

ECOLE DU VAL-DE-GRACE

A Monsieur le Médecin Chef des Services Jean-François GALLET

Directeur-adjoint

Chevalier de l'ordre national de la Légion d'Honneur

Chevalier de l'ordre national du Mérite

Chevalier de l'ordre du Mérite Maritime

UNIVERSITE SORBONNE PARIS NORD

A Monsieur le Pr Dominique LEDOUX

Directeur de l'Ecole Doctorale Galilée

Nous vous remercions d'avoir autorisé cette procédure de Validation des Acquis de l'Expérience (VAE) au sein de votre Ecole Doctorale, et d'en avoir facilité la réalisation.

A Monsieur le Pr Jean Pierre ATTAL

Directeur de l'Unité de Recherche Biomatériaux Innovations et Interfaces, EA 4462

Nous vous sommes très reconnaissants d'avoir accepté de nous accueillir comme doctorant dans votre unité de recherche.

AUX MEMBRES DU JURY

A Monsieur le Pr Didier LUTOMSKI

Chercheur à l'Unité de Recherche Biomatériaux Innovations et Interfaces, EA 4462, Université Sorbonne Paris Nord

Vous avez soutenu notre démarche de doctorat de sciences par VAE et avez tout fait pour qu'elle se réalise au sein de l'Université Sorbonne Paris Nord. Vous nous avez ensuite fait l'honneur de diriger ce travail de thèse. Sans vous rien n'aurait été possible. Soyez ici assuré de notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Alain-Charles MASQUELET

Professeur émérite à la faculté de médecine de Paris Sorbonne Université

Vous avez été notre maître durant notre formation chirurgicale et nous avez transmis votre passion pour la chirurgie réparatrice. Vous resterez pour nous un modèle d'excellence et un exemple à suivre. Nous sommes très honorés de votre présence et espérons que cette thèse sera à la hauteur de vos attentes. Soyez assurés de notre grand respect et infinie reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Thomas GREGORY

Professeur à la faculté de médecine de l'Université Sorbonne Paris Nord

Nous profitons de cette occasion pour vous remercier de votre enseignement lorsque vous étiez notre chef de clinique. Nous sommes heureux que vous ayez accepté de juger ce travail et vous exprimons à nouveau notre gratitude.

A Monsieur le Docteur Jean-Marc COLLOMBET

Directeur de l'Unité de Biothérapies Ostéoarticulaires, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Brétigny-sur-Orge

Ce travail est issu de notre fructueuse collaboration durant les quatre dernières années. Vous avez été à l'origine de notre démarche de VAE au sein de l'Université Sorbonne Paris Nord, et avez co-dirigé cette thèse avec beaucoup de bienveillance. Trouvez ici l'expression de notre amitié et de nos sincères remerciements.

A Mademoiselle le Docteur Marjorie DURAND

Chercheuse à l'Unité de Biothérapies Ostéoarticulaires, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Brétigny-sur-Orge

Vous avez assuré la conduite quotidienne de l'ensemble des travaux de recherche expérimentale présentés ici. Vous avez partagé avec nous le fruit de vos recherches et nous avez initiés à l'expérimentation animale. Ce travail n'aurait pu aboutir sans votre aide et votre soutien permanent. Recevez ici le témoignage de notre amitié et de notre profonde gratitude.

REMERCIEMENTS

Nous sommes très reconnaissants au Professeur Thierry BEGUE d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail et d'avoir permis cette soutenance.

Nous remercions le Médecin Général Inspecteur (2S) Sylvain RIGAL de l'Hôpital d'Instruction des Armées Percy et le Médecin Général Inspecteur (2S) Humbert BOISSEAUX de l'Ecole du Val-de-Grâce pour avoir autorisé le financement de cette procédure de thèse de sciences par VAE.

Nous souhaitons enfin remercier Madame Danielle TRIOREAU et Monsieur Eric DUTEIL de l'Ecole du Val-de-Grâce pour nous avoir aidés dans les diverses démarches administratives et pour avoir facilité l'aboutissement de ce projet.

SOMMAIRE

PARTIE 1 : PRESENTATION DES TITRES ET TRAVAUX SCIENTIFIQUES	1
1. Grades et titres d'université	2
2. Activités professionnelles	4
3. Activités d'enseignement	5
4. Activités d'encadrement	7
5. Activités scientifiques chirurgicales	9
6. Publications	10
7. Communications	23
PARTIE 2 : PRESENTATION THEMATIQUE DES TRAVAUX SUR LA TECHNIQUE DE LA MEMBRANE INDUITE	30
1. Introduction	31
2. Rappels bibliographiques	34
2.1 Généralités sur la réparation osseuse	34
2.1.1 Notion de défaut osseux critique	34
2.1.2 Réparation spontanée des défauts osseux non critiques	34
2.1.3 Reconstruction des défauts osseux critiques	38
2.2 Technique de la membrane induite	47
2.2.1 Description des temps opératoires – Annexes 1 et 2	47
2.2.2 Règles d'utilisation – Annexes 1, 2 et 3	50
2.2.3 Bases biologiques – Annexe 4	57

3. Voies d'optimisation par la recherche clinique	64
3.1 Utilisation en contexte militaire	64
3.1.1 Reconstruction du tibia – Annexe 5	64
3.1.2 Reconstruction des traumatismes balistiques – Annexe 6	68
3.1.3 Fixation interne séquentielle des défauts infectés – Annexe 7	71
3.2 Utilisation en situation sanitaire dégradée	75
3.2.1 Dans un hôpital de référence africain – Annexe 8	75
3.2.2 Dans une formation chirurgicale de l'avant – Annexe 9	79
3.2.3 Vers une technique sans ciment – Annexe 10	82
3.3 Identification des facteurs de risque d'échec	85
3.3.1 Un cas d'école – Annexe 11	85
3.3.2 Etude MEMBRAN – Annexe 12	89
3.3.3 Classification des échecs – Annexes 13 et 14	94
4. Voies d'optimisation par la recherche expérimentale	97
4.1 Notre modèle rongeur de défaut fémoral – Annexe 15	97
4.2 Polypropylène : un <i>spacer</i> à moindre coût – Annexe 15	105
4.3 Recherche d'autres <i>spacers</i> alternatifs	111
4.3.1 PMMA poreux <i>versus</i> PMMA lisse	111
4.3.2 Métakaolin <i>versus</i> PMMA	113
5. Conclusions et perspectives de recherche	116
5.1 Conclusions	116
5.2 Perspectives	117
5.2.1 Optimisation des <i>spacers</i> creux en polyéthylène	117
5.2.2 Influence de l'infection sur l'induction membranaire	118
REFERENCES	119
ANNEXES	126

ABBREVIATIONS

BMP : *Bone Morphogenic Protein*

BV : *Bone Volume*

CMC : carboxymethylcellulose

CRP : Protéine C Réactive

CS : Cortico-Spongieux(se)

CSM : Cellules Stromales Mésoenchymateuses

DCO : *Damage Control Orthopédique*

ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

FBGC : *foreign body giant cells*

FGF : *Fibroblast Growth Factor*

GITF : Greffe Inter-Tibio-Fibulaire

IL: *Interleukin*

MAP-K : *Mitogen Activated Protein Kinases*

MCP-1 : *Monocyte Chemoattractant Protein-1*

MI : Membrane Induite

Micro-CT : *Micro-Computed Tomography*

MMP : *Matrix Metalloproteinases*

OBF : One Bone Forearm

P1NP : *Procollagen-1 N terminal telopeptide*

PDGF : *Platelet Derived Growth Factor*

PMMA : Polyméthylméthacrylate

PNN : Polynucléaires Neutrophiles

PPP : Polypropylène

PRF : *Platelet-Rich Fibrin*

PRP : *Platelet-Rich Plasma*

PSO : Perte de Substance Osseuse

RUNX-2 : *Runt-related transcription factor 2*

SDF-1 : *Stromal cell-Derived Factor-1*

TFV : Transfert de Fibula Vascularisé

TGF- β : *Transforming Growth Factor*

TIMP-1 : *Tissue Inhibitor Metalloproteinase-1*

TMI : Technique de la Membrane induite

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor α*

TOS : Transfert Osseux Segmentaire

TRAP-C: *Tartrate-Resistant Alcaline Phosphatase C*

TV : *Total Volume*

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

vWF : Von Willebrand Factor

PARTIE 1 : PRESENTATION DES TITRES ET TRAVAUX SCIENTIFIQUES

1. Grades et titres d'université

PARCOURS SANTE

Diplôme d'Etudes Spécialisées Complémentaires en chirurgie orthopédique et traumatologie (DESC), Université Paris VI - UFR Pitié-Salpêtrière, 2010

Diplôme d'Etudes Spécialisées (DES) en chirurgie générale, Université Paris VI – UFR Pitié-Salpêtrière, 2009

Doctorat en médecine, qualification en médecine générale, Université Lyon I, 2003

Autres diplômes d'université (DU) :

Diplôme Inter-Universitaire (DIU) de pathologie de la main et du membre supérieur, Université Paris VII, 2008 et 2009

DU de chirurgie réparatrice en situation précaire, Université Paris VI, 2008

DIU d'arthroscopie, Université Paris V, 2007

DIU de pathologie de l'épaule et du coude, Université Paris XII, 2006

DU de techniques microchirurgicales Université Paris XIII, 2006

DU d'anatomie chirurgicale des membres, Université Paris V, 2005

Capacité de médecine de catastrophe, Université Paris XII, 2003

DIU de pathologie locomotrice du sport, Université de Grenoble, 2001

DIU de médecine tropicale, Université Lyon I, 2000

PARCOURS SCIENTIFIQUE

Master 2 de recherche MEGA (Mécanique – Energétique - Génie civil - Acoustique), parcours biomécanique, Université Lyon I, 2011. Mention Très Bien.

Mémoire : Comportement mécanique du thorax lors de la kinésithérapie respiratoire chez l'adulte. Dirigé par le Dr Karine Bruyère-Garnier du Laboratoire de Biomécanique et de Mécanique des Chocs de l'Institut Français des Sciences et Technologies des Transports, de l'Aménagement et des Réseaux (IFSTTAR/UCBL1) de Lyon-Bron.

Master 1 de Sciences biologiques et médicales, Université Lyon I, 2000

Obtenu après la validation des :

- Certificat de physiologie oro-faciale (1998)
- Certificat d'anatomie et morphogenèse (1999)
- Certificat d'anatomie, imagerie et morphogenèse (2000)

2. Activités professionnelles

Septembre 1993 à mars 2002

Ecole du Service de Santé des Armées, Lyon, Etudiant en médecine militaire

Mai 2002 à juin 2003

Ecole d'Application du Service de Santé des Armées, Paris, Résident en médecine générale

Juillet 2003 à août 2004

Base Pétrolière Interarmées, Chalon-sur-Saône, Praticien en médecine générale

Septembre 2004 à octobre 2010

Ecole du Val-de-Grâce, Paris, Praticien confirmé dans la discipline chirurgie orthopédique et traumatologie. Inscription à l'université Paris VI – UFR Pitié Salpêtrière

Novembre 2010 à août 2014

Hôpital d'Instruction des Armées Desgenettes, Lyon, Praticien certifié dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologie

Septembre 2014 à aujourd'hui

Hôpital d'Instruction des Armées Percy, Clamart, Praticien certifié, puis praticien professeur agrégé dans le service de chirurgie orthopédique, traumatologie et chirurgie réparatrice

Avril 2016 à aujourd'hui

Ecole du Val-de-Grâce, Paris, Professeur agrégé à la Chaire de Chirurgie Appliquée aux Armées

Avril 2019 à aujourd'hui

Chef de service de chirurgie orthopédique, traumatologie et chirurgie réparatrice à l'Hôpital d'Instruction des Armées Percy, Clamart

3. Activités d'enseignement

ENSEIGNEMENT HOSPITALIER

Encadrement des internes et étudiants en médecine dans divers services de chirurgie orthopédique et traumatologique :

- Hôpital Saint-Antoine (APHP), Paris, 2009-2010
- Hôpital d'Instruction des Armées Desgenettes, Lyon, 2010-2014
- Hôpital d'Instruction des Armées Percy, depuis 2014

ENSEIGNEMENT UNIVERSITAIRE

Cours relatifs à la **chirurgie de guerre** et à la **traumatologie** :

- Cours au DES de chirurgie, Ecole de Chirurgie-AGEPS, APHP, 2021
- DIU de balistique lésionnelle, Université Lyon I, 2016-2019
- Module optionnel « Santé et Défense », Université Paris V Descartes, 2018
- DIU d'urgences de l'appareil locomoteur, Université Paris XIII, depuis 2015

Cours relatifs à la **chirurgie de la main** :

- DESC de chirurgie orthopédique, Université Paris VI, 2010
- DESC de chirurgie orthopédique, Université Lyon I, 2012 et 2015
- DIU de pathologie chirurgicale de la main et du membre supérieur, Université Paris VII, 2017
- DU d'appareillage, Université Paris VI, depuis 2016

ENSEIGNEMENT MEDICO-MILITAIRE

Cours Avancé de CHIRURGIE en Missions EXTérieures (CACHIRMEX)

- Coordinateur du module 2, Traumatismes des membres de guerre, depuis 2016
- Enseignant du module 2, Traumatismes des membres de guerre, depuis 2012
- Enseignant du module 5, Aide médicale aux populations, depuis 2014
- Enseignant au cours de chirurgie réparatrice en opérations extérieures, 2019

Autres cours dispensés à l'Ecole du Val-de-Grâce :

- DU d'urgences en temps de crise, depuis 2014
- Module de préparation physique et opérationnelle, depuis 2014

Cours internationaux de chirurgie de guerre :

- European Paediatric Orthopaedic Society EPOS-BAT advanced course, Vienna, 2018
- Cours de chirurgie de guerre et de catastrophe, Hôpitaux Universitaires de Genève, depuis 2018
- War Surgery Seminar, International Red Cross Committee, Geneva, since 2017

4. Activités d'encadrement

DIRECTION DE THESES DE MEDECINE

Danis J. Chirurgie orthopédique en situation précaire : à propos de l'expérience du Service de Santé des Armées au Tchad. Université Paris XIII, 2013

Honorat M. Les gelures en milieu militaire : étude cas-témoins à recrutement incident dans les Alpes sur l'hiver 2012-2013. Université Lyon I, 2014

Rassat R. Traumatismes du poignet et de la main chez les militaires en opérations extérieures. Université Lyon I, 2015

Choufani C. Qualité de la formation des chirurgiens orthopédistes militaires avant départ en missions extérieures. Université Paris XI, 2016

Valade G. Rapatriement sanitaire pour traumatisme du genou sans fracture associée, de janvier 2011 à décembre 2015 : évaluation de la performance diagnostique de l'examen clinique initial. Université Paris XI, 2017

de la Robertie I. Evaluation du traitement chirurgical du syndrome compartimental chronique de jambe : à propos de 28 cas. Université Paris XI, 2017

Grosset A. Echecs du traitement des traumatismes de guerre des membres : analyse de treize ans d'activité à l'HIA Percy. Université Paris XI, 2018

Pfister G. Main de blast par agent vulnérant de guerre : expérience du Service de Santé des Armées français. Université Paris XI, 2019

Ghabi A. Evaluation des pratiques et de la formation à la microchirurgie dans le Service de Santé des Armées français. Université Paris XIII, 2020

Milaire A. Analyse des amputations des membres inférieurs pratiquées dans un *trauma center* militaire. *Travail en cours*

EVALUATION DE THESES DE MEDECINE

Fournel-Berthon C. Apports des conflits afghan et irakien dans la prise en charge des blessés de guerre des membres. Université Lyon I, 2012

Chipault M. Epidémiologie de la pratique sportive et des blessures liées aux activités physiques et sportives chez les personnels navigants militaires français. Université Paris XI, 2016

Gojon YH. Epidémiologie des affections médicales et traumatiques en athlétisme amateur sur piste. Université Paris XI, 2016

Gosselin M. Evolution de l'accidentologie en parachutisme militaire à ouverture automatique. Etude comparative descriptive entre deux systèmes de mise à terre : l'ensemble de parachutage individuel et l'ensemble de parachutage du combattant. Université de Bordeaux, 2018

Russo AP. Etude scanographique du positionnement du tunnel fémoral lors de la reconstruction combinée du ligament croisé antérieur et du ligament antéro-latéral par une visée fémorale unique out-in. Université Paris XIII, 2019

Amar S. Incidence des névromes douloureux à la main après suture de nerfs sensitifs. Comparaison de trois types de réparation : suture microchirurgicale simple, suture associée à un manchonnage veineux et suture protégée par un neurotube. Université Paris XIII, 2020

5. Activités scientifiques chirurgicales

AFFILIATION A DES SOCIETES SAVANTES

Société Française de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (SOFOT)

Membre de la SOFOT depuis 2007

Membre du Collège Français des Chirurgiens Orthopédistes et Traumatologues (CFCOT) depuis 2014

Membre formateur du CFCOT depuis 2017

Membre du bureau du CFCOT depuis 2019

Société Française de Chirurgie de la Main (SFCM)

Membre associé de la SFCM depuis 2011

Droit au titre de chirurgien de la main depuis 2014

Membre titulaire de la SFCM depuis 2018

Membre formateur du collège des enseignants en chirurgie de la main depuis 2019

CONTRIBUTION A DES REVUES SCIENTIFIQUES

Membre de l'editorial board de *Médecine et Santé Tropicale* de 2016 à 2019

Reviewer pour *Médecine et santé tropicale* (>25 articles entre 2013 et 2019), *Médecine et Armées* (12 articles depuis 2013), *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research* (10 articles depuis 2017), *European Journal of Trauma and Emergency Surgery* (10 articles depuis 2019), *Military Medicine* (6 articles de 2017 à 2018) et diverses autres revues dont : *Chirurgie de la Main, Hand Surgery and Rehabilitation, Journal of International Medical Research, Case reports in orthopedics, Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine, British Medical Journal Journal of Hand and Microsurgery, Injury*

6. Publications

PUBLICATIONS REFERENCES SUR PUBMED

81- Demoures T, Choufani C, Contargyris C, Cauber A, **Mathieu L**, Barbier O. Treating osteoarticular infections in a rôle 2 in Chad: a bacterial epidemiological study. *BMJ Mil Health* 2021; Feb 8. doi: 10.1136/bmjmilitaru-2020-001604.

80- **Mathieu L**, Achour S, Oberlin C, Belkheyyar Z. Single versus double tendon transfer for foot drop due to post-traumatic common fibular nerve palsy. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2021; Jan 21. doi: 10.1007/s00068-021-01602-6.

79- **Mathieu L**, Plang S, de l'Escalopier N, Murison JC, Gaillard C, Bertani A, Rongi eras F. Correction to: Extremity soft tissue coverage in the combat zone: use of pedicled flap transfers by the deployed orthopedic surgeon. *Mil Med Res* 2021 jan 218(1):4. Doi: 10.1186/s40779-020600290-4.

78- de l'Escalopier, **Mathieu L**, Duret C, Banzet S, Gen et F, Salga M. Re : « High prevalence of heterotopic ossification in critically ill patients with severe COVID-19” by Stoira et al. *Clin Microbiol Infect* 2021 Jan15;S1198-743X(21)00030-6.

77- Alqassab S, **Mathieu L**. Torture-induced hand electrical injury: A case report. *J Forensic Leg Med* 2020 Nov 21; 77 :102085. doi: 10.1016/j.jflm.2020.102085.

76- **Mathieu L**, Durand M, Collombet JM, de Rousiers A, de l'Escalopier N, Masquelet AC. Induced membrane technique : a critical literature analysis and proposal for a failure classification scheme. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2020 Nov 23. doi: 10.1007/s00068-020-01540-9.

75- **Mathieu L**, Plang S, de l'Escalopier N, Murison JC, Gaillard C, Bertani A, Rongi eras F. Extremity soft tissue coverage in the combat zone: use of pedicled flap transfers by the deployed orthopedic surgeon. *Mil Med Res* 2020 Oct 24;7(1):51. doi: 10.1186/s40779-020-00281-5.

74- Baus A, Bich CS, Grosset A, de Rousiers A, Duhoux A, Brachet M, Duhamel P, Thomas M, Rogez D, **Mathieu L**, Bey E. Medical and surgical management of lower extremity war-related injuries. Experience of the French Military Health Service (FMHS). *Ann Chir Plast Esthet.* 2020 Aug 26: S0294-1260(20)30086-8.

- 73- Choufani C, Demoures T, de l'Escalopier N, Chapon MP, Barbier O, **Mathieu L**. Application of the Masquelet technique in austere environments: experience from a French forward surgical unit deployed in Chad. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2020 Aug 28. doi: 10.1007/s00068-020-01471-5.
- 72- **Mathieu L**, Durand M, Demoures T, Steenman C, Masquelet AC, Collombet JM. Repeated induced-membrane technique failure without infection : A Series of Three Consecutive Procedures Performed for a Single Femur Defect. *Case Rep Orthop*. 2020 Aug 7; 2020: 8892226. doi: 10.1155/2020/8892226.
- 71- Chataigneau A, Milaire A, Martin PV, Danis J, Bazile F, de l'Escalopier N, **Mathieu L**. Hindfoot blast injuries caused by improvised explosive devices: long-term functional assessment in French military personnel. *Int Orthop*. 2020 Aug 8. doi: 10.1007/s00264-020-04766-9.
- 70- **Mathieu L**, Tossou-Odjo L, de l'Escalopier N, Demoures T, Baus A, Brachet M, Masquelet AC. Induced membrane technique with sequential internal fixation: use of a reinforced spacer for reconstruction of infected bone defects. *Int Orthop*. 2020 Sep;44(9):1647-1653.
- 69- **Mathieu L**, Potier L, Ndiaye R, Sene M, Mbaye E, Faye M, Niang CD. - Soft tissue reconstruction in the leg by orthopedic surgeons: Practices at an African trauma center. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2020 Sep;106(5):825-829.
- 68- Bilichtin E, de Rousiers A, Durand M, de l'Escalopier N, Collombet JM, Rigal S, **Mathieu L**. Bone reconstruction by the induced membrane technique. What differences between conventional and ballistic trauma? *Orthop Traumatol Surg Res*. 2020 Sep;106(5):797-801.
- 67- Pfister G, Murison JC, Grosset A, Duhoux A, Lapeyre E, Bauer B, **Mathieu L**. Blast injury of the hand related to warfare explosive devices: experience from the French Military Health Service. *BMJ Mil Health* 2020; Feb 20. doi: 10.1136/jramc-2019-001326.
- 66- Durand M, Barbier L, **Mathieu L**, Poyot T, Demoures T, Souraud JB, Masquelet AC, Collombet JM. Towards understanding therapeutic failures in Masquelet surgery: first evidence that defective induced membrane properties are associated with clinical failures. *J Clin Med* 2020; Feb 6;9(2):450. doi: 10.3390/jcm9020450.
- 65- Choufani C, Barbier O, Demoures T, **Mathieu L**, Rigal S. Evaluation of a fellowship abroad as part of the initial training of the French military surgeon. *BMJ Mil Health*. 2020; Feb 2. doi: 10.1136/jramc-2019-001303.

- 64- **Mathieu L**, Addas BMJ, Irimura SC, Oberlin C, Belkheyar Z. Management of sciatic nerve defects: lessons learned and proposal for a new strategy. *Ann Plast Surg* 2019; Dec 18. doi: 10.1097/SAP.0000000000002233.
- 63- Ghabi A, Amar S, Harion M, Legagneux J, Vignes JL, **Mathieu L**. Microvascular anastomosis using loupes and smartphone magnification: experimental study for application to limited-resource environments. *Hand Surg Rehabil* 2019; Dec 11. pii: S2468-1229(19)30365-2. doi: 10.1016/j.hansur.2019.11.004.
- 62- Bourbotte-Salmon F, Bertani A, Alvernhe A, Rongieras F, **Mathieu L**. Tibia chronic osteomyelitis complicated by fracture in children: relevance of pedicle flaps in low resources setting. *Med Sante Trop* 2019; 29(3):259-263.
- 61- **Mathieu L**, Ghabi A, Amar S, Murison JC, Boddaert G, Levadoux M. The state of microsurgical practice in French forward surgical facilities from 2003 to 2015. *Hand Surg Rehabil* 2019; doi: 10.1016/j.hansur.2019.09.003.
- 60- Pfister G, Ghabi A, de Carbonnières A, Oberlin C, Belkheyar Z, **Mathieu L**. Direct suturing of sciatic nerve defects in high-degree knee flexion: An Experimental Study. *World Neurosurg* 2019; doi: 10.1016/j.wneu.2019.08.258.
- 59- **Mathieu L**, Potier L, Ndiaye R, Mbaye E, Sene M, Faye M, Niang CD. Management of Gustilo type IIIB open tibial shaft fractures with limited resources: experience from an African trauma center. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2019; doi: 10.1007/s00068-019-01223-0.
- 58- **Mathieu L**, Bilichtin E, Durand M, de l'Escalopier N, Murison JC, Collombet JM, Rigal S. Masquelet technique for open tibia fractures in a military setting. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2020; 46(5):1099-1105.
- 57- de l'Escalopier N, Choufani C, Grosset A, de Lesquen H, Murison JC, Bertani A, **Mathieu L**. Surgical Management of Mycetoma in Chad: Experience from the French Forward Surgical Team Deployed in N'Djamena. *Med Sante Trop*;29(2):164-169.
- 56- **Mathieu L**, Masquelet AC. Use of the induced membrane technique for long bone reconstruction in low-resource settings. *Med Sante Trop* 2019;29(2):127-132.
- 55- **Mathieu L**, Alqassab S, Fakhi RM. Sniper-induced sciatic nerve injury. *J R Army Med Corps* 2019; doi: 10.1136/jramc-2019-001269.

- 54- **Mathieu L**, Mongo V, Potier L, Bertani A, Niang CD, Rigal S. Type III open tibia fractures in low-resources setting. Part 3: achievement of bone union and treatment of segmental bone defects. *Med Sante Trop* 2019;29(1):36-42.
- 53- **Mathieu L**, Pfister G, Murison JC, Oberlin C, Belkheyar Z. Missile Injury of the Sciatic Nerve: Observational Study Supporting Early Exploration and Direct Suture With Flexed Knee. *Mil Med* 2019; doi: 10.1093/milmed/usz087.
- 52- Grosset A, Pfister G, de l'Escalopier N, Plang S, Russo AP, Murison JC, **Mathieu L**, Rigal S. Risk factors and failures in the management of limb injuries in combat casualties. *Int Orthop* 2019; doi: 10.1007/s00264-019-04329-7.
- 51- Murison JC, Pfister G, Amar S, Rigal S, **Mathieu L**. Metacarpal bone reconstruction by a cementless induced membrane technique. *Hand Surg Rehabil* 2019 Apr;38(2):83-86.
- 50- Grosset A, Mangin P, MacNab C, Pfister G, de l'Escalopier N, Cournac JM, Aletti M, Samson T, Rigal S, **Mathieu L**. Input of a multi-disciplinary meeting in the treatment of osteoarticular infections in French war casualties. *Mil Med* 2018; doi: 10.1093/milmed/usy369.
- 49- Vigouroux F, Choufani C, Grosset A, Barbier O, Rigal S, **Mathieu L**. Application of damage control orthopedics to combat-related hand injuries. *Hand Surg Rehabil* 2018;37(6): 342-348.
- 48- **Mathieu L**, Potier L, Niang CD, Rongi eras F, Duhamel P, Bey E. Type III open tibia fractures in low resources setting. Part 2: Soft-tissue coverage with simple, reliable and replicable pedicle flaps. *Med Sante Trop* 2018;28(3):230-236.
- 47- Russo AP, Caubere A, Ghabi A, Grosset A, Mangin P, Rigal, **Mathieu L**. Sequential management of tibial fractures using a temporary unicortical external fixator. *J-SICOT* 2018; 4:39.
- 46- Choufani C, Barbier O, Mayet A, Rigal S, **Mathieu L**. Preparedness evaluation of French military orthopaedic surgeons before deployment. *Mil Med* 2018 Jun 13. doi: 10.1093/milmed/usy134. [Epub ahead of print].
- 45- **Mathieu L**, Grosset A, Bertani A, Potier L, Murison JC, Niang CD, Rigal S. Type III open tibia fractures in low-resources setting. Part 1: strategy and principles of limb salvage. *Med Sante Trop*. 2018 May 1;28(2):133-139.

- 44- Girard P, Hassan-Farah I, Bich CS, Charpail C, Rigal S, **Mathieu L**. Extensive septic myonecrosis related to compartment syndrome: is the upper extremity salvage achievable in precarious setting? *Med Sante Trop* 2018 ;22: 206-211.
- 43- **Mathieu L**, Levadoux M, Soucany de Landevoisin E, McBride T, Rigal S. Digital replantation in forward surgical units: cases report. *SICOT-J* 2018, 4, 9.
- 42- Rigal S, **Mathieu L**, de l'Escalopier N. Temporary fixation of limbs and pelvis. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2017 Nov 29. pii: S1877-0568(17)30335-3. doi: 10.1016/j.otsr.2017.03.032. [Epub ahead of print].
- 41- Choufani C, Barbier O, Grosset A, Murison JC, Ollat D, Rigal S, **Mathieu L**. Initial management of complex hand injuries in military or austere environments: how to defer and prepare for definitive repair? *Int Orthop.* 2017 Sep;41(9):1771-1775.
- 39- Roger J, **Mathieu L**, Mottier F, Vigouroux F, Chauvin F, Rongiéras F. Trapeziometacarpal joint dislocation complicated by a trapezium fracture: a case report and literature review. *Hand Surg Rehabil.* 2016 Sep;35(4):288-291.
- 38- Vigouroux F, Bertani A, Cunin V, **Mathieu L**, Launay F, Rongieras F. Clubfoot treatment: Implementation of the Ponseti method in emerging countries. *Med Sante Trop.* 2016 Jan-Mar;26(1):24-30.
- 37- de l'Escalopier N, **Mathieu L**, Valade G, Ficko C, Rigal S. Infectious risk for suicide bomber attack victims: management of penetrative wounds in French Army personnel. *Int Orthop.* 2016 May;40(5):861-4.
- 36- Rongiéras F, Bertani A, Baudoin Y, **Mathieu L**. Le choix tactique de gestes incomplets mais rapides, efficaces et salvateurs. *Rev Prat* 2016 ;66: 791-5.
- 35- Bonnet S, Gonzalez F, **Mathieu L**, Boddaert G, Hornez E, Bertani A, Avaro JP, Durand X, Rongieras F, Balandraud P, Rigal S, Pons F. The French Advanced Course for Deployment Surgery (ACDS) called Cours Avanc  de Chirurgie en Mission Ext rieure (CACHIRMEX): history of its development and future prospects. *J R Army Med Corps.* 2016 Oct;162(5):343-347.
- 34- Bonnet S, Bertani A, Savoie PH, **Mathieu L**, Boddaert G, Gonzalez F, Poichotte A, Durand X, Rongiéras F, Balandraud P, Pons F, Rigal S. Humanitarian Surgical Care Provided by a French Forward Surgical Team: Ten Years of Providing Medical Support to the Population of the Ivory Coast. *Mil Med.* 2015 Oct;180(10):1075-82.

- 33- Barbier O, **Mathieu L**, Bertani A, Pons F, Ollat D. Pediatrics activity in military theatre. *Med Sante Trop*. 2015 Apr-Jun; 25(2):122-4.
- 32- Bertani A, **Mathieu L**, Dahan JL, Launay F, Rongi eras F, Rigal S. War-related extremity injuries in children: 89 cases managed in a combat support hospital in Afghanistan. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2015 May;101(3):365-8.
- 31- **Mathieu L**, Bertani A, Rongi eras F, Chaudier P, Mary P, Versier G. Wartime paediatric extremity injuries: experience from the Kabul International Airport Combat support hospital. *J Pediatr Orthop B*. 2015 May;24(3):238-45.
- 30- **Mathieu L**, Joly B, Bonnet S, Bertani A, Rongi eras F, Pons F, Rigal S. Modern teaching of military surgery: why and how to prepare the orthopaedic surgeons before deployment? The French experience. *Int Orthop*. 2015 Oct;39(10):1887-93.
- 29- **Mathieu L**, Mottier F, Bertani A, Danis J, Rongi eras F, Chauvin F. Management of neglected open extremity fractures in low-resource settings: Experience of the French Army Medical Service in Chad. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2014 Nov;100(7):815-20.
- 28- **Mathieu L**, Saint-Macary E, Frank M, Bertani A, Rongi eras F, Balandraud P, Rigal S. Multiple blast extremity injuries: is definitive treatment achievable in a field hospital for local casualties? *Int Orthop*. 2014 Dec;38(12):2565-9.
- 27- **Mathieu L**, Gaillard C, Pellet N, Bertani A, Rigal S, Rongi eras F. Soft tissue coverage of war extremity injuries: the use of pedicle flap transfers in a combat support hospital. *Int Orthop*. 2014 Oct;38(10):2175-81.
- 26- **Mathieu L**, Marty A, Ramaki A, Najib A, Ahmadzai W, Fugazzotto DJ, Rigal S, Shirzai N. Current issues with lower extremity amputations in a country at war: experience from the National Military Hospital of Kabul. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2014 Jun;40(3):387-93.
- 25- **Mathieu L**, Bertani A, Gaillard C, Ollat D, Rigal S, Rongi eras F. Wartime upper extremity injuries: experience from the Kabul International Airport combat support hospital. *Chir Main*. 2014 Jun;33(3):183-8.
- 24- **Mathieu L**, Bertani A, Gaillard C, Chaudier P, Ollat D, Bauer B, Rigal S. Surgical management of combat-related upper extremity injuries. *Chir Main*. 2014 Jun;33(3):174-82.
- 23- **Mathieu L**, Bertani A, Chaudier P, Charpail C, Rongi eras F, Chauvin F. Management of the complications of traditional bone setting for upper extremity fractures: the experiences of a French Forward Surgical Team in Chad. *Chir Main*. 2014 Apr;33(2):137-43.

- 22- **Mathieu L**, Ouattara N, Poichotte A, Saint-Macari E, Barbier O, Rongiéras F, Rigal S. Temporary and definitive external fixation of war injuries: use of a French dedicated fixator. *Int Orthop*. 2014 Aug;38(8):1569-76.
- 21- **Mathieu L**, Guillibert E, Mamane W, Masmajejan EH. The psychotic mummified hand: an unusual hand injury complication. *Chir Main*. 2013 Dec;32(6):413-5.
- 20- **Mathieu L**, Gaillard C, Mottier F, Bertani A, Rongiéras F, Chauvin F. Management of bilateral hand amputations in low resources setting: the Krukenberg procedure is still indicated. *Med Sante Trop*. 2013 Jul-Sep;23(3):276-80.
- 19- Courtin C, **Mathieu L**, Rongiéras F, Bertani A, Chauvin F. Comorbid puffy hand syndrome and factitious disorders: an unusual association with poor prognosis. *Chir Main*. 2013 Sep;32(4):251-4.
- 18- Frank M, **Mathieu L**. Management of war orthopaedic injuries in recent armed conflicts. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2013;80(3):197-202.
- 17- Bertani A, Menguy P, Delmas JM, Launay F, **Mathieu L**, Candoni P, Dulou R, Rongiéras F. Assessment of surgical teleconsultations in a developing country: two years of experience in Djibouti. *Med Sante Trop*. 2012 Oct-Dec;22(4):405-8.
- 16- **Mathieu L**, Adam C, Legagneux J, Bruneval P, Masmajejan E. Reduction of neural scarring after peripheral nerve suture: an experimental study about collagen membrane and autologous vein wrapping. *Chir Main*. 2012 Dec;31(6):311-7.
- 15- Bertani A, Launay F, Candoni P, **Mathieu L**, Rongieras F, Chauvin F. Teleconsultation in paediatric orthopaedics in Djibouti: evaluation of response performance. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2012 Nov;98(7):803-7.
- 14- **Mathieu L**, Bazile F, Barthélemy R, Duhamel P, Rigal S. Damage control orthopaedics in the context of battlefield injuries: the use of temporary external fixation on combat trauma soldiers. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2011 Dec;97(8):852-9.
- 13- **Mathieu L**, Chetouani M, Janku D, Vandebussche E, Augereau B. Posttraumatic dislodgement of the infrapatellar fat pad: an unusual type of superolateral impingement. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2011 Nov;97(7):776-8.
- 12- Duhamel P, **Mathieu L**, Brachet M, Compere S, Rigal S, Bey E. Reconstruction of the Achilles tendon with a composite anterolateral thigh free flap with vascularized fascia lata: a case report. *J Bone Joint Surg Am*. 2010 Nov 3;92(15):2598-603.

- 11- **Mathieu L**, Dumontier C. Kienböck's disease in a nine-year-old boy: a case report. *Chir Main*. 2009 Apr;28(2):99-102.
- 10- **Mathieu L**, Vialle R, Thevenin-Lemoine C, Mary P, Damsin JP. Association of Ilizarov's technique and intramedullary rodding in the treatment of congenital pseudarthrosis of the tibia. *J Child Orthop*. 2008 Dec;2(6):449-55.
- 9- **Mathieu L**, Chetboun A, Nourissat G, Doursounian L. Rupture of axillary artery and brachial plexus paralysis as complications of recurrent anterior glenohumeral dislocation: a case report. *Chir Main*. 2009 Apr;28(2):103-6.
- 8- **Mathieu L**, Bouchard A, Marchaland JP, Potet J, Fraboulet B, Danguy-des-Deserts M, Versier G. Knee MR-arthrography in assessment of meniscal and chondral lesions. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2009 Feb;95(1):40-7.
- 7- Marchaland JP, Ollat D, **Mathieu L**, Versier G. How to Cover Soft-Tissue Defects After Injuries to the Leg in Precarious Conditions. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2009 Feb;35(1):3-9.
- 6- **Mathieu L**, Ollat D, Versier G. Fracture of the two forearm bones and congenital radioulnar synostosis: a case report. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot*. 2007 Sep;93(5):511-4.
- 5- **Mathieu L**, Breda R, Bonnet S, Montagliani L, Duverger V. Atypical claudication and functional popliteal entrapment. *Presse Med*. 2007; 36:1581-4.
- 4- **Mathieu L**, Bonnet S, Barthélemy R, Singland JD. Pseudoaneurysm of the deep palmar arch due to infective endocarditis. *Chir Main*. 2007;26(1):47-9.
- 3- **Mathieu L**, Rongiéras F, Fascia P, Ollat D, Chauvin F, Versier G. Acromio-clavicular dislocations treated by synthetic coraco-clavicular ligamentoplasty. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot*. 2007;93(2):116-25.
- 2- **Mathieu L**, Desfemmes FR, Jancovici R. Management of the unstable patient with multiple trauma. *J Chir (Paris)*. 2006 Nov-Dec;143(6):349-54.
- 1- Breda R, **Mathieu L**, Mlynski A, Montagliani L, Duverger V. Cecal volvulus. *J Chir*. 2006;143(5):330-2.

AUTRES PUBLICATIONS REFERENCES

- 15- Rigal S, **Mathieu L**. « Damage control orthopédique de guerre » des lésions des membres. Réflexions sur l'expérience du Service de Santé des Armées français. Bull Acad Natl Med 2020; 204: 524-33. Doi: 10.1016/j.banm.2019.12.021.
- 14- Durand M, Collombet JM, **Mathieu L**. Masquelet induced membrane technique for the surgical treatment of large bone defects: the reasons for successes and failures. Am J Biomed Sci & Res. 2019 - 2(4). AJBSR.MS.ID.000600. Doi: 10.34297/AJBSR.2019.02.000600.
- 13- **Mathieu L**, Grosset A, Hassan-Farah I, de l'Escalopier N, Murison J, Rigal S. Temporary external fixation for forearm fractures in damage control orthopedics procedures: use of a simplified frame. Trauma Cases Rev 2018; 4:061. Doi.org/10.23937/2469-5777/1510061.
- 12- Le T, Sagalle Y, Ricard M, Rigal S, **Mathieu L**. Prise en charge chirurgicale des traumatismes des membres de guerre. Interbloc 2018; 2: 86-91.
- 11- **Mathieu L**, Bertani A, Barbier O, Rongiéras F, Rigal S, Pons F. Management of pediatric extremity trauma in forward surgical facilities. E-Mem Acad Natl Chir 2016 15(2) :007-015
- 10- **Mathieu L**, Durand X, F Paul, S Mérat, Samy J, P Balandraud, S Rigal. Dismounted complex blast injuries: an emergent injury pattern due to improvised explosive devices. Médecine et Armées 2014; 42 :329-336.
- 9- **Mathieu L**, Samy J, Bertani A, Rongiéras F, Gaillard C, Rigal S. Hindfoot blast injuries due to roadside bombs: injury pattern and current management. Médecine et Armées 2014 ;42 :337-344.
- 8- Rigal S, Barthélémy R, **Mathieu L**, Barbier O. Indications of trauma damage control orthopaedics. E-Mem Acad Natl Chir 2013;12 :45-49.
- 7- **Mathieu L**, Simms ER, Rongiéras F, Voiglio EJ, Oberlin C. Potential Compressive Sites of the Anterior Interosseous Nerve in the Proximal Forearm: an anatomic study. Open J Orthop 2012, 2: 166-171.
- 6- Rigal S, **Mathieu L**, Duhamel P, Van Gaver E. Staged external fixation and damage control orthopaedics in the context of war time surgery. E-Mem Acad Natl Chir 2010, 9 :57-62.

5- Ollat D, Marchaland JP, **Mathieu L**, Bajard X, Barbier O, Versier G. Qualité de l'information médicale sur internet: que faut-il en penser? Que répondre aux interrogations de vos patients ? Rev Chir Orthop 2009, 95 :258-264.

4- Ollat D, **Mathieu L**, Bouchard A, Marchaland JP, Versier G. Fracture-avulsion isolée du tubercule mineur de l'humérus : à propos d'un cas. J Traumatol Sport 2008, 25: 105-106.

3- **Mathieu L**, Marchaland JP, Nader Y, Ollat D, Bures C, Versier G. Traitement de la laxité latérale de cheville par ligamentoplastie à l'hémi-tendon du court fibulaire et remise en tension capsulo-ligamentaire. J Traumatol Sport 2008, 25 :129-135.

2- **Mathieu L**, Nader Y, Nguyen L, Ollat D, Marchaland JP, Versier G. Luxation traumatique de l'appareil extenseur au dos de l'articulation métacarpo-phalangienne : à propos d'un cas et revue de la littérature. J Traumatol Sport 2008, 25 :219-222.

1-**Mathieu L**, Dumontier C. Doigt en maillet récent et ancien. J Traumatol Sport 2008, 25 :232-242.

PUBLICATIONS NON REFERENCEES

8- Barbier O, Rigal S, **Mathieu L**. La fixation externe : du « damage control orthopédique » au traitement définitif. Maîtrise Orthopédique, janvier 2014.

7- **Mathieu L**, Bertani A, Rongiéras F, Duhamel P, Chauvin F, Rigal S. Prise en charge actuelle des traumatismes des membres en contexte de guerre. Partie 2 : Traitement chirurgical primaire et secondaire. Maîtrise Orthopédique, octobre 2013.

6- **Mathieu L**, Fournel C, Bertani A, Rongiéras F, Mottier F, Rigal S. Prise en charge actuelle des traumatismes des membres en contexte de guerre. Partie 1 : Spécificités et avancées médicales dans les conflits modernes. Maîtrise Orthopédique, mars 2013.

5- **Mathieu L**, Niang CD, Greff G, Rongiéras F, Rigal S. Utilisation du fixateur externe en « Damage Control Orthopédique ». Maîtrise Orthopédique, 2012.

4- **Mathieu L**. Formation à la chirurgie en opération extérieure à l'Hôpital Principal de Dakar. Maîtrise Orthopédique, février 2011.

3- **Mathieu L**, Ollat D, Pierret C, Duverger V. Malformation artério-veineuse de la main et complication hémorragique. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2008, 20, 4 :208-209.

2- El Mouhaddab M, **Mathieu L**, Mvogo S, Versier G. Un genou instable. *Le Concours Médical* 2006, 5 :241-243.

1-**Mathieu L**, Bouchard A, El Mouhaddab M, Versier G. Un cliché trompeur. *Le Concours Médical* 2005, 21 :1140-1142.

PARTICIPATION A DES OUVRAGES

15- Chataigneau A, de l'Escalopier N, **Mathieu L**. Amputations des membres : membre inférieur. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale 2020. En cours de publication.*

14- **Mathieu L**, Borrini L, Murison JC. Amputations des membres : membre supérieur. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale 2020. En cours de publication.*

13- **Mathieu L**, Rigal S. Méta-analyse des échecs. In : *La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives.* Sauramps Médical, Montpellier, 2020.

12- **Mathieu L**. Utilisation de la technique en conditions précaires : trucs et astuces. In : *La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives.* Sauramps Médical, Montpellier, 2020.

11- **Mathieu L**. Stabilisation instrumentale : avantages et implications. In : *La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives.* Sauramps Médical, Montpellier, 2020.

10- **Mathieu L**. Engineering applied to reconstructive surgery of extremity trauma: recent advances and future directions. In: *The lesson book of the Ecole du Val-de-Grâce*, 2018.

9- Barbier O, **Mathieu L**, Rigal S. Damage control orthopédique. In : *Le blessé par attentats.* Pasquier P & Mérat S eds. 2017.

8- Bertani A, **Mathieu L**, Rongiéras F. Fractures de jambe de l'adulte. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* 2016, 66294. Doi: 10.1016/S0246-0521(16)66294-0.

7- Rongiéras F, Bertani A, **Mathieu L**, F Chauvin. Lésions bi-croisées. L'arthroscopie. Elsevier Masson SAS, 2015, Chapitre 106, p 1069-1078.

6- **Mathieu L**, Bertani A, Gonzalez JF. Traitement chirurgical initial des traumatismes des membres de guerre. In Mérat S eds. Le blessé de guerre. Paris: Arnette - Editions John Libbey Eurotext, 2014, p297-306.

5- Bertani A, **Mathieu L**, Rongiéras F. Prise en charge chirurgicale secondaire des traumatismes des membres de guerre. In Mérat S eds. Le blessé de guerre. Paris : Arnette - Editions John Libbey Eurotext, 2014, p543-52.

4- Rigal S, **Mathieu L**. Classification des fractures de la palette humérale de l'adulte. In : Cours européen de pathologie chirurgicale du membre supérieur, Paris, 2013.

3- **Mathieu L**. Le damage control orthopédique. In : La fixation externe : du damage control orthopédique au traitement définitif. Barbier O, Rigal S, Mathieu L, eds. Sauramps Médical, Montpellier, 2012, 9-17 p.

2- **Mathieu L**, Thomsen L, Kilinc A, Fong O, Nourissat G, Sautet A, Doursounian L. Prise en charge actuelle des fractures des plateaux tibiaux : expérience de l'hôpital Saint-Antoine. In : Journées de traumatologie de la Pitié-Salpêtrière, 2010.

1-Rigal S, **Mathieu L**, Obry C, Bauer B. Principes d'ostéosynthèse des fractures diaphysaires du membre supérieur. In : Cours européen de pathologie chirurgicale du membre supérieur et de la main, Paris, 2006.

SYNTHESE

	Premier auteur	Dernier auteur	Autre position	Total
Articles référencés PubMed	42	20	19	81
Articles référencés autres	8	4	3	15
Articles non référencées	6	1	1	8
Chapitres d'ouvrages	8	1	6	15
Total	64	26	29	119

Points SIGAPS au 12/02/2021 : 710

Répartition par catégorie et par année

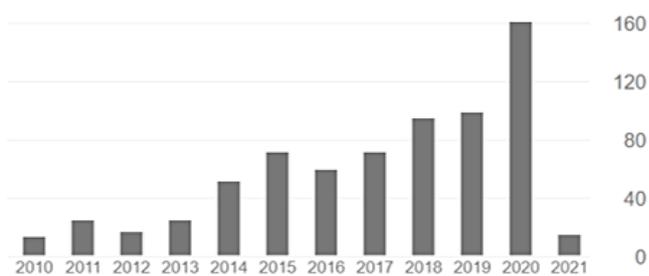
Période : 2004 - 2021								
Année	Total	A	B	C	D	E	NC	Score
2004	0	0	0	0	0	0	0	0
2005	0	0	0	0	0	0	0	0
2006	1	0	0	0	0	1	0	8
2007	4	0	0	0	0	4	0	32
2008	1	0	0	0	0	0	1	4
2009	4	0	0	0	0	4	0	28
2010	1	0	1	0	0	0	0	18
2011	2	0	0	0	2	0	0	24
2012	3	0	0	0	1	1	1	12
2013	4	0	0	0	0	3	1	26
2014	8	0	0	3	1	4	0	92
2015	5	0	1	0	2	1	1	47
2016	5	0	1	0	1	1	2	35
2017	2	0	0	1	0	0	1	19
2018	7	0	0	0	1	1	5	37
2019	10	0	1	0	3	2	4	86
2020	16	0	3	4	4	2	3	195
2021	4	0	0	2	1	0	1	47
Total	77	0	7	10	16	24	20	710



H-Index au 12/02/2021 : 15

	Toutes	Depuis 2016
Citations	729	499
indice h	15	13
indice i10	22	20

Nombre de citations par an



7. Communications

COMMUNICATIONS ORALES DANS DES CONGRES INTERNATIONAUX

9- **Mathieu L.** Harmonizing the management of mass injuries in children: Blasts and bullets injuries. 1st Virtual EFORT (European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology) congress, 2020.

8- Rongiéras F, **Mathieu L**, F Vigouroux, Bertani A, N Pellet, Gaillard C. Soft tissue coverage of combat-related extremity injuries: use of pedicled flap on the battlefield. European Society of Traumatology and Emergency Surgery Congress, Frankfurt, 2014.

7- Vigouroux F, **Mathieu L**, Rongiéras F, Bertani A, Balandraud P, Rigal S. Multiple blast extremity injuries in Afghanistan: definitive management of local casualties in a combat support hospital. European Society of Traumatology and Emergency Surgery Congress, Frankfurt, 2014.

6- Vigouroux F, Bertani A, **Mathieu L**, Daban J-L, Rongiéras F, Pons F. Pediatric war injuries in a French military combat support hospital in Afghanistan. European Society of Traumatology and Emergency Surgery Congress, Frankfurt, 2014.

5- **Mathieu L**, Bertani A, Rongiéras F, Mottier F, Chauvin F, Rigal S. Surgical management of limb war trauma: lessons learned from modern conflicts. European Society of Traumatology and Emergency Surgery Congress, Lyon, 2013.

3- **Mathieu L**, Marchaland JP, Barbier O, Nader Y, Versier G. Treatment of ankle chronic instability by hemi-fibular ligamentoplasty and antero-lateral capsular tensioning: about 32 cases. Congrès des Soci t s de Chirurgie, Marseille, 2007.

2- **Mathieu L**, Ollat D, Marchaland JP, Nader Y, Versier G. Femoral fixation by PLA device in DIDT ligamentoplasty. Congrès des Sociétés de Chirurgie, Marseille, 2007.

1-Marchaland JP, **Mathieu L**, A Bouchard, Y Nader, C Bures, Versier G. Why to preserve the sub-scapularis muscle in the Latarjet procedure? Congrès des Sociétés de Chirurgie, Marseille, 2007.

COMMUNICATIONS ORALES DANS DES CONGRES FRANÇAIS

39- Amar S, **Mathieu L**, Sautet A, Masquelet AC, Cambon-Binder A. Incidence des névromes douloureux après suture de nerfs sensitifs à la main. Comparaison entre suture avec manchonnage veineux, suture protégée par un neurotube, et suture microchirurgicale simple. Accepté au congrès du Groupe d'Etude de la Main (GEM), Paris, 2020.

38- Ghabi A, Sabaté-Ferris A, Chapon MP, Pfister G, Vigne JL, Legagneux J, **Mathieu L**. Pertinence d'un modèle de simulation à la microchirurgie destiné aux internes de chirurgie militaire. Accepté au congrès du GEM, Paris, 2020.

37- **Mathieu L**, Achour S, Oberlin C, Belkheyar Z. Transferts tendineux dans les paralysies post-traumatiques du nerf fibulaire commun : simple *versus* double transfert. Accepté au congrès de la SOFCOT, Paris, 2020.

36- **Mathieu L**, Chataigneau A. Blast du pied : physiopathologie et syndrome compartimental. Programmé au congrès de la SOFCOT, Paris, 2020, sur invitation de la Société Française de Chirurgie du Pied et de la Cheville.

35- Chataigneau A, **Mathieu L**. Blast du pied : clinique et prise en charge. Programmé au congrès de la SOFCOT, Paris, 2020, sur invitation de la Société Française de Chirurgie du Pied et de la Cheville.

34- Plang S, Milaire A, Sabate-Feris A, de l'Escalopier, Murison JC, **Mathieu L**. Reconstruction des parties molles des membres dans les formations chirurgicales de l'avant : utilisation de lambeaux pédiculés par le chirurgien orthopédiste. Accepté au congrès de la SOFCOT, Paris, 2020

33- **Mathieu L**, Ghabi A, Murison JC, Chataigneau A, Poichotte A, Levadoux. Pratique de la microchirurgie dans les formations chirurgicales de l'avant française. Congrès du GEM, Paris, 2019

32- Ghabi A, Amar S, Legagneux J, Vignes JL, Pfister G, **Mathieu L**. Anastomoses microvasculaires sans microscope : loupes versus smartphone. Congrès du GEM, Paris, 2019

31- Pfister G, Murison JC, Grosset A, Duhoux A, Lapeyre E, Bauer B, **Mathieu L**. Mains de blast par agent vulnérant de guerre : expérience du service de santé des armées français. Congrès du GEM, Paris 2019

- 30- Durand M, Masquelet AC, **Mathieu L**. Induced membrane technique for segmental diaphyseal bone defects: state of art in 2019. Congrès de la SOFCOT, Paris 2019
- 29- **Mathieu L**. Microsurgery during foreign operations. Congrès du Groupe d'Avancement en Microchirurgie (GRAM), Paris, 2019
- 28- **Mathieu L**, Pfister G, Boddaert G, Bajard X, Soucany de Landevoisin E, Pellet N, Levadoux M. Digital revascularization and replantation on the theatres of operations. Congrès du GEM, Paris, 2018
- 27- Pfister G, de Carbonnières A, Dubourg O, Prat N, Cremades A, **Mathieu L**. Ballistic trauma of nerves: is there a microscopic injury on the continuous part of the partial sections? Congrès du GEM, Paris, 2018
- 26- **Mathieu L**, Bilichtin E, de l'Escalopier N, Durand M, Mongo V, Rigal S. Reconstruction of tibial bone defects using the induced membrane technique: experience from a French military trauma center. Académie Nationale de Chirurgie, Paris, 2018.
- 25- **Mathieu L**, Caubère A, Russo AP, de Rousiers A, Pfister G, Rigal S. Temporary stabilization of tibia fractures using a dedicated unicortical external fixator. Académie Nationale de Chirurgie, Paris, 2018.
- 24- Nachev N, Cambon-Binder A, Marcheix PS, **Mathieu L**, Belkheyar Z. Torsion nerveuse au membre supérieur : à propos de 4 cas. Congrès du GEM, Paris, 2017.
- 23- **Mathieu L**, Murison J-C, Bouchard A, Barbier O, Bertani A, Gaillard C, Rigal S. Utilisation des lambeaux pédiculés pour la réparation cutanée des membres en opérations extérieures. Académie Nationale de Chirurgie, Paris, 2017.
- 22- **Mathieu L**, Barbier O, Bertani A, Ollat D, Rongiéras F, Versier G, Rigal S. Damage control orthopédique : indications et principes dans les lésions balistiques. Académie Nationale de Chirurgie, Paris, 2016.
- 21- **Mathieu L**, Bertani A, Barbier O, Ollat D, Rongiéras F, Rigal S, Pons F. Prise en charges des traumatismes des membres de l'enfant dans les structures chirurgicales de l'avant. Académie Nationale de Chirurgie, Ecole du Val-de-Grâce, Paris, 2015.

20- **Mathieu L**, Choufani C, Babier O, Ollat D, Masquelet AC, Rigal S. Application du concept de « damage control » orthopédique aux traumatismes de la main : une spécificité militaire ? Congrès du GEM, Paris, 2015.

19- Bonnet S, Gonzalez F, Savoie PH, Bertani A, Hornez E, Mocellin N, **Mathieu L**, Poichotte A, Rigal S, Pons F. Dix ans d'activité des Antennes Chirurgicales françaises en Côte d'Ivoire : bilan de l'activité chirurgicale et réflexions sur l'aide médicale à la population. Académie Nationale de Chirurgie, Ecole du Val-de-Grâce, Paris, 2014.

18- **Mathieu L**, Hornez E. Damage control orthopédique des membres. 6^{èmes} Journées de la Société Française de Chirurgie d'Urgence (SFCU), Nice, 2014.

17- Hornez E, Boddaert G, **Mathieu L**. Damage control vasculaire. 6^{èmes} Journées de la SFCU, Nice, mars 2014.

16- **Mathieu L**. Traumatismes des membres par explosion. Journées de la Société Française de Médecine de Catastrophe, Paris 2014.

15- Rigal S, Barthélémy R, **Mathieu L**, Barbier O. Indications du concept de damage control en orthopédie. Académie Nationale de Chirurgie, Paris, 2013.

14- Bertani A, **Mathieu L**, Rongiéras F, Gaillard C, Rigal S, Chauvin F. Traumatismes des membres de l'enfant dans un contexte de guerre en Afghanistan : Expérience de l'hôpital médico-chirurgical KaIA à propos de 153 cas opérés. Congrès de la SOFCOT, Paris, 2013.

13- **Mathieu L**, Bertani A, Rongiéras F, Bauer B, Ollat D, Rigal S. Epidémiologie et traitement des traumatismes du membre supérieur en contexte de guerre : expérience de l'Hôpital Militaire de Campagne de Kaboul. Congrès du GEM, Paris, 2013.

12- **Mathieu L**, Rongiéras F, Rigal S. Damage control orthopédique. 5^{ème} Journées de la SFCU, Lyon, 2012.

11- **Mathieu L**, Marty A, Ramaki A, Najib A, Wardak I, Ahmadzai W, Rigal S. Amputations des membres inférieurs en contexte de guerre : expérience récente de l'hôpital militaire de Kaboul. 5^{ème} Journées de la SFCU, Lyon, 2012.

10- Bertani A, Gorioux R, Mottier F, **Mathieu L**, Rongiéras F, Chauvin F. Blessés par armes de guerre pris en charge dans un hôpital de la corne de l'Afrique :  tude des lésions orthopédiques sur 3 ans. Congrès de la SOFCOT, Paris, 2012.

9- **Mathieu L**, Gonzalez J-F, Bauer B, Deloynes B, Breda R, Rigal S. Stratégie d'exofixation et damage control orthopédique en contexte de chirurgie de guerre. Congrès de la SOFCOT, Paris, 2010.

8- **Mathieu L**, Adam C, Bruneval P, Masmajeun E. Prévention des adhérences après suture nerveuse périphérique :  tude expérimentale comparant membrane d'interposition en collagène et manchonnage veineux autologue. Congrès du Groupe d'Avancement en Microchirurgie, Paris, mars 2010.

7- Rigal S, **Mathieu L**, Duhamel P, Van Gaver E. Fixation externe provisoire et « Damage Control » Orthopédique en chirurgie de guerre. Académie Nationale de Chirurgie, Paris, 2010.

6- **Mathieu L**, Oberlin C. Variations des rapports anatomiques du nerf inter-osseux antérieur et identification des structures compressives potentielles. Congrès de la SOFCOT, Paris, 2009.

5- **Mathieu L**, Bouchard A, Marchaland J-P, Potet J, Fraboulet B, Danguy des-déserts M, Versier G. Apport de l'arthro-IRM du genou pour le diagnostic des lésions m nisco-chondrales. Congrès de la Société Française d'Arthroscopie, La Défense, 2008.

4- **Mathieu L**, Vialle R, Thevenin-Lemoine C, Abelin K, Mary P, Damsin JP. Traitement des pseudarthroses cong nitaes du tibia par l'association d'un fixateur externe circulaire d'Iizarov et d'un clou centro-médullaire. Congrès de la SOFCOT, Paris, 2008.

3- **Mathieu L**, Marchaland J-P, Boddaert G, Nader Y, Bures C, N'Guyen L, Versier G. Résultats à moyen terme d'une technique de ligamentoplastie pour le traitement de l'instabilité chronique latérale de cheville. Journée d'hiver de la Société Française de médecine et de chirurgie du pied, Paris, 2006.

2- Duverger V, Singland J-D, Pierret C, **Mathieu L**. Revascularisation du pied diabétique. Journée d'hiver de la Société Française de médecine et de chirurgie du pied, Paris, 2006.

1-Fabre A, Levadoux M, **Mathieu L**. Syndrome des loges aigu à l'avant-bras. A propos de 8 cas. Congrès du GEM, Paris, 2005.

COMMUNICATIONS AFFICHEES DANS DES CONGRES INTERNATIONAUX

3- de l'Escalopier N, **Mathieu L**, Valade G, Danis J, Rigal S. Infectious risk for suicide bombers attack victims. European Society of Traumatology and Emergency Surgery Congress, Amsterdam, 2015.

2- **Mathieu L**, Gaillard C, Mottier F, Pellet N, Rongiéras F. Krukenberg procedure: still indicated in countries at war. European Society of Traumatology and Emergency Surgery Congress, Lyon, 2013.

1-**Mathieu L**, Bauer B, Bazile F, Rongiéras F, Rigal S. Damage control orthopedics and temporary external fixation in French military patients. European Society of Traumatology and Emergency Surgery Congress, Milan, 2010.

COMMUNICATIONS AFFICHEES DANS DES CONGRES FRANÇAIS

8- **Mathieu L**, Pfister G, Amar S, Murison J, Oberlin C, Belkheyar Z. Suture directe des pertes de substance du nerf sciatique en grande flexion du genou : observations cliniques et proposition d'une nouvelle stratégie de traitement. Accepté au congrès du GEM 2020, Paris.

7- Murison J, Chataigneau A, Pfister A, **Mathieu L**. Reconstruction osseuse métacarpienne par membrane induite sans ciment. Congrès du GEM, Paris, 2019

6- Ghabi A, de Rousiers A, Amar S, Pfister G, Barthélémy R, **Mathieu L**. Treatment of acquired club-hand deformity in a young adult. Congrès du GEM, Paris, 2019

5- **Mathieu L**, Hassan-Farah I, Charpail C, Murison J-C, Chataigneau A, Rigal S. Myon crose septique extensive de l'avant-bras après syndrome compartimental en situation précaire. Congrès du GEM, Paris, 2016.

4- **Mathieu L**, Mamane W, Guillibert E, Couturier C, Masmajeun E. La momification de la main : une forme extrême de contracture psychogène. Congrès du GEM, Paris 2009.

3- **Mathieu L**, Oberlin C. Rapports du nerf inter-osseux antérieur au tiers proximal de l'avant-bras. Etude anatomique et applications pratiques. Congrès du GEM, Paris, 2008.

2- Bures C, Versier G, **Mathieu L**, Le bars M, Marchaland J-P, Ollat D, Bouchard A. Intérêt de l'ostéotomie de la malléole externe dans le traitement chirurgical des lésions postéro-externes du dôme astragalien. Congrès de la SOFCOT, 2005.

1-Martin M, Ollat D, Bures C, Marchaland J-P, **Mathieu L**, Versier G. Suivi clinique et IRM à 1 an de 60 greffes de LCA au DIDT avec la nouvelle fixation cortico-spongieuse Quidnovi®. Congrès de la Société Française d'Arthroscopie, 2004.

**PARTIE 2 : PRESENTATION THEMATIQUE
DES TRAVAUX SUR LA TECHNIQUE DE LA
MEMBRANE INDUITE**

1. INTRODUCTION

La technique de la membrane induite (TMI) est un procédé de reconstruction des pertes de substance osseuses (PSO) des membres, qui a été développé par Alain-Charles Masquelet dans les années 1980 (Masquelet *et al.* 2000). Utilisée d'abord en France, elle a progressivement gagné l'Europe, puis s'est répandue dans le monde entier au cours des dix dernières années. On compte à l'heure actuelle plus de 300 articles référencés dans PubMed traitant de la TMI, dont la moitié a été publiée après 2016. Les clés de son succès sont sa simplicité, sa fiabilité et sa reproductibilité. C'est une alternative séduisante aux autres procédés de reconstruction qui sont plus sophistiqués ou plus complexes à mettre en œuvre, et ne sont pas accessibles dans les contextes sanitaires les plus précaires.

Cette technique en deux temps est basée sur une réaction immunitaire à corps étranger. Lors du premier temps, le défaut osseux est comblé par une entretoise ou *spacer* en ciment qui va induire la formation d'une membrane d'encapsulation. Le second temps est effectué quelques semaines plus tard. Il consiste à retirer le *spacer* et à placer des greffons spongieux à l'intérieur de la membrane. Celle-ci va alors protéger les greffons de la résorption, favoriser leur revascularisation et stimuler le processus d'ostéogénèse. Si la TMI est utilisée depuis les années 1980, les premières études s'intéressant à son fonctionnement biologique datent des années 2000, et ce n'est que récemment que les multiples modes d'action de la membrane induite (MI) ont été appréhendés (Durand *et al.* 2019, Durand and Collombet 2020).

En tant que chirurgien militaire traumatologue et réparateur, nous traitons fréquemment des patients présentant des PSO d'origine traumatique. Qu'elles soient consécutives à un accident de circulation ou à un traumatisme balistique, ces PSO s'intègrent dans le cadre de lésions pluritissulaires à haute énergie dont la prise en charge chirurgicale est généralement séquentielle. Du fait de leur complexité, ces lésions ne peuvent pas être traitées intégralement en urgence : il faut alors se contenter de gestes initiaux simples et rapides visant à préparer la reconstruction secondaire. C'est le concept de *damage control* orthopédique (DCO) basé sur trois piliers : le contrôle de l'hémorragie (pour sauver la vie), la décontamination des plaies (pour éviter l'infection) et la stabilisation provisoire des fractures par fixateur externe temporaire (Mathieu *et al.* 2011). Le DCO n'est que le premier temps d'une stratégie de reconstruction en plusieurs étapes qui peuvent être résumées par la séquence 6/7/8/9 (Figure 1, Baus *et al.* 2020).

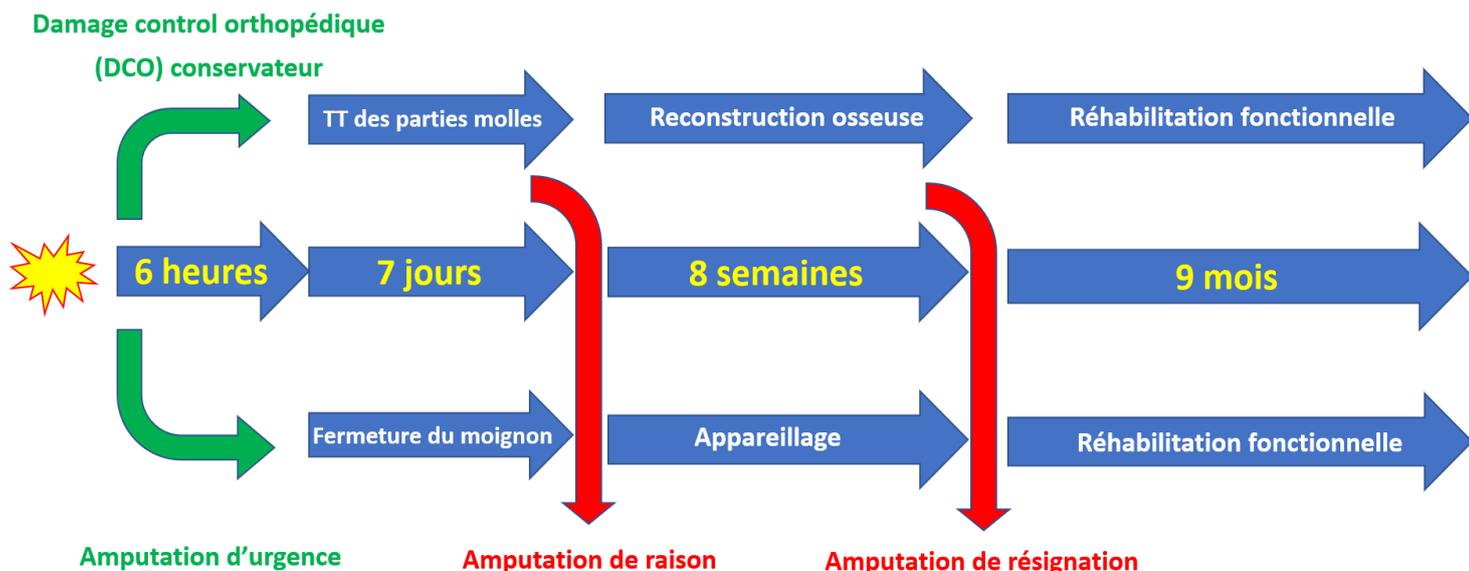


Figure 1 : Stratégie de reconstruction des traumatismes pluritissulaires des membres par la séquence 6/7/8/9 : application du DCO dans les 6 heures, réparation de l'enveloppe des parties molles dans les 7 jours, puis reconstruction osseuse dans les 8 semaines pour une récupération de la fonction du membre après 9 mois. A chaque étape, la survenue d'un échec peut faire renoncer au traitement conservateur pour pratiquer une amputation (Baus *et al.* 2020).

La TMI s'intègre parfaitement dans cette stratégie : le premier temps est pratiqué dans les 7 jours lors de la réparation cutanée ; le second temps est effectué après 8 semaines une fois les parties molles cicatrisées (Mathieu *et al.* 2019). Le caractère séquentiel de cette technique est aussi parfaitement adapté au traitement des PSO infectées d'origine traumatique ou infectieuse : elle permet de s'assurer que l'infection est éradiquée avant de pratiquer la greffe osseuse. Ces raisons expliquent la diffusion de la TMI dans le monde entier et l'explosion du nombre de publications dans les dernières années. Cependant, si l'analyse de la littérature montre que la consolidation est obtenue dans plus de 90% des cas, elle révèle aussi que les complications et les reprises chirurgicales sont fréquentes (Morelli *et al.* 2016, Mi *et al.* 2020).

Pour nous, la TMI est le mode de reconstruction privilégié des PSO dépassant 2 cm, quel que soient la localisation et le mécanisme lésionnels. Nous l'utilisons au quotidien dans notre pratique civile et militaire, y compris sur les théâtres d'opérations extérieures. De fait, nous sommes régulièrement confrontés à des complications et des situations d'échec. Afin d'améliorer la prise en charge des blessés de guerre, nous avons effectué plusieurs travaux originaux analysant les résultats de cette technique dans le cadre particulier de la pratique militaire.

Nous avons également rencontré des difficultés spécifiques en appliquant la TMI dans des structures chirurgicales à ressources limitées. A notre connaissance, ces problèmes n'avaient jamais été soulevés auparavant dans la littérature. Nous avons ainsi identifié plusieurs obstacles à l'utilisation de la TMI dans les contextes sanitaires dégradés, et avons proposé certaines astuces techniques pour les contourner (Mathieu *and* Masquelet 2019, Murison *et al.* 2019, Mathieu 2020).

Dans le but de résoudre ces problématiques, nous collaborons depuis 2016 avec l'unité de biothérapies ostéoarticulaires de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) et plus récemment avec l'unité de recherche biomatériaux innovations et interfaces de l'Université Sorbonne Paris Nord. Nous avons d'abord initié un protocole de recherche (commun avec les hôpitaux Bégin et Saint-Antoine) qui a permis d'identifier une origine biologique à certains échecs cliniques. Nous avons ensuite développé un modèle animal reproduisant les deux temps de la technique. Il s'agissait de valider par l'expérimentation l'usage d'un *spacer* alternatif dédié aux contextes de soins précaires, mais aussi d'évaluer des matériaux innovants destinés à potentialiser les propriétés biologiques de la membrane.

Ainsi, il nous est apparu logique de consacrer cette thèse de sciences par VAE à la technique de Masquelet en réalisant une synthèse des recherches que nous avons menées dans ce domaine. L'objectif de ce travail visant à son « optimisation » est double :

- 1) identifier les points clés permettant de limiter la survenue d'échecs dans nos circonstances d'exercice particulières ;
- 2) développer des modes d'utilisation innovants afin de faciliter son application et, si possible, améliorer encore ses résultats.

Pour cela, nous débuterons par une première partie de rappels bibliographiques portant sur la réparation osseuse en général, puis sur les principes et bases biologiques de la TMI. Nous présenterons ensuite nos recherches cliniques en pratique militaire et en contexte sanitaire dégradé ; et enfin, nous présenterons les recherches expérimentales effectuées à partir du modèle animal que nous avons développé à l'IRBA.

2. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

2.1 GENERALITES SUR LA REPARATION OSSEUSE

2.1.1 NOTION DE DEFECT OSSEUX CRITIQUE

Dans les PSO d'origine traumatique les possibilités de la réparation osseuse spontanée sont dépendantes de la localisation et de la sévérité de la fracture, mais aussi des lésions associées de l'enveloppe des parties molles. La survenue d'une rupture de cette enveloppe entraîne en effet une communication avec le milieu extérieur exposant à la contamination, puis à l'infection du foyer de fracture qui va réduire de façon drastique le taux de consolidation. En excluant la survenue de ces complications cutanées et infectieuses, les possibilités de réparation osseuse spontanée dépendent essentiellement de la taille de la PSO (Keating *et al.* 2005).

On oppose ainsi les défauts non critiques, qui vont consolider spontanément, et les défauts critiques qui, en l'absence d'intervention (apport osseux) vont évoluer vers la non-consolidation définitive appelée pseudarthrose. Il n'y a pas de consensus précis sur les critères définissant un défaut osseux de taille critique. D'une façon générale, il est admis qu'un défaut critique mesure plus d'1 à 2 cm et s'étend sur plus de 50% de la circonférence de l'os. En fait, les possibilités de consolidation spontanée dépendent aussi de la localisation du défaut et de l'état des parties molles périphériques (Schemitsch 2017, Nauth *et al.* 2018).

2.1.2 REPARATION SPONTANEE DES DEFECTS OSSEUX NON-CRITIQUES

Phases de la réparation osseuse

La consolidation des défauts non-critiques se fait selon un mécanisme de régénération caractérisé par la succession ou le chevauchement partiel de trois phases successives : l'inflammation, la réparation et le remodelage (Tosounidis *et al.* 2007, Claes *et al.* 2012).

Phase 1 : Inflammation

Immédiatement après le traumatisme, le saignement des extrémités osseuses et les lésions des parties molles entraînent la formation d'un hématome fracturaire conduisant à une réaction inflammatoire aiguë. Celle-ci entraîne une vasodilatation, une exsudation plasmatique et un recrutement précoce de polynucléaires neutrophiles (PNN) attirés par les débris cellulaires.

Les monocytes/macrophages et d'autres cellules immunitaires (lymphocytes) envahissent ensuite la zone lésée. Elles sécrètent une quantité massive de cytokines pro-inflammatoires (*interleukin* IL-1 β , IL-6, *tumor necrosis factor* ou TNF- α , *transforming growth factor* ou TGF- β 1) et de facteurs d'angiogenèse (angiopoïétine-1 et *vascular endothelial growth factor* VEGF), mais initient aussi la résorption de l'hématome et des tissus nécrotiques. En parallèle, les ostéoclastes sont recrutés et commencent à éroder les extrémités fracturaires pendant que les fibroblastes environnants produisent des fibres de collagène. Ainsi, l'hématome est graduellement remplacé par du tissu fibreux de granulation riche en fibres de collagène, cellules et de néo-capillaires.

Chez le rat, cette phase inflammatoire aiguë survient dans les 7 jours suivant le traumatisme avec un pic de sécrétion des IL-6 et IL-1 β dans les 24 premières heures (Claes *et al.* 2012). Elle initie ainsi la phase de réparation, en stimulant l'angiogenèse, en recrutant et en activant la différenciation des cellules stromales mésenchymateuses (CSM), ainsi qu'en intensifiant la synthèse de la matrice extracellulaire.

Phase 2 : Réparation

La nature du mécanisme de réparation dépend des conditions mécaniques au niveau du site fracturaire, donc de l'étendue de la PSO et du mode de stabilisation osseuse. Nous n'envisagerons ici que la réparation d'un défaut diaphysaire (Figure 2 ; Claes *et al.* 2012).

Ossification primaire ou directe dite « membranaire »

Elle s'observe classiquement lorsqu'une fracture est stabilisée par une ostéosynthèse ne laissant aucune mobilité interfragmentaire. Dans le cas d'un défaut non-critique, il s'agit d'une PSO partielle, mesurant moins de 5 mm, et stabilisée par une plaque rigide en compression. Comme dans le processus de remodelage osseux physiologique, les ostéoclastes résorbent l'os en créant des tunnels d'un côté à l'autre de la fracture pour permettre la pénétration des vaisseaux. Des CSM sont ensuite recrutées en provenance du périoste et de l'endoste, puis se différencient en ostéoblastes. Ces derniers produisent du tissu osseux qui est déposé entre les fragments puis revascularisé par le périoste et la cavité médullaire, avant que les systèmes haversiens ne se forment pour ponter la fracture. Ce mécanisme de réparation débute 3 à 7 jours après le traumatisme chez le rat. C'est un processus lent qui n'entraîne pas de formation de cal osseux : la zone réparée n'est solide que tardivement.

Ossification secondaire ou indirecte dite « endochondrale »

C'est le mécanisme de réparation prédominant dans les PSO non-critiques lorsqu'il existe des micro- ou des macro-mouvements entre les extrémités osseuses. La stabilisation est habituellement assurée par un fixateur externe, un clou centro-médullaire ou une plaque réalisant un pontage à distance du foyer de fracture. Ce relatif faible degré de stabilité (comparativement à celui d'une ostéosynthèse en compression) stimule la formation primaire d'un cal fibreux (cal mou) qui se transformera secondairement en cal osseux (cal dur).

Globalement, entre la première et la troisième semaine post-traumatique, une néovascularisation apparaît dans le tissu de granulation situé entre les extrémités osseuses : cela permet une colonisation par les CSM qui vont ensuite se différencier en chondrocytes. A cette étape, le tissu fibro-vasculaire produit de nombreux facteurs de croissance (TGF- β , *bone morphogenic protein* ou BMP, fibroblast growth factor ou FGF, *platelet-derived growth factor* ou PDGF, VEGF, *matrix metalloproteinases* ou MMP...) pendant que les chondrocytes synthétisent surtout du collagène de type II et des protéoglycanes pour former du tissu cartilagineux. Chez le rat, ce cal fibro-cartilagineux apparaît entre 7 et 10 jours après la fracture.

Progressivement, les chondrocytes deviennent hypertrophiques, libèrent du calcium et subissent une apoptose. Le remodelage de la matrice extracellulaire cartilagineuse est déclenché par les MMP et d'autres enzymes de dégradation. Dans le même temps, le maintien de l'angiogenèse permet l'invasion du cal fibreux par les ostéoclastes et les ostéoprogéniteurs (CSM). Ces derniers se différencient ensuite en ostéoblastes qui favorisent la minéralisation du cal fibreux pour aboutir à la formation d'un cal osseux à la structure trabéculaire. Ce cal est principalement périosté (périphérique) et à moindre degré médullaire. Selon la stabilité de la fixation, il apparaît entre 28 et 35 jours chez le rat, et 8 à 16 semaines chez l'homme.

Phase 3 : Remodelage

A l'issue de la réparation, le processus de remodelage transforme le tissu osseux nouvellement formé en os lamellaire par la formation de systèmes haversiens. Durant cette phase, la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires et l'hypervascularisation locale sont réduites. Le remodelage des cals périosté et médullaire aboutit à la reconstruction d'un os cortical normal. Cela prend 5 à 8 semaines chez le rat, mais entre 1 et 2 ans chez l'homme.

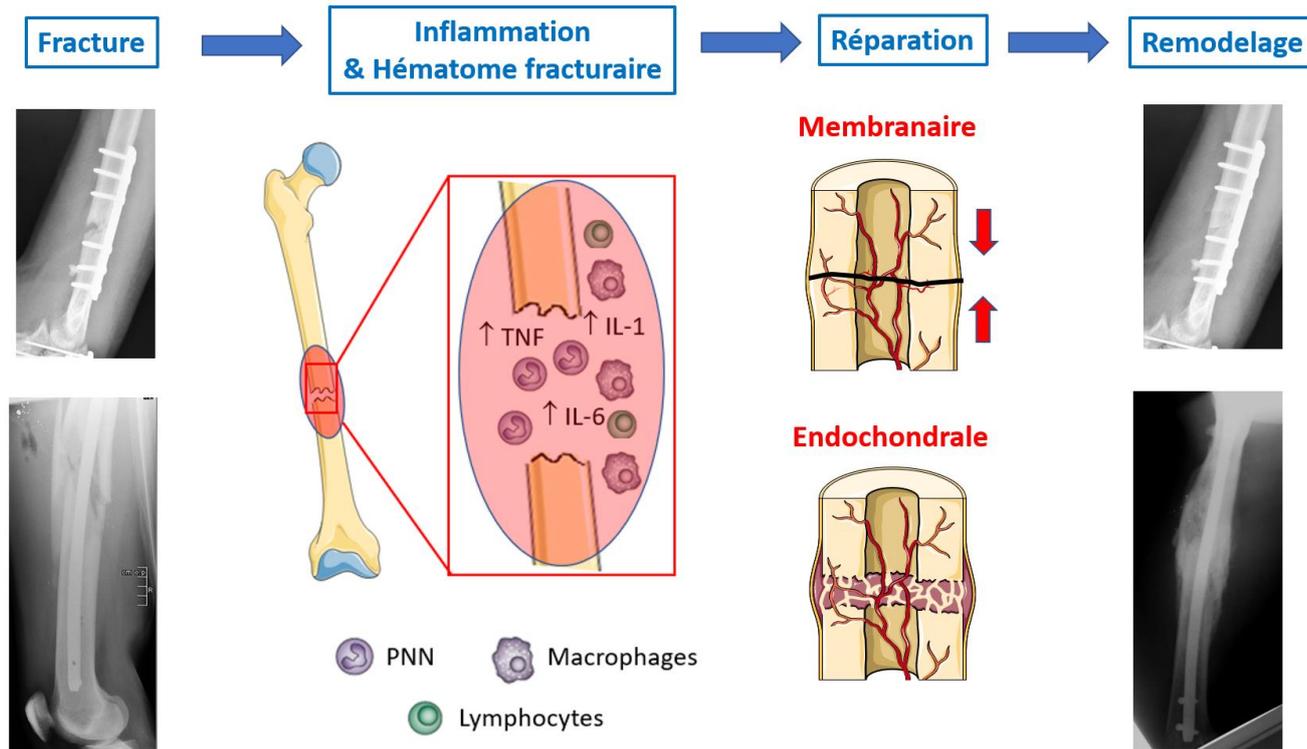


Figure 2 : Etapes de la reconstruction d'un défaut non critique (d'après Claes *et al.* 2012)

Concept du diamant

Quel que soit le mode de réparation, la consolidation d'un foyer de fracture dépend donc de son environnement biologique, mais aussi de son environnement mécanique. En outre, d'autres facteurs liés à l'état général du patient et à la lésion osseuse interviennent (Andrzejowski *and* Giannoudis 2019). Les interactions entre ces différents éléments sont résumées dans le « concept du diamant » décrit par Giannoudis *et al.* en 2007 pour proposer une approche globale au traitement des pseudarthroses (Figure 3). Selon ce concept, l'obtention de la consolidation nécessite :

- 1- Des **cellules ostéogéniques** ou **progéniteurs**, c'est-à-dire des CSM issues du périoste ou de la moelle osseuse, qui vont se différencier en ostéoblastes ou en chondrocytes.
- 2- Des **médiateurs ostéoinducteurs** qui vont entraîner la différenciation des CSM. Il s'agit des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF- α), des facteurs de croissance et de différenciation (BMP, TGF- β , PDGF), des facteurs d'angiogenèse (VEGF) et des MMP.

- 3- Une **matrice extra-cellulaire ostéoconductrice** qui agit comme un échafaudage favorisant l'adhésion des cellules ostéoformatrices et des molécules ostéoinductrices. Cet échafaudage est constitué par les extrémités osseuses dans la réparation membranaire et par le tissu fibreux de granulation issu de l'hématome fracturaire dans la réparation endochondrale.
- 4- Une **stabilité mécanique suffisante** du foyer de fracture, en sachant que le niveau des contraintes mécaniques va influencer le mode de réparation.
- 5- Une **vascularisation osseuse** adaptée, sans laquelle les médiateurs et les cellules ne peuvent être acheminés.
- 6- Un patient en **bon état général**, puisque certaines comorbidités (immunodépression) ont un effet néfaste sur la consolidation.

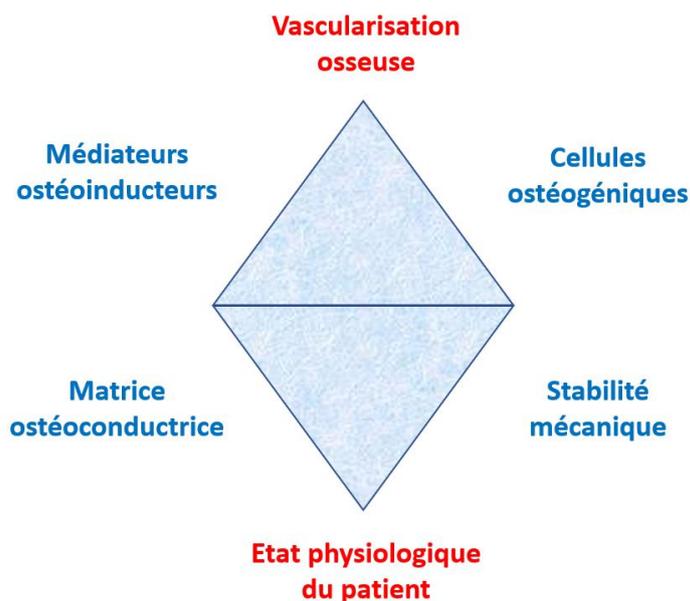


Figure 3 : Illustration du « concept du diamant »

2.1.3 RECONSTRUCTION DES DEFECT OSSEUX CRITIQUES

Dans le cas d'un défaut segmentaire critique, les mécanismes de réparation osseuse spontanés décrits ci-dessus sont dépassés. L'obtention de la consolidation impose une intervention chirurgicale pour apporter du tissu osseux par divers procédés.

Greffes osseuses conventionnelles

Autogreffes

Il s'agit de réaliser apport de tissu osseux prélevé sur le receveur lui-même. Les greffons peuvent être non vascularisés ou vascularisés.

Autogreffes non vascularisées

C'est le *gold standard* pour le de traitement des PSO critiques. Elles ont d'excellentes propriétés ostéogéniques, ostéoinductrices et ostéoconductrices (Tousounidis *et al.* 2009). Les greffons sont colonisés par de l'os néoformé en passant par une phase de résorption et de reconstruction avant d'être complètement intégrés. Ils sont surtout prélevés au niveau des crêtes iliaques antérieures ou postérieures : il peut s'agir de greffons spongieux qui sont facilement revascularisés mais ont une faible qualité mécanique ; ou bien de greffon cortico-spongieux qui sont plus difficilement revascularisés mais offrent une stabilité mécanique intéressante pour le traitement de certaines pseudarthroses. Un autre site donneur fréquemment utilisé est le fémur. Le prélèvement du fémur nécessite l'utilisation d'un dispositif spécifique nommé RIA (*Reamer-Irrigator-Aspirator*, Synthes®) pour collecter un mélange de moelle osseuse et de greffons spongieux à l'intérieur du canal médullaire (Figure 4, Stafford *et al.* 2010).

Autogreffes vascularisées

Il s'agit de transferts osseux qui peuvent être pédiculés (sur des masses musculaires ou des vaisseaux plus individualisés) ou libres micro-anastomosés. Dans les deux cas ce sont des greffons corticaux ou cortico-spongieux ayant une vascularisation propre. Ils ne passent pas par une phase de résorption-reconstruction et ils sont susceptibles de s'épaissir sur le long terme sous l'effet des contraintes mécaniques au membre inférieur. Le transfert libre de fibula vascularisée est le plus fréquemment employé, d'autant qu'il permet des reconstructions pluritissulaires lorsqu'il est utilisé sous la forme d'un lambeau composite (constitué d'os et de tissu fascio-cutané). Son utilisation reste cependant limitée par la nécessité d'une expertise microchirurgicale et par des complications spécifiques fréquentes telles que la thrombose des anastomoses ou les fractures de stress (Beris *et al.* 2011).

Le recours aux autogreffes n'est donc pas sans inconvénients. Elles sont sensibles à l'infection qui peut les résorber ; elles entraînent une inévitable morbidité au site donneur (douleurs, lésions nerveuses, fractures...) ; et elles ne sont disponibles qu'en quantité limitée. Pour pallier ces inconvénients, des greffes osseuses alternatives ont été développées.



Figure 4 : Prélèvement fémoral par le système RIA 2 (Synthes®)

Allogreffes

L'apport osseux provient d'un autre individu de la même espèce. Les allogreffes ont essentiellement des propriétés ostéoconductrices. Elles peuvent être utilisées seules ou en complément d'une autogreffe. Il en existe deux formes :

- Des greffons massifs (os entiers) prélevés sur des donneurs décédés et cryoconservés dans des établissements autorisés pour la reconstruction de défauts très étendus après chirurgie carcinologique ;
- Des têtes fémorales prélevées à l'occasion d'arthroplasties totales de hanche, sécurisées par différents procédés (décellularisation à l'éthanol ou au CO₂ et radio-stérilisation gamma) et conservées dans des banques de tissus agréées.

Il existe un risque théorique de transmission d'agents infectieux (hépatite B, C et VIH) et de rejet immunitaire avec les greffons massifs, mais pas avec l'os de banque.

Biomatériaux

Les biomatériaux sont des matériaux, synthétiques ou vivants, utilisables à des fins médicales pour remplacer une fonction d'un organe ou d'un tissu. Dans le cadre du traitement des PSO, ils sont généralement employés en complément des greffes conventionnelles.

Biomatériaux ostéoconducteurs

Il s'agit des substituts osseux synthétiques qui sont biocompatibles, poreux, et le plus souvent résorbables. Ce sont surtout des céramiques bioactives telles que le phosphate de calcium, le phosphate tricalcique, la céramique biphasée, l'hydroxyapatite ou les bioverres. Il est possible de modifier leur porosité, leur vitesse de dégradation *in vivo*, leur stabilité thermique et leur biocompatibilité afin d'optimiser leurs propriétés ostéoconductrices.

Ces substituts peuvent être utilisés seuls pour le traitement de petits défauts osseux segmentaires ou le comblement de défauts cavitaires. Les voies de recherche actuelles en ingénierie tissulaire consistent à les utiliser dans le « concept du diamant » en les combinant à des cellules ostéogéniques (CSM issues de la moelle osseuse) et des facteurs de croissance ostéoinducteurs qui sont incorporés à la matrice par impression 3D puis placés en culture dans des bioréacteurs (Tosounidis *et al.* 2009).

Biomatériaux ostéoinducteurs

L'ostéoconduction peut être stimulée par différents agents de synthèse, mais ce sont les BMP qui sont le plus utilisées en pratique clinique. Les BMP sont des facteurs de croissance (glycoprotéines) faisant partie de la famille des TGF- β . Comme tout médiateur extracellulaire elles fonctionnent en se fixant sur des récepteurs membranaires cellulaires qui vont les reconnaître et induire une signalisation intracellulaire à l'origine de leur activité. Les BMP stimulent la différenciation des CSM en ostéoblastes et chondrocytes pour induire la formation osseuse et cartilagineuse (Figure 5). Les BMP-2 et BMP-7 sont les plus utilisées pour le traitement des pseudarthroses avec ou sans PSO, mais leur réelle efficacité clinique reste discutée (Simpson *et al.* 2006, Tosounidis *et al.* 2009).

Biomatériaux ostéogéniques

Des injections de moelle osseuse peuvent enfin être employées pour apporter des cellules ostéogéniques selon le concept du diamant. La moelle est prélevée sur le patient au niveau des crêtes iliaques ou des condyles fémoraux à l'aide d'un trocart, puis centrifugée afin de ne garder que les cellules nucléées (dont les CSM) qui sont ensuite réinjectées au niveau de la greffe ou du substitut osseux (Nauth *et al.* 2018, Andrzejwoski *and* Giannoudis 2019).

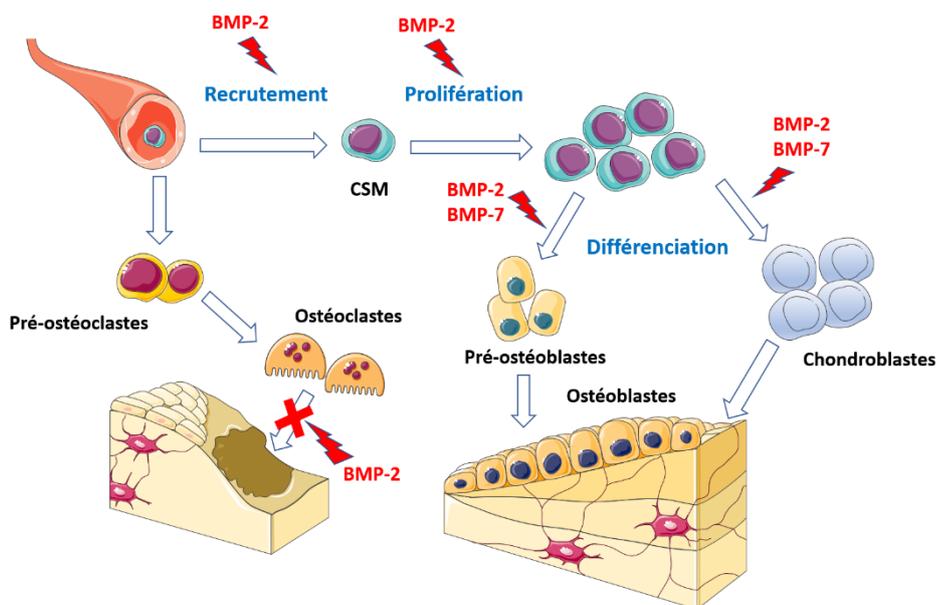


Figure 5 : Mode d'action des BMP-2 et BMP-7 (d'après Langlois 2010)

Ostéogénèse en distraction

Ce procédé décrit par Ilizarov en 1971 consiste à mobiliser un segment osseux à raison d'un millimètre par jour en réalisant une distraction à partir d'une corticotomie métaphysaire. Cette distraction lente et progressive permet l'apparition d'un tissu d'interposition entre les deux berges de l'ostéotomie qui se va transformer en cal fibrocartilagineux, puis en os minéralisé. Le traitement des PSO par l'ostéogénèse en distraction peut se faire selon deux stratégies : la compression-allongement ou le transport osseux.

La compression-allongement consiste à réaliser un premier temps d'accourcissement extemporané ou progressif au niveau du défaut osseux pour obtenir sa consolidation en compression. Secondairement, une ostéotomie métaphysaire et un allongement osseux sont effectués pour corriger l'inégalité de longueur des membres.

Le transport osseux réalise une correction progressive de la PSO par la migration d'un segment osseux intermédiaire après corticotomie métaphysaire proximale ou distale (Figure 6). Distraction et compression osseuses sont classiquement assurées par un fixateur externe dédié qui permet l'appui au membre inférieur durant toute la procédure. Cette technique permet de passer de greffe mais elle est longue (il faut compter 3 mois d'exofixation par cm de PSO) avec des complications fréquentes : infection sur les fiches du fixateur, raideur articulaire, pseudarthrose au *docking site*. Cependant, ces inconvénients peuvent actuellement être évités ou limités par l'utilisation de clous magnétiques (Nauth *et al.* 2018).



Figure 6 : Traitement d'un défaut tibial par transport osseux (S. Alqassab – Amman)

Technique de la membrane induite

La TMI réalise en deux temps une greffe spongieuse massive à l'intérieur d'une membrane d'encapsulation servant de barrière protectrice et de chambre de régénération biologique. Cette membrane va en effet revasculariser les greffons et favoriser la formation osseuse grâce à la présence de cellules ostéogéniques et de médiateurs ostéoinducteurs en son sein. Elle permet la reconstruction des PSO diaphysaires de tous les os longs, quelle que soit l'origine (traumatique, infectieuse ou tumorale) et la taille du défaut osseux (Figure 7). Elle est simple mais nécessite un strict respect de ses règles d'utilisation. Ses principes techniques et bases biologiques seront développés en détail dans le chapitre suivant.



Figure 7 : Reconstruction d'un défaut fémoral de 16 cm par la TMI avec greffe au RIA

Spécificité du segment jambier

Le traitement des PSO tibiales nécessite souvent d'intégrer la fibula dans la stratégie de reconstruction. Deux techniques peuvent être utilisées : la greffe inter-tibio-fibulaire (GITF) et la tibialisation de la fibula (Mathieu *et al.* 2019).

Grefe inter-tibio-fibulaire

Ce procédé consiste à créer une synostose entre le tibia et la fibula en encastant un ou deux greffon(s) iliaque(s) cortico-spongieux entre les deux os, de part et d'autre du foyer de pseudarthrose. Il nécessite une fibula continue, intacte ou stabilisée, et une préservation du réseau artériel car sa réalisation risque d'interrompre un des axes vasculaires.

La GITF peut être employée seule pour traiter des défauts de moins de 5 cm. Il est alors essentiel que la greffe déborde largement de chaque côté de la PSO. Dans cette situation ou dans le cas d'une fracture comminutive étendue, il est souhaitable de réaliser une double GITF. La GITF peut aussi être utilisée en association à d'autres procédés dans les défauts plus étendus, notamment avec la TMI (Figure 8).

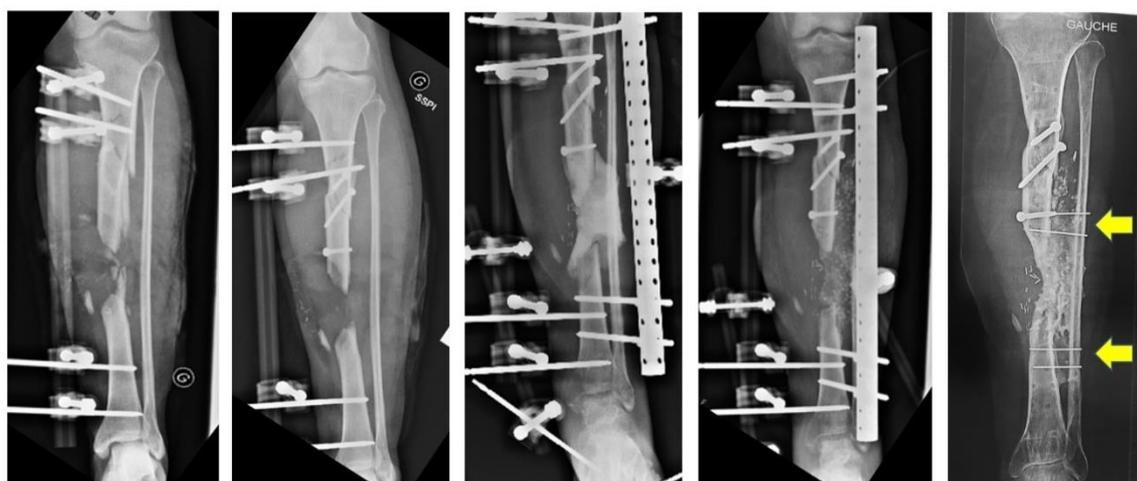


Figure 8 : Traitement d'un traumatisme balistique du tibia par la TMI associée à une double GITF (flèches) aux deux extrémités de la reconstruction

Tibialisation de la fibula

Il s'agit de ponter le défaut tibial par un transfert de la fibula contre le tibia en gardant sa vascularisation. C'est donc une autogreffe vascularisée pédiculée. Avec les contraintes liées à la marche, la fibula s'hypertrophie en quelques mois ou années.

La tibialisation est indiquée dans les PSO tibiales très étendues lorsque le stock osseux disponible est limité ou insuffisant. Elle est particulièrement intéressante chez les enfants qui ont faible stock osseux, mais chez lesquels la fusion et l'hypertrophie de la fibula sont meilleures. Comme la GITF, elle peut être associée à d'autres procédés de reconstruction (Figure 9).



Figure 9 : Défect tibial balistique traité par la TMI associée à une tibialisation de la fibula

Indications

Le choix du mode de reconstruction d'un défaut osseux critique dépend principalement de sa localisation et de son étendue. De façon schématique, les greffes cortico-spongieuses (CS) monobloc peuvent être utilisées pour des PSO allant jusqu'à 2 cm au membre supérieur et jusqu'à 5 cm au membre inférieur. Au-delà il faut recourir à la TMI, au transfert de fibula vascularisé (TFV) ou au transport osseux segmentaire (TOS). Enfin, des procédés spécifiques sont aussi applicables à certains niveaux : raccourcissement de l'humérus, *one bone forearm* (OBF) dans les défauts étendus des deux os de l'avant-bras, GITF ou tibialisation de la fibula (Figures 10 et 11).

Les recommandations établies par la Société Française de Chirurgie Orthopédique et Traumatologie (SOFOT) sont retranscrites dans le tableau 1 (Masquelet *et al.* 2012). Au-delà de 2 cm de défaut, la TMI peut être utilisée dans toutes les situations. Sa seule limite est qu'elle ne permet pas la correction d'une inégalité de longueur au membre inférieur : il faut alors recourir à un TOS.

	<2 cm	2 à 5 cm	5 à 10 cm	>10 cm
Humérus	Accourcissement ou greffe CS	Accourcissement + greffe CS ou TMI ou TOS	TMI ou TFV	TMI ou TFV
Avant-bras	Greffe CS	TMI	TMI ou TFV	TMI en OBF ou TFV en OBF
Fémur	Greffe CS	Greffe CS ou TMI	TMI ou TFV ou TOS	
Jambe	Greffe CS ou GITF	GITF ou TMI ou TOS ou TFV	TMI ou TOS ou TFV ou tibialisation	

Tableau 1 : Recommandations pour la réparation des PSO des os longs (Masquelet *et al.* 2012)

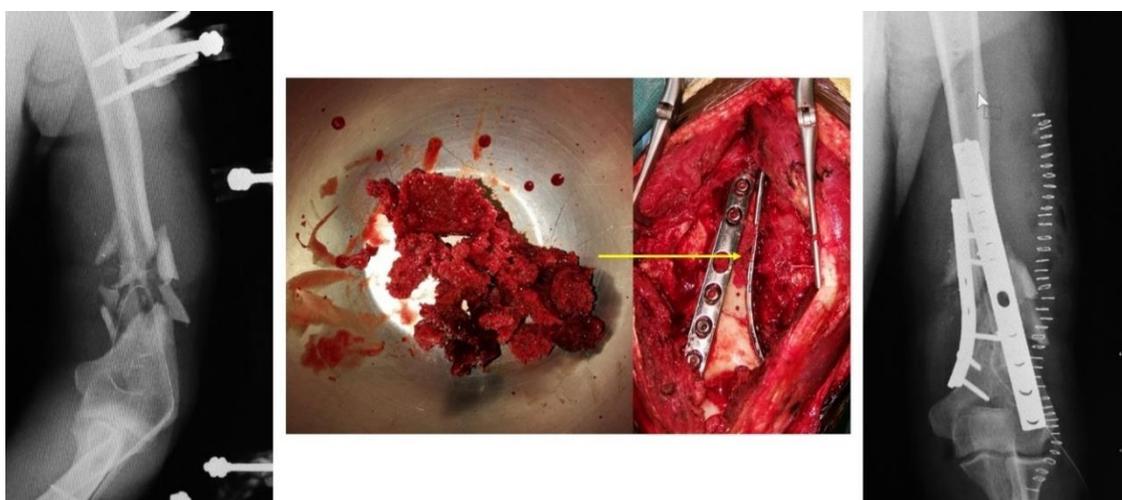


Figure 10 : Défect huméral balistique de 4 cm traité par accourcissement et greffe iliaque CS



Figure 11 : Traitement d'un traumatisme balistique de l'avant-bras : DCO (A), 1^{er} temps de la TMI en OBF avec couverture par lambeau libre (B), 2nd temps de la TMI en OBF (C)

2.2 TECHNIQUE DE LA MEMBRANE INDUITE

2.2.1 DESCRIPTION DES TEMPS OPERATOIRES – Annexes 1 et 2

Nous décrirons ici les principes de la technique appliquée à une PSO diaphysaire non infectée (Mathieu *and* Masquelet 2019).

Etape 1 (T1)

Elle consiste en la mise en place du *spacer* en polyméthylmétacrylate (PMMA) dans la PSO préalablement stabilisée par une ostéosynthèse, qui est le plus souvent interne en l'absence d'infection. Le mode de fixation peut être indifféremment un clou ou une plaque, chacun ayant ses avantages, inconvénients et indications respectives. S'agissant d'une PSO diaphysaire, le *spacer* a une forme cylindrique reproduisant le segment osseux manquant.

Plusieurs précautions doivent être prises lors de l'implantation du ciment :

- 1- Les deux extrémités osseuses doivent être bien exposées et leurs cavités médullaires dégagées de tout tissu fibreux. Dans les lésions datant de plusieurs semaines, ces cavités doivent souvent être reperméabilisées au moyen d'une mèche et d'une curette.
- 2- Le ciment utilisé doit être de haute viscosité pour pouvoir être façonné à la main. Alain-Charles Masquelet recommande d'utiliser un ciment sans antibiotique, notamment pour ne pas altérer les propriétés biologiques de la membrane.
- 3- Le *spacer* doit bien manchonner les extrémités osseuses de façon circumférentielle, pour éviter une pseudarthrose à la jonction os natif-os reconstruit.
- 4- Le *spacer* doit être le plus volumineux possible, sans pour autant gêner la fermeture cutanée. Cela est crucial dans les localisations où les PSO sont situées immédiatement sous la peau, comme au niveau de la jambe ou de la main.

Etape 2 (T2)

En l'absence d'infection, le délai entre les deux temps opératoires est principalement dicté par les contraintes biologiques liées au temps d'induction de la membrane et à la cicatrisation des parties molles. Celles-ci doivent être parfaitement cicatrisées et avoir retrouvé leur souplesse. Ces contraintes font que l'intervalle T1-T2 est rarement inférieur à 6 semaines. Le T2 comporte le retrait du *spacer*, puis le remplissage de la cavité par une greffe spongieuse (Figure 12).

Retrait du ciment

Il doit être effectué de façon atraumatique pour la membrane située tout autour. Il faut généralement emprunter la voie d'abord utilisée lors du T1. La membrane doit être incisée avec précaution au bistouri à lame froide en débordant largement les extrémités du *spacer*. Du fait du manchonnage des extrémités osseuses, celui-ci ne peut souvent pas être retiré de façon monobloc : il doit être fragmenté au ciseau à frapper en veillant à ne pas léser la membrane au niveau des extrémités osseuses. Il faut veiller à bien enlever le ciment faisant saillie dans les cavités médullaires et effectuer des prélèvements bactériologiques systématiques pour traquer une éventuelle infection latente.

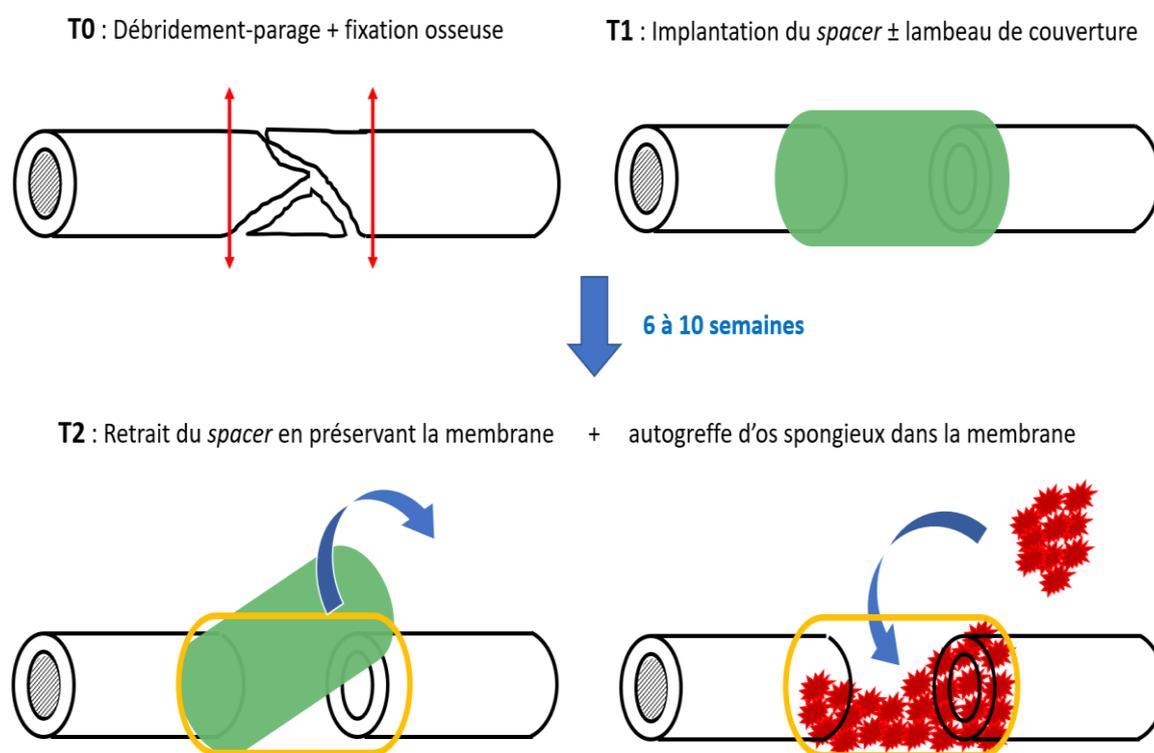


Figure 12 : Etapes de la TMI (Mathieu *and* Masquelet 2019)

Grefe osseuse

Elle doit se faire au moyen de greffons d'os spongieux autologue. Les greffons cortico-spongieux doivent être évités car l'os cortical est mal revascularisé par la membrane. Avant d'effectuer la greffe, il est crucial de bien reperméabiliser les cavités médullaires et de décortiquer les extrémités osseuses qui ont été manchonnées par le ciment.

Les greffons spongieux sont d'abord placés sous les copeaux de décortication (restant solidaires de la membrane) pour éviter la survenue d'une pseudarthrose jonctionnelle. La chambre membranaire est ensuite remplie par le reste de la greffe spongieuse. Il faut des greffons en quantité car ils doivent être bien tassés (mais non écrasés) pour obtenir un remplissage complet de la cavité : cela permet de prévenir une « chute » ultérieure de la greffe sous l'effet de la gravité lorsque le patient se mettra debout.

De l'allogreffe (os de banque) ou un substitut osseux peut être ajouté à l'autogreffe sans dépasser 30% du volume total : cela doit être systématique en cas de prélèvement au RIA en raison du caractère très dense du greffon obtenu par cette méthode. En revanche, l'ajout de facteurs de croissance de synthèse n'est pas recommandé : ils n'ont pas fait la preuve de leur intérêt dans cette indication et pourraient même rentrer en compétition avec ceux sécrétés par la membrane (Masquelet 2017).

En situation sanitaire dégradée, le RIA, les allogreffes et les substituts synthétiques ne sont pas accessibles. Le stock osseux disponible est essentiellement limité aux crêtes iliaques du patient : cela constitue un frein à la reconstruction des défauts étendus. Il est cependant possible de limiter le volume d'os spongieux à greffer en utilisant un enclouage centro-médullaire (après éradication certaine de l'infection) ou bien une fibula non vascularisée multi-perforée (Mathieu *and* Masquelet 2019, Mathieu 2020). Ce greffon est particulièrement utile au membre supérieur ou au tibia pour augmenter la stabilité de l'exofixation (Figure 13 et 14).

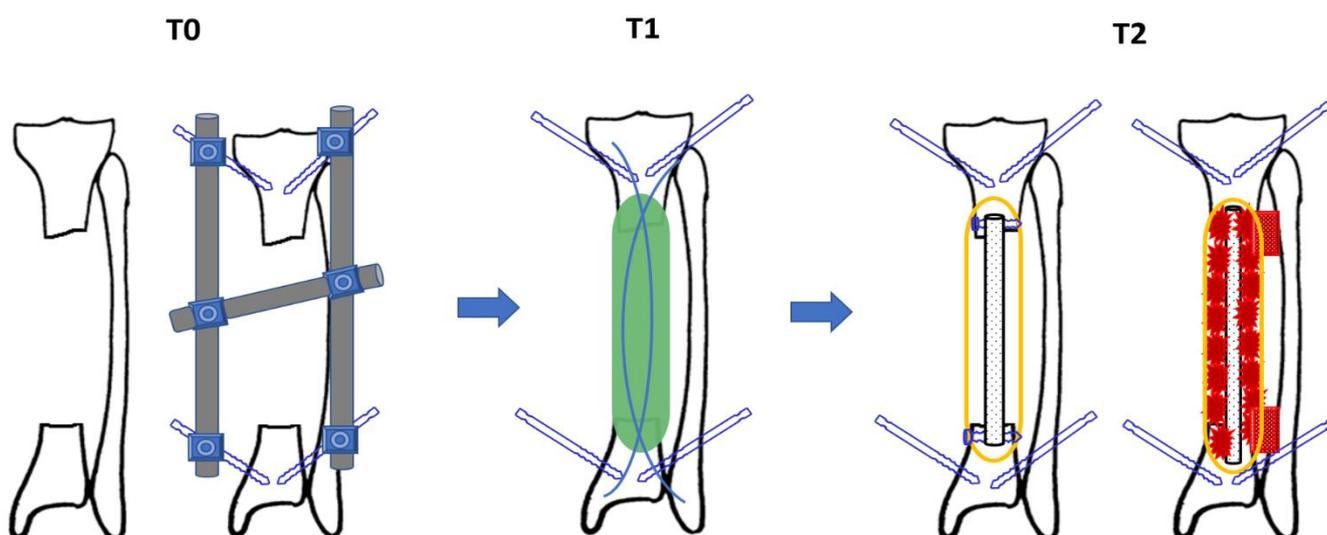


Figure 13 : Reconstruction d'un défaut tibial étendu en situation précaire par combinaison d'une fibula non vascularisée, de greffons spongieux et de GITF (Mathieu *and* Masquelet 2019)

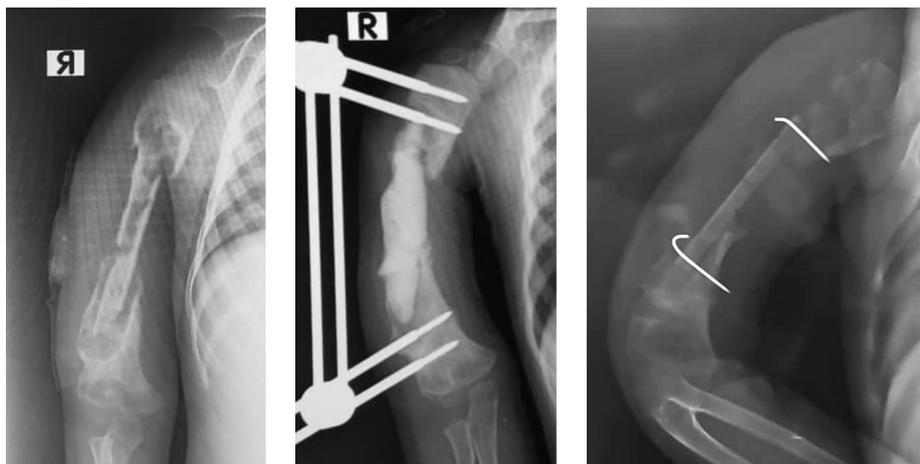


Figure 14 : Reconstruction de l'humérus par la TMI avec fibula non vascularisée après traitement d'une ostéomyélite chronique chez une enfant de 9 ans (I Hassan-Farah – Djibouti)

2.2.2 REGLES D'UTILISATION

Pseudarthroses aseptiques avec ou sans perte de substance

Déficits diaphysaires

Les indications de la TMI pour le traitement des PSO diaphysaires ont été présentées précédemment. Il faut souligner qu'il n'y a pas de limite maximale théorique à la reconstruction d'un segment diaphysaire manquant par cette technique. Des reconstructions de plus de 20 cm ont ainsi été décrites au segment jambier. Comme évoqué précédemment, les limitations viennent des possibilités d'obtention d'une fixation osseuse stable sur le long terme, et du stock osseux disponible pour reconstruire les défauts étendus.

Déficits métaphysaires

L'utilisation d'un *spacer* monobloc est mal adaptée aux PSO métaphysaires qui sont généralement des défauts cavitaires. Si le remplissage de ces cavités par le ciment ne pose pas de problème, son extraction peut être difficile et traumatisante, avec un risque de faillite de l'ostéosynthèse qui est généralement une plaque avec un ancrage épiphysaire situé à proximité immédiate de la PSO. Pour cette raison, il est recommandé de combler le défaut par des billes de ciment confectionnées par le chirurgien au moment de l'intervention. Il doit s'agir de billes de grande dimension qui seront aisées à retirer lors du T2 (Masquelet 2017).

Pseudarthroses récalcitrantes

Alain-Charles Masquelet a récemment appliqué sa technique aux pseudarthroses aseptiques rebelles sans perte de substance. Il s'agit de pseudarthroses ayant déjà fait l'objet de plusieurs tentatives de consolidation par divers procédés. Le principe est de réaliser une TMI « engainante » autour de ces pseudarthroses qui sont hypotrophiques et mal vascularisées (Figure 15).

Lors du T1 le foyer est d'abord traité de façon conventionnelle par ablation du matériel en faillite, excision de la fibrose, repéréabilisation des cavités médullaires et nouvelle ostéosynthèse avec mise en compression. Ensuite, deux ou trois tuiles en ciment en forme de $\frac{1}{4}$ de tube sont placées autour du foyer de façon à créer une chambre membranaire périphérique.

Le T2 est effectué deux mois plus tard. La membrane est incisée et les tuiles retirées. Le sac membranaire comporte alors deux feuillets : l'un externe au contact des parties molles, l'autre interne à la surface de l'os. Une décortication du foyer de pseudarthrose est effectuée au travers du feuillet interne pour détacher des copeaux corticaux restant attachés à la membrane. Enfin, le sac membranaire est rempli par des greffons spongieux placés entre les deux feuillets. La consolidation est habituellement acquise en trois mois (Masquelet *et al.* 2020).

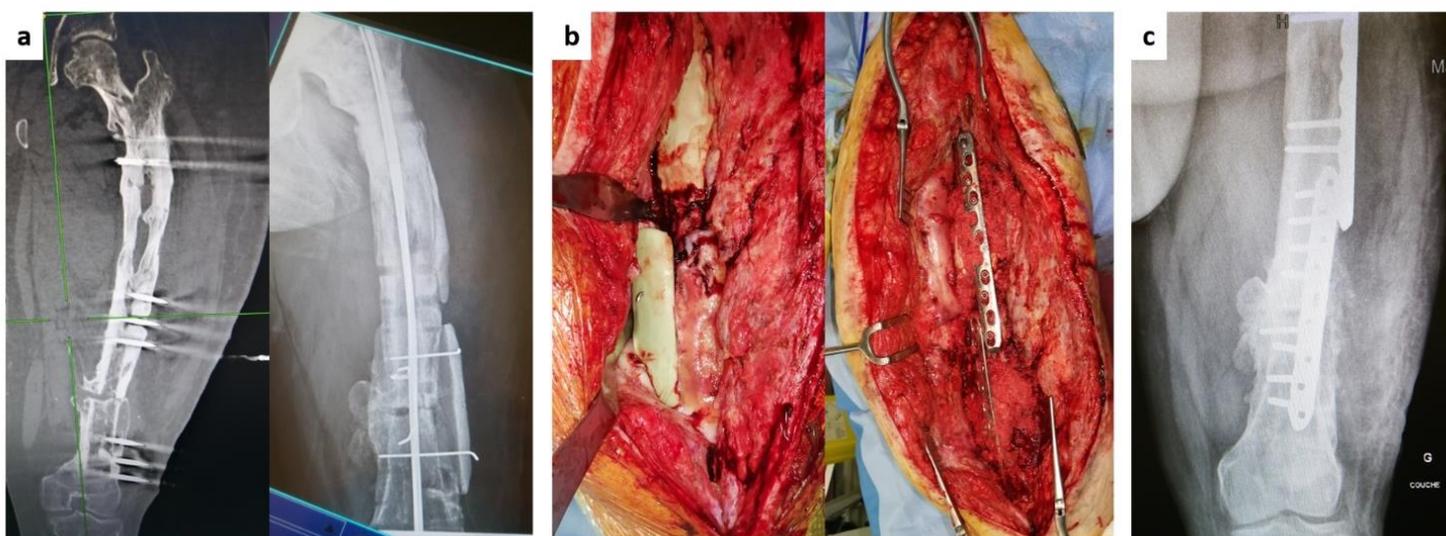


Figure 15 : TMI engainante pour pseudarthrose du fémur récalcitrante au *docking site* d'un transport osseux : imagerie avant et après le T1 (a), retrait des tuiles, nouvelle fixation et greffe au T2 (b), consolidation après 9 mois (c)

Pertes de substance osseuse infectées – Annexes 1 et 2

L'analyse de la littérature montre que l'infection est la première cause d'échec de la TMI (Mathieu *et al.* 2020). La présence de germes à l'intérieur de la membrane va en effet nuire aux greffons osseux qui n'ont pas de vascularisation propre : elle peut causer une résorption rapide de la greffe ou des réveils septiques tardifs (Masquelet 2020). De plus, d'après l'étude expérimentale de Shah *et al.* (2017), l'infection altérerait les capacités ostéogéniques de la membrane en diminuant l'expression locale de certains facteurs de croissance. Il semble enfin que la présence de germes dans un environnement osseux s'accompagne d'une diminution des ostéoblastes et des CSM mais aussi d'une augmentation des facteurs de résorption osseuse et des cytokines pro-inflammatoires (Sanchez *et al.* 2013).

Ainsi, le premier prérequis à l'utilisation de la TMI est l'absence d'infection. Dans le cas d'une PSO infectée, le traitement de l'infection doit donc être effectué avant l'application de la technique : c'est le T0, qui doit être idéalement dissocié du T1. Des précautions particulières devront ensuite être prises lors des deux temps opératoires.

Etape T0

Le traitement de l'infection osseuse est avant tout chirurgical, basé sur le débridement et le parage de la perte de substance pluritissulaire :

- 1- Le **débridement** consiste en une « mise à plat » de la plaie par une incision large des enveloppes cutanée et fasciale pour accéder à la totalité des tissus infectés.
- 2- Le **parage** consiste ensuite en l'excision des tissus infectés : parties molles et os. Dans les lésions récentes, le parage des parties molles consiste à exciser les tissus très fortement contaminés ou voués à la nécrose. Dans les lésions chroniques, il s'agit de retirer les tissus suspects d'infection et les tissus fibreux mal vascularisés. Le parage osseux réalise l'excision des séquestres, c'est-à-dire des fragments osseux libres de toute attache, et la régularisation des extrémités osseuses jusqu'en zone saine : il s'agit de retirer l'os nécrosé jusqu'à obtenir des tranches osseuses saignantes. Enfin il est parfois nécessaire de réaliser un alésage centromédullaire de l'os à reconstruire avant de réaliser l'irrigation de la plaie et de la cavité médullaire. Cette irrigation est effectuée à basse pression en utilisant de sérum physiologique dans lequel peut être dilué un antiseptique (Masquelet 2020).

Dans certaines lésions pluritissulaires à haute énergie fortement contaminées ou dans les infections osseuses chroniques, le contrôle de l'infection impose souvent la réalisation de plusieurs parages espacés de 2 à 3 jours. Il est en effet difficile d'être certain du caractère viable ou non de parties molles contuses ou d'un os infecté de longue date.

Entre ces sessions de parages, la plaie peut être laissée ouverte et pansée à plat, ou bien protégée par un pansement à pression négative qui assure un drainage efficace et évite la recontamination par les germes environnementaux (Mathieu *et al.* 2020).

En complément de l'excision des tissus infectés, la décontamination de la PSO passe par une antibiothérapie ciblée et prolongée, qui est guidée par la réalisation de prélèvements bactériologiques lors de chaque geste de parage. La durée de l'antibiothérapie varie habituellement entre 6 et 12 semaines.

Etape T1

L'implantation du ciment dans la PSO implique la fermeture immédiate de la plaie. Dans le cas d'une perte de substance pluritissulaire infectée, le(s) geste(s) de parage laisse(nt) souvent un défaut des parties molles qui nécessite un geste de reconstruction. L'étendue de la perte de substance des parties molles peut être évaluée par la classification de Gustilo et Anderson (Gustilo *et al.* 1984) utilisée pour décrire les fractures ouvertes et guider la technique de réparation de l'enveloppe (Tableau 2). La situation la plus fréquente est celle d'une lésion de type IIIB de Gustilo qui impose la réalisation d'un lambeau de couverture, c'est-à-dire d'un transfert tissulaire ayant sa propre vascularisation.

Type	Description des lésions	Mode de couverture
I	Plaie punctiforme (≤ 1 cm) propre	Suture directe
II	Plaie > 1 cm avec atteinte limitée des parties molles	Suture directe \pm en tension
IIIA	Perte de substance extensive des parties molles, sans déperiostage, ni exposition du foyer de fracture	Grefe de peau mince
IIIB	Perte de substance extensive des parties molles, avec déperiostage et exposition du foyer de fracture	Lambeau pédiculé ou libre
IIIC	Tous types d'ouverture avec lésion vasculaire et ischémie	Selon le type d'ouverture

Tableau 2 : Classification de Gustilo et Anderson (Gustilo *et al.* 1984)

La reconstruction de l'enveloppe des parties molles intervient une fois la stabilisation instrumentale effectuée et le *spacer* implanté dans la PSO. Selon la localisation et l'étendue du défaut, les lambeaux peuvent être prélevés à proximité ou à distance de la zone lésée. Les lambeaux prélevés à distance sont généralement des lambeaux libres nécessitant la réalisation d'anastomoses vasculaires microchirurgicales. Plus rarement il s'agit de lambeaux pédiculés à pédicule transitoire (Figure 16).

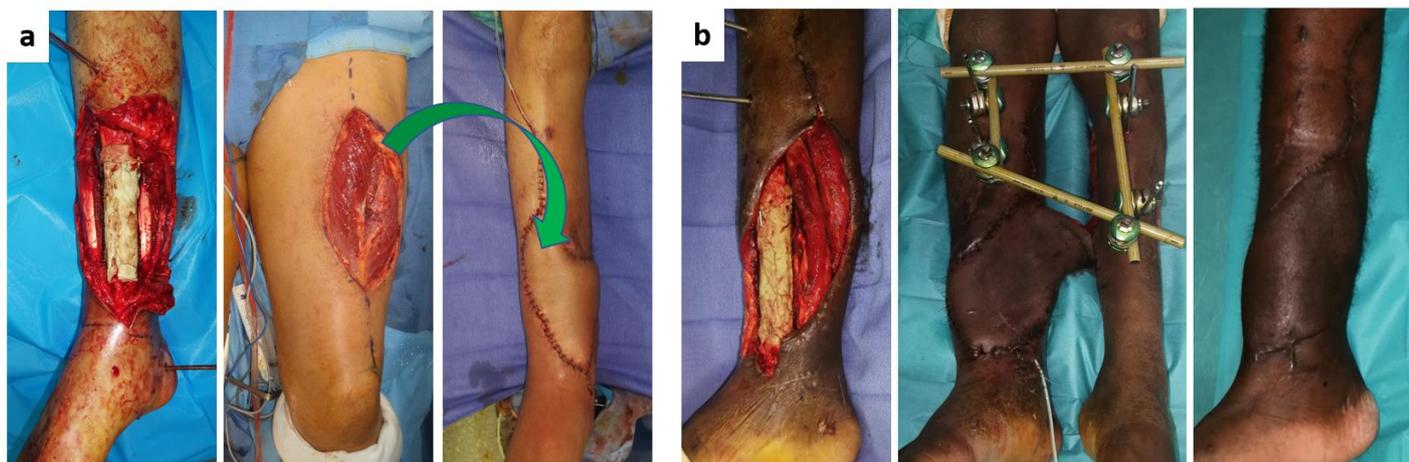


Figure 16 : Utilisation d'un lambeau libre antéro-latéral de cuisse (a) et d'un lambeau *cross-leg* à pédicule transitoire (b) au quart distal de jambe

Etape T2

La greffe osseuse est effectuée une fois les parties molles cicatrisées et le traitement antibiotique achevé. Il faut s'assurer au préalable du contrôle de l'infection en se basant sur des critères cliniques, radiologiques et biologiques : le dosage sérique de la protéine C réactive (CRP) doit être dans les valeurs standards. Il est prudent de respecter une fenêtre thérapeutique de 2 à 3 semaines entre l'arrêt des antibiotiques et le dernier dosage de la CRP. Si tous les paramètres sont « au vert », la greffe est effectuée après réalisation de prélèvements bactériologiques ultimes : ils serviront à guider l'antibiothérapie complémentaire en cas d'infection torpide.

En revanche, si une récurrence septique évidente est constatée avant ou lors du T2, le T0 et le T1 doivent être recommencés en retirant le ciment, le matériel d'ostéosynthèse et la membrane qui sont tous trois contaminés. Il faut ensuite compléter le parage osseux, relaver les cavités médullaires, implanter un nouveau matériel de fixation et un nouveau *spacer*, puis reprendre un traitement antibiotique adapté aux résultats des derniers prélèvements bactériologiques.

Stratégies de la stabilisation instrumentale – Annexe 3

Le second prérequis au succès de la technique est une fixation osseuse rigide lors du T2. La revascularisation et l'intégration des greffons osseux à l'intérieur de la membrane ne peut en effet se faire qu'à condition d'un montage stable (Masquelet 2017, Masquelet 2019).

Si tous les modes de fixation osseuse peuvent être utilisés, ils ont chacun leur avantages, inconvénients, indications privilégiées et leurs conditions d'utilisation dans le cadre de la TMI. Le choix de l'ostéosynthèse dépend en fait du type de lésion (PSO ou pseudarthrose sans PSO), de son caractère infecté ou non, du segment osseux, mais aussi des habitudes du chirurgien (Figure 17).

En dehors de toute infection, la stabilisation des os longs se fait de la façon suivante : enclouage centromédullaire (ECM) pour les diaphyses du membre inférieur, notamment du fémur ; plaques vissées pour les diaphyses du membre supérieur et toutes les métaphyses ; fixateur externe pour les PSO très étendues du tibia (> 20 cm) pour lesquelles même un clou verrouillé est insuffisant pour maintenir des axes (Masquelet 2020). Au niveau des extrémités (main ou pied) les montages font appel à des broches ou des plaques (Mathieu 2020).

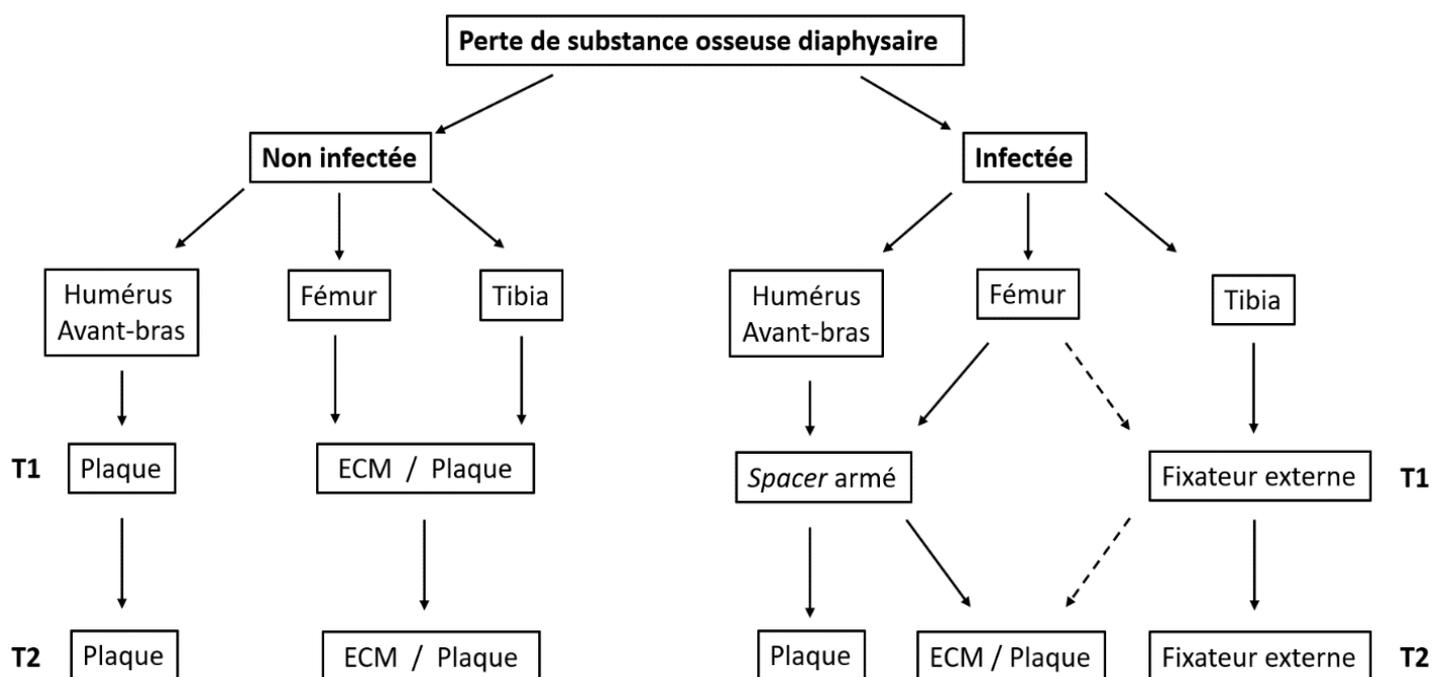


Figure 17 : Proposition d'un algorithme pour le choix du mode de fixation (Mathieu 2020)

En cas d'infection associée, l'implantation de matériel interne à l'issue du T0 expose à la récurrence septique si le parage est incomplet. Le fixateur externe s'impose alors le plus souvent, car il assure la stabilisation osseuse sans implantation de matériel au contact de la zone à reconstruire. Ce mode d'ostéosynthèse est cependant mal toléré sur le long terme en raison de son encombrement, des complications infectieuses survenant sur les fiches, et de l'enraidissement des articulations de proximité (Mathieu 2020). Dans les localisations où le fixateur est mal adapté (fémur, tibia proximal ou distal, et membre supérieur) il est souvent converti en une fixation interne lors du T2, une fois l'infection éradiquée (Mauffrey *et al.* 2016). Certains auteurs ont aussi proposé une tactique de fixation interne séquentielle utilisant des plaques temporaires recouvertes de ciment chargé d'antibiotiques au T1, puis converties en des plaques plus rigides lors du T2 (Jia *et al.* 2020). Nous avons nous-même décrit une tactique similaire de fixation interne séquentielle au moyen d'un *spacer* armé qui se sera détaillée ultérieurement (Figures 17 et 18).



Figure 18 : Fixation séquentielle d'un défaut infecté du quart distal du tibia : parage et exofixation temporaire au T0 (a) ; couverture par lambeaux libres et pose d'un *spacer* armé au T1 (b) ; fixation définitive par enclouage avec arthrodèse tibio-talienne au T2 (c)

2.2.3 BASES BIOLOGIQUES – Annexe 4

Formation de la membrane

Réaction immunitaire à corps étranger

L'induction de la membrane résulte d'un phénomène d'inflammation tissulaire causé par le *spacer* en ciment. L'implantation d'un biomatériau déclenche une réaction immunitaire physiologique nommée « réaction à corps étranger » qui comporte cinq étapes (Anderson *et al.* 2008, Durand *and* Collombet 2020) :

- 1- Adsorption des protéines plasmatiques à la surface du corps étranger ;
- 2- Recrutement à la périphérie du corps étranger des PNN et initiation de la réponse inflammatoire aiguë ;
- 3- Réponse inflammatoire chronique avec recrutement de lymphocytes et monocytes se différenciant ensuite en macrophages ;
- 4- Activation et fusion des macrophages pour former des cellules géantes multinucléées visant à résorber le corps étranger par phagocytose ;
- 5- Recrutement et activation des fibroblastes synthétisant une matrice extra-cellulaire à base de collagène pour former une capsule autour du corps étranger, c'est-à-dire une « membrane d'encapsulation à corps étranger » (Figure 19).

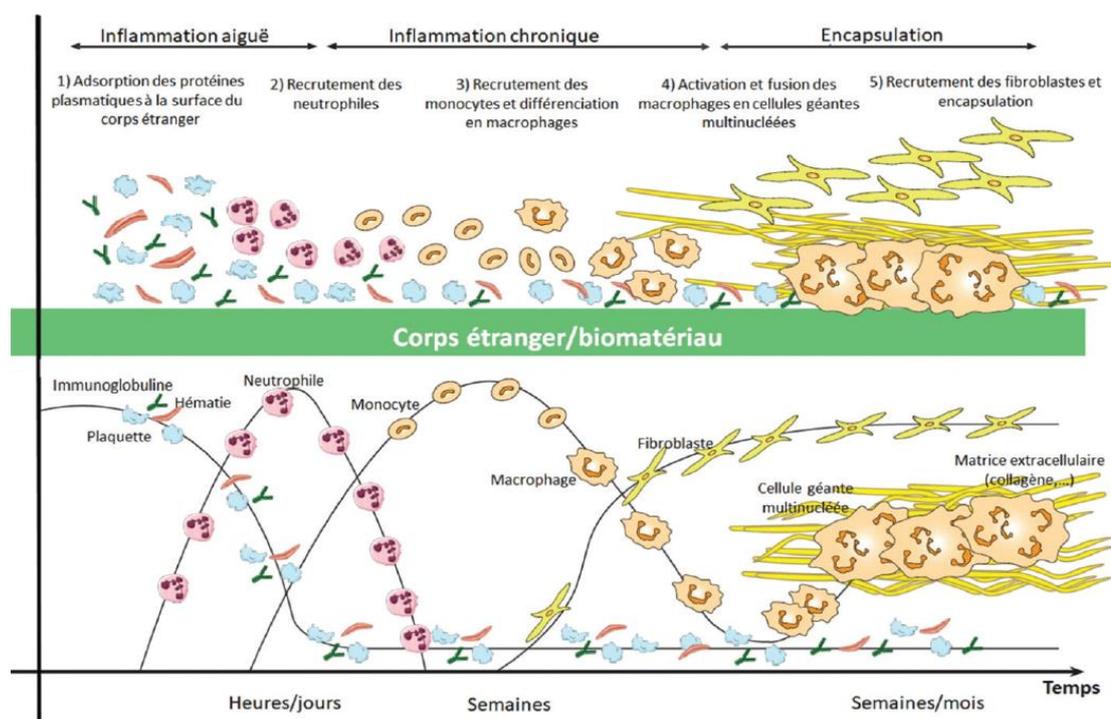


Figure 19 : Etapes de la réaction immunitaire à corps étranger (Durand *and* Collombet 2020)

Structure histologique de la membrane

L'histologie des membranes d'encapsulation à corps étranger a largement été étudiée. Chez l'homme et dans un environnement osseux elle a une épaisseur moyenne de 1,6 mm et se compose de trois couches distinctes (Durand *et al.* 2019) :

- Une « couche profonde » en contact avec le PMMA, épaisse de 3 à 4 couches de cellules d'origine monocyttaire (CD68+, RANK+, CTR-) ;
- Une « couche intermédiaire » constituée de fibres de collagène parallèles à l'axe du ciment PMMA et de vaisseaux sanguins, mais dont la démarcation n'est pas aisée ;
- Une « couche superficielle » épaisse à l'interface avec les muscles, riche en fibroblastes, myoblastes, collagène et vaisseaux sanguins, et contenant aussi des cellules géantes multinucléées (Figure 20).

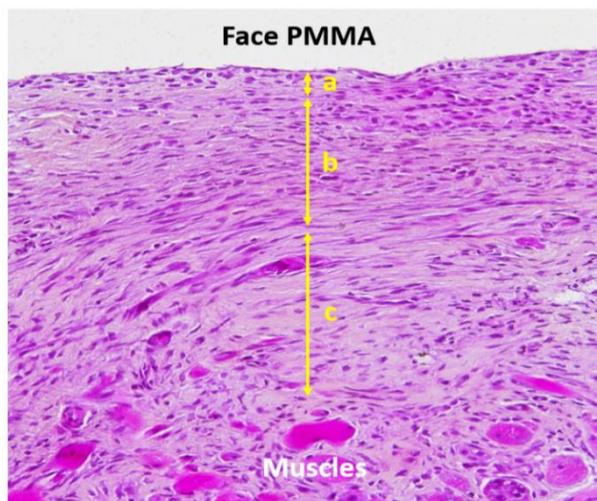


Figure 20 : Structure histologique de la MI avec coloration hématoxyline-éosine-safran (HES) et grossissement x10 : couche profonde (a), intermédiaire (b) et superficielle (c)

Comparativement aux membranes d'encapsulation développées au sein des parties molles, les MI en site osseux comportent également des CSM et des précurseurs hématopoïétiques à l'origine des ostéoclastes (Gindraux *et al.* 2017, Gouron *et al.* 2017). Les CSM sont des cellules multipotentes capables de se différencier en ostéoblastes, chondrocytes et adipocytes. Elles jouent un rôle fondamental dans la régénération osseuse. A l'inverse, les ostéoclastes sont des cellules initiatrices du remodelage osseux. La présence de ces cellules semble liée à l'existence d'ilots de cartilage et de minéralisation parfois observés dans la membrane elle-même. Cependant, ces ilots d'ossification membraneuse ne sont pas constants (Durand *and* Collombet 2020).

Ces notions histologiques rendent compte du **rôle de barrière protectrice** de la MI qui, à l'issue du T2, protège la greffe osseuse des macrophages situés dans les parties molles périphériques. Cela explique que des greffes de plus de 5 cm soient possibles à l'intérieur d'une membrane sans être résorbées. Le recrutement de CSM au sein de la MI démontre également qu'elle dispose de **propriétés ostéogéniques** favorisant l'intégration de la greffe.

Propriétés biologiques de la membrane

Pelissier *et al.* (2004) ont été les premiers à mettre en évidence les propriétés angiogéniques et ostéogéniques des MI. En implantant du PMMA en sous-cutané chez le lapin, ils ont montré que les membranes sécrétaient des facteurs de croissance : VEGF, TGF- β 1, BMP-2.

Propriétés angiogéniques

Le VEGF-A est un facteur de régulation de l'angiogenèse sécrété. Il influence aussi l'ostéogénèse, notamment la différenciation ostéoblastique et le recrutement des ostéoclastes (Hu *and* Olsen 2016). Wang *et al.* (2020) ont récemment montré que le VEGF-A est synthétisé par des cellules myéloïdes suppressives CD11b+Gr1+ (cellules immunitaires d'origine myéloïde comme les monocytes et les macrophages) présentes dans la MI ; et que le nombre de ces cellules est directement corrélé à la densité vasculaire de la membrane. Ces propriétés angiogéniques aboutissent à la formation de bourgeons vasculaires endomembranaires qui pénètrent les anfractuosités des greffons spongieux pour les revasculariser. C'est pour cette raison que la stabilisation instrumentale doit être stable à l'issue du T2 : elle doit s'opposer à tout micromouvement pouvant cisailier ces bourgeons vasculaires (Masquelet 2020).

Propriétés ostéogéniques

Depuis les travaux de Pelissier *et al.* (2004) il a été montré que la MI sécrète de nombreux facteurs de croissance et de cytokines propices à la réparation tissulaire, dont la BMP-2 et le TGF- β 1. Tang *et al.* (2018) ont ainsi suggéré que la synthèse de ces deux facteurs stimulerait la voie de signalisation des mitogen-activated protein kinases (MAP-K) menant à l'activation du runt-related transcription factor-2 (RUNX-2), lequel est un facteur de transcription clé associé à la différenciation des CSM en ostéoblastes. La membrane sécrète également du stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) impliqué dans la réparation osseuse endochondrale, ainsi que divers médiateurs de l'inflammation tels que les IL-6 et IL-8 (Durand *and* Collombet 2020).

Au total, d'un point de vue biologique, la MI est une chambre de régénération tissulaire qui favorise l'intégration de la greffe osseuse de trois façons :

- 1- En protégeant la greffe des macrophages situés à l'extérieur de la chambre membranaire ;
- 2- En revascularisant les greffons spongieux par des bourgeons vasculaires ;
- 3- En stimulant le processus d'ostéogénèse par le recrutement de cellules souches et par la sécrétion de médiateurs ostéoinducteurs et pro-inflammatoires.

Facteurs affectant les propriétés membranaires

Age de la membrane

La question de l'intervalle idéal entre les deux temps opératoires reste en suspens. Le délai initialement recommandé par Alain-Charles Masquelet était de 2 mois (Masquelet 2000). Ce délai tenait compte du temps nécessaire à la formation de la membrane et à la cicatrisation complète des parties molles.

A la suite des premiers travaux expérimentaux menés dans les années 2000, il est apparu qu'un raccourcissement du délai T1-T2 serait souhaitable pour que la greffe osseuse soit effectuée dans une membrane présentant des propriétés angiogéniques et ostéogéniques optimales. Pelissier *et al.* (2004) ont en effet montré que le pic de sécrétion des facteurs de croissance (VEGF et BMP-2) était obtenu à 4 semaines sur des MI de siège sous-cutané chez le lapin. Heinrich *et al.* (2013) qui ont étudié les propriétés de MI en site sous-cutané et intra-osseux chez le rat, ont également trouvé que leur activité vasculaire et ostéogénique (sécrétion de VEGF, BMP-2, TGF- β 1) était maximale entre 2 et 4 semaines, puis diminuait après 6 semaines. Ils ont aussi montré que les CSM n'étaient présentes que dans les MI de siège intra-osseux à 2 semaines, puis disparaissaient. Sur des MI humaines, Aho *et al.* (2013) ont rapporté que le VEGF diminuait rapidement après 1 mois, et que les membranes âgées de plus de 2 mois perdaient leur vascularisation au profit d'un tissu fibreux riche en fibres de collagène. Ces études ont eu tendance à faire raccourcir l'intervalle T1-T2 en pratique clinique : un délai de 6 à 10 semaines est actuellement recommandé. Il est en fait difficile de faire plus court, car la greffe ne doit être effectuée qu'une fois les parties molles assouplies et l'antibiothérapie achevée.

A l'inverse, certaines équipes rapportent la réalisation de greffes tardives sans effet néfaste sur le taux ou la rapidité de consolidation. Ainsi, chez une série de 26 patients présentant des PSO de localisations variées, Gindraux *et al.* (2020) ont effectué le T2 après un délai moyen de 5,8 mois et ont obtenu la consolidation après un délai moyen de 7,6 mois. Les analyses des MI prélevées lors du T2 (chez 7 des 26 patients) ont montré qu'elles contenaient des CSM (CD 73, CD 90 et CD 105) possédant des capacités ostéogéniques *in vitro* (Gindraux *et al.* 2020). Assal *and* Stern (2014) ont même rapporté un cas de reconstruction effectuée chez un patient avec un intervalle de 8 ans entre les deux temps opératoires.

Il semble donc qu'un long délai T1-T2 ne soit pas néfaste. Il y aurait en fait un recrutement de cellules souches au moment de la greffe : les greffons osseux se comporteraient comme des corps étrangers réactivant les propriétés biologiques de la membrane à l'issue du T2 (Masquelet 2017).

Nature du *spacer*

Adjonction d'antibiotiques

Bien qu'elle soit proposée par de nombreux auteurs pour le traitement des PSO infectées, l'utilisation de PMMA chargé aux antibiotiques reste débattue (Mauffrey *et al.* 2016, Nau *et al.* 2016). Elle n'a pas la faveur d'Alain-Charles Masquelet qui y voit plusieurs inconvénients. L'antibiotique peut être inefficace contre les germes en cause et augmenter leur résistance biologique. La diffusion locale d'antibiotiques peut temporairement masquer une insuffisance du parage, qui deviendra patente à l'issue du T2 une fois le ciment retiré. Enfin, certains antibiotiques peuvent affecter les caractéristiques de la membrane (Masquelet 2017).

En utilisant un modèle de défaut fémoral chez le rat, Nau *et al.* (2016) ont démontré que l'épaisseur des MI et la proportion de fibres élastiques étaient influencées par le type d'antibiotique chargé dans le ciment PMMA. Certains antibiotiques, comme la clindamycine, sont particulièrement cytotoxiques et susceptibles d'altérer la structure de la membrane. En revanche, l'influence de ces variations structurelles sur les propriétés angiogéniques et ostéogéniques des MI reste à prouver (Nau *et al.* 2016). Shah *et al.* (2017) ont ainsi montré que la clindamycine est susceptible de restaurer le profil de la réponse inflammatoire et l'expression des facteurs de croissance de MI contaminées à *S. aureus*.

Les méta-analyses actuelles révèlent que la majorité des auteurs utilisent des *spacers* chargés aux antibiotiques, sans mettre en évidence d'effet positif ou négatif de ces derniers sur la consolidation osseuse (Morelli *et al.* 2016, Chen-An *et al.* 2020). Pour nous, cette utilisation préférentielle de PMMA aux antibiotiques tient aussi à sa plus grande disponibilité dans les blocs opératoires, du fait de son emploi en chirurgie prothétique.

Matériau utilisé

Comme discuté précédemment, toute implantation d'un matériau dans l'organisme engendre une cascade immunitaire complexe aboutissant à l'encapsulation du corps étranger. Or, les cellules immunitaires, en particulier les macrophages, sont des cellules dotées d'une grande plasticité. Elles peuvent adapter leur réponse aux propriétés physico-chimiques du substrat sur lequel elles se trouvent, comme la composition chimique du matériau, son hydrophilie, son PH et sa microtopographie de surface (Figure 21, Durand *and* Collombet 2020).

Des études *in vitro* ont ainsi montré que la porosité du matériau peut modifier la réponse macrophagique : les matériaux poreux induiraient une polarisation des macrophages favorisant le remodelage et la réparation tissulaire par la production de cytokines anti-inflammatoires et de protéines impliquées dans la synthèse de la matrice extra-cellulaire (Rayahin *et al.* 2017). De même, des études *in vivo* comme celle de Toth *et al.* (2019) chez le rat, ont révélé que les *spacers* rugueux s'accompagnaient d'une augmentation de l'IL-6, cytokine pro-inflammatoire semblant jouer un rôle défavorable dans les processus de réparation (Toth *et al.* 2019).

Si ces études manquent pour l'instant d'applications cliniques concrètes, elles ont permis des avancées cruciales dans la compréhension des mécanismes biologiques impliqués dans la TMI. Ainsi, il est à présent établi que la MI n'a pas uniquement un effet de barrière protectrice, et que la reconstruction osseuse peut être modulée par le type de matériau implanté lors du T1.

Ces travaux ont ouvert la voie à « l'immunologie régénérative », une discipline récente en ingénierie tissulaire, qui utilise la modulation de la réponse immunitaire par les biomatériaux au profit de la reconstruction tissulaire. L'objectif ultime serait d'arriver à une TMI en un seul temps opératoire par le développement d'un échafaudage bioactif servant à la fois d'inducteur à la membrane d'encapsulation et de substitut à la greffe osseuse. A notre niveau, nous nous sommes attachés à évaluer des matériaux alternatifs au PMMA, après avoir développé et validé un modèle rongeur dédié à l'étude des deux temps de la TMI.

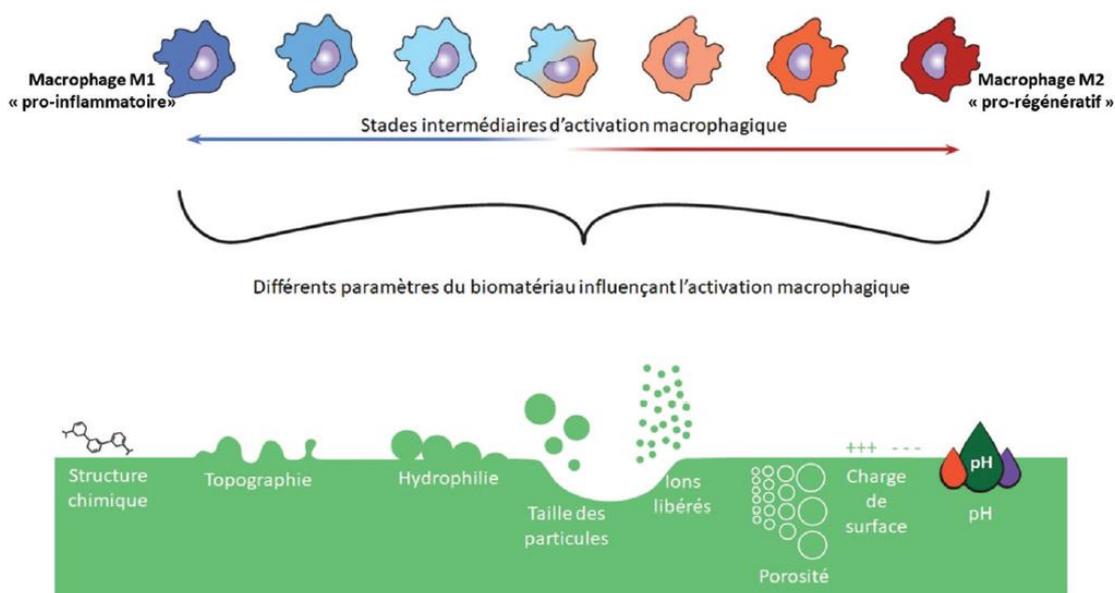


Figure 21 : Caractéristiques physico-chimiques des biomatériaux modulant l'activation des macrophages (Durand *and* Collombet 2020)

Récapitulatif des apports de nos mises au point concernant l'utilisation de la TMI :

- Définition des conditions et particularités d'utilisation de la technique dans les contextes sanitaires dégradés (Annexes 1 et 2)
- Synthèse des stratégies de la stabilisation instrumentale et introduction de la notion de fixation interne séquentielle par un *spacer* armé (Annexe 3)

3. VOIES D'OPTIMISATION PAR LA RECHERCHE CLINIQUE

3.1 UTILISATION EN CONTEXTE MILITAIRE

Nous avons été les premiers à évaluer l'application de la TMI dans le cadre particulier de la pratique militaire. Seuls quelques rares cas cliniques avaient été rapportés avant la publication de nos études portant sur le segment jambier et les lésions balistiques.

3.1.1 Reconstruction du tibia – Annexe 5

Objectif

Il s'agissait d'évaluer les résultats cliniques de patients traités dans un *trauma center* militaire par la TMI pour la reconstruction de PSO secondaires à des fractures ouvertes de jambe.

Patients et méthodes

Une étude rétrospective a été menée à l'Hôpital d'Instruction des Armées Percy en analysant les dossiers cliniques des patients traités pour des PSO tibiales entre 2009 et 2018. Ont été inclus les patients présentant une PSO liée à une fracture récente. Ont été exclus ceux dont la PSO était liée à une pseudarthrose septique ou à une pathologie non traumatique.

Les données étudiées incluaient : la démographie, le mécanisme et le type lésionnel, les paramètres du traitement chirurgical au T0, T1 et T2, les complications et reprises chirurgicales à l'issue du T2. Le recul minimal à la révision était de 12 mois. L'évaluation du résultat concernait la consolidation osseuse et la fonction du membre.

Résultats

Durant la période d'étude, 15 patients ont été traités pour une PSO tibiale liée à une fracture ouverte récente. Il y avait 12 hommes et 3 femmes, d'âge moyen 39 ans au moment du traumatisme. Le mécanisme lésionnel était un traumatisme à haute énergie dans tous les cas : il y avait cinq lésions balistiques et dix lésions causées par un accident de la voie publique. Huit patients présentaient des fractures multiples, et deux étaient des polytraumatisés avec engagement du pronostic vital.

Les types lésionnels et les paramètres du traitement chirurgical au T0 et T1 sont présentés dans le tableau 3. Il s'agissait surtout de fractures ouvertes s'accompagnant d'une large perte de substance cutanée (type IIIB de Gustilo). Une infection précoce était survenue chez 12 patients (80%). Le nombre moyen de parages durant le T0 était de 2,9 avec un délai moyen entre le traumatisme et le T1 de 22 jours.

Lors du T1, la stabilisation osseuse a été assurée par fixateur externe dans 13 cas, et la reconstruction de l'enveloppe cutanée s'est faite par un lambeau dans 14 cas. La longueur moyenne de la PSO était de 7,7 cm. Il s'agissait d'un *spacer* tibial dans 7 cas et d'un *spacer* inter-tibio-fibulaire dans 8 cas. Le délai T1-T2 moyen était de 22 semaines. Neuf patients ont été réopérés avant le T2 pour des complications, dont cinq récurrences infectieuses et trois reprises de lambeaux.

Case	Age	Mechanism	Gustilo grade	Location	DCO	Early infection	Debridement number at T ₀	Injury-T ₁ time (days)	Fixation at T ₁	Flap coverage at T ₁
1	26	Crash	II	Diaphysis	No	Yes	3	58	Ex. Fix	Free ALT
2	27	Crash	IIIB	Distal tibia	Yes	Yes	2	7	Ex. Fix	Free ALT
3	35	Missile	IIIB	Diaphysis	Yes	No	2	6	Ex. Fix	Distal sural
4	35	Crash	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	4	35	Ex. Fix	Free ALT
5	33	Crush	IIIB	Diaphysis	Yes	No	2	11	Ex. Fix	Free LD
6	29	Missile	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	2	6	Ex. Fix	Free ALT
7	28	Missile	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	3	6	Ex. Fix	Distal sural
8	28	Missile	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	2	28	Ex. Fix	Distal sural
9	46	Missile	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	3	7	Ex. Fix	Free ALT
10	41	Crash	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	8	27	Ex. Fix	Soleus
11	55	Crash	IIIB	Distal tibia	Yes	Yes	2	23	Plate	Free ALT
12	61	Crash	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	3	60	Ex. Fix	Soleus
13	35	Crash	IIIB	Distal tibia	Yes	Yes	4	48	Ex. Fix	Free ALT
14	55	Crash	IIIB	Diaphysis	Yes	Yes	2	4	Ex. Fix	Free ALT
15	53	Crash	II	Proximal tibia	No	No	1	0	Plate	-

ALT, anterolateral thigh; DCO, damage control orthopedics; Ex. Fix., external fixation; LD, *latissimus dorsi*

Tableau 3 : Données démographiques, lésionnelles et thérapeutiques au T0 et T1

Lors du T2, la fixation externe restait prédominante (12 cas) et était souvent associée à une ostéosynthèse interne de la fibula (5 cas). Les prélèvements bactériologiques systématiques étaient positifs dans 6 cas : ces patients ont été traités par 3 mois d'antibiothérapie ciblée au décours de la greffe. Une greffe osseuse complémentaire s'est imposée après le T2 dans 7 cas, dont six GITF. Deux patients (cas n°6 et 14) ont présenté une récurrence septique à l'issue du T2 : l'un a été amputé au niveau trans-tibial, l'autre a été traité par un parage radical (avec excision complète de la greffe) suivi d'une nouvelle application de la TMI (Tableau 4).

Les patients ont été revus avec un recul moyen de 33 mois. La consolidation osseuse était acquise chez 13 patients (87%) après un délai moyen de 10 mois et une moyenne de 6,7 interventions par patient. Au total, une GITF a été nécessaire chez 13 patients (87%). Une seule récurrence septique tardive (cas n°10) a été notée, sous la forme d'une minime fistule épisodique (Figure 22). Trois patients avaient une limitation modérée de leur périmètre de marche en raison de douleurs à l'effort. Onze avaient repris leurs activités professionnelles, essentiellement dans un emploi sédentaire.

Case	Defect length (cm)	Spacer	Revision after T_1	T_1-T_2 time (weeks)	Fixation at T_2	Revision after T_2	Bone union	Time to bone union (months)
1	4	Tibial	–	8	Ex. Fix	–	Yes	9
2	4	Tibial	Skin grafting	11	Ex. Fix	ITFG, tendon transfer	Yes	10
3	12	Tibial	Hematoma drainage	8	Ex. Fix	ITFG	Yes	12
4	6	Tibial	Debridement + distal sural flap	30	IM nail	Nail dynamization	Yes	8
5	15	ITF	Debridement $\times 3$ + free LD flap	36	Ex. Fix	ITFG, tendon transfer	Yes	10
6	8	ITF	Debridement $\times 5$	42	Ex. Fix	Debridement, amputation	No	-
7	9	ITF	Debridement	49	Ex. Fix	–	Yes	12
8	8	Tibial	Ex. Fix. removal	30	IM nail	–	Yes	8
9	8	ITF	–	21	Ex. Fix	ITFG, tendon transfer	Yes	12
10	12	ITF	Skin grafting	22	Ex. Fix	–	Yes	8
11	6	Tibial	–	15	Plate	Debridement, ITFG	Yes	12
12	3	ITF	Random flap + skin grafting	12	Ex. Fix	–	Yes	12
13	5	ITF	–	12	Ex. Fix	–	Yes	10
14	8	ITF	–	8	Ex. Fix	Debridement, 2nd IMT	Yes	9
15	7	Tibial	Debridement + Ex. Fix	25	Ex. Fix	Ex. Fix. exchanges, ITFG	No	–

ITF, inter-tibiofibular; ITFG, inter-tibiofibular grafting; IM, intramedullary; IMT, induced membrane technique; LD, *latissimus dorsi*

Tableau 4 : Paramètres du T2 et délai de consolidation

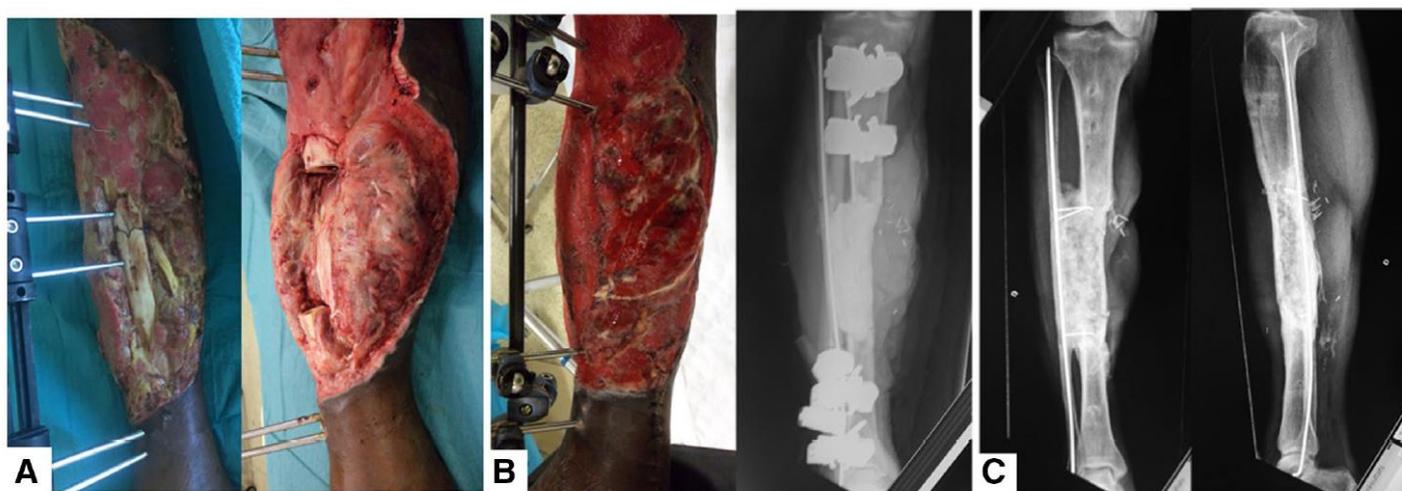


Figure 22 : Cas n°10 – Prise en charge différée d'une fracture infectée : A) les parages répétés ont mené à une PSO de 12 cm ; B) implantation d'un *spacer* inter-tibio-fibulaire et couverture par lambeaux locaux ; C) consolidation obtenue en première intention

Discussion

Comparativement aux autres localisations, la reconstruction des PSO tibiales pose des difficultés particulières liées à la reconstruction des parties molles, et avant tout au traitement de l'infection, qui survient rapidement dans ces traumatismes pluritissulaires. Dans notre étude, l'échec du contrôle de l'infection était la principale cause de reprise chirurgicale, avant et après l'implantation du *spacer*.

Cette série militaire a trois particularités qui la distinguent des séries civiles rapportant la reconstruction de PSO tibiales : 1) une reconstruction cutanée par lambeau dans quasiment tous les cas ; 2) l'utilisation prédominante de la fixation externe ; 3) des reprises chirurgicales fréquentes pour des parages itératifs ou des greffes osseuses complémentaires à l'issue de l'application de la TMI. Malgré la complexité des lésions, nos résultats sont comparables à ceux des autres auteurs au prix d'un nombre moyen d'interventions élevé (6,7 par patient).

Conclusion

La TMI est adaptée à la reconstruction des PSO tibiales en pratique militaire. Le contrôle préalable de l'infection constitue la difficulté majeure dans ces traumatismes pluritissulaires à haute énergie. La reconstruction de l'enveloppe cutanée est quasiment obligatoire. L'utilisation de la fixation externe associée à une GITF systématique nous semble préférable.

3.1.2 Reconstruction des traumatismes balistiques - Annexe 6

Objectif

L'objectif était de comparer l'application de la TMI pour la reconstruction de PSO secondaires à des traumatismes balistiques (TB) et à des traumatismes conventionnels (TC).

Patients et méthodes

Une étude rétrospective a été menée à l'Hôpital d'Instruction des Armées Percy en analysant les dossiers cliniques des patients traités par la TMI entre 2009 et 2018. Ont été inclus les patients présentant une PSO d'origine traumatique, toutes localisations confondues. Ont été exclus ceux présentant une PSO d'origine infectieuse ou tumorale.

Les données étudiées incluaient : la démographie, la notion de tabagisme, le mécanisme et le type lésionnel, la localisation et la longueur de la PSO. Les paramètres opératoires incluaient le mode de fixation osseuse, la couverture par un lambeau, le délai entre le traumatisme et T1, l'intervalle T1-T2 et les reprises chirurgicales après T2. L'évaluation des résultats concernait les récurrences septiques, l'obtention de la consolidation, la nécessité d'une greffe osseuse complémentaire ou d'une amputation. Deux groupes ont été considérés pour l'analyse : TC et TB.

Résultats

Trente-six patients ont été inclus : 24 appartenaient au groupe TC et 12 au groupe TB. Le mécanisme dominant dans le groupe TC était les accidents de la voie publique (19 cas sur 24). La moitié des TB étaient dus à des agents vulnérants de guerre : balle à haute vitesse (4 cas) ou éclats d'engins explosifs (2 cas).

Il n'existait pas de différence significative entre les groupes concernant la démographie, la taille des PSO et la présence d'une infection initiale. Le segment jambier était la localisation principale des PSO, notamment dans le groupe TC (Figure 23). En revanche, les PSO tibiales étaient plus grandes (moyenne : 9 cm *versus* 5,9 cm, $p=0,02$) et les infections plurimicrobiennes plus fréquentes (8/9 *versus* 9/19, $p=0,05$) dans le groupe TB.

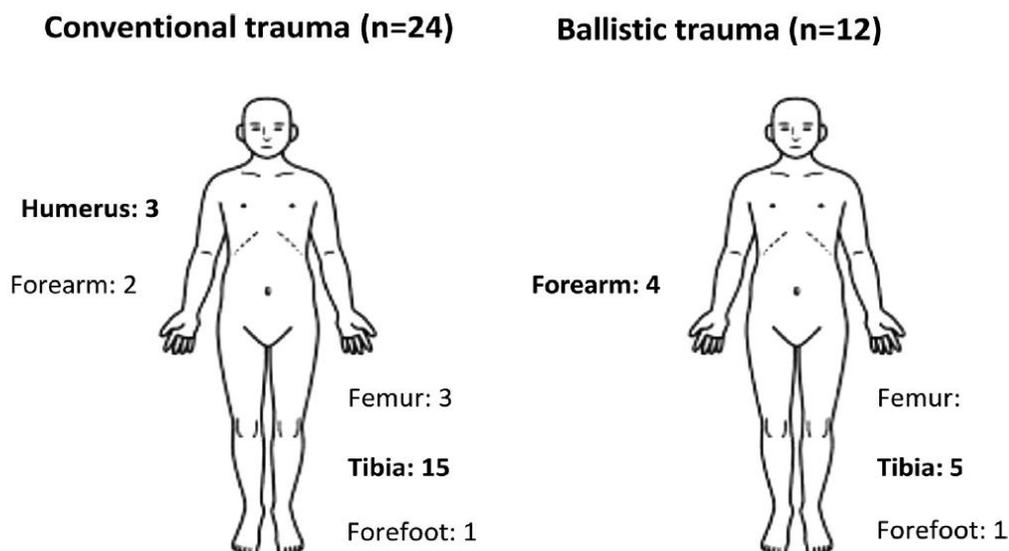


Figure 23 : Répartition des PSO selon le mécanisme lésionnel

Les paramètres et les résultats du traitement par la TMI étaient comparables entre les deux groupes (Tableau 5). Les reprises chirurgicales entre les deux temps correspondaient à des parages itératifs avec changement de *spacer* pour des récurrences septiques. La majorité des greffes complémentaires étaient des GITF.

Au dernier recul, le taux de consolidation était de 83% dans les deux groupes. Dans la série globale, les facteurs de risque d'échec étaient les pseudarthroses et l'absence de contrôle de l'infection dans l'intervalle T1-T2 (Tableau 6).

	Conventional trauma	Ballistic trauma	<i>p</i>
Trauma-to-step-1 ^a , days (mean ± σ)	24 ± 24	14 ± 11	0.18
External fixation at step 1	11/24	9/12	0.15
Flap at step 1	11/24	7/12	0.72
Revision between steps	8/24	7/12	0.17
Interval between steps, weeks (mean ± σ)	13.8 ± 8.5	19.3 ± 14	0.2
Residual infection after step 2	7/24	5/12	0.48
Complementary graft after step 2	7/24	2/12	0.68
Amputation after step 2	1/24	2/12	0.25
Follow-up, months (mean ± σ)	24.2 ± 15.7	24.7 ± 19	0.93
Primary consolidation	14/24	8/12	0.72
Consolidation after graft	20/24	10/12	1
Non-union at last follow-up	3/24	0/12	0.54

^a Recent fractures only.

Tableau 5 : Paramètres et résultats du traitement par la TMI

	Success	Failure	<i>p</i>
Age, years (mean \pm σ)	41.8 \pm 15.2	36.2 \pm 16.7	0.47
Smoking	8/30	4/6	0.15
Defect size, cm (mean \pm σ)	6.1 \pm 3.4	6.6 \pm 2.2	0.6
Non-union	7/30	4/6	0.05
Flap at step 1	18/30	1/6	0.08
Step 1-2 interval, weeks (mean \pm σ)	14.3 \pm 10.1	22 \pm 13.6	0.24
Infection between steps	5/30	4/6	0.02
Infection after step 2	8/30	4/6	0.15
External fixation at step 2	13/30	5/6	0.18

Tableau 6 : Analyse des facteurs d'échec de consolidation

Discussion

Les groupes TB et TC se composaient de populations comparables en termes de terrain, de sévérité des lésions, de taille des PSO et d'infection associée. Leur prise en charge chirurgicale était également équivalente, reposant sur le concept de DCO avec une stabilisation osseuse séquentielle et l'utilisation de lambeaux dans la phase secondaire précoce.

Les résultats cliniques étaient comparables entre les deux groupes concernant les taux de consolidation, d'infection résiduelle et d'amputation tardive. Les résultats globaux semblaient conformes aux données de la littérature, mais l'hétérogénéité des lésions dans cette série rendait toute comparaison hasardeuse.

La TMI s'intègre parfaitement dans prise en charge séquentielle des traumatismes pluritissulaires des membres basée sur le DCO. L'inconvénient des deux temps opératoires de la TMI est négligeable chez ces patients multi-opérés, et devient même une sécurité lorsque le contrôle de l'infection est incertain à la phase initiale.

Conclusion

Cette étude démontre pour la première fois que la TMI est parfaitement adaptée à la reconstruction des PSO d'origine balistique. Le contrôle préalable de l'infection reste la difficulté majeure dans les traumatismes pluritissulaires des membres, quelle que soit la cause du traumatisme.

3.1.3 Fixation interne séquentielle des défauts infectés - Annexe 7

Objectif

Il s'agissait d'évaluer une méthode innovante de fixation interne séquentielle (c'est-à-dire un changement d'ostéosynthèse au T2) utilisant un *spacer* armé pour la reconstruction de PSO infectées.

Patients et méthodes

Une étude rétrospective a été menée à l'Hôpital d'Instruction des Armées Percy en analysant les dossiers cliniques des patients traités par la TMI pour la reconstruction d'une PSO infectée d'origine traumatique entre 2010 et 2019. Ont été inclus les patients traités par une fixation interne séquentielle avec un suivi minimum de 12 mois.

Lors du T1, une fixation temporaire était effectuée par un *spacer* en PMMA renforcé par une armature centro-médullaire minimale. Dans tous les cas, cette ostéosynthèse centro-médullaire était insuffisante à elle-seule : la stabilité était obtenue par sa combinaison avec un volumineux *spacer* manchonnant les extrémités osseuses. Lors du T2, la fixation définitive était effectuée par une plaque ou un clou centro-médullaire verrouillé.

Les données étudiées incluaient : la démographie, le mécanisme et le type lésionnel, les espèces bactériennes en cause, les paramètres du traitement chirurgical au T0, T1 et T2, les complications et reprises chirurgicales à l'issue du T2. L'évaluation du résultat au dernier recul concernait la consolidation osseuse et les éventuelles récurrences septiques.

Résultats

Huit patients d'âge moyen 58 ans ont été inclus : cinq avaient été traités pour une fracture ouverte récente à haute énergie, et trois pour une pseudarthrose septique. Les PSO concernaient le tibia (n=4), le fémur (n=2) et les deux os de l'avant-bras (n=2) avec des infections polymicrobiennes fréquentes (Tableau 7).

Chez les patients présentant des fractures récentes infectées, le délai moyen entre le traumatisme et T1 était de 52 jours avec une moyenne de 3,6 parages par patient lors du T0. La longueur moyenne de la PSO était de 8,8 cm. Une reconstruction de l'enveloppe cutanée par lambeau(x) a été nécessaire pour toutes les fractures récentes. Le délai T1-T2 moyen était de 12 semaines. Un patient (cas n°4) a été réopéré avant le T2 pour un parage complémentaire avec excision de la MI et changement du *spacer* armé (Tableau 8).

Case	Age (years)	Injury	Bone defect location	Pathogens	Antibiotics/duration (weeks)
1	56	Nonunion	Forearm	S coagulase negative, <i>Bacillus cereus</i>	Ofloxacin + rifampicin/12
2	64	Open fracture	Forearm	MRSA, <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	Daptomycin + cefotaxime + ciprofloxacin/6
3	87	Nonunion	Distal tibia	S coagulase negative	Ofloxacin + rifampicin/6
4	47	Open fracture	Distal femur	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Clostridium</i> sp.	Ceftriaxone + ciprofloxacin + metronidazole/12
5	45	Nonunion	Femur	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ofloxacin + rifampicin/6
6	73	Open fracture	Distal tibia	ESBL <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Meropenem + ciprofloxacin/12
7	36	Open fracture	Prox. tibia	<i>Klebsiella variicola</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Vancomycin + cefepime + cotrimoxazole/8
8	55	Open fracture	Distal tibia	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imipenem-cilastatin + colimycin/6

ESBL extended spectrum β -lactamases, MRSA methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Tableau 7 : Données démographiques, lésionnelles, germes en cause et antibiothérapie

Au recul moyen de 21 mois, la consolidation était acquise dans 7/8 cas sans récurrence septique. Le délai moyen de consolidation était de 7 mois. Un seul patient (cas n°4 encore) présentait une pseudarthrose septique à la partie proximale d'une reconstruction massive du fémur distal qui a nécessité un changement de clou avec une greffe osseuse complémentaire plus d'un an après le T2 (Tableau 9).

Case	Injury-T1 time (days)	Defect length (cm)	Spacer armature (number)	Flap coverage	Revision after T1	T1-T2 time (weeks)	Fixation at T2	Graft material
1	120	12	Elastic nail (1)	-	-	16	Plate	ICBG + VFG
2	8	6	Elastic nail (1)	Free ALT	-	11	Plate	ICBG
3	180	4	Steinmann pin (2)	-	-	8	TTCA nail	ICBG
4	81	8	Elastic nail (2)	Lateral Gastr.	Debridement	20	Plate	RIA + VFG
5	550	5	Schanz screw (1)	-	-	8	Plate	ICBG
6	61	6	Steinmann pin (2)	Free ALT + free MSAP	-	14	TTCA nail	ICBG + RIA
7	19	20	Tibial nail (1)	Prox. sural + Med. Gastr.	-	13	FTA nail	ICBG + RIA + NVFG
8	89	9	Elastic nail (2)	Distal sural + free brachial	-	8	TTCA nail	ICBG + RIA

ALT anterolateral thigh, FTA femorotibial arthrodesis, Gastr. gastrocnemius, ICBG iliac crest bone graft, Med. medial, MSAP medial sural artery perforator,

Tableau 8 : Paramètres des T0, T1 et T2

Case	Revision after T2	Pathogens found after T2	Time to follow-up (months)	Bone union	Time to bone union (months)	Infection at the last follow-up
1	-	-	20	Yes	7	No
2	-	-	35	Yes	5	No
3	-	-	36	Yes	8	No
4	FTA nailing → nail exchange	<i>Clostridium</i> sp., ESBL <i>P. aeruginosa</i>	29	No	NA	Yes
5	-	-	12	Yes	6	No
6	-	-	12	Yes	7	No
7	-	-	14	Yes	10	No
8	Nail exchange	<i>S. aureus</i>	12	Yes	6	No

ESBL extended spectrum β -lactamases

Tableau 9 : Reprises chirurgicales après le T2 et évaluation finale

Discussion

Avec cette technique originale, le *spacer* en PMMA sert non seulement à induire la réaction immunitaire à corps étranger, mais aussi à la fixation osseuse entre les deux temps opératoires. La stabilité relative du montage dans l'intervalle T1-T2 ne semble pas nuire à l'induction de la membrane, et pourrait même contribuer au phénomène d'inflammation tissulaire.

Cette tactique de fixation interne séquentielle est particulièrement utile dans les localisations où le fixateur externe est mal adapté : fémur, tibia proximal ou distal, et membre supérieur (Figure 24). Le *spacer* armé présente en outre trois avantages sur les autres types d'ostéosynthèse lors du T1 :

- 1- C'est une méthode rapide et sûre, qui convient parfaitement aux reconstructions pluritissulaires complexes, notamment par lambeau libre ;
- 2- Le risque d'adhésion des bactéries sur le matériel est limité ;
- 3- Le matériel peut être facilement retiré si un parage complémentaire s'impose avant le T2 ;
- 4- Il n'y a pas de risque lié aux infections sur fiches de fixateur externe.

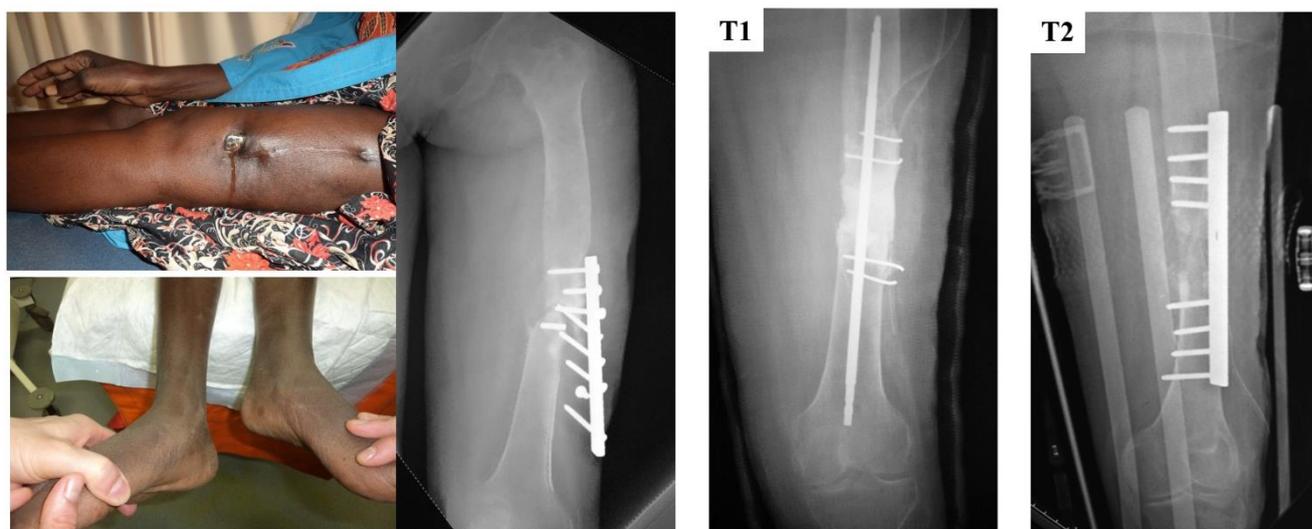


Figure 24 : Traitement d'une pseudarthrose septique du fémur au Mali par un *spacer* armé

Conclusion

La fixation interne séquentielle par *spacer* armé est une méthode fiable pour éviter le recours à la fixation externe. Elle pourrait limiter le risque de récurrence septique après reconstruction des PSO infectées par la TMI.

Récapitulatif des apports de nos travaux sur la TMI en pratique militaire :

- La reconstruction de l'enveloppe des parties molles et la fixation externe avec GTF sont quasi-systématiques au niveau du tibia
- Le contrôle de l'infection reste la préoccupation majeure dans les traumatismes ouverts à haute énergie, quel que soit le mécanisme
- Le recours au *spacer* armé lors du T1 est à privilégier pour les PSO infectées situées en dehors de la diaphyse tibiale

3.2 UTILISATION EN SITUATION SANITAIRE DEGRADEE

En dépit du grand nombre de publications portant sur la TMI, très peu articles rapportent son utilisation en situation précaire. Les PSO post-traumatiques sont en effet fréquemment associées à des pertes de substance cutanée et à des infections, dont le traitement est difficile, sinon impossible, avec des moyens techniques limités. Nous résumons ici notre expérience de l'utilisation de la TMI dans divers environnements austères.

3.2.1 Dans un hôpital de référence africain – Annexe 8

Objectif

Nous avons évalué les résultats de la TMI pour la reconstruction de PSO tibiales dans un *trauma center* d'Afrique de l'Ouest où les moyens techniques et humains sont limités comparativement à ceux des *trauma centers* occidentaux.

Patients et méthodes

Une étude rétrospective a été menée à l'Hôpital Principal de Dakar en analysant les cas de reconstruction osseuse par la TMI effectués entre 2007 et 2012. Ont été inclus les patients traités pour une PSO tibiale, liée à une fracture récente ou une pseudarthrose septique, et suivis pendant un minimum de 12 mois.

Les données étudiées incluaient : la démographie, le mécanisme et le type lésionnel, les paramètres de la TMI, les complications et reprises chirurgicales à l'issue du T2. L'évaluation du résultat concernait la consolidation osseuse, la reconstruction de l'enveloppe des parties molles et la fonction du membre – à l'aide de scores fonctionnels décrits dans l'annexe 7.

Résultats

Durant la période d'étude, 18 patients ont été traités par la TMI. En considérant les critères d'inclusion, 11 patients d'âge moyen 36 ans ont été inclus. Ils présentaient huit fractures ouvertes et trois pseudarthroses septiques du tibia. Le mécanisme était un accident de la voie publique dans 9 cas. Toutes les PSO étant infectées, la fixation externe était systématique. Le délai moyen entre le traumatisme et T1 était de 34 jours dans les fractures ouvertes. La longueur moyenne des PSO était de 4,4 cm. Une reconstruction de l'enveloppe des parties molles par des lambeaux pédiculés a été nécessaire dans tous les cas (Tableau 10).

Case	Age	Mechanism	Injury type	Tibial defect location	Defect length (cm)	Soft tissue loss area (cm ²)	Injury-T1 time (days)	Flap coverage at T1
1	24	Crash	Gustilo IIIB	Distal third	2	30	23	Distal <u>hemisoleus</u>
2	40	Crash	Nonunion	Middle third	4	16	NA	Prox. saphenous
3	24	Crash	Gustilo IIIB	Middle third	6	72	16	Prox. soleus
4	28	Blast	Gustilo IIIB	Prox. third	4	44	32	MG + prox. saphenous
5	71	Crash	Gustilo IIIB	Distal third	4	14	34	Lateral <u>supramalleolar</u>
6	35	Crash	Gustilo IIIB	Distal third	3	6	50	Distal sural
7	44	Crash	Nonunion	Middle third	3	4	NA	Prox. saphenous
8	48	Crash	Gustilo IIIB	Tibial plateau	3	56	31	MG + prox. saphenous
9	22	Crash	Gustilo IIIB	Distal third	5	30	50	Lateral <u>supramalleolar</u>
10	22	Blast	Gustilo IIIB	Middle third	11	42	41	Prox. soleus
11	45	Crash	Nonunion	Distal third	3	36	NA	Distal saphenous

MD = medial gastrocnemius, NA = not appropriate, Prox. = proximal

Tableau 10 : Données démographiques, lésionnelles et thérapeutiques au T1

Le délai T1-T2 moyen était de 11 semaines. Une nécrose partielle d'un lambeau fascio-cutané est survenue chez trois patients (cas n° 6, 7 et 11) à l'issue du T2 (Figure 25). Ces complications ont été traitées par thérapie à pression négative seule (cas n°7 et 11) ou par un lambeau musculaire de deuxième intention (cas n°6). Des greffes osseuses complémentaires ont été nécessaires dans 5 cas : quatre GITF et un enclouage centro-médullaire avec alésage en relai du fixateur.



Figure 25 : Nécrose partielle d'un lambeau sural distal à l'issue du T2 : reprise par un lambeau de fléchisseur des orteils après thérapie à pression négative artisanale (cas n°6)

Au recul moyen de 15 mois, la consolidation était acquise dans 9 cas sur 11. Une récurrence septique a été observée dans 5 cas, notamment chez les deux patients en pseudarthrose. Les reconstructions cutanées de qualité moyenne étaient liées à l'utilisation de lambeaux combinés ou à la présence d'une fistule. La fonction était principalement limitée par une raideur de la cheville avec ou sans équin (Tableau 11).

Case	Revision after T1	T1-T2 time (weeks)	Revision after T2	Follow-up time (months)	Bone union	Septic recurrence	Soft tissue coverage	Function
1	Lateral supramalleolar flap	15	Tibial nailing	12	Yes	No	B	A
2	-	9	ITF grafting	18	Yes	No	A	B
3	-	8	ITF grafting	12	No	Yes	B	B
4	-	24	-	22	Yes	Yes	B	B
5	-	8	-	12	Yes	No	A	A
6	-	6	FDL flap	12	Yes	Yes	B	A
7	-	11	ITF grafting	12	No	Yes	B	B
8	-	6	-	19	Yes	No	A	C
9	-	11	-	18	Yes	No	B	B
10	Prox. Saphenous flap	16	ITF grafting	12	Yes	No	A	B
11	-	7	-	17	Yes	Yes	C	B

ITF = inter-tibiofibular, FDL = flexor digitorum longus, Prox. = proximal, VAC = vacuum assisted closure

Tableau 11 : Données opératoires après T1 et évaluation finale

Discussion

Il s'agit de la première étude rapportant l'utilisation de la TMI dans un hôpital africain. Le traitement des PSO tibiales est particulièrement délicat dans ce contexte où le contrôle de l'infection et de la reconstruction de l'enveloppe des parties molles sont difficiles à obtenir.

Le premier écueil est l'infection constante des PSO, liée au délai moyen de 34 jours entre le traumatisme et la couverture par lambeau. Cela tient à plusieurs facteurs :

- Une arrivée tardive des patients avec des fractures déjà infectées ;
- Un encombrement du bloc opératoire par les urgences obstétricales et de chirurgie générale avec un report fréquent des chirurgies fonctionnelles ;
- Des changements de pansement répétés dans les secteurs d'hospitalisation où les patients peuvent être nombreux dans une même chambre ;
- Des difficultés à obtenir un traitement antibiotique ciblé et prolongé, dont les familles doivent supporter le coût.

En l'absence de chirurgien plasticien, la reconstruction de l'enveloppe cutanée est exclusivement effectuée par des chirurgiens orthopédistes utilisant des lambeaux pédiculés. Les complications des lambeaux sont fréquentes, en particulier après leur relèvement à l'issue du T2. Cela témoigne d'une instabilité de la reconstruction des parties molles, qui explique en partie les récurrences septiques constatées dans cette série.

Malgré ces difficultés le taux de consolidation osseuse est de 80%, avec une greffe osseuse complémentaire et une récurrence septique tardive dans plus de la moitié des cas. En dépit de ces limitations, la TMI reste le seul procédé de reconstruction disponible dans les contextes sanitaires dégradés où les transports osseux et les transferts vascularisés sont inaccessibles.

Conclusion

Au prix de chirurgies multiples, la TMI apparaît efficace pour traiter les PSO infectées du tibia dans le contexte spécifique d'un hôpital de référence africain.

3.2.2 Dans une formation sanitaire de l'avant – Annexe 9

Objectif

Il s'agissait d'évaluer les résultats de l'application de la TMI pour la reconstruction des os longs dans une structure chirurgicale française déployée sur un théâtre d'opération extérieure.

Patients et méthodes

Une étude prospective observationnelle a été menée à l'antenne chirurgicale de l'avant de N'Djamena (rôle 2 du fuseau Est de l'opération Barkhane) à propos des patients tchadiens traités par le TMI entre novembre 2015 et décembre 2019.

Les données étudiées incluaient : la démographie, le mécanisme et le type lésionnel (fracture ouverte ou pseudarthrose), la localisation et la longueur de la PSO. Les paramètres opératoires incluaient le délai entre le traumatisme et T1, le mode de fixation osseuse, l'intervalle T1-T2 et les reprises chirurgicales après T2. L'évaluation des résultats a été effectuée 12 mois après l'application de la technique en analysant la consolidation osseuse, le délai de consolidation, les récurrences septiques, ainsi que le succès ou l'échec du traitement conservateur au membre inférieur.

Résultats

Seize patients d'âge moyen 33 ans ont été inclus, dont trois enfants de moins de 15 ans. Le mécanisme lésionnel était un traumatisme à haute énergie dans tous les cas : 13 accidents de la voie publique et trois plaies par balle de guerre. Il y avait six fractures récentes ou négligées (datant de moins de 3 mois) et dix pseudarthroses. Les PSO étaient tibiales (n=8), fémorales (n=6) ou radiales (n=2), et étaient infectées dans 13 cas sur 16 (Tableau 12).

A l'issue du parage, la longueur moyenne de la PSO était de 4,3 cm. La fixation externe était prédominante au tibia et au fémur lors du T1, mais aussi lors du T2. Une fixation interne séquentielle a été utilisée dans 3 cas au fémur ou au radius. Le délai moyen T1-T2 était de 61 jours. Les prélèvements bactériologiques effectués au T2 étaient positifs dans 4 cas. Les reprises chirurgicales après le T2 ont consisté en trois amputations (cas n°2, 6, 9) pour récurrence septique et en une greffe osseuse complémentaire (cas n°3).

Case	Age (years)	Affected bone	Primary infection	Time to T1 (days)	Fixation at T1	Flap Coverage at T1	Bone defect length (cm)	T1-T2 time (days)	Fixation at T2	Infection at T2	Revision after T2	Bone union	Time to bone union (months)	Residual infection
1	45	Femur	Yes	550	R. spacer	-	5	42	Plate	No	-	Yes	6	No
2	9	Tibia	Yes	90	Ex. Fix.	-	3	47	Ex. Fix.	Yes	BK amputation	No	-	No
3	65	Tibia	Yes	90	IM nail	-	2	47	IM nail	No	HD + Iterative grafting	Yes	12	Yes
4	40	Radius	Yes	180	R. spacer	-	6	45	Plate	No	-	Yes	6	No
5	9	Femur	Yes	200	R. spacer	-	5	47	Ex. Fix.	No	-	Yes	4	No
6	50	Femur	Yes	360	Ex. Fix.	-	4	150	Ex. Fix.	Yes	AK amputation	No	-	No
7	25	Femur	No	180	Ex. Fix.	-	3	52	Ex. Fix.	No	-	Yes	12	No
8	25	Tibia	No	9	Ex. Fix	MG flap	3	48	Ex. Fix.	No	-	No	-	No
9	25	Tibia	Yes	200	Ex. Fix	-	4	60	Ex. Fix.	Yes	BK amputation	No	-	No
10	23	Femur	Yes	175	Ex. Fix	-	3	45	Ex. Fix.	Yes	-	No	-	Yes
11	35	Tibia	No	4	Ex. Fix	DBGS flap	5	62	Ex. Fix.	No	-	Yes	9	No
12	30	Tibia	Yes	122	Ex. Fix	-	4	56	Ex. Fix.	No	-	Yes	8	No
13	34	Tibia	Yes	230	Ex. Fix	-	4	46	Ex. Fix.	No	-	No	-	No
14	15	Tibia	Yes	11	Ex. Fix	MG flap	3	55	Ex. Fix.	No	-	Yes	4	No
15	35	Radius	Yes	90	Elastic nail	-	5	90	Elastic nail	No	-	No	-	No
16	58	Femur	Yes	190	Ex. Fix	-	10	95	Ex. Fix.	No	-	No	-	No

AK = above knee, BK = below knee, DBGS = distally based great saphenous, Ex. Fix. = external fixator, IM = intramedullary, HD = hematoma drainage, MG = medial gastrocnemius, R. = reinforced

Tableau 12 : Données démographiques, lésionnelles et thérapeutiques

A 12 mois de recul, la consolidation osseuse n'était acquise que dans 8 cas (50%). Huit patients présentaient une pseudarthrose à l'union entre la greffe et l'une des extrémités osseuses. La persistance d'une infection au T2 tendait à être corrélée avec l'échec de la technique ($p=0,07$). Une insuffisance de stabilité de l'ostéosynthèse au T2 était retrouvée chez les patients en situation d'échec sans récurrence septique.

Discussion

Cette étude est la première à analyser l'utilisation de la TMI dans une structure chirurgicale de l'avant. Ses résultats illustrent les difficultés de la reconstruction osseuse dans un environnement sanitaire précaire, à première vue non adapté à ce type de chirurgie. Le taux de consolidation de 50% est en effet bien inférieur à ceux rapportés dans la littérature (situés aux alentours de 90%).

L'absence de contrôle de l'infection est la première cause d'échec de la technique. Cela tient d'abord à l'insuffisance du parage osseux. Bien que la plupart des PSO étaient infectées de longue date, il n'a jamais été effectué de parages itératifs avant l'implantation du ciment : le T0 et le T1 ont toujours été effectués lors de la même procédure. Nous savons à présent que dans ces infections osseuses chroniques, le T1 ne doit être effectué qu'après plusieurs temps de parage, une fois le ou les germe(s) identifié(s) et l'antibiothérapie ciblée débutée. Un défaut d'antibiothérapie est l'autre explication aux récurrences septiques. Nombre de patients n'ont en effet pas pu suivre la totalité du traitement prescrit faute de moyens financiers.

L'insuffisance de la stabilisation instrumentale au T2 est la seconde cause d'échec. Les erreurs les plus fréquentes étaient ne pas réaliser de GITF au segment jambier, ou d'utiliser une exofixation définitive insuffisamment rigide au fémur. Ces échecs résultent d'un manque d'expérience des chirurgiens déployés qui, pour la plupart, ne connaissaient pas les subtilités de la technique. Pour pallier cet écueil, la TMI est actuellement enseignée à tous les internes d'orthopédie militaires français dans le cadre d'un cours de chirurgie de réparatrice en situation précaire.

Conclusion

L'utilisation de la TMI dans une structure chirurgicale de l'avant est difficile mais profitable aux populations locales. Elle impose une formation préalable des chirurgiens déployés.

3.2.3 Vers une technique sans ciment – Annexe 10

Introduction

L'utilisation de la TMI en contexte sanitaire dégradé est souvent limitée par le manque d'accès au ciment en PMMA. Afin de contourner cet obstacle, nous avons utilisé des *spacers* faits de seringues en polypropylène (PPP) dans une structure chirurgicale de l'avant.

Observations

Cas 1

Un patient malien de 33 ans présentait une PSO diaphysaire infectée des 4^{ème} et 5^{ème} métacarpiens gauches dans les suites d'un traumatisme balistique datant de plusieurs semaines. Le traitement a consisté en un parage radical suivi d'une stabilisation par broches et de la mise en place de 2 seringues de 5 ml au niveau des PSO.

Après 6 semaines d'antibiothérapie ciblée, le T2 a été effectué avec une fixation définitive par plaques et une greffe cortico-spongieuse à l'intérieur de la membrane induite autour des seringues. La consolidation osseuse était acquise 2 mois plus tard (Figure 26).



Figure 26 : Reconstruction des 4^{ème} et 5^{ème} métacarpiens à l'aide de seringues en PPP

Cas 2

Un militaire malien de 25 ans était admis pour une plaie de la main gauche occasionnée une par balle à de guerre à haute vélocité. A l'issue du parage il existait une perte de substance pluritissulaire intéressant le 2^{ème} et le 3^{ème} rayon. Après une exofixation, les lésions vasculo-nerveuses ont été réparées par suture directe, l'enveloppe cutanée reconstruite par un lambeau interosseux postérieur et des seringues placées au niveau des PSO.

Le T2 a été effectué 6 semaines plus tard avec une fixation définitive par plaques et des greffes cortico-spongieuses. Au dernier recul de 4 mois, la consolidation était acquise avec une fonction limitée par la raideur (Figure 27).

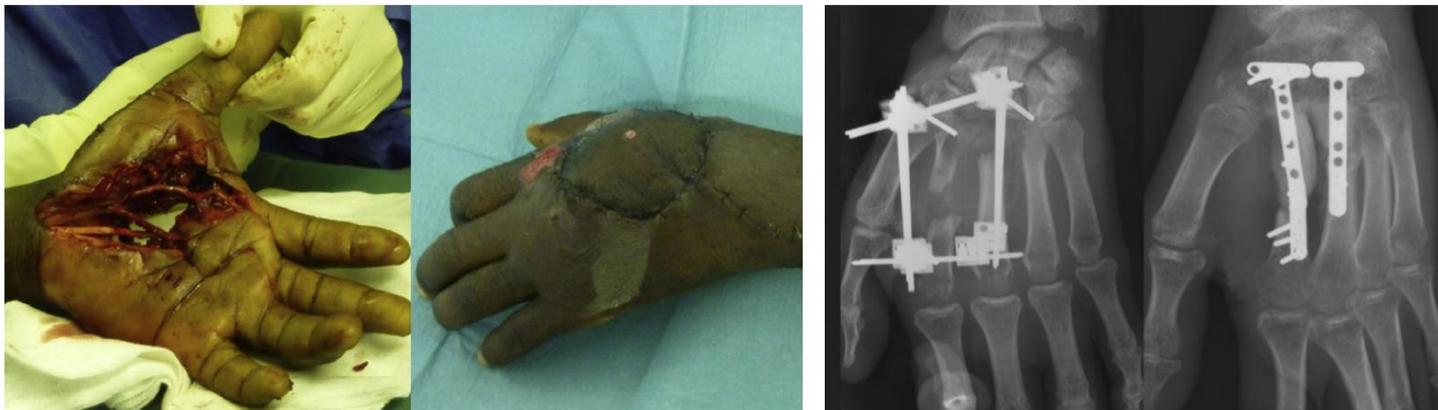


Figure 27 : Reconstruction pluritissulaire d'un traumatisme balistique de la main : parage et lambeau pédiculé (à gauche) ; radiographies à l'issue du T1 et au dernier recul (à droite)

Discussion

L'utilisation de seringues comme alternative au PMMA dans le cadre de la TMI a été rapportée la première fois par des auteurs bengalis lors du congrès de la Société Internationale de Chirurgie Orthopédique et Traumatologie (SICOT) de 2016 (Mozumder *et al.* 2016). Avec cet article, nous confirmons la pertinence de cet artifice lorsque le PMMA n'est pas disponible.

Dans les deux cas rapportés, les seringues en PPP ont entraîné la formation d'une membrane d'encapsulation dont l'aspect macroscopique était similaire à celui des membranes obtenues avec le PMMA. L'obtention rapide de la consolidation à l'issue du T2 semble montrer que ces membranes favorisent aussi la régénération osseuse.

Conclusion

Les seringues en PPP pourraient être une alternative au PMMA dans les contextes sanitaires dégradés. Des analyses complémentaires sont nécessaires pour étudier les propriétés biologiques des MI par le PPP. C'est dans cet objectif que nous avons mené une étude expérimentale sur un modèle rongeur de défaut fémoral segmentaire (cf chapitre 4.2).

Récapitulatifs des apports de nos travaux sur la TMI en situation sanitaire dégradée :

- **Le retard à la prise en charge est la règle**
- **Le contrôle de l'infection est le plus souvent incertain**
- **Le chirurgien orthopédiste doit assurer la reconstruction de l'enveloppe cutanée**
- **La disponibilité du PMMA est un facteur limitant l'application de la technique**
- **L'implantation de seringues en PPP semble être une alternative prometteuse à l'utilisation de *spacers* en PMMA dans ce contexte**

3.3 IDENTIFICATION DES FACTEURS DE RISQUE D'ECHEC

Le succès de la TMI passe par le respect de prérequis et d'une succession de détails techniques. Cependant, il semble exister des facteurs de risque d'échec indépendants du chirurgien.

3.3.1 Un cas d'école – Annexe 11

Introduction

Nous rapportons ici le cas d'un patient de 40 ans présentant une PSO fémorale non infectée de 9 cm compliquant une procédure d'allongement. La TMI a dû être répétée deux fois avant que la consolidation ne soit acquise. Lors de chaque procédure, une infection a été éliminée et des fragments de la MI prélevés pour des analyses biologiques.

Observation

1^{ère} procédure (P1)

Le traitement initial a été effectué dans une autre formation et a consisté en la mise en place d'un *spacer* en PMMA autour du clou d'allongement. En raison de problèmes médico-légaux, le patient nous a été adressé pour effectuer le T2 plus de 10 mois après. La greffe spongieuse a été prélevée sur le fémur controlatéral (préalablement allongé) en utilisant le dispositif RIA, puis mélangée à de l'allogreffe. Cinq mois plus tard, une dynamisation du clou a été effectuée en raison d'un aspect de pseudarthrose à la partie distale de la reconstruction. Celle-ci s'est compliquée d'un effondrement de la greffe avec raccourcissement de 5 cm (Figure 28).

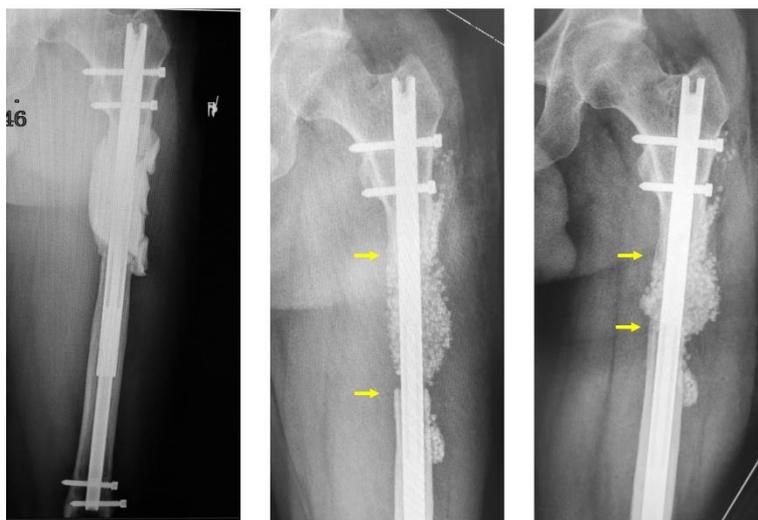


Figure 28 : Etapes de P1 et effondrement de la greffe après dynamisation du clou (à droite)

2^{ème} procédure (P2)

La totalité de la première greffe a été retirée : celle-ci était molle, avasculaire et totalement non intégrée. La longueur du fémur a été restituée et le verrouillage du clou répété avant de replacer un second *spacer* en PMMA. La greffe a été effectuée 2 mois après en utilisant les deux crêtes iliaques postérieures combinées à de l'allogreffe. Les suites semblaient satisfaisantes jusqu'à ce que survienne une rupture du clou d'allongement 10 mois plus tard (Figure 29).

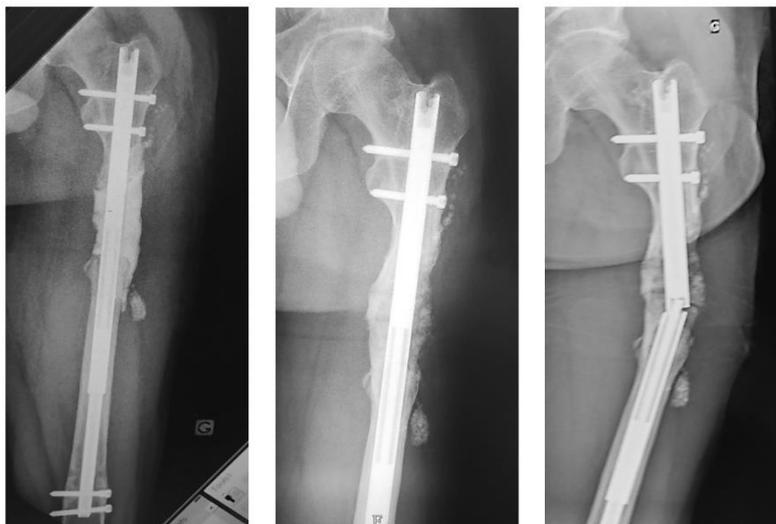


Figure 29 : Etapes de P2 et rupture du clou d'allongement 10 mois après la greffe

3^{ème} procédure (P3)

La partie médiale de la greffe qui était bien intégrée présentait un trait de fracture simple, mais la partie latérale de la greffe avait été résorbée. Le clou rompu a été retiré et un clou standard mis en place avant de remettre un *spacer* partiel dans le défaut antéro-latéral restant. La dernière greffe a été effectuée 3 mois après en utilisant les deux crêtes iliaques antérieures combinées à de l'allogreffe. La consolidation complète a finalement été acquise et confirmée au scanner un an après P3 (Figure 30).

Analyses des membranes induites

Les membranes P2 et P3 présentaient toutes deux une organisation histologique typique avec une couche superficielle (au contact du PMMA) riches en fibroblastes et pauvre en macrophages, et une couche profonde composée de fibres de collagène contenant des fibroblastes et des vaisseaux. En revanche, la membrane P1 avait une couche superficielle plus fine et contenait moitié moins de fibroblastes (Figure 31).

La cytométrie de flux montrait que les membranes P2 et P3 contenait de nombreuses CSM (de phénotype CD45-/CD90+/CD73+/CD105+) alors que la membrane P1 n'en contenait aucune.



Figure 30 : Etapes de P3 et confirmation scanographique de la consolidation

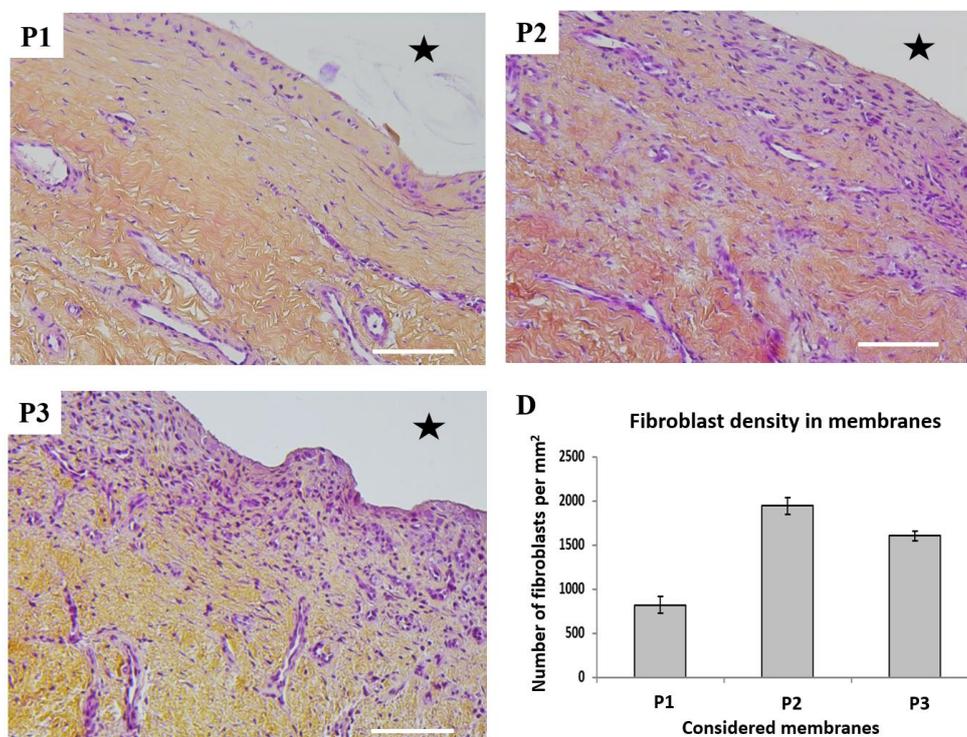


Figure 31 : Histologie et densité en fibroblastes des membranes lors des procédures P1, P2, P3. Coloration HES et grossissement x20. L'étoile indique l'emplacement du PMMA avant son retrait

Discussion

Ce cas rassemble deux catégories d'échecs de la TMI : un échec biologique lors de P1 et un échec mécanique lors de P2.

L'échec biologique de P1 tient probablement à l'altération des propriétés biologiques de la MI qui contenait un nombre réduit de fibroblastes et aucune CMS. La non-intégration de la greffe et sa consistance molle témoignent de l'absence de propriétés angiogéniques et ostéogéniques de la membrane P1. Cela pourrait s'expliquer par un intervalle T1-T2 trop long (10 mois) ou par une réaction immunitaire à corps étranger inadaptée lors de l'induction de la membrane. Comme nous l'avons expliqué précédemment, il ne semble pas que le délai entre les deux opératoires soit un facteur péjoratif puisqu'il se produit un recrutement de facteurs de croissance et de CSM lors de la greffe. En revanche, chez ce patient, la réaction immunitaire a pu être altérée par le traitement anti-inflammatoire prescrit initialement pour traiter les douleurs intenses liées à l'allongement trop rapide du fémur. Enfin, notons aussi qu'un prélèvement d'os spongieux par le RIA sur un fémur ayant été préalablement encloué et allongé était discutable : la qualité du greffon lors de P1 n'était peut-être pas optimale.

L'échec mécanique de P2 est clairement attesté par la rupture du matériel d'ostéosynthèse. L'existence d'une micromobilité entre les deux composants du clou d'allongement a entraîné des contraintes en varus lors de l'appui. Les forces de distraction ont empêché l'intégration de la partie latérale de la greffe, alors que les forces de compression ont permis son intégration du côté médial. L'origine purement mécanique de cet échec est également confirmée par des propriétés biologiques similaires des membranes P2 et P3.

Conclusions

Ce cas clinique montre une possible relation entre l'altération des propriétés biologiques la MI et l'échec de la TMI (échec de la membrane P1). Il souligne aussi la nécessité d'une technique opératoire rigoureuse (échec de la membrane P2).

3.3.2 Etude MEMBRAN – Annexe 12

Objectifs

Après des constats d'échecs à priori non liés à une erreur technique ou d'indication, nous avons recherché des causes d'échecs biologiques au niveau de la MI elle-même. Notre hypothèse était qu'une MI aux caractéristiques biologiques défectueuses pourrait expliquer l'absence d'intégration de la greffe osseuse après le T2.

Nous avons pour cela lancé une étude clinique, l'étude MEMBRAN, promue par la Direction Centrale du Service de Santé des Armées et dirigée par le Dr Marjorie Durand de l'IRBA. Cette étude porte sur les patients traités au sein des Hôpitaux d'Instruction des Armées Percy et Bégin, et de l'Hôpital Saint-Antoine (APHP).

Patients et méthodes

Nous rapportons ici les résultats préliminaires de l'étude MEMBRAN. Ceux-ci ont été évalués chez 11 patients de l'Hôpital d'Instruction des Armées Percy traités pour des PSO des os longs par la TMI. Ces derniers ont donné leur consentement au prélèvement de fragments de membrane lors du T2 afin de réaliser diverses analyses biologiques :

- Une analyse histologique de l'architecture de la MI après colorations HES et rouge Sirius pour évaluer sa composition et l'organisation des fibres de collagène ;
- Une analyse immunohistochimique en utilisant des anticorps détectant les macrophages (anti-CD68), les endothéliales des vaisseaux sanguins (anti-CD31), et la protéinase MMP-9 impliquée dans le remodelage de la matrice extra-cellulaire ;
- Une recherche de CSM par le procédé de culture d'explants suivi d'une cytométrie de flux utilisant les anticorps monoclonaux anti-CD45, anti-CD-90, anti-CD73 et anti-CD105 ;
- Une analyse de l'expression génique des fragments de MI par PCR pour quantifier les ARN tissulaires spécifiques de l'angiogenèse (TGF- β 2 et Von Willebrand factor – vWF), de la mobilisation des macrophages (CD68 et *monocyte chemoattractant protein-1* – MCP-1), de la formation et de la résorption osseuse (*runt-related transcription factor 2* – Runx2) et du remodelage de la matrice extracellulaire (MMP-9 et *tissue inhibitor of metalloproteinase-1* – TIMP-1).

L'évaluation finale du résultat clinique a été effectuée 6 mois après le T2 et concernait uniquement l'obtention de la consolidation osseuse radiologique. En fonction du résultat radiologique, les patients étaient classés comme répondants (groupe R) ou non répondants (groupe NR) à la TMI.

Résultats

Parmi les 11 patients, huit appartenaient au groupe R et trois au groupe NR. Il n'y avait pas de différence entre les groupes concernant l'âge des patients ou la longueur de la PSO. En revanche, **l'âge des membranes (délai T1-T2) était significativement plus élevé dans le groupe NR** (Tableau 12).

	Patient Identification	Age (yrs)	Gender (F/M)	Smoker (Y/N)	Bone Defect Location	Bone Defect Length (cm)	Fracture Fixation	Infection (Y/N)	Duration Spacer in Site (wks)
Responder (R)	R1	30	M	N	Left tibia	12	Ex.Fix	N	20
	R2	65	M	N	Left radius	7	Plate	Y	12
	R3	87	M	N	Left tibia	5	Nail	Y	6
	R4	40	M	N	Left femur	9	Nail	N	8
	R5	46	M	Y	Left tibia	8	K-wires	Y	8
	R6	55	M	N	Left tibia	4	Ex.Fix	Y	10
	R7	42	M	N	Right tibia	15	Ex. Fix	Y	8
	R8	40	M	Y	Right radius	6	Plate	Y	8
Non responder (NR)	NR1	47	F	N	Left tibia	10	Ex. Fix	Y	20
	NR2	40	M	N	Left femur	9	Nail	N	40
	NR3	60	M	Y	Right humerus	7	Plate	Y	9
Mean +/- SEM	Responder	50.63 ± 6.40				8.25 ± 1.30		10.00 ± 1.55	
	Non-responder	49.00 ± 5.85				8.66 ± 0.88		23.00 ± 9.07	
P-value	0.88				0.85		0.047		

R = responder; NR = non-responder; F = female; M = male; Y = yes; N = no; Ex.Fix = external fixator. * Refers to the same patient undergoing two different and independent Masquelet surgeries.

Tableau 12 : Paramètres démographiques et cliniques

L'analyse histologique montrait que les MI des patients R était composée de deux couches cellulaires bien distinctes : une couche profonde fine (au contact du PMMA) riche en fibroblastes et en macrophages, et une couche superficielle épaisse (au contact des muscles) composée de fibroblastes et de vaisseaux sanguins. **Les MI des patients NR présentaient une couche profonde très fine ou absente avec une cellularité significativement inférieure** (en moyenne 802 cellules/mm² pour le lot NR *versus* 1865 cellules/mm² pour le lot R, p = 0,012 ; Figure 32).

Malgré cette importante différence d'architecture histologique, la quantité de vaisseaux sanguins marqués au CD31 n'était en fait pas différente entre les groupes. **Il n'y avait donc pas moins de vaisseaux dans les MI des patients NR.**

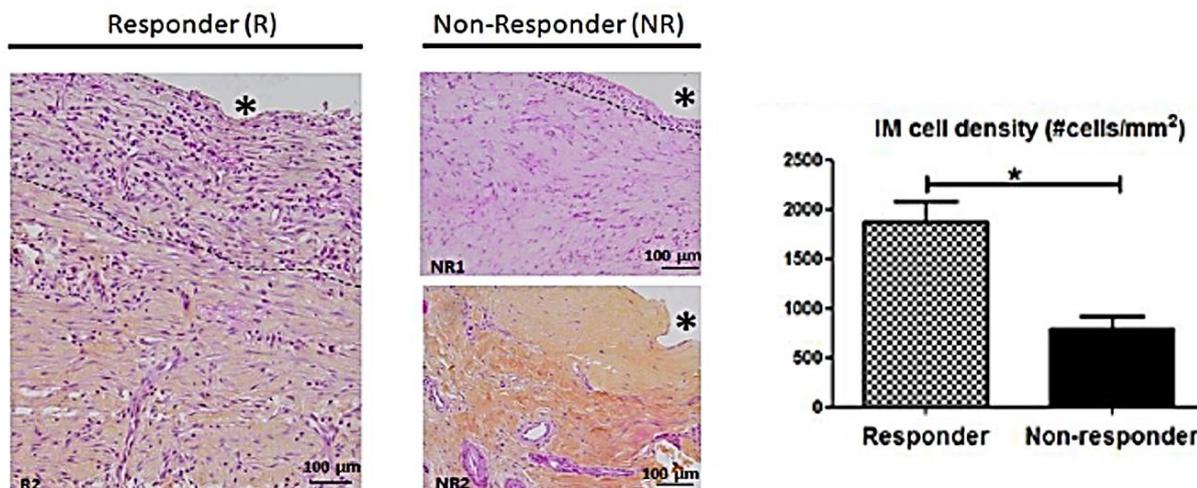


Figure 32 : Analyse histologique comparative (coloration HES et grossissement x20)

Des CSM ont été isolées dans les MI de tous les patients R. La cytométrie de flux a révélé que ces CSM avaient un phénotype CD45- CD90+ CD 73+ CD105+. A l'inverse, les MI des patients NR n'ont généré aucune CSM. **Le contenu en CSM des MI était donc diminué dans le groupe NR.**

La distribution des macrophages a été évaluée par détection du marqueur CD68 au sein des MI. Aucune différence n'a été mise en évidence entre les groupes, ni par l'analyse immunohistochimique (comptant le nombre cellules positives au CD68) ni par la RT-PCR quantifiant le gène CD68. De même, l'expression du gène MCP-1 n'était pas différent entre les groupes. Ainsi, **la réponse inflammatoire et l'infiltration macrophagique n'étaient pas diminuées dans les membranes NR.**

L'analyse PCR quantitative a montré que le ratio mRNA MMP-9/ TIMP-1 dans les membranes NR était de 87% inférieur à celui des membranes R ($p = 0.04$). La baisse de ce ratio était attribuée à une diminution du mRNA MMP-9, ce qui a été confirmée par une analyse immunohistochimique montrant que la protéine MMP-9 était quasiment indétectable dans les membres NR (Figure 33). **Cela suggérait une altération du remodelage de la matrice extracellulaire dans le groupe NR.**

A la lumière de ces résultats nous avons exploré les composants fibreux de la matrice extracellulaire par une analyse histologique du contenu en collagène des MI. Comme suspecté, **les membranes NR contenaient des fibres de collagène plus épaisses et regroupées de façon plus compacte** que les membranes R (Figure 34).

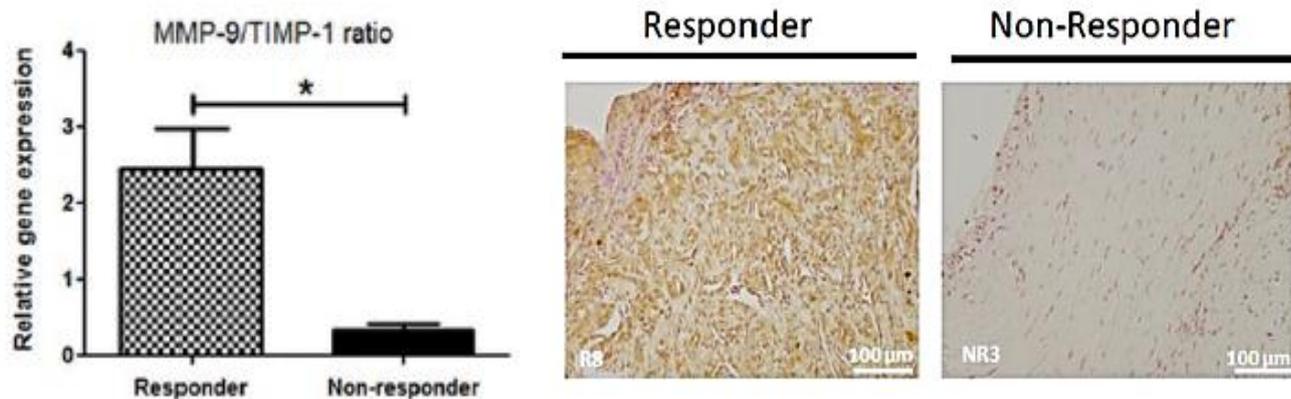


Figure 33 : Ratio mRNA MMP-9/TIMP-1 et immunomarquage de la protéine MMP-9 dans les deux groupes

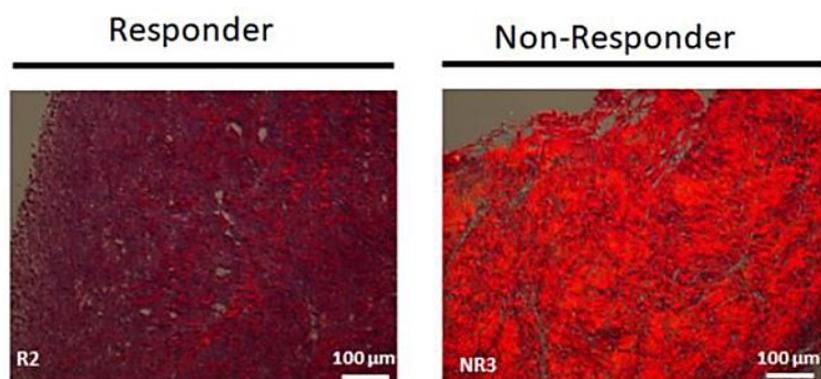


Figure 34 : Analyse histologique après coloration au rouge Sirius : la biréfringence dans le groupe NR témoigne d'une quantité plus importante de fibres de collagène

Discussion

Cette étude montre des changements dans la physiologie de la MI en cas d'échec de la technique, quelle que soit la localisation de la PSO ou le type de fixation. Ceux-ci se caractérisent par une diminution de sa cellularité et son contenu en ostéoprogéniteurs, ainsi que par une altération du remodelage de la matrice extra-cellulaire. Ainsi, les MI des patients NR présenteraient un profil pro-fibrotique pouvant expliquer les échecs thérapeutiques. Par ailleurs, nos résultats indiquent que la protéinase MMP-9 pourrait être utilisée comme un biomarqueur prédictif du résultat.

Conclusion

Une relation entre l'échec de la TMI et une altération des propriétés biologiques de la MI est mise en évidence. Elle nécessite d'être confirmée par la poursuite de l'étude MEMBRAN sur des cohortes plus importantes de patients. De même, il serait intéressant de mesurer les niveaux sériques des protéines MMP-9 et TIMP-1 et voir si le biomarqueur prédictif de la qualité ostéogénique de la MI (rapport MMP-9/TIMP-1) peut être détecté directement dans le sérum des patients plutôt que sur des fragments de MI.

3.3.3 Classification des échecs – Annexes 13 et 14

A la lumière des données de la littérature, de notre expérience clinique et des premiers résultats de l'étude MEMBRAN, il apparaît que les échecs de la TMI peuvent avoir trois origines : septique, mécanique et biologique ; les échecs biologiques pouvant être liés au contenu ou au contenant membranaire. Afin d'aider les chirurgiens à éviter certains pièges lors de l'application de la TMI, nous avons proposé une classification distinguant échecs évitables et non évitables (Figure 35).

Echecs chirurgicaux évitables

Echecs septiques

La récurrence septique est de loin la cause la plus fréquente d'échec. Elle peut être due à une insuffisance du parage osseux, à une complication lors de la reconstruction des parties molles, ou à un traitement antibiotique inadapté. Il faut bien garder à l'esprit que la TMI ne doit être appliquée qu'une fois l'infection éradiquée ou sous contrôle. Nous soulignons donc que la récurrence septique n'est pas *stricto sensu* un échec de la technique, mais bien un échec du traitement préalable de l'infection.

Echecs mécaniques

Le manque de stabilité de l'ostéosynthèse lors du T2 est la seconde cause d'échec la plus fréquente. Toute micromobilité au sein de la zone reconstruite va en effet s'opposer au développement des bourgeons vasculaires issus de la MI, et donc à l'intégration de la greffe. Il s'en suit une pseudarthrose à l'une des extrémités de la reconstruction, généralement en distal.

L'insuffisance de remplissage de la cavité membranaire est une autre cause d'échec mécanique. Si les greffons ne sont pas suffisamment compactés à l'intérieur de la membrane, ils peuvent s'accumuler au bas de la reconstruction sous l'effet de la gravité lorsque le patient se remet debout. Cela peut aboutir à une pseudarthrose ou une refracture à l'extrémité proximale de la greffe.

Echecs biologiques

Les échecs biologiques d'origine chirurgicale correspondent aux défauts d'intégration de la greffe en l'absence de tout problème septique ou mécanique. Pour nous ces échecs sont liés à un contenu ou un environnement membranaire inapproprié. Ils s'observent dans trois situations :

- 1- Une utilisation excessive de substitut osseux par rapport au volume d'autogreffe, car en dépit de leurs propriétés ostéogéniques, les substituts synthétiques sont mal revascularisés par la membrane ;
- 2- L'ajout de facteurs de croissance de synthèse (BMP) lors du T2, en raison d'un possible effet de compétition avec ceux sécrétés par la membrane ;
- 3- Un tabagisme actif dans la période péri-opératoire. Le tabac est en effet susceptible de réduire le flux sanguin à l'intérieur de l'espace de reconstruction et d'altérer le recrutement des CSM.

Echecs biologiques non évitables

Il s'agit d'échecs non liés à une erreur de technique ou d'appréciation chirurgicale, mais à une altération des propriétés angiogéniques et ostéogéniques de la MI chez un patient donné. Cette altération peut être d'origine physiologique ou circonstancielle.

Echecs physiologiques

Comme nous l'indiquent les résultats préliminaires de l'étude MENBRAN, les échecs peuvent être liés à une altération des propriétés physiologiques de la membrane. Il semble exister des patients non-répondants à la TMI chez lequel le ratio MMP-9/TIMP-1 membranaire est diminué. L'importance de la protéinase MMP-9 dans le contexte de la TMI avait été soulignée auparavant par Haubruck *et al.* (2018) qui avaient montré des niveaux sériques de MMP-9 plus élevés chez les patients répondants à la technique.

Echecs circonstanciels

La TMI étant basée sur une réaction à corps étranger, toute altération du système immunitaire est susceptible d'affecter la formation et les capacités biologiques de la membrane d'encapsulation. Cela explique probablement les lyses de greffons observées après chimiothérapie dans le cadre de la reconstruction de PSO d'origine tumorale (Accadbled *et al.* 2013). Nous pensons également que les traitements anti-inflammatoires sont susceptibles d'altérer le phénomène d'inflammation tissulaire nécessaire à l'induction de la membrane (Mathieu *et al.* 2020). Enfin, bien que des greffes tardives aient été effectuées avec succès, il reste possible qu'un intervalle T1-T2 excessif soit un facteur de risque d'échec.

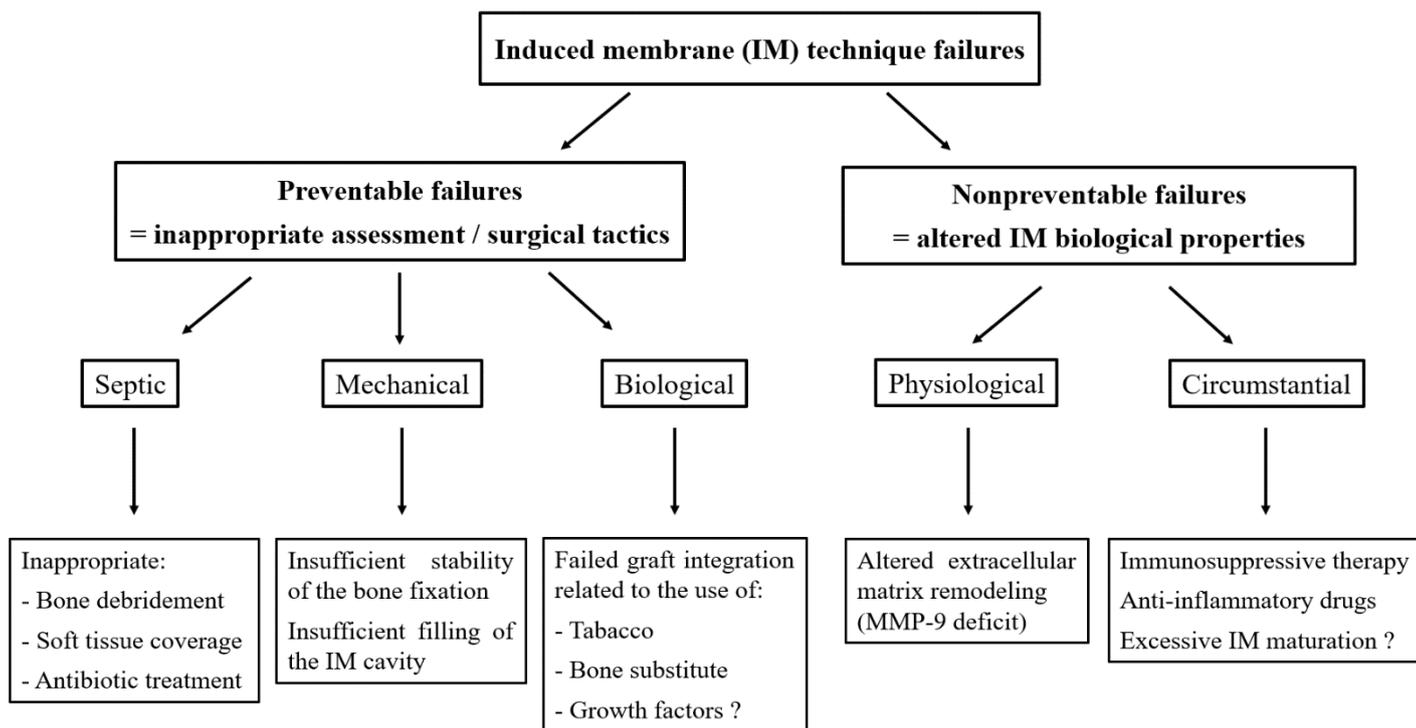


Figure 35 : Proposition de classification des échecs de la TMI

Récapitulatif des apports de notre analyse des échecs cliniques de la TMI :

- Nous avons été les premiers à montrer que certains échecs étaient liés à une altération des propriétés biologiques de la membrane
- Nous suggérons d'évaluer les taux sériques de MMP-9 et TIMP-1 comme biomarqueurs prédictifs de la qualité ostéogénique de la MI
- Nous avons proposé une classification des échecs visant surtout à limiter la survenue d'erreurs chirurgicales lors de l'application de la technique

4. VOIES D'OPTIMISATION PAR LA RECHERCHE EXPERIMENTALE

Les études expérimentales publiées à propos de la TMI ont deux objectifs : 1) élucider les phénomènes biologiques impliqués dans son fonctionnement ; 2) d'optimiser son utilisation clinique. Les pistes de recherche pour l'optimisation la TMI concernent essentiellement la détermination de l'intervalle T1-T2 idéal, l'utilisation de *spacers* alternatifs au PMMA pour améliorer les propriétés biologiques de la membrane, et l'évolution vers une technique en un temps par le recours à une membrane synthétique ou naturelle (Durand *and* Collombet 2020). Les travaux que nous effectuons à l'IRBA visent principalement à identifier des matériaux alternatifs au PMMA.

4.1 NOTRE MODELE RONGEUR DE DEFECT FEMORAL – Annexe 15

Les modèles actuels d'étude de la TMI reposent sur le mouton, la chèvre, le lapin ou le rat (Klein *et al.* 2020). Les grands animaux ont l'avantage de permettre des études précliniques, car les dimensions des os et leur mode d'ostéosynthèse sont proches de ceux de l'humain, mais leur utilisation est coûteuse. Le rat est ainsi plus fréquemment utilisé pour étudier les propriétés biologiques de la membrane. En revanche, la réalisation du T2 est beaucoup plus délicate chez ces animaux de petite taille. A l'IRBA, nous avons développé un modèle rongeur de défaut fémoral permettant d'étudier à la fois l'induction membranaire et la réparation osseuse.

Matériel et méthodes

Vingt-huit rats Sprague Dawley ont été nécessaires au développement et à la validation de ce modèle de défaut fémoral. Ils étaient âgés de 8 semaines (et d'un poids moyen de 200 grammes) lors du T1. Le T2 n'a été effectué que chez les animaux servant à la validation du modèle.

Protocole chirurgical

Lors du T1, le fémur était abordé par une voie latérale passant sous le vaste latéral pour implanter un mini-fixateur externe dédié (RatExFix – RISystem®) permettant la création d'une PSO de 6 mm qui est considéré comme un défaut de taille critique chez le rat. Le défaut était ensuite comblé par un *spacer* en PMMA cylindrique préalablement moulé dans des moules de silicone. Lors de la fermeture, la peau était suturée au-dessus du fixateur externe qui était utilisé comme une ostéosynthèse interne (Figure 36).

Au cours du T2, le *spacer* était abordé par une voie différente : nous avons utilisé un abord antéro-médial passant entre le droit antérieur et le vaste médial pour ne pas être gêné par le fixateur. Le *spacer* était retiré et les extrémités osseuses avivées. La greffe osseuse était une allogreffe constituée de fragments d'os spongieux prélevés sur les fémurs distaux d'un animal donneur sacrifié le même jour (Figure 37).

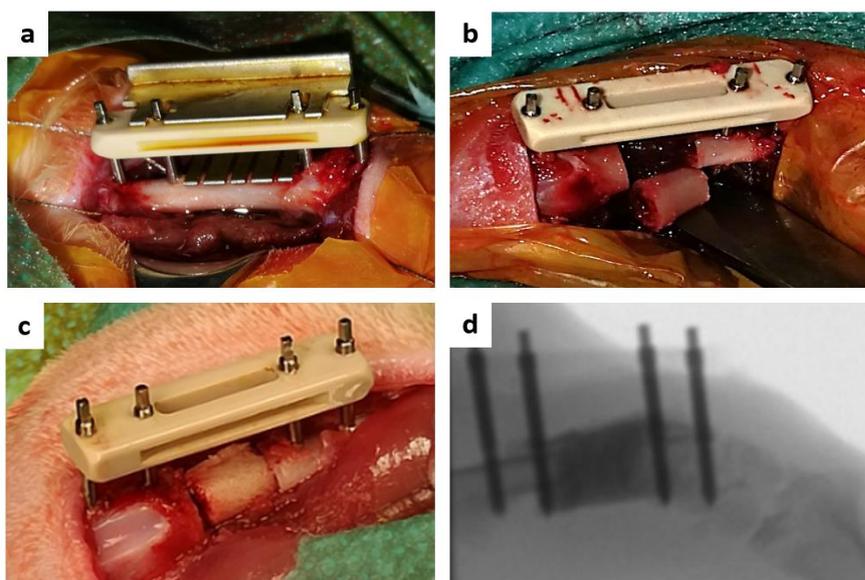


Figure 36 : Etapes du T1 : implantation du fixateur par un abord latéral (a), création d'un défaut de 6 mm (b), comblement par un *spacer* en PMMA (c), radiographie post-opératoire (d)

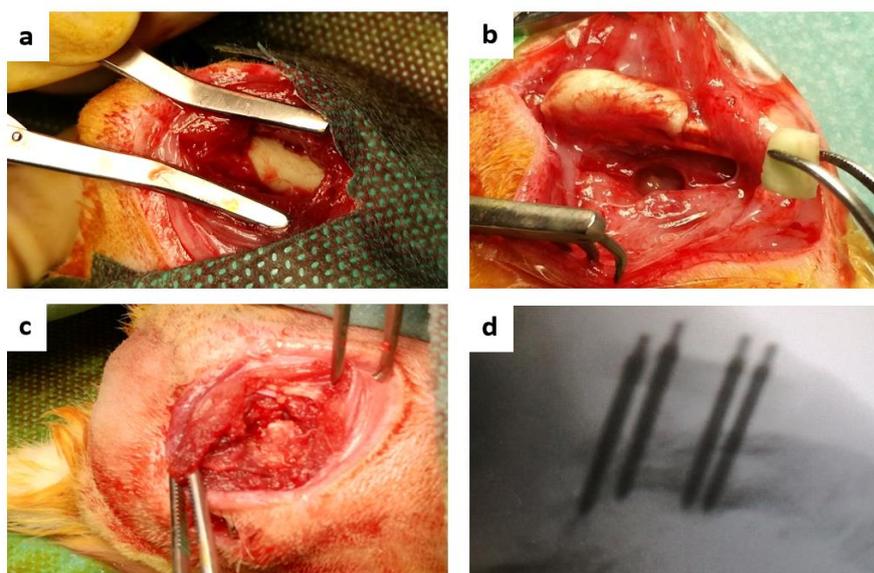


Figure 37 : Etapes du T2 : abord antéro-médial (a) et retrait du *spacer* en PMMA (b), mise en place d'allogreffe compactée dans le défaut (c), radiographie post-opératoire (d)

Conception de l'étude en deux phases

Phase 1 : Développement du modèle

L'objectif était de déterminer l'âge optimal de la MI pour effectuer le T2. Pour cela, 16 rats ont reçu le T1 puis ont été sacrifiés à divers intervalles après l'implantation du *spacer* : 2 semaines (n=3), 4 semaines (n=6), 6 semaines (n=4) et 8 semaines (n=3). Des fragments de MI et des échantillons sanguins étaient alors collectés pour différentes analyses (Figure 38).

Phase 2 : Validation du modèle

Il s'agissait de prouver que la MI permettait bien une amélioration de la consolidation osseuse. Pour cela, la TMI a été appliquée de façon complète chez 12 rats, avec un intervalle T1-T2 correspondant à celui défini durant la phase 1. Au cours du T2, les rats ont été répartis au hasard en deux groupes : un groupe Contrôle Positif, dans lequel la MI a été préservée et remplie d'allogreffe ; et un groupe Contrôle Négatif, dans lequel la MI a été excisée avant de réaliser la greffe. Ces animaux ont été sacrifiés 10 semaines après le T2 pour évaluer la réparation osseuse à l'aide d'un micro-CT (*micro-computed tomography*).

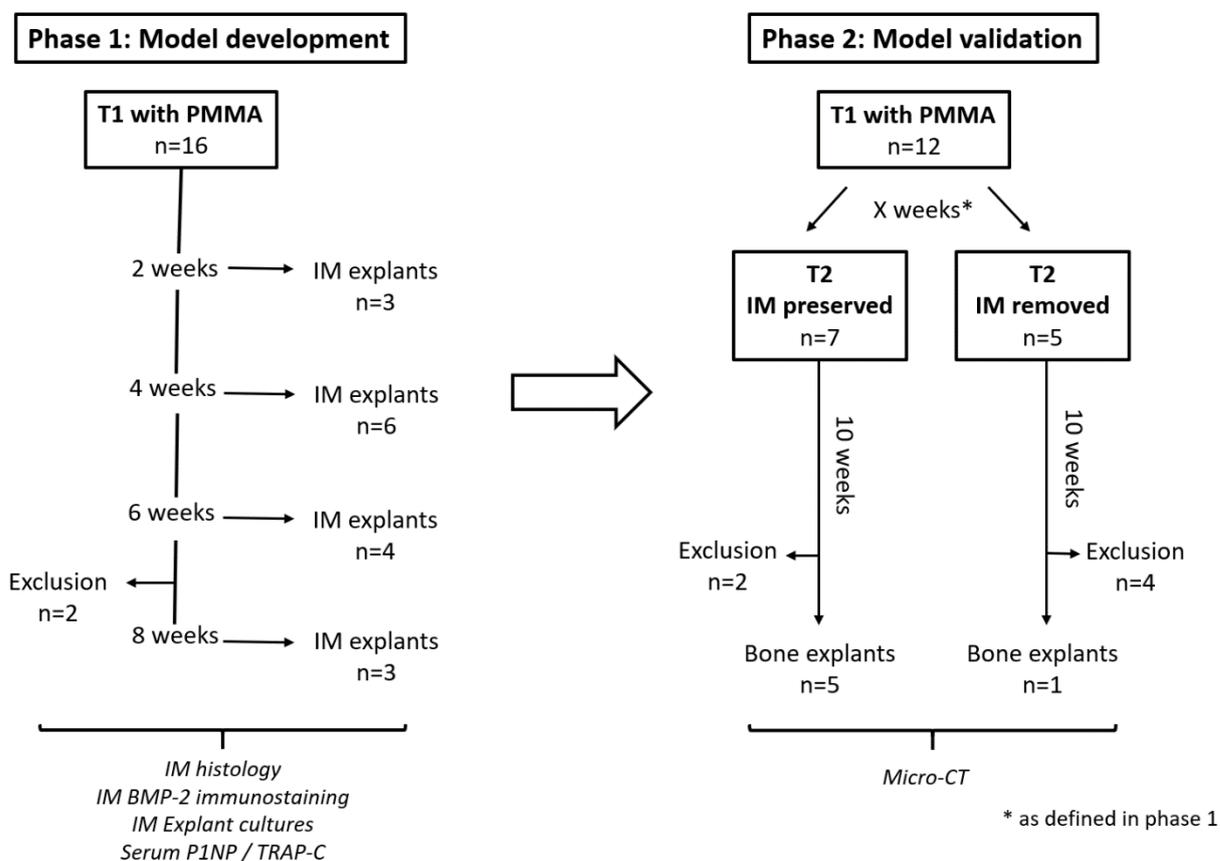


Figure 38 : Conception de l'étude

Analyse des fragments de membrane

Les fragments de membrane prélevés aux différents intervalles ont été analysés en histologie, immunohistochimie et par culture d'explants.

L'analyse histologique s'est faite après une coloration à l'HES. La densité cellulaire a été mesurée à l'aide du logiciel Histolab (Microvision Instruments®) par le même opérateur ignorant le statut de l'échantillon. Le chiffre retenu était la moyenne de trois mesures effectuées dans trois zones différentes du fragment de membrane.

Une analyse immunohistochimique a été réalisée en utilisant des anticorps spécifiques de la BMP-2. Après contre-coloration à l'hématoxyline, une coloration brune témoignait de la présence de BMP-2. Le niveau de BMP-2 a été évalué de façon qualitative par le même opérateur ignorant le statut de l'échantillon : ce niveau pouvait être côté nul, faible, moyen ou élevé (Figure 39).

Enfin, une recherche de CSM a été effectuée dans les MI par le procédé de culture d'explants suivi d'une cytométrie de flux utilisant les anticorps monoclonaux anti-CD31-, anti-CD-90+, anti-CD73+ et anti-CD45-.

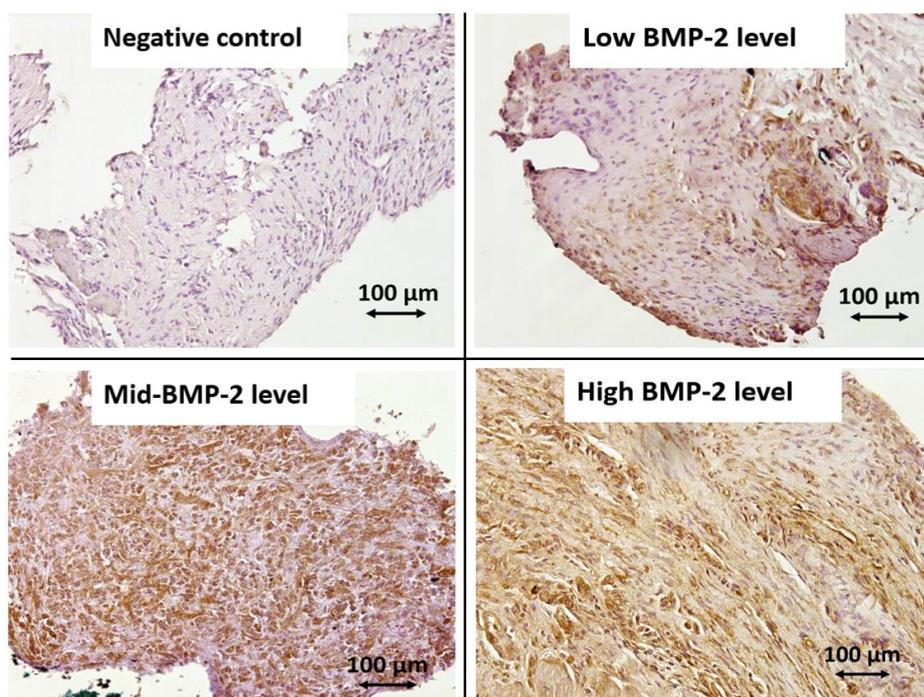


Figure 39 : Evaluation qualitative du niveau de BMP-2 dans les MI par immunomarquage : la présence de BMP-2 était associée à une coloration brune.

Marqueurs sériques du remodelage osseux

Deux marqueurs du remodelage osseux ont été recherchés dans le sérum des rats sacrifiés : le P1NP (*procollagen-1 N terminal telopeptide*) mesurant l'activité de la formation osseuse et le TRAP-C (*tartrate-resistant alkaline phosphatase C*) mesurant l'activité de la résorption osseuse. Ces mesures ont été effectuées par la technique ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) avec des kits spécifiques de chacun des marqueurs. Le ratio P1NP/TRAP-C a été calculé pour évaluer le renouvellement osseux à la suite de la création du défaut.

Evaluation de la réparation osseuse par micro-CT

Après le sacrifice des rats à la 10^{ème} semaine post-T2, les membres opérés ont été prélevés pour une analyse de la réparation osseuse au micro-CT. Les images obtenues ont été traitées par un opérateur ignorant le groupe auquel appartenait le prélèvement. Le défaut de 6 mm a été localisé par rapport aux deux fiches adjacentes et défini comme la région d'intérêt. A l'intérieur de cette région, le volume d'os reconstruit (BV pour *bone volume*) et le volume total du défaut (TV pour *total volume*) ont été mesurés en mm³, puis le ratio BV/TV calculé.

Résultats

Développement du modèle

L'analyse histologique effectuée à 2, 4, 6 ou 8 semaines après l'implantation du *spacer* a toujours montré des MI organisées en deux couches :

- **Les MI âgées de 2 et 4 semaines étaient bien structurées** avec une démarcation nette entre la couche profonde dense, comprenant fibroblastes et macrophages, et la couche superficielle composée essentiellement de fibroblastes. Les vaisseaux semblaient plus nombreux à 4 semaines.
- **L'architecture des MI âgées de 6 et 8 semaines était plus désorganisée.** Ces membranes avaient un contenu fibreux plus important avec de nombreuses fibres de collagène et une matrice extra-cellulaire dense. En revanche, la densité cellulaire ne variait pas de façon significative au fil du temps (Figure 40).

L'immunohistochimie montrait que **le niveau de BMP-2 dans les membranes était maximal à 4 semaines**, déclinait à 6 semaines et était nul à 8 semaines. Cependant, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes (Tableau 13).

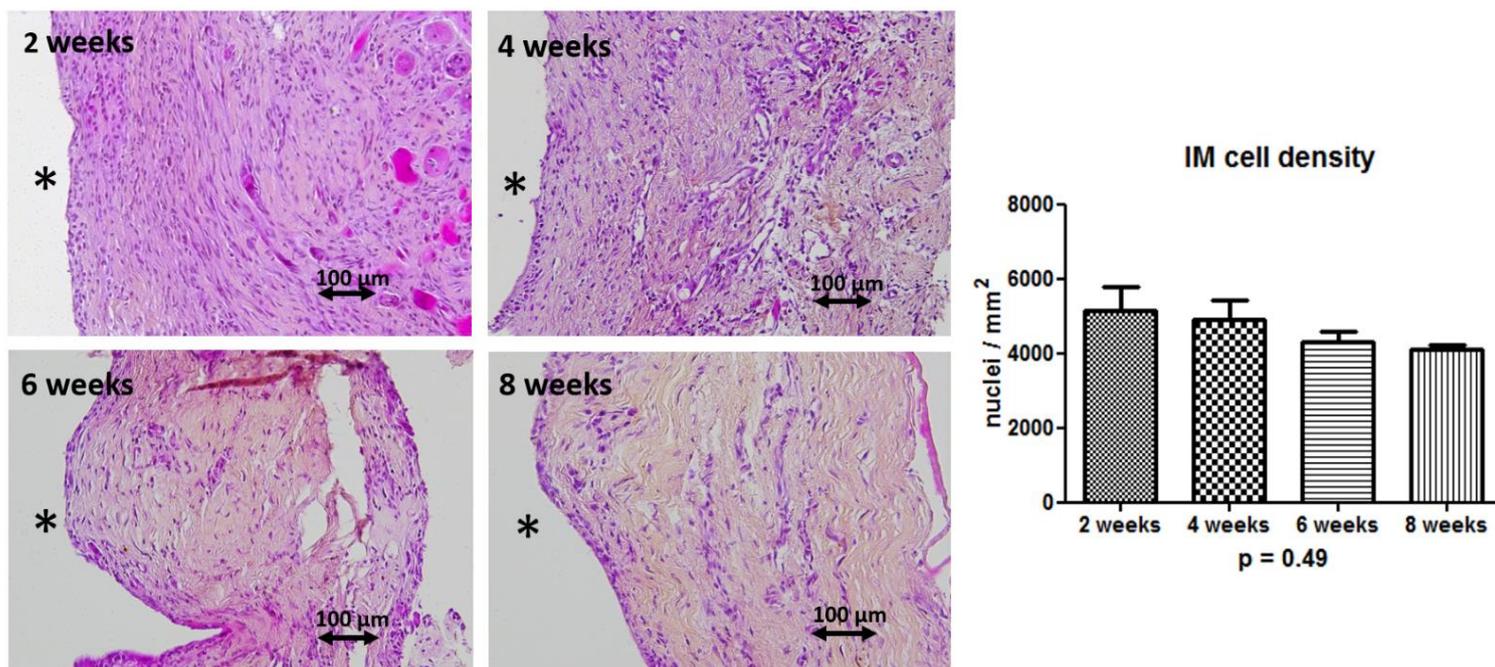


Figure 40 : Histologie et densité cellulaire selon l'âge de la membrane (moyenne ± SEM)

IM BMP-2 level	2 weeks (n=3)	4 weeks (n=6)	6 weeks (n=4)	8 weeks (n=3)
None	1	-	2	3
Low	2	4	2	-
Mid	-	1	-	-
High	-	1	-	-

p = 0,13

Tableau 13 : Evaluation qualitative du niveau de BMP-2 dans les MI par immunohistochimie

Les explants cellulaires des MI âgées de 2 et 4 semaines révélèrent des CSM de phénotype CD31+ CD45- CD90+ CD73+. A l'inverse, **aucune CSM n'a été retrouvée dans les explants cellulaire des MI âgées de 6 et 8 semaines.**

Le niveau sérique de P1NP était maximal à 2 semaines puis déclinait rapidement, alors que le TRAP-C restait quasiment constant. Ainsi, **le ratio P1NP/TRAP-C était significativement supérieur à 2 semaines** ce qui suggérait une intense activité de remodelage osseux après la création du défaut (p=0,002 ; Figure 41).

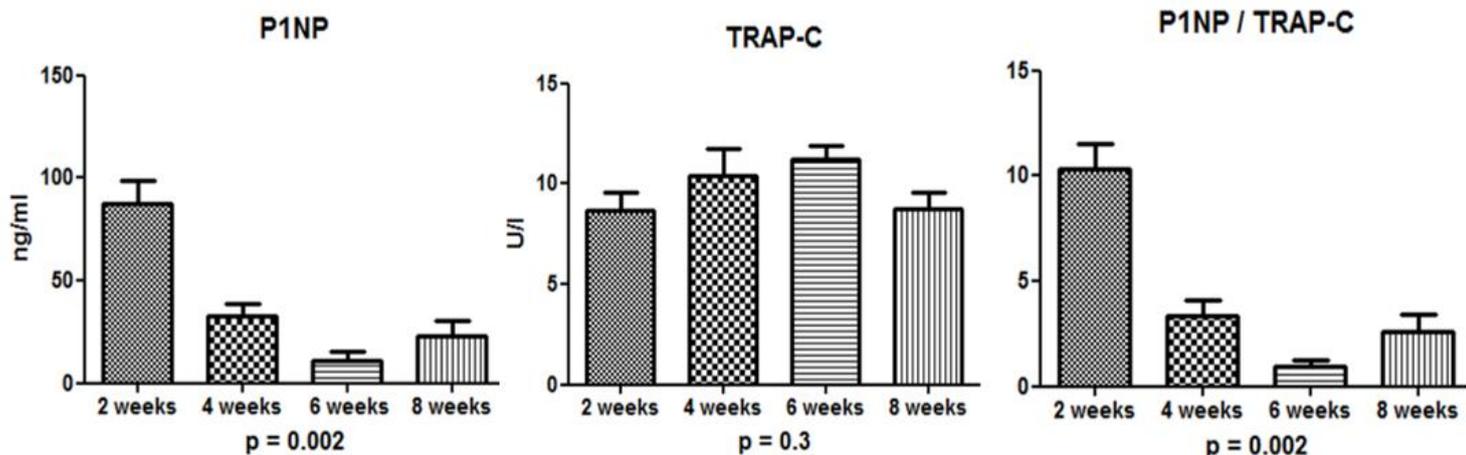


Figure 41 : Evolution des marqueurs sériques du renouvellement osseux (moyenne \pm SEM)

Au total, ces données montraient que l'intervalle T1-T2 ne devait pas excéder 4 semaines. Afin d'éviter des temps opératoires trop rapprochés (éthiquement discutables et à risque de complications septiques) **nous avons retenu le délai de 4 semaines comme temps d'induction optimal de la MI.**

Validation du modèle

Tous les rats du groupe Contrôle Négatif (dans lequel la MI avait été excisée) ont évolué vers la pseudarthrose : quatre sur cinq ont présenté une faillite précoce de l'ostéosynthèse imposant leur sacrifice avant l'analyse de la réparation osseuse. Pour la même raison, deux rats du groupe Contrôle Positif ont dû être sacrifiés précocement. Bien qu'aucune analyse statistique ne fût possible, l'analyse micro-CT à 10 semaines montrait un **rapport BV/TV supérieur dans le groupe Contrôle Positif** (Figure 42).

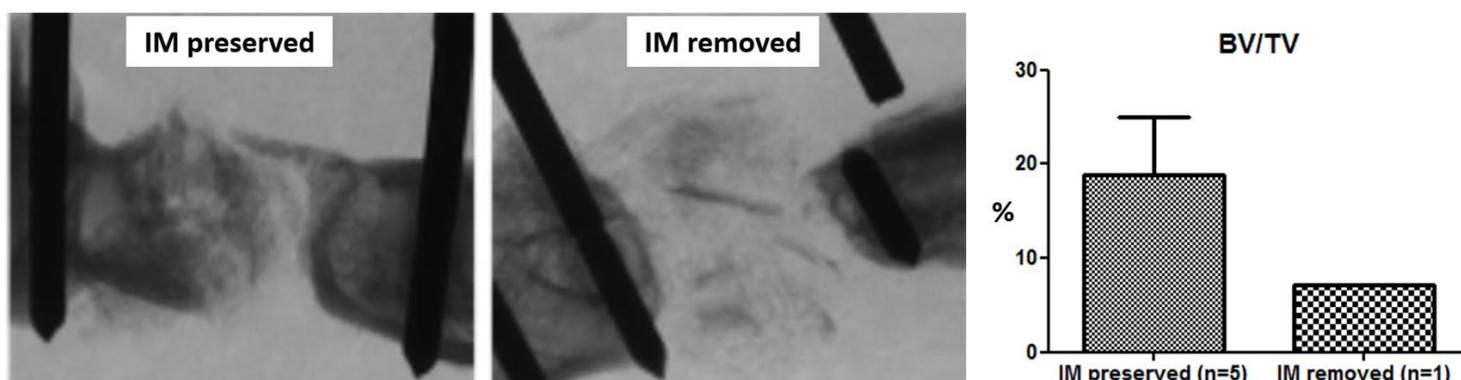


Figure 42 : Evaluation de la réparation osseuse par micro-CT (moyenne \pm SEM)

Discussion

Ce modèle d'étude de la TMI présente deux spécificités : 1) l'emploi d'un fixateur externe comme mode d'ostéosynthèse interne ; 2) la détermination préalable de l'intervalle T1-T2 optimal pour obtenir une MI présentant de bonnes capacités ostéogéniques.

Bien qu'inhabituelle, l'utilisation interne du fixateur externe nous est apparue nécessaire compte-tenu de la croissance continue du rat au cours de sa vie. En effet, dans l'étude préliminaire à ce protocole le fixateur était employé de façon conventionnelle. Nous avons alors déploré de fréquentes complications infectieuses dues à un conflit entre le corps du fixateur et la peau de l'animal survenant dans les deux mois suivants l'implantation du matériel. Nous avons trouvé que ce mode de fixation original présentait des avantages comparativement aux mini-plaques ou clous employés par d'autres auteurs : la réalisation du défaut était très précise et reproductible grâce à l'ancillaire de coupe, le retrait du *spacer* était atraumatique, et la stabilité importante puisque le corps du fixateur était placé au plus près de l'os. Le seul inconvénient était la nécessité d'une modification de l'abord chirurgical au T2 pour accéder au *spacer* sans être gêné par le fixateur et sans léser la membrane.

Le choix de l'intervalle T1-T2 est un point crucial dans les protocoles expérimentaux étudiant la réparation osseuse. Celui-ci varie entre 4 et 8 semaines selon les auteurs, qui s'appuient tous sur des études antérieures ayant analysé les propriétés biologiques de MI d'âges différents (Gouron *et al.* 2017, Ma *et al.* 2018, Gaio *et al.* 2018, Toth *et al.* 2019). Cela peut être discutable dans la mesure où ces études préalables ont été effectuées par d'autres équipes dans des conditions différentes. Ici, nous avons nous-mêmes montré qu'au-delà de 4 semaines l'augmentation du tissu fibreux et la disparition des CSM suggéraient une altération des propriétés ostéogéniques des MI. Bien que les marqueurs du nouvellement osseux montraient une activité ostéoblastique supérieure à 2 semaines, nous avons retenu le délai de 4 semaines pour des raisons éthiques et des impératifs chirurgicaux, mais aussi en raison des données de la littérature (Heinrich *et al.* 2013, Wang *et al.* 2015). Enfin, la validation de notre modèle démontrait sans appel l'apport de la MI dans l'intégration rapide de la greffe osseuse.

Conclusion

Nous avons développé un modèle original de défaut fémoral chez le rat permettant de reproduire et d'étudier les deux temps de la TMI. L'utilisation du fixateur externe comme ostéosynthèse interne n'avait jamais été décrite auparavant dans ce contexte.

4.2 POLYPROPYLENE : UN SPACER A MOINDRE COUT – Annexe 15

Comme évoqué précédemment, l'utilisation de la TMI en situation sanitaire dégradée est fréquemment limitée par l'indisponibilité en PMMA. Pour pallier ce manque, des seringues à usage unique en PPP ont été utilisées en guise de *spacer* avec de bons résultats cliniques (Mozumder *et al.* 2016, Murison *et al.* 2019). Ce procédé reste cependant marginal, et ne peut à l'heure actuelle être recommandé comme alternative au PMMA.

L'objectif de cette étude expérimentale était de comparer des MI par le PMMA (MI-PMMA) et par le PPP (MI-PPP) en utilisant notre modèle de défaut fémoral rongeur. Notre hypothèse était que les MI-PMMA et les MI-PPP présentaient des propriétés biologiques et des capacités de réparation osseuse semblables.

Matériel et méthodes

Vingt-deux rats Sprague Dawley ont été répartis en deux groupes : 11 ont reçu un *spacer* en PMMA et 11 ont reçu un *spacer* en PPP. Dans chaque groupe, 4 semaines après le T1, 6 rats ont été sacrifiés pour collecter les MI et 5 rats ont reçu une allogreffe osseuse provenant des rats donneurs (Figure 43). Les rats greffés ont été sacrifiés 10 semaines après le T2.

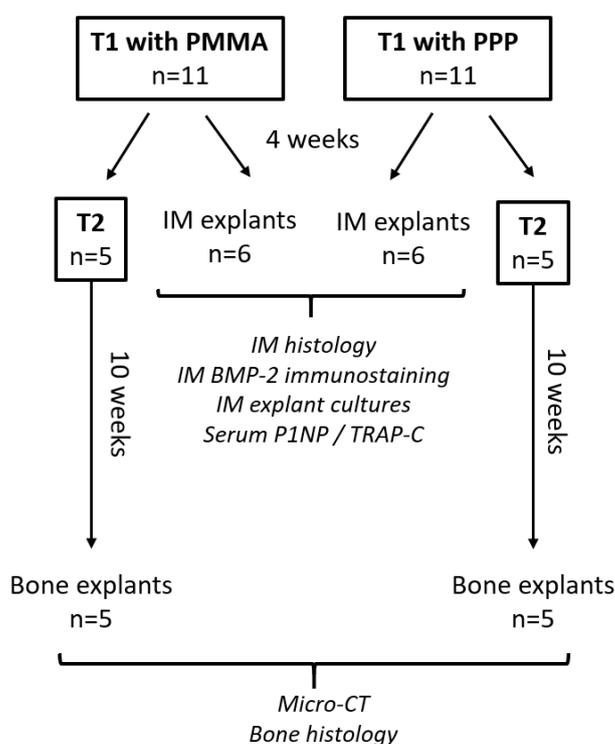


Figure 43 : Conception de l'étude

Protocole opératoire

Dans le groupe PMMA, la technique chirurgicale était identique à celle décrite pour le développement du modèle. Dans le groupe PPP, les *spacers* étaient composés de deux hémis-tubes découpés dans une seringue à usage unique de 1 ml (Omnifix-F Solo, B. Braun®) et stabilisés autour du défaut par deux nœuds coulissants au fil résorbable Vicryl 5/0 (Ethicon®). Lors du T2 le caillot de fibrine présent à l'intérieur du *spacer* en PPP était systématiquement retiré avant l'implantation de la greffe dans la MI (Figure 44).

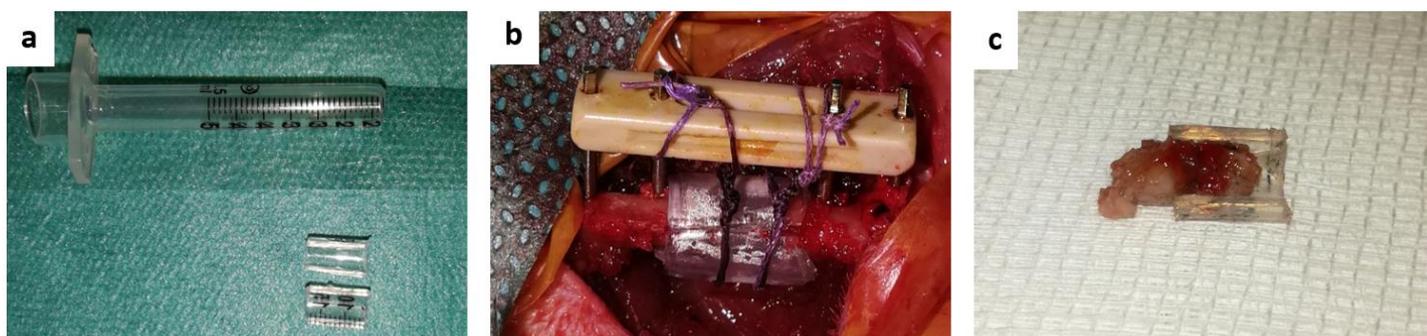


Figure 44 : Groupe PPP : confection du *spacer* par deux hémis-tubes issus d'une seringue de 1 ml (a), stabilisation du *spacer* autour du défaut osseux (b), et retrait du caillot de fibrine au T2 (c)

Analyse des propriétés biologiques des membranes

Les fragments de MI collectés 4 semaines après le T1 ont été traités par un opérateur ignorant le statut des échantillons pour effectuer :

- Une analyse histologique avec coloration HES et comptage de la densité cellulaire par le logiciel Histolab (Microvision Instruments®) ;
- Une évaluation du niveau de la protéine BMP-2 par immunomarquage comme décrit dans le développement du modèle (Figure 39) ;
- Une recherche de CSM par culture d'explants suivi d'une cytométrie de flux utilisant les anticorps monoclonaux anti-CD31-, anti-CD-90+, anti-CD73+ et anti-CD45-.

Des échantillons sanguins ont également été prélevés sur les rats sacrifiés à 4 semaines pour mesurer les marqueurs sériques du remodelage osseux P1NP et TRAP-C.

Analyse de la réparation osseuse

Chez les rats ayant reçu la procédure complète, la réparation osseuse à 10 semaines a été évaluée :

- De façon quantitative au micro-CT par mesure du BV et du TV en mm^3 , puis calcul du rapport BV/TV ;
- De façon qualitative par une analyse histologique de la zone osseuse réparée après coloration au trichrome de Masson.

Résultats

Propriétés biologiques des membranes

Les MI avaient une architecture histologique comparable dans les deux groupes : **les MI-PPP étaient organisées en deux couches comme les MI-PMMA**, sans différence significative de densité cellulaire (Figure 45).

La protéine **BMP-2 était retrouvée dans les deux groupes** avec un niveau semblant plus élevé dans le groupe PPP (Tableau 14). De même, des **CSM étaient isolées dans les deux groupes** sans différence significative (3/3 pour les MI-PMMA *versus* 4/5 dans les MI-PPP, $p=1$).

Bien que les marqueurs sériques du renouvellement osseux étaient légèrement inférieurs dans le groupe PPP, **le ratio P1NP/TRAP-C n'est pas différent entre les groupes** (en moyenne 5,71 pour le PMMA *versus* 4,99 pour le PPP, $p=0,56$).

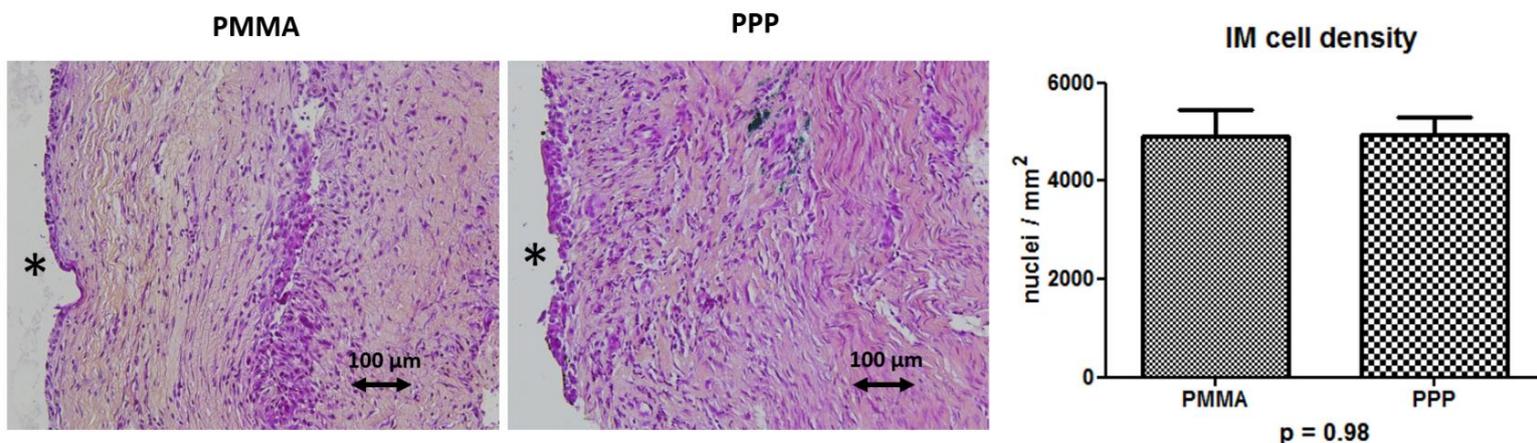


Figure 45 : Comparaison histologique des MI après coloration HES (moyenne \pm SEM)

IM BMP-2 level	PMMA (n=6)	PPP (n=6)
None	-	-
Low	4	1
Mid	1	2
High	1	3

$p = 0,35$

Tableau 14 : Evaluation qualitative du niveau de BMP-2 dans les MI par immunohistochimie

Réparation osseuse à 10 semaines

L'analyse micro-CT montrait un comblement du défaut par de l'os trabéculaire dans 4 cas sur 5 dans les deux groupes, avec **un BV et un rapport BV/TV similaires** (Figure 47).

Quel que soit le groupe, l'analyse histologique montrait que le défaut était comblé en grande majorité par de l'os néoformé, avec peu de tissu fibreux en périphérie et une **quantité équivalente de foyers d'ossification endochondrale** (Figure 48).

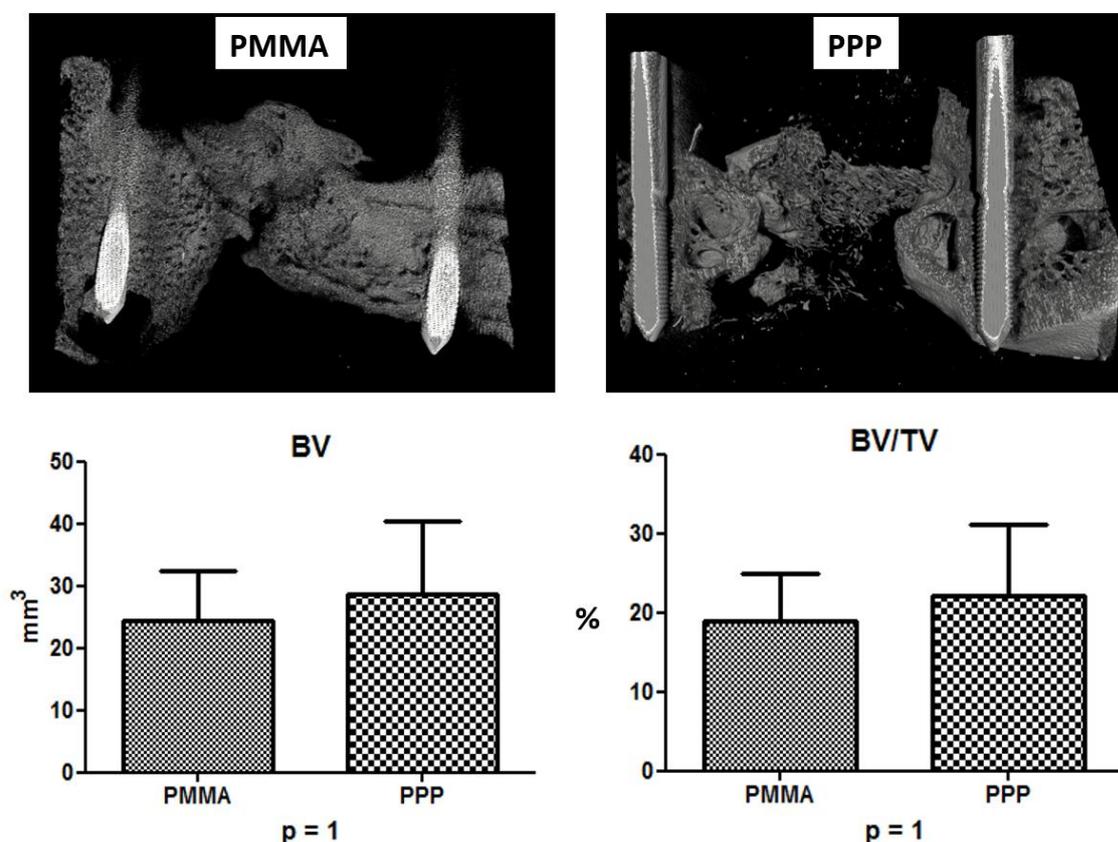


Figure 47 : Comparaison de l'analyse micro-CT entre les groupes (moyenne \pm SEM)

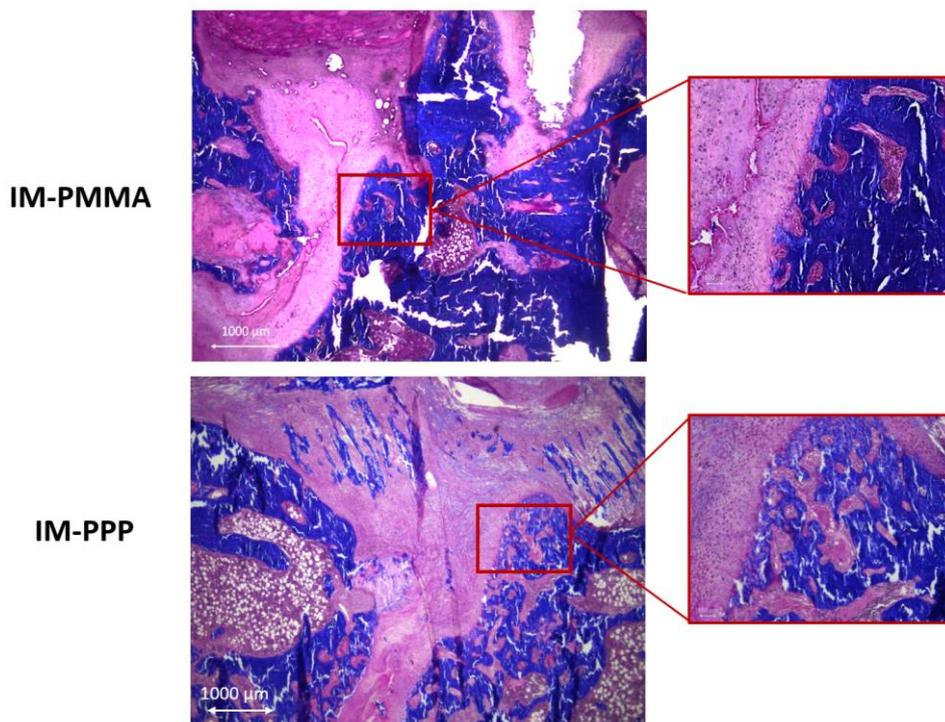


Figure 48 : Comparaison histologique du cal osseux après coloration au trichrome de Masson (os minéralisé en bleu, cartilage en rose)

Discussion

Les principaux facteurs influençant la réaction immunitaire à corps étranger, et donc la formation de la membrane d'encapsulation, sont la localisation du *spacer*, sa surface et sa porosité (McBride-Gagyi *et al.* 2018). A notre connaissance, il s'agit de la première étude analysant cette réaction lors de l'implantation intra-osseuse de PPP. Nous avons donc comparé nos résultats à ceux d'auteurs ayant testé d'autres matériaux dans des sites intra-osseux, ou ayant étudié le PPP dans d'autres localisations.

L'organisation histologique des MI-PPP est identique à celle des MI-PMMA, et conforme aux descriptions faites dans la plupart des études (Gouron *et al.* 2017, Ma *et al.* 2018, Gaio *et al.* 2018, Toth *et al.* 2019, Klein *et al.* 2020). La présence de BMP-2 et de CSM dans les deux groupes suggère que les MI-PMMA et MI-PPP présentent aussi des capacités ostéo-inductives et ostéogéniques équivalentes. Avec un modèle semblable, Toth *et al.* (2019) ont obtenu des résultats similaires en comparant des *spacers* en PMMA et en titane. A l'inverse, McBride-Gagyi *et al.* (2018) ont montré que des *spacers* en éponge d'alcool polyvinylique entraînaient la formation d'une membrane fine et mal structurée. Le caractère lisse et rigide du *spacer* semble donc essentiel à l'induction d'une membrane adaptée à la TMI.

Nos résultats semblent aussi expliqués par le fait que le PMMA utilisé dans le ciment chirurgical et le PPP des seringues d'usage médical sont des polymères rigides présentant des propriétés proches. Il a en effet été démontré que la réaction à corps étranger induite par le PPP est similaire à celle induite par d'autres polymères proches (polyester ou polytetrafluoroéthylène) dans des sites abdominaux et pelviens (Kelly *et al.* 2017).

Une architecture histologique et des propriétés ostéogéniques comparables dans les deux groupes ont abouti à une réparation osseuse comparable sur le plan quantitatif (micro-CT) et qualitatif (histologie osseuse). Comme Toth *et al.* (2019) nous avons souvent observé des réparations partielles avec des cals irréguliers et fragiles à 10 semaines de la greffe. Cela peut s'expliquer par une évaluation trop prématurée de la consolidation, puisque que Gouron *et al.* (2017) a obtenu de meilleurs résultats avec une évaluation faite à 18 semaines. De plus, ils ont utilisé de l'autogreffe (vertèbres caudales) et non de l'allogreffe.

Conclusions

Dans cette étude **les MI-PMMA et les MI-PPP présentent des propriétés biologiques et des capacités de réparation osseuse semblables**. Cela confirme nos constatations cliniques selon lesquelles les seringues en PPP peuvent être une alternative au PMMA en situation précaire. En plus d'être immédiatement disponibles, les seringues présentent d'autres avantages :

- Le manchonnage des extrémités osseuses est facilité ;
- Elles ne chauffent pas l'os ou les parties molles environnantes contrairement à la réaction exothermique provoquée par le PMMA lors de sa phase de durcissement ;
- Leur retrait est facile et atraumatique pour la membrane ;
- Elles peuvent être facilement utilisées dans la TMI engainante (Figure 49).



Figure 49 : Pseudarthrose du fémur traitée par TMI engainante avec deux hémi-seringues

4.3 RECHERCHE D'AUTRES SPACERS ALTERNATIFS

Nous avons également utilisé notre modèle rongeur pour chercher à améliorer les propriétés biologiques de la MI en modifiant la nature et la porosité du *spacer*. Nous avons choisi de tester du PMMA poreux et du métakaolin, ciment géopolymère utilisé comme échafaudage en ingénierie tissulaire (Gallego-Perez *et al.* 2011).

L'hypothèse était que ces ciments alternatifs pourraient induire des membranes d'encapsulation ayant des propriétés ostéogéniques plus favorables à la réparation osseuse que celles obtenues avec le PMMA lisse conventionnel. Nous présentons ici les résultats préliminaires de ces protocoles qui sont actuellement toujours en cours.

4.3.1 PMMA poreux *versus* PMMA lisse

Matériel et méthodes

Elaboration du PMMA poreux

Le PMMA poreux a été obtenu par l'intégration d'un agent porogène, le carboxyméthylcellulose (CMC) à la matrice PMMA (De Wijn, 1976). Après plusieurs essais de formulation, nous avons choisi d'utiliser un hydrogel de CMC à 9% incorporé à hauteur de 40% dans le PMMA. Cette formulation générait des pores d'un diamètre compris entre 120 et 180 μm à la surface du ciment.

Des tests *in vitro* (résultats non montrés) ont été réalisés pour caractériser la réponse des cellules sur ce biomatériau poreux et rechercher une éventuelle toxicité. Si la prolifération cellulaire était la même à la surface des deux types de PMMA, l'adhésion des cellules sur le PMMA-CMC était supérieure à celle observée sur le PMMA commercial (Figure 50). Par ailleurs, aucune toxicité du PMMA-CMC n'a été mise en évidence par un test inspiré de la norme ISO 10993.

Conception de l'étude

Les méthodes d'analyse étaient similaires à celles utilisées dans l'étude sur le PPP :

- Dix rats ont été utilisés pour comparer les propriétés des MI âgées de 4 semaines : 6 dans le groupe PMMA et 4 dans le groupe PMMA-CMC.
- Douze rats ont reçu les deux opératoires pour analyser la réparation osseuse à 10 semaines de la greffe : 7 dans le groupe PMMA et 5 dans le groupe PMMA-CMC.

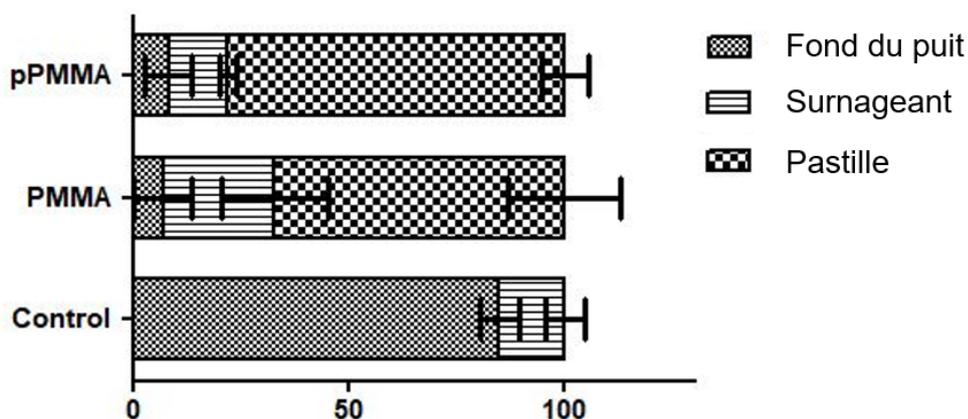


Figure 50 : Test d'adhésion comparatif montrant une plus forte adhésion des CSM sur le PMMA-CMC

Résultats

L'histologie des MI a révélé que les cellules géantes à corps étranger (FBGC - *foreign body giant cells*) étaient quatre fois plus nombreuses dans le groupe PMMA-CMC (Figure 51).

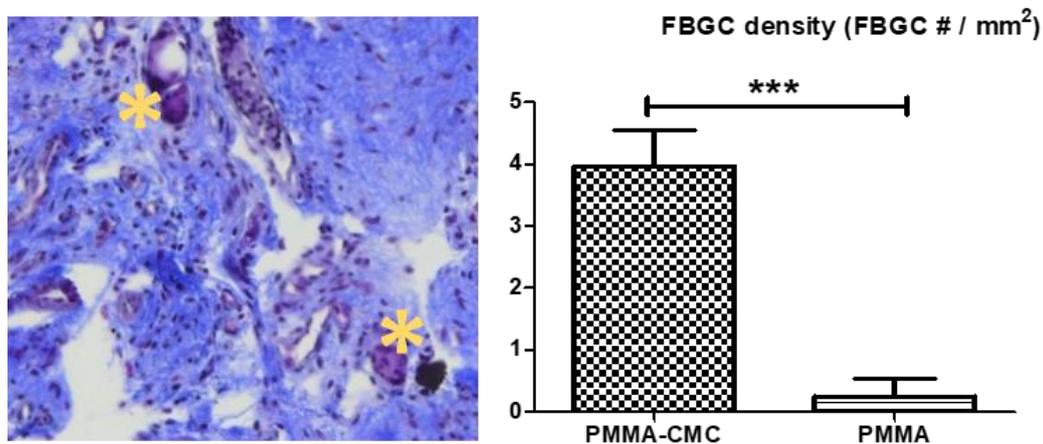


Figure 51 : Vue microscopique des FBGC (*) dans une MI à PMMA-CMC (coloration May-Grünwald Giemsa) et quantification de leur nombre dans les deux groupes

Concernant la réparation osseuse, les faillites d'ostéosynthèse (2/7 avec le PMMA *versus* 1/5 avec le PMMA-CMC, $p=1$) et le rapport BV/TV n'étaient pas différents entre les deux groupes (Figure 52).

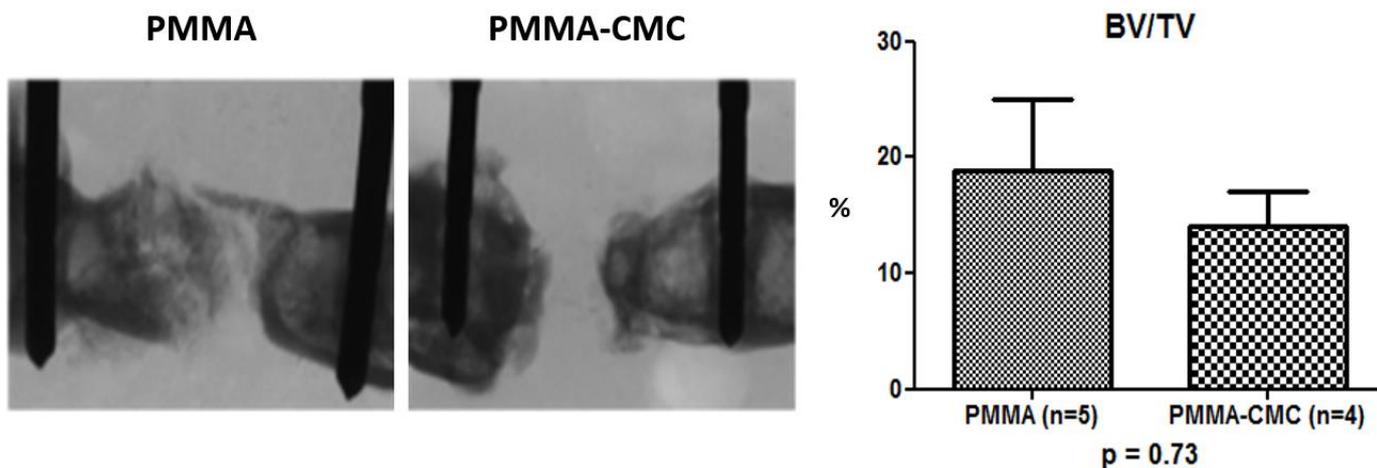


Figure 52 : Aspect radiologique représentatif et résultat de l'analyse au micro-CT

Conclusion

La présence d'un nombre plus élevé de FBGC suggère que le profil de réaction inflammatoire de type macrophagique est plus élevé avec le PMMA-CMC poreux. L'analyse phénotypique des macrophages présent dans les MI est actuellement en cours. Cependant, l'augmentation de la porosité du PMMA ne semble pas améliorer la réparation osseuse chez ce modèle.

4.3.2 Metakaolin *versus* PMMA

Matériel et méthodes

Nous avons choisi de tester le métakaolin comme alternative au PMMA pour trois raisons :

- 1) ses excellentes propriétés mécaniques, qui expliquent que ce matériau de construction dérivé de l'argile ait été testé en ingénierie tissulaire (Gallego-Perez *et al.* 2011) ;
- 2) sa biocompatibilité, puisque c'est aussi un excipient pharmaceutique et un additif alimentaire (E559) ;
- 3) ses propriétés bactéricides (Otto *and* Hydel, 2013).

Ici encore, les méthodes d'analyse étaient similaires à celles utilisées précédemment :

- Onze rats ont été utilisés pour comparer les propriétés des MI âgées de 4 semaines : 6 dans le groupe PMMA et 5 dans le groupe métakaolin.
- Onze rats ont reçu les deux opératoires pour analyser la réparation osseuse à 10 semaines de la greffe : 7 dans le groupe PMMA et 4 dans le groupe métakaolin.

Notons que nous avons aussi essayé de comparer métakaolin lisse et poreux, comme nous l'avons fait pour le PMMA. Cependant, lors du T2, nous avons constaté une décomposition du métakaolin poreux avec inclusion de ses produits de dégradation dans la MI et dans l'espace de reconstruction, ce qui rendait impossible la poursuite de la TMI.

Résultats

L'analyse histologique préliminaire semble montrer une cellularité plus importante des MI-métakolin, soit une activité cellulaire plus intense dans ce groupe (Figure 53). Le comptage cellulaire des différents échantillons est en cours pour valider cette observation qualitative.

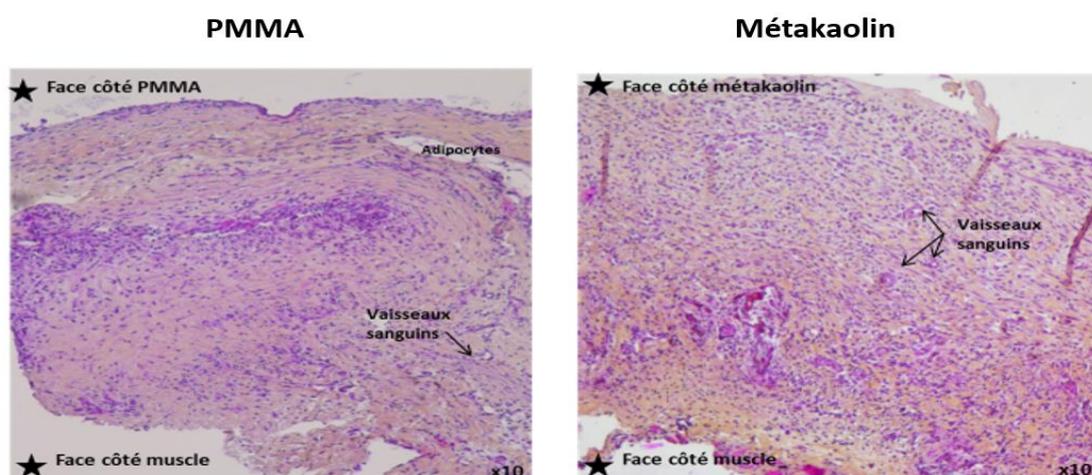


Figure 53: Vue microscopique des MI au grossissement x 2 après coloration HES

Aucune faillite d'ostéosynthèse n'est survenue dans le groupe Métakaolin alors que deux faillites ont été observées dans le groupe PMMA ($p=0,49$). De même, le rapport BV/TV semblait plus important dans le groupe métakaolin (Figure 54).

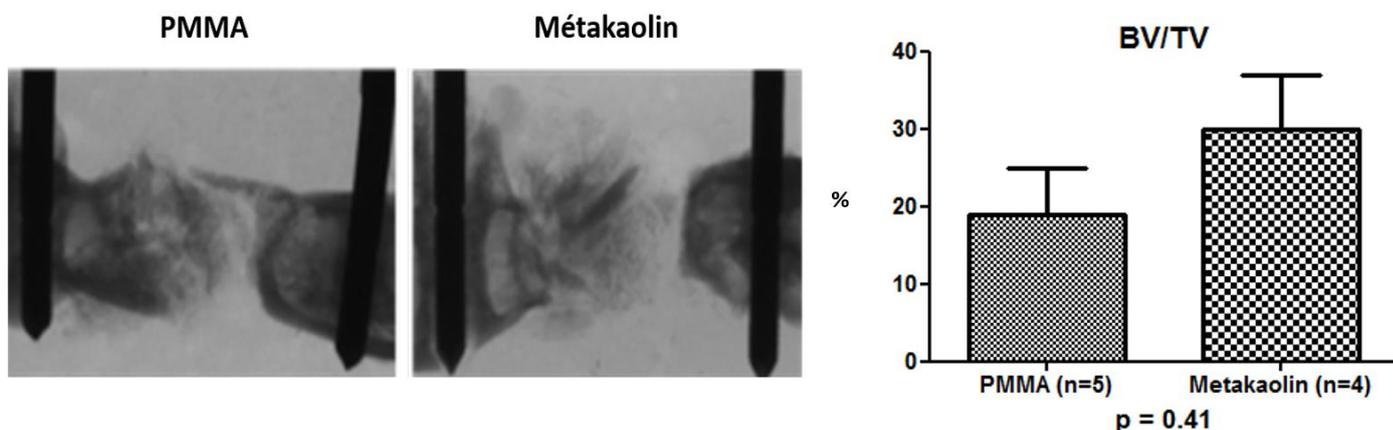


Figure 54 : Aspect radiologique représentatif et résultat de l'analyse au micro-CT

Conclusion

Les données actuellement analysées laissent à penser que le métakaolin est un matériau de choix comme alternative au PMMA dans notre modèle rongeur de reconstruction osseuse par la TMI.

Récapitulatif des apports de nos travaux expérimentaux :

- **Développement d'un modèle rongeur original permettant l'étude des deux temps de la TMI**
- **Confirmation de l'intérêt des seringues en PPP en tant qu'alternative au *spacer* en PMMA, avec des applications cliniques immédiates en contexte sanitaire dégradé**
- **Mise en évidence du potentiel ostéogénique marqué des MI autour d'un *spacer* en métakaolin**

5. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

5.1 CONCLUSIONS

La TMI est devenue le mode de reconstruction privilégié des PSO segmentaires des membres pour un grand nombre d'équipes chirurgicales dans le monde entier. La simplicité de cette technique explique sa large diffusion, et contraste avec la complexité des mécanismes biologiques impliqués dans son fonctionnement. Cependant, simplicité ne rime pas avec facilité : le succès de la TMI passe par un respect rigoureux de ses conditions d'application et principes d'exécution.

En pratique militaire comme en pratique civile, le contrôle de l'infection est la préoccupation majeure dans les traumatismes à haute énergie. L'origine balistique des lésions ne semble pas être un facteur aggravant. Les difficultés sont maximales au tibia où le *timing* et le mode de reconstruction de l'enveloppe des parties molles sont déterminants. En raison du risque élevé de récurrence septique dans ces pertes de substances pluritissulaires, l'exofixation définitive est souvent préférée et doit être associée à une GITF. Dans les autres localisations, la fixation interne doit toujours être privilégiée, en recourant à une tactique séquentielle utilisant un *spacer* armé dans les PSO infectées.

La TMI est souvent le seul procédé de reconstruction osseuse disponible dans les contextes sanitaires dégradés, mais les obstacles à son utilisation sont nombreux. La première difficulté réside dans le traitement médical de l'infection osseuse qui est quasi-systématique du fait du retard à la prise en charge. Le chirurgien orthopédiste doit aussi être capable d'effectuer seul la reconstruction de l'enveloppe cutanée. Enfin, dans les contextes les plus précaires, l'indisponibilité du PMMA est un obstacle fréquent qui peut être contourné par l'utilisation de *spacers* faits de corps de seringues en PPP.

L'absence de contrôle de l'infection et le manque de stabilité de la fixation au T2 sont les principales causes d'échec de la TMI, mais il existe aussi des échecs d'origine biologique pouvant être liés au contenu ou au contenant membranaire. Si les échecs liés au matériel implanté dans la membrane sont bien connus, nous avons été les premiers à établir une relation entre l'échec de la TMI et une altération des propriétés biologiques de la MI. Il semble ainsi exister des patients moins bien répondants à la technique qui pourraient être identifiés précocement par le dosage de marqueurs sériques (ratio MMP-9/TIMP-1).

A l'IRBA, nous avons développé un modèle de défaut fémoral chez le rat permettant d'étudier l'induction de la membrane et la réparation osseuse. Grâce à lui, nous avons montré que les MI-PPP présentent des propriétés biologiques et des capacités de réparation osseuse semblables aux MI-PMMA. Cela confirme nos constatations cliniques selon lesquelles les seringues en PPP sont une alternative possible au PMMA en situation précaire. Enfin, nous travaillons actuellement sur d'autres matériaux alternatifs dans le but d'optimiser les propriétés ostéogéniques des MI. Les résultats préliminaires obtenus avec le métakaolin sont prometteurs.

5.2 PERSPECTIVES

Nous prévoyons d'utiliser notre modèle de défaut fémoral pour lancer de nouveaux protocoles expérimentaux dans les mois à venir. Ces derniers pourraient aboutir à des études cliniques dont nous pourrions être le promoteur, au sein de l'Hôpital d'Instruction des Armées Percy ou dans les formations chirurgicales déployées sur les théâtres d'opérations.

5.2.1 Optimisation des *spacers* creux en polypropylène

Les seringues en PPP n'offrant pas la rigidité mécanique du ciment PMMA, elles ne peuvent pas être utilisées dans le cadre d'une tactique de fixation interne séquentielle. Cependant, leur caractère creux pourrait être mis à profit en utilisant le caillot de fibrine développé à l'intérieur ou en les employant comme un porteur de biomatériaux.

Utilisation du caillot de fibrine

Le caillot de fibrine se développant à l'intérieur du cylindre de PPP entre les deux temps opératoires pourrait avoir des propriétés biologiques favorisant la réparation osseuse. Plutôt que d'être retiré lors du T2, le caillot de fibrine pourrait être utilisé à la façon d'un PRP (*platelet-rich plasma*) ou d'un PRF (*platelet-rich fibrin*) et mixé à la greffe spongieuse lors du T2 (Wang *et al.* 2017). Cela pourrait être évalué en comparant nos résultats actuels à ceux d'un lot supplémentaire de 6 rats traités par un *spacer* en PPP avec conservation du caillot de fibrine lors du T2.

Portage de biomatériaux

La seconde possibilité serait d'utiliser le cylindre de PPP comme un porteur d'hydrogels ou d'éponges (Rothe *et al.* 2020) pour créer un *spacer* mixte capable de diffuser des facteurs de croissance ou des antibiotiques dans l'espace de reconstruction.

L'addition de facteurs de croissance de synthèse lors du T1 serait susceptible de modifier les propriétés biologiques de la MI. Si les facteurs ostéoinducteurs risquent surtout de favoriser l'apparition de foyer d'ossifications dans la membrane, les facteurs stimulant l'angiogenèse (VEGF ou FGF-2) pourraient favoriser le développement des bourgeons vasculaires à l'intérieur de la membrane, et donc d'augmenter ses capacités à revasculariser la greffe à l'issue du T2.

De la même façon, les biomatériaux placés à l'intérieur des *spacers* creux pourraient être imprégnés d'antibiotiques ciblés sur les germes initialement isolés dans la PSO. Ces *spacers* mixtes présenteraient certains avantages par rapports aux *spacers* en PMMA imprégnés d'antibiotiques actuellement utilisés. Tout d'abord, ils permettraient un choix plus large et un dosage plus aisé des antibiotiques en s'affranchissant de la réaction exothermique. De plus, ils favoriseraient la diffusion des antibiotiques dans la cavité médullaire tout en limitant leur diffusion à la MI qui serait protégée par le PPP. Cela pourrait limiter les altérations histologiques de la membrane mises en évidence dans l'étude de Nau *et al.* (2016).

5.2.2 Influence de l'infection sur l'induction membranaire

Si l'infection persistante est une contre-indication formelle à l'utilisation de la TMI, il est fréquent que la technique soit utilisée alors que l'infection n'est que faussement contrôlée. Comme nous l'avons vu, il arrive parfois que les prélèvements bactériologiques systématiques réalisés au T2 reviennent positifs une fois la greffe effectuée. Bien que l'infection ne soit pas totalement éradiquée, la consolidation est cependant souvent obtenue.

Afin de mieux comprendre ces succès obtenus en milieu contaminé, nous souhaiterions étudier l'influence de l'infection sur la formation de la membrane d'encapsulation et sur ses propriétés biologiques. Il s'agirait de déterminer si les échecs septiques sont liés à l'action néfaste des germes sur la greffe ou bien à une altération des capacités ostéogéniques de la MI comme le laisse à penser l'étude de Shah *et al.* (2017). Notre hypothèse est que la réaction immunitaire à corps étranger n'est pas altérée par la présence de germes au contact du *spacer*. Il faudrait pour cela comparer nos résultats actuels à ceux d'un lot supplémentaire de 6 rats traités par *spacer* en PMMA avec inoculation d'un germe lors du T1.

REFERENCES

- Aho OM, Lehenkari P, Ristiniemi J, Lehtonen S, Risteli J, Leskelä HV. The mechanism of action of induced membranes in bone repair. *J Bone Joint Surg Am* 2013; 95:597-604
- Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol* 2008; 20: 86-100
- Andrzejowski A, Giannoudis PV. The “diamond concept” for long bone non-union management. *J Orthop Traumatol* 2019; 20: 21. Doi: 10.1186/s10195-019-0528-0
- Assal M, Stern R. The Masquelet procedure gone awry. *Orthopedics* 2014; 37: e1045-1048
- Baus A, Bich CS, Grosset A, de Rousiers A, Duhoux A, Brachet M, et al. Medical and surgical management of lower extremity war-related injuries. Experience of the French Military Health Service (FMHS). *Ann Chir Plast Esthet* 2020; 26: S0294-1260(20)30086-8.
- Beris AE, Lykissas MG, Korompilias AV, Vekris MD, Mitsionis GI, Malizos KN, et al. Vascularized fibula transfer for lower limb reconstruction. *Microsurgery* 2011; 31: 205-11
- Bilichtin E, de Rousiers A, Durand M, de l'Escalopier N, Collombet JM, Rigal S, Mathieu L. Bone reconstruction by the induced membrane technique. What differences between conventional and ballistic trauma? *Orthop Traumatol Surg Res* 2020; 106: 797-801
- Chen-An H, Shih-Heng C, Soa-Yu C, Yi-Hsun Y. The induced membrane technique for the management of segmental tibial defect and nonunion: a systematic review and meta-analysis. *Biomed Res Int* 2020; doi: 10.1155/2020/5893642
- Choufani C, Demoures T, de l'Escalopier N, Chapon MP, Barbier O, Mathieu L. Application of the Masquelet technique in austere environments : experience from a French forward surgical unit deployed in Chad. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2020 ; doi: 10.1007/s00068-020-01471-5
- Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8: 133-43
- De Wijn J.R. Poly (methyl methacrylate) - aqueous phase blends: in situ curing porous materials. *J Biomed Mater Res* 1976; 10: 625
- Durand M, Barbier L, Mathieu L, Poyot T, Demoures T, Souraud JB, Masquelet AC, Collombet JM. Towards understanding therapeutic failures in Masquelet surgery: first evidence that

defective induced membrane properties are associated with clinical failures. *J Clin Med* 2020; 9: 450

Durand M, Collombet JM, Mathieu L. Masquelet induced membrane technique for the surgical treatment of large bone defects: the reasons for successes and failures. *Am J Biomed Sci & Res* 2019 : 2(4)

Durand M, Collombet JM. Physiologie de la membrane induite : ce qu'on sait et ce qu'on ignore. Etat de la recherche et orientations futures. In : *La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives*, chapi 11. Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 127-138

Gaio N, Martino A, Toth Z, Watson JT, Nicolaou D, McBride-Gagy S. Masquelet technique: the effect of altering implant material and topography on membrane matrix composition, mechanical and barrier properties in a rat defect model. *J Biomech* 2018; 72: 53–62.

Gallego-Perez D, Higueta-Castro N, García Quiroz F, Posada OM, López LE, Litsky AS, Hansford DJ. Portland cement for bone tissue engineering: effects of processing and metakaolin blends. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2011; 88: 308-15.

Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury* 2007; 38: S3-6

Gindraux F, Loisel F, Bourgeois M, Oudina K, de Billy B, Sergent P, et al. Induced membrane maintains its osteogenic properties even when the second stage of Masquelet's technique is performed later. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2020; 46: 301-12

Gindraux F, Rondot T, de Billy B, Zwetyenga N, Fricain JC, Pagnon A, Obert L. Similarities between induced membrane and amniotic membrane: novelty for bone repair. *Placenta* 2017; 59: 116-123

Gouron R, Petit L, Boudot C, Six Isabelle, Brazier M, Kamel S, Mentaverri R. Osteoclasts and their precursors are present in the induced-membrane during bone reconstruction using the Masquelet technique. *J Tissue Eng Regen Med* 2017; 11: 382–9.

Gustilo RB, Mendoza RM, Williams DN. Problems in the management of type III (severe) open fractures: a new classification of type III open fractures. *J Trauma* 1984; 24: 742-6

Haubruck P, Heller R, Apitz P, Kammerer A, Alamouti A, Daniel V, Schmidmaier G, Moghaddam A. Evaluation of matrix metalloprotease as early biomarkers for bone regeneration during the applied Masquelet therapy for non-unions. *Injury* 2018; 49: 1732-8

Heinrich, Seebach C, Nau C, Basan S, Relja B, Wilhelm K, Schaible A, Frank J, Barker J, Marzi I. Establishment and characterization of the Masquelet induced membrane technique in a rat femur critical-sized defect model. *J Tissue Eng Regen Med* 2013; 10: E382–96.

Hu K, Olsen BR. The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration. *Bone* 1996; 91: 30-38

Ilizarov GA. Principes fondamentaux de l'ostéosynthèse en compression distraction. *Orthop Traumatol Protez* 1971; 32: 7-15

Jia C, Wang X, Yu S, Wu H, Shen J, Huang Q, Xie Z. An antibiotic cement-coated locking plate as a temporary fixation for treatment of infected bone defects: a new method of stabilization. *J Orthop Surg Res* 2020; 15: 44

Keating JF, Simpson AH, Robinson CM. The management of fractures with bone loss. *J Bone Joint Surg Br* 2005; 87: 142-50

Kelly M, Macdougall K, Olasibi O, McGuire N. In vivo response to polypropylene following implantation in animal models: a review of biocompatibility. *Int Urogynecol J* 2017; 28: 171-80

Klein C, Monet M, Barbier V, Vanlaeys A, Masquelet AC, Gouron R, Mentaverri R. The Masquelet technique: Current concepts, animal models, and perspectives. *J Tissue Eng Regen Med*. 2020; 14:1349-59

Langlois J. BMP: mirage ou réalité. Table ronde du ROC 2010. www.club-ortho-fr. Consulté le 12/02/2021

Ma YF, Jiang N, Zhang X, Qin CH, Wang L, Hu YJ, Lin QR, Yu B, Wang BW. Calcium sulfate induced versus PMMA-induced membrane in a critical-sized femoral defect in a rat model. *Sci Rep* 2018;12: 637

Masquelet AC, Fitoussi F, Bégué T, Muller GP. Reconstruction des os longs par membrane induite et autogreffe spongieuse. *Ann Chir Plast Esthét* 2000; 45: 346-353

Masquelet AC, Gaillard J, Boutroux P, Bauthier-Landauer V, Cambon-Binder A. La technique de la membrane induite « engainante » pour le traitement des pseudarthroses rebelles sans perte de substance osseuse et le renforcement des reconstructions osseuses segmentaires fragiles. Rapport préliminaire. *Ann Chir Plast Esthet* 2020 ; doi:10.1016/j.anplas.2020.04.004

Masquelet AC, Sales de Gauzy J, Bauer T, Fabre A, Fitoussi F, et al. Reconstruction des pertes de substance osseuse diaphysaires d'origine traumatique. Stratégies, recommandations, perspective. *Rev Chir Orthop* 2012; 98: 94-103

Masquelet AC, Sales de Gauzy J, Bauer T, Fabre A, Fitoussi F, Hannouche D, et al. Reconstruction des pertes de substance osseuse diaphysaires d'origine traumatique. Stratégies, recommandations, perspectives. *Rev Chir Orthop Traumatol* 2012 ; 98 : 94-103

Masquelet AC. Induced membrane technique: pearls and pitfalls. *J Orthop Trauma* 2017; 31: S36-8

Masquelet AC. Introduction générale. In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives. Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 7-10

Masquelet AC. La technique fondamentale et ses variantes. In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives, chapitre 1. Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 11-19

Mathieu L, Bazile F, Barthélémy R, Duhamel P, Rigal S. Damage control orthopaedics in the context of battlefield injuries: the use of temporary external fixation on combat trauma soldiers. *Orthop Traumatol Surg Res* 2011;97:852-9

Mathieu L, Bilichtin E, Durand M, de l'Escalopier N, Murison JC, Collombet JM, Rigal S. Masquelet technique for open tibia fractures in a military setting. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2020; 46: 1099-1105

Mathieu L, Durand M, Collombet JM, de Rousiers A, de l'Escalopier N, Masquelet AC. Induced membrane technique : a critical literature analysis and proposal for a failure classification scheme. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2020 ; doi: 10.1007/s00068-020-01540-9

Mathieu L, Durand M, Demoures T, Steenman C, Masquelet AC, Collombet JM. Repeated induced-membrane technique failure without infection : A Series of Three Consecutive Procedures Performed for a Single Femur Defect. *Case Rep Orthop* 2020 ; doi: 10.1155/2020/8892226

Mathieu L, Masquelet AC. Utilisation de la technique de la membrane induite pour la reconstruction des os long en situation précaire. *Med Santé Trop* 2019; 29:127-32

Mathieu L, Mongo V, Potier L, Bertani A, Niang CD, Rigal S. Type III open tibia fractures in low-resources setting. Part 3: achievement of bone union and treatment of segmental bone defects. *Med Sante Trop* 2019; 29: 36-42

Mathieu L, Murison J, de Rousiers A, de l'Escalopier N, Collombet JM, Durand M. Polypropylene disposable syringes as a valuable alternative to standard PMMA spacers in the Masquelet technique in rat. *Soumis à Clinical Orthopaedics and Related Research*

Mathieu L, Potier L, Ndiaye R, Choufani C, Mbaye E, Niang CD. Challenges of the induced-membrane technique in the reconstruction of traumatic tibial defect with limited resources: a cohort study. *Accepté par Acta Orthop Belg*

Mathieu L, Rigal S. Analyse des échecs. In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives, chapitre 10. Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 117-25

Mathieu L, Tossou-Odjo L, de l'Escalopier N, Demoures T, Baus A, Brachet M, Masquelet AC. Induced membrane technique with sequential internal fixation: use of a reinforced spacer for reconstruction of infected bone defects. *Int Orthop* 2020; 44:1647-53

Mathieu L. La stabilisation instrumentale : avantages et implications. In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives, chapitre 3. Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 31-43

Mathieu L. Utilisation de la technique en conditions précaires : trucs et astuces. In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives, chapitre 8. Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 83-95

Mauffrey C, Hake ME, Chadayammuri V, Masquelet AC. Reconstruction of long bone infections using the induced membrane technique: tips and tricks. *J Orthop trauma* 2016; 30: e188-93

McBride-Gagy S, Toth Z, Kim D, Ip V, Evans E, Watson JT, Nicolaou D. Altering spacer material affects bone regeneration in the Masquelet technique in a rat femoral defect. *J Orthop Res* 2018; 10.1002/jor.23866

Mi M, Papakostidis C, Wu X, Giannoudis PV. Mixed results with the Masquelet technique: a fact or a myth? *Injury* 2020; 51: 132-5

Morelli I, Drago L, Geroge DA, Gallazi E, Scarponi E, Romanò CL. Masquelet technique: myth or reality? A systematic review and meta-analysis. *Injury* 2016; 47: S68-76

Mozumder M, Chowdhury A, Islam M. Induced membrane technique (Masquelet technique) for the treatment of bone defect using piece of disposable syringe as a spacer in developing countries. 37th SICOT Orthopaedic World Congress, 2016, abstract no: 43308. Available from: <http://www.sicot.org/sites/default/files/images/Rome/Abstract-Book-Free-Papers.pdf>

Murison JC, Pfister G, Amar S, Rigal S, Mathieu L. Metacarpal bone reconstruction by a cementless induced membrane technique. *Hand Surg Rehabil* 2019; 38: 83-6

Nau C, Seebach C, Trumm A, Schaible A, Konradowitz K, Meier S, Buechner H, Marzi I, Henrich D. Alteration of Masquelet's induced membrane characteristics by different kinds of antibiotic enriched bone cement in a critical size defect model in the rat's femur. *Injury* 2016; 47: 325-34

Nauth A, Schemitsch EH, Norris B, Nollin Z, Watson JT. Critical-size bone defects: is there a consensus for diagnosis and treatment? *J Orthop Trauma* 2018; 32: S7-11

Otto CC, Haydel SE. Microbicidal clays: composition, activity, mechanism of action, and therapeutic applications. In: *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. A. Méndez-Vilas, A. ed. Badajoz, Spain, 2013, p1169-80

Pelissier PH, Masquelet AC, Bareille R, Mathoulin Pelissier S, Amedee J. Induced membranes secrete growth factors including vascular and osteoinductive factors and could stimulate bone regeneration. *J Orthop Res* 2004; 22: 73-9

Rayahin JE, Gemeinhart RA. Activation of macrophages in response to biomaterials. In: *Macrophages*, Ed. Kloc M, Springer International Publishing, 2017, vol.62, p 317-51

Rothe R, Hauser S, Neuber C, Laube M, Schulze S, Rammelt S, Pietzsch J. Adjuvant drug-assisted bone healing: advances and challenges in drug delivery approaches. *Pharmaceutics* 2000; 12: 428

Sanchez CJ Jr, Ward CL., Romano DR, Hurtgen BJ, Hardy SK, Woodbury RL, Trevino AV, Rathbone CR, Wenke JC. Staphylococcus aureus biofilms decrease osteoblast viability, inhibits osteogenic differentiation, and increases bone resorption in vitro. *BMC Musculoskelet Disord* 2013 ; 14 : 187

Schemitsch EH. Size matters: Defining critical in bone defect size! *J Orthop Trauma* 2017; 31: S20-2

Shah SR, Smith BT, Tatara AM, Molina ER, Lee EJ, Piepergerdes TC, Uhrig BA, Guldberg RE, Bennett GN, Wenke JC, Mikos AG. Effects of local antibiotic delivery from porous space maintainers on infection clearance and induction of an osteogenic membrane in an infected bone defect. *Tissue Eng Part A* 2017; 23: 91-100

Stafford PR, Norris BL. Reamer-irrigator-aspirator bone graft and bi Masquelet technique for segmental bone defect nonunions: a review of 25 cases. *Injury*. 2010; 41: S72-7

Tang Q, Tong M, Zheng G, Shen L, Shang P, Liu H. Masquelet's induced membrane promotes the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by activating the Smad and MAPK pathways. *Am J Transl Res* 2018;10: 1211-19

Tosounidis T, Kontakis G, Nikolaou V, Papathanassopoulos A, Giannoudis PV. Fracture healing and bone repair: an update. *Trauma* 2009; 11 :145-56

Toth Z, Roi M, Evans E, Watson JT, Nicolaou D, McBride-Gagy S. Masquelet technique: effects of spacer material and micro-tomography on factor expression and bone regeneration. *Ann Biomed Eng* 2019; 47: 174-89

Wang W, Zuo R, Long H, Wang Y, Zhang Y, Sun C, Luo G, Zhang Y, Li C, Zhou Y, Li J. Advances in the Masquelet technique: myeloid-derived suppressor cells promote angiogenesis in PMMA-induced membranes. *Acta Biomateriala* 2020; 108: 223-36

Wang X, Friis T, Glatt V, Crawford R, Xiao Y. Structural properties of fracture haematoma: current status and future clinical implications. *J Tissue Eng Regen Med* 2017; 11: 2864-75

Wang X, Wei F, Luo F, Huang K, Xie Z. Induction of granulation tissue for the secretion of growth factors and the promotion of bone defect repair. *J Orthop Surg Res* 2015; 10: 147

ANNEXES

Annexe 1

Mathieu L, Masquelet AC.

Use of the induced membrane technique for long bone reconstruction in low-resource settings.

Med Sante Trop 2019; 29: 127-132

Annexe 2

Mathieu L.

Utilisation de la technique en conditions précaires : trucs et astuces.

In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives, chapitre 8.

Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 83-95

Annexe 3

Mathieu L.

La stabilisation instrumentale : avantages et implications.

In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives, chapitre 3.

Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 31-43

Annexe 4

Durand M, Collombet JM, **Mathieu L.**

Masquelet induced membrane technique for the surgical treatment of large bone defects: the reasons for successes and failures.

Am J Biomed Sci & Res 2019: 2(4)

Annexe 5

Mathieu L, Bilichtin E, Durand M, de l'Escalopier N, Murison JC, Collombet JM, Rigal S.

Masquelet technique for open tibia fractures in a military setting.

Eur J Trauma Emerg Surg 2020; 46: 1099-1105

Annexe 6

Bilichtin E, de Rousiers A, Durand M, de l'Escalopier N, Collombet JM, Rigal S, **Mathieu L.**

Bone reconstruction by the induced membrane technique. What differences between
conventional and ballistic trauma?

Orthop Traumatol Surg Res 2020; 106: 797-801

Annexe 7

Mathieu L, Tossou-Odjo L, de l'Escalopier N, Demoures T, Baus A, Brachet M, Masquelet AC.

Induced membrane technique with sequential internal fixation: use of a reinforced spacer for reconstruction of infected bone defects.

Int Orthop 2020; 44: 1647-1653

Annexe 8

Mathieu L, Potier L, Ndiaye R, Choufani C, Mbaye E, Niang CD.

Challenges of the induced-membrane technique in the reconstruction of traumatic tibial defect
with limited resources: a cohort study.

Accepted by Acta Orthop Belg

Annexe 9

Choufani C, Demoures T, de l'Escalopier N, Chapon MP, Barbier O, **Mathieu L.**

Application of the Masquelet technique in austere environments: experience from a French forward surgical unit deployed in Chad.

Eur J Trauma Emerg Surg 2020; doi: 10.1007/s00068-020-01471-5

Annexe 10

Murison JC, Pfister G, Amar S, Rigal S, **Mathieu L.**

Metacarpal bone reconstruction by a cementless induced membrane technique.

Hand Surg Rehabil 2019; 38 :83-86

Annexe 11

Mathieu L, Durand M, Demoures T, Steenman C, Masquelet AC, Collombet JM.

Repeated induced-membrane technique failure without infection: a series of three consecutive procedures performed for a single femur defect.

Case Rep Orthop 2020; doi: 10.1155/2020/8892226

Annexe 12

Durand M, Barbier L, **Mathieu L**, Poyot T, Demoures T, Souraud JB, Masquelet AC, Collombet JM.

Towards understanding therapeutic failures in Masquelet surgery: first evidence that defective induced membrane properties are associated with clinical failures.

J Clin Med 2020; 9 :450. doi: 10.3390/jcm9020450

Annexe 13

Mathieu L, Rigal S.

Méta-analyse des échecs.

In : La technique de la membrane induite : principes, pratiques et perspectives, chapitre 10.

Sauramps Médical, Montpellier, 2020, p. 117-25

Annexe 14

Mathieu L, Durand M, Collombet JM, de Rousiers A, de l'Escalopier N, Masquelet AC.

Induced membrane technique: a critical literature analysis and proposal for a failure classification scheme.

Eur J Trauma Emerg Surg 2020 ; doi: 10.1007/s00068-020-01540-9

Annexe 15

Mathieu L, Murison J, de Rousiers A, de l'Escalopier N, Collombet JM, Durand M.

Polypropylene disposable syringes as a valuable alternative to standard PMMA spacers in the Masquelet technique in rat.

Soumis au Clinical Orthopaedics and Related Research

RESUME

Basée sur une réaction immunitaire à corps étranger, la technique de la membrane induite (TMI) est devenue le mode de reconstruction privilégié des pertes de substance osseuses critiques des membres. Ce travail réalise une synthèse des recherches cliniques et expérimentales que nous avons menées dans le but d'améliorer les résultats obtenus avec ce procédé. Nous analysons d'abord l'application de la TMI dans notre pratique militaire quotidienne, puis en contexte sanitaire dégradé, avant de proposer une classification de ses échecs qui peuvent être d'origine septique, mécanique, ou biologique. Nous présentons ensuite les étapes du développement d'un modèle rongeur de défaut fémoral visant à reproduire et étudier les deux temps de la technique ; à savoir la formation de la membrane d'encapsulation, puis la réparation osseuse elle-même. En utilisant ce modèle animal original, nous avons évalué des matériaux innovants pour étendre l'utilisation de la TMI en situation précaire et améliorer les propriétés ostéogéniques de la membrane. Enfin, à la lumière de nos résultats, nous proposons de nouvelles perspectives de recherche basées sur ce même modèle.

TITLE: Optimization of the induced-membrane technique for bone repair in extremities

ABSTRACT

Based on a foreign body immune reaction, the induced membrane technique (IMT) has become the preferred method for critical bone defect reconstruction in extremities. The present work is a synthesis of the clinical and experimental research that we have conducted with the objective of improving the outcomes of this procedure. First, we analyze the IMT application in our daily military practice and with low resources, before proposing a classification scheme of its failures that may be from septic, mechanical, or biological origin. Next, we present the development stages of a rat femoral defect model reproducing and studying the two steps of the technique, namely the encapsulation membrane formation then the bone repair itself. With this unique animal model, we have evaluated innovative materials to extend IMT use to precarious settings and to enhance membrane osteogenic properties. Considering our findings, we ultimately propose new research perspectives using that same model.

DISCIPLINE : SANTE ET SANTE PUBLIQUE

MOTS-CLES : Militaire ; Polyméthylméthacrylate ; Polypropylène ; Réparation osseuse ; Situation précaire ; Technique de la membrane induite ; Technique de Masquelet

LABORATOIRE : Unité de Recherche Biomateriaux Innovations et Interfaces, EA 4462, Université Sorbonne Paris Nord