



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>  
Eprints ID : 14420

**To cite this version :**

Charletoux, Lucie. *Innocuite de la Coblation® dans la cicatrisation des plaies : étude expérimentale*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 136 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# **INNOCUITE DE LA COBLATION® DANS LA CICATRISATION DES PLAIES : ETUDE EXPERIMENTALE**

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**CHARLETOUX Lucie**  
Née, le 18 avril 1990 à Clermont-Ferrand (63)

---

**Directeur de thèse : Mme Patricia MEYNAUD-COLLARD**

---

## **JURY**

PRESIDENT :  
**M. Philippe GALINIER**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**Mme Patricia MEYNAUD-COLLARD**  
**Mme Isabelle RAYMOND-LETRON**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

**Directrice** : **Madame Isabelle CHMITELIN**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*



#### **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

#### **MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

#### **MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS**

- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*

#### **ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

# REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur Philippe Galinier,**

Professeur des Universités  
Praticien hospitalier  
Pédiatrie – Chirurgie viscérale

*Qui nous fait l'honneur de présider notre jury de thèse,  
Hommage respectueux.*

**A Madame le Docteur Patricia Meynaud-Collard,**

Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Pathologie chirurgicale

*Qui nous a permis de participer à ce projet et guidé tout au long de ce travail.  
Pour son implication, son soutien, sa confiance, sa patience et sa gentillesse.  
Qu'elle veuille trouver ici toute l'expression de notre profond respect et de notre plus  
sincère gratitude.*

**A Madame le Docteur Isabelle Raymond-Letron,**

Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Histologie – Anatomie pathologie

*Qui nous a guidé tout au long de ce travail et qui a aimablement accepté de participer  
à notre jury de thèse.  
Qu'elle trouve ici l'expression de nos plus sincères remerciements pour sa présence et  
toute notre reconnaissance.*

Ce projet, c'est aussi la participation essentielle de :

**Monsieur le Professeur André Autefage**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie chirurgicale

*Pour la supervision de ce projet ainsi que son aide à l'analyse des résultats.*

**Madame le Docteur Sophie Paliarne**

Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie chirurgicale

*Pour sa participation à ce projet ainsi que son aide lors de la réalisation des expérimentations.*

Ainsi que Mr Jean-Pierre Gau et tout le personnel des laboratoires de physiologie et d'histologie ayant participé à cette thèse, de l'accueil des cochons à la réalisation des lames après les prélèvements.

Sincères remerciements

### **A ma famille,**

**A mes parents** sans qui rien de tout ceci n'aurait pu être possible. Merci de votre soutien inconditionnel tout au long de ces années, de m'avoir toujours encouragée à réaliser mes rêves et pour tout ce que vous avez fait pour les amener à ma portée. Je le dis trop peu mais je vous aime et merci pour tout.

Maman, pour ton petit côté maman-poule qui restera toujours quel que soit mon âge, pour ta présence sans faille quand j'en ai eu besoin.

Papa, pour ton aide en maths au début, je resterai toujours « la fille à son papa ».

**A mon frère** Alex, il en aura fallu des années pour qu'on arrête de se chamailler mais on aura finalement réussi !

**A mes grands-parents**, pour toutes les vacances que j'ai passées chez vous petite et pour avoir cultivé ma passion des animaux. A toi Mamie Rolande, j'aurais voulu que tu puisses être là, j'espère que tu es fière.

### **A mes amis,**

**A Alizé, Ségolène, Mathilde, Mariam, Manon, Marie, Camille**, pour ces cinq années passées ensemble, pour nos repas, nos soirées, nos délires, nos sorties. **Alizé**, merci d'avoir été là quand j'en ai eu besoin.

**A Flora, Esther, Pauline, Aure Eline, Marie, Dimitri, Aude**, pour cette super année de A4.

**A Agnès**, ma co-anniversaire, on se sera peu vu ces dernières années mais chaque fois aura été mémorable. A quand les prochaines vacances ?!

### **A mes petits poulots,**

**Lisa, Jordane, Victor, Célia, Laura, Claire, Antinéa, Quentin, Surimi, Agathe**, parce que vous êtes les meilleurs !

### **A mes co-internes,**

Pour cette année mémorable à venir.

A tous ceux avec qui j'ai passé de supers moments en clinique, riches en fous rires et en délires.

Sans oublier ma poulette, **Milly**, qui me remplit de bonheur depuis 5 ans.



# TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS – FIGURES.....</b>	<b>13</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS – TABLEAUX .....</b>	<b>16</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>19</b>
<b>PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>21</b>
1. BIOLOGIE ET HISTOLOGIE DE LA PEAU .....	21
1.1. L'épiderme.....	22
1.1.1. <i>Le stratum germinativum</i> .....	23
1.1.2. <i>Le stratum spinosum</i> .....	23
1.1.3. <i>Le stratum granulosum</i> .....	24
1.1.4. <i>Le stratum corneum</i> .....	24
1.2. La jonction dermo-épidermique ou membrane basale.....	24
1.3. Le derme .....	24
1.3.1. <i>Le derme papillaire</i> .....	25
1.3.2. <i>Le derme réticulé</i> .....	25
1.3.3. <i>Vascularisation et innervation</i> .....	25
1.4. L'hypoderme.....	26
1.5. Les annexes cutanées .....	27
1.5.1. <i>Les follicules pilo-sébacés</i> .....	28
1.5.2. <i>Les glandes sudoripares</i> .....	28
2. PHYSIOLOGIE DE LA CICATRISATION DES PLAIES PAR PREMIERE INTENTION .	29
2.1. Généralités .....	29
2.2. La phase inflammatoire .....	30
2.2.1. <i>La réaction cutanée</i> .....	31
2.2.2. <i>La réaction vasculaire</i> .....	31
2.2.3. <i>La réaction cellulaire</i> .....	31
2.3. La phase de reconstruction ou proliférative.....	33
2.3.1. <i>Réparation du derme</i> .....	33

2.3.2. <i>Epidermisation</i> .....	34
2.4. La phase de maturation cicatricielle .....	37
2.5. Cas particulier de la cicatrisation des plaies chirurgicales suturées .....	38
<b>3. LES TECHNOLOGIES UTILISANT LES RADIOFREQUENCES .....</b>	<b>39</b>
3.1. Le bistouri électrique .....	40
3.1.1. <i>Principe</i> .....	40
3.1.2. <i>Avantages et inconvénients</i> .....	41
3.2. Le laser.....	42
3.2.1. <i>Principe</i> .....	42
3.2.2. <i>Avantages et inconvénients / utilisation</i> .....	43
3.3. Le bistouri à ultrasons ou système Harmonic®.....	43
3.3.1. <i>Principe</i> .....	43
3.3.2. <i>Avantages et inconvénients</i> .....	43
3.4. La coblation® .....	44
3.4.1. <i>Principe</i> .....	44
3.4.2. <i>Matériel</i> .....	45
3.4.3. <i>Avantages et inconvénients</i> .....	45
3.5. La thermofusion.....	45
3.6. Utilisation et effets comparés des diverses techniques .....	46
3.7. Détermination des critères d'étude d'innocuité .....	50
<b>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>53</b>
1. MATERIELS ET METHODES .....	53
1.1. Les animaux.....	53
1.2. Protocole anesthésique.....	54
1.3. Procédure chirurgicale .....	56
1.3.1. <i>Création des plaies à J<sub>0</sub></i> .....	56
1.3.2. <i>Réalisation des prélèvements</i> .....	60
1.4. Evaluation des animaux .....	62
1.5. Etude macroscopique de la cicatrisation.....	62
1.6. Préparation des lames histologiques .....	64
1.6.1. <i>Fixation et recoupe</i> .....	64
1.6.2. <i>Mise en blocs</i> .....	65
1.6.3. <i>Coupe</i> .....	65

1.6.4. Coloration.....	65
1.6.5. Numérisation des lames.....	66
1.7. Lecture des lames .....	66
1.7.1. Critères d'évaluation des cinétiques précoces ( $J_0$ , $J_2$ , $J_4$ ).....	66
1.7.2. Critères d'évaluation de $J_7$ .....	69
1.7.3. Critères d'évaluation des cinétiques tardives ( $J_{14}$ , $J_{21}$ ).....	70
<b>2. RESULTATS.....</b>	<b>72</b>
2.1. Résultats macroscopiques .....	72
2.2. Résultats histologiques .....	79
2.2.1. $J_0$ .....	79
2.2.2. $J_2$ .....	81
2.2.3. $J_4$ .....	84
2.2.4. $J_7$ .....	87
2.2.5. $J_{14}$ .....	91
2.2.6. $J_{21}$ .....	93
2.2.7. Evolution des paramètres au cours du temps.....	96
2.2.8. Découvertes fortuites sur les plaies coblatées.....	101
<b>TROISIEME PARTIE : DISCUSSION.....</b>	<b>105</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>123</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>125</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>129</b>





## TABLE DES ILLUSTRATIONS – FIGURES

Figure 1 : Structure de la peau [47].....	21
Figure 2 : Structure schématique de l'épiderme [46].....	22
Figure 3 : Histologie de l'épiderme [40].....	23
Figure 4 : Vascularisation cutanée [47].....	26
Figure 5 : Structure des adipocytes (les flèches indiquent les noyaux des adipocytes) [5] .....	27
Figure 6 : Organisation des annexes cutanées [26].....	28
Figure 7 : Cinétique des différentes phases de la cicatrisation cutanée [3].....	30
Figure 8 : Cinétique d'apparition des cellules inflammatoire sur le site lésionnel [28].....	32
Figure 9 : Schéma de la plaie en phase inflammatoire [39].....	33
Figure 10 : Mécanismes de la migration des cellules épithéliales [12].....	35
Figure 11 : Epidermisation d'une plaie [22] .....	35
Figure 12 : Schéma de la plaie en phase de reconstruction précoce [39].....	36
Figure 13 : Schéma de la plaie en phase de reconstruction avancée [39] .....	37
Figure 14 : Schéma de la plaie en phase de maturation [39].....	38
Figure 15 : Schéma d'un dispositif monopolaire [42].....	40
Figure 16 : Schéma d'un dispositif bipolaire [42].....	41
Figure 17 : Plasma ionisé (émission brillante orange) induit par une sonde de coblation® fonctionnant dans une solution saline [4].....	44
Figure 18 : Dispositif de coblation® [35] .....	45
Figure 19 : Dispositif LigaSure® [8] .....	46
Figure 20 : Porc femelle avec boucle auriculaire en enclos individuel.....	53
Figure 21 : Porc sous anesthésie au masque, cathéter posé à la veine auriculaire .....	54
Figure 22 : Porc en cage de réveil équipée d'une lampe chauffante.....	55
Figure 23 : Réalisation des plaies coblatées.....	57
Figure 24 : Sonde de coblation EVac® 70 Xtra HP Coblation Wand de chez Arthrocare [35]. .....	58
Figure 25 : Plaie témoin et suture.....	58
Figure 26 : Gabarit pour la réalisation des incisions.....	59
Figure 27 : Emplacement des 12 incisions sur le dos du porc .....	59
Figure 28 : Application du pansement liquide .....	59
Figure 29 : Positionnement de la règle souple et réalisation des photos des plaies .....	60

Figure 30 : Prélèvement d'une des plaies avec des marges d'1 cm de chaque côté .....	61
Figure 31 : Prélèvements des plaies .....	61
Figure 32 : Réalisation des mesures avec le logiciel ImageJ® .....	63
Figure 33 : Recoupe des prélèvements .....	65
Figure 34 : Mise en cassette des lambeaux .....	65
Figure 35 : Mesure de la profondeur de la plaie.....	67
Figure 36 : Evaluation de la taille de la zone de coblation® .....	68
Figure 37 : Détournage des caillots ou des zones hémorragiques et localisation en profondeur.....	68
Figure 38 : Détournage du tissu de granulation et de la cavité dans le derme adipeux et localisation en profondeur .....	70
Figure 39 : Détournage des reliquats de coblation® et localisation en profondeur .....	71
Figure 40 : Détournage du tissu de fibroplasie et de la cavité et localisation en profondeur.....	72
Figure 41 : Suivi de la longueur de la plaie (groupe de plaies 1-2) .....	75
Figure 42 : Evolution de l'érythème au cours du temps (groupe de plaies 5-6) .....	77
Figure 43 : Evolution de la cicatrisation au cours du temps (groupe de plaies 5-6) .....	78
Figure 44 : Plaie témoin à J <sub>0</sub> .....	79
Figure 45 : Plaie coblatée à J <sub>0</sub> .....	79
Figure 46 : Plage hémorragique .....	80
Figure 47 : Plaie témoin à J <sub>2</sub> .....	81
Figure 48 : Plaie coblatée à J <sub>2</sub> .....	81
Figure 49 : Caillot .....	81
Figure 50 : Congestion de la plaie.....	82
Figure 51 : Répartition et intensité de l'inflammation .....	82
Figure 52 : Plaie témoin à J <sub>4</sub> .....	84
Figure 53 : Plaie coblatée à J <sub>4</sub> .....	84
Figure 54 : Caillot .....	84
Figure 55 : Œdème de la plaie.....	85
Figure 56 : Congestion de la plaie.....	85
Figure 57 : Tissu de granulation.....	86
Figure 58 : Plaie témoin à J <sub>7</sub> .....	87
Figure 59 : Plaie coblatée à J <sub>7</sub> .....	87
Figure 60 : Œdème sévère sur une plaie coblatée .....	88
Figure 61 : Dilatation lymphatique .....	88
Figure 62 : Tissu de granulation en partie supérieure de la plaie.....	89

Figure 63 : Tissu de granulation en partie profonde de la plaie .....	90
Figure 64 : Plaie témoin à J <sub>14</sub> .....	91
Figure 65 : Plaie coblatée à J <sub>14</sub> .....	91
Figure 66 : Tissu de fibroplasie en partie superficielle de la plaie.....	92
Figure 67 : Plaie témoin à J <sub>21</sub> .....	93
Figure 68 : Plaie coblatée à J <sub>21</sub> .....	93
Figure 69 : Tissu de fibroplasie en partie superficielle de la plaie.....	94
Figure 70 : Tissu de fibroplasie en partie profonde de la plaie .....	95
Figure 71 : Evolution de la profondeur et de la largeur de la zone de coblation® .....	96
Figure 72 : Evolution de la taille du caillot au cours du temps .....	96
Figure 73 : Evolution de la quantité de néovaisseaux dans le tissu de granulation .....	97
Figure 74 : Evolution de la quantité de fibroblastes et de collagène déposé dans le tissu de granulation.....	98
Figure 75 : Maturité du dépôt de collagène : évolution au cours du temps .....	98
Figure 76 : Evolution du nombre d'assises épithéliales aux marges de la plaie (réépithélialisation incomplète).....	99
Figure 77 : Evolution du nombre d'assises épithéliales à l'aplomb de la plaie (réépithélialisation complète).....	99
Figure 78 : Evolution de l'œdème.....	100
Figure 79 : Evolution de la dilatation lymphatique.....	100
Figure 80 : Nécrose des adipocytes sur les plaies coblatées à J <sub>4</sub> .....	101
Figure 81 : Absence d'activité à proximité de la zone de coblation® (J <sub>7</sub> ).....	102
Figure 82 : Non adhérence de l'épiderme au tissu sous-jacent et déchirure du tissu sous-cutané et (J <sub>7</sub> ) .....	103
Figure 83 : Foyers inflammatoires et cellules géantes sur une plaie coblatée à J <sub>14</sub> .....	104
Figure 84 : Imprécision sur la localisation en profondeur du caillot .....	114
Figure 85 : Imprécision de mesure de profondeur de la plaie à cause de la contraction des tissus .....	115
Figure 86 : Répartition des valeurs de profondeur et largeur de la zone de coblation®.....	121
Figure 87 : Aspect macroscopique de 2 plaies présentant microscopiquement une panniculite .....	122

## TABLE DES ILLUSTRATIONS – TABLEAUX

Tableau 1 : Effet de la température sur les tissus [10] .....	40
Tableau 2 : Synthèse des protocoles anesthésiques.....	55
Tableau 3 : Paramètres qualitatifs pour le suivi macroscopique .....	64
Tableau 4 : Répartition des photos floues/mal positionnées en fonction du jour de prise de la photo.....	73
Tableau 5 : Répartition des photos floues/mal positionnées en fonction du numéro de la plaie .....	73
Tableau 6 : Répartition de la quantité d'aliment sur les plaies au long de l'étude.....	74
Tableau 7 : Evolution de la longueur de la plaie au cours du temps.....	74
Tableau 8 : Répartition des saignements à $J_0$ .....	75
Tableau 9 : Répartition du sang séché au long de l'étude .....	76
Tableau 10 : Répartition des croûtes en fonction des cinétiques .....	76
Tableau 11 : Répartition et intensité de l'érythème au long de l'étude.....	77
Tableau 12 : Répartition et intensité de l'œdème au long de l'étude.....	78
Tableau 13 : Evolution de la surface du tissu de fibroplasie dans le derme collagénique .....	118
Tableau 14 : Evolution de la surface du tissu de fibroplasie dans le derme adipeux.....	118

## ANNEXES

Annexe 1 : Protocole de coloration hémalun-éosine.....	125
Annexe 2 : Grille de lecture des cinétiques précoces (J <sub>0</sub> , J <sub>2</sub> , J <sub>4</sub> ) .....	126
Annexe 3 : Grille de lecture à J <sub>7</sub> .....	127
Annexe 4 : Grille de lecture des cinétiques tardives (J <sub>14</sub> , J <sub>21</sub> ) .....	128



# INTRODUCTION

La prise en charge des plaies cutanées occupe une part majeure des chirurgies des tissus mous en médecine humaine et vétérinaire. La chirurgie intervient dans les 2 premières phases de la cicatrisation : elle participe activement à la phase de détersion grâce au parage chirurgical mais également à la reconstruction grâce aux techniques de suture ou de reconstruction (techniques des lambeaux).

Le parage chirurgical est indiqué aussi bien sur des plaies récentes que des plaies chroniques. Pour cela, le chirurgien dispose de technologies exploitant les radiofréquences. La plus ancienne est l'électrochirurgie ou bistouri électrique, puis viennent le laser, la thermofusion et enfin la coblation®. Si les 2 premières font intervenir des températures hautes à l'origine de lésions thermiques sur les tissus sains, les 2 dernières exploitent des températures dites basses.

L'utilisation de la coblation® dans la détersion des plaies a été décrite très récemment. Il existe actuellement très peu de publications aussi bien cliniques qu'expérimentales. Néanmoins, cette technique est déjà exploitée dans certains CHU. De cette pratique, il en ressort des résultats très positifs avec une bonne évolution des plaies traitées, non démontrés scientifiquement. La cicatrisation semblerait également être accélérée.

L'intérêt de la technique de coblation® est de réaliser la détersion d'une plaie tout en limitant les effets néfastes thermiques sur les tissus sains contrairement aux autres technologies. En outre, les différentes tailles et formes de sondes permettent d'accéder à des zones délicates comme celles situées à proximité de structures vitales (vaisseaux, nerfs). La technique semble prometteuse et apporter l'efficacité et la sécurité qu'il manquait aux autres. Le gain de temps est également non négligeable.

En pratique vétérinaire, l'usage de la coblation® se limite à la pratique arthroscopique mais tend à se développer en chirurgie des tissus mous dans les structures hospitalières, notamment pour les chirurgies de résection du voile du palais. Néanmoins, quelque soit le domaine, il existe peu voire pas d'études expérimentales prouvant et expliquant le mode de fonctionnement de la technique.

L'objectif de cette étude expérimentale a été de montrer l'innocuité de la coblation® dans le traitement des plaies chirurgicales chez le porc. Pour cela, des plaies ont été réalisées chez des porcs sains et la sonde de coblation® a été appliquée sur certaines avant d'être



suturées. Une étude macroscopique et histologique de la cicatrisation a été effectuée pour évaluer l'innocuité de la technique par rapport à des plaies témoins non coblatées.

Après avoir fait un rapide état des lieux des connaissances sur la peau, les modalités de cicatrisation et les nouvelles technologies utilisées pour le traitement des plaies, les modalités et résultats de l'étude expérimentale ont été présentés dans une deuxième partie. Une troisième partie a été consacrée à une discussion sur les résultats de cette étude, ainsi que sur les intérêts, les limites et l'avenir de la coblation® dans le traitement des plaies.

# PREMIERE PARTIE : Etude bibliographique

## 1. BIOLOGIE ET HISTOLOGIE DE LA PEAU

La peau est un organe majeur de l'être vivant tant par sa surface que pour les nombreux rôles qu'elle joue. L'organisation globale est identique quelle que soit la localisation : elle est constituée, du plus superficiel au plus profond, d'un épiderme, un derme puis un hypoderme. Ces couches sont elles-mêmes organisées en plusieurs structures et ont une composition bien définie même si les proportions de chaque composant peuvent varier avec la localisation. L'épaisseur des couches admet de nombreuses variations selon les régions corporelles. Enfin, la peau héberge de nombreuses annexes cutanées : les follicules pileux, les glandes sudoripares et sébacées (Figure 1).

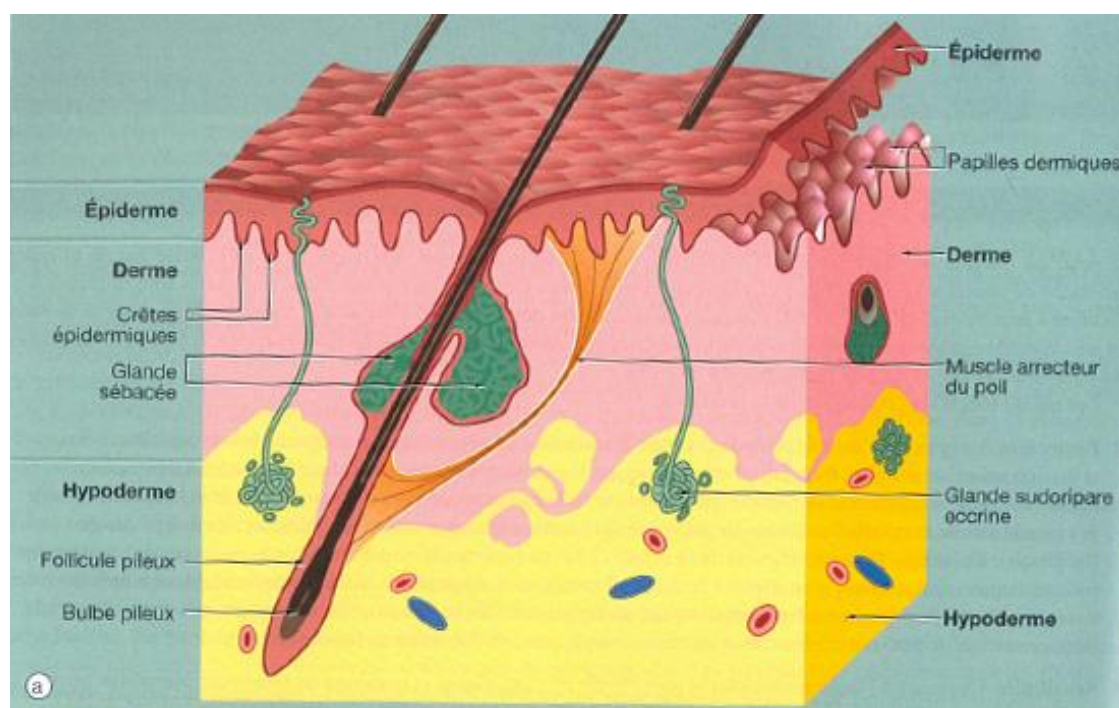
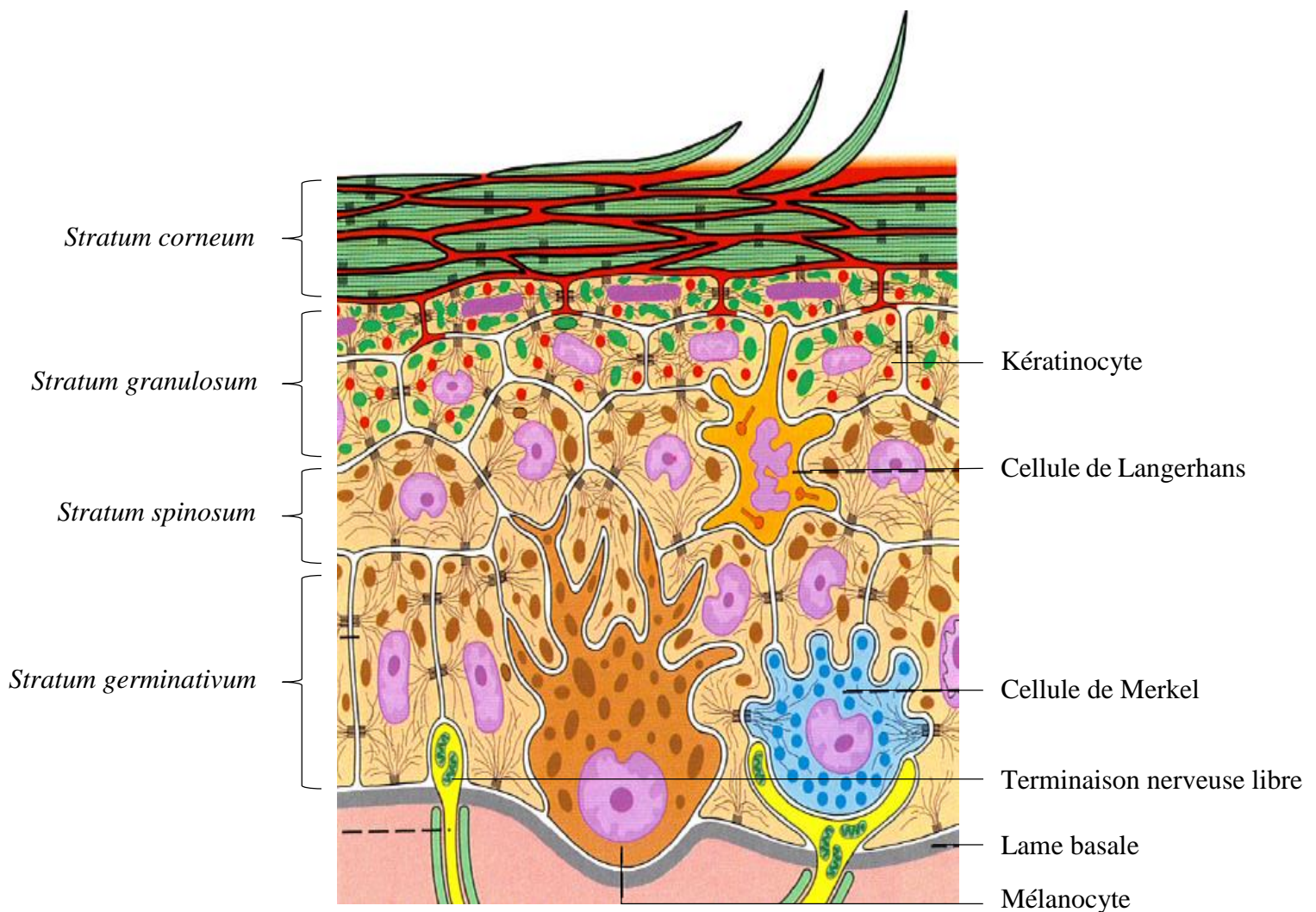


Figure 1 : Structure de la peau [47]

## 1.1. L'épiderme

Il est constitué d'un épithélium pavimenteux pluristratifié et kératinisé reposant sur une membrane basale. Il mesure environ 30 à 200  $\mu\text{m}$  d'épaisseur et peut atteindre 1 mm d'épaisseur au niveau du cou ou des espaces interdigités. Il est formé de cellules épithéliales ou kératinocytes, de mélanocytes et de cellules de Langerhans [6, 7, 14].

Ce tissu est en renouvellement constant. Quatre couches cellulaires peuvent être délimitées en fonction de leur aspect : le *stratum germinativum* ou couche basale (la plus profonde), le *stratum spinosum* ou couche épineuse, le *stratum granulosum* ou couche granuleuse et le *stratum corneum* ou couche cornée (la plus superficielle) (Figure 2 et Figure 3) [30].



**Figure 2 : Structure schématique de l'épiderme [46]**



SC : *stratum corneum*  
 SGR : *stratum granulosum*  
 SS : *stratum spinosum*  
 SG : *stratum germinativum*

**Figure 3 : Histologie de l'épiderme [40]**

#### 1.1.1. *Le stratum germinativum*

Il repose sur la membrane basale qui sépare l'épiderme du derme. Il se compose d'une rangée unique de cellules cubiques dont le grand axe est perpendiculaire à la membrane basale.

La majorité de ces cellules sont des kératinocytes immatures en cours de multiplication, leur noyau est arrondi ou ovalaire. Ils sont reliés entre eux par des desmosomes et à la membrane basale par des hémidesmosomes. Entre les kératinocytes, des mélanocytes sont intercalés : ils sont plus grands et portent des dendrites s'insinuant entre les cellules environnantes. Ils sont beaucoup plus rares avec environ 1 mélanocyte pour 12 à 36 kératinocytes. Des cellules de Langerhans sont également observables mais ne sont pas différenciables des mélanocytes en microscopie optique. Ce sont des cellules présentatrices d'antigènes spécifiques de la peau. Le dernier type cellulaire observable est la cellule de Merkel qui est étroitement associée aux terminaisons nerveuses et jouerait un rôle dans la sensibilité tactile (Figure 2) [7, 11, 30].

#### 1.1.2. *Le stratum spinosum*

Il se compose de 3-4 rangées de kératinocytes polyédriques commençant à se kératiniser. Ils sont aplatis avec un grand axe parallèle à la surface de la peau. Ils présentent des prolongements cellulaires vers les autres kératinocytes pour former des ponts intercellulaires reliés par des desmosomes. C'est la forme de ces kératinocytes qui donne son nom à cette couche épineuse. Ils présentent également de nombreux tonofilaments dans leur cytoplasme qui serviront à former la kératine [7, 30].

### 1.1.3. *Le stratum granulosum*

Il est formé de 3 couches de kératinocytes environ. Ils comportent des granulations basophiles dans leur cytoplasme correspondant à des grains de kératohyaline qui participent à la formation de la kératine avec les tonofilaments. Ces cellules sont beaucoup plus aplaties et commencent à dégénérer avec des noyaux souvent pycnotiques ou fragmentés. C'est à ce niveau qu'est observée la formation active de la kératine [7, 30].

### 1.1.4. *Le stratum corneum*

Les kératinocytes de cette couche sont complètement dégénérés : les noyaux et organites ne sont plus observables, le cytoplasme est rempli de filaments de kératine et prend donc un aspect acidophile. Ils sont complètement aplaties et leur membrane est épaissie.

La partie la plus superficielle de la couche cornée est appelée *stratum disjunctum* car les kératinocytes se détachent régulièrement grâce à la rupture des desmosomes pour former des squames, ce qui participe à la protection de la peau contre les infections notamment. La partie profonde, quant à elle, est appelée *stratum lucidum*.

La durée de vie moyenne d'un kératinocyte est de 30 jours environ [7, 30].

## 1.2. La jonction dermo-épidermique ou membrane basale

Comme son nom l'indique, elle fait le lien entre l'épiderme et le derme. C'est une structure acellulaire lamellaire sur laquelle s'insèrent les cellules de la couche basale et qui est synthétisée par les kératinocytes de cette couche. Elle joue également un rôle nutritif pour l'épiderme qui n'est pas vascularisé et permet la régulation des échanges entre les deux feuillets.

Cette membrane n'est pas linéaire mais composée de nombreuses crêtes et papilles très marquées. Elle se compose majoritairement de glycoprotéines et de collagène de type IV [6, 7, 11].

## 1.3. Le derme

Le derme est un tissu conjonctif situé sous l'épiderme qui mesure entre 1 et 2,5 mm d'épaisseur selon les zones considérées [20]. Il est composé d'une matrice extracellulaire dense et de cellules. Il est riche en éléments nerveux et vasculaires qui participent de manière importante à la nutrition de l'épiderme. C'est également la couche qui confère à la peau, sa souplesse et son élasticité [7].

La matrice extracellulaire est composée de fibres variées : collagène, élastine, protéoglycanes et glycoprotéines de structure qui sont en quantité variable selon la portion de derme et la localisation. Ces fibres baignent dans une substance fondamentale composée majoritairement d'eau, de protéines et de glucides [11, 14].

Le derme s'organise en deux couches : le derme papillaire situé juste sous la jonction dermo-épidermique et le derme réticulé qui rejoint l'hypoderme.

### *1.3.1. Le derme papillaire*

Il constitue environ 1/5<sup>ème</sup> de l'épaisseur totale du derme. Ce tissu est composé d'un réseau de fibres assez lâche et peu dense ainsi que d'un nombre important de cellules telles que les fibroblastes, les mastocytes et les histiocytes. Les fibroblastes sont très majoritaires et vont produire les différents composants de la matrice extracellulaire, ils seront donc très importants lors du processus de cicatrisation. En ce qui concerne les fibres, elles sont très fines [6, 11, 20].

### *1.3.2. Le derme réticulé*

Le réseau de fibres est beaucoup plus dense et orienté selon plusieurs plans qui sont globalement parallèles à la surface de la peau. Les fibres sont beaucoup plus épaisses et sont majoritairement composées de collagène de type I et III. Cette couche est relativement pauvre en cellules.

Sont observés dans cette couche de nombreux autres éléments : des cellules musculaires lisses situées dans la partie la plus profonde, des fibres musculaires striées issues des muscles peauciers ainsi que les diverses annexes cutanées détaillées ultérieurement (cf. 1.5) [7, 20].

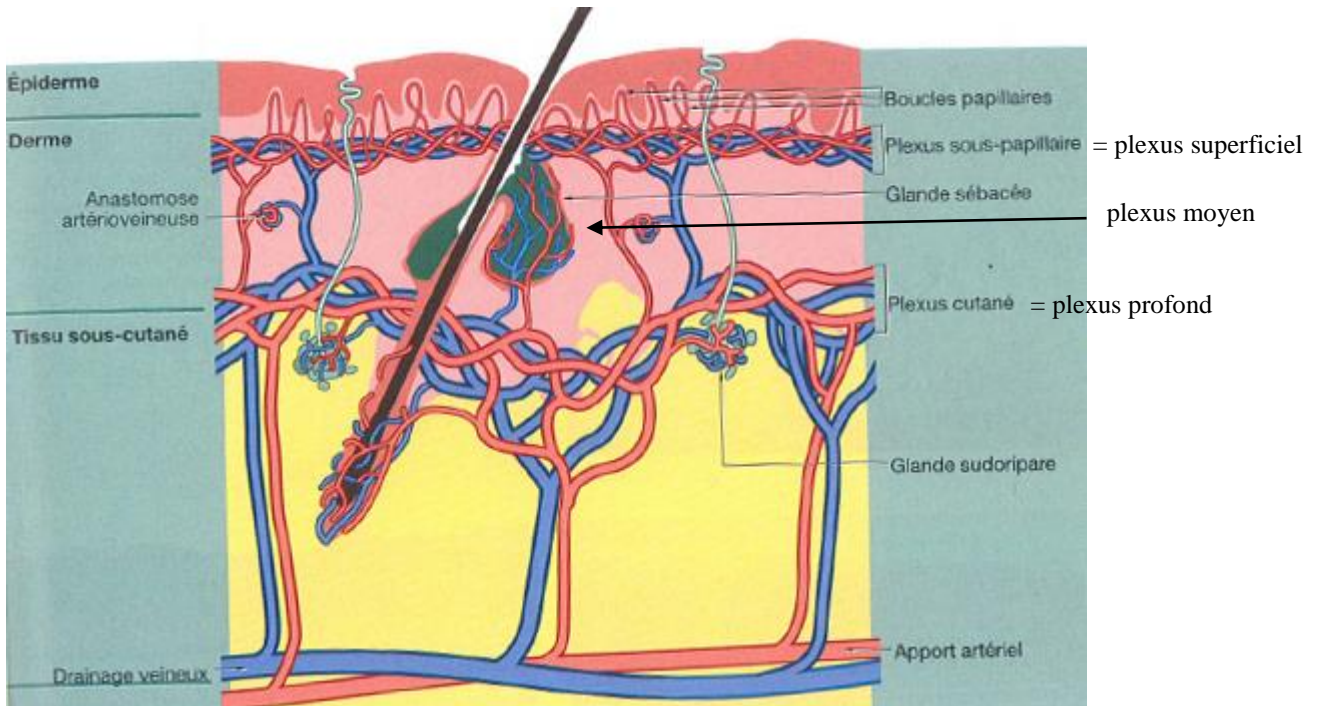
### *1.3.3. Vascularisation et innervation*

Elles sont absentes dans l'épiderme et donc très développées dans le derme et plus principalement dans la partie réticulée.

- Vascularisation : elle s'organise en trois plexus :
  - un profond ou plexus cutané, irrigant les follicules pileux ;
  - un moyen pour les glandes sudoripares et apocrines ;
  - un superficiel ou plexus sous-papillaire qui assure la nutrition de l'épiderme

(Figure 4).





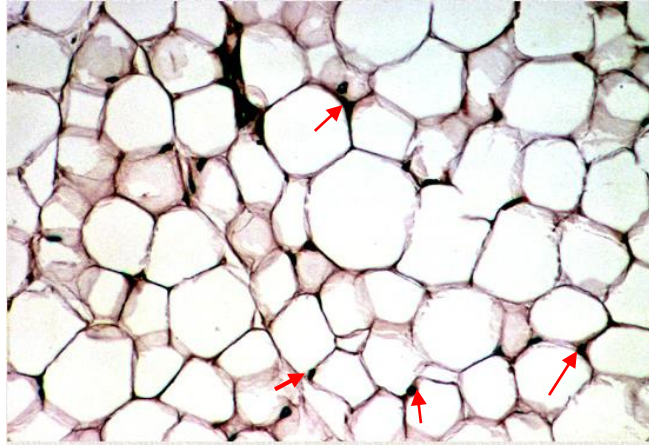
**Figure 4 : Vascularisation cutanée [47]**

- **Innervation** : elle est à la fois sensitive et motrice. Les fibres sensibles sont reliées aux follicules pileux, à des mécanorécepteurs (perception tactile des vibrations et de la pression) et certaines ont une terminaison libre dans l'épiderme (perception du chaud et du froid) [11].

#### 1.4. L'hypoderme

L'hypoderme est un tissu conjonctif lâche riche en collagène séparant le derme des structures musculaires et osseuses sous-jacentes. Il est très épais chez le porc et notamment sur le dos et le poitrail où il peut atteindre plusieurs centimètres. Il se divise généralement en 3 parties :

- **le pannicule adipeux** : c'est la couche la plus importante de l'hypoderme, elle est constituée de travées collagéniques lâches dans lesquelles se trouvent de nombreux adipocytes reconnaissables à leur noyau excentré et leur grande vacuole optiquement vide (Figure 5). Les adipocytes sont issus de la différenciation des fibroblastes. Les vaisseaux et fibres nerveuses passent au milieu de ces travées fibreuses.



**Figure 5 : Structure des adipocytes (les flèches indiquent les noyaux des adipocytes) [5]**

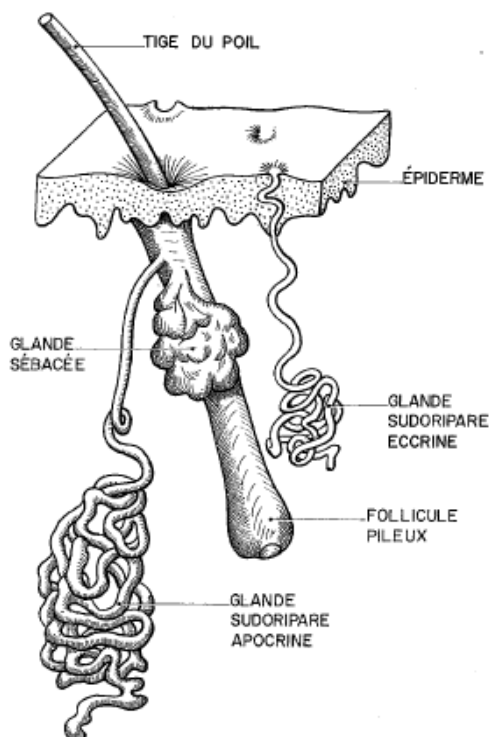
- **le fascia conjonctif** : il est composé de fibres de collagènes organisées en faisceaux parallèles à la surface cutanée. Les muscles peauciers sont situés sous le fascia mais sont relativement peu développés chez le porc, notamment dans la zone dorsale.
- **le conjonctif sous-cutané** : il ne fait plus partie de la peau à proprement parler. Les fibres de collagènes sont plus fines et il est plus riche en adipocytes que le pannicule adipeux.

L'hypoderme joue un rôle mécanique important en amortissant les différents chocs ainsi qu'un rôle métabolique en participant au métabolisme énergétique mais également à la thermorégulation du fait de sa composition riche en adipocytes [6, 7, 20].

### 1.5. Les annexes cutanées

Les annexes cutanées regroupent les follicules pilo-sébacés, les glandes sudoripares et les ongles (Figure 6). Ces derniers ne seront pas détaillés ici car l'étude porte sur la peau du dos des cochons.





**Figure 6 : Organisation des annexes cutanées [26]**

#### *1.5.1. Les follicules pilo-sébacés*

Ils sont constitués du follicule pileux, de la glande sébacée associée et du muscle arrecteur du poil.

Le follicule se forme par invagination de l'épiderme dans le derme qui s'amenuise progressivement pour se composer uniquement de la couche basale ; il forme la gaine épithéliale externe. Dans le fond du follicule, les kératinocytes se multiplient pour former une matrice qui vient coiffer une papille dermique très vascularisée. Ces cellules vont donner la gaine épithéliale interne ainsi que le poil.

Les glandes sébacées sont des glandes exocrines acineuses simples sécrétant le sébum et qui communiquent avec le follicule pileux via un canal excréteur unique court situé à son 1/3 supérieur [7, 14, 20].

#### *1.5.2. Les glandes sudoripares*

Elles sont de deux types :

- **glandes sudoripares eccrines** : elles sont localisées sur le groin, les lèvres et l'organe carpien situé sur la face ventrale du métacarpe chez le porc. Ce sont des glandes tubulaires pelotonnées très développées situées dans l'hypoderme. Elles s'abouchent directement à la surface de l'épiderme et produisent une sueur séreuse.

- **glandes sudoripares apocrines** : elles sont formées à partir de la gaine épithéliale externe du follicule, elles sont donc situées uniquement dans les zones non glabres. Elles sont localisées au niveau de la jonction dermo-épidermique : la partie sécrétrice est formée d'un tubule pelotonné et est associée à un canal excréteur qui vient s'aboucher dans la gaine du poil juste sous la surface cutanée. Elles produisent une sueur muqueuse, plus épaisse et plus odorante [6, 7, 14].

## 2. PHYSIOLOGIE DE LA CICATRISATION DES PLAIES PAR PREMIERE INTENTION

### 2.1. Généralités

Une plaie se définit comme une solution de continuité ayant une origine mécanique ou chimique accompagnée d'une perte de substance plus ou moins importante.

En considérant leur durée d'évolution, les plaies peuvent être classées en deux catégories :

- les plaies aiguës : elles sont souvent d'origine traumatique, leur évolution est rapide ;
- les plaies chroniques : ce sont des plaies plus complexes qui vont cicatriser difficilement et beaucoup plus lentement.

Les plaies aiguës peuvent présenter des retards de cicatrisation en cas de complications telles que des surinfections, une réaction inflammatoire inappropriée, un mauvais état général de l'animal...

La cicatrisation permet de réparer cette solution de continuité. C'est un ensemble de mécanismes visant la reconstruction du tissu lésé. Il existe deux modes de cicatrisation en fonction de l'aspect de la plaie :

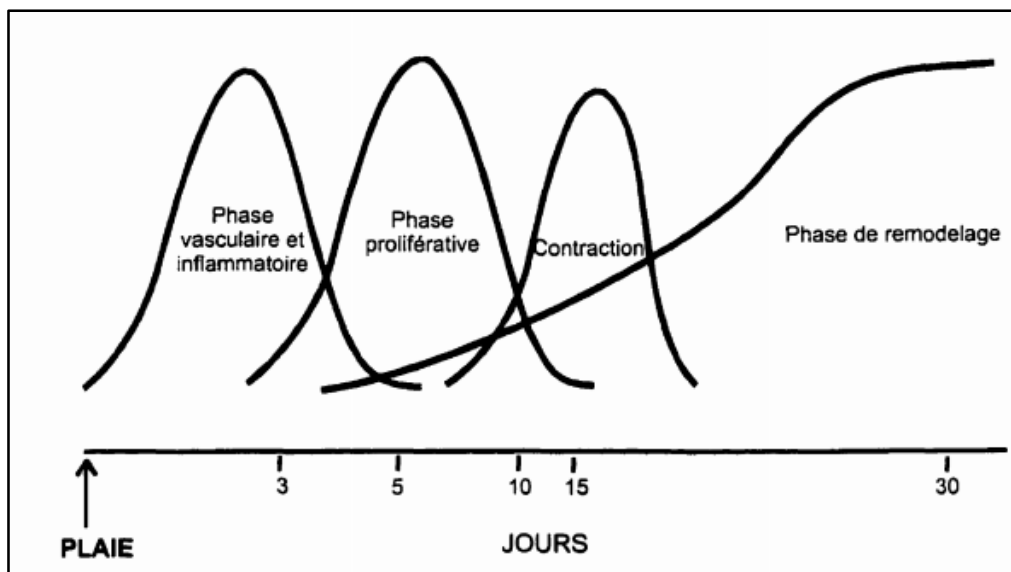
- la cicatrisation par première intention : elle concerne les plaies dont l'affrontement cutané est parfaitement bord à bord qu'il y ait eu ou non perte de substance. Les tensions appliquées aux marges de la plaie ne doivent pas être excessives et aucun corps étranger ne doit se trouver dans la plaie. Celle-ci doit également être parfaitement aseptique. La cicatrisation est

alors rapide avec une phase inflammatoire courte et une réépithélialisation rapide. La cicatrice est généralement très discrète, sa phase de maturation étant réduite ;

- la cicatrisation par seconde intention : elle intervient lorsque les plaies présentent des marges éloignées l'une de l'autre ou contiennent des tissus nécrosés, des corps étrangers, des germes... Les plaies cicatrisant par seconde intention sont le siège d'une phase inflammatoire aiguë initiale évoluant très lentement. La résultante est peu esthétique et la maturation de la plaie sera importante [7, 20, 25].

Le thème de la thèse portant sur les plaies suturées, seule la cicatrisation par première intention sera abordée.

La cicatrisation se divise en trois étapes distinctes qui ne sont pas parfaitement séparées dans le temps mais coexistent au sein d'une même plaie : la phase inflammatoire, la phase de reconstruction puis la phase de maturation cicatricielle (Figure 7) [18].



**Figure 7 : Cinétique des différentes phases de la cicatrisation cutanée [3]**

## 2.2. La phase inflammatoire

C'est la première phase à se mettre en place après le traumatisme, sa durée est plus ou moins longue selon la plaie : elle sera courte pour une plaie propre et aiguë (2-3 jours) alors qu'elle pourra durer beaucoup plus longtemps s'il y a beaucoup de tissus nécrosés, si la plaie est surinfectée, chronique...

### 2.2.1. *La réaction cutanée*

Immédiatement après la formation de la plaie, un élargissement de celle-ci est observé, lié aux tensions exercées par les muscles et la peau saine adjacente [7].

### 2.2.2. *La réaction vasculaire*

La plaie cutanée engendre une effraction des vaisseaux à l'origine d'une extravasation des éléments sanguins. Les plaquettes en contact avec l'endothélium endommagé vont se fixer aux vaisseaux lésés, puis entre elles, pour former le clou plaquettaire temporaire. Parallèlement à l'adhésion des plaquettes, des substances vaso-actives sont libérées et entraînent une constriction des vaisseaux ce qui permet, en association avec le clou plaquettaire, de limiter puis stopper l'hémorragie.

Est ensuite observée une vasodilatation ainsi qu'une augmentation de la perméabilité vasculaire qui permettent un apport massif de protéines au niveau de la plaie, nécessaires à sa reconstruction. Les plaquettes libèrent des médiateurs qui déclenchent la cascade de l'hémostase primaire et forment de la fibrine et un caillot à partir du clou plaquettaire. Ce caillot est beaucoup plus adhérent et est formé de fibrine, de plaquettes et d'érythrocytes. La fibrine associée aux protéines permet également la formation d'une croûte qui va restaurer le rôle de protection à la peau et également faciliter la cicatrisation en servant de matrice pour la migration des cellules lors de la ré-épithélialisation [7, 15, 18, 20].

Suite à l'adhésion plaquettaire et tout au long du processus de cicatrisation, de nombreuses substances chimiotactiques et des facteurs de croissance sont libérés. Ils guident, activent les cellules nécessaires et orchestrent la réparation cutanée.

### 2.2.3. *La réaction cellulaire*

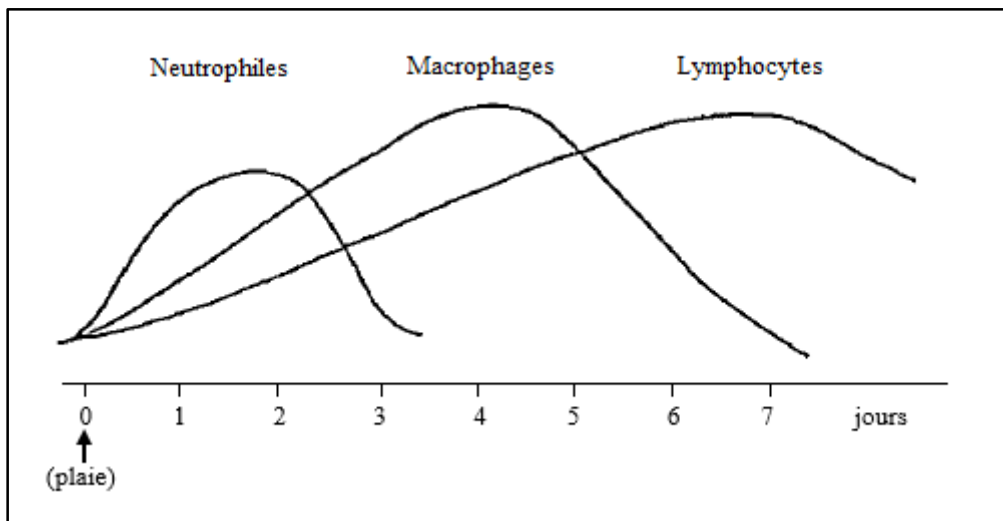
Les premières cellules impliquées sont des polynucléaires neutrophiles. Ils se dirigent par diapédèse des vaisseaux locaux au secteur extravasculaire puis vers la plaie grâce aux substances chimiotactiques. Ils effectuent une détersion et un assainissement de la plaie en libérant leur contenu enzymatique par dégénérescence sur les débris cellulaires et les bactéries éventuelles. Le liquide produit par la réaction vasculaire se mélange avec les polynucléaires dégénérés, les débris et les tissus nécrosés pour former un infiltrat inflammatoire. Dans le cas d'une plaie non infectée, ce phénomène va durer 48 h environ.

Les macrophages prennent ensuite le relais : ils sont activés au niveau de la plaie à partir des monocytes circulants. Ils continuent le nettoyage de la plaie en phagocytant les bactéries et débris cellulaires restants. De par leur bagage enzymatique, ils ont également un rôle dans le

débridement cicatriciel. Ces deux rôles sont prédominants durant les jours 3 et 4 suivant le traumatisme puis ils vont libérer diverses cytokines qui favoriseront la synthèse collagénique [7, 15, 20, 22].

Les lymphocytes semblent également avoir un rôle dans la phase de détersion sans qu'un mécanisme précis n'ait été mis en évidence. Ils participeraient à la production des médiateurs nécessaires à la suite de la cicatrisation [15].

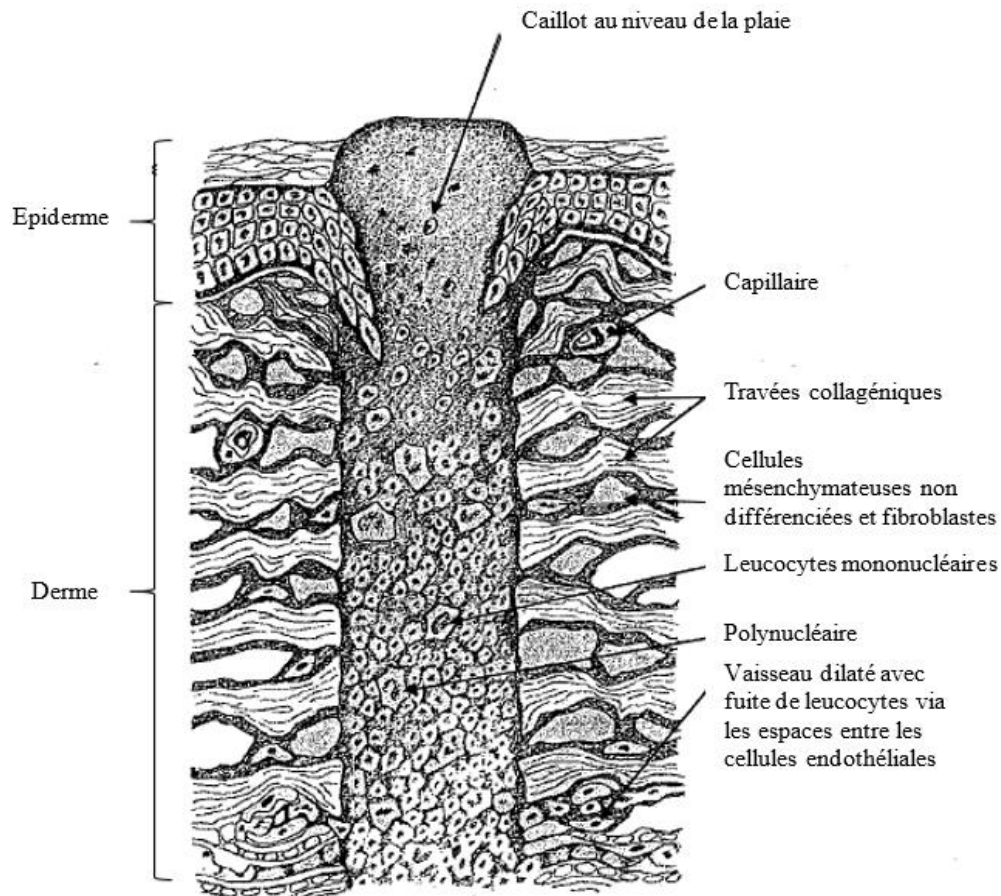
La Figure 8 résume la cinétique d'apparition des différentes cellules lésionnelles au niveau de la lésion.



**Figure 8 : Cinétique d'apparition des cellules inflammatoires sur le site lésionnel [28]**

Durant cette phase, une détersion de la plaie est observée, matérialisée par un écartement des berges suite à l'élimination des tissus nécrosés. Tous les éléments nécessaires au déroulement des phases suivantes se mettent en place [18].

La Figure 9 montre l'aspect de la plaie lors de la phase inflammatoire et résume les étapes vues précédemment. La plaie est remplie de sang et le caillot se forme. La diapédèse des leucocytes commence et ceux-ci envahissent le caillot ainsi que les tissus environnant la plaie. Les macrophages et les polynucléaires neutrophiles assurent leur fonction de détersion.



**Figure 9 : Schéma de la plaie en phase inflammatoire [39]**

### 2.3. La phase de reconstruction ou proliférative

Elle débute sur du tissu sain et correctement nettoyé par la phase de détersion précédente. Deux phénomènes sont observés durant cette phase : la réparation du derme par la formation d'un tissu de granulation et l'épithélialisation de ce nouveau tissu. La durée de cette phase est généralement de 2 à 4 semaines et dépend du type de plaie et de sa gravité.

Dans le cas de la cicatrisation par seconde intention, un phénomène de contraction de la plaie grâce à des myofibroblastes est également décrit.

#### 2.3.1. Réparation du derme

Cette phase se compose principalement de la synthèse de substance fondamentale et de collagène par les fibroblastes. Elle est associée à la néo-angiogenèse qui permet d'apporter la vascularisation et toutes les substances nécessaires à ce nouveau tissu.

Les fibroblastes sont recrutés à partir des cellules mésenchymateuses du tissu conjonctif situé autour de la plaie. Ils sont activés par des facteurs de croissance, se multiplient puis migrent à travers le caillot en utilisant le réseau de fibrine comme trame. Ils déposent une

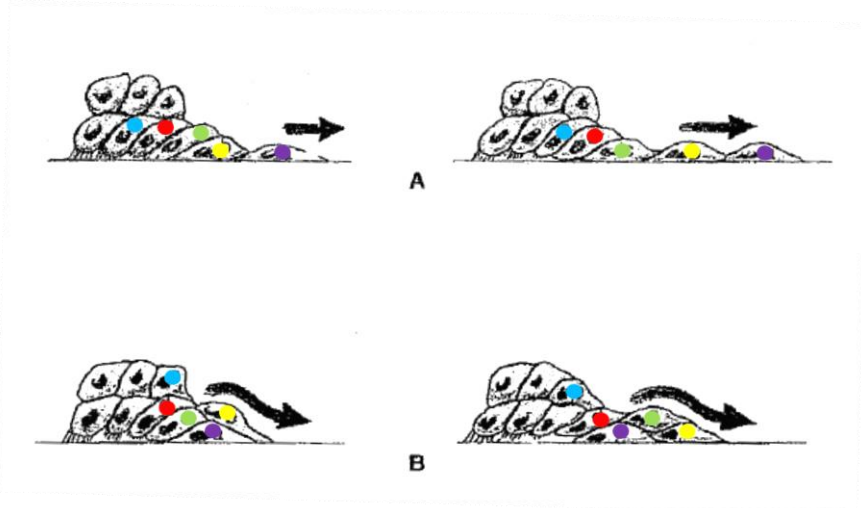
matrice composée de protéoglycanes, de glycoprotéines et de collagène de type III au fur et à mesure que la fibrine est lysée [18]. La migration est régulée par des molécules chimiotactiques mais également par le gradient en oxygène : ils sont attirés par les zones les moins bien oxygénées (les marges et le lit de la plaie) qui sont faiblement pourvues en vaisseaux sanguins. Est alors obtenue une matrice composée de collagène, de protéines et de fibroblastes activés [7, 15, 20].

La néo-vascularisation se développe en parallèle de la migration fibroblastique et de la production de la matrice. La destruction de la membrane basale des endothéliums des vaisseaux entourant la plaie permet l'activation des cellules mésenchymateuses proches en cellules endothéliales. Ces cellules migrent alors vers le centre de la plaie puis commencent à se multiplier pour former des bourgeons vasculaires puis des néo-capillaires. C'est une fois la néo-vascularisation développée que les fibroblastes vont pouvoir produire, de manière intensive, la nouvelle substance fondamentale [7, 15, 22].

Un tissu de granulation rosé constitué par des bourgeons charnus comble complètement la perte de substance de la plaie et servira de socle pour l'épidermisation.

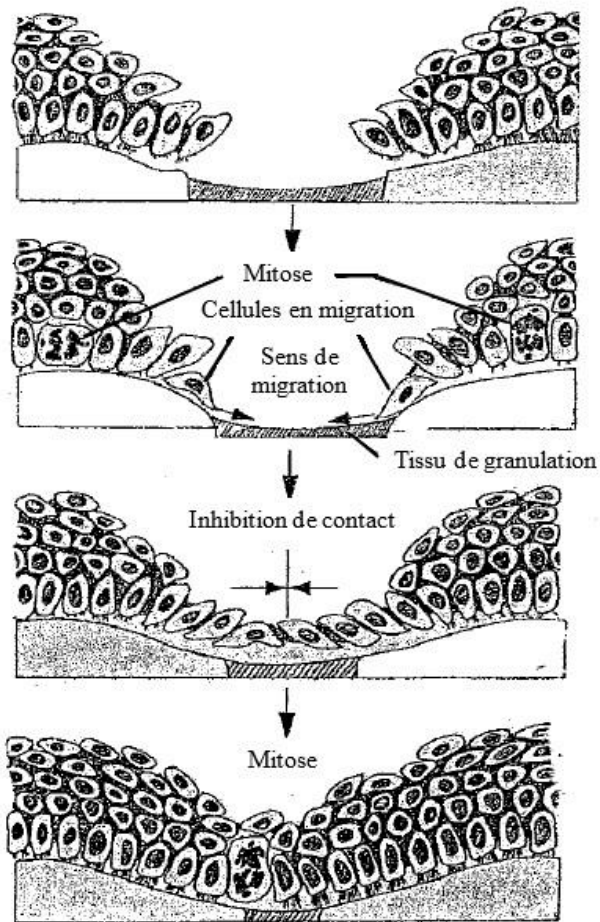
### 2.3.2. *Epidermisation*

Cette phase commence dès la 12<sup>ème</sup> heure suivant la lésion. Les kératinocytes du *stratum germinativum* se détachent de la membrane basale par rupture des hémidesmosomes puis commencent leur migration de manière centripète. Ils acquièrent un phénotype aplati avec des pseudopodes puis migrent sur le tissu de granulation sans perdre le contact avec les cellules épithéliales adjacentes. La cellule suivante passe alors au-dessus et migre de manière centripète, toujours sans perte de contact (Figure 10). Ces cellules sont produites par mitose des cellules basales proches des marges de la plaie. La migration s'arrête par inhibition de contact entre les kératinocytes au centre. L'épidermisation en épaisseur se fait alors par mitoses successives des cellules ayant migré (Figure 11). La membrane basale est alors recomposée et les cellules épithéliales peuvent alors retrouver un phénotype différencié [15, 22].



**Figure 10 : Mécanismes de la migration des cellules épithéliales [12]**

A : les cellules épithéliales s'étirent au maximum sans perte de contact avec les cellules adjacentes  
 B : la deuxième cellule passe par-dessus la précédente et ainsi de suite pour migrer de manière centripète



**Figure 11 : Epidermisation d'une plaie [22]**



En présence d'une croûte, la migration a lieu sous la croûte qui est lysée et tombe grâce aux enzymes produites par les cellules épithéliales une fois que la couche épidermique est complète [18].

L'épiderme obtenu à cette étape est encore fragile et devra subir une maturation pour retrouver élasticité et résistance.

Les Figure 12 et Figure 13 présentent un résumé des différentes étapes décrites précédemment.

Sur la Figure 12, la migration épithéliale sous crustacée est terminée, le site de la plaie est envahi de fibrine qui sert de trame pour la migration des fibroblastes. Les macrophages et les polynucléaires restent présents et produisent différentes substances pour favoriser la reconstruction du derme et de l'épiderme. La néo-vascularisation de la plaie avec envahissement par des bourgeons endothéliaux est également présente.

Sur la Figure 13, l'épithélium s'est épaissi de manière irrégulière. Au niveau du derme, les fibroblastes produisent du collagène orienté de manière anarchique. Les vaisseaux continuent de se développer au niveau de la plaie avec de nouveaux vaisseaux formés et des bourgeons en cours de colonisation.

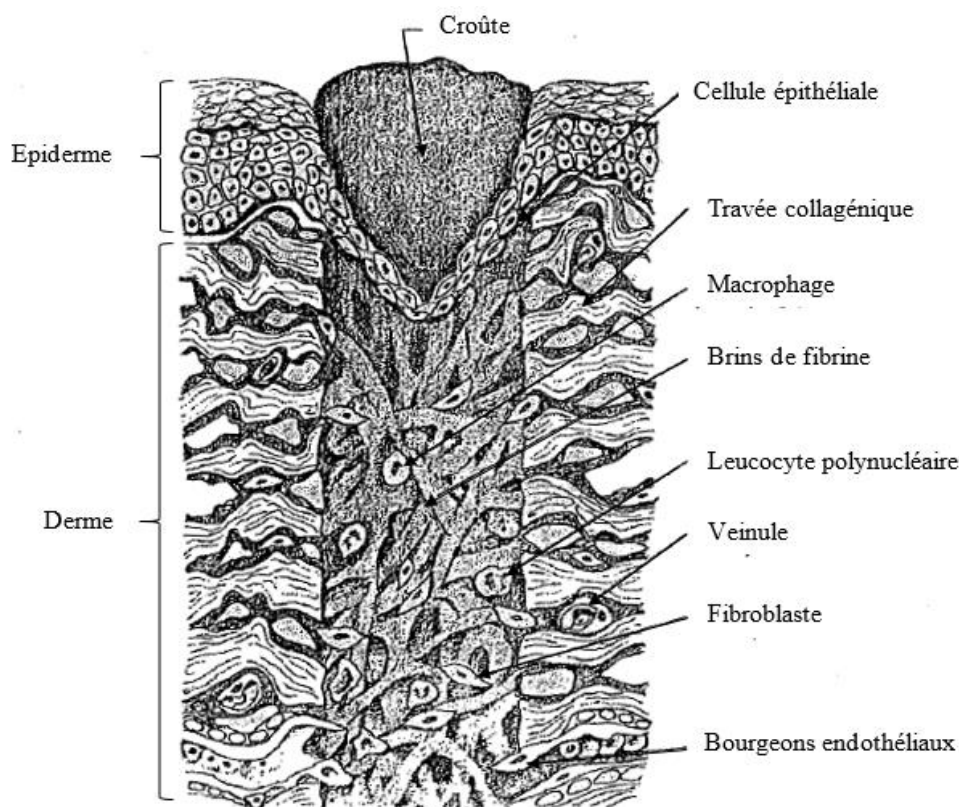
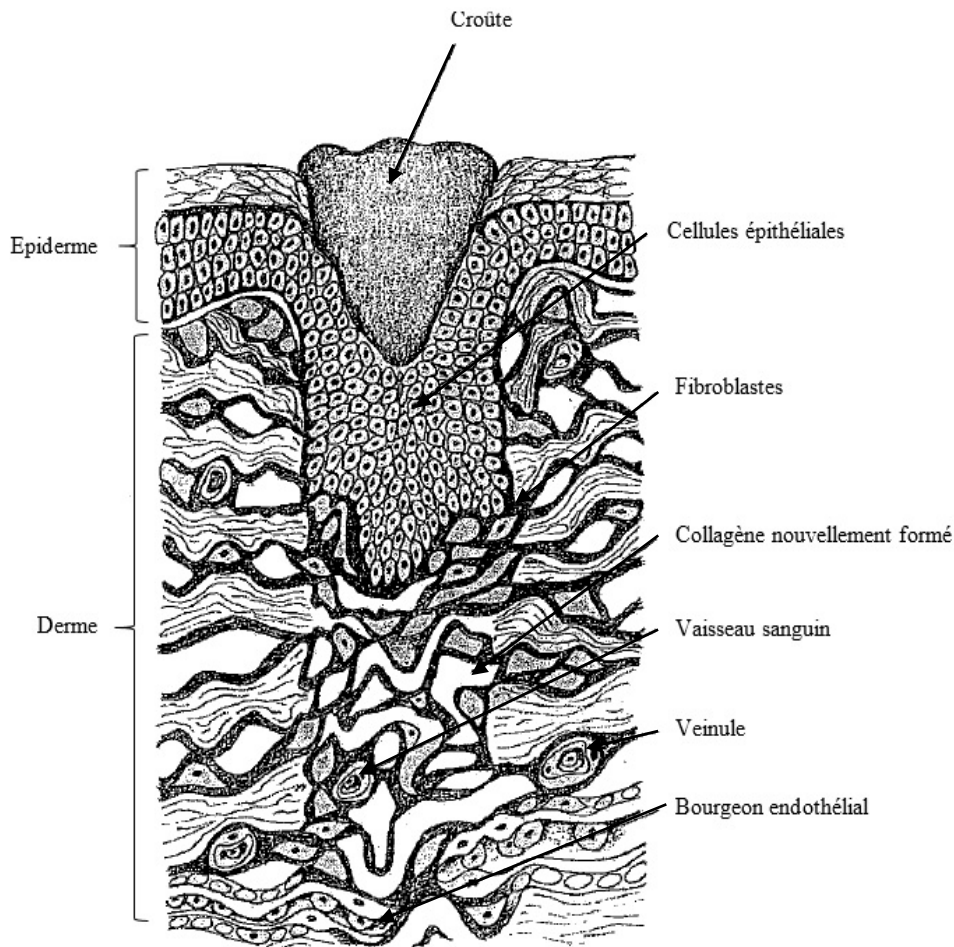


Figure 12 : Schéma de la plaie en phase de reconstruction précoce [39]



**Figure 13 : Schéma de la plaie en phase de reconstruction avancée [39]**

#### 2.4. La phase de maturation cicatricielle

C'est la dernière phase de la cicatrisation, elle commence tardivement et peut durer plusieurs années selon l'aspect de la plaie initiale.

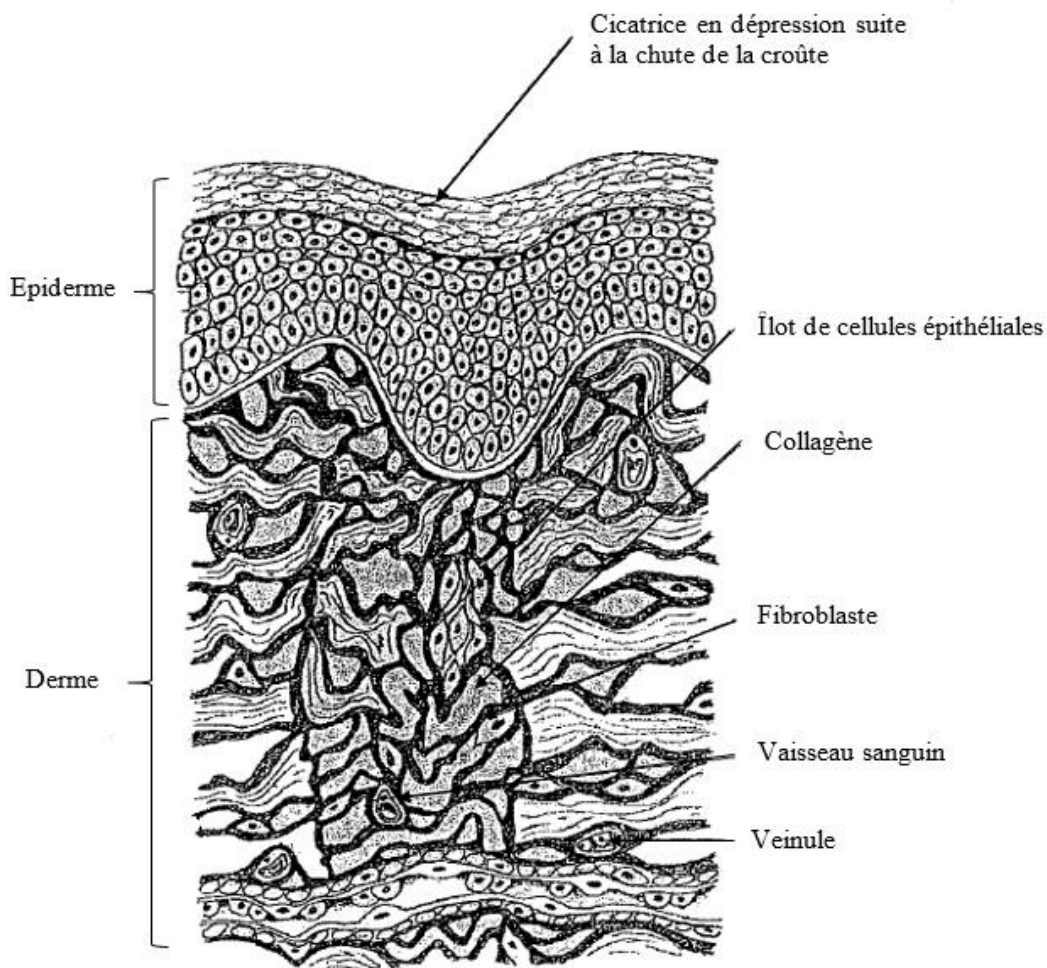
Au niveau du tissu de granulation, une maturation de la trame collagénique est obtenue grâce à un équilibre entre synthèse fibroblastique et collagénolyse. Il est observé un réarrangement des fibres de collagène avec une consolidation des fibres parallèles aux lignes de tension par adjonction de nouvelles fibrilles et une destruction des fibres orientées inefficacement. Le tissu obtenu est plus résistant. Le collagène de type III immature est progressivement remplacé par du collagène de type I qui est beaucoup plus résistant.

Les fibroblastes du tissu de granulation sont à l'origine de ces phénomènes de synthèse et de destruction du collagène. L'épithélium superficiel aide également à cette destruction par la synthèse de collagénases [7, 18, 20].

Au niveau de l'épiderme, une différenciation des cellules est observée avec la kératinisation de certaines ainsi que la régénération de certaines structures telles que les

follicules pileux ou les glandes sébacées. Ces structures se forment par invagination du néo-épithélium après l'achèvement de l'épidermisation. La cicatrice restera généralement peu pigmentée même si la migration de mélanocytes peut être observée très tardivement [18].

La Figure 14 schématise la plaie en phase de maturation : les fibres de collagènes sont en cours de réorganisation et les vaisseaux sanguins ont terminé de coloniser la plaie. A la surface de l'épithélium, une cicatrice en dépression est observable à l'emplacement de l'ancienne plaie.



**Figure 14 : Schéma de la plaie en phase de maturation [39]**

## 2.5. Cas particulier de la cicatrisation des plaies chirurgicales suturées

Ces plaies sont particulières car il y a très peu de perte de substance et peu de tissus dévitalisés. En outre, la plaie est propre, les marges sont apposées et s'affrontent avec une tension modérée. On espère donc observer une cicatrisation rapide et sans anomalie.

La phase inflammatoire est très courte du fait de la faible quantité de tissu à éliminer. Un épaissement de l'épithélium peut être observé ainsi qu'une migration sur le caillot et sous

la croûte dans les heures suivant la formation de la plaie. Le pontage épithélial de la plaie peut être observé dès 48 h post-chirurgie et la kératinisation intervient au 5<sup>ème</sup> jour associée au détachement de la croûte.

En ce qui concerne la cicatrisation du derme, il est observé des cordons verticaux de fibrine dans la plaie et sur ses marges pendant les 3-4 premiers jours qui jouent le rôle de colle tissulaire. Le néo-collagène formé de fibrilles entremêlées est visible à partir du 5<sup>ème</sup> jour et commence à s'organiser au 6<sup>ème</sup> jour. Le collagène, les fibroblastes et les néo-vaisseaux s'organisent alors parallèlement à la surface. Ce n'est qu'à partir du 21<sup>ème</sup> jour que la maturation se met en place et que la différence entre le collagène néoformé et le collagène préexistant s'atténue.

Les étapes observées sont donc similaires mais s'enchaînent globalement plus rapidement surtout en début du processus de cicatrisation [18].

### 3. LES TECHNOLOGIES UTILISANT LES RADIOFREQUENCES

En médecine humaine, le développement de nouvelles technologies a permis de nombreuses avancées chirurgicales. Elles ont fait leur apparition chez les vétérinaires plus récemment et sont maintenant, pour certaines, très utilisées. Ces techniques ont révolutionné la réalisation de la dissection et de l'hémostase des tissus. Ils exploitent des radiofréquences mono- ou bipolaires.

Les instruments utilisent les ondes électromagnétiques non ionisantes qui, grâce à l'émission d'un courant alternatif produit par un générateur, permettent une excitation des électrons. Ces derniers circulent entre les deux électrodes de l'instrument et produisent un courant qui traverse les tissus. Ces tissus présentent une résistance au passage du courant ce qui produit de l'énergie évacuée sous la forme d'une émission de chaleur à l'origine d'une augmentation de température tissulaire. Cette dernière dépend de l'intensité du courant émis initialement, du temps de contact mais également de la nature du tissu traversé. L'émission de chaleur au sein des tissus est à l'origine des effets tissulaires observés dont l'amplitude dépend des valeurs de température atteintes (Tableau 1) [10, 41, 44].

Température (°C)	Effet tissulaire
250	Carbonisation des tissus par déshydratation
100	Rupture des membranes cellulaires
90	Dessiccation des tissus
70	Dénaturation des protéines
50	Inhibition de l'activité enzymatique
40	Inflammation et œdème

**Tableau 1 : Effet de la température sur les tissus [10]**

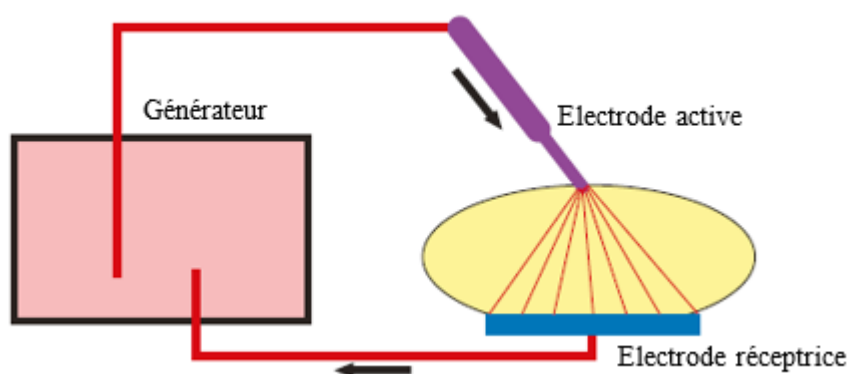
Ces « nouvelles » technologies sont représentées par le bistouri électrique, le laser, le bistouri électrique à ultrason, la coblation®, la thermofusion. Si certaines sont apparues il y a près d'un siècle dans leur forme actuelle (bistouri électrique), d'autres sont beaucoup plus récentes (moins de 20 ans).

Actuellement, ces technologies n'ont pas toutes des indications dans le traitement des plaies. En effet, la thermofusion et le bistouri à ultrason (Harmonic®) sont principalement indiqués pour réaliser l'hémostase vasculaire et la dissection-exérèse de tissus. Aucune étude n'a jamais porté sur le débridement de plaies.

### 3.1. Le bistouri électrique

#### 3.1.1. Principe

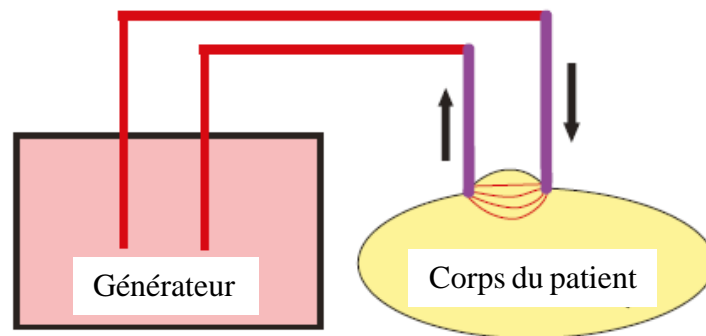
Le dispositif le plus couramment utilisé en médecine vétérinaire est le bistouri électrique monopolaire. Il se compose d'un générateur, d'une électrode émettrice et d'une plaque réceptrice placée sous l'animal. Quand l'instrument est utilisé, le courant part de l'électrode émettrice et traverse tout l'animal pour rejoindre la plaque (Figure 15).



**Figure 15 : Schéma d'un dispositif monopolaire [42]**

Le bistouri électrique monopolaire incise et coagule les tissus. Il peut atteindre des températures de 100 à 400 °C au point d'application ; cette chaleur diffuse sur 1 à 2 cm de diamètre autour de l'électrode [10, 36, 42].

Le bistouri électrique bipolaire est un dispositif composé d'un générateur et de deux électrodes constituant les mors d'une pince, entre lesquelles va passer le courant. L'opérateur doit placer les électrodes de part et d'autre du tissu qu'il souhaite coaguler (Figure 16).



**Figure 16 : Schéma d'un dispositif bipolaire [42]**

Ce dispositif permet de coaguler des vaisseaux sanguins de petits gabarits, mais ne permet pas d'inciser les tissus. Il est parfois associé à des lames pour réaliser des sections [10, 42].

### *3.1.2. Avantages et inconvénients*

L'avantage principal du bistouri électrique monopolaire est le gain de temps lors de la chirurgie. En effet, il permet de réaliser l'hémostase en même temps que la section des tissus par carbonisation des tissus. De ce fait, il limite les pertes sanguines.

Les inconvénients de cet instrument sont liés aux températures élevées atteintes qui créent des lésions des tissus sains environnants. Il existe également un risque de brûlure non négligeable si le contact entre l'animal et la plaque réceptrice est insuffisant. En effet, du fait du fort courant traversant l'animal pour rejoindre la plaque, il est important que le contact soit assez important pour permettre une dissipation de la chaleur et éviter le risque de brûlure au point de contact. Ceci est valable uniquement dans le cas d'un dispositif monopolaire.

Pour le dispositif bipolaire, le courant passe uniquement entre les électrodes et ne traverse donc pas le corps du patient, ce qui réduit fortement les risques de brûlures à distance. En outre, du fait de la plus faible intensité du courant, les lésions thermiques locales sont moins étendues (jusqu'à 8 mm seulement). En revanche, il est moins performant que le dispositif

monopolaire, car il faut plus de temps pour réaliser l'hémostase et les vaisseaux coagulés sont de plus faible diamètre [10, 42].

## 3.2. Le laser

### 3.2.1. Principe

Le mot LASER est l'acronyme de Light Amplification By Stimulated Emission of Radiation soit amplification de la lumière par émission stimulée de rayonnement. Lors de l'émission d'un courant continu ou alternatif par le générateur, les particules du milieu dans lequel passe le courant vont acquérir une énergie et se trouver dans un état « excité ». Elles retrouvent leur état d'origine en émettant de l'énergie sous forme de photons qui ont la même longueur d'onde et se déplacent linéairement dans la même direction. Cette énergie est donc émise sous forme d'ondes monochromatiques et orientées dans la même direction formant un puissant faisceau laser. On parle ici d'émission stimulée car le générateur est indispensable à l'excitation des particules à l'origine de l'émission des photons.

Le faisceau laser peut interagir de quatre manières différentes avec le tissu : il peut être absorbé, réfracté, transmis ou dispersé. L'absorption par les tissus est l'effet recherché car les autres peuvent induire des effets indésirables aux tissus environnants l'application. Le rayonnement laser est absorbé par l'eau intracellulaire, l'hémoglobine et certaines protéines et produire de la chaleur rapidement. Les températures atteintes au point d'application peuvent être très importantes (150 °C – 400 °C) et provoquer la carbonisation du tissu ; il est donc important de restreindre la zone d'application pour éviter des dégâts trop importants aux tissus environnants. La production de chaleur dépend de différents facteurs tels que la nature du rayon laser (longueur d'onde, puissance, temps et surface d'application), la nature du tissu (teneur en eau, couleur), le milieu environnant (gazeux ou liquide)...

Certains lasers n'ont pas une action thermique sur les tissus, mais agissent de manière chimique en rompant les ponts moléculaires entre les cellules sans émission de chaleur grâce à des pulsations énergétiques très courtes (< 1 µs).

Actuellement, en chirurgie, il est utilisé au moins sept lasers différents. Le laser est choisi en fonction de sa longueur d'onde, du tissu à traiter et de l'effet souhaité. Dans le cadre du traitement des plaies en médecine humaine et vétérinaire, le laser CO<sub>2</sub> est le plus exploité.

Le laser CO<sub>2</sub> est surtout utilisé pour la détersion des plaies. Il émet un rayonnement de grande longueur d'onde (10 600 nm) ce qui lui confère un faible pouvoir de pénétration tissulaire (0,1 mm) car il ne peut traverser l'eau intracellulaire. En revanche, il va très fortement

réagir avec celle-ci et lui faire atteindre des températures élevées qui font éclater la cellule. Ainsi, l'action est très efficace avec un faible pouvoir de pénétration tissulaire ce qui limite les dégâts au niveau des tissus avoisinants [10, 44].

### 3.2.2. *Avantages et inconvénients / utilisation*

Le laser est principalement utilisé pour inciser ou vaporiser des tissus. Le laser CO<sub>2</sub> a également l'avantage d'être efficace quelle que soit la couleur du tissu traité. En revanche, il ne permet pas de coaguler des vaisseaux de plus de 0,4 mm de diamètre et provoque des lésions thermiques jusqu'à 0,9 mm du point d'application. Il n'est donc pas très indiqué pour la coagulation.

L'usage de laser peut induire des lésions oculaires à l'utilisateur. Il est donc nécessaire de porter des lunettes de protection adaptées à la longueur d'onde du faisceau laser utilisé. Il est également observé une production importante de fumée qui peut gêner la visibilité si elle n'est pas convenablement évacuée [10].

## 3.3. Le bistouri à ultrasons ou système Harmonic®

### 3.3.1. *Principe*

Ce dispositif se compose d'un générateur, d'une commande au pied et d'un instrument ou pièce à main de formes différentes. Le courant fait vibrer le cristal piézoélectrique situé au niveau de l'instrument à une fréquence de 55,5 kHz sur une surface de 80 µm de diamètre environ. Une fois l'instrument appliqué sur le tissu, les vibrations de l'instrument créent de la chaleur par frottement qui assure la coagulation et la section des tissus.

Ce dispositif permet de coaguler des vaisseaux sanguins de 5 à 7 mm de diamètre et des vaisseaux lymphatiques en même temps que la section à relativement basse température (80 – 100 °C) [10, 44].

### 3.3.2. *Avantages et inconvénients*

La possibilité de coaguler au fur et à mesure de la section assure un gain de temps important lors de la chirurgie. En outre, l'emploi de basses températures permet de diminuer les lésions des tissus environnants.

Les principaux inconvénients de cette technique restent son coût et le fait que seul un chirurgien formé peut utiliser ce dispositif sans risque [10].



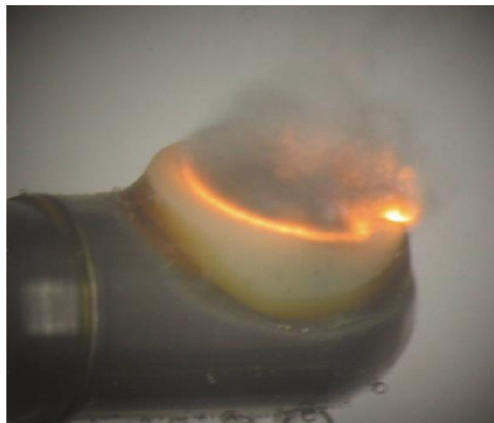
### 3.4. La coblation®

#### 3.4.1. Principe

La coblation® est une technologie créée et commercialisée par la société Arthocare®. Elle utilise un instrument bipolaire basse fréquence (100 kHz) qui produit un flux d'énergie. Lorsqu'elle circule au travers d'un milieu conducteur (généralement une solution de NaCl 0,9 %), cette énergie forme un champ plasma composé d'ions sodium électriquement actifs qui peuvent dissocier les liaisons entre les cellules au niveau moléculaire. Ce champ est présent sur une zone de 100 à 200 µm autour de l'électrode, ce qui permet un travail précis et minimise la transmission de chaleur aux tissus environnants. Le générateur produisant le courant basse fréquence permet d'adapter l'intensité du champ en fonction de la résistance du tissu environnant et de l'effet recherché.

La coblation® permet à la fois l'incision et la coagulation des tissus à relativement basse température (60 – 80 °C) ce qui lui vaut son nom, issu de la contraction de « cold ablation ». L'application du courant est indirecte sur les tissus contrairement aux autres instruments ayant une action directe. L'utilisation d'une électrode bipolaire permet de confiner le flux d'énergie entre les deux électrodes ce qui limite la diffusion aux tissus environnants et par conséquent les lésions thermiques (Figure 17).

Trois modes sont actuellement disponibles lors de l'utilisation de la coblation® : l'ablation, la rétraction et la coagulation [10, 31, 35].



**Figure 17 : Plasma ionisé (émission brillante orange) induit par une sonde de coblation® fonctionnant dans une solution saline [4]**

### 3.4.2. Matériel

Le dispositif de coblation® se compose d'un générateur de courant, d'une commande au pied permettant de sélectionner le mode souhaité (coagulation ou ablation), d'une sonde plasma et d'un boîtier permettant de régler le débit de solution (Figure 18).

Il existe un nombre important de sondes dédiées à un type de tissu et/ou une zone considérée. Lors du branchement de la sonde, le générateur affiche automatiquement un réglage nominal correspondant aux tensions optimales de coagulation et d'ablation pour ce genre de sonde. L'opérateur peut ensuite modifier lui-même ces tensions en fonction de la réponse tissulaire, directement sur le générateur ou à l'aide de la commande au pied. Il existe neuf niveaux de tension pour la coagulation et l'ablation.



**Figure 18 : Dispositif de coblation® [35]**

### 3.4.3. Avantages et inconvénients

Comme pour le dispositif Harmonic®, la coblation® permet la section et la coagulation à basse température ce qui limite les lésions secondaires sur les tissus sains.

Néanmoins, en fonction de la sonde utilisée, la section peut être moins précise qu'avec les autres dispositifs et les saignements peuvent être plus importants car la technique est moins efficace pour coaguler des vaisseaux de diamètre un peu plus important. Le temps d'intervention est également un peu rallongé par rapport aux autres dispositifs précédents [10].

## 3.5. La thermofusion

Les dispositifs EnSeal® ou LigaSure® exploitent le principe de thermofusion. Ce sont des systèmes bipolaires composés d'une pince spécifique, composée de 2 héli-pinces, chacune étant une électrode, et d'un générateur. Ils assurent la coagulation des vaisseaux d'un diamètre inférieur ou égal à 7 mm ainsi que l'incision de certains tissus. En appliquant la pince sur le

vaisseau souhaité, la température augmente jusqu'à dénaturer le collagène et l'élastine des parois pour sceller le vaisseau. Suite à l'application de la pince, une lame située au niveau de la pince permet de couper le tissu entre les deux zones coagulées (Figure 19).



**Figure 19 : Dispositif LigaSure® [8]**

Les électrodes mesurent l'impédance du tissu maintenu par la pince et ajustent la tension de l'appareil au plus juste pour obtenir la coagulation du tissu tout en minimisant les émissions de chaleur. Cela permet de limiter les lésions des tissus périphériques. Il faut néanmoins rester prudent dans son utilisation car le tissu peut rester coller aux pinces suite à la coagulation et lors de l'ouverture de cette dernière, les tissus peuvent se déchirer, se traduisant par une reprise des saignements [10, 44].

Ce dispositif ne sera pas plus détaillé ici car il est principalement utilisé pour la coagulation de vaisseaux de taille relativement importante, la section de tissus et peu dans les plaies.

### 3.6. Utilisation et effets comparés des diverses techniques

Actuellement, il existe peu d'études portant sur les effets de la coblation® sur le tissu cutané. Ces études portent principalement sur le débridement de plaies.

Nusbaum a comparé l'efficacité de trois méthodes de débridement (coblation®, hydrochirurgie, bistouri à lame froide) sur des plaies chirurgicales infectées avec une souche de *Staphylococcus aureus* multirésistante. Il a été mis en évidence une diminution significative de la population bactérienne dans les plaies débridées par rapport aux plaies témoins. Des 3 techniques, la coblation® semble donner de meilleurs résultats que l'hydrochirurgie ou la détersion à la lame froide : réduction plus importante de la population bactérienne et réduction de l'inflammation locale [24].

Une seconde étude rapporte également une diminution importante de la charge bactérienne au sein de plaies aiguës ou chroniques après plusieurs applications d'une dizaine de minutes. Il s'en suit une cicatrisation plus rapide de ces plaies [45].

Ces études se sont également intéressées aux lésions thermiques potentiellement engendrées par l'application de la sonde de coblation®. Nusbaum a rapporté que les plaies traitées par coblation® avaient initialement présenté des lésions thermiques sur leurs marges qui se sont estompées à J<sub>2</sub> sans induire de fibrose ou une cicatrisation anarchique à la fin de l'étude. Cependant, il ne semble pas y avoir de différences entre les diverses méthodes de débridement : à la fin de l'étude, toutes les plaies étaient ré-épithélialisées de manière similaire [24]. Cette étude n'a pas mis en évidence de lésion thermique macroscopique [45].

Une dernière étude réalisée par Acland a comparé l'efficacité de la coblation® et du laser CO<sub>2</sub> lors de peeling. Macroscopiquement, un retard de réépithélialisation, ainsi qu'un érythème plus prononcé avec le laser CO<sub>2</sub> ont été mis en évidence, aucune cicatrice n'a été observée. En ce qui concerne l'étude histologique réalisée sur des biopsies, les lésions thermiques étaient plus étendues superficiellement et moins profondes avec la coblation®. 3 mois après la réalisation du peeling, la fibrose était plus importante avec le laser CO<sub>2</sub> [1].

Les effets de la coblation® ont principalement été étudiés en ORL. De nombreuses études ont montré son efficacité lors d'amygdalectomies chez l'enfant ou l'adulte par rapport à la dissection au bistouri à lame froide, au bistouri électrique ou l'utilisation du laser CO<sub>2</sub>.

Ces études ont mis en évidence une réduction significative de la douleur post-opératoire avec la coblation®. L'évaluation de la douleur a été réalisée de différentes manières : scoring de douleur, reprise d'une alimentation solide, dose et durée de l'analgésie post-opératoire. En comparaison avec la dissection à la lame froide, la douleur est significativement plus faible pendant les 2-3 premiers jours post-opératoires alors qu'avec le laser CO<sub>2</sub> et le bistouri électrique, elle persiste pendant 10-15 jours [19, 23, 37].

Il a également été remarqué une cicatrisation retardée à J<sub>7</sub> lors de l'exérèse au bistouri électrique par rapport à la coblation®, alors qu'à 15 jours post-opératoires, aucune différence macroscopique de cicatrisation n'a été observée entre le laser CO<sub>2</sub>, la coblation® et le bistouri électrique [19, 23]. Une évaluation histologique a mis en évidence des lésions thermiques moins importantes avec la coblation® qu'avec le laser CO<sub>2</sub> ou le bistouri électrique [19].

En ce qui concerne la sécurité de la technique, une méta-analyse reprenant 24 études, n'a pas montré d'augmentation significative du nombre d'hémorragies per- ou post-opératoires avec la technique de coblation® par rapport aux autres techniques utilisées classiquement [21].

En terme de temps opératoire, l'exérèse par coblation® est plus lente qu'avec un bistouri électrique mais plus rapide qu'avec le laser CO<sub>2</sub> [19].

En résumé, l'utilisation de la coblation® lors d'amygdalectomie permet de réduire la douleur post-opératoire et d'obtenir une cicatrisation plus rapide ainsi que des lésions histologiques de brûlure moins sévères qu'avec le laser CO<sub>2</sub> ou le bistouri électrique. C'est une technique sûre qui ne présente pas de complications post-opératoires particulières.

D'autres études se sont intéressées à la facilité d'utilisation et l'efficacité de plusieurs instruments d'ablation, autres que la coblation®.

Sinha a étudié l'efficacité du bistouri électrique, du laser CO<sub>2</sub> et du dispositif Harmonic® par rapport au bistouri à lame froide lors d'incision de muqueuse buccale de cochons d'Inde. Lors de l'intervention, le dispositif Harmonic® a présenté une hémostase plus efficace et une non adhérence aux tissus coagulés. Le bistouri à lame froide présente l'intérêt de ne pas adhérer aux tissus mais ne permet pas de réaliser l'hémostase. Le laser CO<sub>2</sub> et le dispositif Harmonic® permettent également un meilleur contrôle de l'incision en respectant les plans de clivage des tissus. En ce qui concerne le bistouri électrique, il permet une bonne hémostase mais peut adhérer aux tissus coagulés et rompre le caillot créé. En outre, les lésions de brûlures sont beaucoup plus importantes et les incisions plus profondes [34].

Sinha a suivi la cicatrisation sur 28 jours. Il a mis en évidence que, pour l'ensemble des paramètres étudiés, les effets du système Harmonic® étaient proches de ceux induits par la lame froide :

- la ré-épithélialisation était plus rapide et était complète en 7 jours. Pour le laser CO<sub>2</sub> et le bistouri électrique, l'épithélialisation est complète au 28<sup>ème</sup> jour ;
- l'inflammation a disparu après 2 semaines alors qu'elle a duré 4 semaines pour les 2 autres techniques ;
- le tissu néoformé était plus résistant pour les plaies créées qu'avec le bistouri électrique. Ce sont les plaies réalisées au laser CO<sub>2</sub> qui ont été les plus fragiles [34].

L'étude de Sibbons a porté sur le suivi d'incisions réalisées avec divers instruments (Gyrus plasmaknife®, bistouri électrique monopolaire, coblation® et dispositif Harmonic®) sur du péritoine de porc. Elle a mis en évidence que les incisions étaient plus fines et précises avec les dispositifs Gyrus® et Harmonic® alors qu'avec la coblation®, elles étaient plus larges et bordées par une coloration brunâtre des tissus. Concernant le bistouri électrique, les incisions réalisées étaient beaucoup plus profondes qu'avec les autres instruments et saignaient plus. Au

niveau macroscopique, les lésions les moins importantes ont été obtenues avec le dispositif Gyros® : elles étaient superficielles et peu étendues. En comparaison, les lésions liées à la coblation® étaient très étendues superficiellement mais peu profondes avec toutefois une atteinte des fascia musculaires contrairement à celles du dispositif Harmonic® (peu étendues mais très profondes). Le bistouri électrique a induit le plus de lésions avec une zone importante de perte de viabilité du collagène, que ce soit en largeur ou en profondeur [32].

Sibbons a étudié la cicatrisation à J<sub>14</sub>. Macroscopiquement, les plaies étaient toutes cicatrisées mais microscopiquement des différences importantes ont été observées. Ainsi, les plaies les plus avancées en terme de cicatrisation ont été celles réalisées avec le dispositif Gyros® : le tissu cicatriciel était peu important mais très riche en néofibres de collagène et était très bien vascularisé, un début d'organisation des fibres étant noté. L'inflammation a également été peu importante. Pour le dispositif Harmonic®, la plaie était étendue microscopiquement et profonde, une fibrose importante du collagène a été observée, la néovascularisation était présente uniquement en région profonde de la plaie et l'inflammation très importante. Pour la coblation®, la lésion était assez similaire mais le recouvrement était plus fragile avec principalement des adipocytes et peu de fibres. La néovascularisation est restée faible. Avec le bistouri électrique, la cicatrisation était la moins avancée, caractérisée par une lésion majeure, peu de foyers de néovascularisation, des zones importantes de collagène lésé et très peu de néofibrilles formées [32].

Divi a étudié la cinétique de cicatrisation de cordes vocales de chien sur 7 jours suite à l'application de la coblation® à différentes puissances. A J<sub>0</sub>, des images de nécrose de coagulation avec une désorganisation des fibres d'élastine et une dilatation des structures vasculaires ont été observées ce qui indique une lésion thermique induite par l'application de la sonde de coblation®. La variation de puissance a entraîné une variation de la surface de la zone lésée ainsi qu'une disjonction de l'épiderme avec la *lamina propria* sous-jacente en périphérie de la zone d'application de la sonde pour le réglage le plus fort. Il est important de noter que pour tous les réglages, il n'a pas été observé de lésion sur le muscle en profondeur. Il n'y a également aucune trace d'inflammation à ce stade. Pour J<sub>4</sub> et J<sub>7</sub>, l'étude a uniquement été poursuivie avec la puissance la plus élevée. A J<sub>4</sub>, ils ont observé un afflux massif de cellules inflammatoires (macrophages et granulocytes) au niveau de la lésion. En revanche, aucun lymphocyte n'a été observé. A J<sub>7</sub>, les mêmes observations ont été réalisées. A ce stade, la ré-épithélialisation de la plaie était complète avec un tissu de granulation formé en dessous. Des cellules géantes plurinucléées étaient présentes dans ce tissu favorisant l'élimination des débris.

En ce qui concerne les zones de nécrose de coagulation, elles étaient séparées du reste du tissu par de fines bandes de collagène. Les fibres d'élastine qui ont été fortement désorganisées par l'application de la sonde se sont progressivement réorganisées et ont retrouvé leur orientation parallèle à la surface de la corde vocale même si un certain nombre sont restées perpendiculaires à celle-ci [9]. Divi a mis en évidence que la surface lésée thermiquement était plus petite mais également que les résidus de nécrose de coagulation n'étaient pas assimilés à un corps étranger par l'organisme, observations réalisées par Jako après avoir appliqué un dispositif laser CO<sub>2</sub> sur des cordes vocales de chien [17]. En outre, la cicatrice semblait moins volumineuse avec la coblation® ce qui s'est traduit par des changements de voix peu importants.

### 3.7. Détermination des critères d'étude d'innocuité

En raison du faible nombre de publications portant sur ce sujet et afin d'établir la liste des critères à observer pendant une étude d'innocuité de la coblation® dans le traitement des plaies cutanées, un inventaire des études similaires portant sur d'autres dispositifs tels que le laser CO<sub>2</sub> ou le bistouri électrique a été réalisé.

Concernant l'évolution macroscopique des plaies, les paramètres fréquemment étudiés sont : les pertes sanguines (aspect semi-quantitatif) [2, 27], l'inflammation (érythème, œdème, douleur) [13, 43], les signes d'infection (présence de sérosités ou de pus) [2, 13], les signes de déhiscence de plaie [13].

La douleur post-opératoire est également un critère évalué dans le cas de plusieurs groupes pour lesquels les incisions sont réalisées avec un seul instrument [2, 19, 23, 37].

Pour l'étude histologique des plaies, les prélèvements sont majoritairement colorés à l'hémalum-éosine [16, 27, 29, 33, 43] même si d'autres colorations plus spécifiques sont également utilisées telles que le Ki67 qui permet de détecter les cellules en cours de multiplication [29] ou le Picrosirius rouge qui permet une meilleure visualisation des fibres de collagène [32].

Le principal critère étudié est la profondeur de la zone de nécrose de coagulation. C'est une zone où le collagène va subir une condensation et une hyalinisation associées à une perte de la structure fibrillaire [33]. Certains étudient uniquement la profondeur maximale [27, 29, 33], d'autres la profondeur en plusieurs points sur le même prélèvement pour obtenir une profondeur moyenne [16], d'autres étudient la profondeur maximale et la largeur [32, 33], voire

parfois l'aire totale calculée à partir de ces deux mesures [43]. Ces mesures sont réalisées majoritairement à  $J_0$  à l'aide de grilles de lecture calibrées, mais également parfois à l'aide de logiciels.

Les autres paramètres étudiés sont l'infiltration par des cellules inflammatoires (nature et évaluation semi-quantitative) [29, 43], la régénération de l'épithélium (observation semi-quantitative [43] ou dénombrement du nombre de cellules en activité dans les couches basale et parabasale [29]), la formation de néofibrilles de collagène (évaluation semi-quantitative) [32, 43] et la néovascularisation (étude semi-quantitative) [32].





## DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale

L'objectif de cette étude a été de tester l'innocuité de la technique sur le tissu cutané en recherchant d'éventuelles répercussions néfastes sur la cicatrisation cutanée. Pour cela, des suivis macroscopiques et histologiques de la cicatrisation de plaies cutanées chirurgicales traitées ou non par coblation® ont été effectués sur des porcs sains pendant 21 jours.

### 1. MATERIELS ET METHODES

#### 1.1. Les animaux

Cette étude a été réalisée sur un effectif total de 11 porcs femelles pesant entre 10 et 15 kg. Douze animaux ont été livrés dix jours avant le début de l'étude pour leur laisser un temps d'acclimatation. Chaque animal était identifié par une boucle auriculaire indiquant un numéro de 1 à 12. Ils ont été manipulés quotidiennement durant cette période. Au cours de cette période, un animal (n°6) a présenté une arthrite septique grave du jarret ne rétrocedant pas au traitement médical, ce qui a imposé son exclusion de l'étude.

En raison de la durée de chaque étape, l'effectif a été réparti, aléatoirement, en deux groupes en fonction de leur numéro de boucle auriculaire : groupe 1 comprenant les boucles 1 à 7 et le groupe 2 les boucles de 8 à 12.

Les animaux ont été maintenus dans des enclos respectant les consignes de logement des animaux d'expérimentation. Pendant la période d'acclimatation, les animaux étaient dans le même enclos adapté à leur nombre puis placés dans des enclos individuels la veille de l'intervention au moment de la mise à jeûn (Figure 20). L'ensemble du protocole a été validé par le comité d'éthique Toxométhique de Toulouse-Midi Pyrénées.



**Figure 20 : Porc femelle avec boucle auriculaire en enclos individuel**

## 1.2. Protocole anesthésique

Les animaux ont été mis à la diète hydrique 12 heures avant chaque intervention. Ils ont été pesés la veille de chaque intervention.

- **Intervention initiale**

A J<sub>0</sub>, jour de réalisation des plaies chirurgicales, les animaux ont été prémédiqués à l'aide d'une injection d'acépromazine (Calmivet<sup>ND</sup>) (Tableau 2). Un cathéter a été placé à l'oreille (veine auriculaire) afin de réaliser l'induction à l'aide de thiopental (Nesdonal<sup>ND</sup>) en titration sans excéder la dose de 15 mg/kg par voie intraveineuse (Figure 21). L'entretien de la narcose a été assuré au masque avec un mélange d'oxygène et d'isoflurane entre 1 et 1,5 %. Après induction, tous les animaux ont été placés sous monitoring ECG pour toutes les procédures.



**Figure 21 : Porc sous anesthésie au masque, cathéter posé à la veine auriculaire**

A la fin de l'intervention, le réveil a été induit en supprimant l'administration d'isoflurane tout en conservant l'apport d'oxygène. Aux premiers signes de réveil, les animaux ont été placés dans une cage individuelle de réveil équipée d'une lampe chauffante et conservés sous surveillance (Figure 22). Une fois le réveil complet, chaque animal a été replacé dans sa loge.



**Figure 22 : Porc en cage de réveil équipée d'une lampe chauffante**

L'analgésie a été réalisée par injection intraveineuse de chlorhydrate de morphine immédiatement après l'induction (Tableau 2). Des administrations supplémentaires étaient prévues à 2h, 6h puis 12h en fonction des besoins, évalués par un examen clinique suivant la table d'évaluation de la douleur aiguë de 4AVet.

- **Prélèvements des plaies**

Les jours de prélèvement des plaies, le protocole anesthésique a été modifié afin de tenir compte d'une part de la durée plus réduite de la procédure mais également de la préservation des veines auriculaires. La première semaine, les prélèvements étaient réalisés tous les 2 jours, ce qui risquait de compromettre l'état des veines auriculaires et donc la mise en place de cathéter. Ainsi, 1 fois sur 2, les inductions ont été réalisées :

- soit en IV en prenant soin de changer d'oreille à chaque fois ;
- soit en IM.

La prémédication a été identique à celle de J<sub>0</sub>. L'analgésie a été réalisée par une injection de chlorhydrate de morphine en intramusculaire (Tableau 2).

Après induction, tous les animaux ont été placés sous monitoring ECG pour toutes les procédures.

	Protocole n° 1	Protocole n° 2
Prémédication	acépromazine 1,1 mg/kg IM	acépromazine 1,1 mg/kg IM
Induction	thiopental 15 mg/kg IV	kétamine 33 mg/kg IM
Maintenance	isoflurane 1 – 1,5 %	
Analgésie	chlorhydrate de morphine 0,2 mg/kg IV	chlorhydrate de morphine 0,2 mg/kg IM

**Tableau 2 : Synthèse des protocoles anesthésiques**

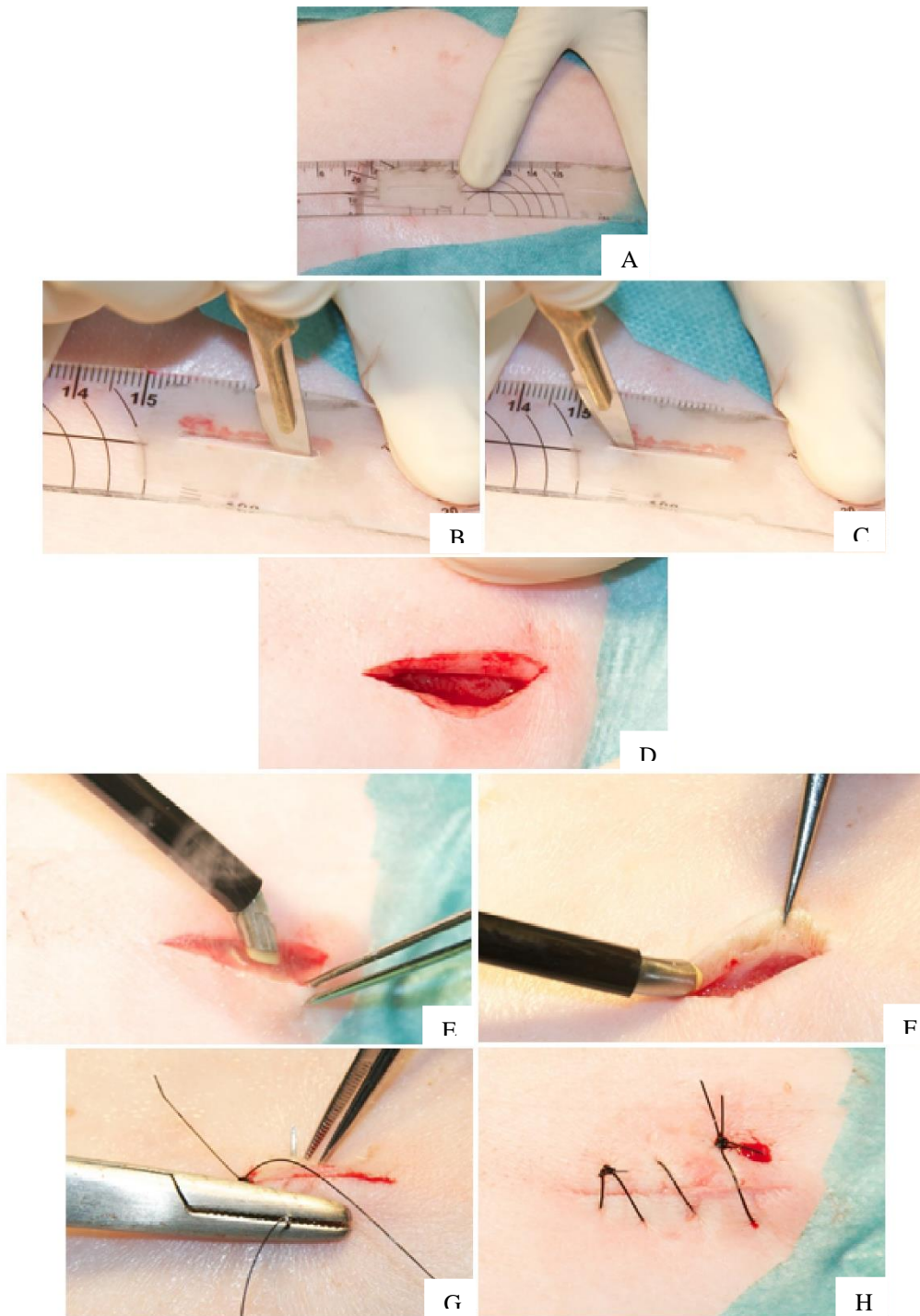
## 1.3. Procédure chirurgicale

### 1.3.1. Création des plaies à Jo

Les animaux ont été placés en décubitus ventral sur une alèse afin de les isoler de la table chirurgicale. La totalité du dos a été tondu et désinfectée de façon chirurgicale : 5 lavages/rinçages à l'aide respectivement de chlorhexidine savon et de NaCl 0,9 % stérile puis 1 irrigation à l'aide de chlorhexidine solution.

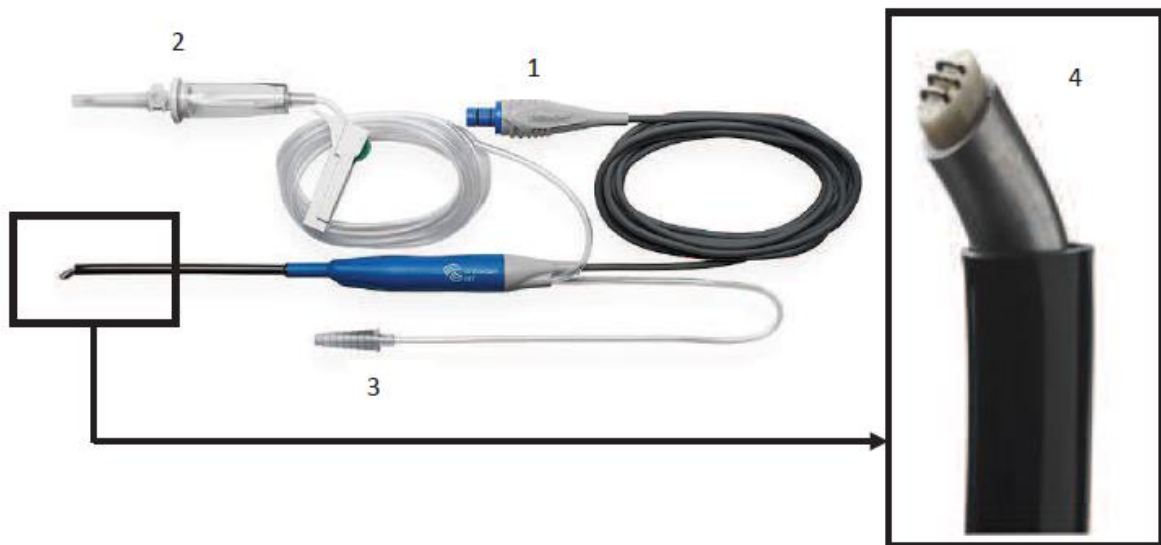
Après avoir placé un champ chirurgical fenestré stérile à usage unique, 6 incisions rectilignes ont été réalisées à l'aide d'un bistouri à lame froide de part et d'autre du rachis cervical, thoracique et lombaire soit 12 incisions. Chaque incision mesurait 2 cm de longueur, longueur obtenue à l'aide d'un gabarit stérile, créé pour l'étude (Figure 23A à D). Toutes les plaies situées d'un même côté du rachis ont été traitées par coblation®. Au préalable, le côté et l'ordre de réalisation (coblation® ou témoin) ont été fixés aléatoirement à l'aide d'une table de randomisation.

Le traitement par coblation® a consisté à appliquer la sonde de coblation EVac® 70 Xtra HP Coblation Wand (ArthroCare) pendant 2 secondes sur la totalité des marges de la plaie (Figure 24). Le diamètre de la sonde mesurant un peu plus de 3 mm, 4 applications successives ont été nécessaires pour couvrir toute la longueur de la première marge puis 4 applications à nouveau pour la seconde marge (Figure 23E et F). La plaie a ensuite été suturée de façon conventionnelle par un surjet de 4 points à l'aide d'un fil monobrin non résorbable (Ethilon<sup>ND</sup>, décimale 2, Ethicon Inc) (Figure 23G et H).



**Figure 23 : Réalisation des plaies coblatées**

A : positionnement du gabarit ; B et C : incision de la peau au bistouri à lame froide à l'aide du gabarit ; D : plaie cutanée de 2 cm de longueur coblatée ; E et F : application de la sonde de coblation® sur les marges de la plaie d'un côté puis de l'autre ; G : suture de la plaie ; H : plaie suturée



**Figure 24 : Sonde de coblation EVac® 70 Xtra HP Coblation Wand de chez Arthrocare [35]**

1 : liaison au générateur ; 2 : tubulure apportant la solution saline ; 3 : tubulure d'aspiration ; 4 : sonde

L'autre rangée de 6 incisions a servi de témoin. Ces incisions ont immédiatement été suturées après leur création par un surjet de 4 points réalisé avec un fil monobrin non résorbable (Figure 25).



**Figure 25 : Plaie témoin et suture**

Le positionnement du gabarit et l'incision sont réalisés comme sur la Figure 23A à C. A : plaie cutanée de 2 cm de long non coblatée ; B : suture de la plaie ; C : plaie suturée

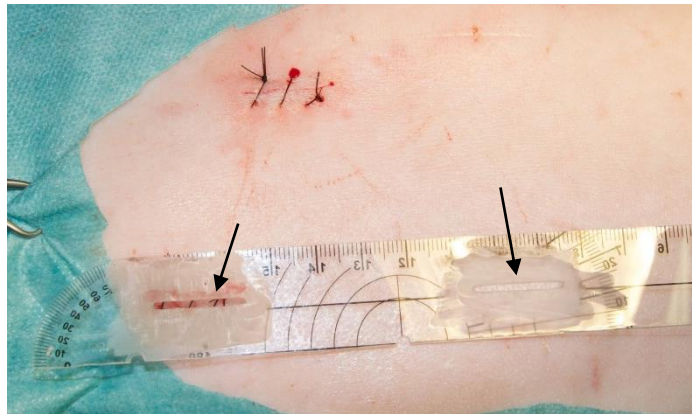
En pratique, en suivant l'attribution aléatoire, la 1<sup>ère</sup> incision a débuté en région cervicale :

- soit à droite, soit à gauche ;
- était soit coblatée ou servait de témoin.

L'incision suivante a été réalisée de l'autre côté du rachis, débutant légèrement caudalement à la 1<sup>ère</sup> incision (Figure 26). Ainsi, les incisions des 2 rangées étaient légèrement placées en quinconce les unes par rapport aux autres.



Entre chaque incision d'un même côté, un intervalle de 5,5 cm a été respecté grâce au gabarit (Figure 26 et Figure 27).



**Figure 26 : Gabarit pour la réalisation des incisions**



**Figure 27 : Emplacement des 12 incisions sur le dos du cochon**

Une fois les 12 incisions suturées, deux premières plaies suturées (une coblatée et une témoin) ont immédiatement été prélevées (cf. 1.3.2 pour la procédure de prélèvement).

Toutes les plaies suturées ont été protégées par l'application d'un pansement liquide vétérinaire (KATUOR Film®) (Figure 28). Chaque plaie, associée à une règle souple, a été photographiée à l'aide d'un appareil photo numérique Nikon D90 (Figure 29).



**Figure 28 : Application du pansement liquide**





**Figure 29 : Positionnement de la règle souple et réalisation des photos des plaies**

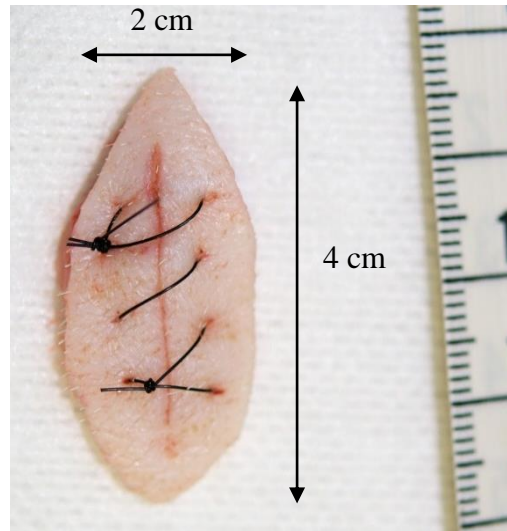
### *1.3.2. Réalisation des prélèvements*

L'ordre des prélèvements a été établi de façon à limiter les interférences d'un prélèvement sur l'évolution de la plaie située à proximité. Ainsi, les 2 premières plaies (coblatée + témoin) ont été prélevées au niveau d'une extrémité : les 2 plaies les plus caudales de chaque rangée (plaies n° 6D et 6G), situées sur la croupe, ont été prélevées à J<sub>0</sub>. Ensuite, il a été décidé de ne jamais prélever 2 plaies successives. Le planning suivant a été établi :

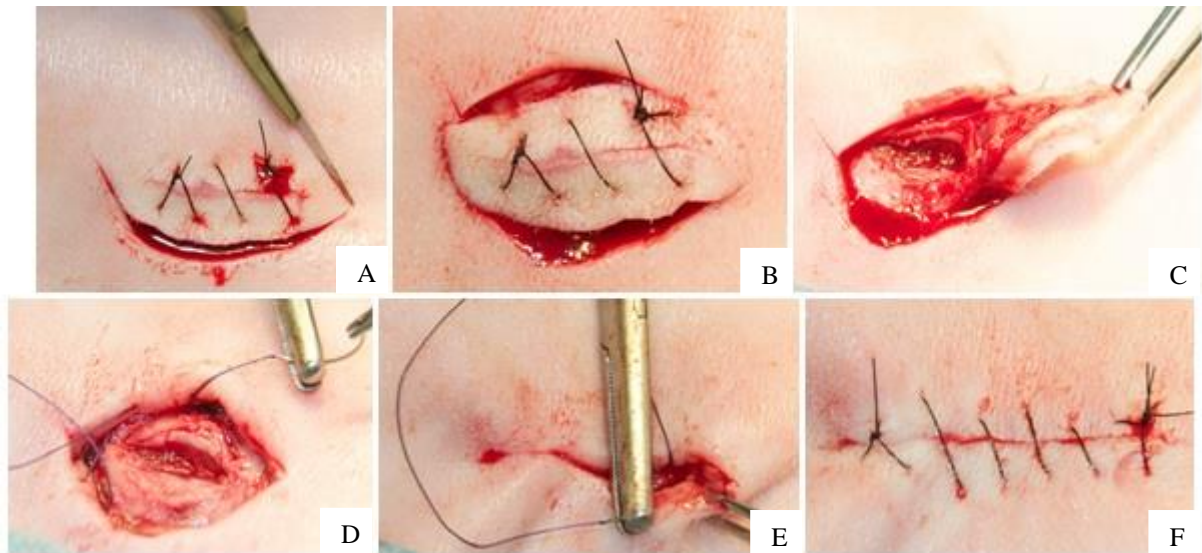
- J<sub>2</sub> : plaies n° 4 D et G ;
- J<sub>4</sub> : plaies n° 2 D et G ;
- J<sub>7</sub> : plaies n° 5 D et G ;
- J<sub>14</sub> : plaies n° 3 D et G ;
- J<sub>21</sub> : plaies n° 1 D et G.

Une fois anesthésiés, les animaux ont été placés en décubitus sternal. Après désinfection chirurgicale et mise en place d'un champ fenestré, 1 plaie témoin et 1 plaie traitée par coblation® ont été prélevées avec une marge de 1 cm en périphérie, soit un prélèvement de 4 cm x 2 cm environ (Figure 30). En profondeur et dans la mesure du possible, le prélèvement devait comprendre le muscle peaucier (Figure 31).

L'hémostase de la zone de prélèvement a été réalisée avant la suture finale composée d'un surjet sous-cutané (fil tressé résorbable, décimale 2 – Vicryl<sup>ND</sup>, Ethicon Inc), puis d'un surjet cutané (fil de polyamide, décimale 2 – Ethilon<sup>ND</sup>, Ethicon Inc). La suture a été recouverte de pansement liquide.



**Figure 30 : Prélèvement d'une des plaies avec des marges de 1 cm de chaque côté**



**Figure 31 : Prélèvements des plaies**

A et B : incision autour de la plaie ; C : prélèvement de la plaie ; D et E : suture sous-cutanée ; F : suture cutanée du prélèvement

Après avoir été photographié, chaque prélèvement a immédiatement été placé dans un pot contenant du formol à 10 % tamponné pour le fixer en vue de l'étude histologique.

Les animaux ont été réveillés puis replacés dans leur logette individuelle.

Au terme des 21 jours, fin de l'étude, les animaux ont été anesthésiés une dernière fois puis euthanasiés par administration d'un surdosage de barbituriques (pentobarbital sodique – Doléthal<sup>ND</sup>) en intraveineuse. Les 2 dernières plaies ont alors été prélevées en *post-mortem* immédiat.

#### 1.4. Evaluation des animaux

Une visite quotidienne a été réalisée lors de laquelle une évaluation de la douleur a été réalisée par étude du comportement des animaux. Toutes les anomalies ont été notées. Chaque plaie a été photographiée associée à la règle souple.

#### 1.5. Etude macroscopique de la cicatrisation

Les photos de J<sub>0</sub> à J<sub>7</sub> ainsi que celles de J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub> ont fait l'objet d'analyses qualitatives et/ou quantitatives.

Les paramètres quantitatifs ont été :

- la longueur des plaies, mesurée du début à la fin de l'incision ;
- la longueur du prélèvement cutané, mesurée entre les 2 extrémités de la côte de melon ;
- la largeur du prélèvement cutané, mesurée au niveau de la partie de la plus large, c'est-à-dire au milieu de la plaie ;
- la surface du prélèvement.

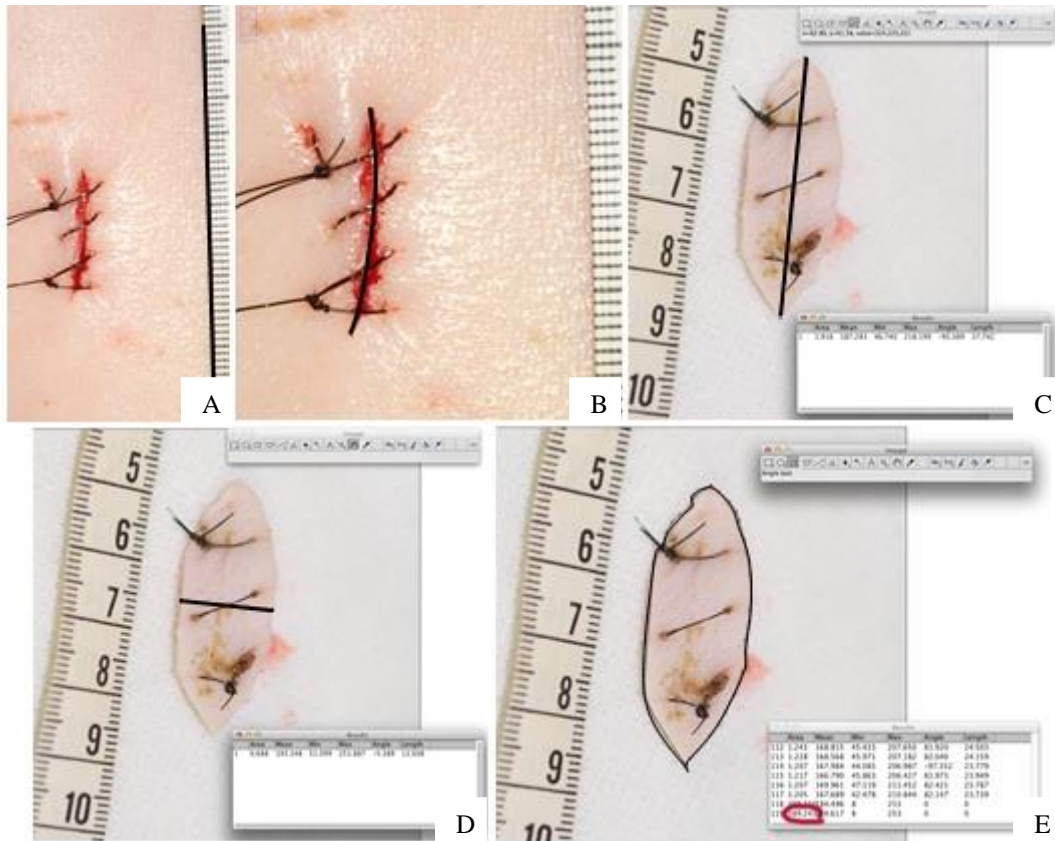
Pour cela, les photos ont été importées dans un logiciel dédié de mesures, ImageJ®, développé par W. Rasband et téléchargeable gratuitement sur le site web ([imagej.nih.gov/ij/download/](http://imagej.nih.gov/ij/download/)).

Avant de réaliser une série de mesures, le logiciel a été calibré, pour chaque photo, grâce à la règle souple située à côté de la plaie. Un trait rectiligne correspondant à 50 mm de la règle souple a été réalisé (Figure 32A). L'outil de calibrage affichait le nombre de pixels correspondant au trait tracé. Il restait alors à renseigner la correspondance en écrivant 50 mm. Les mesures pouvaient être effectuées.

La longueur de la plaie a été mesurée à l'aide de l'outil « trait fragmenté » en suivant le trajet de l'incision (Figure 32B). La longueur du segment correspondant a été obtenue en sélectionnant la fonction « Mesure ». Cinq mesures successives ont été effectuées, enregistrées et transférées dans un tableau Excel.

Les mesures de longueur et largeur des prélèvements ont été effectuées en suivant la même procédure mais en utilisant l'outil « trait droit » (Figure 32C et D).

Pour la mesure d'aire, l'outil polygone a été sélectionné (Figure 32E). La périphérie du prélèvement a été tracée, le logiciel fournissant la valeur de l'aire délimitée.



**Figure 32 : Réalisation des mesures avec le logiciel ImageJ®**

A : calibrage du logiciel ; B : mesure de la plaie ; C : mesure de la longueur du prélèvement ; D : mesure de la largeur du prélèvement ; E : détourage du prélèvement pour mesure de l'aire

L'analyse semi-quantitative des photos a porté sur la présence d'œdème, d'érythème et d'exsudat au niveau des plaies. Il a également noté la présence de sang (en nature ou séché), de croûtes et d'aliment sur les plaies. Tous ces paramètres ont été quantifiés et notés :

- 0 : absence
- 1 : quantité légère ;
- 2 : quantité modérée ;
- 3 : quantité importante.

Enfin, les paramètres qualitatifs ont été : le suivi de la cicatrisation macroscopique, l'apposition des marges par la suture, la qualité de la photo (nette ou floue), la position de la plaie dans la photo (centrée ou décalée) (Tableau 3).

Le nombre de points présents a été systématiquement noté.

Note	Apposition	Cicatrisation	Qualité photo	Position
0	Non bord à bord	Absente	Floue	Décalée
1	Bord à bord	Partielle	Nette	Centrée
2		Complète		

**Tableau 3 : Paramètres qualitatifs pour le suivi macroscopique**

Pour réaliser l'analyse statistique des résultats, des groupes de plaies ont été formés en fonction du jour de prélèvement :

- plaies 1 et 2 étudiées jusqu'à J<sub>21</sub>
- plaies 3 et 4 étudiées jusqu'à J<sub>4</sub>
- plaies 5 et 6 étudiées jusqu'à J<sub>14</sub>
- plaies 7 et 8 étudiées jusqu'à J<sub>2</sub>
- plaies 9 et 10 étudiées jusqu'à J<sub>7</sub>

Pour chacun de ces groupes, la moyenne et les écarts-types des valeurs par cinétique et par technique ont été calculés. Il a été réalisé une analyse de variance pour étudier l'évolution de chaque paramètre au cours du temps entre les deux techniques (seuil de significativité  $p \leq 0,05$ ).

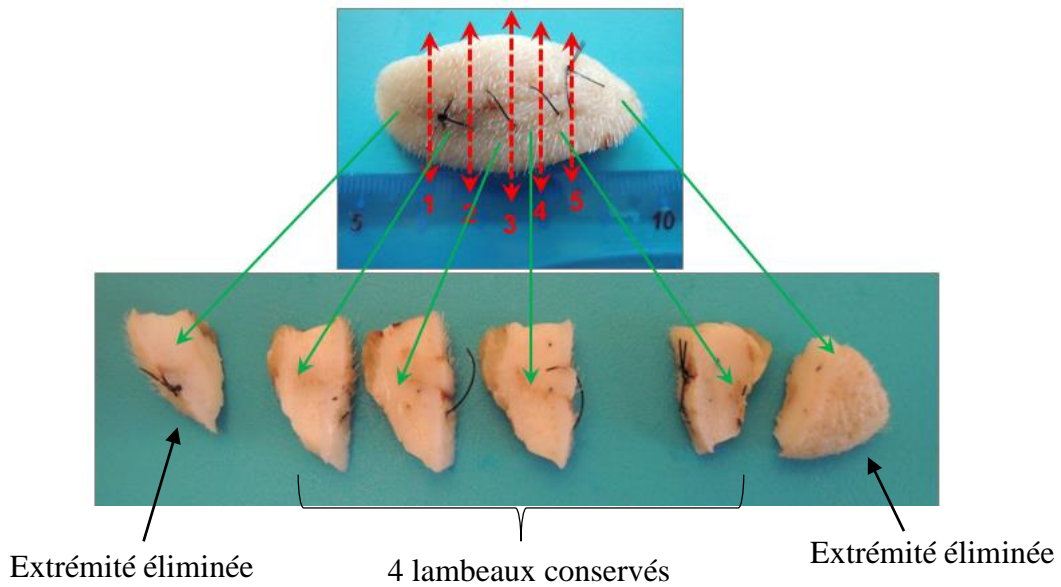
## 1.6. Préparation des lames histologiques

La technique utilisée est une technique d'histologie conventionnelle, utilisée en routine au laboratoire d'histologie de l'ENVT.

### 1.6.1. Fixation et recoupe

Les prélèvements chirurgicaux ont été fixés au formol à 10 % tamponné à la neutralité pendant 48 h avant d'être recoupés.

Lors de la recoupe, les extrémités du prélèvement localisées en zone non lésionnelle ont été éliminées. Le reste a été recoupé en 4 lambeaux (Figure 33). Les fils de suture ont délicatement été retirés et les lambeaux ont alors été placés dans des cassettes identifiées de façon standardisée pour une étape d'imprégnation (Figure 34).



**Figure 33 : Recoupe des prélèvements**



**Figure 34 : Mise en cassette des lambeaux**

#### *1.6.2. Mise en blocs*

Après l'imprégnation, les prélèvements sont positionnés de façon orientée dans de petits moules remplis de paraffine liquide : c'est l'étape d'enrobage. Après refroidissement sur la plaque froide, la paraffine durcit et les blocs sont démoulés.

#### *1.6.3. Coupe*

Une coupe de 4  $\mu\text{m}$  d'épaisseur a été réalisée pour chaque bloc de paraffine.

#### *1.6.4. Coloration*

Chaque coupe a ensuite été colorée à l'hémalun-éosine (cf. protocole en Annexe 1).

### 1.6.5. Numérisation des lames

Les lames ont ensuite été numérisées à l'aide d'un scanner de lame (Panoramic 250 Flash II–3D Histech). Elles ont ensuite été visionnées avec le logiciel Pannoramic Viewer de 3DHISTECH<sup>ND</sup>.

## 1.7. Lecture des lames

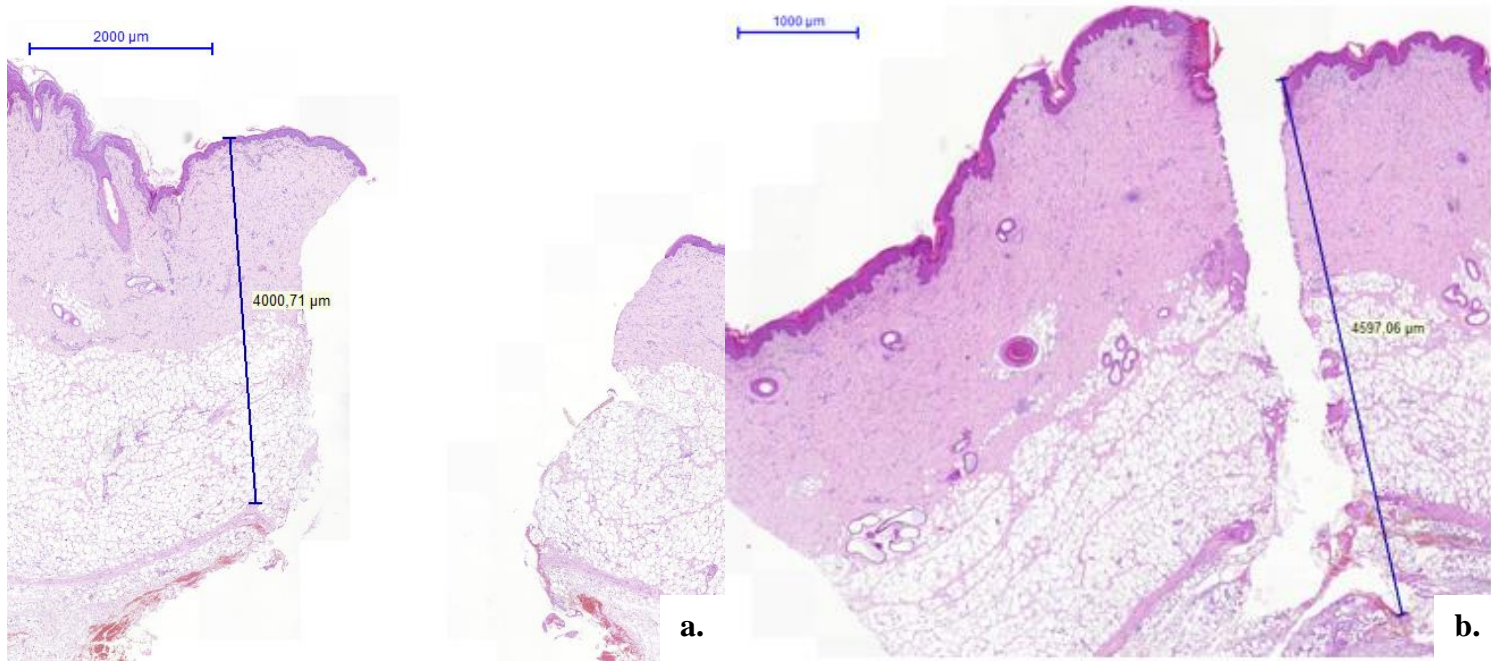
Il a été établi des grilles de lecture regroupant divers critères d'évaluation pour standardiser la lecture des lames. Les critères d'évaluation figurant dans ces grilles sont adaptés en fonction de la cinétique d'évolution des plaies. Les différents critères étudiés sont présentés ci-dessous, les grilles détaillées sont présentées en annexe.

### 1.7.1. Critères d'évaluation des cinétiques précoces ( $J_0$ , $J_2$ , $J_4$ )

- *Profondeur de la plaie* : la mesure a été réalisée au plus proche de la plaie, perpendiculairement à la surface de l'épiderme (Figure 35). Les adaptations suivantes ont été effectuées :

- si la plaie entière est visible : mesure de la distance entre l'épiderme et le fond de la plaie ;
- si le fond de la plaie n'est pas visible (cf. Figure 35 a. : les deux héli-plaies ne sont pas adhérentes et se sont probablement détachées lors de la coupe des prélèvements), ce qui est le cas sur la majorité des stades précoces : mesure de la distance entre l'épiderme et un plan conjonctif. Dans la mesure du possible, le plan conjonctif le plus profond a été retenu.

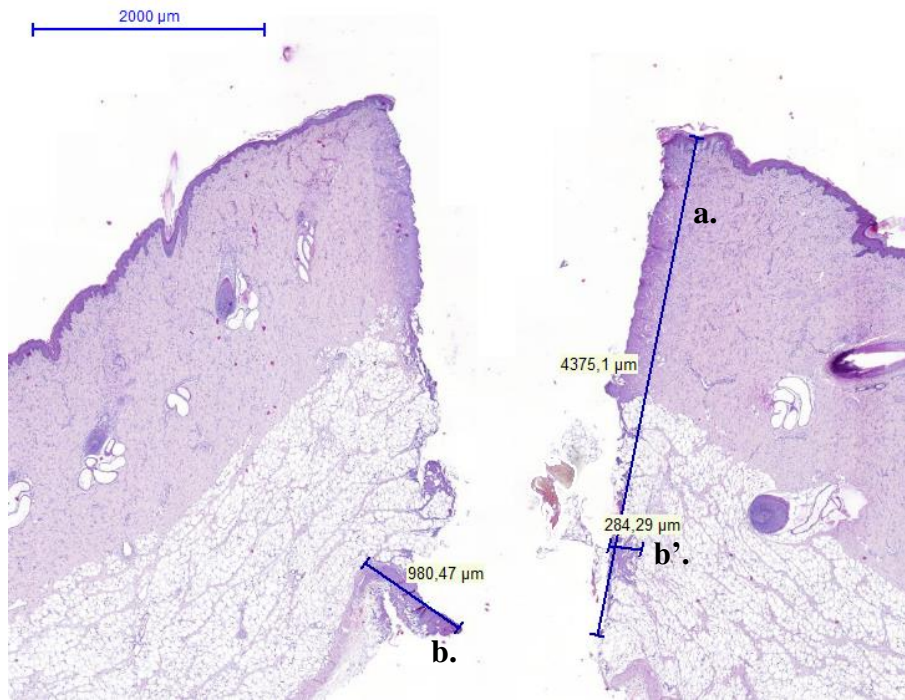




**Figure 35 : Mesure de la profondeur de la plaie – a. plaie incomplète : mesure jusqu’au premier plan conjonctif ; b. plaie complète**

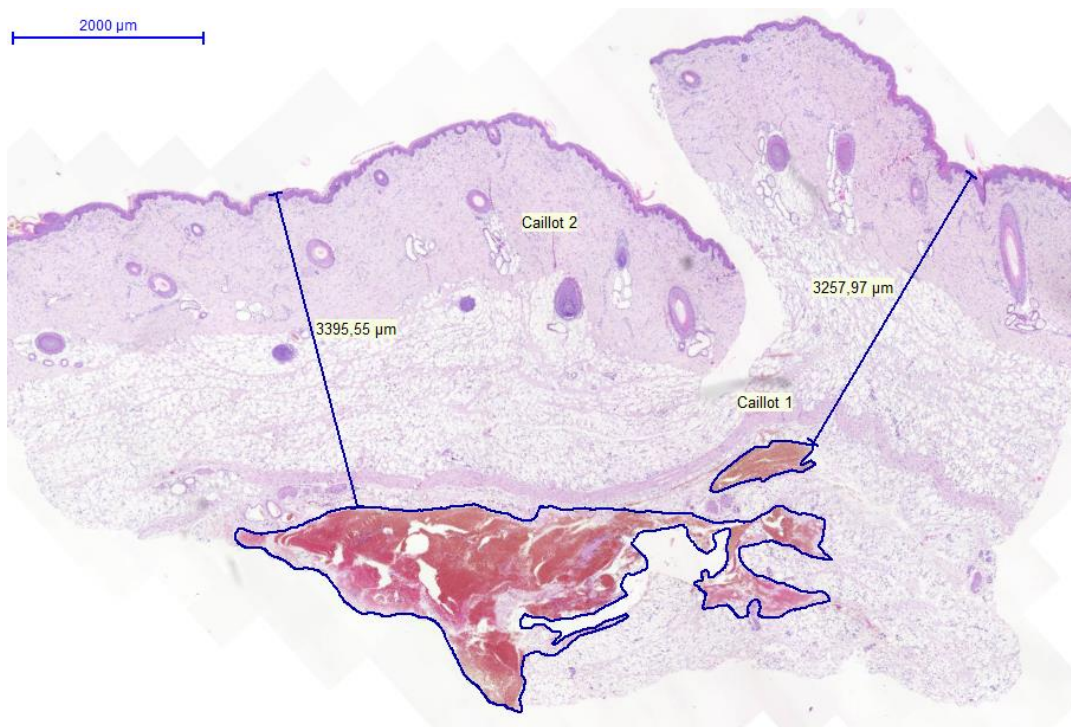
- *Ré-épithélialisation* : il a été recherché si l’épithélialisation était complète. Deux cas de figure se sont présentés :
  - soit l’épithélialisation était incomplète : le nombre de cellules épithéliales épidermiques a été compté à gauche et à droite de l’incision, représentant le nombre d’assises en marge de l’incision ;
  - soit l’épithélialisation était complète : les cellules épithéliales épidermiques à l’aplomb de la plaie ont été comptées, représentant le nombre d’assises sur l’incision.
- *Zone de coblation®* : évaluation de la taille de la zone tissulaire modifiée par l’application de la coblation® (Figure 36) :
  - mesure de la profondeur : distance entre l’épiderme et la fin de la zone coblatée, la mesure étant perpendiculaire à la surface de la peau ;
  - mesure de l’épaisseur maximale de chaque côté de la plaie, représentant la distance maximale entre les marges de la plaie et la fin de la zone de coblation®.





**Figure 36 : Evaluation de la taille de la zone de coblation® – a. mesure de la profondeur ; b. et b'. mesure de l'épaisseur maximale de chaque côté de la plaie**

- *Hémorragie/caillot* : détournage de la zone hémorragique ou du caillot et mesure de l'aire grâce au logiciel. La position de la zone a été enregistrée en mesurant la distance entre la partie superficielle de la zone et la surface de la peau (Figure 37).



**Figure 37 : Détournage des caillots ou des zones hémorragiques et localisation en profondeur**

- *Œdème* : évaluation semi-quantitative de l'œdème dans le derme adipeux. L'œdème interstitiel s'identifie comme une collection liquidienne entre les cellules qui est visualisée comme des espaces optiquement vides dissociant les composants tissulaires.

- *Autres signes vasculaires* : évaluation semi-quantitative de la congestion vasculaire et de la leucostase. La congestion vasculaire correspond à une dilatation des vaisseaux sanguins avec accumulation de globules rouges (principalement des veines), alors que la leucostase correspond à une accumulation de globules blancs marginés dans les vaisseaux.

- *Inflammation* : évaluation de l'inflammation sur la partie superficielle et la partie profonde de la plaie :

- nature : détermination de la nature des cellules inflammatoires ;
- intensité : évaluation semi-quantitative.

- *Tissu de granulation* : présence ou non de fibroblastes/myofibroblastes activés colonisant le caillot dans la plaie à partir des berges tissulaires.

- *Néovascularisation* : présence ou non de néovaisseaux dans le tissu de granulation.

- *Point de suture* : détermination du nombre de points sur le prélèvement.

#### 1.7.2. Critères d'évaluation de J<sub>7</sub>

Les critères « profondeur de la plaie », « ré-épithélialisation », « zone de coblation® », « hémorragie/caillot », « œdème », et « point de suture » des cinétiques précoces ont également été évalués. Quatre nouveaux paramètres ont été recherchés :

- *Dilatation des lymphatiques* : évaluation semi-quantitative de la dilatation des vaisseaux lymphatiques.

- *Au niveau de la partie superficielle de la plaie (derme collagénique)* :

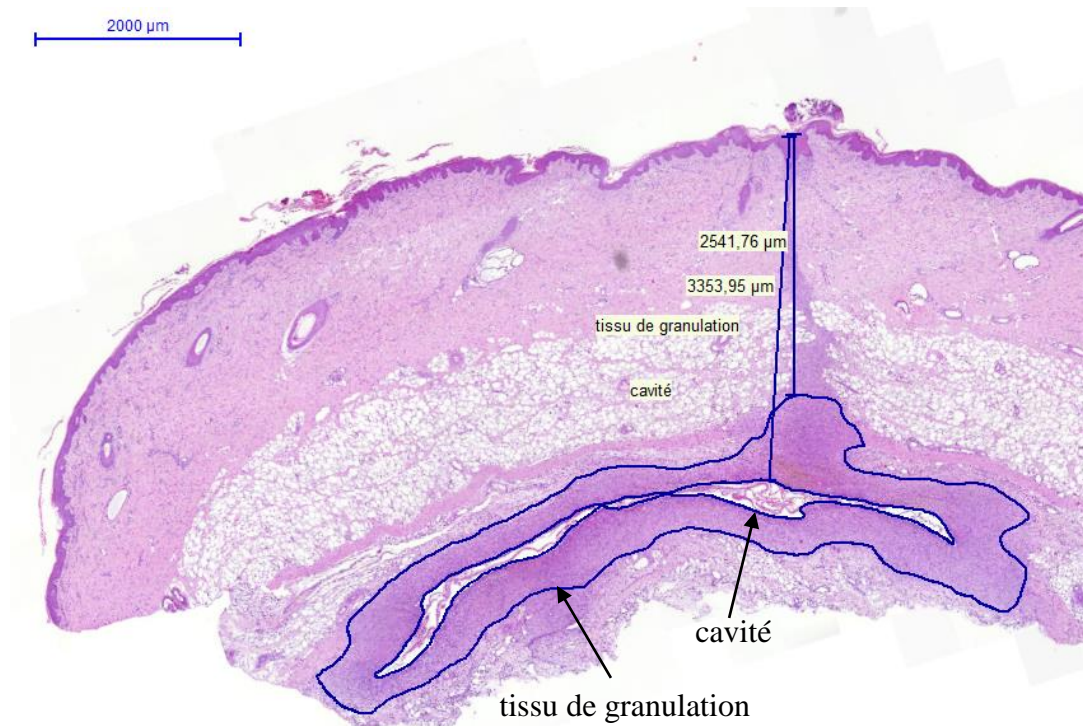
- densité fibroblastique : évaluation du pourcentage de fibroblastes/myofibroblastes dans les zones de fibroplasie ;

- synthèse/dépôt de collagène : évaluation de la quantité et de la maturité du dépôt de la matrice extracellulaire collagénique dans le tissu de fibroplasie.

- *Au niveau de la partie profonde de la plaie (derme adipeux)* (Figure 38) :

- colonisation conjonctive du tissu de granulation : détournage du tissu de granulation ou de la zone de colonisation conjonctive, puis mesure de l'aire et localisation par rapport à la surface de la peau ;

○ cavitation profonde : détournage de la cavitation, mesure de l'aire, localisation par rapport à la surface de la peau et description de la nature du contenu de la cavitation (exsudat, flammèches de fibrine, cellules...).



**Figure 38 : Détournage du tissu de granulation et de la cavité dans le derme adipeux et localisation en profondeur**

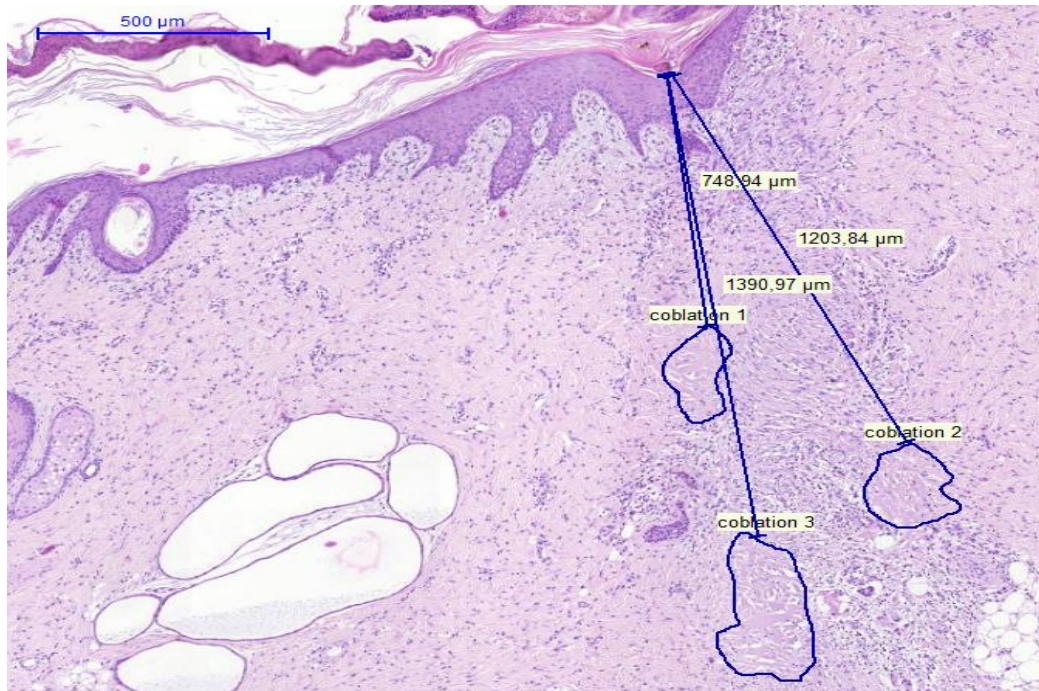
- *Néovascularisation* : évaluation semi-quantitative.

### 1.7.3. Critères d'évaluation des cinétiques tardives ( $J_{14}$ , $J_{21}$ )

Les critères « profondeur de la plaie », « ré-épithélialisation », « œdème », « dilatation lymphatique », « néovascularisation », et « point de suture » ont été évalués de la même manière qu'à  $J_7$ .

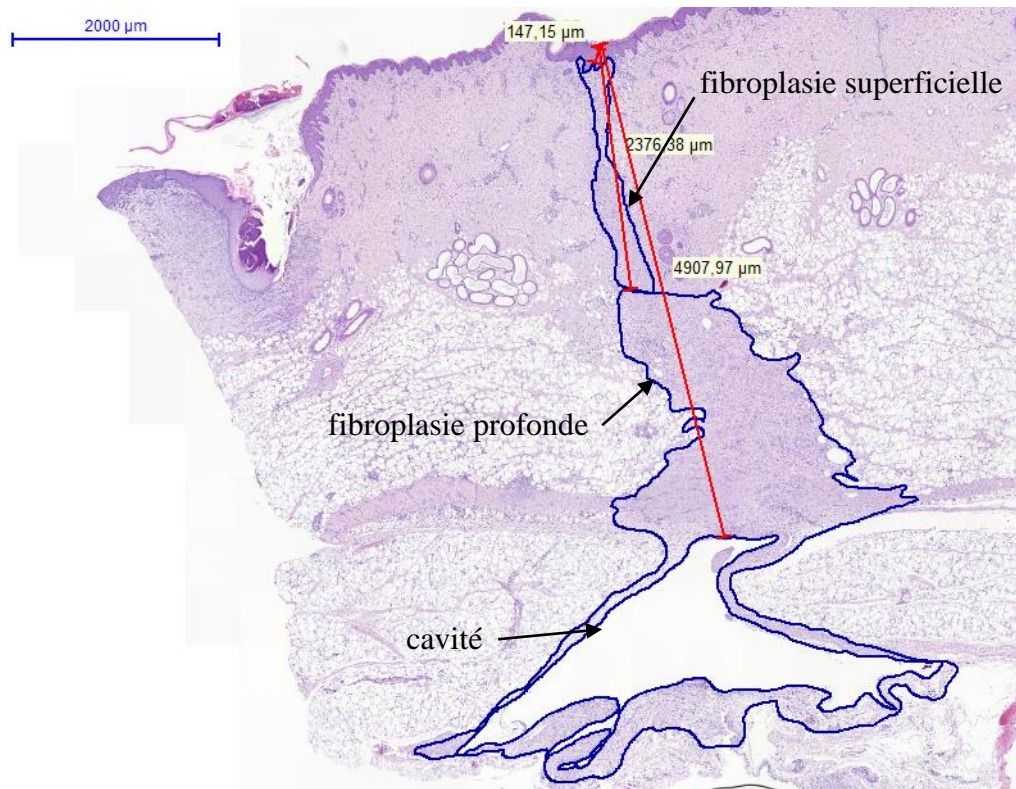
- *Reliquat de coagulation* : détournage des foyers de coagulation protéique de coblation®, mesure de l'aire et localisation par rapport à la surface de la peau (Figure 39).





**Figure 39 : Détourage des reliquats de coblation® et localisation en profondeur**

- *Au niveau de la partie superficielle de la plaie (derme collagénique) (Figure 40) :*
  - fibroplasie superficielle : détourage du tissu de fibroplasie (ou cordon de cicatrisation), mesure de l'aire et localisation par rapport à la surface de la peau ;
  - densité fibroblastique et synthèse/dépôt de collagène dans le cordon cicatriciel : évaluation du pourcentage de fibroblastes/myofibroblastes et évaluation de la maturité du dépôt de collagène (cf. J<sub>7</sub>).
- *Au niveau de la partie profonde de la plaie (derme adipeux) (Figure 40) :*
  - fibroplasie profonde : détourage du tissu de fibroplasie, mesure de l'aire et localisation par rapport à la surface de la peau ;
  - cavitation profonde : idem qu'à J<sub>7</sub>.



**Figure 40 : Détourage du tissu de fibroplasie et de la cavité et localisation en profondeur**

Pour toutes les évaluations semi-quantitatives, la note suivante a été attribuée :

- 0 : absence
- 1 : légère
- 2 : modérée
- 3 : sévère

Une moyenne des résultats obtenus pour une cinétique et une technique a été obtenue suivie d'une analyse de variance pour étudier l'évolution des différents paramètres au cours du temps et en fonction des deux techniques.

## 2. RESULTATS

L'objectif de cette étude est de comparer l'évolution morphologique des plaies chirurgicales et d'en décrire les mécanismes tissulaires de cicatrisation identifiables.

### 2.1. Résultats macroscopiques

- Qualité et positionnement des photos

Sur 770 photos réalisées, il a été dénombré 180 floues (23,4 %) et 38 photos mal positionnées (4,9 %) dont 18 à la fois floues et mal positionnées (2,3 %) (Tableau 4).

Photos floues		Répartition par jour									
	Nombre	0	1	2	3	4	5	6	7	14	21
Témoin	88	3	24	3	13	8	18	13	4	1	1
Coblatées	92	5	10	2	15	7	21	19	7	3	3
<b>Total</b>		<b>8</b>	<b>34</b>	<b>5</b>	<b>28</b>	<b>15</b>	<b>39</b>	<b>32</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
Mauvaise position											
Témoin	25	3	5	1	6	1	4	4		1	
Coblatées	13	4	1	1			3	3			1
<b>Total</b>		<b>7</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>7</b>		<b>1</b>	<b>1</b>

**Tableau 4 : Répartition des photos floues/mal positionnées en fonction du jour de prise de la photo**

Dans la majorité des cas, les photos floues et/ou mal positionnées ont été réalisées en dehors des jours de prélèvements (jours 1, 3, 5 et 6) soit respectivement 73,9 % et 68,4 % des cas.

Certaines plaies se sont avérées être plus délicates que d'autres à photographier (Tableau 5). En effet, les plaies 1, 2, 5, 6, 9 et 10 ont représenté 87,8 % des photos floues. L'effet est moins évident pour le positionnement.

Photos floues		Numéro des plaies									
	Nombre	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Témoin	88	14	14	3	2	16	10	4	1	14	10
Coblatées	92	15	17	3	7	12	13	1	1	13	10
<b>Total</b>		<b>29</b>	<b>31</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>28</b>	<b>23</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>27</b>	<b>20</b>
Mauvaise position											
Témoin	25	3	5	3	2	4		2		3	3
Coblatées	13		3		1	5	1				3
<b>Total</b>		<b>3</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>2</b>		<b>3</b>	<b>6</b>

**Tableau 5 : Répartition des photos floues/mal positionnées en fonction du numéro de la plaie**

- Propreté des plaies

Les plaies étaient régulièrement souillées par la présence d'aliment ± associé à des copeaux de litière. Au total, 401 plaies ont été dénombrées soit 52,1 %.

La quantité d'aliment collé sur les plaies a varié de faible à importante (Tableau 6).

Quantité	Nombre	Témoin	Coblaté
Faible	190	105	85
Modérée	169	73	96
Importante	42	15	27

**Tableau 6 : Répartition de la quantité d'aliments sur les plaies au long de l'étude**

Il n'y a pas eu de différence significative entre les 2 groupes. Toutes les plaies étaient uniformément touchées. En revanche, les plaies étaient uniquement souillées les jours 1, 3, 5 et 6 soit les jours sans prélèvement.

- Longueur de plaie

Toutes localisations confondues, les plaies témoins mesuraient  $21,14 \pm 1,62$  mm à  $J_0$  versus  $21,28 \pm 1,57$  mm pour les plaies coblatées.

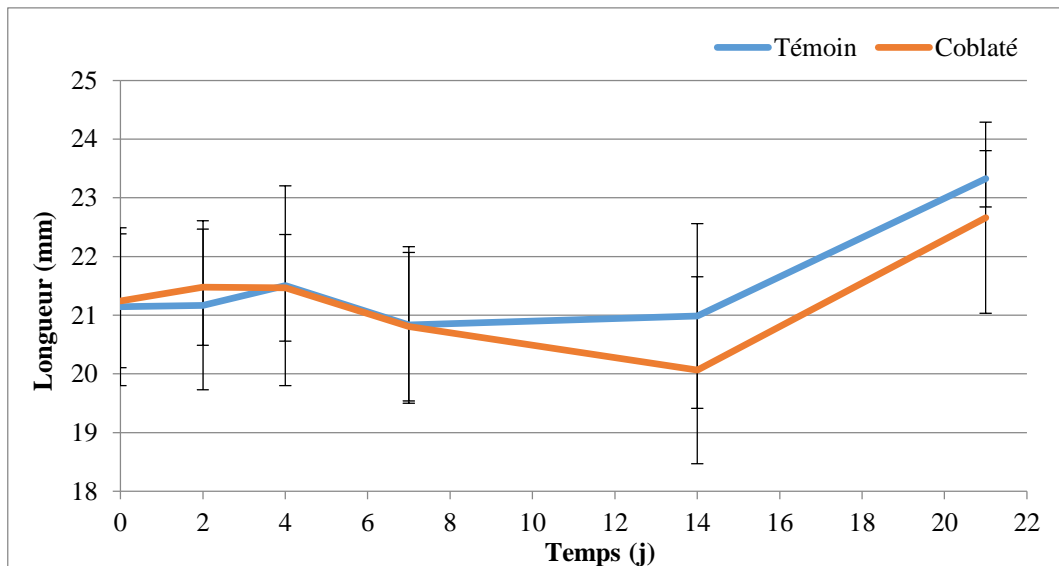
Le paramètre longueur de plaie n'a présenté aucune différence significative entre :

- toutes les plaies coblatées versus les plaies témoins ;
- au sein d'un groupe de plaies (1-2, 3-4, 5-6, 7-8 et 9-10), les plaies coblatées ont évolué comme les plaies témoins à tous les temps (Tableau 7).

Date	Témoin	Coblaté
$J_0$	$20,64 \pm 1,55$ mm	$20,63 \pm 1,28$ mm
$J_1$	$21,34 \pm 1,62$ mm	$21,69 \pm 1,82$ mm
$J_2$	$21,11 \pm 1,54$ mm	$21,15 \pm 1,20$ mm
$J_3$	$21,21 \pm 1,70$ mm	$21,52 \pm 1,57$ mm
$J_4$	$21,26 \pm 1,54$ mm	$21,38 \pm 1,28$ mm
$J_5$	$21,59 \pm 2,1$ mm	$22,01 \pm 1,68$ mm
$J_6$	$21,30 \pm 1,69$ mm	$21,24 \pm 1,75$ mm
$J_7$	$20,77 \pm 1,31$ mm	$20,86 \pm 1,46$ mm
$J_{14}$	$21,71 \pm 1,62$ mm	$20,43 \pm 2,09$ mm
$J_{21}$	$23,33 \pm 0,48$ mm	$22,66 \pm 1,63$ mm

**Tableau 7 : Evolution de la longueur de la plaie au cours du temps**

L'augmentation des écarts entre les plaies coblatées et témoins à partir de  $J_{14}$  a pour origine la diminution du nombre de mesures réalisées (Figure 41). En effet, à  $J_{14}$  et  $J_{21}$ , la cicatrisation des plaies rendait impossible les mesures, les limites devenant invisibles. Ainsi, à  $J_{14}$ , pour les 2 traitements, il manquait respectivement 12 et 9 mesures pour les plaies témoins et coblatées ; à  $J_{21}$ , il ne restait plus que 2 plaies mesurables pour chaque type de plaies.



**Figure 41 : Suivi de la longueur de la plaie (groupe de plaies 1-2)**

Les écarts-types ont été importants pour ce paramètre. Les principales raisons des variations ont pour origine la présence de quelques photos de qualité médiocre, de la présence de sang ou de croûtes recouvrant la plaie.

- Sang frais – séché

La présence de sang frais a presque exclusivement été observée à J<sub>0</sub>. 92 plaies ont été concernées dont 6 en-dehors de J<sub>0</sub>. La répartition a été la suivante :

- 2 plaies témoins à J<sub>1</sub> ou J<sub>7</sub> ;
- 4 plaies coblatées à J<sub>1</sub>, J<sub>3</sub> ou J<sub>6</sub>.

Excepté 1 cas, l'origine de ces saignements tardifs n'a pas été identifiée, le dernier cas ayant développé un abcès sous-cutané qui s'est vidangé à J<sub>3</sub>.

A J<sub>0</sub>, il a été noté une répartition des saignements assez homogène (Tableau 8).

Quantité	Nombre	Témoin	Coblaté
Faible	55	34	21
Modérée	24	6	18
Importante	7	1	6
<b>Total</b>	<b>86</b>	<b>41</b>	<b>45</b>

**Tableau 8 : Répartition des saignements à J<sub>0</sub>**

Les différences ne sont pas significatives mais les saignements plus importants tendent à être observés sur les plaies coblatées. Il n'a pu être mis en évidence une prédisposition pour certaines plaies.



Le sang séché a principalement été observé sur les premiers jours, avec une prépondérance pour J<sub>1</sub> et J<sub>3</sub>. 133 plaies ont été dénombrées. La quantité de sang observée a varié de façon assez équilibrée de faible à importante (Tableau 9).

Quantité	Nombre	Témoin	Coblaté
Faible	46	33	13
Modérée	45	21	24
Importante	42	13	29
<b>Total</b>	<b>133</b>	<b>67</b>	<b>66</b>

**Tableau 9 : Répartition du sang séché au long de l'étude**

Globalement, il n'y a pas eu de différence significative entre plaies coblatées et témoins, les saignements importants étant pourtant plus fréquemment rencontrés sur les plaies coblatées.

- Présence de croûtes sur les plaies

Toutes les plaies ont pu être recouvertes par des croûtes à un moment de l'étude. Il a été dénombré 450 cas soit 58,4 % des plaies, avec 203 plaies témoins et 247 coblatées (Tableau 10).

Quantité faible		Répartition par jour									
	Nombre	0	1	2	3	4	5	6	7	14	21
Témoin	168		7	25	28	35	20	18	21	11	3
Coblaté	104		5	16	19	18	12	10	9	13	2
Quantité modérée											
Témoin	33			3	7	4	5	7	5	2	
Coblaté	115		2	15	17	19	18	16	19	5	4
Quantité importante											
Témoin	2								2		
Coblaté	28		2	2	4	6	3	5	5	1	
<b>Total témoin</b>		<b>0</b>	<b>7</b>	<b>28</b>	<b>35</b>	<b>39</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>28</b>	<b>13</b>	<b>3</b>
<b>Total coblaté</b>		<b>0</b>	<b>9</b>	<b>33</b>	<b>40</b>	<b>43</b>	<b>33</b>	<b>31</b>	<b>33</b>	<b>19</b>	<b>6</b>

**Tableau 10 : Répartition des croûtes en fonction des cinétiques**

Pour ce paramètre, les croûtes recouvrant les plaies témoins étaient de plus faible taille que celles recouvrant les plaies coblatées. Les croûtes étaient également plus souvent présentes les jours 3, 5 et 6.

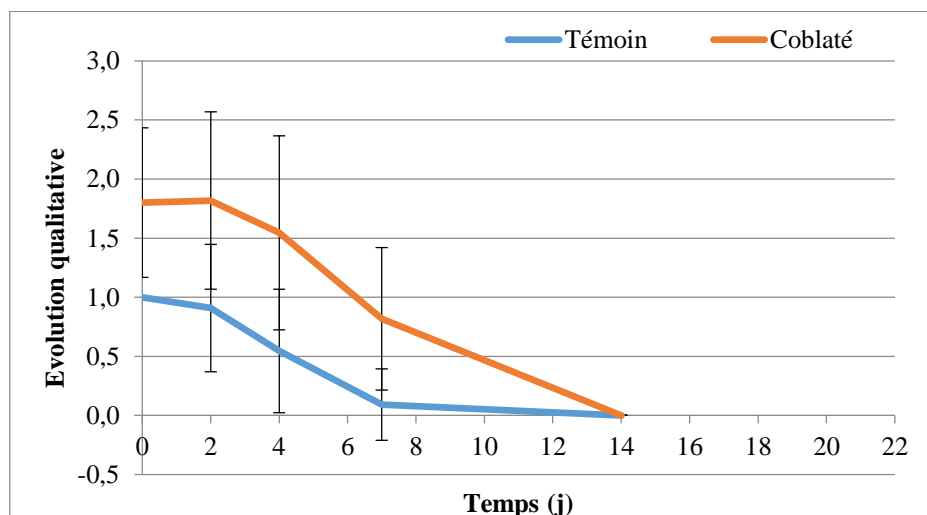
- Erythème

542 plaies ont présenté de l'érythème soit 70,4 %. L'intensité a varié de faible à importante (Tableau 11).

Intensité	Nombre	Témoin	Coblaté
Faible	328	183	145
Modérée	174	58	116
Importante	40	5	35
<b>Total</b>	<b>542</b>	<b>246</b>	<b>296</b>

**Tableau 11 : Répartition et intensité de l'érythème au long de l'étude**

La comparaison des plaies témoins et des plaies coblatées a mis en évidence que l'érythème était globalement plus intense pour les plaies coblatées (Figure 42). Jusqu'à J<sub>7</sub>, les différences entre plaies témoins et coblatées ont été significatives, excepté les plaies 3-4. Après J<sub>7</sub>, aucune plaie n'a présenté d'érythème.



**Figure 42 : Evolution de l'érythème au cours du temps (groupe de plaies 5-6)**

0 : absence d'œdème ; 1 : œdème léger ; 2 : œdème marqué ; 3 : œdème sévère

Les érythèmes de plus forte intensité ont été associés à des abcès (3 cas de plaies coblatées) ou des retards de cicatrisation (3 cas de plaies témoins insuffisamment cicatrisées).

- Œdème

46 cas ont été identifiés, représentant seulement 17 plaies. Dans 10 cas, les plaies concernées ont été les plaies 9 et 10. L'intensité de l'œdème a varié de faible (6 cas), modérée (9 cas) à importante (2 cas) (Tableau 12).

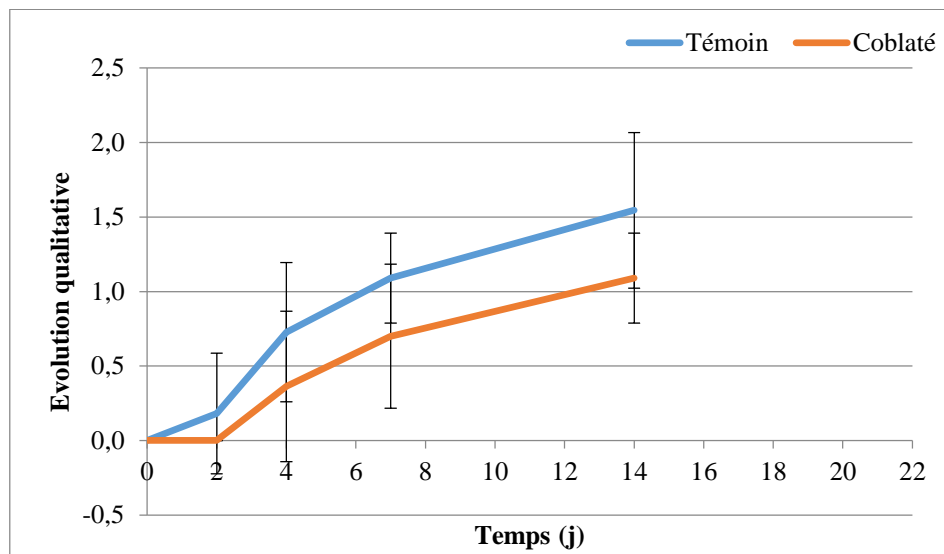
Intensité	Sans clinique		Avec clinique	
	Témoin	Coblaté	Témoin	Coblaté
Faible	2	3	0	1
Modérée	1	3	5	0
Importante	0	0	0	2

**Tableau 12 : Répartition et intensité de l'œdème au long de l'étude**

Les signes cliniques associés à l'œdème ont été des retards de cicatrisation pour les 5 plaies témoins et des abcès pour les 3 plaies coblatées.

- Cicatrisation

Les résultats ont été très variables en fonction des individus et des plaies. Les premières cicatrisations ont été observées à partir de J<sub>4</sub> pour les plaies coblatées et J<sub>2</sub> pour les plaies témoins, mais plus fréquemment à partir de J<sub>7</sub>. Elle a été globalement plus précoce et plus avancée visuellement pour les plaies témoins que pour les plaies coblatées (Figure 43).



**Figure 43 : Evolution de la cicatrisation au cours du temps (groupe de plaies 5-6)**

0 : absence de cicatrisation ; 1 : cicatrisation partielle ; 2 : cicatrisation complète

Ces observations sont identiques sur les autres groupes de plaies. A J<sub>21</sub>, la cicatrisation des plaies témoins ( $1,82 \pm 0,40$ ) est également plus avancée en moyenne que celle des plaies coblatées ( $1,54 \pm 0,52$ ). Les plaies 3-4 et 7-8 n'ont pas présenté de différence significative, les prélèvements intervenant précocement (respectivement 4 et 2 jours). Pour les autres groupes de plaies, des différences significatives ont été notées :

- plaies 1-2 : à J<sub>21</sub> uniquement ;
- plaies 5-6 : à partir de J<sub>6</sub> ;

- plaies 9-10 : à partir de J<sub>5</sub>.

Il faut noter que malgré l'aspect cicatrisé, à J<sub>21</sub>, les résultats sont proches de 2 mais ne les atteignent pas.

- Les points

Excepté une, toutes les plaies ont été suturées à l'aide de 4 points. Les points sont restés en place jusqu'à la fin de l'étude. Seules 12 plaies ont présenté des ruptures de 1 à 4 points. Dans 7 cas, la rupture a été constatée au moment du prélèvement final. La rupture n'a eu aucune répercussion car tardive.

Dans les 5 derniers cas, 4 cas n'ont présenté aucune complication. Le dernier cas a présenté un abcès.

Les ruptures de points ont été observées sur 7 plaies témoins et 5 plaies coblatées parmi lesquelles une a présenté un abcès. Aucune différence significative n'a été notée.

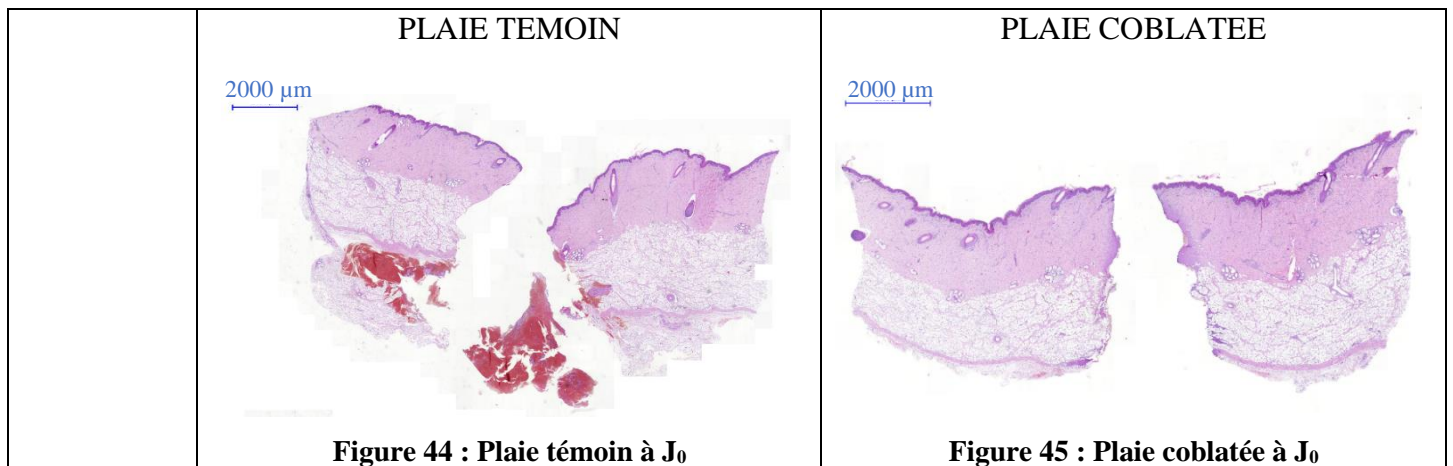
- Ecoulement

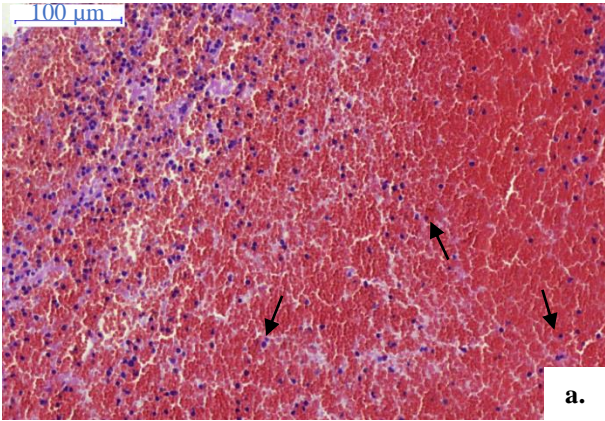
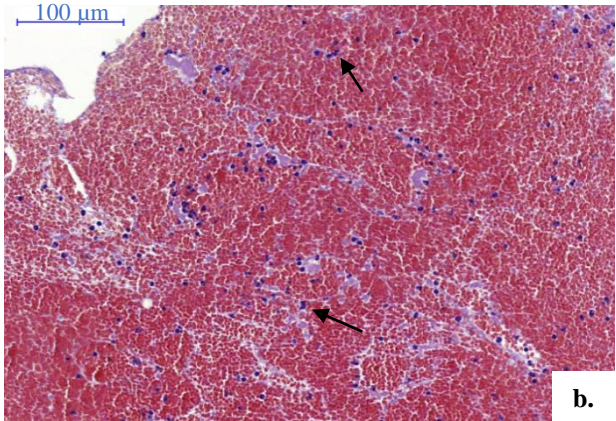
Seule une plaie a présenté un écoulement à partir de J<sub>2</sub> : c'est une des plaies coblatées sur laquelle s'est développé un abcès.

## 2.2. Résultats histologiques

Les résultats sont donnés par une illustration microscopique représentative et une description microscopique des observations. Par convention, les résultats des plaies témoins seront dans la colonne de gauche et ceux des plaies coblatées dans la colonne de droite. Les plaies sont étudiées à J<sub>0</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>4</sub>, J<sub>7</sub>, J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub>.

### 2.2.1. J<sub>0</sub>




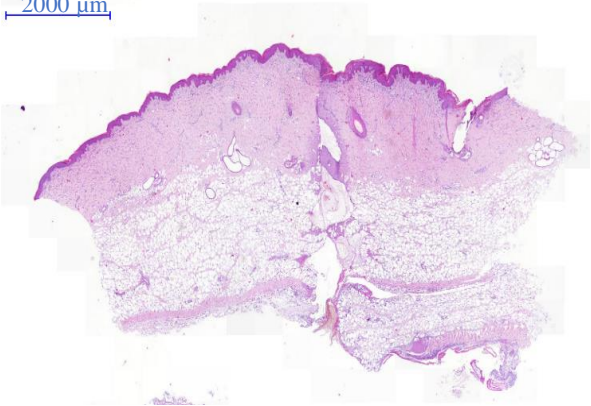
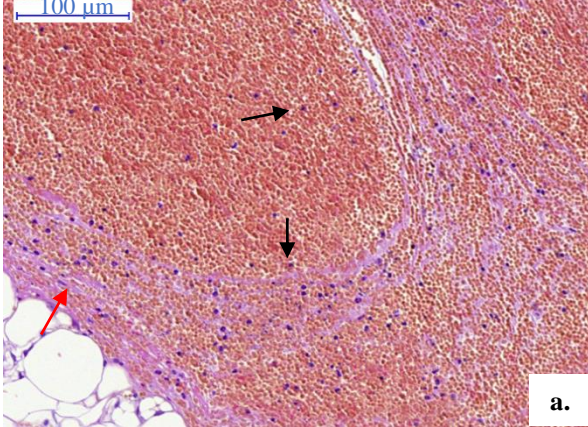
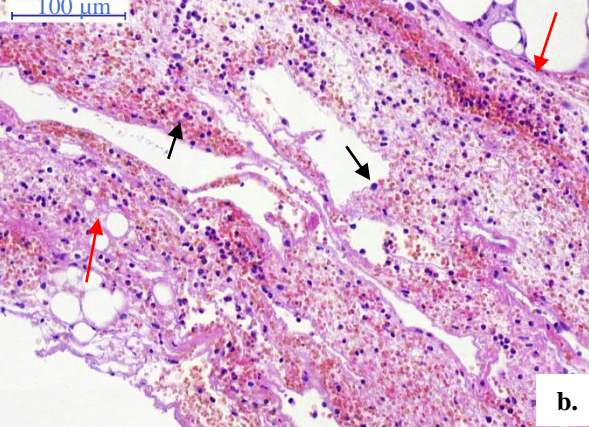
Hémorragie	De multiples plages hémorragiques assez étendues sont observées sur la majorité des plaies. Néanmoins quelques plaies (3 sur 11 soit 27 %) présentent peu ou pas de saignements. La moyenne des surfaces des plages hémorragiques est de $3,51 \pm 4,29 \text{ mm}^2$ .	Les zones hémorragiques sont rares et peu étendues lorsqu'elles existent. La moyenne de la surface des plages hémorragiques est de $1,01 \pm 1,71 \text{ mm}^2$ . Pour la majorité des plaies, bien moins de saignements sont notés par rapport aux témoins.
Nature du caillot	 <p>a.</p>	 <p>b.</p>
<p><b>Figure 46 : Plage hémorragique – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p>→ leucocytes</p>		
	Les plages hémorragiques se composent majoritairement de globules rouges agglutinés à une trame fibrineuse modérée et des leucocytes moins nombreux.	Lorsqu'elles sont présentes, la composition des plages hémorragique est identique à celle des plaies témoins.
Epaisseur et profondeur de la zone coblatée	Sans objet	La profondeur moyenne de la zone de coblation® est de $3,83 \pm 0,59 \text{ mm}$ pour une largeur de $0,82 \pm 0,38 \text{ mm}$ .

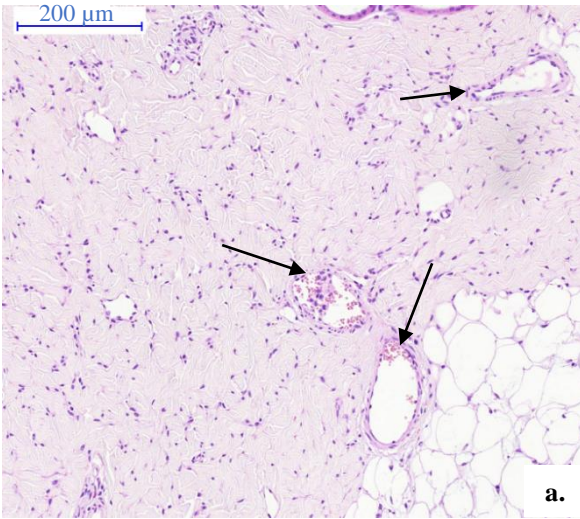
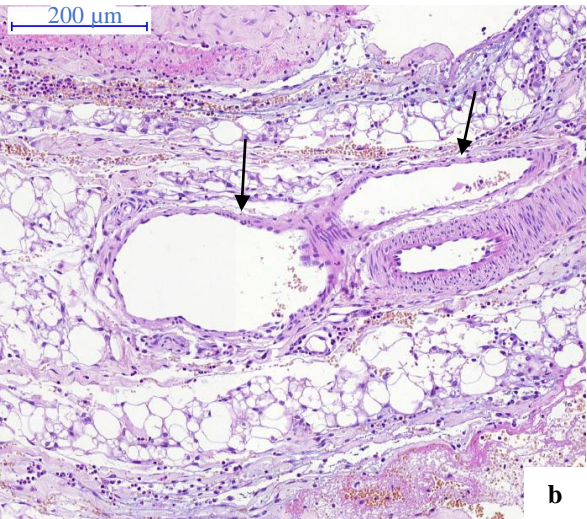
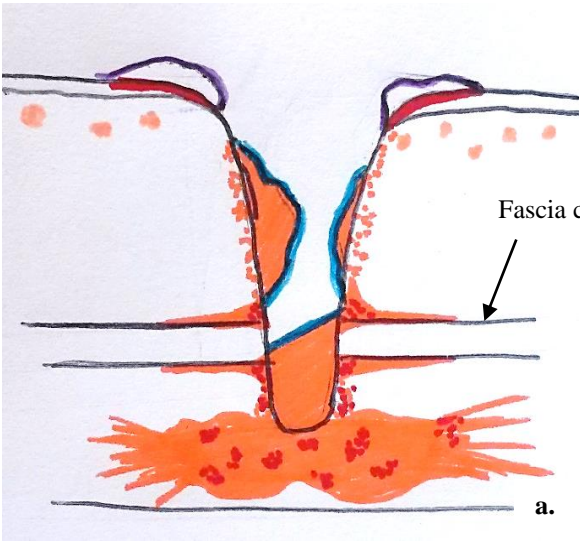
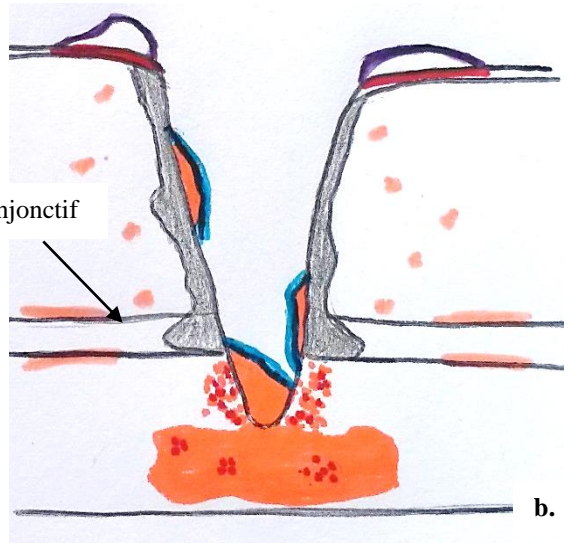
Les plaies n'ont pas commencé à évoluer, la différence principale entre les plaies du groupe témoin et les plaies coblatées est la surface de la plaque hémorragique qui est beaucoup plus importante pour les plaies témoins.

La zone de coblation® s'étend sur 4 mm de profondeur pour 0,8 mm de largeur.



2.2.2. J<sub>2</sub>

	<p style="text-align: center;"><b>PLAIE TEMOIN</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Figure 47 : Plaie témoin à J<sub>2</sub></b></p>	<p style="text-align: center;"><b>PLAIE COBLATEE</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Figure 48 : Plaie coblatée à J<sub>2</sub></b></p>
<p>Surface du caillot</p>	<p>La moyenne de la surface est de <math>2,21 \pm 2,95 \text{ mm}^2</math>, avec une surface maximale de <math>10,56 \text{ mm}^2</math> et minimale de <math>0,25 \text{ mm}^2</math>. La surface globale du caillot, composée de plages fibrino-hémorragiques, est inférieure à celle des plages hémorragiques observées à J<sub>0</sub>.</p>	<p>La surface moyenne des caillots est de <math>2,19 \pm 2,21 \text{ mm}^2</math> avec 4 plaies sur 11 (36 %) qui présentent peu ou pas de caillot alors que d'autres ont un caillot de <math>7,01 \text{ mm}^2</math>.</p>
<p>Composition du caillot</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p style="text-align: center;"><b>Figure 49 : Caillot – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p style="text-align: center;"> <span style="color: black;">→</span> leucocytes  <span style="color: red;">→</span> trame fibrineuse (coloration éosinophilique)         </p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="311 1646 901 1930" style="width: 48%;"> <p>Le caillot est principalement composé de cellules, globules rouges agglutinés et leucocytes (polynucléaires neutrophiles majoritairement). La trame fibrineuse est lamellaire et modérément développée. 27 % des plaies (3 sur 11) ont un caillot moins riche en cellules et plus fibrineux.</p> </div> <div data-bbox="917 1646 1508 1930" style="width: 48%;"> <p>Le caillot se compose principalement d'une trame fibrineuse. Les cellules sont majoritairement des polynucléaires neutrophiles et de rares globules rouges. Dans 54 % des plaies (6 sur 11), les caillots sont uniquement formés de fibrine et de cellules inflammatoires.</p> </div> </div>	

<p>Intensité de la dilatation artérielle et veineuse</p>								
<p align="center"><b>Figure 50 : Congestion de la plaie – a. en surface ; b. en profondeur</b>  → vaisseau sanguin congestionné</p>								
<p>Intensité et localisation de l'inflammation</p>								
<p><b>Figure 51 : Répartition et intensité de l'inflammation – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <table border="0"> <tr> <td><span style="border: 1px solid blue; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> caillot</td> <td><span style="background-color: orange; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> infiltration par des cellules inflammatoires légère</td> </tr> <tr> <td><span style="border: 1px solid purple; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> croûte</td> <td><span style="background-color: red; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> infiltration par des cellules inflammatoires sévère</td> </tr> <tr> <td><span style="background-color: grey; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> zone de coblation®</td> <td></td> </tr> </table>			<span style="border: 1px solid blue; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> caillot	<span style="background-color: orange; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> infiltration par des cellules inflammatoires légère	<span style="border: 1px solid purple; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> croûte	<span style="background-color: red; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> infiltration par des cellules inflammatoires sévère	<span style="background-color: grey; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> zone de coblation®	
<span style="border: 1px solid blue; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> caillot	<span style="background-color: orange; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> infiltration par des cellules inflammatoires légère							
<span style="border: 1px solid purple; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> croûte	<span style="background-color: red; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> infiltration par des cellules inflammatoires sévère							
<span style="background-color: grey; display: inline-block; width: 10px; height: 10px;"></span> zone de coblation®								
<p>En partie superficielle de la plaie, l'inflammation est légère avec de multiples petits foyers d'infiltration cellulaire inflammatoire diffus répartis dans le derme collagénique. Sous la croûte, une inflammation marquée à sévère est observée.</p>	<p>En partie superficielle, au contact de la croûte, une inflammation sévère est observée. Quelques foyers diffus sont également visualisés à distance des marges de la plaie et des zones coblatées. Les zones coblatées ne sont jamais associées à un infiltrat</p>							



	<p>L'intensité moyenne de l'inflammation superficielle est de <math>1,64 \pm 0,67</math>.</p> <p>En ce qui concerne la partie profonde, l'inflammation est plus marquée et globalement modérée à sévère (<math>2,09 \pm 0,70</math>) en fonction des animaux. Les cellules inflammatoires sont présentes de manière importante dans le caillot mais diffusent également de manière importante le long des travées conjonctives. Elles sont plus disséminées le long des marges de la plaie.</p>	<p>inflammatoire. L'intensité moyenne de l'inflammation superficielle est de <math>1,73 \pm 0,65</math>.</p> <p>Pour la partie profonde, l'inflammation se localise principalement au caillot fibrineux et dans le fond de la plaie en dessous de la zone de coblation®. Elle se retrouve également le long des travées conjonctives, à distance des marges de la plaie et son intensité est modérée à sévère (<math>2,45 \pm 0,52</math>).</p> <p>Par rapport aux plaies témoins, les plaies coblatées présentent une inflammation légèrement moins importante.</p>
Nature de l'inflammation	<p>Les polynucléaires neutrophiles sont les principales cellules inflammatoires observées lors de cette phase. Des cellules mononucléées sont également visualisées (macrophages et lymphocytes) mais celles-ci sont minoritaires.</p>	<p>Les polynucléaires neutrophiles sont les cellules inflammatoires majoritaires et sont associées à quelques cellules mononucléées.</p> <p>La nature est similaire à celle observée sur les plaies témoins.</p>
Epaisseur et profondeur de la coblation®	Sans objet	<p>La longueur moyenne de la zone de coblation® est de <math>4,01 \pm 0,33</math> mm pour une largeur de <math>1,04 \pm 0,34</math> mm. Elle a peu évolué depuis J<sub>0</sub>.</p>

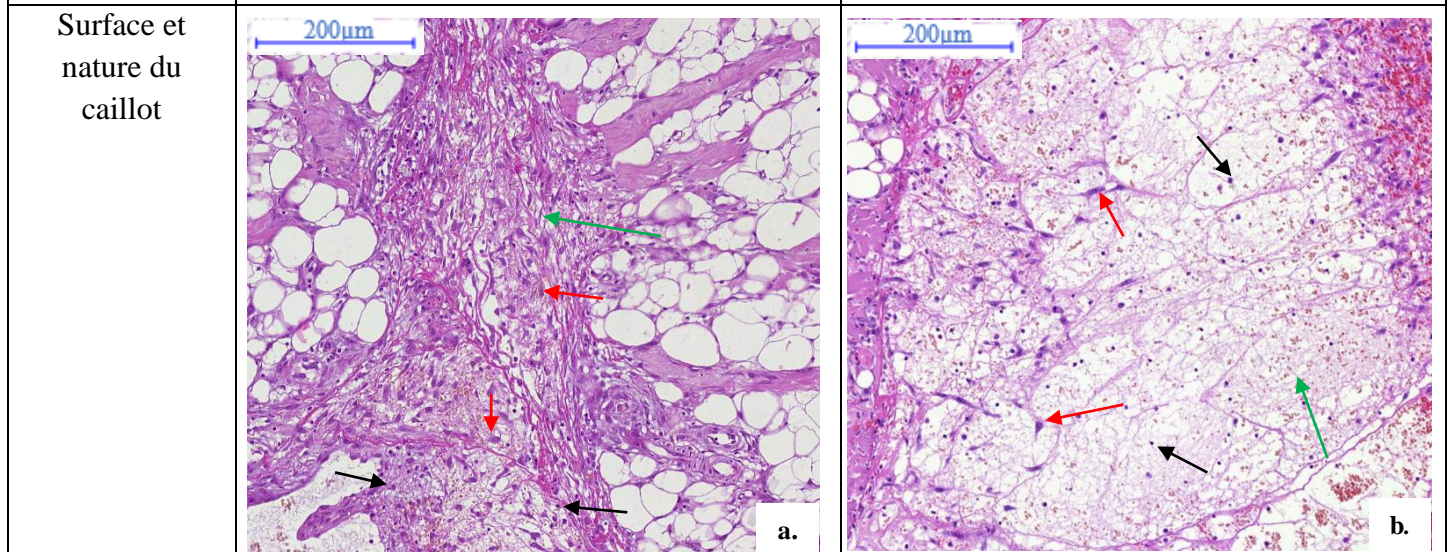
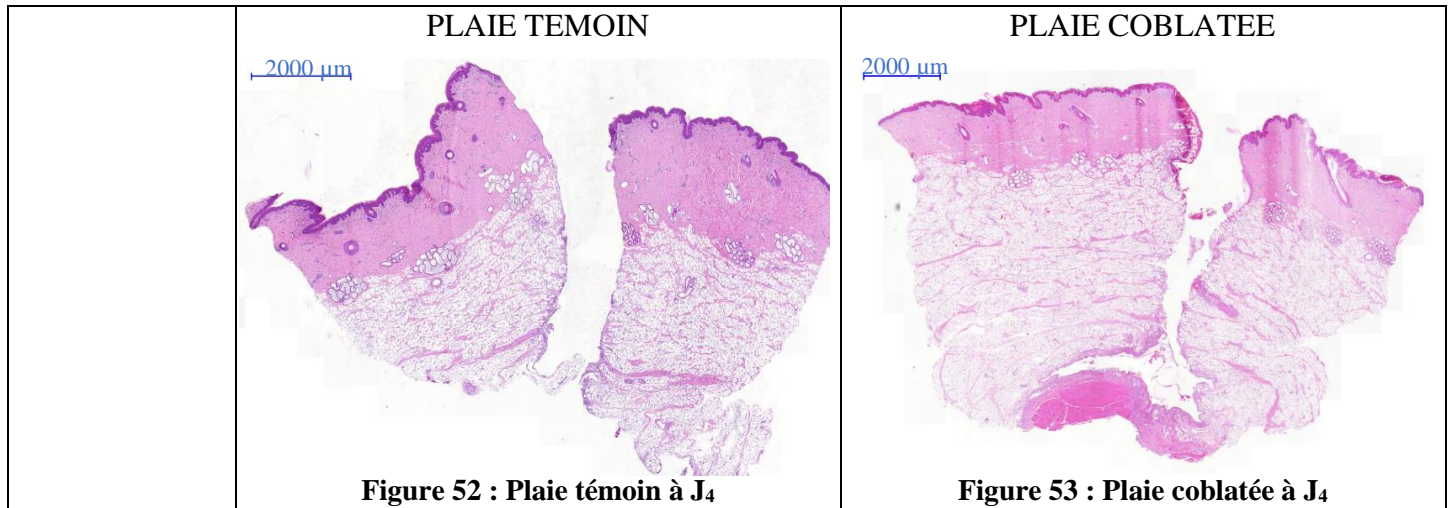
A cette cinétique, un caillot apparaît composé de cellules et d'une trame fibrineuse. Il est très différent pour les plaies témoins – très riche en cellules et évoluant à partir des plages hémorragiques de J<sub>0</sub> – et les plaies coblatées où il est principalement fibrineux.

L'inflammation apparaît également à ce stade. Les infiltrats cellulaires inflammatoires sont localisés préférentiellement sous la croûte, aux berges et au fond de la plaie ainsi que le long des travées conjonctives. Les cellules inflammatoires sont majoritairement des polynucléaires neutrophiles. Pour les plaies coblatées, ces infiltrats sont globalement moins marqués et les zones de coblation® ne présentent pas d'infiltration par des cellules inflammatoires. Ils sont associés à une congestion légère à modérée et qui est plus marquée pour les plaies coblatées.

La zone de coblation® n'évolue pas par rapport à J<sub>0</sub>.



2.2.3. J<sub>4</sub>



**Figure 54 : Caillot – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée**

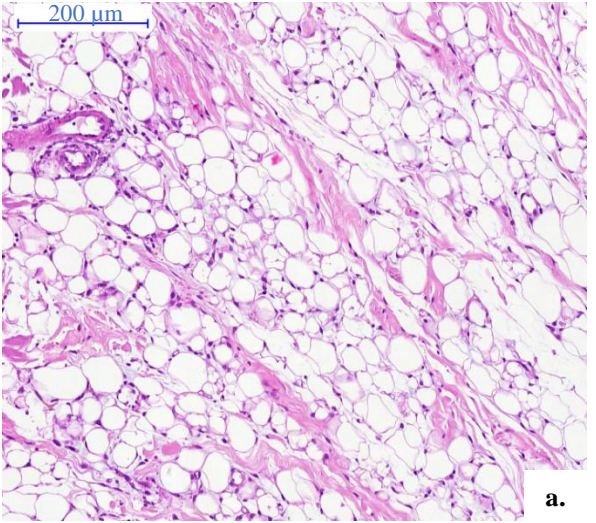
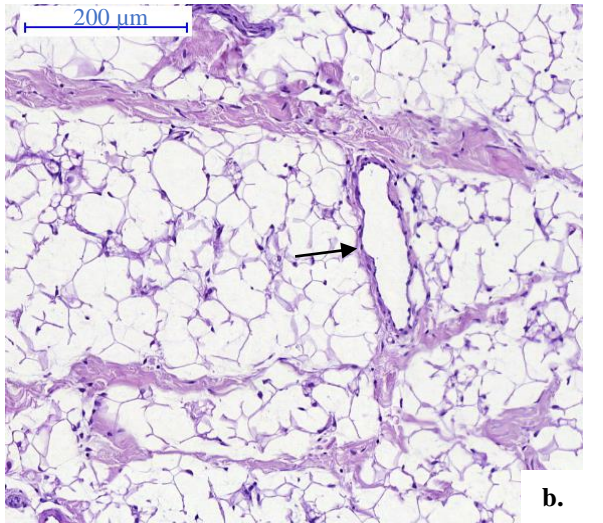
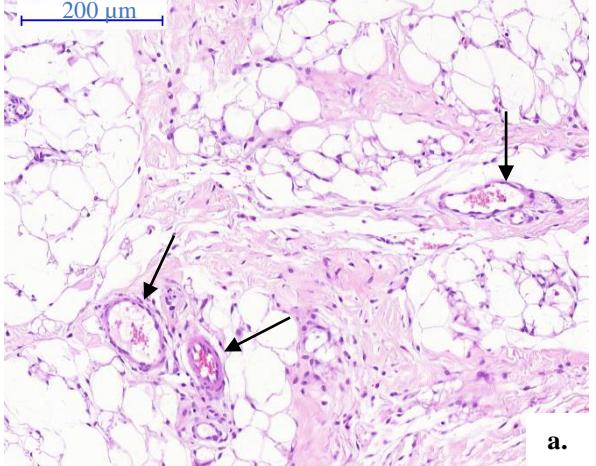
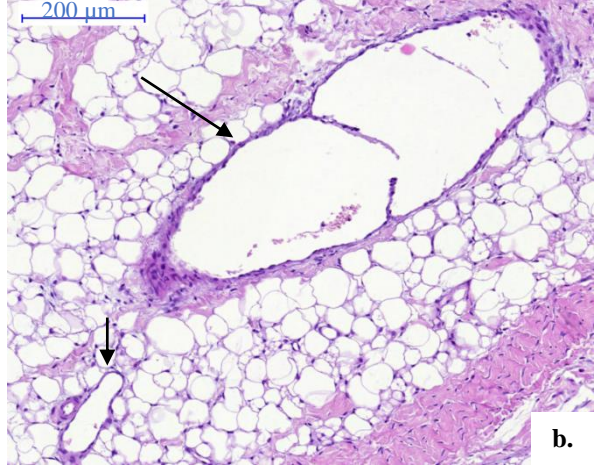
- **fibroblastes (noyaux allongés)**      → **leucocytes (noyaux ronds)**  
→ **trame fibrineuse (coloration éosinophilique)**

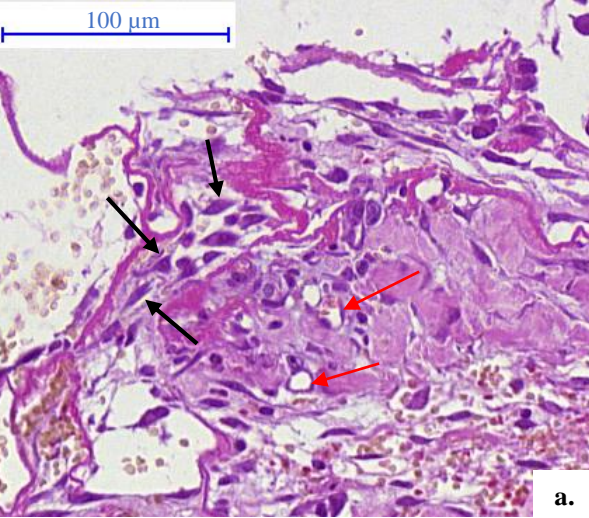
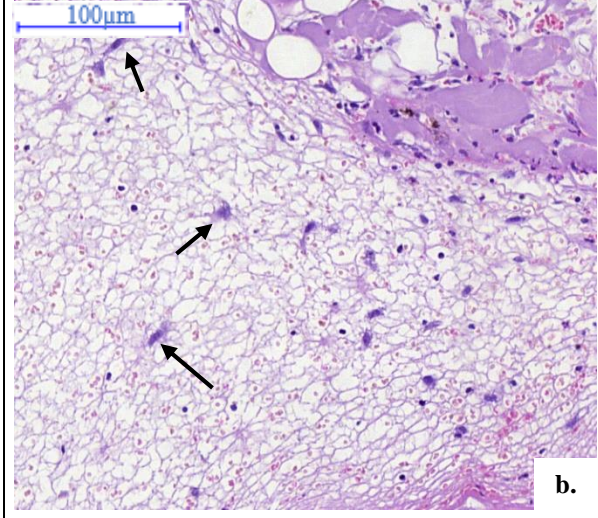
La surface moyenne du caillot a une valeur de  $0,80 \pm 0,67 \text{ mm}^2$ . Il est très cellulaire, principalement leucocytaire (polynucléaires neutrophiles majoritairement). Des fibroblastes/myofibroblastes activés (noyaux ovalaires proéminents nucléolés) commencent la colonisation du caillot à partir de sa périphérie (ou des zones bordant la plaie). La trame fibrineuse est beaucoup plus proéminente.

Outre les changements structurels, le caillot a régressé par rapport à J<sub>2</sub>.

La taille du caillot diminue à une valeur moyenne de  $1,43 \pm 1,14 \text{ mm}^2$ . Le caillot est de plus grande taille que pour les plaies témoins. Il est peu riche en cellules avec une importante trame fibrineuse même si un nombre modéré de fibroblastes en cours de colonisation est observable sur les bords du caillot.



<p>Œdème</p>	 <p>a.</p>	 <p>b.</p>
<p><b>Figure 55 : Œdème de la plaie – a. œdème interstitiel (travées blanches entre les travées cellulaires) ; b. dilatation lymphatique</b>  → vaisseau lymphatique</p>		
<p>L'œdème est léger à modéré (<math>1,04 \pm 0,69</math>) sur les différentes plaies témoins. Cet œdème est majoritairement interstitiel et sur quelques individus, une dilatation lymphatique légère est associée.</p>		<p>L'œdème est léger à modéré (<math>1,00 \pm 0,58</math>) avec une composante interstitielle majoritaire. Il est comparable à celui observé sur les plaies témoins.</p>
<p>Intensité de la dilatation artérielle et veineuse</p>	 <p>a.</p>	 <p>b.</p>
<p><b>Figure 56 : Congestion de la plaie – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b>  → vaisseau sanguin congestionné</p>		
<p>La congestion est marquée (<math>1,64 \pm 0,81</math>) avec un gradient d'intensité croissant vers le fond de la plaie.  Elle est légèrement moins marquée qu'à J<sub>2</sub> mais de manière non significative.</p>		<p>La congestion observée est marquée à sévère (<math>2,30 \pm 0,67</math>) avec un gradient d'intensité croissant de la surface vers la profondeur. Elle est nettement plus marquée que pour les plaies témoins et a légèrement diminué par rapport à J<sub>2</sub>.</p>

<p>Intensité et localisation de l'inflammation</p>	<p>L'inflammation se localise majoritairement sous la croûte, le long des travées conjonctives, sur les marges et au fond de la plaie. De petits foyers sont également visibles dans le derme collagénique. L'intensité moyenne de l'inflammation superficielle est de <math>1,223 \pm 0,65</math> et celle de l'inflammation profonde est de <math>1,54 \pm 0,52</math>.</p> <p>La localisation de l'inflammation comparable à ce qui a été observé à J<sub>2</sub> et l'intensité légèrement moins importante mais de manière non significative.</p>	<p>L'inflammation est plus marquée sous la croûte, en fond de plaie et le long des travées conjonctives, elle est absente de la zone de coblation®. Son intensité est de <math>1,55 \pm 0,76</math> en superficie et de <math>1,90 \pm 0,57</math> en profondeur.</p> <p>L'observation des lames montre que l'inflammation est globalement moins marquée que pour les plaies témoins alors que les valeurs moyennes montrent le contraire. La localisation et l'intensité restent semblables à celles de J<sub>2</sub>.</p>
<p>Nature de l'inflammation</p>	<p>La nature des cellules inflammatoires montre une majorité de cellules mononucléées, macrophages et lymphocytes. Les polynucléaires neutrophiles sont minoritaires. La nature des cellules a changé par rapport à J<sub>2</sub>.</p>	<p>Les cellules inflammatoires sont principalement mononucléées (macrophages et lymphocytes) et quelques polynucléaires neutrophiles sont présents. La nature des cellules est similaire à celle des plaies témoins.</p>
<p>Tissu de granulation : fibroblastes activés et néovascularisation</p>	 <p style="text-align: center;"><b>Figure 57 : Tissu de granulation – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p style="text-align: center;"> <span style="color: black;">→</span> <b>fibroblaste activé</b>      <span style="color: red;">→</span> <b>néovascularisation</b> </p> <p>Le tissu de granulation commence à se former avec la colonisation du caillot et des marges de la plaie par des fibroblastes/myofibroblastes activés. Des néovaisseaux en cours de formation sont associés aux fibroblastes (<math>0,54 \pm 0,52</math>).</p>	 <p>Des fibroblastes/myofibroblastes activés sont observés dans le caillot fibrineux lâche. Il n'y a pas, à cette cinétique, de néovaisseaux.</p>
<p>Epaisseur et profondeur de la coblation®</p>	<p>Sans objet</p>	<p>La zone de coblation® est de taille similaire avec une longueur de <math>4,62 \pm 1,26</math> mm et une largeur de <math>0,86 \pm 0,43</math> mm.</p>

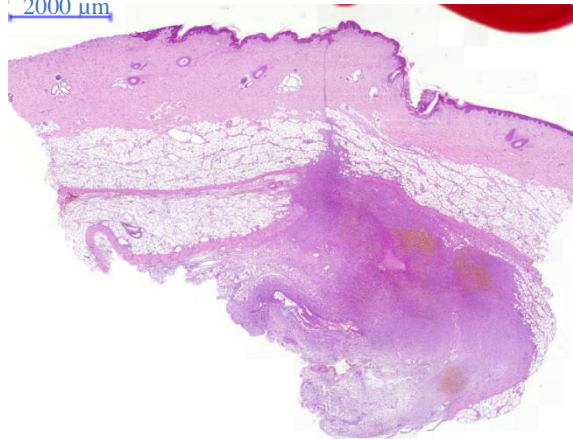
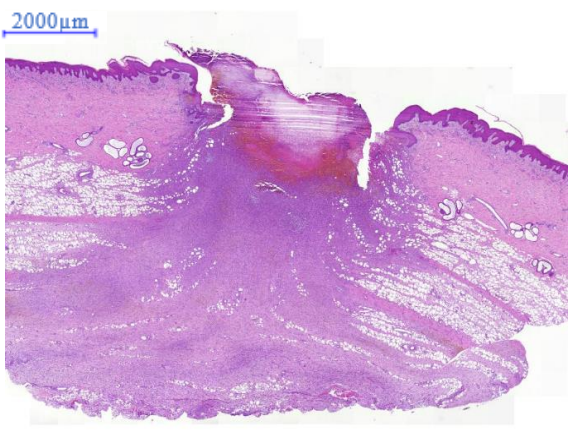


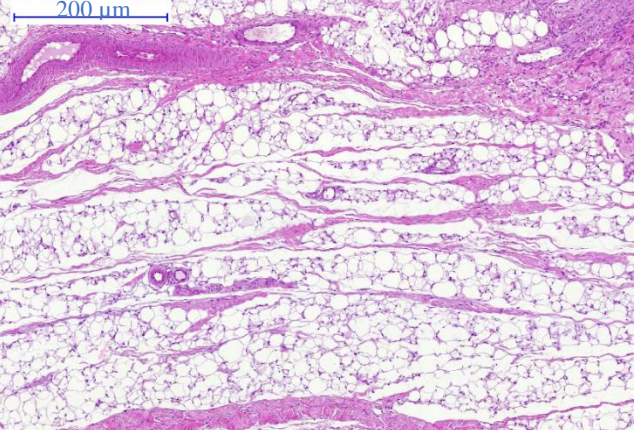
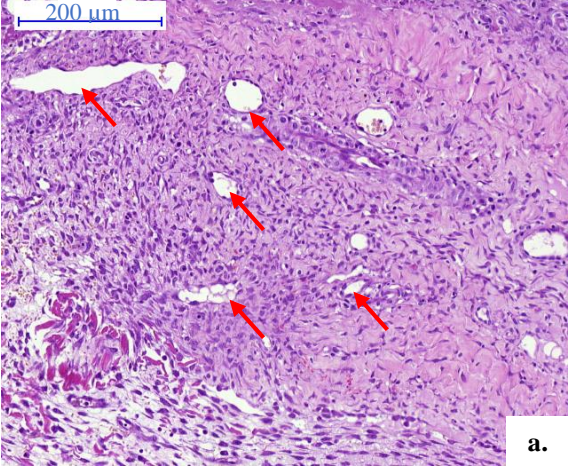
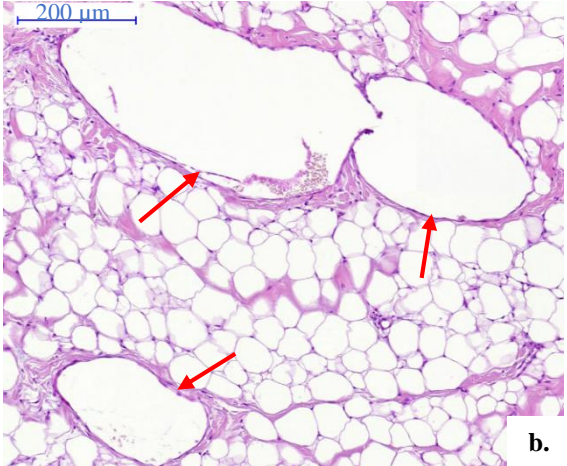
Le caillot régresse à cette cinétique, plus rapidement pour les plaies témoins que pour les plaies coblatées. En parallèle, il est colonisé par des fibroblastes pour former le tissu de granulation et ils sont associés à des néovaisseaux sur les plaies témoins mais pas sur les plaies coblatées.

Concernant l'inflammation, l'infiltrat cellulaire reste identique à celui observé à J<sub>2</sub> en intensité et en répartition mais sa nature a changé : l'infiltrat est lymphoplasmocytaire. La congestion est légèrement moins marquée qu'à J<sub>2</sub> et légèrement moins importante pour les plaies coblatées. Elle est associée à de l'œdème qui est léger à modéré, majoritairement interstitiel et d'intensité similaire pour les deux techniques.

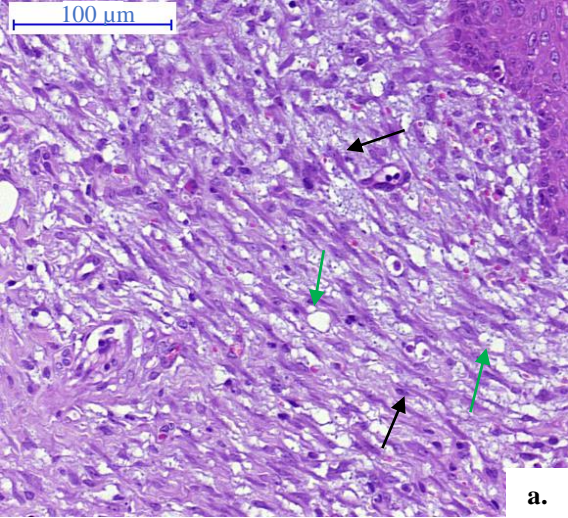
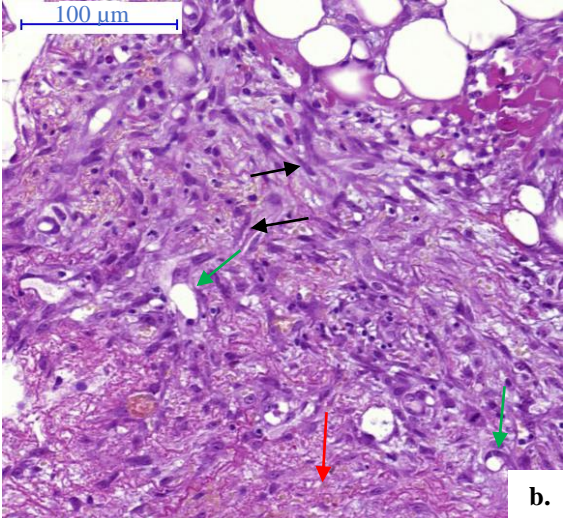
La zone de coblation® ne varie pas de taille.

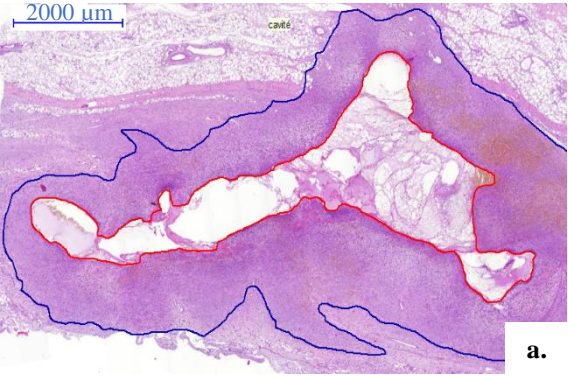
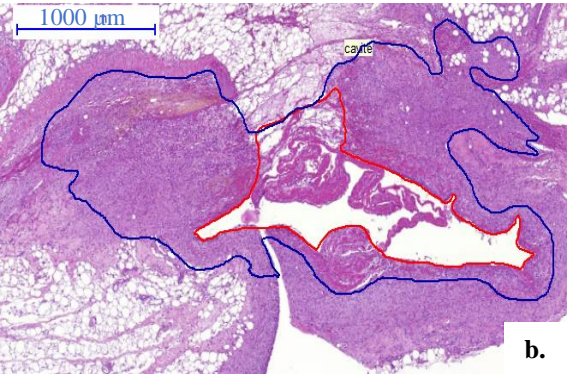
#### 2.2.4. J<sub>7</sub>

	PLAIE TEMOIN	PLAIE COBLATEE
	 <p><b>Figure 58 : Plaie témoin à J<sub>7</sub></b></p>	 <p><b>Figure 59 : Plaie coblatée à J<sub>7</sub></b></p>
Ré-épithélialisation	La ré-épithélialisation est complète pour toutes les plaies du groupe témoin.	La ré-épithélialisation est complète dans la majorité des cas. Néanmoins, pour 4 plaies coblatées sur 11 (36 %), la ré-épithélialisation est incomplète avec présence d'une croûte très volumineuse reposant directement sur le derme collagénique. Celui-ci est sévèrement infiltré par des cellules inflammatoires. (cf. Figure 59).

<p>Caillot / hémorragie</p>	<p>A ce stade, on n'observe pas de caillot ou de nouvelles hémorragies sauf pour une plaie où 5 petits foyers hémorragiques sont mis en évidence pour une surface totale de <math>0,08 \text{ mm}^2 \pm 0,27 \text{ mm}^2</math>.</p>	<p>Des résidus de caillot de petite taille, en cours de colonisation par les fibroblastes sont visualisés. Quelques hémorragies récentes apparaissent sur les plaies non entièrement ré-épithélialisées, notamment sous la croûte. La surface moyenne de ces foyers est de <math>0,31 \text{ mm}^2 \pm 0,39 \text{ mm}^2</math>.</p>
<p>Œdème</p>		
	<p style="text-align: center;"><b>Figure 60 : Œdème sévère sur une plaie coblatée (nombreux espaces optiquement vides soulignant les travées conjonctives interlobulaires)</b></p> <p>L'œdème est très variable selon les individus, absent pour certaines plaies et sévère pour d'autres avec une intensité moyenne de <math>1,68 \pm 1,21</math>. Globalement, il reste plus marqué que lors de la cinétique précédente.</p> <p>Une grande variabilité inter-individuelle est observée avec une intensité de <math>1,45 \pm 0,91</math>. Il est similaire à celui observé sur les plaies témoins.</p>	
<p>Dilatation des lymphatiques</p>	 <p style="text-align: right;"><b>a.</b></p>	 <p style="text-align: right;"><b>b.</b></p>
	<p style="text-align: center;"><b>Figure 61 : Dilatation lymphatique – a. légère ; b. sévère</b></p> <p style="text-align: center;">→ vaisseaux lymphatiques</p> <p>Une grande variabilité inter-individuelle est observée. Néanmoins, la dilatation des lymphatiques est modérée à sévère dans</p> <p>63 % des plaies montrent une dilatation des vaisseaux lymphatiques modérée à</p>	



	72 % des cas avec une intensité moyenne de $2,18 \pm 1,05$ .	sévère ( $2,04 \pm 0,91$ ). Elle est comparable à celle observée sur les plaies témoins.
<p>Tissu de granulation – partie superficielle de la plaie : densité fibroblastique et maturité du collagène déposé</p>	 <p style="text-align: right;"><b>a.</b></p>	 <p style="text-align: right;"><b>b.</b></p>
<p style="text-align: center;"><b>Figure 62 : Tissu de granulation en partie supérieure de la plaie – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p style="text-align: center;"> <span style="color: black;">→</span> <b>fibroblaste</b>    <span style="color: green;">→</span> <b>vacuole</b>    <span style="color: red;">→</span> <b>trame fibrineuse du caillot</b> </p>		
<p>Le tissu de granulation se compose de nombreux fibroblastes/myofibroblastes activés. La densité fibroblastique moyenne est évaluée à 75 %. Ils sont observés au sein d'une matrice extracellulaire vacuolaire. Pour 3 plaies sur 11 (27 %), le tissu de granulation est plus mature et le nombre de fibroblastes diminue au profit des fibres de collagène (60 % de fibroblastes).</p> <p>En ce qui concerne le dépôt de collagène, il est immature et se compose de fibres courtes non organisées déposées sur une matrice extracellulaire vacuolaire.</p> <p>Globalement, la maturité du tissu de granulation est plus importante en surface qu'en profondeur.</p>		<p>La trame fibrineuse du caillot sur laquelle migrent les fibroblastes est observable. La densité fibroblastique/myofibroblastique est estimée à 80 - 90 % selon les plaies. Le dépôt de collagène est peu présent voire absent.</p> <p>Sur 6 plaies sur 11 (54 %), le tissu de granulation est complètement absent.</p> <p>Il est moins mature que pour les plaies témoins.</p>

<p>Tissu de granulation – partie profonde de la plaie</p>	 <p>a.</p>	 <p>b.</p>
<p><b>Figure 63 : Tissu de granulation en partie profonde de la plaie – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p><span style="color: blue;">□</span> tissu de granulation    <span style="color: red;">□</span> cavité profonde</p>		
<p>Néovascularisation</p>	<p>La néovascularisation est très importante et développée au niveau du tissu de granulation (<math>2,54 \pm 0,69</math>) et plus particulièrement dans la partie profonde des plaies.</p>	<p>Le tissu de granulation mesure en moyenne de <math>5,72 \pm 3,19</math> mm<sup>2</sup>. La cavité profonde n'est pas toujours présente sur les prélèvements et mesure <math>1,96 \pm 3,04</math> mm<sup>2</sup> en moyenne. Elle contient une exsudation associée à des flammèches de fibrine et des globules rouges de temps en temps.</p> <p>Le tissu de granulation et la cavité sont moins développés que ceux des plaies du groupe témoin.</p> <p>Les néovaisseaux sont nombreux (<math>1,73 \pm 0,79</math>) et visualisés dans le tissu de granulation profond. Elle est beaucoup plus présente qu'à J<sub>4</sub> où ils n'étaient pas observables. La néovascularisation est moins abondante que celle des plaies témoins.</p>
<p>Epaisseur et profondeur de la coblation® / foyers de coblation®</p>	<p>Sans objet</p>	<p>Une nette évolution de la surface de coblation® est observée : sur 4 plaies, la zone de coblation® est discontinue et des reliquats de coblation® sont observés. Pour les 7 autres plaies, la longueur moyenne est de <math>2,66 \pm 0,92</math> mm avec une largeur de <math>1,06 \pm 0,68</math> mm. La largeur varie peu par rapport à J<sub>4</sub>, par contre la longueur est nettement diminuée.</p>

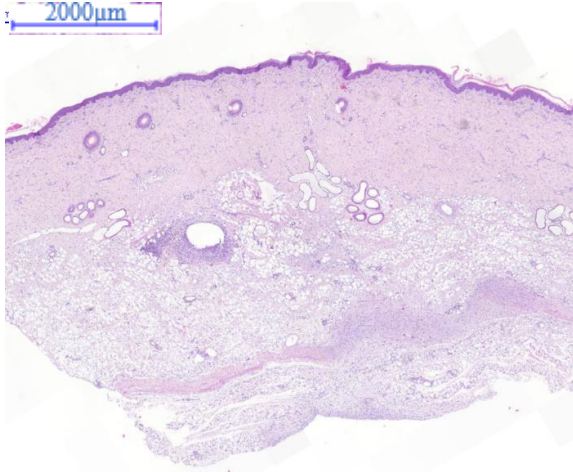
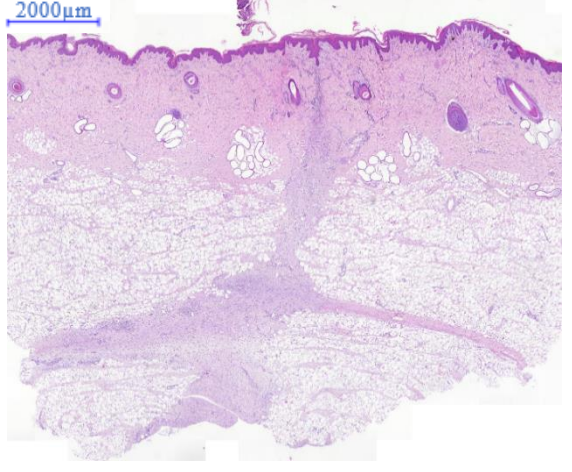
Le caillot a complètement régressé pour les plaies témoins alors qu'il reste des résidus sur les plaies coblatées. Le tissu de granulation a subi une maturation importante avec une densité fibroblastique de 75 % et un dépôt de fibres de collagène immatures, courtes et non

organisées sur une matrice extracellulaire. Il est moins développé en taille et moins mature pour les plaies coblatées avec une densité fibroblastique plus importante et un dépôt de collagène rare et souvent absent. De très nombreux néovaisseaux sont visibles dans le tissu de granulation pour les 2 techniques à cette cinétique. Il est associé en partie profonde de la plaie à une cavitation remplie d'exsudat et de flammèches de fibrine, de plus petite taille pour les plaies coblatée. En surface, la ré-épithélialisation est complète pour les plaies témoins, ce qui n'est pas le cas de la totalité des plaies coblatées.

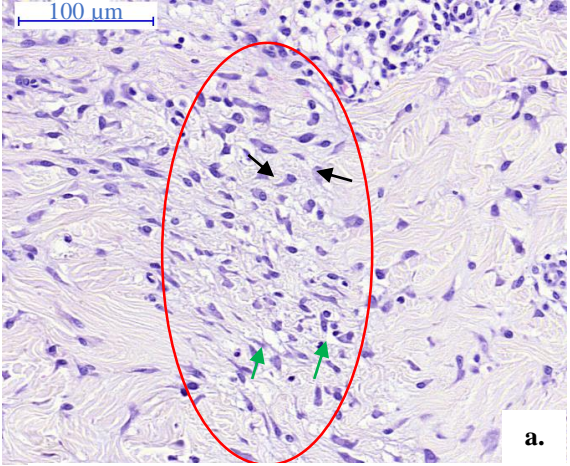
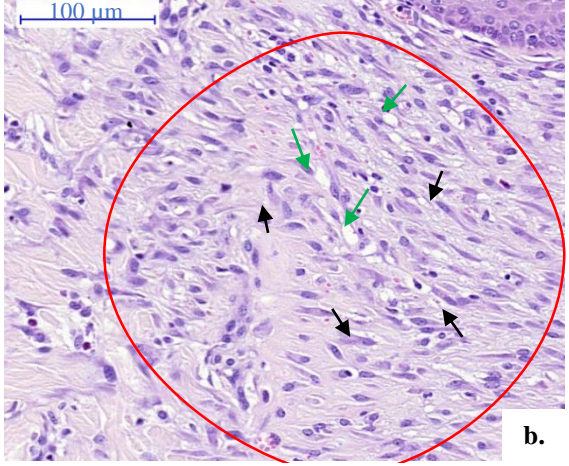
De l'œdème est visible pour les 2 techniques et une variabilité inter-individuelle majeure est observée dans les 2 cas. La congestion est également très variable entre les individus, globalement modérée à sévère pour les plaies témoins et coblatées. Ces deux paramètres n'ont pas évolué depuis J4.

La zone de coblation® diminue de profondeur par rapport aux cinétiques précédentes mais pas en largeur. Sur 4 plaies, la zone de coblation® se fragmente en îlots résiduels.

#### 2.2.5. J<sub>14</sub>

	PLAIE TEMOIN	PLAIE COBLATEE
	 <p><b>Figure 64 : Plaie témoin à J<sub>14</sub></b></p>	 <p><b>Figure 65 : Plaie coblatée à J<sub>14</sub></b></p>
Ré-épithélialisation	Elle est terminée pour toutes les plaies.	Elle est également terminée pour toutes les plaies à cette cinétique.
Œdème	Une importante variabilité est observée en ce qui concerne la sévérité de l'œdème : $2,04 \pm 0,79$ . Il est léger pour certaines plaies et sévère pour d'autres. Globalement, l'intensité est la même que celle observée à J <sub>7</sub> .	L'œdème est très variable selon les individus et son intensité est de $1,65 \pm 1,08$ . Il est similaire à celui observé pour les plaies témoins.



Dilatation des lymphatiques	La dilatation des vaisseaux lymphatiques est légère à modérée pour les plaies témoins ( $1,59 \pm 0,58$ ). Elle est globalement moins importante qu'à J <sub>7</sub> .	La dilatation lymphatique est légère à modérée ( $1,80 \pm 0,63$ ) et comparable à celle des plaies témoins.
Tissu de fibroplasie – partie superficielle de la plaie (derme collagénique) : surface, densité fibroblastique et maturité du collagène déposé	 <p style="text-align: center;"><b>Figure 66 : Tissu de fibroplasie en partie superficielle de la plaie – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p style="text-align: center;">○ tissu de fibroplasie      → fibroblaste      → vacuole</p> <p>Le tissu de fibroplasie mesure en moyenne <math>0,41 \pm 0,20 \text{ mm}^2</math>. La densité fibroblastique a diminué par rapport à J<sub>7</sub> et est de l'ordre de 40 à 50 % selon les individus. Globalement le collagène déposé est plus mature que précédemment, on peut voir un début d'organisation des fibres qui tendent à ressembler aux fibres de collagène préexistantes. On remarque également qu'il y a de moins en moins de vacuoles au niveau de la matrice extracellulaire.</p>	 <p>Le tissu de fibroplasie a une surface moyenne de <math>0,65 \pm 0,39 \text{ mm}^2</math>. La densité fibroblastique est évaluée entre 60 et 75 % environ. Les fibres de collagène déposées sont courtes, non organisées et reposent sur une matrice extracellulaire vacuolaire. Le tissu de fibroplasie est plus important que pour les plaies témoins et est moins mature. Le dépôt de collagène est similaire à celui observé sur les plaies témoins à J<sub>7</sub>.</p>
Tissu de fibroplasie – partie profonde de la plaie (derme adipeux)	Il a une surface moyenne de $1,94 \pm 1,28 \text{ mm}^2$ . Il a beaucoup régressé par rapport à ce qui a été observé à J <sub>7</sub> . La cavitation profonde a également beaucoup régressé, voire disparu sur certaines coupes (54 %). Elle mesure en moyenne $0,24 \pm 0,38 \text{ mm}^2$ . Elle contient uniquement un exsudat séreux.	Il mesure en moyenne $4,76 \pm 1,89 \text{ mm}^2$ . La cavitation profonde a, par contre, complètement disparu pour 80 % des plaies. Pour les 20 % restant, elle mesure en moyenne $0,30 \pm 0,92 \text{ mm}^2$ . Elle contient uniquement un exsudat séreux. Le tissu de fibroplasie a régressé par rapport à J <sub>7</sub> . Cependant il reste plus important que ce qui est observé sur les plaies témoins.
Néovascularisation	On trouve peu à pas de néovaisseaux sur les plaies témoins ( $0,59 \pm 0,20$ ).	Ils sont en quantité légère à modérée ( $1,40 \pm 0,52$ ). Ils sont plus nombreux que

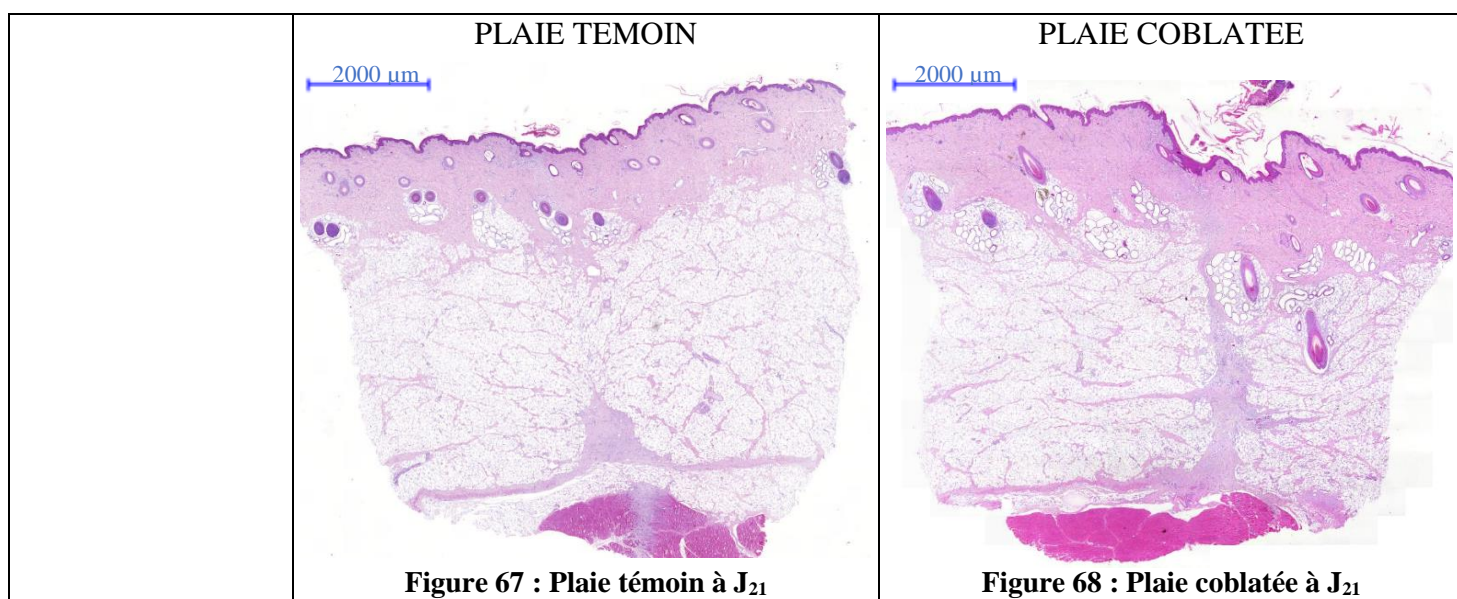
		sur les plaies témoins mais restent néanmoins beaucoup moins présents qu'à J <sub>7</sub> .
Epaisseur et profondeur de la coblation® / foyers de coblation®	Sans objet	La zone de coblation® n'est plus visualisée sur les plaies et seuls des foyers de coblation® sont présents.

A cette cinétique, le caillot a disparu sur toutes les plaies et la ré-épithélialisation est complète pour les plaies des 2 groupes. La maturation du tissu de granulation se poursuit pour former un tissu de fibroplasie. Ce dernier contient environ 40 – 50 % de fibroblastes/myofibroblastes activés et les fibres de collagène déposées commencent à s'organiser sur une matrice moins riche en vacuoles pour les plaies témoins. Celui des plaies coblatées est moins mature, comporte plus de néovaisseaux et est similaire à celui des plaies témoins à J<sub>7</sub>. Globalement les surfaces du tissu de fibroplasie et de la cavité diminuent par rapport à celles de J<sub>7</sub> et sont plus importantes pour les plaies coblatées que pour les plaies témoins.

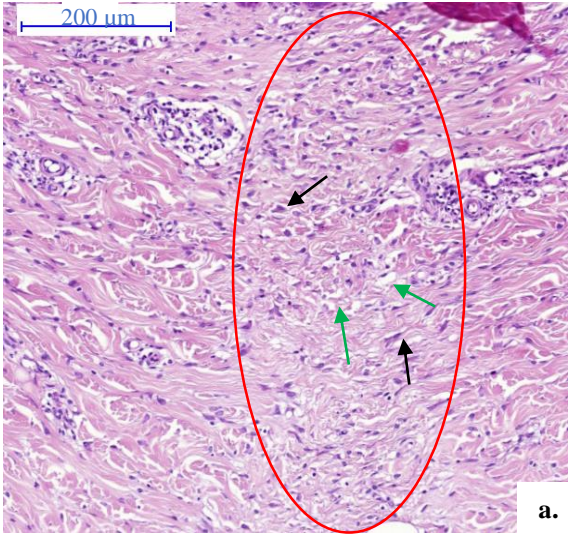
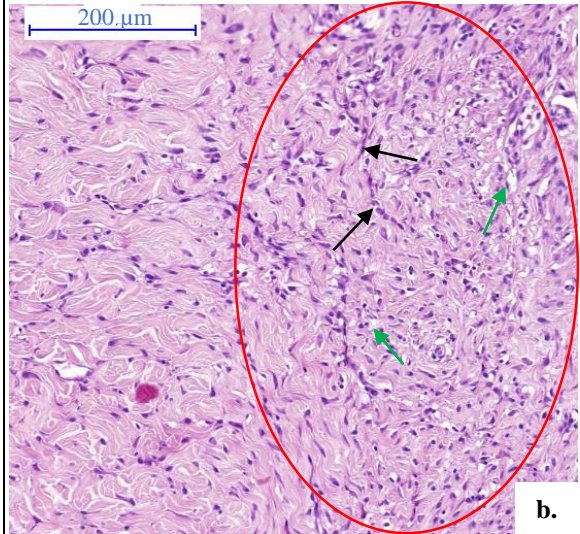
La dilatation des vaisseaux lymphatique est légère à modérée pour les 2 techniques et tend à régresser par rapport à la cinétique précédente, alors que l'œdème reste très variable selon les individus et ne présente pas de réelle évolution par rapport à J<sub>7</sub>.

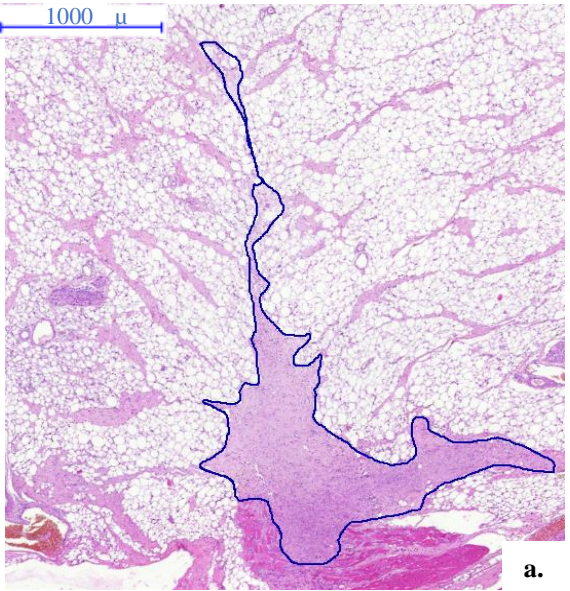
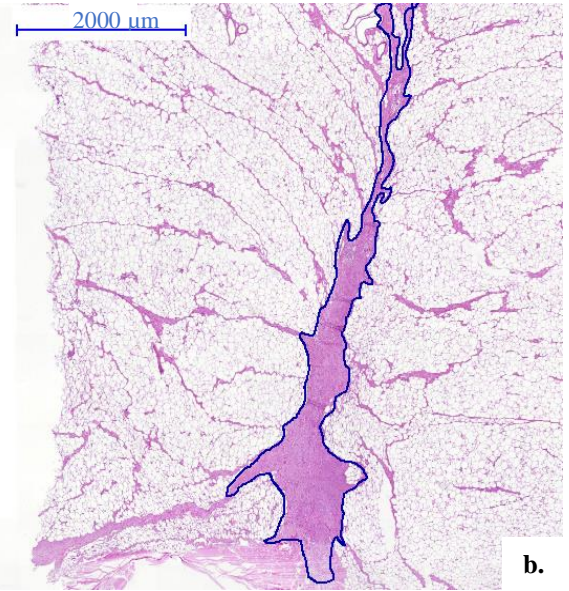
Concernant les zones de coblation®, elles ont beaucoup régressé et seuls quelques foyers résiduels sont observés.

#### 2.2.6. J<sub>21</sub>





<p>Œdème</p>	<p>L'œdème est très faible voire absent pour 73 % des plaies. Pour les 27 % restants, il est modéré. L'intensité globale de l'œdème (<math>1,04 \pm 1,08</math>) est légère et bien moindre que celle de J<sub>14</sub>.</p>	<p>Les mêmes observations sont réalisées avec les mêmes pourcentages. Son intensité moyenne est légère : <math>1,00 \pm 0,95</math>. Il est similaire à celui des plaies témoins.</p>
<p>Dilatation des lymphatiques</p>	<p>Les vaisseaux lymphatiques sont peu dilatés à J<sub>21</sub> (<math>1,23 \pm 0,79</math>). Pour 81 % des plaies, ils sont peu ou pas dilatés, pour les 19 % restants, ils sont modérément dilatés. La dilatation est moins importante que ce qui a été observé à J<sub>14</sub>.</p>	<p>Pour 64 % des plaies, la dilatation est faible ou absente, et modérée pour les 36 % restants (<math>1,73 \pm 0,90</math> en moyenne). Néanmoins, on ne remarque pas de différence notable entre les plaies coblatées et les plaies témoins.</p>
<p>Tissu de fibroplasie – partie superficielle de la plaie (derme collagénique) : surface, densité fibroblastique et maturité du collagène déposé</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p style="text-align: center;"><b>Figure 69 : Tissu de fibroplasie en partie superficielle de la plaie – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p style="text-align: center;"> <span style="color: red;">○</span> tissu de fibroplasie      <span style="color: black;">→</span> fibroblaste      <span style="color: green;">→</span> vacuole </p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="368 1375 938 1865" style="width: 48%;"> <p>Le tissu de fibroplasie mesure en moyenne <math>0,28 \pm 0,12 \text{ mm}^2</math>. Il est globalement plus mature que celui de J<sub>14</sub> avec une densité fibroblastique de 20-30 % environ. Les fibres de collagène sont bien organisées et orientées dans un plan commun. Les vacuoles sont peu nombreuses. Il se différencie du derme collagénique environnant par une densité fibroblastique plus importante et des fibres orientées dans un sens différent.</p> </div> <div data-bbox="954 1375 1528 1865" style="width: 48%;"> <p>Le tissu de fibroplasie a une surface moyenne de <math>0,40 \pm 0,19 \text{ mm}^2</math>. En termes de maturité, sa densité fibroblastique est de 20-30 % et les fibres de collagène sont organisées sur une matrice peu vacuolaire. Il est comparable à celui des plaies témoins, aussi bien ce qui concerne la densité fibroblastique que la maturité du collagène déposé. Le tissu de fibroplasie est plus volumineux que celui des plaies témoins.</p> </div> </div>	

<p>Tissu de fibroplasie – partie profonde de la plaie (derme adipeux)</p>	 <p style="text-align: right;"><b>a.</b></p>	 <p style="text-align: right;"><b>b.</b></p>
<p><b>Figure 70 : Tissu de fibroplasie en partie profonde de la plaie – a. plaie témoin ; b. plaie coblatée</b></p> <p>□ tissu de fibroplasie</p>		
<p>Le tissu de fibroplasie mesure en moyenne <math>3,20 \pm 1,81 \text{ mm}^2</math>. La cavitation profonde a complètement disparu. Il a augmenté par rapport à J<sub>14</sub>.</p>		<p>La surface moyenne du tissu de fibroplasie est de <math>3,24 \pm 0,95 \text{ mm}^2</math>. La cavitation profonde a disparu. Il n'y a pas de réelle différence de surface par rapport aux plaies témoins. Il a beaucoup diminué par rapport à J<sub>14</sub>.</p>
<p>Néovascularisation</p>	<p>Les néovaisseaux sont très peu nombreux (<math>1,18 \pm 0,56</math>).</p>	<p>La néovascularisation est peu importante (<math>1,18 \pm 0,68</math>) et comparable à celle des plaies témoins.</p>
<p>Foyers de coblation®</p>	<p>Sans objet</p>	<p>Aucun foyer de coblation®, fragmenté ou résiduel, n'a pu être identifié.</p>

Le tissu de fibroplasie continue de régresser par rapport à la cinétique précédente et est plus mature. Il est légèrement plus développé pour les plaies coblatées en partie superficielle et de taille similaire en partie profonde. La cavitation profonde a complètement disparu, de même que la néovascularisation qui est quasi absente pour les plaies des 2 groupes.

La dilatation lymphatique et l'œdème sont faibles à absents pour toutes les plaies et beaucoup moins importants qu'à J<sub>14</sub>.

La zone de coblation® a complètement régressé et aucun foyer résiduel n'est visible sur les plaies.

### 2.2.7. Evolution des paramètres au cours du temps

- Surface de la zone de coblation® :

La largeur de la zone de coblation® ne varie pas au cours du temps contrairement à la longueur qui a diminué à partir de J<sub>4</sub> (Figure 71). A partir de J<sub>7</sub>, la zone de coblation® est interrompue, restent des foyers isolés qui ont complètement disparu à J<sub>21</sub>.

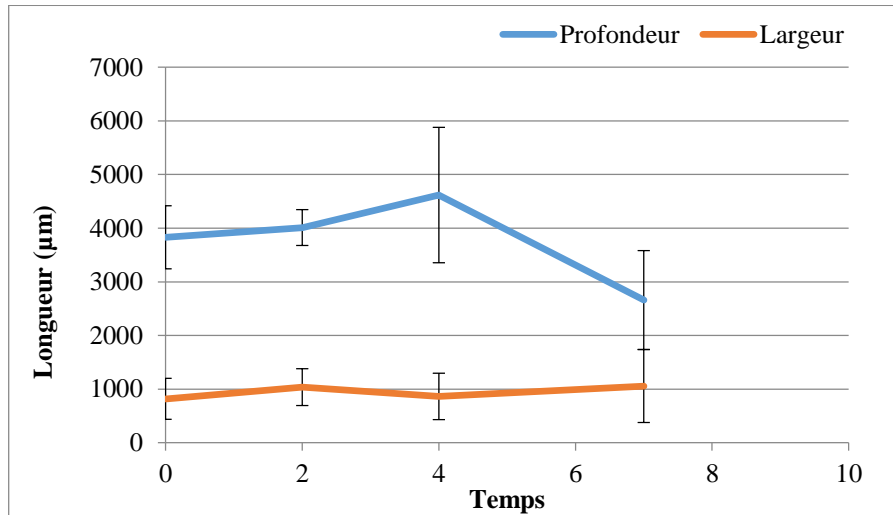


Figure 71 : Evolution de la profondeur et de la largeur de la zone de coblation®

- Surface du caillot :

A J<sub>0</sub>, le caillot des plaies témoins était plus volumineux que celui des plaies coblatées mais cette différence n'était pas statistiquement significative ( $p=0,089$ ). Concernant les plaies témoins, la taille du caillot a diminué progressivement jusqu'à J<sub>7</sub> où il était complètement résorbé. Le caillot des plaies coblatées a augmenté de taille jusqu'à J<sub>2</sub> puis diminuait jusqu'à J<sub>7</sub> où la résorption était totale (Figure 72). Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les plaies coblatées et les témoins pour ce paramètre.

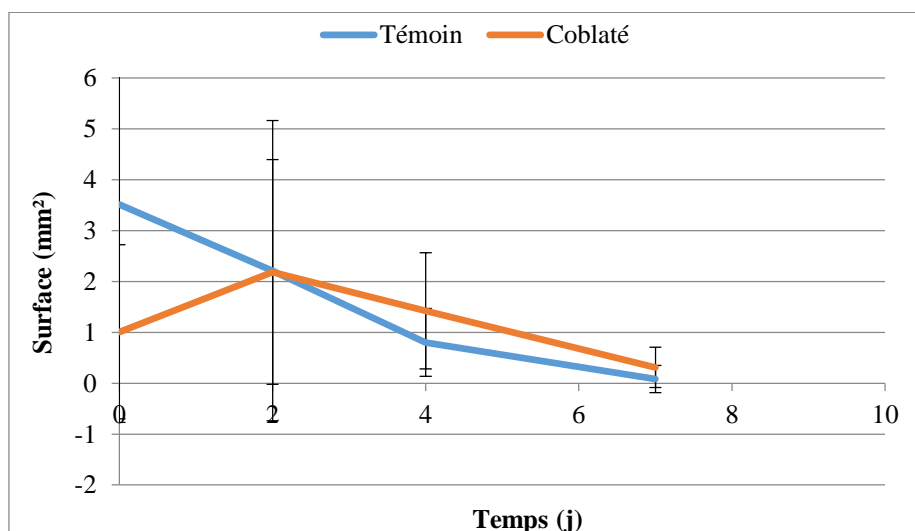
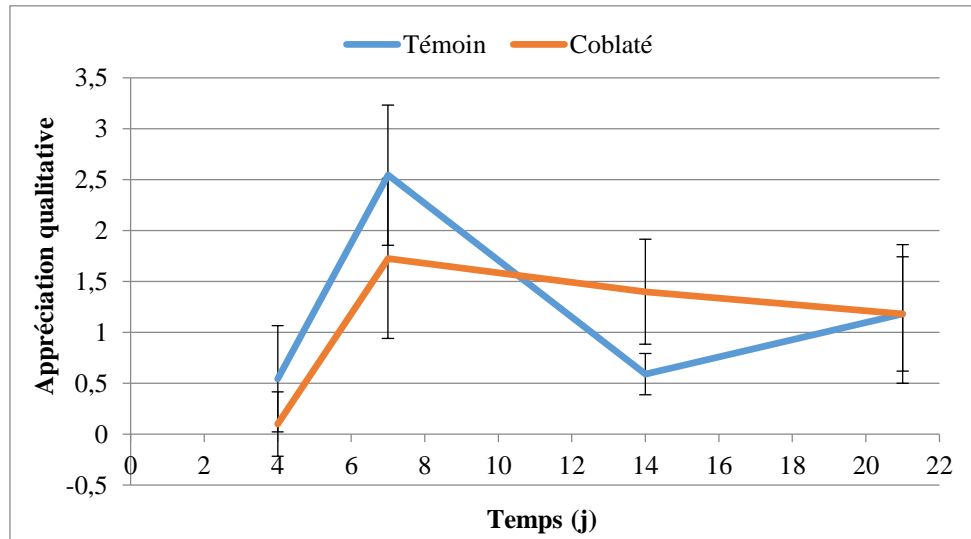


Figure 72 : Evolution de la taille du caillot au cours du temps

- Néovascularisation :

Les premières ébauches de néovaisseaux sont apparues à J<sub>4</sub> pour les plaies témoins et J<sub>7</sub> pour les plaies coblatées. Les vaisseaux sont ensuite de plus en plus nombreux jusqu'à J<sub>7</sub> puis diminuent progressivement jusqu'à J<sub>21</sub> où ils étaient en quantité identique pour les 2 techniques. De J<sub>4</sub> à J<sub>14</sub>, les différences entre les 2 techniques étaient significatives (Figure 73). La décroissance du nombre de néovaisseaux amorcée après J<sub>7</sub>, a été plus forte pour les plaies témoins que pour les plaies coblatées.



**Figure 73 : Evolution de la quantité de néovaisseaux dans le tissu de granulation**

0 : absence ; 1 : ébauches ; 2 : néovaisseaux ; 3 : nombreux néovaisseaux

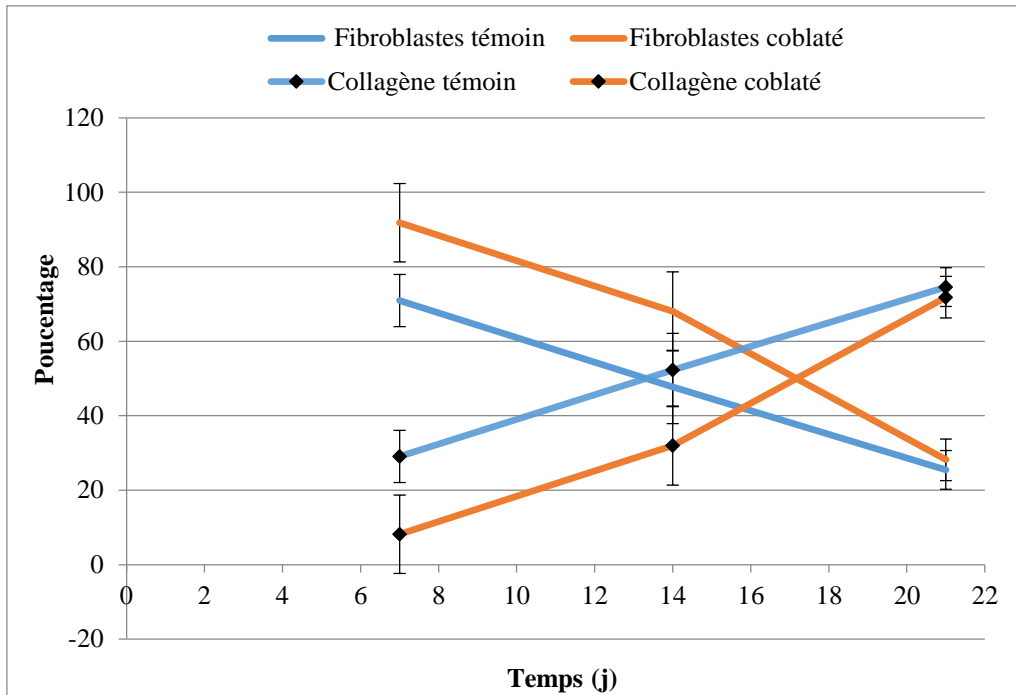
- Maturité du tissu de granulation :

Les premiers éléments ont été observés à partir de J<sub>7</sub>. La maturité a été évaluée par deux paramètres :

- la quantité de fibroblastes contenus dans le tissu de granulation comparé à la quantité de collagène déposé (en pourcentage) ;
- la maturité du dépôt de collagène.

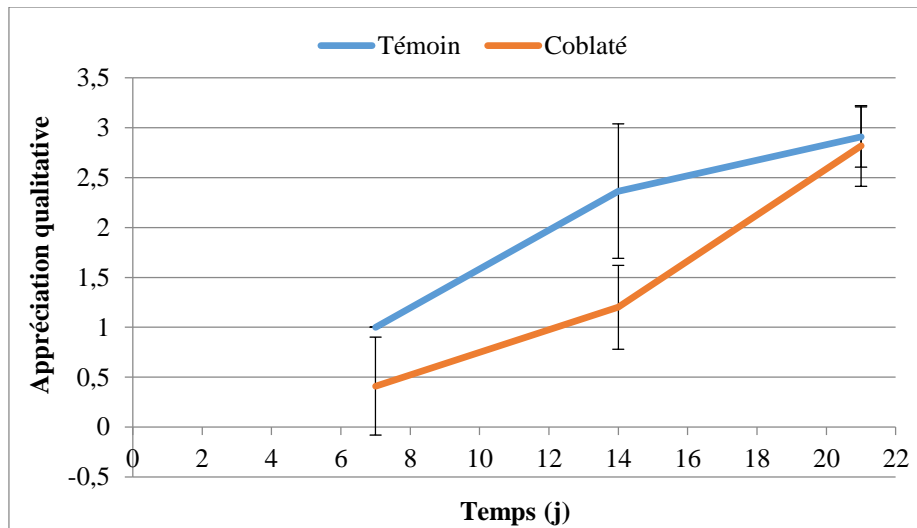
A J<sub>7</sub>, le tissu de granulation était principalement composé de fibroblastes (71 % pour les plaies témoins, 92 % pour les plaies coblatées) et peu de collagène était déposé. Quelle que soit la plaie, la quantité de fibroblastes a ensuite diminué alors qu'inversement la quantité de collagène déposé a augmenté. Globalement, les plaies témoins étaient significativement plus riches en collagène et moins riches en fibroblastes que les plaies coblatées pendant toute l'étude. A J<sub>21</sub>, les pourcentages de collagène et de fibroblastes étaient semblables pour les 2 techniques (plaies témoins : 25 % fibroblastes, 75 % collagène ; plaies coblatées : 28 % fibroblastes, 72 % collagène) (Figure 74).





**Figure 74 : Evolution de la quantité de fibroblastes et de collagène déposé dans le tissu de granulation**

Le dépôt de collagène a débuté à partir de J<sub>7</sub>. Le collagène était significativement plus mature pour les plaies témoins à J<sub>7</sub> et J<sub>14</sub> que pour les plaies coblatées (Figure 75). A J<sub>21</sub>, le collagène était mature pour les 2 techniques ( $2,91 \pm 0,30$  pour les plaies témoins et  $2,82 \pm 0,41$  pour les plaies coblatées).

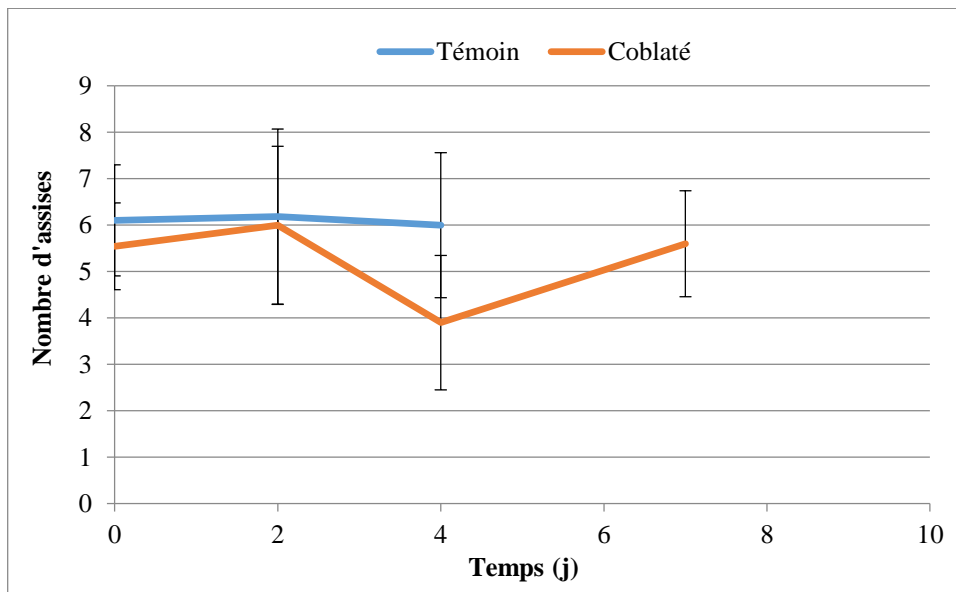


**Figure 75 : Maturité du dépôt de collagène : évolution au cours du temps**  
 0 : absence de collagène ; 1 : immature ; 2 : intermédiaire ; 3 : mature

- Réépithélialisation de la plaie:

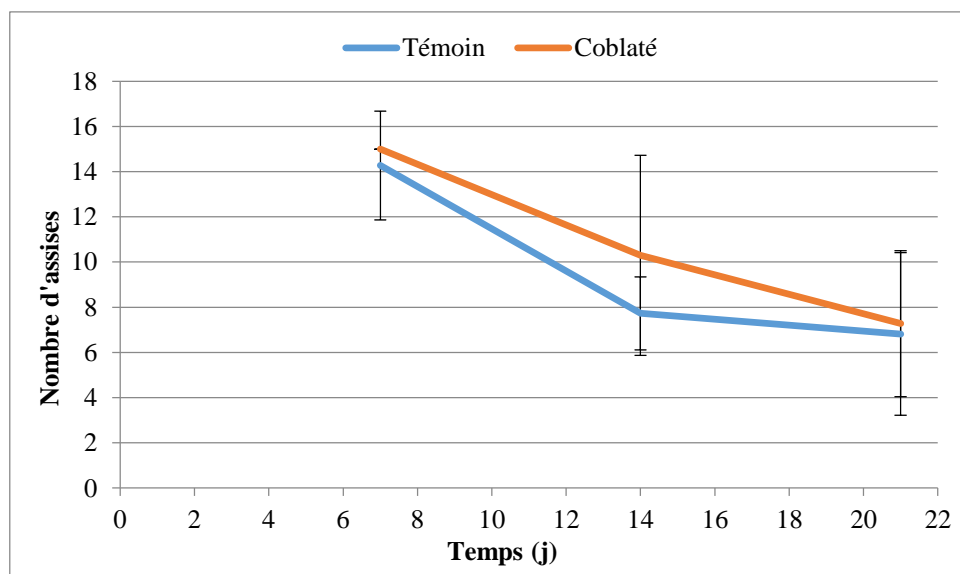
De J<sub>0</sub> à J<sub>4</sub>, la ré-épithélialisation était en cours dans les 2 types de plaies. Environ 6 assises de cellules épithéliales étaient dénombrées aux marges des plaies témoins. Pour les

plaies coblatées, à J<sub>4</sub>, le nombre d'assises épithéliales avait diminué (4 en moyenne) puis avait réaugmenté à 6 (Figure 76). La différence entre les 2 techniques était significative à ce stade.



**Figure 76 : Evolution du nombre d'assises épithéliales aux marges de la plaie (réépithélialisation incomplète)**

A J<sub>7</sub>, les plaies témoins étaient toutes ré-épithélialisées ce qui n'était pas le cas des plaies coblatées. Quelques plaies coblatées présentaient une épithélialisation complète caractérisée par une hyperplasie épithéliale avec plus de 15 assises cellulaires. Ce nombre a diminué progressivement jusqu'à retrouver une épaisseur épidermique normale (7 assises épithéliales à J<sub>21</sub>). Les plaies coblatées tendaient à présenter plus d'assises cellulaires à l'aplomb de la plaie que les plaies témoins à J<sub>7</sub> et J<sub>14</sub> (différence non significative) (Figure 77).

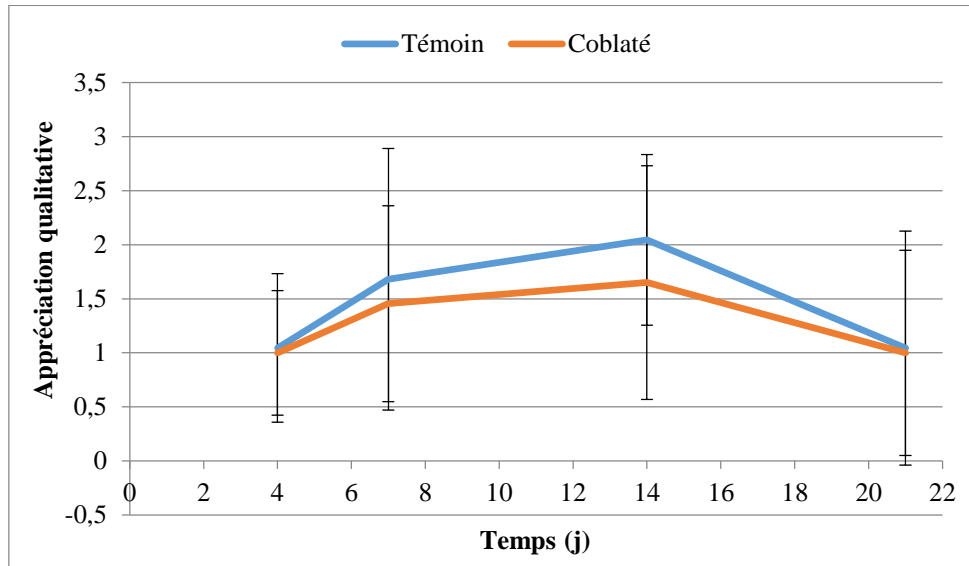


**Figure 77 : Evolution du nombre d'assises épithéliales à l'aplomb de la plaie (réépithélialisation complète)**



- Œdème et dilatation lymphatique :

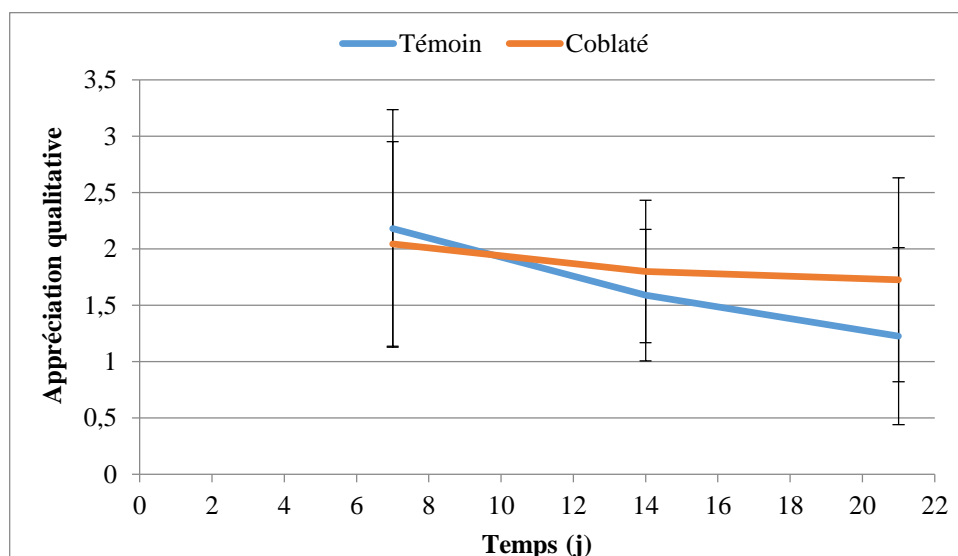
L'œdème a été observé à partir de J<sub>4</sub> : il était de faible intensité. Il a progressivement augmenté jusqu'à J<sub>14</sub> où il était modéré puis a diminué jusqu'à J<sub>21</sub> (intensité faible). Il n'y a pas eu de différence significative pour ce paramètre entre les plaies coblatées et les plaies témoins (Figure 78).



**Figure 78 : Evolution de l'œdème**

0 : absent ; 1 : faible ; 2 : modéré ; 3 : sévère

La dilatation des vaisseaux lymphatiques a été observée à partir de J<sub>7</sub> avec une intensité modérée pour les 2 techniques. Elle a ensuite diminué progressivement jusqu'à J<sub>21</sub> où elle est devenue faible à modérée. Aucune différence significative n'a été observée entre plaies témoins et plaies coblatées (Figure 79).



**Figure 79 : Evolution de la dilatation lymphatique**

0 : absence ; 1 : faible ; 2 : modérée ; 3 : sévère

### 2.2.8. Découvertes fortuites sur les plaies coblatées

- Nécrose des adipocytes :

A partir de J<sub>4</sub>, une nécrose des adipocytes est observée. Elle se manifeste par une disparition progressive des noyaux des cellules atteintes et la persistance de la vacuole et des contours cellulaires (Figure 80). Elle est peu à non observable à J<sub>2</sub> et s'étend sur une largeur équivalente à la zone de tissu collagénique stupéfié, c'est-à-dire à la zone de coblation®.

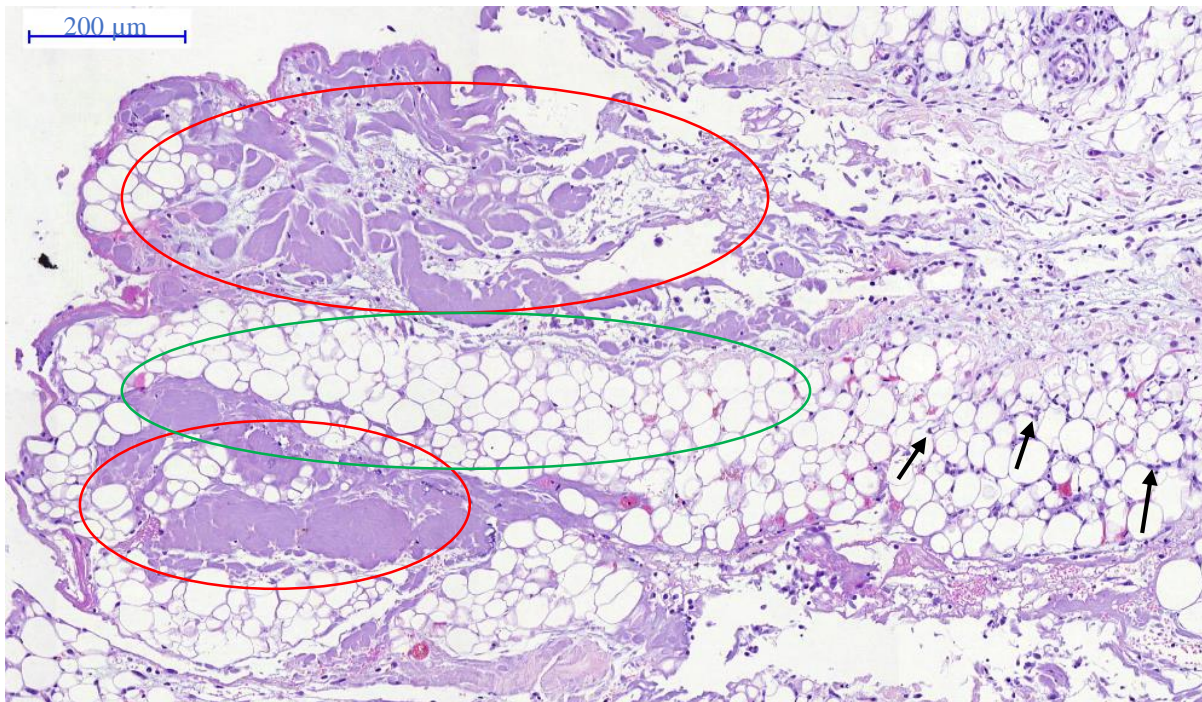


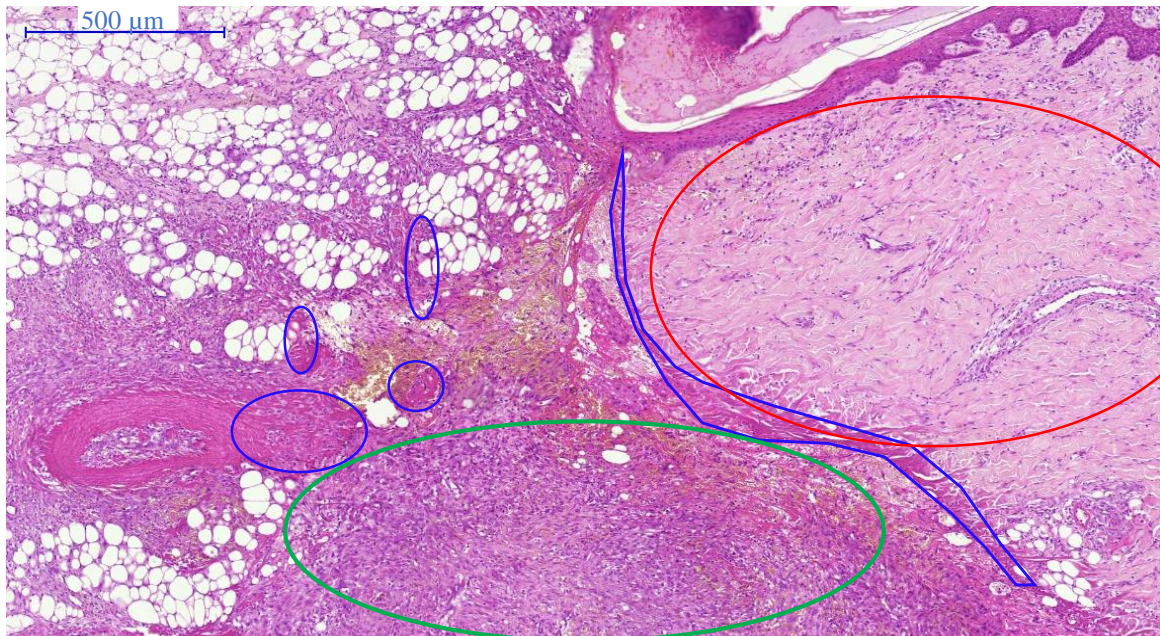
Figure 80 : Nécrose des adipocytes sur les plaies coblatées à J<sub>4</sub>

- tissu collagénique coblaté    ○ zone de nécrose des adipocytes  
→ noyau des adipocytes

- Absence d'activité à proximité de la coblation® :

Sur la gauche de la Figure 81, les foyers résiduels et fragmentés de coblation® forment une zone discontinue et le tissu situé à gauche de ces zones montre une infiltration inflammatoire importante avec la présence de nombreuses cellules inflammatoires (polynucléaires neutrophiles, lymphocytes et macrophages). Le tissu de granulation est densément cellulaire : de nombreuses cellules inflammatoires, de nombreux fibroblastes et néovaisseaux sont visibles.

Au contraire, les foyers de coblation® observés sur la droite de la Figure 81 forment une zone continue qui sépare le tissu initial (à droite) du tissu de granulation en formation (à gauche de la zone). Une absence d'activité cellulaire est observée dans le tissu à droite de la zone de coblation : très peu de cellules inflammatoires et de fibroblastes sont observés. Il semble inerte contrairement aux autres tissus de la région.



**Figure 81 : Absence d'activité à proximité de la zone de coblation® (J7)**

- foyers de coblation®
- zone sans activité cellulaire
- tissu de granulation

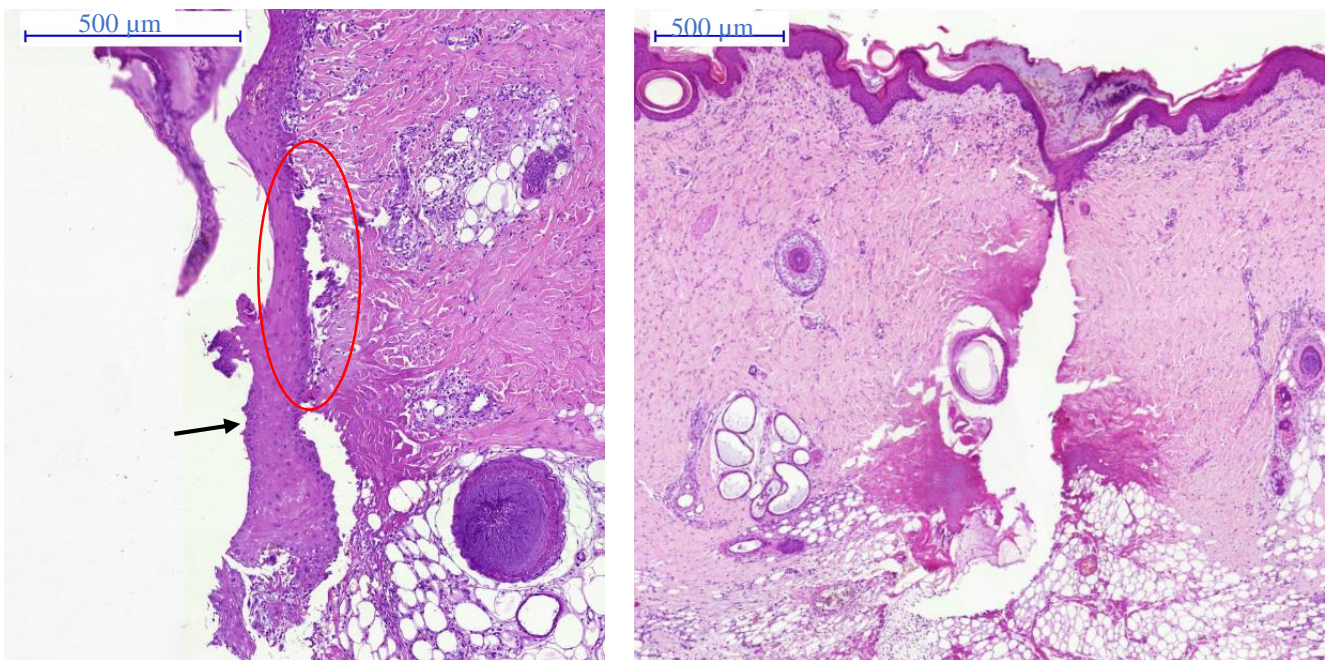


- Cicatrisation fragilisée par la coblation®

Sur plusieurs plaies traitées par coblation®, une fragilité du tissu cicatriciel a pu être mise en évidence par rapport aux plaies témoins à J<sub>7</sub> mais également à J<sub>14</sub>.

Sur la photo de gauche de la Figure 82, l'épiderme n'est pas adhérent au tissu sous-cutané en plusieurs endroits. Sur la partie haute de la photo, il est adhérent puis semble avoir été « arraché » lors de la recoupe du prélèvement. Au contraire, sur la partie la plus basse, l'épiderme ne semble pas avoir été adhérent initialement et s'être développé sans attache basale.

Sur la photo de droite, une absence totale d'adhésion des berges du derme de la plaie coblatée est observée ainsi qu'une absence d'exsudation. L'épiderme est resté intact, de même que la croûte qui le recouvre.



**Figure 82 : Non adhérence de l'épiderme au tissu sous-jacent et déchirure du derme (J<sub>7</sub>)**

→ épiderme

○ zone où l'épiderme semble avoir été arraché



- Cellules géantes et foyers inflammatoires mononucléés

Sur plusieurs plaies coblatées, des foyers inflammatoires bien circonscrits sont observés au niveau du tissu de fibroplasie superficiel. Ils sont composés principalement de cellules mononucléées (lymphocytes et macrophages) mais comportent également des cellules géantes plurinucléées en quantité plus ou moins importante. Ce phénomène est observé à J<sub>14</sub> et à J<sub>21</sub> uniquement sur les plaies coblatées.

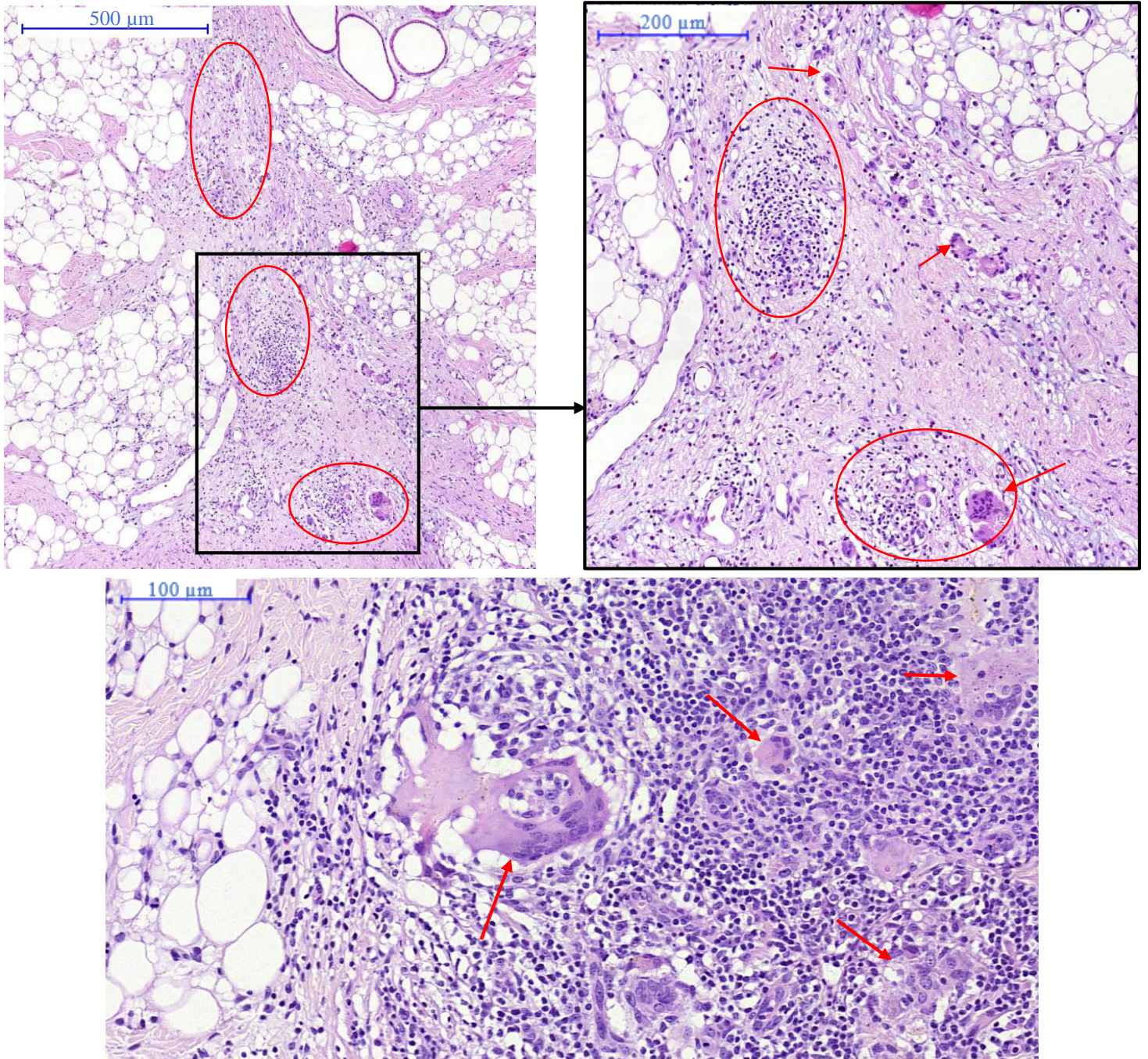


Figure 83 : Foyers inflammatoires et cellules géantes sur une plaie coblatée à J<sub>14</sub>

- foyer inflammatoire
- cellule géante

## TROISIEME PARTIE : Discussion

En médecine humaine, la technique de coblation® est indiquée dans de nombreux domaines : arthroscopie, ORL, gynécologie, neurologie, chirurgie plastique... La coblation® est une technique d'électrochirurgie exploitant l'énergie de radio-fréquences basses transmise aux électrolytes contenus dans un milieu conducteur comme une solution saline, créant ainsi un champ plasma très localisé [48]. Les particules du plasma ont suffisamment d'énergie pour casser les ponts moléculaires au sein des tissus, induisant la dissolution du tissu à de relativement faibles températures (40 à 70°C). Il en résulte une ablation volumétrique du tissu cible avec un minimum de dommages induits sur les tissus environnants. Pendant la coblation®, les radio-fréquences ne traversent pas le tissu, ce qui limite l'échauffement du tissu cible. La majorité de la chaleur est consommée dans la couche de plasma et donc dans le processus d'ionisation. Ces ions produits, projetés sur le tissu cible, rompent les ponts moléculaires.

La coblation® est une technique d'ablation, d'hémostase ou de contraction. Quel que soit le domaine d'application, le mécanisme d'action est identique, seule la sonde change : chaque sonde est dédiée à un type de tissu (sondes d'arthroscopie, d'ORL, ...).

Toutes ces informations sont fournies par l'unique fabricant qui dispose du brevet. La coblation® est exploitée depuis plus de 10 ans. Il existe ainsi de nombreuses études cliniques, en revanche, rares sont les études expérimentales disponibles et encore plus rarement les études histologiques ou moléculaires. Les mécanismes exacts sont finalement mal connus, seules des suppositions ont été formulées. Néanmoins, la technique, en raison de bons résultats cliniques, continue à se développer. C'est ainsi que des indications sont apparues dans le traitement des plaies. Actuellement, des équipes utilisent la technique principalement dans le cadre de la détersion des plaies. Ces travaux, encore en cours, ont donné lieu à 1 publication, étudiant les effets sur plaies infectées, réalisée sur porc [24].

En bilan, la technique de coblation® est présentée comme étant une technique fiable, efficace, agissant à basse température et n'ayant que peu de répercussions sur les tissus situés à proximité du tissu cible. Mais les preuves scientifiques ne sont pas disponibles. En outre, la température de 40 à 60°C reste malgré tout élevée et il est évoqué des signes de nécrose thermique observés à proximité de la zone d'application de la sonde de coblation®. Le fabricant évoque un effet sur 1 mm d'épaisseur mais sans précision supplémentaire.



C'est dans ce contexte que ce travail a vu le jour. Il avait pour objectif de tenter de mieux comprendre comment fonctionnait la coblation®, tenter de comprendre les mécanismes d'action directs et indirects. En connaissant mieux le phénomène, il devrait être possible de mieux l'exploiter, mieux définir les indications actuelles et futures. C'est pourquoi, une étude d'innocuité de la technique sur la peau a été réalisée avec pour objectif à moyen terme d'étudier les intérêts et les inconvénients de la coblation® dans le traitement des plaies. Le choix de la plaie à étudier a été celui d'une plaie chirurgicale suturée. Ce modèle est simple, facilement standardisable, reproductible, limitant ainsi les biais de mise en œuvre. Les principaux paramètres de la plaie sont plus facilement contrôlables : taille, profondeur, localisation, environnement microbien... En outre, l'étude d'une plaie cicatrisant par 1<sup>ère</sup> intention permet de réduire les temps de cicatrisation et ainsi limiter les risques de complications telles que l'infection. L'inconvénient est qu'aucun article similaire utilisant la coblation® n'est disponible pour comparer, l'unique article publié traitant de plaies non suturées infectées [24].

Le modèle porcin est connu pour être un modèle intéressant pour étudier la cicatrisation cutanée [14, 20, 24, 38]. Il est plus approprié que les rongeurs car plus « proche » de l'homme. En ce qui concerne une activité vétérinaire, le modèle chien ou chat aurait été plus approprié, mais les conditions d'expérimentations sur ces animaux sont très lourdes et difficilement réalisables sans un budget important. Le porc présente beaucoup d'avantages : c'est un animal de grande taille dont la croissance est lente (plusieurs mois) et dont le métabolisme se rapproche de celui des carnivores domestiques. Le porc est animal de grande taille qui peut supporter la création de plusieurs plaies sur un même individu. Ainsi, l'animal est son propre témoin, ce qui limite les biais.

Les conditions d'hébergement imposées par la Directive 2010/63/UE du parlement européen et du conseil du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques sont également moins contraignantes que pour les autres espèces. En effet, elles se rapprochent beaucoup des conditions d'hébergement dans les élevages. En outre, l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse dispose de locaux accrédités pour recevoir et héberger des porcs. Enfin, le coût à l'achat et à l'entretien est raisonnable et permet de tenir un budget de plus en plus limité.

Le modèle porcin présente néanmoins des inconvénients. Sa grande taille ne permet pas de multiplier le nombre d'individus à volonté. Impossible de réaliser une étude portant sur une centaine d'individus, effectif plus classiquement rencontré avec les rongeurs. Néanmoins, en raison des dernières directives européennes, encourageant à rationaliser le nombre d'animaux, ce type d'étude va dans le bon sens. Il convient de réduire au maximum le nombre d'animaux.

Cela est favorisé par la taille des porcs qui permettent la création de plusieurs plaies : l'évolution de la cicatrisation peut ainsi être étudiée sur le même animal qui en outre est son propre témoin. Le dos du porc représente une surface importante continue, presque plane, non influencée par les mouvements. Les animaux ne peuvent se lécher, ni se gratter avec les pattes et ne se couchent pas dessus.

La grande taille représente un handicap quand il s'agit de manipuler l'animal. En effet, la contention, la manipulation, la réalisation de prélèvements, les interventions chirurgicales, l'anesthésie sont beaucoup moins simples qu'avec des rongeurs. Cela nécessite des locaux correctement aménagés, ce qui était le cas. A leur arrivée, les porcs ont été placés dans un enclos unique, suffisamment spacieux pour les accueillir tous, de façon à ne pas les stresser. L'acclimatation a été rapide. En moins d'une semaine, les animaux n'éprouvaient plus aucun stress. Ensuite, chaque individu a pu être placé dans une logette individuelle dont les dimensions étaient adaptées à leur taille. Tous les individus étaient logés dans la même salle, permettant la communication entre individus. Le fait de les manipuler tous les jours a également aidé à faciliter la contention. Cette contention a également été facilitée en choisissant de travailler avec des individus jeunes dont le poids a varié entre 7 kg au début et 24 kg au terme de l'étude.

12 animaux ont intégré le projet. Le choix de 12 animaux a été établi pour permettre une étude tenant compte de la variabilité individuelle mais également pour respecter le désir de réduction du nombre d'individus utilisés en recherche expérimentale *in vivo*. Néanmoins, l'un d'entre eux a déclaré une arthrite grave du jarret ayant des répercussions cliniques importantes sur l'état général de l'animal. Il a donc été décidé de l'euthanasier en raison de la douleur et l'exclure de l'étude. Cet épisode a eu lieu pendant la phase d'acclimatation. Dans son étude, Nusbaum comptait 9 individus [24]. D'autres n'en comptent qu'un à 5 au maximum [29, 32].

Le sexe des animaux n'avait pas d'influence sur l'étude. Afin d'éviter des biais liés au sexe, seules des femelles ont intégré le projet.

La création et le prélèvement des plaies ont toujours eu lieu sous anesthésie générale, après avoir désinfecté les zones de façon chirurgicale. Le protocole de désinfection était identique à celui réalisé au sein des Cliniques – animaux de compagnie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Le matériel chirurgical et le consommable étaient stériles et/ou à usage unique. Ainsi, les risques infectieux ont été limités au maximum. Il a cependant été noté 2 cas d'abcès et 3 cas de panniculite.

Le protocole anesthésique a été établi afin de tenir compte du traumatisme et de la fréquence des interventions. La première semaine, les prélèvements intervenaient tous les 2 jours, c'est pourquoi, il a été décidé d'alterner les inductions en intra-musculaire et intra-



veineux afin de préserver les veines auriculaires et limiter le phénomène de douleur. Au cours des interventions, l'analgésie a été gérée par l'administration de chlorhydrate de morphine en pré- et post-opératoire puis en fonction des besoins de chaque animal. Il s'est avéré qu'aucune administration post-opératoire n'a été nécessaire suite au contrôle de chaque animal. L'ensemble du protocole a fait l'objet d'une validation par le Comité d'Ethique Midi-Pyrénées.

La plaie chirurgicale devait mesurer 20 mm. Plusieurs éléments justifient cette taille :

- la taille des animaux. Une plaie trop grande ne pouvait être reproduite en grand nombre sur un individu ;
- les intervalles entre 2 plaies afin de ne pas risquer d'interférence entre elles. Dans l'étude de Nusbaum, les animaux pesaient 30 kg. Il a réalisé des plaies de 2 cm x 2 cm avec des intervalles de 15 mm, ce qui semble peu [24] ;
- les intervalles entre 2 plaies devaient permettre le prélèvement (plaie + 1 cm autour) et permettre la suture et la cicatrisation de la zone en attendant la fin de l'étude ;
- la réalisation groupée d'une plaie témoin et une plaie coblatée pour permettre la comparaison directe ;
- la plaie ne devait pas être trop petite afin de suivre la cicatrisation et permettre la réalisation de coupes histologiques situées à distance de chaque extrémité ;
- l'étude histologique a porté sur la plaie en entier et non sur des biopsies. L'objectif était d'obtenir une analyse complète de la plaie. La réalisation de biopsies au sein des plaies interfère avec l'évolution de la cicatrisation en créant un traumatisme.

En tenant compte de tous ces paramètres, il a été décidé de réaliser des plaies de 20 mm, situées de part et d'autre du rachis et de les espacer de 5,5 cm pour assurer la suture après prélèvement.

A J<sub>0</sub>, la longueur des plaies a été mesurée à  $20,64 \pm 1,55$  mm pour les plaies témoin et à  $20,63 \pm 1,28$  mm pour les plaies coblatées pour une longueur souhaitée de 20 mm ce qui nous prouve la qualité du gabarit utilisé.

Dans la littérature, les suivis de cicatrisation de plaies chirurgicales sont souvent courts : environ 7 jours [43]. En effet, macroscopiquement, la cicatrisation est souvent obtenue dans ces délais, mais la phase de maturation est à peine commencée. Les études portant sur des plaies non suturées sont généralement plus longues : des prélèvements sont classiquement réalisés à J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub> [24]. Ainsi, 21 jours semblaient être une date reconnue pour achever l'étude. Le prélèvement à J<sub>0</sub> s'imposait également, tout comme J<sub>7</sub> et J<sub>14</sub>. La cicatrisation, même par 1<sup>ère</sup> intention, est un phénomène complexe qui fait appel à une multitude de facteurs, d'actions qui s'enchaînent et coexistent pour certains. La 1<sup>ère</sup> semaine de cicatrisation est très riche en

événements. Il fallait donc réaliser le plus de prélèvements dans cette période, mais trop rapprocher les prélèvements risquait en outre de ne rien apporter scientifiquement excepté une douleur supplémentaire aux animaux. Enfin, l'anesthésie générale nécessitant une mise à jeûn de 12h, il était impossible d'imposer un prélèvement quotidien pendant 1 semaine. C'est pourquoi, en tenant compte des connaissances du phénomène de cicatrisation, des rythmes d'anesthésies générales possibles et éthiquement raisonnables pour les animaux, des données bibliographiques, il a été décidé de réaliser les prélèvements à 0, 2, 4, 7, 14 et 21 jours post-opératoires. Cela représentait donc 2 fois 6 plaies sur 1 individu, ce qui était cohérent avec la longueur du dos des porcs.

Lors des différentes procédures chirurgicales, aucune difficulté majeure n'a été rencontrée. Néanmoins, la mesure de la largeur des zones de coblation® a montré une variation importante des valeurs, compatible avec une application de la sonde de coblation® de durée variable ou avec une pression variable. Il conviendrait de trouver une méthode pour standardiser plus précisément ces applications à l'aide d'un bras articulé par exemple.

Les plaies ont été régulièrement réparties sur toute la longueur du dos. Or, la peau ne présente pas les mêmes caractéristiques sur l'ensemble du dos. En effet, elle est :

- épaisse, contient beaucoup de glandes et est associée à un tissu sous-cutané et adipeux épais dans la région du cou ;
- fine avec peu de glandes et peu de tissu sous-cutané ou adipeux dans la région des lombes.

Entre les 2, les caractéristiques sont intermédiaires. Ainsi, il fallait s'attendre à observer des cicatrisations variables en fonction des localisations et surtout des mesures d'épaisseurs différentes dont il faut tenir en compte lors de l'interprétation des résultats. Les effets de cette observation ont été réduits en plaçant la plaie témoin et la plaie coblatée à proximité l'une de l'autre, de chaque côté du rachis. En revanche, l'influence est forcément intervenue dans l'analyse entre 2 cinétiques.

A la fin des interventions, les plaies ont été recouvertes par l'application d'un pansement liquide vétérinaire adapté aux caractéristiques de la peau des animaux. Les produits humains sont moins efficaces, car éliminés trop rapidement.

Les plaies n'ont pas été couvertes par un bandage protecteur afin de limiter les frottements et les effets contraignants pour les animaux qui auraient cherché à se débarrasser le plus rapidement possible de l'élément étranger. Les animaux ont bien supporté les

interventions, mais les plaies non protégées ont été recouvertes d'aliment (forme de poudre) et de copeaux de litière. Cela a représenté 52,1% des plaies. Ainsi, les plaies étaient régulièrement salies par de la nourriture, des copeaux, des croûtes et du sang séché en plus ou moins grande quantité et étaient difficiles à nettoyer sur les animaux vigiles. Cela a rendu délicat l'observation macroscopique des plaies qui étaient parfois partiellement ou non visualisables. Ce phénomène a principalement été observé (différence statistiquement significative) aux périodes situées entre 2 prélèvements, les dos des animaux n'étaient donc pas préparés chirurgicalement. En effet, entre 2 prélèvements, il a été choisi de ne pas nettoyer les plaies afin de ne pas interférer avec la cicatrisation et surtout laisser le plus possible les plaies dans les conditions naturelles d'entretien des animaux. La protection des plaies aurait pu être assurée par la mise en place d'une protection adaptée du type jersey, peu contraignante pour les animaux et bien tolérée chez les carnivores domestiques.

Certains animaux se sont frottés contre les murs lorsque les plaies étaient trop éloignées du rachis ou contre les abreuvoirs. Il est donc impératif d'être vigilant quant au positionnement des plaies par rapport au rachis. Il faut rester, au maximum, sur le sommet du dos. Ces comportements risquaient de favoriser la déhiscence des sutures et le développement de sepsis. En pratique, dans l'étude, cela s'est traduit par le développement d'érythèmes sur les plaies sans conséquences majeures pour la plupart (cf. ultérieurement).

L'analyse macroscopique avait pour principal objectif de suivre l'aspect des plaies et l'évolution de la cicatrisation. Tous les paramètres extérieurs pouvant influencer la cicatrisation ont été identifiés et observés : présence d'aliment, de croûtes, de sang... Ainsi, à toute anomalie macroscopique ou microscopique, il pouvait être tenté de trouver une origine.

Pour aider à réaliser le suivi macroscopique, des photos des plaies ont été réalisées tous les jours sur animaux vigiles, ce qui parfois s'est avéré délicat. Il a été répertorié 180 cas de photos floues, 38 mal positionnées dont 18 floues et mal positionnées. Ces photos ont principalement été réalisées les jours sans prélèvement sur animaux vigiles. Cela s'explique par le mouvement des animaux, la luminosité insuffisante malgré l'utilisation du flash. En outre, certaines plaies se sont avérées plus délicates à photographier : les plaies 1-2, 5-6, 9 et 10 ont été statistiquement plus souvent floues que les plaies 3-4 et 7-8. Plusieurs explications peuvent être trouvées :

- les plaies 3-4 et 7-8 ont été prélevées, respectivement à 4 et 2 jours post-opératoires, fournissant moins d'occasions de réaliser de mauvaises photos ;

- ces plaies étaient situées sur des zones particulièrement planes, faciles d'accès, non influencées par le mouvement ou la position du cou, comme par exemple pour les plaies 1-2.

Interviennent ensuite la présence d'aliment, de croûtes qui ont masqué les plaies en cours de cicatrisation. L'analyse des résultats a montré que toutes les données récoltées les jours sans prélèvements étaient difficilement interprétables : plaie masquée, extrémités des plaies non discernables. Tout ceci a justifié le fait que les données obtenues à J<sub>1</sub>, J<sub>3</sub>, J<sub>5</sub> et J<sub>6</sub> aient finalement été écartées de l'étude macroscopique. Afin d'éviter ce phénomène, il aurait fallu nettoyer quotidiennement toutes les plaies, au risque d'interférer avec la cicatrisation par les frottements induits par le nettoyage. La mise en place d'un jersey protecteur sur l'ensemble du dos faisant office de manteau, aurait également pu être une solution.

Seules les longueurs des plaies ont été mesurées. En effet, lorsqu'une plaie chirurgicale suturée cicatrise, il n'est pas attendu d'évolution de sa largeur excepté si une déhiscence est observée. Mis à part 2 cas d'abcès associés à une déhiscence des sutures, il n'a été observé aucune variation de la largeur.

Lors d'une cicatrisation par 1<sup>ère</sup> intention, il n'est également pas attendu des variations importantes de la longueur de la plaie, éventuellement un rétrécissement lié à un phénomène de contraction. En pratique, au cours du temps, les plaies ont correctement cicatrisé sans variation de leur longueur (aux environs de 20 mm – aucune différence significative). En revanche, à J<sub>21</sub>, il est noté une augmentation de la longueur, observation particulièrement étonnante. En fait, cela vient du fait, qu'au départ, la valeur de la longueur représentait la moyenne de toutes les plaies. A chaque prélèvement, 2 séries de plaies (témoins + coblatées soit 22 plaies) n'étaient plus comptabilisées. Ainsi, lors de la dernière cinétique à J<sub>21</sub>, il ne restait plus que 22 plaies dont 18 n'étaient plus mesurables car cicatrisées. Les 4 restantes étaient un peu plus en retard car à l'origine plus grandes. Il était ainsi encore possible d'en deviner les contours.

Outre la gêne occasionnée, l'observation des saignements apportait des informations importantes sur l'hémostase de la plaie. Lors de la réalisation de la plaie, il avait été choisi de ne pas réaliser d'hémostase particulière du type électrocoagulation afin de ne pas interférer. Il est donc logique d'observer des saignements dans les premiers jours sur les plaies témoin. En revanche, cela paraissait moins évident sur les plaies coblatées pour lesquelles la coblation® assure une hémostase des tissus en contact avec la sonde. Or les observations ont montré une présence significativement plus importante en surface des plaies coblatées par rapport aux

témoins. Ces données sont contradictoires avec les données histologiques (cf. ultérieurement). Aucune explication plausible n'a été trouvée, excepté pour un cas présentant un abcès qui, lorsqu'il s'est percé, a présenté un saignement.

Les paramètres « érythème » et « œdème » sont des éléments annonciateurs de la présence d'une inflammation en surface. Les cas d'œdème ont été peu nombreux : 46 sur 770 plaies tout au long de l'étude. Seules 17 plaies ont été concernées dans des proportions plutôt faibles. Les cas ont été observés uniquement les 1<sup>er</sup> jours, ce qui est probablement à mettre en relation avec le traumatisme chirurgical.

Les plaies les plus représentées ont été les plaies 9 et 10. Localisées à proximité de la croupe, la peau est plus fine et peut-être plus propice au développement d'inflammation. Il n'y a pas eu de différences significatives entre les 2 groupes. Seuls 2 cas ont été importants et observés à plus long terme, ce sont les 2 cas d'abcès observés sur 2 plaies coblatées. Ces observations sont cohérentes avec les données cliniques.

L'érythème a été beaucoup plus présent : 70,4% des plaies. Il a été observé les 7 premiers jours pour disparaître ensuite. La différence a été significativement différente entre les 2 traitements : les plaies coblatées ont présenté d'avantage d'érythème modéré à important que les plaies témoins pour lesquelles, les érythèmes ont été d'avantage faibles. Les érythèmes les plus importants ont été observés sur les 2 plaies présentant un abcès.

Pour les autres cas, il est probable que l'application de la sonde de coblation® a eu un effet thermique sur le derme à l'origine d'un érythème.

Au final, l'observation macroscopique de la cicatrisation a été assez variable. Globalement, il a été noté un retard de cicatrisation en défaveur des plaies coblatées par rapport aux plaies témoins. En effet, ces dernières ont montré d'avantages de signes de cicatrisation partielle que les plaies coblatées dès le 2<sup>ème</sup> jour post-opératoire versus 4<sup>ème</sup> jour pour les plaies coblatées. La coblation® semble, macroscopiquement, avoir un effet sur la cicatrisation en retardant légèrement la cicatrisation. Ce retard de cicatrisation a été également démontré dans le cas du laser CO<sub>2</sub> et du bistouri électrique par rapport au bistouri à lame froide [34]. Il faut cependant noter, qu'en fin d'étude, les plaies ne présentaient pas un score de 2 ou très proche de 2, note signifiant la cicatrisation complète. Cette sous-estimation a pour origine la présence des croûtes masquant la plaie. Ainsi, ne pouvant voir la totalité de la plaie, lorsque qu'une croûte était importante, il était attribué la note de 1 (cicatrisation partielle) dans le doute, alors que sous la croûte, la cicatrisation était peut-être effective.

Le suivi du nombre de points n'a pas permis de montrer une influence de ce paramètre. En effet, mis à part la plaie présentant 1 abcès, les déhiscences de plaies ont été très peu nombreuses (12 plaies). Ces déhiscences sont intervenues dans la majorité des cas au cours de la dernière cinétique, ce qui n'a eu aucune conséquence. Les points ont volontairement été conservés en place tout au long de l'étude afin de ne pas risquer d'être enlevés trop tôt et permettre l'identification de la plaie à tout moment, surtout en fin d'étude. Néanmoins, leur présence permanente peut avoir modifié la cicatrisation (effet corps étranger), phénomène valable pour les 2 traitements.

Enfin, seule 1 plaie a présenté un écoulement : c'est la plaie présentant un abcès. Sur l'ensemble de l'étude, 2 abcès ont été observés ainsi que 3 cas de panniculite. Ces cas étaient des plaies coblatées.

La partie histologie de cette étude a fourni la majorité des informations concernant l'innocuité de la coblation® lors de la cicatrisation cutanée.

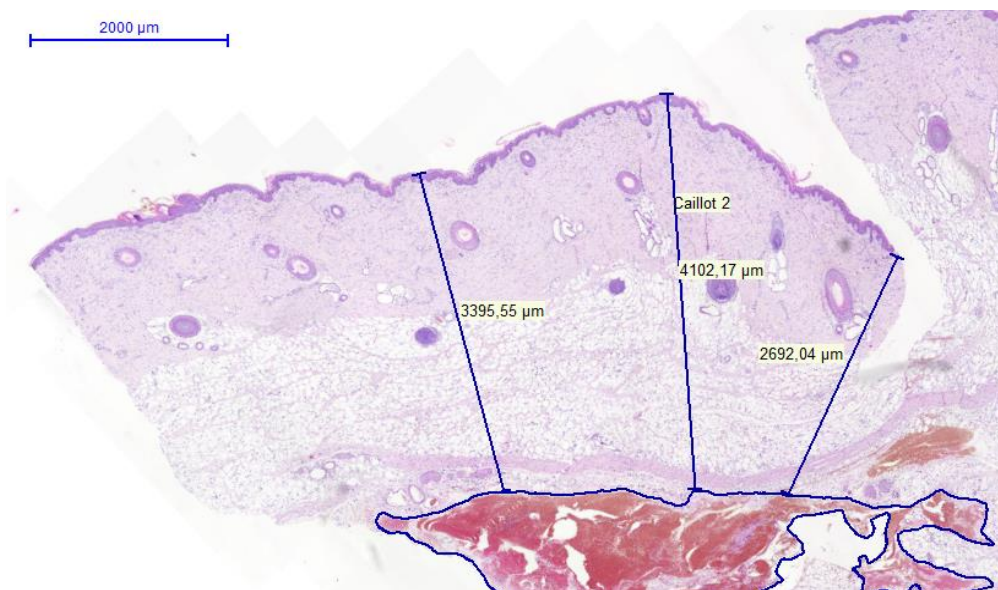
Les critères de lecture ont été déterminés à l'aide de publications ayant étudié les effets thermiques d'autres instruments chirurgicaux (bistouri électrique, laser...) lors de la réalisation de plaie et le suivi de leur cicatrisation [2, 13, 16, 27, 29, 33, 43].

Le prélèvement a été recoupé et 4 plans de coupe perpendiculaires à l'incision chirurgicale ont été sélectionnés afin de pouvoir évaluer la plaie et les tissus environnants. Les points de suture restants ont été retirés car leur dureté est parfois problématique pour la réalisation des coupes. Sur les 4 coupes réalisées, la coupe la plus « représentative » a été sélectionnée afin d'y réaliser la lecture gradée et les mesures. Ce choix a été fait afin de limiter le temps passé pour les lectures et les prises de photos/mesures, mais induit un biais car il réduit une plaie 3D de 2 cm de long à un plan en 2 dimensions. En outre, l'aspect des 4 coupes présentes pour chaque prélèvement peut montrer une certaine hétérogénéité avec, par exemple, une zone hémorragique dans la brèche alors qu'une autre n'en comporte pas...

L'évaluation de certains critères présente des biais. C'est le cas de certaines mesures et notamment de la profondeur de la plaie. Le premier obstacle est que le fond des plaies n'était pas toujours présent notamment en raison de l'exérèse chirurgicale parfois trop superficielle ; mais également du fait du manque d'adhésion des brèches de la plaie qui entraîne une séparation en 2 du prélèvement lors de la recoupe. Dans le cas des plaies incomplètes, la mesure ne correspond alors pas à la profondeur totale de la plaie et ne peut donc pas être comparée à celle des plaies complètes. En outre, les prélèvements n'étaient pas strictement composés des mêmes éléments. En effet, en fonction de leur localisation, certaines coupes comportaient une à 2

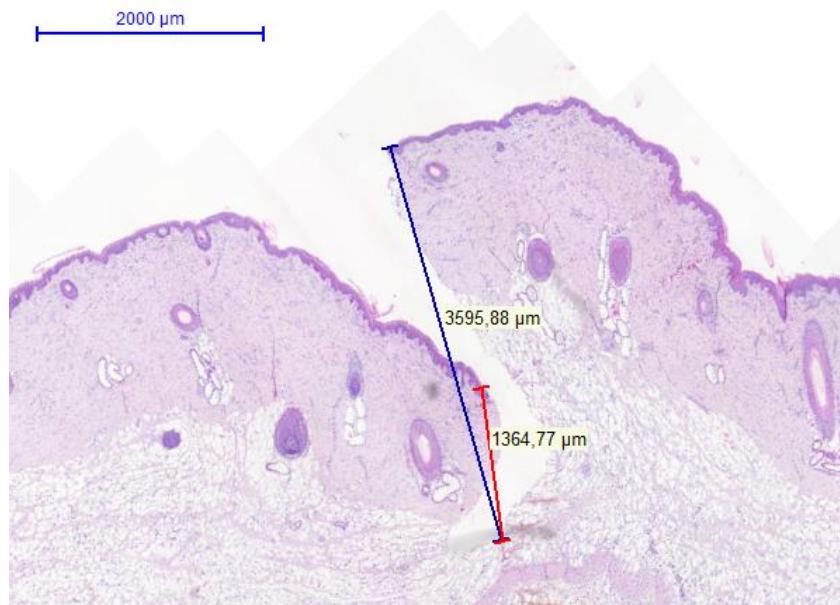
travées conjonctives, ce qui modifiait les repères de mesure (cf. 1.7.1). En outre, en fonction de la localisation de la plaie sur le dos du cochon, la peau était plus ou moins épaisse et donc la longueur entre surface et travée conjonctive, variable. Pour ces différentes raisons, la comparaison de la profondeur des plaies fondée sur les critères décrits n'était pas exploitable.

Le second point concernant les mesures de longueur provient des nombreuses variations de longueur induites par l'axe de mesure. La Figure 84 illustre ceci : d'après la description des critères, pour localiser en profondeur le caillot, la mesure était réalisée entre la partie la plus superficielle du caillot et l'épiderme selon un axe perpendiculaire à l'épiderme. Or sur la figure, 3 mesures différentes correspondent à cette description et donnent 3 profondeurs extrêmement différentes. Ces longueurs ne peuvent donc pas être interprétées sans réserve.



**Figure 84 : Imprécision sur la localisation en profondeur du caillot**

Le dernier problème concernant les longueurs a été le repli du tissu sur sa marge suite à la coupe notamment. Ainsi sur la Figure 85, la profondeur de la plaie a été mesurée sur une plaie complètement visible et 2 mesures très différentes ont été obtenues selon l'endroit de la plaie où la mesure a été effectuée. La mesure en rouge a été obtenue sur une zone où le tissu était replié sur la berge et la longueur artificiellement diminuée. Dans ce cas, il faut retenir la plus grande valeur de mesure et ne pas tenir compte de celle où le tissu est affaissé sur sa marge.



**Figure 85 : Imprécision de mesure de profondeur de la plaie à cause de la contraction des tissus**

Pour les différentes raisons énoncées ci-dessus et notamment le biais selon l'axe de mesure, les diverses mesures de longueur : profondeur de la plaie, localisation en profondeur du caillot, du tissu de granulation, de la cavitation... n'ont pas semblé pertinentes.

L'étude histologique aux cinétiques  $J_0$  et  $J_2$  a permis d'étudier l'influence de la coblation® sur la phase vasculaire puis sur la phase cellulaire de la cicatrisation.

Initialement, de nombreuses plages hémorragiques ont été mises en évidence dans le derme des plaies témoins. Elles étaient également présentes sur les plaies coblatées mais en quantité moindre : la surface de ces plages était de  $3,51 \pm 4,29 \text{ mm}^2$  pour les plaies témoins et de  $1,01 \pm 1,71 \text{ mm}^2$  pour les plaies coblatées à  $J_0$ . Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans l'étude de Sinha portant sur le bistouri électrique, le laser  $\text{CO}_2$  et l'Harmonic® [34]. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'application de la coblation® sur les tissus permet une maîtrise de l'hémostase en scellant les vaisseaux aux marges de la plaie, ce qui n'est pas le cas du bistouri à lame froide.

Ces saignements engendrent la formation de caillots qui étaient de taille similaire pour les plaies témoins et coblatées à  $J_2$  avec une surface moyenne aux environs de  $2 \text{ mm}^2$ . La principale différence observée concerne la composition de ce caillot : pour les plaies témoins, il était très riche en cellules et se composait notamment de nombreux globules rouges et blancs sur une trame fibrineuse alors que pour les plaies coblatées, le caillot était fibrineux et peu riche en cellules (rares globules rouges et quelques granulocytes neutrophiles). Le caillot des plaies témoins se forme à partir des saignements ce qui explique sa composition cellulaire proche de celle du sang. Au contraire, peu d'hémorragies sont observées pour les plaies coblatées et le



caillot se forme principalement à partir d'un exsudat plutôt fibrineux produit au niveau de la plaie et des quelques saignements observés.

La phase vasculaire de la cicatrisation se manifeste par une vasodilatation et un œdème. A J<sub>2</sub>, seule la congestion était visible et elle était plus importante pour les plaies coblatées que pour les plaies témoins. Elle était marquée pour les plaies témoins ( $1,909 \pm 0,944$ ) et marquée à sévère pour les plaies coblatées ( $2,636 \pm 0,505$ ). Sur toutes les plaies, un gradient croissant d'intensité de la congestion était observé vers la profondeur. L'œdème apparaît plus tardivement (à J<sub>4</sub>) mais reste faible et majoritairement interstitiel. Pour ces 2 paramètres, une différence inter-individuelle importante était observable.

En parallèle, la phase cellulaire de la cicatrisation se met progressivement en place avec une leucodiapédèse de polynucléaires neutrophiles. La répartition des polynucléaires est hétérogène au niveau des plaies avec des zones très riches notamment sous la croûte, dans le caillot, le fond de la plaie ou le long des travées conjonctives ; et d'autres régions très pauvres en leucocytes. Concernant les plaies coblatées, la répartition différait légèrement avec notamment une absence de cellules inflammatoires aux marges de la plaie autour de la zone coblatée. Elles étaient principalement présentes à distance des zones de coblation®, sous la croûte, dans le caillot et en profondeur, sous la zone de coblation®. L'intensité de l'infiltrat cellulaire observé apparaissait légèrement moindre pour les plaies coblatées que pour les plaies témoins. Pourtant, les valeurs chiffrées de l'intensité de l'inflammation révélait une inflammation plus marquée pour les plaies coblatées que pour les plaies témoins (à J<sub>2</sub>, plaie témoin :  $1,64 \pm 0,67$  en surface,  $2,09 \pm 0,70$  en profondeur ; plaie coblatée :  $1,73 \pm 0,65$  en surface,  $2,45 \pm 0,52$  en profondeur) mais de manière non significative. Cette contradiction entre les valeurs chiffrées et les observations réalisées sur les lames peut s'expliquer par le fait qu'en associant un score global à l'intensité de l'infiltrat inflammatoire, il y a une perte d'informations par rapport à la lecture initiale des lames, notamment en ce qui concerne l'hétérogénéité de la localisation de l'inflammation. Ceci a pu être à l'origine de scores imprécis et donner une tendance statistique inverse à celle observée sur les lames.

A J<sub>4</sub> et J<sub>7</sub>, le tissu de granulation se met en place sous la forme d'un bourgeon charnu et une différence importante est observée entre plaies coblatées et témoins. Les néovaisseaux pénètrent depuis la périphérie de la plaie vers le centre de la lésion puis se multiplient dans le tissu de granulation. Pour les plaies témoins, ce phénomène est observé à partir de J<sub>4</sub> alors que pour les plaies coblatées, il est présent uniquement à J<sub>7</sub>. Associé au développement de néovaisseaux, une migration de fibroblastes activés a été observée dès J<sub>4</sub> et ils étaient plus nombreux sur les plaies témoins que sur les plaies coblatées. Cette différence était également

visible aux cinétiques suivantes. Une matrice extracellulaire de collagène est alors déposée au niveau du tissu de granulation.

A J<sub>7</sub>, le tissu de granulation des plaies témoins ( $9,40 \pm 6,72 \text{ mm}^2$ ) était plus développé que celui des plaies coblatées ( $5,72 \pm 3,19 \text{ mm}^2$ ) mais la différence n'était pas significative. De même, les composants du tissu étaient plus matures pour les plaies témoins que ceux des plaies coblatées : la densité fibroblastique du tissu de granulation était plus élevée pour les plaies coblatées au contraire du dépôt de collagène qui était moins important et moins mature pour les plaies coblatées. Un gradient de maturation était également présent au sein des coupes avec une maturité plus importante en surface qu'en profondeur de la plaie pour les 2 groupes. Une cavité était également présente au centre du tissu de granulation et elle était de taille similaire pour les plaies témoins ( $2,40 \pm 3,00 \text{ mm}^2$ ) et coblatées ( $1,96 \pm 3,04 \text{ mm}^2$ ). Elle contenait une exsudation séreuse avec des flammèches de fibrine et quelques globules rouges.

En parallèle du développement du tissu de granulation, le caillot et l'inflammation régressent. Ainsi la résorption du caillot était plus lente pour les plaies coblatées avec un caillot plus volumineux que celui des plaies témoins à J<sub>4</sub>. A J<sub>7</sub>, les caillots étaient complètement résorbés pour les 2 techniques. Néanmoins ces différences n'étaient pas significatives. La diminution de la congestion est observée à partir de J<sub>4</sub> où elle était faible à marquée ( $1,64 \pm 0,81$ ) pour les témoins et marquée ( $2,30 \pm 0,67$ ) pour les coblatées alors que la diminution de l'intensité de l'infiltrat inflammatoire n'était observée qu'à partir de J<sub>7</sub>. La nature de l'infiltrat a changé entre J<sub>2</sub> et J<sub>4</sub> avec l'adjonction d'infiltrats lymphoplasmocytaires. Aux cinétiques suivantes, les quelques foyers inflammatoires observés étaient lymphoplasmocytaires pour les 2 groupes. Divi a lui mis en évidence des infiltrats inflammatoires à J<sub>4</sub> et J<sub>7</sub> mais composés uniquement de granulocytes et de macrophages. Aucun lymphocyte n'a été observé [9].

La régression de l'œdème est beaucoup plus tardive, il augmentait progressivement jusqu'à J<sub>14</sub> où il était modéré puis diminuait à J<sub>21</sub>. Initialement, il était majoritairement interstitiel puis à partir de J<sub>7</sub>, une dilatation des lymphatiques était également observée de manière marquée et s'associait à la dilatation interstitielle. Pour ces 2 paramètres, la variabilité inter-individuelle était très importante mais aucune différence n'a été notée entre les 2 techniques.

A partir de J<sub>14</sub>, le remodelage du bourgeon charnu débute et le tissu de granulation évolue en tissu de fibroplasie. Concernant la surface de ce tissu, le tissu de fibroplasie superficiel était moins développé pour les plaies témoins que celui des plaies coblatées et diminuait de taille au cours du temps (Tableau 13). La taille moindre des zones de fibroplasie mesurée sur des plaies témoins indique une résorption plus avancée de ce tissu.

	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>
Plaie témoin	0,41 ± 0,20 mm <sup>2</sup>	0,28 ± 0,12 mm <sup>2</sup>
Plaie coblatée	0,65 ± 0,39 mm <sup>2</sup>	0,40 ± 0,19 mm <sup>2</sup>

**Tableau 13 : Evolution de la surface du tissu de fibroplasie dans le derme collagénique**

Concernant la partie profonde, la surface observée du tissu de fibroplasie était également plus grande pour les plaies coblatées que pour les plaies témoins à J<sub>14</sub> puis elles étaient comparables à J<sub>21</sub> (Tableau 14). Théoriquement, on s'attendait à une diminution de la surface du tissu de fibroplasie profond alors qu'elle a augmenté entre J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub> pour les plaies témoins. L'une des explications de cette évolution inattendue est un biais dans la sélection des lames à J<sub>14</sub> avec des lames présentant un tissu de fibroplasie de petite taille. Néanmoins ici encore, à J<sub>14</sub>, la résorption du tissu de fibroplasie était plus avancée pour les plaies témoins. Dans la partie profonde du tissu de fibroplasie, la cavité avait également nettement régressé et mesurait entre 0,2 et 0,3 mm<sup>2</sup> pour les plaies témoins et coblatées. Elle avait complètement disparu sur plus de la moitié des coupes.

	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>
Plaie témoin	1,94 ± 1,28 mm <sup>2</sup>	3,20 ± 1,81 mm <sup>2</sup>
Plaie coblatée	4,76 ± 1,89 mm <sup>2</sup>	3,24 ± 0,95 mm <sup>2</sup>

**Tableau 14 : Evolution de la surface du tissu de fibroplasie dans le derme adipeux**

Outre la régression du tissu de fibroplasie, celui-ci subit une maturation avec une diminution de la densité fibroblastique, un dépôt de matrice extracellulaire collagénique plus important et une maturation de celui-ci. A J<sub>14</sub>, le tissu de fibroplasie était plus mature pour les plaies témoins que pour les plaies coblatées avec une densité fibroblastique plus faible et un dépôt de collagène plus important. Le dépôt de collagène était également mieux organisé sur les plaies témoins avec des fibres plus épaisses et organisées selon un même axe ainsi qu'une matrice faiblement vacuolaire. Le nombre de néovaisseaux diminue également progressivement à J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub>. A J<sub>14</sub>, la quantité de néovaisseaux était plus importante pour les plaies coblatées que pour les plaies témoins, contrairement aux cinétiques précédentes, du fait de la maturation moins avancée du tissu de fibroplasie des plaies coblatées.

A J<sub>21</sub>, la maturation du bourgeon charnu est similaire pour les plaies témoins et coblatées. Le tissu est peu riche en fibroblastes alors que les fibres de collagène déposées sont

de plus gros diamètre et sont organisées selon les lignes de tension. Les néovaisseaux sont également très rares pour les plaies des 2 groupes.

A J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub>, de nombreux foyers inflammatoires lymphoplasmocytaires de petite taille avec des cellules géantes étaient visibles sur les lames des plaies coblatées et principalement au sein du tissu de fibroplasie. Ces cellules géantes multinucléées sont formées à partir de la fusion des macrophages selon un mécanisme peu connu. Elles se retrouvent principalement dans des granulomes inflammatoires et sont présentes en réponse à des corps étrangers ou des pathogènes persistants [49]. Dans le cas des plaies coblatées, ces cellules étaient présentes dans la région où se trouvait le tissu coblaté avant sa résorption. L'hypothèse principale pour justifier la présence de ces cellules est que, suite à la digestion de la zone de nécrose de coagulation, des antigènes sont libérés et agissent comme des corps étrangers autour desquels se forment des granulomes à cellules géantes. Ceci reste néanmoins une hypothèse car le fonctionnement et le rôle de ces cellules restent méconnus. L'existence de ces cellules géantes à proximité des zones de coblation® a également été mise en évidence par Divi dans une étude sur la cicatrisation des cordes vocales de chien après coblation® [9].

En parallèle de ces différents phénomènes se déroulant dans le derme, la ré-épithélialisation se produit et une différence importante a pu être observée entre les 2 techniques. Tout d'abord, à J<sub>4</sub>, le nombre d'assises épithéliales aux marges de la plaie était beaucoup moins important pour les plaies coblatées que pour les plaies témoins. A J<sub>7</sub>, la ré-épithélialisation était complète pour les plaies témoins alors qu'elle ne l'était pas pour 36 % des plaies coblatées. Lorsque la ré-épithélialisation était complète, une hyperplasie épithéliale était présente initialement au niveau de la plaie avec plus de 15 assises cellulaires, et ce pour les 2 groupes. Puis à J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub>, le nombre d'assises épithéliales diminuait progressivement jusqu'à l'obtention d'un épiderme d'épaisseur similaire à celui préexistant. A J<sub>7</sub> et J<sub>14</sub>, le nombre d'assises épithéliales des plaies coblatées était plus important que celui des plaies témoins ce qui s'explique par le retard de cicatrisation global observé sur les plaies coblatées : l'hyperplasie épidermique des plaies témoins avait déjà commencé à régresser ce qui n'était pas le cas des plaies coblatées. La ré-épithélialisation est plus précoce pour les plaies témoins mais elle est identique à J<sub>21</sub> pour les deux techniques. L'étude de Nusbaum comparant hydrochirurgie, bistouri à lame froide et coblation® pour le débridement de plaie a prouvé une ré-épithélialisation identique des plaies à J<sub>9</sub> et J<sub>21</sub> avec une épidermisation complète à J<sub>21</sub> [24].

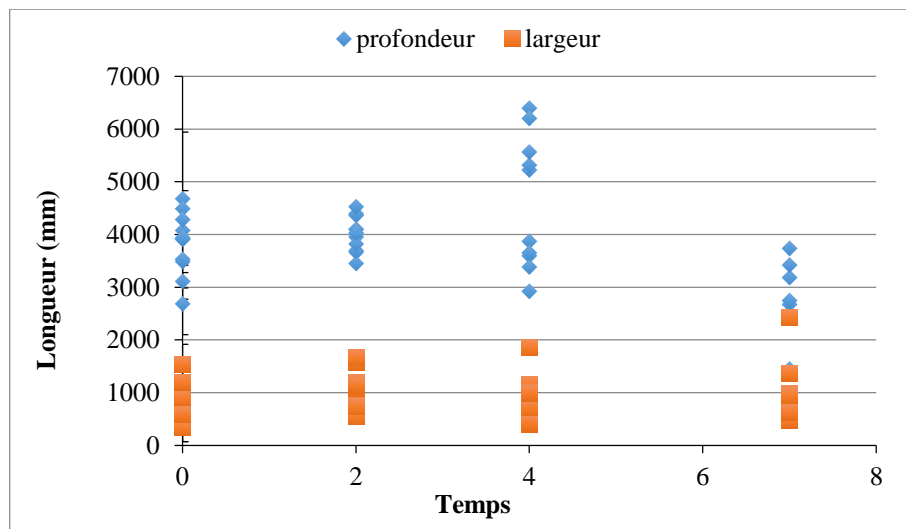
Le faible nombre d'assises épithéliales pour les plaies coblatées à J<sub>4</sub> peut être expliqué par le fait que l'inflammation sous-jacente des plaies coblatées était faible et donc la production

de cytokines nécessaires à la multiplication des cellules, notamment épithéliales, était faible également. Malgré cela, la migration des cellules épithéliales s'est poursuivie ce qui a entraîné un affinement de l'épiderme. Ceci peut contribuer à expliquer le retard d'épithélialisation sur certaines plaies coblatées. Il peut également se justifier du fait que l'épiderme a dû mal à se développer sur le tissu ayant subi la coblation® et que, de ce fait, il croît sans attache basale comme cela a pu être mis en évidence sur certaines lames (Figure 82).

En conclusion, les plaies coblatées présentaient un retard de cicatrisation tant au niveau de l'épiderme que du derme pour les premières cinétiques alors qu'à J<sub>21</sub>, la cicatrisation était comparable pour les 2 groupes. Ceci peut être expliqué par un phénomène qui a été observé à proximité de la zone de coblation® : le tissu préexistant, situé aux environs de cette zone, présentait une très faible réactivité par rapport à ce qui pouvait être observé sur des tissus plus éloignés ou sur les tissus nouvellement formés. Cette faible réactivité se traduisait par une quantité très réduite, voire inexistante, de cellules inflammatoires, fibroblastes, néovaisseaux mais également un œdème et une dilatation lymphatique très légers, voire absents. Ce sont des indicateurs d'un tissu qui semble sidéré et sans réaction. Or, l'inflammation observée majoritairement entre J<sub>2</sub> et J<sub>7</sub>, et sa composante vasculaire d'œdème, est nécessaire à la cicatrisation. Elle permet de faciliter l'apport de cellules, notamment inflammatoires, qui produisent des facteurs de croissance indispensables à la cicatrisation au niveau du caillot et des tissus néoformés. Ces tissus étant figés suite à la coblation®, l'inflammation est peu présente ce qui ralentit la cicatrisation. Cette explication a également été avancée par Thuaksuban suite à l'application de laser CO<sub>2</sub> sur une muqueuse buccale de lapin. Le laser empêcherait l'afflux de cellules inflammatoires par le scellement des vaisseaux sanguins et lymphatiques. [43]

La surface de la zone de coblation® a également évolué tout au long de l'étude et est un paramètre important à suivre [27, 29, 32, 33, 43]. Elle permet de caractériser les effets de la technique sur les tissus. Elle s'étendait sur une largeur de 0,8 à 1,0 mm (largeur cumulée des 2 côtés de la plaie) et une profondeur de 3,8 à 4,0 mm initialement. A J<sub>4</sub>, la valeur de profondeur était plus élevée que celle de J<sub>0</sub> et J<sub>2</sub>, ce qui peut se justifier par la très large répartition des valeurs à cette cinétique par rapport aux autres (Figure 86). Par la suite la profondeur diminuait à 2,6 mm à J<sub>7</sub> avec une disparition progressive des zones les plus profondes. A J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub>, la coblation® était fragmentée en plusieurs foyers. Initialement la surface des foyers de

coblation® devait être mesurée mais au vu du nombre important de foyers de très faible taille, non mesurables précisément pour la plupart, cette mesure a été abandonnée.



**Figure 86 : Répartition des valeurs de profondeur et largeur de la zone de coblation®**

La zone de nécrose de coagulation disparaît progressivement en commençant par la profondeur puis elle se fragmente jusqu'à la disparition complète des foyers de coblation®.

Le mécanisme de résorption de la zone de coblation® est actuellement inconnu. Jako a mis en évidence que le tissu ayant subi une nécrose de coagulation ne réagissait pas comme un corps étranger et ne suscitait pas une réaction inflammatoire majeure [17]. C'est ce qui a également été observé lors de cette étude. La principale hypothèse concernant la disparition progressive du tissu coblaté est une digestion de celui-ci par des facteurs enzymatiques qui commence par le fond de la plaie puis le fragmentent progressivement jusqu'à sa complète disparition.

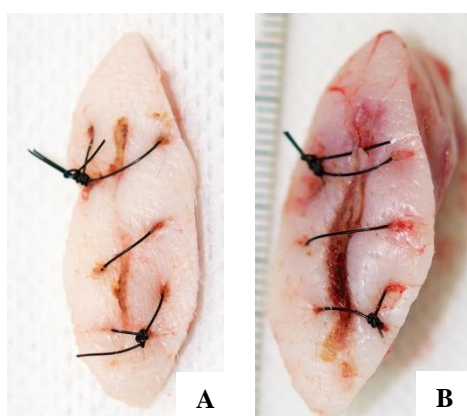
L'énergie plasma semble diffuser plus facilement dans les plans tissulaires conjonctifs car c'est au niveau de ces structures que les largeurs de la zone de nécrose de coagulation ont été les plus importantes. Initialement, les adipocytes ne semblaient pas touchés par la coblation® car aucune modification des cellules n'était observée. C'est à partir de J<sub>4</sub> que les modifications au sein des cellules ont été visualisées avec principalement une disparition des noyaux des adipocytes sur une largeur de tissu correspondant à celle de la nécrose de coagulation observée au niveau des travées conjonctive. Ceci correspond à une nécrose des adipocytes induite par l'application de la sonde de coblation®.

Les effets de la coblation® étaient donc principalement visibles au niveau des travées conjonctives mais d'autres lésions plus discrètes étaient également présentes sur les tissus environnants et n'étaient identifiables que plus tardivement.



Outre le retard de cicatrisation, la coblation® semble également fragiliser le tissu cicatrisé : sur la Figure 82, les marges de la plaie au niveau du derme n'étaient pas adhérentes et seul l'épiderme reliait les 2 marges de la plaie. Dans le derme, de la nécrose de coagulation était présente sur les berges de la plaie au niveau de la zone d'absence d'adhérence. De ce fait, cette dernière peut être expliquée par le fait que 2 tissus quasiment inertes étaient apposés et que leur adhérence l'un à l'autre était difficile. En outre, une mauvaise adhésion de l'épiderme à la zone de coblation® sous-jacente a pu être observée sur la Figure 82, ce qui est à l'origine d'une zone de fragilité supplémentaire. Les plaies coblatées présentent donc un risque de déhiscence accru.

En faisant des recoupements entre les observations macroscopiques et microscopiques, il a été mis en évidence que certains phénomènes se produisant en profondeur avaient des répercussions sur l'aspect macroscopique mais pas de manière systématique. Ainsi, pour 2 plaies, une panniculite (inflammation du tissu adipeux cutané) a été observée microscopiquement alors que macroscopiquement, une anomalie était observable sur une seule des plaies (Figure 87).



**Figure 87 : Aspect macroscopique de 2 plaies présentant microscopiquement une panniculite**

A : porc 5, plaie coblatée à J14 ; B : porc 3, plaie coblatée à J4

Ainsi sur la Figure 87, la plaie A semble d'aspect normal, sans signe d'inflammation, alors que la plaie B présente un œdème et un érythème important avec une déhiscence de plaie.

Cette observation permet de confirmer qu'une étude macroscopique seule n'est pas suffisante pour réaliser une étude de cicatrisation car la majorité des phénomènes se déroule en profondeur sans répercussion systématique sur l'aspect macroscopique.

## CONCLUSION

L'objectif de cette étude était d'évaluer expérimentalement l'innocuité de la coblation® dans la cicatrisation des plaies.

Les résultats ont montré que l'utilisation de la coblation® ralentit la cicatrisation des plaies. Macroscopiquement, les plaies commencent à cicatriser plus tard. Microscopiquement, les différentes étapes de la cicatrisation sont retardées. Ainsi, la résorption du caillot est plus lente, la formation du tissu de granulation, le dépôt de collagène et sa maturation sont retardés. La maturation des tissus cicatriciels est également plus lente. Les plaies traitées par coblation® peuvent également présenter une fragilité plus importante avec des risques de déhiscence augmentés.

Néanmoins, la coblation® permet de réaliser une bonne hémostase de la plaie avec des dégâts thermiques très localisés aux marges de la plaie. De plus, l'inflammation de ces plaies est réduite et absente de la zone coblatée. Cette diminution de l'inflammation ainsi que la faible activité observée dans les tissus à proximité de la zone de coblation® seraient à l'origine du retard de cicatrisation observé. Il est néanmoins important de noter qu'au terme de l'étude à J<sub>21</sub>, les plaies coblatées sont toutes entièrement cicatrisées et ne présentent pas de différence avec les plaies témoins aussi bien macroscopiquement que microscopiquement.

Cette étude a donc permis de mettre en évidence que malgré un léger retard de cicatrisation des plaies, la coblation® est une technique utile pour le traitement des plaies notamment du fait de la faible extension des lésions thermiques autour de la zone d'application de la sonde de coblation®.

Ces résultats conduisent à envisager de futurs axes de recherche :

- Le premier axe consisterait en une étude comparative des effets tissulaires de différents dispositifs utilisés pour le traitement des plaies tels que le bistouri électrique, le laser CO<sub>2</sub>, l'Harmonic® de manière à évaluer les avantages de la coblation® vis-à-vis des autres dispositifs.
- Le deuxième axe s'intéresserait à l'utilisation de la coblation® pour la détersion de plaies chroniques ou infectées ou de plaies ayant une cicatrisation anarchique et exubérante telles que les chéloïdes. Des effets bénéfiques semblent envisageables notamment du fait de la diminution de l'inflammation suite à l'application de la sonde.



# ANNEXES

## Annexe 1 : Protocole de coloration hémalun-éosine

### PREMIERE ETAPE : DEPARAFFINAGE

- 5 minutes dans le toluène

### SECONDE ETAPE : REHYDRATATION

- 5 minutes dans alcool absolu
- 5 minutes alcool à 95°
- 5 minutes sous eau du robinet
- Eponger les lames

### TROISIEME ETAPE : COLORATION ET MONTAGE

- **1 minute** dans le *colorant hémalun* (colorant nucléaire)
- Rincer à l'eau : ajouter 3 gouttes d'ammoniaque et laisser couler l'eau
- Nettoyer les contours avec du papier
- **20 secondes** dans le *colorant éosine*. Rincer en faisant des bains rapides.
- Alcool à 95° décolore l'éosine, laisser assez longtemps si les lames sont trop roses.
- Passage à l'alcool absolu
- Toluène
- Effectuer le montage des lames avec du baume.

### RESULTATS :

- Les noyaux sont colorés en bleu.
- Les cytoplasmes sont colorés en rose.

### PRODUITS :

- Hémalun de MAYER, réactif de RAL
- Eosine à 2 % : éosine jaunâtre 1g, érythrosine 1g, eau distillée 100mL.

## Annexe 2 : Grille de lecture des cinétiques précoces (J<sub>0</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>4</sub>)

### *Lectures lambeaux cutanés plasma froid (cinétiques précoces)*

Réf histopath	Cochon n° :	Lot :
date lecture		Cinétique : 0, 2, 4, 7, 14, 21

Histopath	Niveau de coupe Satisfaisant : oui Numéro de lame	Reprendre le bloc : consignes
H&E		Coupes sélectionnées
Plaie	Profondeur	
Epiderme	Ré-épithélialisation	Incomplète – complète
	Epaisseur	Nb d'assises sur l'incision
Zone de coblation®	Dimensions	Surface d'application Profondeur (perpendiculaire à la peau)
	Epaisseur maximale	
	Autre	
Derme	Hémorragie/caillot	
	Œdème	
	Signes vasculaires (congestion, leucostase)	
	Inflammation Partie superficielle de la plaie	Nature Intensité
	Inflammation Partie profonde de la plaie	Nature Intensité
	Tissu granulation	
	Néovascularisation	
	Synthèse /dépôt de collagène	Localisation Intensité maturité
	Points de suture	
	Autre	

Commentaires	
--------------	--

### Annexe 3 : Grille de lecture à J7

#### *Lectures lambeaux cutanés plasma froid (J7)*

Réf histopath	Cochon n° :	Lot :
date lecture		Cinétique : 0, 2, 4, 7, 14, 21

Histopath	Niveau de coupe Satisfaisant : oui Numéro de lame	Reprendre le bloc : consignes
H&E		Coupes sélectionnées
Plaie	Profondeur	
Epiderme	Ré-épithélialisation	Incomplète – complète
	Epaisseur	Nb d'assises sur l'incision
Zone de coblation®	dimensions	Surface d'application Profondeur (perpendiculaire à la peau)
	Epaisseur maximale	
	Autre	
Derme	Hémorragie/caillot	
	Œdème	
	Signes vasculaires (congestion, leucostase)	
	Dilatation des lymphatiques	
Partie superficielle de la plaie	Densité fibroblastique	abondance
	Synthèse /dépôt de collagène	maturité
Partie profonde de la plaie	Colonisation conjonctive du tissu de granulation	Localisation Dimension
	Cavitation profonde	Localisation Dimension Contenu
	Néovascularisation	
	Points de suture	
	Autre	

Commentaires	
--------------	--



### Annexe 4 : Grille de lecture des cinétiques tardives (J<sub>14</sub>, J<sub>21</sub>)

#### *Lectures lambeaux cutanés plasma froid (cinétiques tardives)*

Réf histopath	Cochon n° :	Lot :
date lecture		Cinétique : 0, 2, 4, 7, 14, 21

Histopath	Niveau de coupe Satisfaisant : oui Numéro de lame	Reprendre le bloc : consignes
H&E		Coupes sélectionnées
Plaie	Profondeur	
Epiderme	Ré-épithélialisation	Incomplète – complète
	Epaisseur	Nb d'assises sur l'incision
Reliquat de coblation®	Persistance de foyers de coagulation protéique de coblation®	Localisation Dimension
Derme	Œdème	
	Dilatation lymphatique	
Partie superficielle de la plaie (derme collagénique)	Fibroplasie	Localisation Dimension
	Densité fibroblastique	Abondance
	Synthèse /dépôt de collagène dans le cordon de cicatrisation	Maturité
Partie profonde de la plaie (derme adipeux)	Fibroplasie	Localisation Dimension
	Cavitation profonde	Localisation Dimension Contenu
	Néovascularisation	
	Points de suture	
	Autre	

Commentaires	
--------------	--

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ACLAND K.M., CALONJE E., SEED P.T., STAT C., BARLOW R.J. (2001) A clinical and histologic comparison of electrosurgical and carbon dioxide laser peels. *J Am Acad Dermatol* 44(3):492–496
2. AIRD L.N.F., BROWN C.J. (2012) Systematic review and meta-analysis of electrocautery versus scalpel for surgical skin incisions. *Am J Surg* 204(2):216–221
3. ALLAS S. (1997) Effets et mécanismes d'action d'extraits plaquettaires de porc sur la cicatrisation cutanée par première et seconde intention. Thèse d'obtention du grade de PhD en Sciences Biomédicales, Université de Montréal
4. AMIEL D., BALL S.T., TASTO J.P. (2004) Chondrocyte viability and metabolic activity after treatment of bovine articular cartilage with bipolar radiofrequency: An in vitro study. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg* 20(5):503–510
5. ANDRE J.M., CATALA M., MORERE J.J., ESCUDIER E., KATSANIS G., POIRIER J. *Histologie : les tissus*. <http://www.chups.jussieu.fr/>. Accessed 24 Apr 2015
6. BESNARD A. (1985) La peau du porc : particularités et cicatrisation par seconde intention (dynamique cellulaire précoce). Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT
7. BLANC-GONNET A. (2004) Etude expérimentale chez le porc d'un nouveau biomatériau pour la cicatrisation cutanée. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon - ENVL
8. Covidien Covidien, surgical solutions. <http://www.covidien.com/surgical>. Accessed 18 May 2015
9. DIVI V., BENNINGER M., KIUPEL M., DOBBIE A. (2012) Coblation of the canine vocal fold: a histologic study. *J Voice* 26(6):811.e9–811.e13
10. DUBIEL B., SHIRES P.K., KORVICK D., CHEKAN E.G. (2010) Electromagnetic energy sources in surgery. *Vet Surg* 39(8):909–924
11. DUPASQUIER F. (2011) Hydrogels physiques de chitosane pour la régénération in vivo du tissu cutané après brûlures du troisième degré. Thèse de doctorat de l'Ecole Doctorale Matériaux de Lyon, Université Claude Bernard - Lyon I
12. FITCH R.B., SWAIM S.F. (1995) The role of epithelialization in wound healing. *Compend Contin Educ Pract Vet* 17:167 – 177
13. FRANCHI M., GHEZZI F., BENEDETTI-PANICI P.L., MELPIGNANO M., FALLO L., TATEO S., MAGGI R., SCAMBIA G., MANGILI G., BUTTARELLI M. M (2001) A multicentre collaborative study on the use of cold scalpel and electrocautery for midline abdominal incision. *Am J Surg* 181(2):128–132

14. GUICHAOUA J.J. (1977) La peau du porc : histologie, histochimie, ultrastructure, comparaison avec l'homme. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT
15. HE D. (2006) Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT
16. HOMAYOUNFAR K., MEIS J., JUNG K., KLOSTERHALFEN B., SPRENGER T., CONRADI L.C., LANGER C., BECKER H. (2012) Ultrasonic scalpel causes greater depth of soft tissue necrosis compared to monopolar electrocautery at standard power level settings in a pig model. *BMC Surg* 12(1):3
17. JAKO G.J. (1972) Laser surgery of the vocal cords. An experimental study with carbon dioxide lasers on dogs. *The Laryngoscope* 82(12):2204–2216
18. JOHNSTON D.E. (1992) Cicatrisation cutanée. *Point Vét* 24(Numéro spécial : Chirurgie plastique et reconstructrice cutanée):409–422
19. MAGDY E.A., ELWANY S., EL-DALY A.S., ABDEL-HADI M., MORSHEDY M.A. (2008) Coblation tonsillectomy: a prospective, double-blind, randomised, clinical and histopathological comparison with dissection–ligation, monopolar electrocautery and laser tonsillectomies. *J Laryngol Otol* 122(3):282–290
20. MAURIN L. (2005) Le porc : modèle animal de cicatrisation cutanée. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon - ENVL
21. MÖSGES R., HELLMICH M., ALLEKOTTE S., ALBRECHT K., BÖHM M. (2011) Hemorrhage rate after coblation tonsillectomy: a meta-analysis of published trials. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 268(6):807–816
22. MUGUET A. (2002) Contribution à l'étude de la cicatrisation cutanée : développement d'un modèle expérimental de cicatrisation retardée par ischémie chez le lapin. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon - ENVL
23. NOORDZIJ J.P., AFFLECK B.D. (2006) Coblation versus unipolar electrocautery tonsillectomy: a prospective, randomized, single-blind study in adult patients. *The Laryngoscope* 116(8):1303–1309
24. NUSBAUM A.G., GIL J., RIPPY M.K., WARNE B., VALDES J., CLARO A., DAVIS S.C. (2012) Effective method to remove wound bacteria: comparison of various debridement modalities in an in vivo porcine model. *J Surg Res* 176(2):701–707
25. PERRON-LEPAGE M.F. (2000) La cicatrisation des plaies cutanées. *Prat Vét Équine* 32(126):95–102
26. POIRIER J., CHEVREAU J. (1971) Feuillettes d'histologie humaine. Maloine, Paris
27. RIZZO L.B., RITCHEY J.W., HIGBEE R.G., BARTELS K.E., LUCROY M.D. (2004) Histologic comparison of skin biopsy specimens collected by use of carbon dioxide or 810-nm diode lasers from dogs. *J Am Vet Med Assoc* 225(10):1562–1566

28. ROUX C. (1999) Contribution à l'étude de la cicatrisation cutanée chez le cheval, présentation d'un nouveau biomatériau. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Université Claude Bernard - Lyon I
29. SCHOINORITI O., CHRYSOMALI E., IATROU I., PERREA D. (2012) Evaluation of lateral thermal damage and reepithelialization of incisional wounds created by CO<sub>2</sub>-laser, monopolar electrosurgery, and radiosurgery: a pilot study on porcine oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 113(6):741–747
30. SCOTT D.W. (1988) *Large animal dermatology*. W.B. Saunders, Philadelphia
31. SERIOT P. (2014) Indications de la technique de coblation en chirurgie des tissus mous. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT
32. SIBBONS P.D., SOUTHGATE A. (2006) Comparison of wound-healing and tissue effects using the Gyrus PlasmaKnife with monopolar, Coblation, and Harmonic Scalpel methodologies. *Comp Clin Pathol* 15(1):17–26
33. SILVERMAN E.B., READ R.W., BOYLE C.R., COOPER R., MILLER W.W., McLAUGHLIN R.M. (2007) Histologic comparison of canine skin biopsies collected using monopolar electrosurgery, CO<sub>2</sub> laser, radiowave radiosurgery, skin biopsy punch, and scalpel. *Vet Surg* 36(1):50–56
34. SINHA U.K., GALLAGHER L.A. (2003) Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO<sub>2</sub> laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. *The Laryngoscope* 113(2):228–236
35. Smith & Nephew Coblation® plasma technology. <http://www.smith-nephew.com/key-products/key-ent/ent-technology/coblation/>. Accessed 5 Apr 2015
36. STIEGLITZ M., RIVIERE G. (2014) Etude comparative de deux techniques de resection du voile du palais: la coblation et la méthode chirurgicale classique. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT
37. STOKER K.E., DON D.M., KANG D.R., HAUPERT M.S., MAGIT A. (2004) Pediatric total tonsillectomy using Coblation compared to conventional electrosurgery: a prospective, controlled single-blind study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 130(6):666–675
38. SULLIVAN T.P., EAGLSTEIN W.H., DAVIS S.C., MERTZ P. (2001) The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc* 9(2):66–76
39. SWAIM S.F. (1997) *Wound healing. Small Anim. Wound Manag.*, 2e édition. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, pp 1–12
40. SWANSON J.R., MELTON J.L. *Anatomy and histology of normal skin*. <http://www.meddean.luc.edu>. Accessed 24 Apr 2015
41. TAHERI A., MANSOORI P., SANDOVAL L.F., FELDMAN S.R., PEARCE D., WILLIFORD P.M. (2014) Electrosurgery Part I - Basics and principles. *J Am Acad Dermatol* 70(4):591.e1–591.e14

42. TAHERI A., MANSOORI P., SANDOVAL L.F., FELDMAN S.R., PEARCE D., WILLIFORD P.M. (2014) Electrosurgery Part II - Technology, applications, and safety of electrosurgical devices. *J Am Acad Dermatol* 70(4):607.e1–607.e12
43. THUAKSUBAN N., NUNTANARANONT T. (2005) Histological study of wound healing after carbon dioxide laser surgery: an animal study. *Asian J Oral Maxillofac Surg* 17(2):88–94
44. TOBIAS K.M., JOHNSTON S.A., SACKMAN J.E. (2012) Surgical modalities: Laser, Radiofrequency, Ultrasonic, and Electrosurgery. *Vet. Surg. Small Anim.* Saunders, Saint Louis, pp 180–186
45. VON WOEDTKE T., REUTER S., MASUR K., WELTMANN K.D. (2013) Plasmas for medicine. *Phys Rep* 530(4):291–320
46. WELSCH U., SOBOTTA J. (2002) Sobotta atlas d'histologie, 6e édition. Editions médicales internationales, Paris
47. WHEATER P.R., HEATH J.W., LOWE J.S., STEVENS A., YOUNG B., VALIDIRE P., VALIDIRE-CHARPY P. (2008) Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater, 2e édition. De Boeck, Bruxelles
48. WOLOSZKO J., STALDER K.R., BROWN I.G. (2002) Plasma characteristics of repetitively-pulsed electrical discharges in saline solutions used for surgical procedures. *IEEE Trans Plasma Sci* 30(3):1376–1383
49. ZACHARY J.F., McGAVIN M.D. (2013) *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, 5e édition. Mosby, Saint Louis

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, Patricia MEYNAUD, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Lucie CHARLETOUX** intitulée «**Innocuite de la coblation® dans la cicatrisation des plaies : étude expérimentale.**» et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

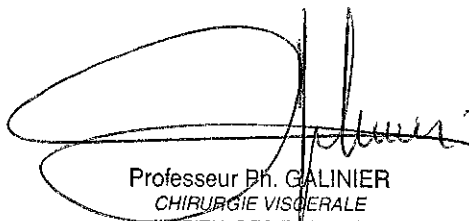
Fait à Toulouse, le 14 septembre 2015  
Docteur Patricia MEYNAUD  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
La Directrice de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Isabelle CHMITELIN

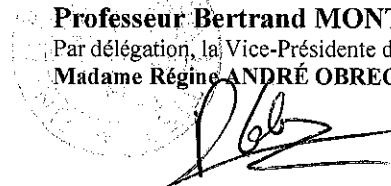


Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Philippe GALINIER



Professeur Ph. GALINIER  
CHIRURGIE VISCERALE  
HOPITAL DES ENFANTS  
TSA 70034 - 31059 TOULOUSE Cedex 9

Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT  
Par délégation, la Vice-Présidente du CEVU  
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.







Toulouse, 2015

**NOM : CHARLETOUX**

**Prénom : Lucie**

**TITRE : INNOCUITE DE LA COBLATION® DANS LA CICATRISATION DES PLAIES : ETUDE EXPERIMENTALE**

**RESUME :** Depuis 30 ans, la prise en charge des plaies fait appel aux technologies avancées. La technique de coblation® est utilisée, chez l'homme, en ORL ou chirurgie articulaire, et en médecine vétérinaire, en arthroscopie et chirurgie des tissus mous (résection du voile du palais). Elle a récemment été décrite dans le traitement des plaies mais peu de publications décrivent son effet sur les tissus et leur cicatrisation. L'intérêt de la coblation® serait de réaliser la détersion et l'hémostase d'une plaie en limitant les dégâts thermiques induits par les autres techniques (bistouri électrique, laser).

Cette étude expérimentale a pour but de démontrer l'innocuité de la coblation® dans le traitement des plaies chirurgicales chez le porc, macroscopiquement et histologiquement en comparant la cicatrisation de plaies traitées ou non par coblation®.

Les résultats montrent que la coblation® ralentit la cicatrisation des plaies. Un retard global de cicatrisation par rapport aux témoins est observé : mise en place du tissu de granulation, résorption du caillot, formation de collagène et réorganisation des fibres. En outre, une fragilité est observée liée à la nécrose de coagulation thermique induite par la technique. Néanmoins, au terme de l'étude à J<sub>21</sub>, toutes les plaies étaient cicatrisées. Ainsi, la coblation® est une technique fiable en dépit d'un léger retard de cicatrisation sans conséquences majeures. Il reste à démontrer que ces effets sont moins importants que ceux induits par les autres techniques telles que le bistouri électrique et le laser. Il reste également à démontrer l'innocuité de la technique dans la détersion des plaies traumatiques.

**MOTS CLES :** COBLATION®, PLAIE, INNOCUITE, EXPERIMENTALE, PORC

---

**ENGLISH TITLE:** SAFETY OF THE USE OF COBLATION® IN WOUND HEALING: EXPERIMENTAL STUDY

**ABSTRACT:** For the past 30 years, advanced technologies have been used in wounds treatment. The Coblation® technique is currently used, in human medicine, for the ENT and articular surgery, and in veterinarian medicine, for arthroscopies and soft tissues surgery (soft palate resection). It has been recently described in wound treatment but there are just a few publications studying its effects on tissues and their healing. The interest of coblation® is that it allows to achieve both detersion and coagulation of wounds while limiting thermal damages which occurred with other devices (CO<sub>2</sub> laser or monopolar electro-surgery).

This experimental study's purpose is to prove the safety of the use of coblation® in incisional wounds treatment in pigs. A macroscopic and histological comparison between coblated wound healing and control wound has been done.

Results have demonstrated a delayed wound healing of wounds treated with coblation®. Coblated wounds showed a slower wound healing compared to the control ones: a later settlement of the granulation tissue, a slower clot resorption and a retarded formation and reorganization of collagen fibers. Moreover, a weakness in healed tissues has been seen because of the coagulation necrosis due to the application of coblation®. However, at D<sub>21</sub>, the study's end, all wounds were fully healed. Coblation® remains a reliable technique in wound treatment despite a slower wound healing without major consequences. Further experiments should be run to demonstrate that these effects are less important than those induced by other techniques such as monopolar electro-surgery or laser. Moreover, the safety of this technique in traumatic wound detersion has to be proven.

**KEYWORDS:** COBLATION®, WOUND, SAFETY, EXPERIMENTAL STUDY, SWINE