcaline sérique en POST OP.

La comparaison de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline sérique pour le groupe des animaux ayant reçu une greffe couverte de propolis et le groupe sans propolis en post opératoire a révélé des résultats avec des variations très significatives ( $p < 0.001$ ) (Figure N°V-25).

**Calcium :**

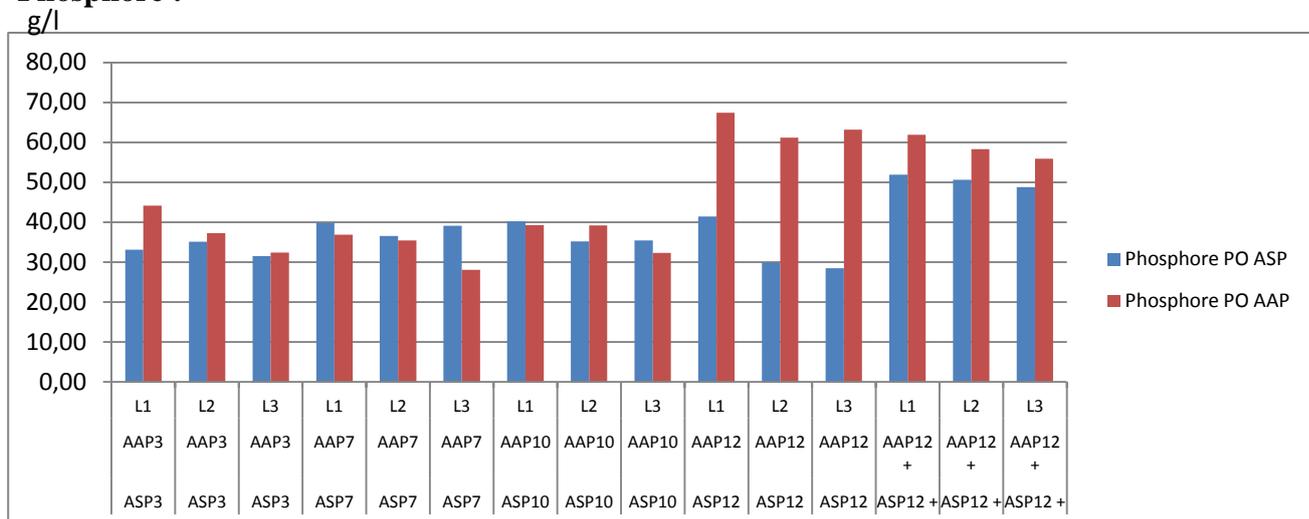


\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-26:** Variation du taux de calcium en POST OP.

La figure N°V-26 indique des variations très significatives ( $p < 0.001$ ) dans les taux de calcium, en post opératoire pour les deux lots avec et sans propolis, avec une augmentation de la charge calcique des AAP par rapport au ASP.

**Phosphore :**



\* p < 0.05 ; \*\* p < 0.01 ; \*\*\* p < 0.001

**Figure N°V-27:** Variation du taux du phosphore en POST OP.

La figure N°V-27 affiche des résultats avec des variations non significatives des taux de phosphore dans les deux lots (greffon couvert d'EEPA 10 et non couvert de propolis) en post opératoire.

**V-II-2-2. Les résultats radiologiques:**

L'évaluation radiologique effectuée mensuellement, s'est basée d'une part sur l'absence ou la présence de la cicatrisation, la formation du cal et l'os, la perte de ligne d'ostéotomie, la consolidation partielle ou complète au niveaux des deux interfaces, d'autre part l'osteoinduction, l'osteoconduction, la position du cal et la résistance du greffon; le score d'évaluation étant la somme des deux interfaces.

l'interprétation des clichés de contrôle a montré une bonne mise en place du matériel d'ostéosynthèse, tout les greffons ont été immobilisés par un ECMS renforcé par une suture métallique inoxydable qualifiée par un **score 0**, absence de cicatrisation .

**Tableau N°V-5:** L'évaluation des clichés selon le score radiologique de Asmara et *al.*, (2014).

Critères	score
Absence de cicatrisation	<b>0</b>
Cicatrisation avec	
Formation de cal	<b>1</b>
Formation d'os	<b>2</b>
Perte de ligne d'ostéotomie	<b>3</b>
Consolidation partielle *	<b>3.5</b>
Consolidation complète	<b>4</b>

\* Légère modification apportée

## V-II-2-2-1. Les clichés radiographiques pour les cas AAP :

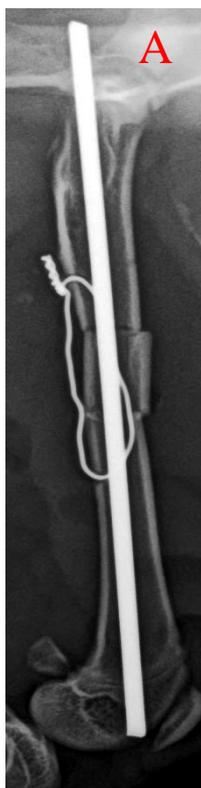
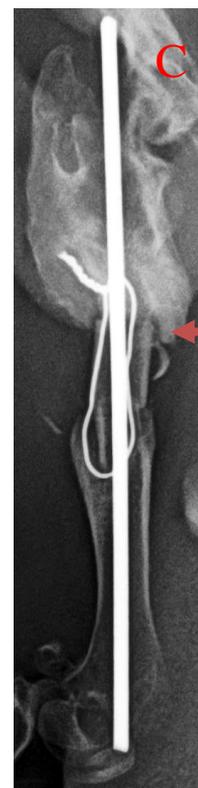


Figure N°V-28:AAP+12L1 PO

Figure N°V-29 :AAP+12L1  
1MOISFigure N°V-30:AAP+12L1  
2MOISFigure N°V-31: AAP+12L1  
3MOIS

**A :** Radiographie post opératoire montrant la mise en place d'un greffon immobilisé à l'aide d'un ECMS renforcé par une suture métallique inoxydable, **score 0**.

**B :** Évaluation radiologique à la 4<sup>ème</sup> semaine a montrée un cal plus une formation osseuse et une perte de la ligne d'ostéotomie au IFD, **score 5**

**C :** Une formation osseuse importante coté proximal perte de la ligne d'ostéotomie au IFP avec un **score 6**.

**D :** Avancement du cal du coté proximal vers le coté distal, **score 7**.

\*IFP: interface proximale

\*IFD: interface distale

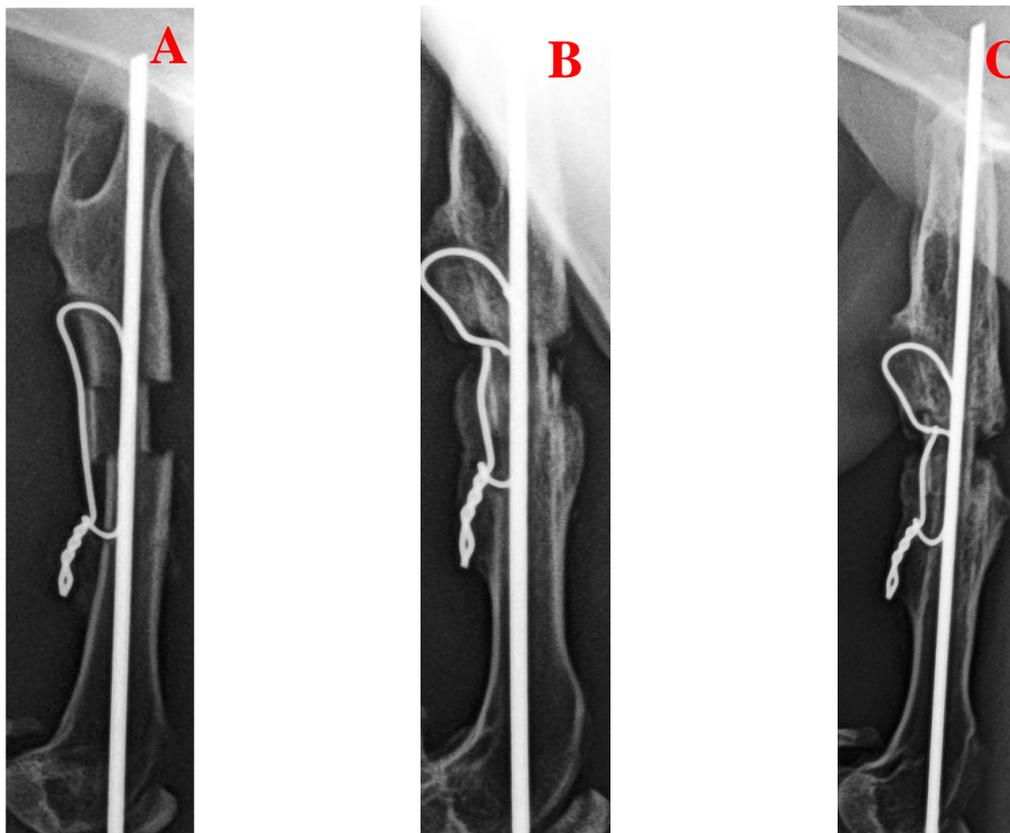


Figure N°V-32: AAP+12L2 PO

Figure N°V-33: AAP+12L2 1mois

Figure N°V-34 : AAP+12 2 mois



Figure N°V-35 : AAP+12 3 mois

**A :** Radiographie post opératoire montrant la mise en place d'un greffon immobilisé à l'aide d'un ECMS renforcé par une suture métallique inoxydable, **score 0**.

**B:** Évaluation radiologique à la 4<sup>ème</sup> semaine a montré la perte de la ligne d'ostéotomie au niveau des deux interfaces (IRP,IRD) **score 6**.

**C:** avancement du cal plaqué sur le greffon, **score6**.

**D:** consolidation partielle, **score 7**

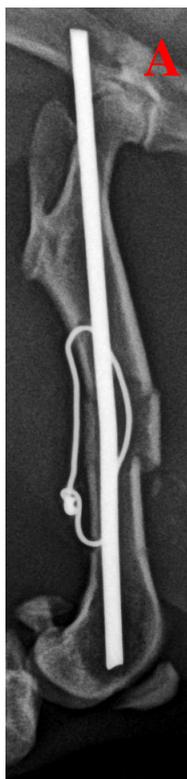


Figure N°V-36: AAP+12L3 PO.



Figure N°V-37: AAP+12L3  
1 mois.



Figure N°V-38: AAP+12L3  
2 mois.



Figure N°V-39: AAP+12L3 3  
mois

**A** : Radiographie post opératoire montrant la mise en place d'un greffon immobilisé à l'aide d'un ECMS renforcé par une suture métallique inoxydable, **score 0**.

**B**: Évaluation radiologique à la 4<sup>ème</sup> semaine a montrée une formation osseuse plus disparition de la ligne d'ostéotomie au niveau de IFP, **score 5**.

**C**: Disparition de la ligne dans l'IFP et L'IFD, **score 5**.

**D**: **score 6**

### V-II-2-2-2. Interprétation des clichés AAP :

L'évaluation radiologique à la 4ème semaine du **AAP+12L1** a montré un cal plus une formation osseuse et une perte de la ligne d'ostéotomie au niveau de l'interface distale, **score 5** (figure B), à huit semaine une perte de la ligne d'ostéotomie au niveau de l'interface proximale avec une formation osseuse scorée **6** (figure C). A 12 semaines les clichés radiographiques montrent une consolidation partielle traduite par un passage rapide d'un cal plaqué directement sur un greffon qui est toujours intact (figure D) estimée au score 7 .

Une osteoinduction et une osteoconduction maximale ont été notées (Tableau N°V-6, N°V-7, N°V-8 et N°V-9).

La radiographie en post opératoire du **AAP+12L2** montre un greffon de diamètre adéquat en place, scoré 0 (figure A), à la 4ème semaine disparition de la ligne d'ostéotomie au niveaux des deux interfaces proximale et distale, score 6 (figure B) au bout de huit semaines une forte osteoconduction et osteoinduction des deux cotés à été notée avec un cal qui est toujours plaqué au greffon, scoré 6 (figure C). A 12 semaine une consolidation presque achevée a été remarquée scoré 7 (figure D).

Le cliché radiologique post opératoire du **AAP+12L3** laisse constaté un greffon en place de diamètre légèrement supérieur à celui de l'os receveur scoré 0 (figure A), de la 4ème à la huitième semaine une formation osseuse au niveaux des deux interfaces a été enregistrée plus la disparition de la ligne d'ostéotomie au niveau de l'interface proximale, score 5 (figure B et C). La figure D de douze semaines montre un avancement du cal au niveau des deux interfaces (disparition de la ligne d'ostéotomie au niveau de l'interface distale) avec une osteoinduction et osteoconduction importante, scoré 6 (Tableau N°V-6, N°V-7, N°V-8 et N°V-9).

V-II-2-2-3. Les clichés radiographiques pour les cas ASP :

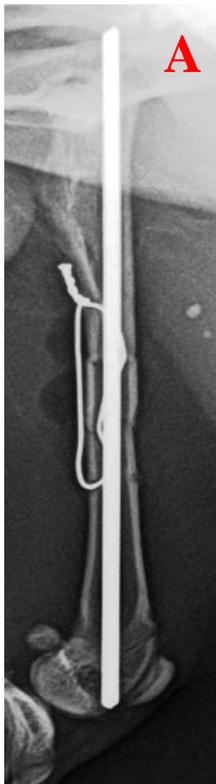


Figure N°V-40 :ASP+12 L1  
PO.



Figure N°V-41:ASP+12 L1 1  
Mois.



Figure N°V-42:ASP+12 L1 2 mois.



Figure N°V-43: ASP+12 L1  
3Mois.

A : Radiographie post opératoire montrant la mise en place d'un greffon immobilisé à l'aide d'un ECMS renforcé par une suture métallique inoxydable, score 0.

B: Score 0

C: Score 2

D:Score 3

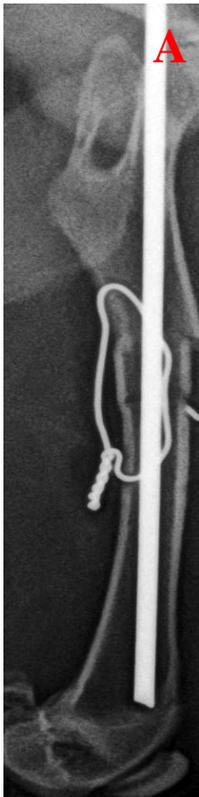


Figure N°V-44: ASP+12 L2 PO.



Figure N°V-48 :ASP+12 L2 1 mois.



Figure N°V-46 :ASP+12 L2 2 mois.



Figure N°V-47: ASP+12L3 PO.



Figure N°V-48:ASP+12L3 1 mois.

ASP+12L2

A : score 0.

B : score 0

C : score0.

ASP+12L3

A : score 0.

B : score 0

#### V-II-2-2-4. Interprétation des clichés ASP:

L'évaluation radiologique de **ASP+12L1** a montré l'absence de cicatrization qualifiée du **score 0** (figure A et B), à la 8<sup>ème</sup> semaine une formation de cal a été observée au niveaux des deux segments proximal et distal scorée à 2 (figure C). A la 12<sup>ème</sup> semaine les clichés radiographiques montrent en plus une formation osseuse au niveau du segment proximal, sans pertes des lignes d'ostéotomie au niveau des interfaces scorée 3, la formation du cal était toujours loin du greffon intact (figure D).

Une faible osteoinduction a été constatée sans aucune osteoconduction notée (Tableau N°V-6, N°V-7, N°V-8 et N°V-9).

La radiographie de **ASP+12L2** a montré l'absence de cicatrization qualifiée du **score 0** (figure A et B), dès la 8<sup>ème</sup> semaine éclatement du greffon avec rapprochement des deux segments diaphysaires sans sortie de la broche, aucune observation de cal, scorée à **0** (figure C).

Le cliché radiographique de **ASP+12L3** en post opératoire confirme une bonne mise en place de l'ECMS renforcée par une suture métallique, **score 0** (figure A), au bout de quatre semaines un éclatement du greffon a été notée, broche en place, aucune observation de cal scorée à **0** (figure B ), (Tableau N°V-6, N°V-7, N°V-8 et N°V-9).

**Tableau N°V-6 :** Le score après l'évaluation radiographique des deux interfaces.

Cas cliniques	AAP+12			ASP+12		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
Score	7	7	6	3	0	0

**Tableau N°V-7 :** L'évaluation de l'ostéoinduction et l'ostéoconduction hôte-greffon.

Animaux et type de l'allogreffe		Ostéoconduction	Ostéoinduction
ASP+12	L1	-	++
	L2	-	-
	L3	-	-
AAP+12	L1	++++	++++
	L2	++++	++++
	L3	+++	+++

- Absence d'activité , -/+ étendu de l'activité , +++ activité maximale

**Tableau N°V-8:** Suivi de l'évolution de la position et la durée de l'avancement du cal .

Animaux et type de l'allogreffe		Durée de passage du cal		Position du cal	Consolidation partielle	Consolidation complète
		Interface proximale	Interface distale			
ASP +12	L1	/	/	Loin du greffon	/	/
	L2	/	/	Loin du greffon	/	/
	L3	/	/	Loin du greffon	/	/
AAP +12	L1	8 Sem	4 sem	Plaqué au greffon	12 sem	
	L2	4 Sem	4 sem	Plaqué au greffon	12 sem	
	L3	4 Sem	12 Sem	Plaqué au greffon	/	

**Tableau N°V-9 :** Les complications constatées au cours du suivi radiologique

Animaux et type de l'allogreffe		L'état du greffon	Angulation	Etat de la broche
ASP +12	L1	Intact	-	En place
	L2	Eclaté	-	En place
	L3	Eclaté	-	En place
AAP +12	L1	Intact	-	En place
	L2	Intact	-	En place
	L3	Intact	-	En place

### V-II-2-3. Les Résultats histologiques:

L'évaluation histologique effectuée a la fin de chaque événement biologique s'est basée sur l'absence ou la présence de la cicatrisation, la formation du tissu fibro-cartilagineux ou cartilagineux, la formation du cartilage minéralisé et la présence d'un os mature, l'évaluation a laissé constater les résultats suivants:

A trois jours la présence d'un tissu fibro-cartilagineux pour les ASP (score 2) et la formation d'un tissu cartilagineux pour les AAP (score 2) (figure N°V-49 et N°V-50).

Les figures N°V-51 et N°V-52 laissent constater la formation d'un cartilage minéralisé pour les allogreffes couvertes d'EEPA10 (score 3) et un cartilage non minéralisé pour les allogreffes non couvertes à sept jours (score 2).

A 10 jours un cartilage minéralisé a été enregistré pour les deux lots (score 3) (figure N°V-54 et N°V-53), mais en abondance pour les greffons avec propolis scoré 3. Les figures N°V-55 et N°V-56 à douze jours ont montrés la présence d'un tissu osseux pour les greffons allogéniques autoclavés couverts de propolis algérienne qualifié de score 4 et pour le lot témoin toujours au stade de cartilage minéralisé score 3.

A trois mois les figures N°V-57 et N°V-58 montrent un tissu osseux en voie d'organisation pour les ASP et la formation d'un tissu osseux pour les AAP (score 4).

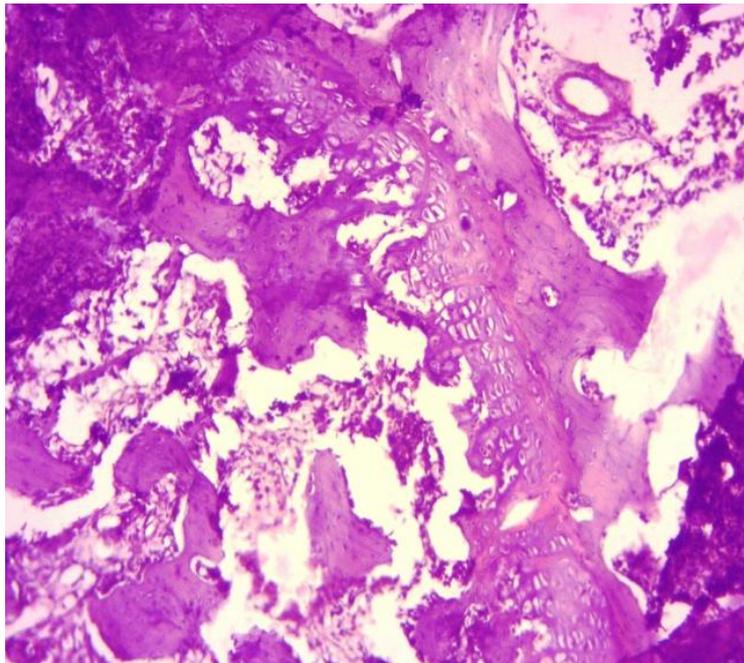
Les scores pour chaque stade sont illustrés dans le tableau N°V-11.

**Tableau N°V-10 :** L'évaluation histologique selon Asmara et *al.*, (2014).

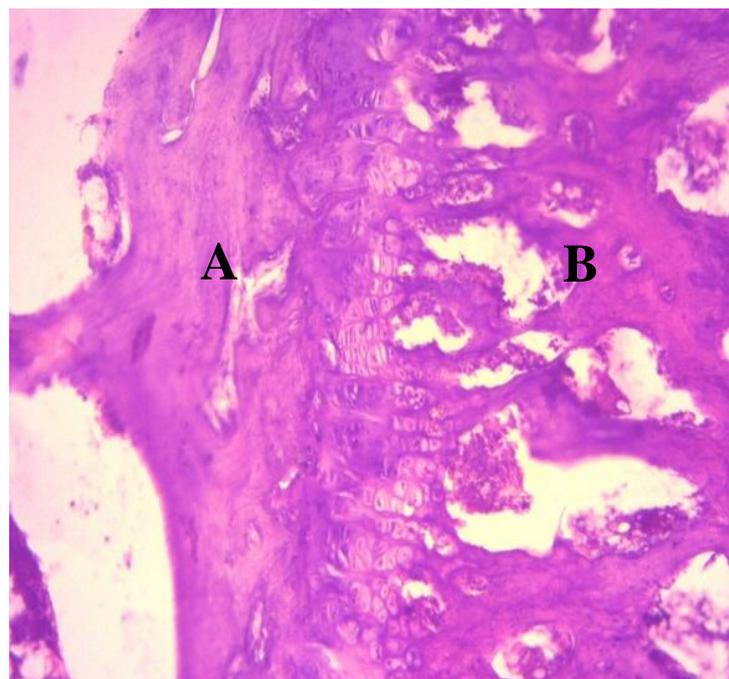
Qualité de guérison	Score
Pas de cicatrisation	0
Cicatrisation avec	
Un tissu fibreux	1
Un tissu Fibreux cartilagineux	2
*Un cartilage non minéralisé	2.5
Un cartilage minéralisé	3
Un os mature	4

**Tableau N°V-11 :** Le score histologique pour les deux lots ASP et AAP.

ASP				
Score				
ASP3	ASP7	ASP10	ASP12	ASP+12
2	2.5	3	3	4
AAP				
Score				
AAP3	AAP7	AAP10	AAP12	AAP+12
2.5	3	3	4	4

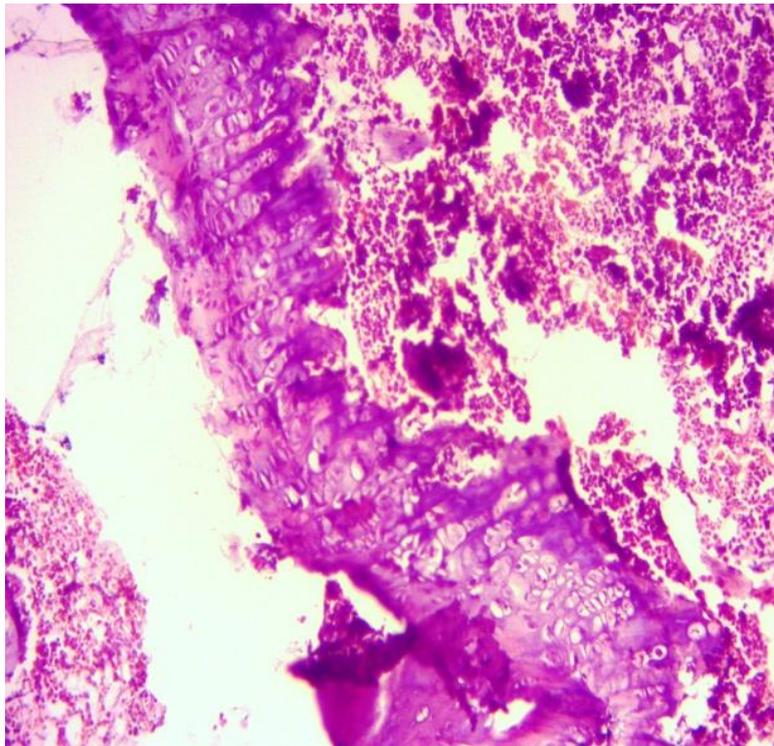


**Figure N°V-49 : 10X Allogreffe sans propolis à j 3 montre la présence d'un tissu fibrocartilagineux scoré à 2.**

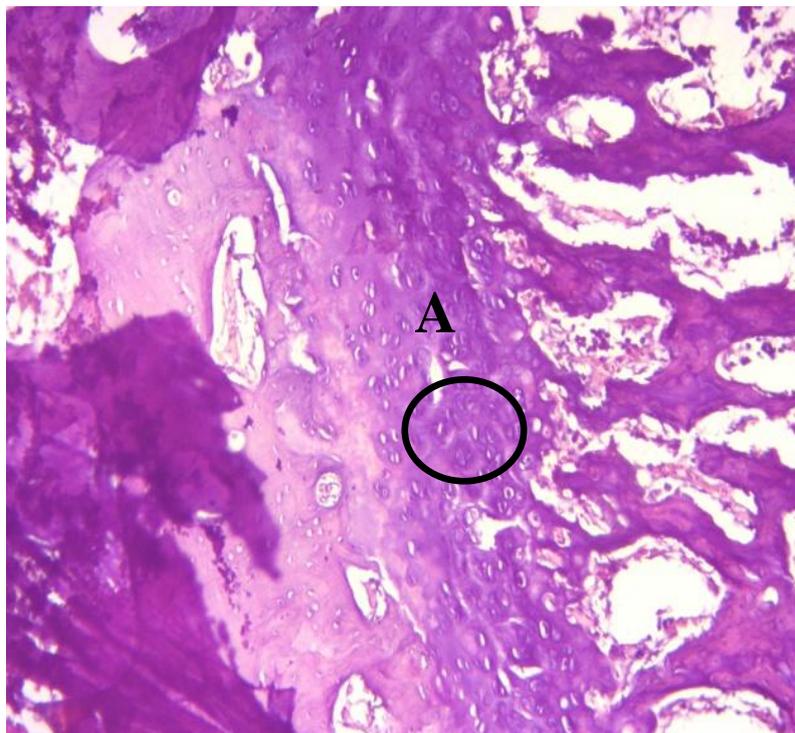


**Figure N° V-50 : 10X Allogreffe avec propolis à j 3 montre la présence d'un tissu cartilagineux non minéralisé scoré à 2.**

**A:** Os receveur.      **B:** Os allogénique.

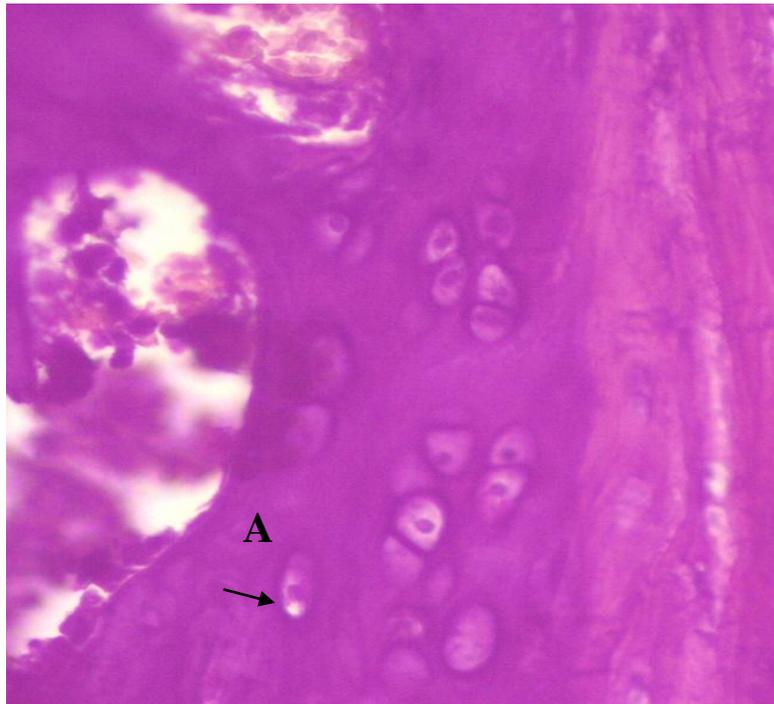


**Figure N° V-51 : 10X Allogreffe sans propolis à j 7 montre la présence d'un tissu cartilagineux qualifié du score 2.5 .**



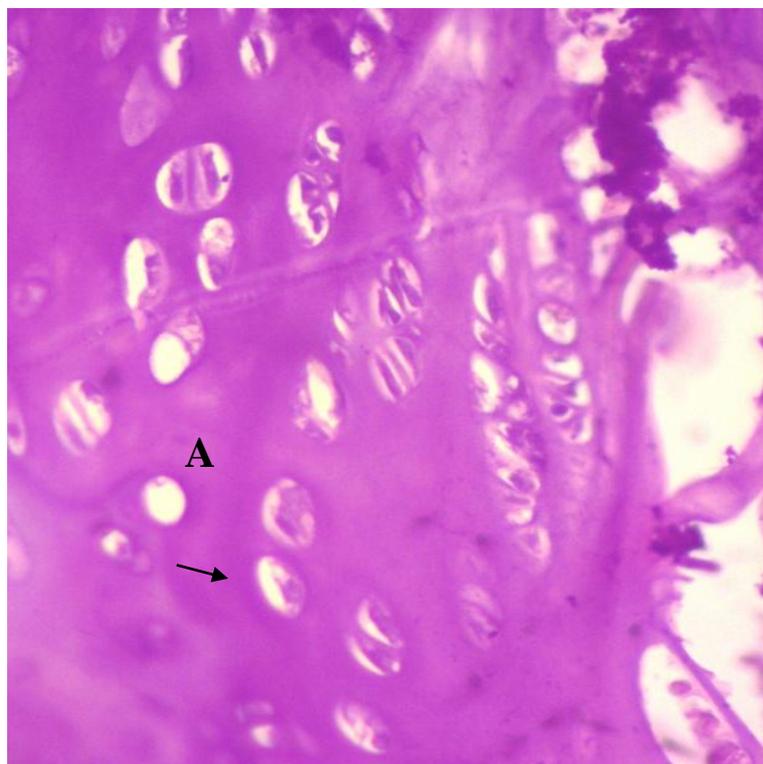
**Figure N° V-52 : 10X Allogreffe avec propolis à j 7 montre présence d'un tissu cartilagineux mature minéralisé estimé à score 3 .**

**A:** présence des groupes isogoniques de chondrocytes.



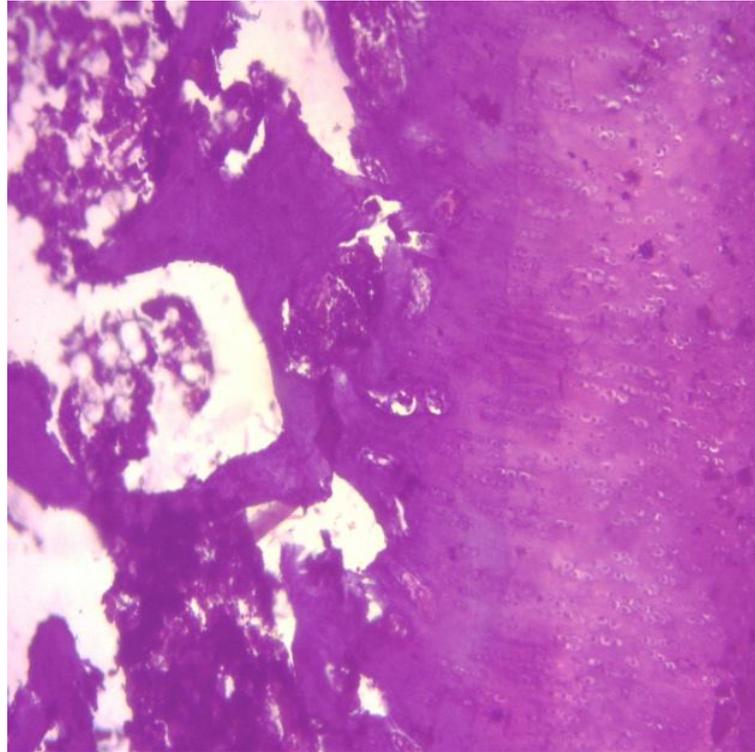
**Figure N° V-53 : 40X Allogreffe sans propolis à j 10 montre tissu cartilagineux,mature, développé et minéralisé estimé à score 3.**

**A:** Chondrocytes en voie de dégénérescence.

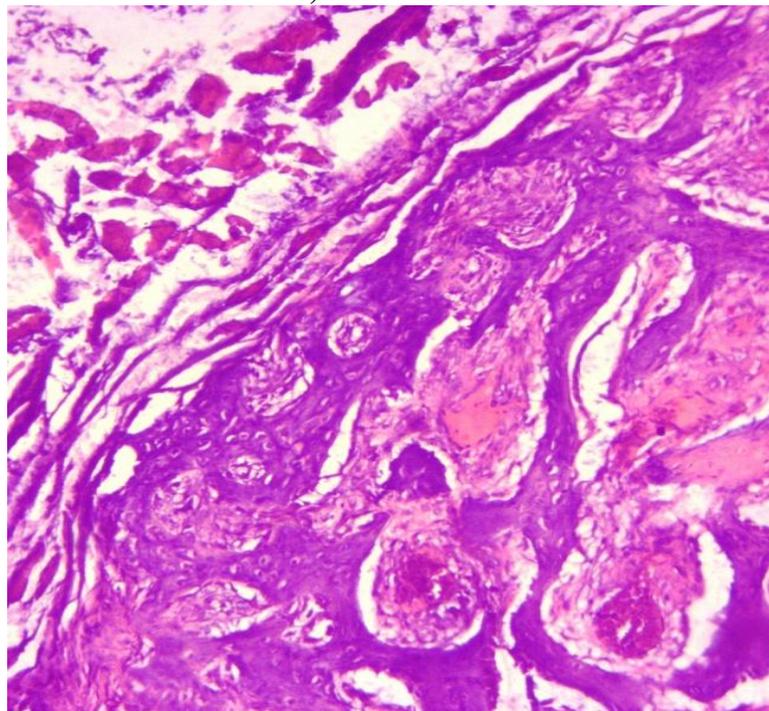


**Figure N° V-54 : 40X Allogreffe avec propolis à j 10 montre présence d'un tissu cartilagineux,mature,trés développé et minéralisé estimé à score 3 .**

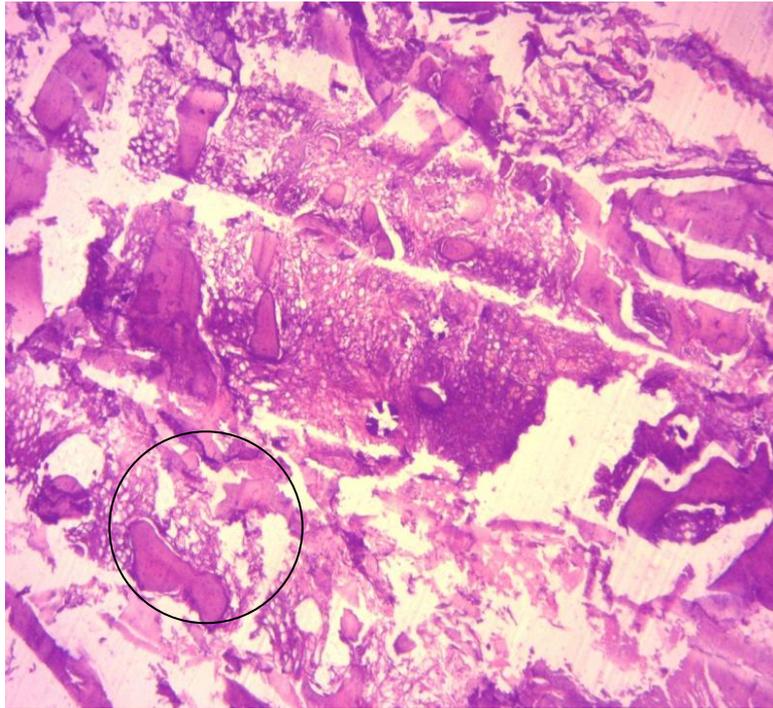
**A:** Chondrocytes en voie de dégénérescence.



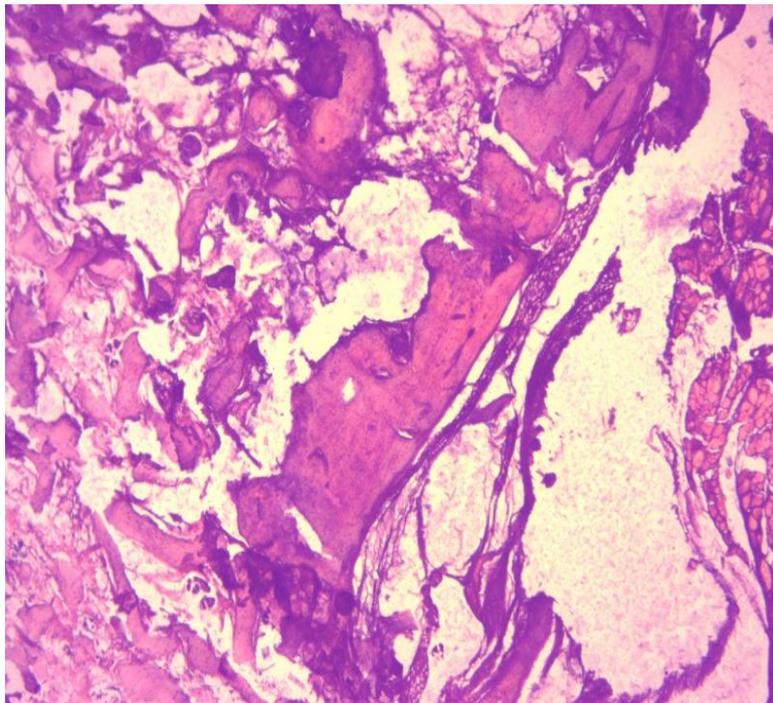
**Figure N° V-55 : 10X Allogreffe sans propolis à j 12 montre présence un cartilage mature, minéralisé score 3 .**



**Figure N° V-56: 4X Allogreffe avec propolis à j 12 montre la présence d'un tissu osseux en voie de maturation estimé à score 4.**



**Figure N° V-57 : 4X Allogreffe sans propolis à j 12+ montre la présence d'un tissu osseux en voie d'organisation , Moelle osseuse bien développée score 4 .**



**Figure N°: V-58 4X Allogreffe avec propolis à j 12+ montre la présence d'un tissu osseux avec une moelle osseuse bien développée, estimé à score 4.**

# **Chapitre VI**

## **Discussion**

**VI -I. Discussion des résultats IN VITRO:**

Les recherches réalisées sur le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux de la propolis sont nombreuses, les résultats sont différents d'une région à l'autre, On peut citer : la teneur en polyphénols totaux de la propolis de Ghardaïa est de l'ordre de 4.93 mg Acide Gallique /g de propolis et de l'ordre de 1.94 mg Quercetin/g de propolis de flavonoïdes totaux (Rebiai et *al.*, 2014) cette valeur est inférieure à celle trouvée dans la propolis de Laghouat où nous avons noté une valeur de 99.98 mg Acide Gallique /g de propolis de polyphénols totaux et de 54.4 mg Quercetin /g de propolis de flavonoïdes totaux .

Selon Nedji et *al.*, (2014) la teneur en polyphénols totaux de la propolis de Annaba (Elbouni) est de l'ordre de 100.90 mg Acide Gallique /g de propolis et de l'ordre de 58.99 mg Quercetin/g de propolis de flavonoïdes totaux valeurs plus importantes que celle trouvées lors de notre étude concernant la même région (est) plus précisément la wilaya de SOUK AHRAS et de Mila. Dans ces wilayas les polyphénols totaux étaient de 19.2 et 49.7, et 14.2mg Acide Gallique /g de propolis et les flavonoïdes totaux de 6.5 et 23.3mg Quercetin/g de propolis et 5.6 mg Quercetin/g de propolis respectivement. Par ailleurs celle de la région de Khanchla trouvées par Rebiai et *al.*, (2013) sont de 14.23 mg Acide Gallique /g de propolis de polyphénols totaux et de 3.45 mg Quercetin/g de propolis de flavonoïdes totaux proches de nos résultats de Mila et inférieurs aux résultats de Souk Ahras.

Les résultats du dosage de la propolis des différentes régions de l'Algérie montrent que les valeurs les plus élevées sont celle de la région du sud et l'ouest. Les teneurs décelées chez la propolis de Tiaret est de 71.6 et 76.1 mg Acide Gallique /g de propolis de polyphénols totaux et de 38.7 et 42.9 mg Quercetin/g de propolis de flavonoïdes totaux respectivement pour les échantillons de Ouled boughadou (P8) et bouchakif (P6). Selon Torres et *al.*, (2018) la propolis étant un produit apicole d'origine végétale, sa composition chimique et son activité biologique dépendent de la spécificité de la flore locale, de la saison de récolte et des espèces d'abeilles.

Ceci explique que le climat aride et semi-aride joue un rôle important dans la transhumance des abeilles et les jours longs laissent l'opportunité aux abeilles de récolter et visiter différentes flores locales.

Berroukche et *al.*, (2017) a rapporté que la propolis récoltée dans les régions du centre et l'est de l'Algérie contenait diverses concentrations élevées de composés polyphénoliques. Tandis que dans notre étude nous avons constaté selon le dosage des polyphénols et flavonoïde réalisé en Belgique des wilayas de Souk Ahras, Mila (est) Blida et Tipaza (centre) que les valeurs sont respectivement 49.7, 14.2, 35.3 et 39.6 mg Acide Gallique /g de propolis

de polyphénols totaux et de 23.3, 5.6, 16 et 15.9 mg Quercetin/g de propolis de flavonoïdes totaux. Ces échantillons ne semblent pas être trop riches en substance recherchée.

Nous avons aussi observé que la valeur la plus basse était celle de l'échantillon P7 wilaya de Laghouat (Lakhneg) cela semble être dû à la mauvaise conservation du produit chez l'apiculteur.

Nos résultats ont montrés un pH de  $4.47 \pm 0.26$  ce qui signifie que toutes les propolis sont de nature acide. Les valeurs maximale qui ont été enregistrées dans l'est sont de l'ordre de  $4.56 \pm 0.32$  tandis que les valeurs minimales dans le centre sont de l'ordre de  $4.4 \pm 0.14$ . Ces valeurs sont proches des valeurs apportées par Ferhoum, (2010) qui varies de 4.24 - 4.66 et inférieures aux résultats trouvés par Niken et *al.*, (2014) qui sont de l'ordre de 5.4. Cette acidité est due à sa composition riche en acide aromatique et aliphatiques (Ferhoum, 2010).

L'extraction éthanolique de la propolis algérienne des quatres régions a révélé un rendement moyen de  $24.74 \pm 9.42$  %, une valeur maximale a été notée pour la propolis de la région du sud qui était de l'ordre de  $35.59 \pm 5.26$  % et un rendement minimal pour la région de l'est qui était de l'ordre de  $18.28 \pm 2.62$  %. Ces résultats sont supérieurs aux valeurs rapportées par Niken et *al.*, (2014) qui sont de l'ordre de  $18 \pm 1.82$  % (propolis de Londres) et similaires aux valeurs rapportées par Ferhoum, (2010) qui varient de 32.42 à 39.36 % en Algérie. Cette différence et similarité peuvent être dues à la différence des origines de la propolis, la teneur en propolis peut être aussi différente en raison de l'origine, des types d'abeilles, des ressources alimentaires et du moment de la récolte (Niken et *al.*, 2014).

## **VI -II. Discussion des résultats IN VIVO :**

### **VI -II-1. Cliniques :**

Nos résultats obtenus lors du suivi de certains paramètres cliniques (la prise de température corporelle rectale quotidienne pendant 15 jours, l'appui, l'état des deux plaies, le comportement des animaux, la surveillance de la broche et du transit intestinal) nous a laissé l'opportunité d'évaluer :

L'obtention d'un appui complet permanent et de façon précoce dès le début de la première semaine est constaté pour les animaux qui ont reçu un greffon allogénique couvert de propolis Algérienne ; alors que pour les ASP (lot témoin) il n'a été observé qu'après la septième semaine ceci semble du à la douleur ressentie en post opératoire vu la lourdeur du geste opératoire selon Ezgi et Hasan, (2017); Farooqui et Frooqui, (2012) la propolis à un effet anesthésique local et analgésique ce qui explique la récupération précoce de l'appui pour le lot AAP .

Un gonflement sur la plaie au niveau de la plaie (cuisse) est apparu pour le lot des allogreffes autoclavées couvertes de EEPA10 dès le 10<sup>ème</sup> jour du suivi, les résultats de l'étude cyto bactériologique du liquide ponctionné sont revenus négatifs avec la présence de quelques leucocytes. le pouvoir antimicrobien de la propolis d'écrit par Ezgi et Hasan, (2017) et Al-Ani et *al.*, (2018) était derrière l'absence de l'infection.

La présence des leucocytes dans le liquide ponctionné explique que la propolis utilisée a été identifié comme un corps étrangers par le système immunitaire.

La température corporelle du lapin est de  $39,3 \text{ °C} \pm 0,3$  dans température ambiante  $5\text{°C}$  et de  $40,5\text{°C} \pm 0,8$  à température ambiante  $35\text{°C}$  (Branckaert, 2000).

Les valeurs de la température moyenne enregistrée pour le groupe AAP était de  $38,28\text{°C} \pm 0,28$ , la maximale étant de  $38,7 \text{ °C}$  et la minimale de  $37,3 \text{ °C}$  tandis que la température pour le lot témoin était de l'ordre de  $39,54 \text{ °C} \pm 0,26$ , la maximale étant de  $41,3 \text{ °C}$  et la minimale de  $39 \text{ °C}$  ; la diminution de  $\geq 1\text{°C}$  de température pour le lot AAP semble être due à l'effet anti-inflammatoire de la propolis (Lotfi, 2006; Andrade et *al.*, 2006; Nakamura et *al.*, 2011; Sforcina et Bankova, 2011 ; Al-Ani et *al.*, 2018).

Aucun comportement turbulent ou agressif n'a été observé que ce soit pour les animaux ASP ou pour les animaux AAP d'ou l'utilisation du lapin comme animal de laboratoire pour la chirurgie expérimentale (Kili, 2004) ainsi que pour le dépistage des matériaux d'implant avant de les tester dans un modèle animal plus grand (Mapara et *al.*, 2012).

Une stabilisation insuffisante des abouts osseux et une réduction inadéquate peuvent modifier la réponse vasculaire engendrant ainsi la perturbation de la cicatrisation osseuse (Brinker et *al.*, 1994) alors qu'aucune sortie de la broche n'a été observée que ce soit pour le lot AAP ou ASP ce qui donne l'idée que l'enclouage centromédullaire simple renforcé par une suture métallique inoxydable offre une stabilité satisfaisante qui le qualifie apte pour l'utilisation chez l'espèce lapine.

Les agents anesthésiques et analgésiques peuvent altérer la motilité du tractus gastro-intestinal (Mapara et *al.*, 2012) ; dans notre étude nous avons remarqué la présence des selles dès le deuxième jours pour les AAP et les ASP sauf les cas AAP7L1, ASP10L3, ASP3L2 ou les selles normaux n'ont été remarqués qu'après le troisième jour. Cela confirme que le protocole anesthésique utilisé dans notre expérimentation n'a pas perturbé le transit intestinal.

**VI -II-2. Para-cliniques :****VI -II-2-1. Hémato-biochimiques :**

Les résultats obtenus à partir des analyses des paramètres hémato-biochimiques ont révélé :

- **L'hémoglobine :**

Pour les lots ASP et AAP en pré et post opératoire, les variations de l'hémoglobine ont été très significatives ; ces résultats expliquent la perte de sang et par conséquent la baisse du taux d'hémoglobine en post opératoire (Bellon et *al.*, 2014) qui s'améliore pour les groupes +12, la comparaison entre l'hémoglobine des deux lots en post opératoire a été non significative vu que les gestes opératoires des deux lots étaient dans les mêmes circonstances.

- **Les leucocytes :**

Le taux élevé des leucocytes pour le groupe ASP constaté en post opératoire, pourrait être dû à une infection ou une inflammation secondaire à un traumatisme de la manipulation (l'ostéotomie) lors du geste opératoire. Pour le lot AAP, la baisse très significative ( $p < 0.01$ ) du taux de leucocytes explique l'effet immunostimulant de la propolis (Ezgi et Hasan, 2017). Par ailleurs, le recrutement des leucocytes sanguins vers le greffon, identifié comme corps étranger par le système immunitaire a été mis en cause.

- **Les plaquettes :**

Nos animaux n'ont apparemment pas présenté des troubles de l'hémostase ; étant donné que le saignement, à coup d'œil, n'a pas été important au cours et à la fin du geste opératoire. Cependant, les variations des taux de thrombocytes ont été hautement significatives pour le lot AAP ( $p < 0.001$ ) au contraire du lot ASP où les résultats ont été non significatifs. Cette différence s'explique par le fait que la propolis contient des composants ayant une activité antiagrégant plaquettaire ; cet effet pourrait être attribué à des composés polaires tels que les flavonoïdes et les polyphénols (Zhang et *al.*, 2017).

- **Phosphatase alcaline :**

Nous avons enregistré une augmentation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline pour les ASP+12 alors que les résultats pour les AAP ont révélé des variations très significatives ( $p < 0.001$ ) en pré et post opératoire. L'ostéo-induction qui assure l'apparition de l'ostéoblaste, la pièce maîtresse de l'ostéogenèse, (Oryan et *al.*, 2014) explique l'augmentation de la phosphatase alcaline en post opératoire secrétée par les ostéoblastes.

- **Calcium :**

Le dosage du calcium en per et post opératoire pour les deux lots avec et sans propolis était non significatif, ceci serait dû à la particularité du métabolisme du calcium chez le lapin

et son absorption qui ne dépend pas de la vitamine D (Jekl et Redrobe, 2013) ; ce qui explique les niveaux élevés du calcium dans le sang même après l'ostéotomie d'un centimètre de longueur réalisée pendant le geste opératoire.

- **Phosphore :**

Les résultats montrent des variations très significatives ( $p < 0.001$ ) qui révèlent une diminution du taux de phosphore pour les animaux qui ont reçu une greffe sans propolis en post opératoire qui semble être dû à l'ostéotomie d'un centimètre d'os cortical. Tandis que le dosage du phosphore était non significatif pour le lot où les animaux ont reçu une greffe allogénique couverte d'EEPA10, cela est éventuellement dû à la richesse de la propolis en minéraux (Nedji *et al.*, 2014) qui semble combler le déficit phosphorique.

#### **VI -II-2-2. Radiologiques :**

Les résultats radiologiques obtenus dans notre étude montrent que le lot des AAP+12 a été estimé à un score de  $6.66 \pm 0.57$  (la formation du cal, la formation osseuse et la perte de la ligne d'ostéotomie) pour tous les cas, alors que les lapins qui ont reçu une greffe sans propolis ont été scoré à 3, 0 et 0 respectivement pour les cas ASP+12L1, L2 et L3 ( $1 \pm 1.73$ ), l'explication de ces scores s'appuie sur les paramètres suivants :

- **L'osteoinduction et l'osteoconduction :**

Le pouvoir ostéoconducteur qui se traduit par une forte opacité (minéralisation) au niveau des deux interfaces, et l'osteoinduction qui se caractérise par l'avancement d'un cal plaqué sur le greffon au niveau des deux interfaces selon Boudra *et al.*, (2014) explique le pouvoir ostéoconducteur et ostéoinducteur des greffons couverts avec la propolis commerciale qui favorisent l'adhésion, la prolifération et la différenciation cellulaire et sur lesquels se fera la synthèse osseuse.

Contrairement au lot des ASP+12 où l'osteoinduction était faible et l'osteoconduction absente, selon Jain *et al.*, (2015) l'os allogénique présente un haut degré d'osteoinduction et de remodelage lorsqu'il est utilisé comme bandelettes osseuses. Par ailleurs il est moins ostéoinducteur lorsqu'il est utilisé sous forme de cylindres osseux ou de poudre osseuse ; D'après eux on incrimine la forme du greffon implanté mais selon Asmara *et al.*, (2014) l'autoclavage réduit l'ostéoinduction, ce qui pourrait entraîner une non-union et une infection. Les températures élevées ( $80^{\circ}\text{C}$ ) inactivent les facteurs de croissance inhibant ainsi toute stimulation d'ostéogénèse (Zoricic, 2002) malgré les effets de l'autoclavage et la forme cylindrique des greffons implantés, une forte ostéoinduction et ostéoconduction a été remarqué pour les greffons couverts de propolis Algérienne.

- **Vitesse du passage du cal :**

Nous avons constaté que dans notre étude la vitesse du passage du cal au niveau des interfaces était de l'ordre de  $5.33 \text{ Sem} \pm 2.33$  pour l'interface proximale et  $6.66 \text{ Sem} \pm 4.61$  pour l'interface distale alors que Boudra et *al.*, (2014) ont rapporté que lors de l'utilisation de propolis du commerce sur les greffons allogéniques autoclavés, le passage du cal était de l'ordre de  $7 \text{ Sem} \pm 3.46$  et de  $9 \text{ Sem} \pm 2$  respectivement pour l'interface proximale et distale.

Nos résultats ont été supérieurs à ceux trouvés lors de l'utilisation d'une propolis commerciale et ils sont proches des résultats rapportés par Lee et *al.*, (1999) qui ont été de l'ordre de 4 semaines pour l'interface proximale (50 % des cas) et 8 semaines pour l'interface distale (75% des cas) lors de l'utilisation de la BMP-2. D'après Altan et *al.*, (2013) et Boudra et *al.*, (2014) la propolis stimule la formation osseuse ; et la formation du cartilage (Parolia et *al.*, 2010). D'après l'analyse de la littérature, la propolis pourrait raccourcir la phase de la consolidation après l'implantation et avoir un impact positif sur la stabilité de l'implant (Ezgi et Hasan, 2017). Dans une étude menée par Bereket et *al.*, (2014), l'effet de la propolis sur la phase de consolidation a été étudié chez les lapins, il a été observé que la dose de 200 mg/kg/jour par voie orale était efficace pour accélérer la formation osseuse tandis que dans notre étude l'application d'une fine couche d'EEPA10 à raison de 62mg/greffon/lapin était suffisante pour stimuler une forte ostéogénèse.

Ce qui explique la vitesse de la formation osseuse importante induite par l'EEPA10 au niveau des deux interfaces.

- **Eclatement du greffon :**

L'éclatement dû greffon constaté pour les deux cas ASP+12 L2 et L3 est dû au procédé de l'autoclavage qui engendre la fragilité mécanique des os malgré ses avantages en termes de coût et de faible réponse immunologique (Asmara et *al.*, 2014). Ce qui précède ne fait que confirmer pourquoi les greffes osseuses autoclavées ont été abandonnées dans la chirurgie des greffes osseuses (Zoricic, 2002) cependant les greffons couverts de propolis algérienne ont été intacts durant toute la durée du suivi, ce qui nous laisse penser que la propolis a corrigé la fragilité causée par l'autoclavage. A ce niveau on peut conclure qu'il faudrait réévaluer ce procédé d'autoclavage dans le domaine de la greffe osseuse.

### **VI -II-2-3. Histologiques :**

Nos résultats histologiques nous ont aidés à déterminer le stade de l'intervention de la propolis. La présence d'un tissu fibro-cartilagineux scoré 2 pour les ASP et la formation d'un tissu cartilagineux pour les AAP estimé à 2.5 à trois jours, ainsi la formation d'un cartilage

minéralisé pour les allogreffes couverte d'EEPA10 scoré à 3 et un cartilage non minéralisé pour les allogreffes non couvertes scoré à 2.5 à sept jours, laisse penser que la propolis a stimulé la formation et la minéralisation précoce du cartilage. D'après Grange et Davey, (1990) la propolis stimule la formation cartilagineuse ; ces résultats sont en corrélations avec les résultats trouvés par Sautier et Forest, (1996) lors de l'utilisation de la BMP qui montre la chondrogenèse à sept jours.

Les figures histologiques à 12 jours ont montré la présence d'un tissu osseux pour les greffons allogéniques autoclavés couverts de propolis algérienne scoré 4 et pour le lot témoin toujours au stade de cartilage minéralisé scoré 3, d'après Boudra et *al.*, (2014) ; Ezgi et Hasan, (2017) une étude a montré que l'application d'une fine couche de propolis sur une allogreffe améliore et accélère la vitesse du cal au niveau des deux interfaces en raccourcissant la phase de consolidation. Ces résultats sont aussi en concordance avec les résultats de l'utilisation de la BMP selon Sautier et Forest, (1996) qui indique l'apparition des ostéoblastes à douze jours.

# **Conclusion**

L'utilisation des allogreffes osseuses a permis non seulement d'offrir de grandes quantités de matériel biologique mais aussi d'économiser le temps opératoire en raison de la disponibilité dans les banques d'os, en diminuant également la morbidité de l'opération mais elle nécessite toujours un traitement avant son implantation; malheureusement ces procédés altèrent les propriétés ostéo-inductrices et ostéo-conductrices en rendant la structure haversienne des os corticaux plus fragile. L'introduction de la propolis algérienne dans notre étude a ouvert de nouvelles perspectives pour l'utilisation de cette résine en chirurgie orthopédique.

Notre étude a montré que la propolis algérienne la plus riche en flavonoïdes et polyphénols est celle de la région du sud (Laghouat) et la région de l'ouest (Tiaret) et que le pH de la propolis algérienne est de nature acide. L'extraction éthanolique de la propolis algérienne varie de  $18.28 \pm 2.62$  % à  $35.59 \pm 5.26$  %, les valeurs les plus élevées étant celles du sud et les valeurs basses celle du l'est.

Nous avons pu conclure, lors du suivi clinique, que la propolis semble avoir un effet anti- inflammatoire, analgésique et même un effet anesthésique locale en postopératoire.

Nos résultats hémato-biochimiques ont montré que l'**EEPA10** (Laghouat) a un effet immunostimulant et que la perte de sang en per opératoire engendre une diminution des taux d'hémoglobine en post opératoire, par ailleurs cette résine contient éventuellement des substances anti agrégation plaquettaires.

Le présent travail confirme aussi que le métabolisme du calcium chez l'espèce lapine ne dépend pas de l'action de la vitamine D.

L'activité enzymatique de la phosphatase alcaline aussi importante qu'elle ait été déterminée pour les lots AAP a prouvé l'effet de l'**EEPA10** sur l'ostéo-induction (formation des ostéoblastes). Enfin, il nous semble que la propolis de Laghouat a pu couvrir la carence en phosphore que pourrait provoquer une fracture osseuse mal prise en charge, vue les modifications non significatives des taux du phosphore en post opératoire.

Le suivi radiologique nous a permis de mieux comprendre l'action de l'**EEPA10** sur l'ostéo-induction et l'ostéo-conduction par rapport à la rapidité de la vitesse du cal au niveau des deux interfaces et à la direction de son avancement au coté du greffon.

La radiographie nous a permis de déduire que le produit utilisé dans notre expérimentation semble avoir corrigé la fragilité causée par l'autoclavage et a rendu le greffon allogénique capable d'induire une ostéo-induction et ostéo-conduction parfaites en ouvrant des

perspectives pour la réévaluation des procédés d'autoclavage comme technique de stérilisation.

Les résultats histologiques montrent que la propolis algérienne P10 semble capable de stimuler la formation d'un cartilage minéralisé à sept jours et une formation osseuse à 12 jours.

Les clichés numériques de radiologie pendant trois mois de suivi nous ont autorisé à juger que l'enclouage centromédullaire simple renforcé par une suture métallique a assuré une excellente immobilisation des greffons diaphysaires chez l'espèce lapine .

# **Recommandations et perspectives**

### Recommandations :

- Utiliser d'autres moyens d'imagerie médicale (Angiographie, TDM) lors du suivi des greffes pour la mise en évidence de l'angiogenèse entre les deux interfaces.
- Une température de plus 134 °C peut altérer la structure osseuse à greffer.
- Ostéotomie par scie fil doit se faire avec prudence pour ne pas endommager l'os .
- Diminuer la quantité de propolis Algérienne utilisée (62mg) afin d'avoir un cal moins volumineux.
- Etudier l'effet de la propolis Algérienne sur les organes à long terme.
- Il ne faut pas négliger les allergies et la sensibilité par rapport à la propolis pour chaque espèce.
- Il faut bien conserver la propolis pour garder la totalité de ces substances actives.
- Le recours à des laboratoires spécialisés dans les produits de la ruche afin d'obtenir des résultats plus fiables.

### Perspectives :

- Appliquer cette propolis sur les allogreffes et autogreffe fraîches corticales.
- Tester *in vitro* L'EEPA10 sur les souche bactériennes responsable des ostéomyélites.
- Appliquer cette résine sur les xénogreffe.
- Création d'une banque d'os algérienne.
- Standardiser la propolis Algérienne (un mélange des échantillons les plus riches).
- Déterminer la concentration minimale ostéoconductrice et ostéoinductrice.
- Fabriquer des biomatériaux à base de propolis algérienne.
- L'utilisation de L'EEPA10 lors de la mise en place des prothèses.
- Comparer l'effet de la BMP avec L'EPPA10.

# **Références bibliographiques**

1. **ADAM F.** (1985) Les croisements et l'apiculture de demain. SNA Paris. P126.
2. **AFNOR .** (1982) Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR. P325.
3. **AL-ANI I., ZIMMERMANN .S., REICHLING .J AND WINK.** (2018) Antimicrobial Activities of European Propolis Collected from Various Geographic Origins Alone and in Combination with Antibiotics . Medicines.5:P2.
4. **ALBEE F.H.** (1923) Fundamentals in bone transplantation. J. Am. Med. Ass.81:P1429-1432.
5. **ALBREKTSSON T AND JOHANSSON C.** (2001) Ostéoinduction,ostéoconduction and osseointegration. Eur Spine .J. 10: P96–101.
6. **ALENCAR P. G. C AND VENTURA V.I.F.** (2010) Bone banks. Rev. Bras. Ortop.P 524-528.
7. **ALEZAIS H.** (1900) Contribution à la myologie des Rongeurs.Thèse de doctorat en science naturelle.FACULTE DES SCIENCES DE PARIS ALCAN, PARIS.
8. **ALMEIDA O.M., JORGETTI W., OKSMAN D., JORGETTI C., ROCHA D. L AND GEMPERLI R.** (2013) Comparative study and histomorphometric analysis of bone allografts lyophilized and sterilized by autoclaving, gamma irradiation and ethylene oxide in rats. Acta Cirúrgica Brasileira. 28(1):P66-71.
9. **ALTAN B.A.,KRA I.M.,NALCACI R.,OZAN F.,ERDOGAN S.M AND OZKUT M.M.** (2013) Systemic propolis stimulate new bone formation at the expanded suture a histomorphometric study; effect of propolis on new bone formation. Angle orthodontist. 2(83):P286-291.
10. **ANDRADE A.L., MANZI D AND DOMINGUES Z.R.** (2006) Tetracycline and Propolis incorporation and release by bioactive glassy compounds. Science Directe. J Non-Crystalline Solids .352:P3502-3057.
11. **ANDRE J.M., CATALA M., MORERE J.J., ESCUDIER E., KATSANIS G. AND POIRIER J.** (2008) Service d'Histologie – Embryologie.5: P 63-74.
12. **ARJUN H., BANSKOT A., YASUHIRO T.E., JEEVAN K., MATSUSHIGE P.K ., IKUO SAIKI AND SHIGETOSHI KADOTA.** (2004) Chemical Constituents of Brazilian Propolis and Their Cytotoxic Activities. J. Agric. Food Chem.52:P7286–7292.

## Références bibliographiques

13. **ASMARA A.G.Y.,KAMA A. F., SIREGAR N. C AND PRASETYO M.** (2014) Effect of autoclave devitalization on autograft incorporation and bone morphogenetic protein of tibia in Sprague-Dawley rats. *Med. J Indones.*(23)2:P74-77.
14. **AUBRY P.** (2015) Critères de choix du matériau de substitution osseuse en régénération osseuse. Thèse de doctorat en chirurgie dentaire . Faculté de chirurgie dentaire. UNIVERSITÉ TOULOUSE III - PAUL SABATIER.
15. **AUGAT P.**(2005) Mechanics and Mechano-biology of Fracture Healing in Normal and Osteoporotic Bone. *Osteoporos Int.*16.Suppl.2:P36-43.
16. **BACHER J.D AND SCHMIDT R.E.** (1980) Effect of autogenous cancellous bone on healing of homogenous cortical bone grafts .*J. Small. Anim .Pract.*21:P 235-245.
17. **BANCROFT J.D AND GAMBLE M.** (2008) Bancroft's Theory and Practice of Histological. Techniques. CHURCHILL LIVINGSTONE ELSEVIER.18:P33.
18. **BOISARD S.** (2014) Caractérisation chimique et valorisation biologique d'extraits de propolis. Thèse de doctorat en Chimie analytique (pharmacochimie). Thèse de doctorat en chimie analytique. Université D'ANGERS.
19. **BANKOVA V., DE CASTRO S.L AND MARCUCCI M C.** (2000) Propolis : recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* .31: P3 -15.
20. **BARONE R.** (1978) Anatomie comparée des mammifères domestiques, cinquième édition,Tome 1 Ostéologie, P 644-667.
21. **BARONE R.** (1996) Anatomie comparée des mammifères domestiques.Tome 5 Angiologie. P 435-605.
22. **BARONE R., PAVAUX C., BLIN R.C AND CUQ P.** (1973) Atlas d'anatomie du lapin. Masson & C ,éditeurs.P27-171.
23. **BAUDHUIN P., NUZZO V AND ZIMMERMANN N.** (2004) Radiologie numérique. *J. Radiol.* 85: P1037-1045.
24. **BEALE B.S.** (2004) Orthopedic Clinical Techniques Femur Fracture Repair. *Clin Tech Small Anim Pract.*19 (3) :P134-150.
25. **BELLON A., SILVE R., DESGRANGES F.P.,COGNIAT B., BURGAL S., SZATHMARI A., MOTTOLESE C AND CHASSARD D.** (2014) l'objectif transfusionnel et la surveillance biologique postopératoire ? . *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.*33:P56-61.
26. **BENDJEDID H AND ACHOU M.** (2014) Etude de la diversité morphométrique de deux populations d'abeilles domestiques (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) du sud Algérien.*Rev.Sci.Technol.Synthèse.*28:P84-95.

27. **BEREKET C., ÖZAN F., ŞENER İ., TEK M AND ALTUNKAYNAK B.Z.** (2014) Propolis Accelerates the Consolidation Phase in Distraction Osteogenesis. *Journal of Craniofacial Surgery*.25(5):P1912-1916.
28. **BERREGHIOUA A.** (2016) investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. Thèse de doctorat en chimie organique. Faculté des sciences. Université ABOU BAKR BELKAID -TLEMCEM.
29. **BERROUKCHE A.A, TERRAS. M., SLIMANIB .M AND DENAI I.** (2017) Characterization of bioactive compounds in South-Western Algeria propolis samples. *J. New Technol. Mater.*7 (2):P67-71.
30. **BERTHELOT P.** (2005) *Réanimation* 14:P294–301.
31. **BONNEL F AND TACHOT B.** (1989) Biologie de la cicatrisation des fractures. In : TEOT L, VIDAL J. DOSSA J. (eds): *Le tissu osseux*. Sauramps Médical, Montpellier. P171-179.
32. **BOUCHER S AND NOUAILLE L.** (2013) *Maladies des lapins* ;Edition France Agricole. 3<sup>ème</sup> édition. P291.
33. **BOUDRA A.** (2014) Etude de l'ostéointégration d'une allogreffe orthotopique autoclavée couverte et implantée dans le fémur du chien. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en chirurgie des petits animaux. Institut vétérinaire de Tiaret. Université IBN KHALDOUN.
34. **BOUDRA A., HAMDIM AND AMARA K.** (2014) Role of Propolis in Osteointegration Enhancement in Allograft Autoclaved Implanted in Femur of Dogs. *J Veterinar. Sci. Technolo.*(5)2:P1-3.
35. **BOWERMAN J.W. AND HUGHES J.L.** (1975) Radiology of bone grafts. *Radio. Clin North. Am.*13:P 67-77.
36. **BOYCE T., EDWARDS. J AND NELSON S.** (1999) ALLOGRAFT BONE The Influence of Processing on Safety and Performance .*Bone grafting and bone graft substitutes. Orthopedic clinic of north america* .4(30):P571-581.
37. **BRANCKAERT R.D.** (2000) Lapin élevage et pathologie ,lapins adultes Néo-Zélandais Blancs, en fonction de la température ambiante. *organisations nations unies pour l'alimentation et l'agriculture* .6:P141.
38. **BRINKER W.O., PIERMATTEI D.L AND FLO G.L** (1994) Manuel d'Orthopédie et de traitement des fractures des petits animaux 2<sup>ème</sup> édition, paris Edition du point vétérinaire. P 71-77.
39. **BRY R.** (2015) Contribution à l'étude de la variabilité des propriétés mécaniques de l'os cortical diaphysaire d'un os porteur (fémur) et non-porteur (humérus). Thèse de doctorat

- mécanique. Université de VALENCIENNES ET DU HAINAUTCAMBRESIS  
Discipline.
40. **CASTALDO S. AND CAPASSO F.** (2006) Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*.73: P1-6.
  41. **CLAES L.** (1997) Influence of Size and Stability of the Osteotomy Gap on the Success of Fracture Healing. *J Orthop Res*.15(4):P577-584.
  42. **CHANTIER J AND VEZINHET A.** (1968) Guide pour la dissection et l'identification des principaux muscles de la carcasse chez le lapin. *ann. biol.anim .bioch.biophys* .8(1): P107-139.
  43. **CHAVASSIEUX P AND MEUNIER P.** (2003) Histologie et cytologie de l'os normal, *Encycl .Méd .Chir*.10:P6.
  44. **CHENU C.** (2001) Innervation of bone. *médecine/sciences*.17(12):P1276-1280.
  45. **CHENU C AND MARENZANA M.** (2005) Sympathetic nervous system and bone remodelling. *Revue du Rhumatisme*.(72):P 894-89
  46. **COLOMBIER M.L., LESCLOUS P AND TULASNE J.F.** (2005) La cicatrisation des greffes osseuses.*Rev. Stomatol. Chir. Maxillo-fac*.106 (3):P157-164.
  47. **COMBARET S.** (2004) ,les urgences chez le lapin et les rongeurs de compagnie . Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. la faculté de médecine de CRÉTEIL.ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT.
  48. **COSSU F., GAUTHIER O AND GUINTARD C.** (2005) Voie d'abord en chirurgie ostéo- articulaire chez le chien.édition du point vétérinaire.P114-123.
  49. **COUSIN L.** (2014) L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de Médecine et de Pharmacie .Université de POITIERS.
  50. **CROSS P.C AND MERCER K.L.** (1993) Ultra structure cellulaire et tissulaire, approche fonctionnelle. Deboeck université. P86-92.
  51. **CUSHNIE T.P., HAMILTON V.E., CHAPMAN D.G., TAYLOR P.W and LAMB A.J.** (2007) Aggregation of *Staphylococcus aureus* following treatment with the antibacterial flavonol galangin. *Journal of Applied microbiology*. P1562-1567.
  52. **CUVILLIER A.** (2015) Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté des Sciences Pharmaceutiques. Université de Lille 2.
  53. **DADOUNE J AND SIFFORI J.P.** (2000) De la biologie à la clinique, *Histologie*. 2ème édition médecine- science.P 83-85.

54. **DECOUPIGNY B.H.A.** (2011) Le développement des technologies numériques d'imagerie médicale en France. Etude bibliographique et résultats d'une enquête auprès d'un échantillon de cliniques vétérinaires. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. Faculté de médecine de CRETEIL. ECOLE NATIONALE VETE RINAIRE D'ALFORT.
55. **DELOYE H.** (2017) Suivi post-allogreffe de moelle osseuse : mise en place d'une aide à destination des patients et des professionnels officinaux par l'élaboration de fiches thérapeutiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de ROUEN ufr de médecine et de pharmacie.
56. **DESACHY F.** (2009) Guide pratique de L'A.S.V, 2<sup>ème</sup> édition, P 145-153.
57. **DILLESEGER J.P AND MOERSCHEL E.** (2009) Guide des technologies de l'imagerie médicale et de la radiothérapie. éd. MASSON, Issy les Moulineaux. P416.
58. **DOHERTY M.J., SCHLAG G., SCHWARZ N., MOLLAN R.A.B., NOLAN P.C AND WILSON D.J.** (1994) Biocompatibility of xenogeneic bone, commercially available coral, a bioceramic and tissue sealant for human ostéoblasts. *Biomaterials*. 15:P601-608.
59. **DONADIEU Y.**(2008) La Propolis Editions Dangles. Paris. P 90.
60. **DWEK J.R.** (2010) The periosteum: what is it, where is it, and what mimics it in its absence? *Skeletal Radio* 39(4): P319–323.
61. **EINHORN T.A.** (1998) The Cell and Molecular Biology of Fracture Healing. *Clin Orthop Relat Res.*(355):P7-21.
62. **EZGI A AND HASAN Y.** (2017) Evaluation of the Effect of Propolis on Implant Stability by Resonance Frequency Analysis and Removal Torque Test .*Biomed J Sci & Tech Res* journal of scientific & technical research .(1)5:P1-6.
63. **FAROOQUI T and FAROOQUI A.A.** (2012) Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases.*Frontiers in Bioscience* .P779-793.
64. **FENEYROU C.** (2014) Le point sur les différentes techniques d'augmentation verticale de la crête osseuse postérieure mandibulaire. Thèse de doctorat en chirurgie dentaire. Faculté de chirurgie dentaire.Université Toulouse III- Paulsabatie.
65. **FERHOUM F.** (2010) Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en Technologie Alimentaire. Faculté des sciences de l'ingénieur.Université M'HAMED BOUGARA Boumerdés.
66. **FLECKNELL P A.** (2000) Anesthesia.In: Flecknell P. (eds). *Manual of rabbit medicine and surgery*. Gloucester: BSAVA.P103-115.

67. **FLECKNELL P.** (2000) British Small Animal Veterinary Association /BSAVA : Manual of Rabbit Medicine and Surgery. BSAVA,Shurdington .P148.
68. **FRIEDLAENDER G.E.** (1983) Currents concepts review bone-banking. J. bone. Joint. Surg.64: P 307-311.
69. **GALY E.** (2001) Recommandations pour la préparation cutanée de l'opéré, CCLIN. Sud-Ouest .version 2:P2-23.
70. **GARCÍA-GARETA E.** (2018) Bone remodelling in vitro: Where are we headed?-A review on the current understanding of physiological bone remodelling and inflammation and the strategies for testing biomaterials in vitro. Bone.110:P38-46.
71. **GHARBI M .**(2011) Les produits de la ruche :Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. vetagro sup campus vétérinaire de Lyon.
72. **GIANNOUDIS P.V AND DINOPOULOS H.** (2005) Tsiridis E. Bone substitutes: An update. Injury. 36(3): P20-7.
73. **GHODADRA N AND SINGH K.** (2008) Recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the treatment of bone fractures. Biologics: Targets et Therapy .2:P345-354.
74. **GRANGE J.M AND DAVEY R.W.** (1990) Antibacterial properties of the propolis (bee glue).J Royal .Society .med.83:P159.
75. **HEWITT C. D., INNES D J., SAVORY J., and WILLS M. R.** (1989) Normal Biochemical and Hematological Values in New Zealand White Rabbits.CLIN.CHEM. 35(8):P1777-1779.
76. **HENDI N. K. K., NAHER H. S AND AL-CHARRAKH A. H.** (2011) In vitro antibacterial and antifungal activity of Iraqi propolis . Journal of Medicinal Plants Research .5(20):P5058-5066.
77. **HENRICKSEN P.**(1979) Entire segment bone transplantation in a cat. J. Am. Vet Med. Assoc.P174-826.
78. **HINOI E.** (2012) A pivotal role of skeletal tissues in the regulation mechanisms for physiological functions mediated by multiple organ networks. Yakugaku Zasshi - The Pharmaceutical Society of Japan.132(6):P721-5.
79. **HORSTMAN C.L.**(2004) Biological Osteosynthesis versus Traditional Anatomic Reconstruction of 20 Long-Bone Fractures Using an Interlocking Nail. Vet Surg.33(3):P 232-237.
80. **HOUARI F. H.** (2015) Projet de banque d'os au MAROC, Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine et de pharmacie FES -MAROC.

81. **ITHIER D., FEIX C., DUCOS J. D.L AND JOUGLAR J.Y.** (2005) Traitement d'une fracture multi-esquilleuse du tibia chez un lapin nain .Revue Méd. Vét.156 (4):P194-198.
82. **JAIN J., KUMAR S., AGGARWAL A .N., AND JAJODIA N.** (2015)Augmentation of bone healing in delayed and atrophic nonunion of fractures of long bones by partially decalcified bone allograft (decal bone). Indian. J Orthop.49(6):P637-642
83. **JEAN-PROST P AND LECONTE.** (2005) Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition, Tec & Doc Lavoisier. P698.
84. **JEKL V AND REDROBE S.** (2013) Rabbit dental disease and calcium metabolism – the science behind divided opinions. Journal of Small Animal Practice.54:P481–490.
85. **J.M.** (2005) The biology of bone grafting. J Am. Acad .Orthop .Surg.13:P 77-86.
86. **JOSSIER R.,FUSSELLIER M AND LBORADE A.** (2013) Limagerie médicale du chat et du chien au service au praticien.Elsevier Masson.P4.
87. **KAMINA P.** (2002) Le système squelettique - Anatomie générale. Précis d'Anatomie Clinique. *Paris: Maloine.*P21-30.
88. **KAPATKIN A.**(1997) Orthopedics in Small Mammals. In : Hillyer E.V.,Quesenberry K.E. (eds) : Ferrets, Rabbits, and Rodents : Clinical Medicine And Surgery. W.B. Saunders Company. Philadelphia .P346-35.
89. **KAHAN S.D.,CAMMISA F.P., SANDBU H.S.,DIWAN A.D.,GIRARDI F.P AND LANE J.M.** (2005) The biology of bone grafting .13:P 77-86.
90. **KOHLI N., HO.S ., BROWN S. J., SAWADKAR P., SHARMA V., SNOW M AND KILI .N** (2004) A Comparison between Medetomidine-Ketamine and Xylazine-Ketamine Anaesthesia in Rabbits .Turk J Vet Anim Sci .28:P 921-926.
91. **KEALY J.K AND ALLISTER M.C.H.** (2008) Radiographie et echographie du chien et du chat. édition MED'COM.P. 297-336.
92. **KRELL R.** (1996) Value - edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone. P5.
93. **KUMAZAWA S., HAMASAKA T AND NAKAYAMA T.** (2003) Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry.84:P329–339.
94. **KÿHNEL W.** (2003) Atlas de poche d'histologie, 3 ème édition. P146.
95. **LAHOUEL M., BOUTABET. K., KEBSA.W AND ALYANE M .** (2010) Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. (10):P712-720.

96. **LECKA-CZERNIK B.** (2012) Marrow fat metabolism is linked to the systemic energy metabolism. *Bone*.(50):P534-539.
97. **LEE F.Y.,HASAN E.J.,TRAHAN C.,SNYDER B.,GEBHARDT M.C AND MANKIN H.J.** (1999) Bone morphogenetic protein (BMP-2) can initiate and conduct repair process at the allograft osteotomy site an animal experimental model .Orthopedic oncology unit, 45th Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, February 1-4, Anaheim, California.P620.
98. **LIPMAN N., MARINI R.P AND ERDMAN S.E.** (1990) A comparison of ketamine/xylazine and ketamine/xylazine/acepromazine anesthesia in the rabbit. *Laboratory animal science* 40(4):395-8.
99. **LOTFY M.** (2006) Biological activity of bee Propolis in health and disease. *Asian. Pac. J Cancer Prev.*7:P22-31.
100. **MAPARA M., THOMAS B.S AND BHAT K. M.** (2012) Rabbit as an animal model for experimental research *Dent. Res. J (Isfahan)*.9(1):P 111–118.
101. **MARCHENAY P AND BERARD L.** (2007) L’homme, l’abeille et le miel. Edition De Borée P223.
102. **MARTINI M.C AND SEILLER M.** (2006) Actifs et additifs en cosmétologies. 3ème édition, Lavoisier. P338-350.
103. **MASON D. E.** (1997) Anesthesia, analgesia, and sedation for small mammals. (38)In: HILLYER E. V., QUESENBERRY K. E. (eds) *Ferrets, rabbits and rodents. Clinical medicine and surgery.* Philadelphia: W. B. Saunders Company.P378-391.
104. **MEIMANDI-PARIZ A., SAYAHI A.O AND BIGHAM-SADEGH A.** (2018) Propolis extract a new reinforcement material in improving bone healing: An *in vivo* study .*Int J .Surg* .56:P 94-101.
105. **MILLER L.E AND BLOCK J.E.** (2011) Prospective on the clinical utility of allograft for bone regeneration with osseous defects. *Orthopedic Research and Reviews*.3:P31-37.
106. **MONNIER J.P AND TUBIANA J.M** (2002) *Pratique et technique du radio diagnostic.* 3ème édition. P 30-43.
107. **MUTSAERS M., VAN BLITTERSWIJK H., VAN'T LEVEN L., KERKVLIT J. AND WAERDT J.** (2005) *Produits de l’apiculture, propriétés, transformation et commercialisation,* Première édition.10: P55-59.
108. **NAKAMURT., OHTAY., TADAM., TERUYA A AND OHASHI K.** (2011) Protective effect of Brazilian propolis ethanol extract against stress-induced gastric mucosal lesions rats. Its evaluation using oxidative stress markers .*Journal of Analytical Bio-Science*.2 (34):P135-146.

109. **NEDJI N AND LOUCIF-AYAD W.** (2014) Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition . *Asian. Pac .J Trop Dis.* 4(6): P433-437.
110. **NIKEN P., PHALIMAHTUSSADIYAH R AND ZAKIAH U.** (2014) properties and flavonoids content in propolis of some extraction method of raw propolis . *Int .Journal Pharm. Pharm .Sci.*6(6)P:338-340.
111. **NUNAMUKER D.V AND RHINELANDER F.W.** (1985) Bone grafting, in textbook of Small Animal Orthopedics. *J. B Lippincott Co, Philadelphia.*39:P519-526.
112. **OBERT L., LOISEL F., LEPAGE D., LUSSIEZ B AND GARBUIO P.** (2016) Reconstruction osseuse : Comment en est-on arrivé là ? Bone Reconstruction: How is it come to this?, e-mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie.15(3):P 29-35.
113. **OLAYEMI F.O AND NOTTIDGE HELEN O** (2007) Effect of age on the blood profiles of the new zemand rabbit in nigeria. *AFricain journal of biomedical research* .10:P73-76.
114. **OLDS R.B.** (1981) Bone grafting. In Bojrab M(ed). *Pathophysiology in Small Animal Surgery.* Philadelphia. Lea & Febiger.P534-541.
115. **ORYAN A., ALIDADI S., MOSHIRI AND MAFFULLI N.** (2014) Cortical bone grafts are applied less frequently, and they may be used as onlay grafts Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research.*9(18):P1-27.
116. **PAROLIA A., THOMAS S., KUNDABALA M AND MOHAN M.** (2010) Propolis and its potential uses in oral health. *I. J .Med .Medical .Sciences.*2:P 210-215.
117. **PEER L.A.** (1955) Transplantation of bone animals, Transplantation of tissues. *Williams & Wilkins Company.*16: P152-179.
118. **PEREIRA.Y.C.L.,ISSA.J.P.M., WATANABE E., NASCIMENTO G.C., IYOMASA M.M., CIAMPO J.O.D AND ERVOLINO E.** (2018)The Therapeutic Use of Propolis Extract in Alveolar Bone Contaminated with Bacterial Endotoxin., *Dentistry* , (8)3:P1-9.
119. **PHILIPPE J.M.** (1999) Guide pratique de l'apiculture , 3<sup>ème</sup> édition. P851-855.
120. **PIERARD J.** (1972) Anatomie appliquée des carnivore domestiques chien et chat. P112-137.
121. **PIERMATTEI D.L., FLO G.L AND DECAMP C.E.** (2006) Handbook of Small Animal Orthopedic and Fracture Repair - 4th Ed. St Louis : Saunders.P832.
122. **PIETTA P. G., GARDANA A. M AND PIETTA A. M.** (2002) Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia.*73(1):P7-20.

123. **POITOUT D., NOUAILLE DE GORCE E., TROPIANO P., RIPOLL B AND MARCK G** (2003) Devenir à long terme des allogreffes osseuses et osteo-cartilagineuses massives cryopréservées. *E-mémoires des l'académie nationale de chirurgie*. 2(1):P37-45.
124. **POLLOCK C.** (2002) Postoperative management of the exotic animal patient. In : *Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice : Orthopedics*. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 5: P183-212
125. **POPESKO P., RAJTOVA V AND HORAK J. A.** ( 1992) Colour atlas of anatomy of small laboratory animal. Volume one: Rabbit - Guinea pigs. London: Wolfe Publishing ltd. P255.
126. **POSTACCHINI F.** (1995) Early Fracture Callus in the Diaphysis of Human Long Bones: Histologic and Ultrastructural Study. *Clin Orthop Relat Res*. 310: P218-228.
127. **RAO L.G., KANG N AND RAO A.V.** (2012) Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health Polyphenol Antioxidants and Bone Health. *A Review* .P469-485.
128. **RAZAFIMHANDRY H.J.C., RANDRIANASOLO D., ANDRIAMANANA N.W. AND RANDRIARIMANGAN R.H.B.** (2001) Deux cas d'utilisation de corail naturel comme substitut osseux. *Médecine d'Afrique Noire*. 48: P114.
129. **REBIAI A., LANEZ T AND BELFAR M.L.** (2013) Total polyphenol contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of algerian propolis. *Int. J. Pharm. Pharm Sci*. 1(6): P395-400.
130. **RICH G A.** (2002) Rabbit orthopedic surgery. In *Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice : Orthopedics*. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 5: P157-168.
131. **RUEDI T.P., BUCKLEY R AND MORAN C.G.** (2007) Principles of Fracture Management - 2nd Ed. Stuttgart New York : Thieme-Verlag. 2: P1103.
132. **SAUTIER J.M.F AND FOREST N.** (1996) Les protéines de la morphogenèse osseuse : BMP. *médecine/sciences*. 12: P364-370.
133. **SAVET A.** (2005) Contribution à l'évaluation radiographique et densitométrique du cal osseux d'allongement chez le lapin. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON.
134. **SEDEL L., MEUNIER A AND NIZARD R.** (1993) Biomécanique de l'os. Application au traitement des fractures. *Ed .Med. Chir*. 14031(30): P1-12.
135. **SEGUENI N.** (2011) Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. Thèse de doctorat en Science en Pharmacochimie. Université Constantine 1 (ex Mentouri).
136. **SENNE A.** (2010) Propolis Le trésor millénaire de santé et de beauté, Edition du Palémon, 5<sup>ème</sup> édition, Saint-Evarvec. P125.

137. **SFORCINA J.M AND BANKOVAB V.** (2011) Propolis Is there a potential for the development of new drugs?. *Journal of Ethnopharmacologie*.133:P253–260.
138. **SHENA C.J AND MCCURNIN D.** (1983) The use of fresh cortical and cancellous allografts in the repair of fractured femur in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc*.19:P 352-358.
139. **SHENA C.J., MITTEN R.W AND HAEFLE W.D.** (1984) Segmental freeze dried and Fresh cortical allograft in canine femur,.A sequential radiographic comparison over a one- year time interval. *J .Am .Anim .hosp .Assoc.* 20:P911-925.
140. **SHIMAZAWA M., CHIKAMATSU ., MORIMOTO N., MISHIMA S., NAGAI H AND HARA H.** (2005) Neuroprotection by Brazilian Green Propolis against In vitro and In vivo Is chemic Neuronal Damage. *Oxford University Press*.2: P 201–207.
141. **SHUTO T., SARKAR G., BRONK J., MATSUI N AND BOLANDER M.** (1997) Ostéoblasts express types I and II activin receptors during early intramembranous and endochondral bone formation, *J .Bone. Miner .Res*.12:P403-411.
142. **SLATTER D.** (1995) *Pocket Companion to Textbook of Small Animal Surgery*. WB Saunders Co. Philadephia, Pennsylvania. Musculoskeletal system.P1577-2026.
143. **SOLTANI E.** (2017) *Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles, cas de la propolis*. Thèse de Doctorat en Sciences. Faculté de technologie Université FERHAT ABBAS SETIF-1.
144. **SOWMYA S., GUJJARI A K., MRUTHUNJAYA K., SUSHMA R., RAVI M B AND SWAMY R .K. N.** (2017) Effect of propolis on bone loss prevention- a REVIEW. *J. Evolution Med. Dent. Sci.*.93(6) P2278-4802.
145. **STEVENS A AND LOWE J.** (1997) *Histologie humaine*, 2 éme édition Deboeck université.P 234.
146. **STEVENSON S.** (1985) Bone Grafting. In Slatter DH(ed), *Texbook of Small Animal Surgery*, WB Saunders Co, Philadelphia. P 2035-2048.
147. **SZENTIMREY D., FOWLER D., JOHNSTON G AND WILKINSON A.** (1995) Transplantation of the canine distal ulna as a tree vascularized bone graft. *Vet .Surg.* 24: P 215-225.
148. **TESTUT L AND LATARJET A.** (1948) *Anatomie Générale. Traité d'Anatomie Humaine*. 9e éd. Paris:Doin G et Cie.P5-29.

149. **TOGARI A., ARAI M., KONDO H., KODAMA D AND NIWA Y.** (2012) The neuro-osteogenic network: The sympathetic regulation of bone resorption. *Japanese Dental Science Review*.(48):P61-70.
150. **TOPPETS V., PASTORET V., DE BEHR V., ANTOINE N., DESSY C AND GABRIEL A.** (2004) Morphologie, croissance et remaniement du tissu osseux,.*Ann Méd .Vét.*148:P1-13.
151. **TREDEZ N.M.R.** (2006) Asepsie chirurgicale en pratique vétérinaire (Asepsie du matériel et du chirurgien ).Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE TOULOUSE.
152. **TORRES A.R., SANDJ L.P., FRIEDEMANN M.T., TOMAZZOLI M.M., MARASCHIN M., MELLO C.F AND SANTOS A.R.S.** (2018) Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees.*Brazilian Journal of Medical and Biological Research*.51(6)7118:P1-10.
153. **TOSI ., ENZO A., CIAPPINI., MARIA C., CAZZOLLI., AMPELIO F., TAPIZ AND LUIS M.** (2006) Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA* .41:P110-120.
154. **TUBIANA J.M., KALIFA G., ARRIVE L., AZIZI L., BELKACEM A., CORUMBARAS M., HOFFEL C., LACOMBE C., LE HIR P., MONNIER-CHOLLEY L AND VALADIER P.** (2004) Abrégé de Radiodiagnostic. P 16-20.
155. **WANG W AND YEUNG, K.W.K.** (2017) Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair : A review. *Bioactive Materials*. P224-247.
156. **WHEATER P.R., YOUNG B AND HEATH J.W.** (2001) Histologie fonctionnelle, Traduction de la 4<sup>ième</sup> édition Anglaise, Editions De Boeck Université.14:P249-273.
157. **WINN A.F.** (2006) Atlas radiographique du lapin de compagnie.Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE.
158. **WOLFF J.** (2011) The Classic: On the Significance of the Architecture of the Spongy Substance for the Question of Bone Growth. *Clin. Orthop Relat. Res*.469(11):P3077-3078.
159. **WRAIGHTE P.J AND SCAMMELL B.E.** (2006) Principles of Fracture Healing. *Surgery (Medicine Publishing)*.24(6):P198-207.
160. **WURTZ A., HYSI I., KIPNIS E., FAYOUX P ., COPIN M.C., ZAWADZKI C., JASHARI R., HUBERT T., UNG A., RAMON P AND JUDE B.** (2015) La transplantation trachéale sansimmunosuppression. Etude expérimentale sur modèle lagomorphe Tracheal transplantation without immunosuppressive therapy in a rabbit modele. *E-mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie*.14(2):P119-128

161. **YAMAGUCHI H., HAMAMATO ., UCHIYAMA S AND ISHIYAMA K. (2007)**  
Effect of flavonoide on cacium content in femoral tissue culture and parathyroide hormone stimulate osteoclastogenesis in bone marow culture in vitro. *Mol.Cell.Biochem*303:P83-88.
162. **ZEIGHAMPOUR F., MOHAMMADI-SICHANI M., SHAMS E AND NAGHAVI N.S. (2014)** Antibacterial Activity of Propolis Ethanol Extract against Antibiotic Resistance Bacteria Isolated from Burn Wound Infections. *Zahedan J Res .Med. Sci .* 16(3):P 25-30.
163. **ZHANG Y.X., YANG T.T., XIA L., ZHANG W.F., WANG. J.F AND WU Y.P. (2017)** Inhibitory Effect of Propolis on Platelet Aggregation In Vitro 0 *Hindawi Journal of Healthcare Engineering .* P1-6.
164. **ZORICIC S., BOBINAC D., LAH B., MARIC I., CVIJANOVIC O., BAJEK S., GOLUBOVIC V AND MIHELIC R. (2002)** Study of the Healing Process after Transplantation of Pasteurized Bone Grafts in Rabbit. *Acta Med. Okayama.* 3 (56):P.121-128.

## المخلص:

عملية الإلتحام بالنسبة للعظام المتباينة خصائصها ضعيفة، هذا النوع من الزرع يتطلب تعقيم وهذا لتقليل الشحنتات المستضدية وخطر إنتقال الأمراض رغم أن هذه الأخيرة لها تأثير سلبي على الإندماج العظمي كونها تعمل على تضيق العظم مما يستدعي اللجوء إلى إستعمال مواد أخرى مكلفة تعمل على تحفيز التخلق البنيوي و مواد أخرى مازالت قيد البحث، علماً أن العكبر التجاري قد أظهر نتائج جد مرضية على التكوين العظمي وجاءت دراستنا لإعطاء بديل آخر في الطب البديل في مجال زراعة العظام المتباينة الشدقية.

الدراسة المخبرية التي أجريت في مخبر مختص في بلجيكا لعشر عينات من العكبر الجزائري و هذا بغية معرفة مدى غناها بالنسبة لمادة الفلافونويد والبوليفينول، أما عن معدل الحموضة والعائد فقد تم تحديدهما في مخبر لجامعة الجزائر (تيارت).

في التجارب المجراة تم استعمال العظام المتباينة وتم زرعها في عظم فخذ أرانب وهذا لإظهار قوة الإندماج العظمي وعلى إثره أجريت التجارب على 50 أرنب نيوزيلاندي ذكور أعمارهم من 6 أشهر إلى سنة ومتوسط الوزن 3 كلغ، 20 أرانب كانت بمثابة الحيوانات المانحة، الثلاثين المستقبلية تم تقسيمها إلى فوجين كل واحد يتضمن 15 أرنب مقسمة إلى مجموعات كل مجموعة مكونة من 3 أرانب.

الفوج الشاهد وهي الحيوانات التي استقبلت عظم قشري متباين سوي الوضع معقم بموصدة على مستوى عظم الفخذ مثبت بواسطة سفود ويعزز التثبيت بواسطة سلك معدني غير قابل للصدأ، بالنسبة للفوج الثاني فقد خضع لنس العملية إلا أن العظم المزروع تم تغطيته بواسطة مادة العكبر (EEPA10).

الهدف من هذا العمل هو اختبار بروبوليس جزائري غني بالمادة الفعالة تم جمعه من مناطق عدة من التراب الوطني ثم إبراز بعض الفضائل العلاجية على العظام المتباينة المعقمة بالموصدة و هذا بالمتابعة السريرية وشبه السريرية.

النتائج المخبرية اظهرت أن عكبر منطقة الجنوب والغرب الجزائري الأكثر غنى وهذا لإحتوائهما على 99.98 ملغ حمض غليك /غ من العكبر من البوليفينول و 54.4 ملغ كرسيتين/غ من العكبر من الفلافونويد لولاية الأغواط (P10). 71.6 و 76.6 من حمض غاليك من الحمض العكبر من البوليفينول و 38.7 و 42.2 من الكارستين /غ من العكبر من الفلافونويد على الترتيب لكل من منطقتي أولاد بغدو (P8) و بوشقيف (P6) لولاية تيارت، عائد العكبر الجزائري بالنسبة للمناطق الأربع بعد عملية الإستخلاص بالإيتانول أظهر أن أعلى نسبة إستخلاص كانت بالجنوب بمعدل  $35.59 \pm 5.26$  أقل معدل إستخلاص كان في منطقة الشرق بقيمة  $18.28 \pm 2.62$  أما عن معدل الحموضة فكانت قيمته  $4.4 \pm 0.26$  ، أعلى معدل كان في منطقة الشرق  $4.56 \pm 0.32$  و أقل قيمة كانت في منطقة الوسط بمعدل  $4.4 \pm 0.14$ .

خلال المتابعة الإشعاعية اتضح أن سرعة مرور الثفن في كل من الجهات الدانية والقاسية كانت بمعدل  $5.33 \pm 2.33$  بالنسبة للدانية والقاسية كانت بمعدل  $6.66 \pm 4.61$  أسبوع مع تخلق بنيوي عظمي و توصيل عظمي ممتازين مع تحطم الغرسة الغير المغطاة بمادة البروبوليس.

التحاليل الدموية البيوكيميائية قبل وبعد العملية الجراحية لكل من الفوجين AAP و ASP أظهرت إنخفاض شديد في نسبة مادة الهيموغلوبين بعد العملية لكلا الفوجين ، إنخفاض شديد للكريات البيضاء AAP ( $P < 0.01$ ) و تغيرات شديدة بالنسبة لصفائح الدموية للفوج AAP ( $P < 0.001$ ) مع تغيرات في نشاط أنزيم الفوسفات القلوي ( $P < 0.01$ ) بالنسبة للفوج AAP قبل وبعد العملية، نسبة الكالسيوم لم يطرأ عليها تغيير كبير بالنسبة للفوجين و تغير جد شديد لوحظ بالنسبة للفسفور للفوج ASP.

أظهرت الدراسة النسيجية بالنسبة للفوج ASP درجة 2 (3 و 7 أيام) ، 3 (10، 12 يوم) و أكثر من 12 يوم درجة أربعة أما بالنسبة للفوج AAP فقد تم تقييمه بدرجة 2 (3 أيام) ، 2,5 (7 أيام) ، 3 (10 أيام) و 4 (12 ، أكثر من 12 يوم).

كشفت المتابعة السريرية أن وضع القدم كان كامل ودائم بالنسبة للفوج AAP ابتداءً من الأسبوع الأول وبالنسبة للفوج ASP ابتداءً من الفوج السابع هذه المتابعة أظهرت كذلك بروز تورم على مستوى الجرح (مستوى الفخذ) اعتباراً من اليوم العاشر تم تقدير التورم I سم<sup>2</sup> ، درجة حرارة الجسم كانت بمتوسط  $38,28 \pm 0.28$  الحد الأقصى  $38,7c^0$  و الأدنى كانت  $37,3 c^0$  أما عن الفوج ASP فكانت درجة الحرارة المتوسطة تعادل  $39,54 \pm 0.26$  الحد الأعلى كان  $41,3 c^0$  و الأدنى كان  $39 c^0$  ، لم يلاحظ خروج لسفود أو أي سلوك عدواني لكل من الفوجين AAP، ASP.

أظهرت دراستنا ان العينات الغنية من الفلافونويد والبوليفينول هي بمناطق الجنوب، (الأغواط)، (تيارت) و ان جل عكبر الجزائر ذو طبيعة حمضية وأن مردوده يتراوح من 18,28 إلى 35,59 % ، يبدو أن مادة العكبر الجزائري له تأثير مضاد للإلتهاب ومسكن و حتى مخدر موضعي ما بعد العملية الجراحية.

تحاليل الدم أظهر أن العكبر له قدرة في تحفيز الجهاز المناعي، و فقدان الدم أثناء العملية سبب هبوط في نسبة الهيموغلوبين. ناهيك على أن هذه المادة مانعة لتخثر الدم. نسبة الأنزيم القلوي المرتفع دلالة على قوة التخلق البنيوي العظمي بالنسبة للغرزة المغطاة ب EEPA10 و أن العكبر قام بتغطية النقص في مادة الفسفور للفوج AAP.

المتابعة الإشعاعية سمحت بفهم أفضل لتأثير EEPA10 على سرعة التخلق البنيوي العظمي والتوصيل العظمي واتجاه و تقدم الثفن على الغرزة. التصوير الإشعاعي سمح لنا أن نستنتج بأن العكبر قام بتصحيح هشاشة العظام الناجمة على التعقيم بالموصدة و أصبحت الغرزة قابلة لتحفيز عملية التخلق البنيوي العظمي و فتحت لنا أفق لإعادة تقييم التعقيم بالموصدة.

العكبر الجزائري (P10) عمل على تحفيز تشكل الغضروف في سبعة أيام و تكوّن العظم في 12 يوم.

المتابعة بالإشعاع الرقمي لمدة 3 أشهر أعطت الفرصة لإعادة تقييم التثبيت بالسفود المدعوم بالخيط المعدني على أنه تقنية فعالة بالنسبة لسلالة الأرناب.

**الكلمات المفتاحية :** العكبر الجزائري، غرزة عظم شديقي معقم بالموصدة، الخلق البنيوي العظمي، التوصيل العظمي، التسمير المركزي النخاعي، الإندماج العظمي.

## Résumé :

Les allogreffes osseuses ont des propriétés d'incorporation plus faibles, ce type de greffe nécessitant une stérilisation afin de réduire la charge antigénique et le risque de transmission des maladies, cette préparation à un effet néfaste sur le processus de l'ostéointégration et fragilise l'os d'où le recours à des substances osteoinductrices qui sont chères d'une part et d'autres part sont toujours en cours de recherches pour certains produits.

Sachant que la propolis du commerce a montré son effet sur la formation osseuse, notre étude est venue pour donner une autre alternative dans le domaine des allogreffes diaphysaires en se penchant vers la médecine alternative. L'étude in vitro consiste au dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, ainsi que deux autres paramètres (le pH et le rendement) pour les dix échantillons.

L'expérimentation in vivo consiste à l'utilisation des greffons allogéniques implantés dans des fémurs de lapins afin de démontrer son pouvoir sur l'ostéointégration.

Cette expérimentation a été effectuée sur cinquante (50) lapins de race néozélandais (mâles) adultes d'âge compris entre 6 mois et 1 an, d'un poids corporel moyen estimé à 3 kg, dont 20 ont servi de donneurs.

Les lapins receveurs au nombre de trente ont été répartis en deux groupes de quinze, chaque groupe est divisé en cinq lots de trois lapins, le premier représente le groupe témoin et dont les animaux ont reçu une greffe allogénique corticale cylindrique autoclavée orthotopique, immobilisée par un enclouage centromédullaire simple de type kushner renforcé par une suture métallique. Le deuxième groupe a subi le même procédé chirurgical sauf que l'allogreffe autoclavée sera couverte d'une fine couche d'extrait de propolis algérienne en per opératoire (EEPA10).

Le but de ce travail est de choisir une propolis algérienne riche en substance active collectée de différentes régions du territoire national en montrant certaines vertus thérapeutiques sur les greffons allogéniques par un suivi clinique et para-clinique.

Les résultats in vitro ont montré que la propolis Algérienne de la région du sud et celle de l'ouest sont les plus riches: 99,98 mg Gallic Acid /g propolis de polyphénols totaux et de 54,4 mg Quercetin /g propolis de flavonoïdes totaux pour la wilaya de Laghouat (P10), et de 71,6 et 76,1 mg Gallic Acid /g propolis de polyphénols totaux et de 38,7 et 42,9 mg Quercetin/g propolis de flavonoïdes totaux respectivement pour les échantillons de Ouled boughadou (P8) et bouchakif (P6) wilaya de Tiaret, Algérie.

Le rendement de la propolis algérienne des quatre régions après l'extraction éthanolique a révélé une valeur maximale pour la propolis de la région du sud qui est de l'ordre de  $35,59 \pm 5,26$  % et un rendement minimal pour la région de l'est qui est de l'ordre de  $18,28 \pm 2,62$  %. Le pH trouvé était de  $4,47 \pm 0,26$  ce qui signifie que toutes les propolis sont de nature acide. Les valeurs maximales qui ont été enregistrées dans l'est sont de l'ordre de  $4,56 \pm 0,32$ , les valeurs minimales dans le centre sont de l'ordre de  $4,4 \pm 0,14$ .

In vivo nous avons constaté lors du suivi radiologique que la vitesse du passage du cal au niveau des interfaces était de l'ordre de  $5,33 \text{ Sem} \pm 2,33$  pour l'interface proximale et  $6,66 \text{ Sem} \pm 4,61$  pour l'interface distale; une excellente ostéoconduction et ostéoinduction au niveau des deux interfaces avec un éclatement du greffon constaté pour le lot ASP.

Le suivi hémato-biochimique laisse voir que l'hémoglobine pour les lots ASP et AAP en pré et post opératoire étaient très significatives, une baisse très significative ( $p < 0,01$ ) des leucocytes pour le lot AAP, des variations des taux de thrombocytes hautement significatives pour le lot AAP ( $p < 0,001$ ), une activité enzymatique de la phosphatase alcaline très significative ( $p < 0,001$ ) pour le lot AAP en pré et post opératoire. Le dosage du calcium en pré et post opératoire pour les deux lots avec et sans propolis était non significatif, alors qu'une variation très significative ( $p < 0,001$ ) pour le taux de phosphore pour le lot ASP en post opératoire.

Le résultat histologique révèle un score de 2 à (3 et 7 j) et de 3 à (10 et 12 j) et de 4 à j+12 j pour le lot ASP, pour le lot AAP un score de 2 à (3j) 2,5 à (7j) ,3 à (10j) et 4 à (12 et +12j).

Le suivi clinique a révélé l'obtention d'un appui complet et permanent pour les AAP dès le début de la première semaine alors que pour les ASP il n'a été observé qu'après la septième semaine. Pour les animaux dont nous avons utilisé les greffons couverts de l'EEPA10 l'évolution clinique a été caractérisée par l'apparition d'un gonflement au niveau de la plaie (fémur gauche) dès le 10<sup>ème</sup> jour du suivi, l'étendu du gonflement a été estimé à  $1 \text{ Cm}^2$ , Pour le groupe AAP. La température moyenne notée était de  $38,28^\circ\text{C} \pm 0,28$ , la maximale étant de  $38,7^\circ\text{C}$  et la minimale était de  $37,3^\circ\text{C}$ . Pour le groupe ASP une température moyenne de  $39,54^\circ\text{C} \pm 0,26$  a été enregistrée, la maximale étant de  $41,3^\circ\text{C}$  et la minimale était de  $39^\circ\text{C}$ . Aucune sortie de la broche n'a été observée soit pour les animaux avec une allogreffe non couverte de propolis ou pour les animaux dont les greffons allogéniques ont été couverts d'une fine couche d'EEPA10. Aucun comportement turbulent ou agressif n'a été observé soit pour les animaux ASP ou pour les animaux à AAP.

Notre étude a montré que la propolis algérienne la plus riche en flavonoïdes et polyphénols est celle de la région du sud (Laghouat) et la région de l'ouest (Tiaret) et que le pH de propolis algérienne est de nature acide, et que le rendement de la propolis algérienne varie de 18,28 à 35,59 %.

La propolis semble avoir un effet anti-inflammatoire, analgésique et même un effet anesthésique locale en postopératoire.

Nos résultats hémato-biochimiques montrent que l'EEPA10 (Laghouat) a un effet immunostimulant et que la perte de sang en pré opératoire engendre une diminution du taux d'hémoglobine en post opératoire, par ailleurs cette résine contient des substances anti agrégation plaquettaires.

La forte synthèse de la phosphate alcaline pour les lots AAP démontrant l'effet d'EEPA10 sur l'osteoinduction (formation des ostéoblastes) et on a pu déduire aussi que la propolis de Laghouat a pu couvrir la carence du phosphore vu les valeurs non significatives du phosphore en post opératoire.

Le suivi radiologique nous a permis de mieux comprendre l'action de l'EEPA10 sur l'ostéo-induction et l'ostéo-conduction par rapport à la rapidité de la vitesse du cal au niveau des deux interfaces et à la direction de son avancement au coté du greffon.

La radiographie nous a laissé la chance de déduire que le produit utilisé dans notre expérimentation semble avoir corrigé la fragilité causée par l'autoclavage et a rendu le greffon allogénique capable d'induire une osteoinduction et osteoconduction parfaite en ouvrant des perspectives pour la réévaluation des procédés d'autoclavage comme technique de stérilisation .

La propolis algérienne P10 semble être capable de stimuler la formation d'un cartilage minéralisé à sept jours et une formation osseuse à 12 jours.

Les clichés numériques de radiologie pendant trois mois nous ont aidés à mieux juger que l'enclouage centromédullaire simple renforcé par une suture métallique a assuré une excellente immobilisation des greffons diaphysaires chez l'espèce lapine .

**Mots clé :** Propolis algérienne, Allogreffe diaphysaire autoclavée, Osteoinduction, Osteoconduction, enclouage centromédullaire, ostéointégration, radiographie.

#### **Abstract:**

Allografts have lower incorporation properties, this type of graft requiring sterilization to reduce the antigenic charge and the risk of disease transmission, this preparation has a detrimental effect on the process of osseointegration and weakens the bone hence the use of osteoinductive substances which are expensive on the one hand and on the other hand are still under research for certain products.

Knowing that commercial propolis has shown its effect on bone formation, our study came to give another alternative in the field of diaphyseal allografts by leaning towards alternative medicine. The in vitro study consists of the determination of polyphenols and total flavonoids, as well as two other parameters (pH and yield) for the ten samples.

In vivo experimentation involves the use of allogeneic grafts implanted in femurs of rabbits to demonstrate its power over bone integration.

This experiment was carried out on fifty (50) New Zealand rabbits (males) aged between 6 months and 1 year, with an estimated average body weight of 3 kg, 20 of which served as donors.

The thirty recipient rabbits were divided into two groups of fifteen, each group divided into five groups of three rabbits, the first representing the control group and whose animals received an orthotopically autoclaved cylindrical cortical allogeneic graft, immobilized by a simple intramedullary nailing of the Kushner type reinforced by a metallic suture. The second group underwent the same surgical procedure except that the autoclaved allograft has been covered with a thin layer of Algerian propolis extract preoperatively (EEPA10).

The aim of this work is to choose an Algerian propolis rich in active substance collected from different regions of the national territory by showing some therapeutic virtues on allogeneic grafts by a clinical and para-clinical follow-up.

The in vitro results showed that the Algerian propolis of the southern region and that of the west are the richest: 99,98 mg Gallic Acid / g propolis of total polyphenols and 54,4 mg Quercetin g propolis of total flavonoids for the wilaya Laghouat (P10), 71,6 and 76,1 mg Gallic Acid / g propolis of total polyphenols and 38,7 and 42,9 mg Quercetin / g propolis of total flavonoids respectively for the samples of Ouled boughadou (P8) and bouchakif (P6) wilaya of Tiaret , Algeria.

The yield of the Algerian propolis from the four regions after the ethanolic extraction revealed a maximum value for propolis of the southern region which is of the order of  $35,59 \pm 5,26\%$  and a minimal yield for the eastern region which is in the range of  $18,28 \pm 2,62\%$ . The pH found was  $4,47 \pm 0,26$  which means that all propolis are acidic in nature. The maximum values that have been recorded in the east are of the order of  $4,56 \pm 0,32$ , the minimum values in the center are of the order of  $4,4 \pm 0,14$ .

In vivo, we observed during the radiological follow-up that the velocity of the passage of the callus at the level of the interfaces was of the order of 5,33 weeks  $\pm$  2,33 for the proximal and 6.66 weeks  $\pm$  4.61 for the distal interface; excellent osteoconduction and osteoinduction at both interfaces with burst seen for the ASP batch.

The hemato-biochemical follow-up shows that hemoglobin for pre and postoperative ASP and AAP lots was very significant, a very significant decrease ( $p < 0,01$ ) of leukocytes in the AAP lot, and highly significant variations in thrombocyte levels. For the AAP lot ( $p < 0,001$ ), a very significant alkaline phosphatase enzyme activity ( $p < 0,001$ ) for the pre and postoperative AAP batch was recorded. The calcium determination per and postoperatively for the two batches with and without propolis was insignificant, whereas a very significant variation ( $p < 0,001$ ) for the phosphorus level for the postoperative ASP batch was seen.

The histological result reveals a score of 2 to (3 and 7 days) and 3 to (10 and 12 days) and 4 to 12 days for the ASP batch, for the AAP batch a score of 2 to (3 days) 2,5 to (7days), 3 to (10 days) and 4 to (12 and + 12 days).

Clinical follow-up revealed that full and permanent support for AAP was obtained at the beginning of the first week whereas for ASP it was observed only after the seventh week. For the animals whose EEPA covered grafts were used, 10 the clinical course was characterized by the appearance of swelling at the level of the wound (left femur) as of the 10th day of follow-up, the extent of swelling was estimated at 1Cm<sup>2</sup>, for the AAP group. The average temperature noted was 38,28  $\pm$  0,28, the maximum being 38,7 ° C and the minimum was 37,3°C. For the ASP group an average temperature of 39,54 °C  $\pm$  0,26 was recorded, the maximum being 41,3 °C and the minimum was 39 °C. No spit exit was observed either for animals with an allograft not covered with propolis or for animals whose allogeneic grafts were covered with a thin layer of EEPA10. No turbulent or aggressive behavior was observed for either ASP or AAP animals.

Our study showed that the Algerian propolis the richest in flavonoids and polyphenols is that of the southern region (Laghouat) and the western region (Tiaret) and that the pH of propolis is acidic, and that the Algerian propolis yield ranges from 18,28 to 35,59 %.

Propolis appears to have an anti-inflammatory, analgesic effect and even a local anesthetic effect postoperatively.

Our hemato-biochemical results show that EEPA10 (Laghouat) has an immunostimulant effect and that preoperative blood loss results in a decrease in postoperative hemoglobin level, moreover this resin contains anti platelet aggregation substances. .

The strong synthesis of alkaline phosphate for AAP lots demonstrating the effect of EEPA10 on osteoinduction (formation of osteoblasts) and it was also possible to deduce that Laghouat propolis was able to cover the phosphorus deficiency given the insignificant values of Phosphorus postoperatively.

The radiological follow-up allowed us to better understand the action of the EEPA10 on osteo-induction and osteo-conduction compared to the speed of the callus at the two interfaces and the direction of its advancement next to the graft.

The X-ray gave us the chance to deduce that the product used in our experiment seems to have corrected the fragility caused by autoclaving and made the allogeneic graft capable of inducing perfect osteoinduction and osteoconduction by opening up perspectives for the re-evaluation of the procedures of autoclaving as a sterilization technique

Algerian propolis P10 appears to be able to stimulate the formation of cartilage mineralized at seven days and a bone formation at 12 days.

Radiographic digital radiography for three months helped us to better judge that simple intramedullary nailing reinforced by a metal suture ensured excellent immobilization of diaphyseal grafts in the rabbit species.

**Key words:** Algerian Propolis, autoclaved diaphyseal allograft, osteoinduction, osteoconduction, intramedullary nailing, bone integration, radiography.