

Mémoire de Maîtrise en médecine N°5725

Elaboration d'un modèle de brûlure de peau humaine ex vivo par LASER à colorant pulsé.

Etudiante

Ania Raszka

Tuteur

Dr. Anthony de Buys Roessingh

Service de Chirurgie de l'Enfant et de l'Adolescent - CHUV

Co-tuteurs

Dr. Nathalie Hirt-Burri

Dpt. de l'Appareil Locomoteur, Unité de Thérapie Régénérative – CHUV

&

Dr. Daniel Haselbach

Service de Chirurgie Plastique et Reconstructive – CHUV

Expert

Pr. Wassim Raffoul

Service de Chirurgie Plastique et Reconstructive - CHUV

Lausanne, le 15 décembre 2018

MISE EN BOUCHE

Ces remerciements, que j'ai voulus sincères et humoristiques, iront peut-être à *contre-pied* des conventionnelles lignes écrites à l'entame des travaux de master. J'espère, chers lecteurs et lectrices, que *vos cheveux* ne se dresseront pas sur *la tête* ! Je mettrais pourtant volontiers *ma main* au feu que je parviendrai, au moins par-ci ou par-là, à vous convaincre d'une amusante vérité : l'homme adore nommer des parties de son corps pour exprimer ses maux !

Il y a quelques mois, j'ai réalisé que je m'étais mise *le doigt dans l'œil* en pensant que rédiger ces quelques trente pages de rapport sera ferait *les doigts dans le nez*. Je n'ai pas voulu baisser *les bras* avant d'avoir mis *la main* à la pâte ; je me suis dite que je n'avais quand même pas *deux mains gauches* et quitte à en avoir plein *le dos* de tous ces mots, je me suis quand même mise *en tête* de me mettre à l'eau...

J'ai donc arrêté de me tourner *les pouces* et je me suis mise à travailler à *sang* à l'heure. Au début, je ne savais plus où donner de *la tête*, j'avais du travail jusqu'au *cou*. J'ai fait marcher *mes méninges*, je me suis creusée *la tête* à m'en arracher *les cheveux*. Même si la quantité de travail me donnait parfois envie de prendre *mes jambes à mon cou*, je suis vite retombée sur *mes pieds* et j'ai compris que cette recherche devait être prise à *bras le corps*.

Puis, grâce à vous, en travaillant *main dans la main*, j'ai vu *peau à peau* ce travail prendre *corps*.

Merci au Dr. de Buys d'avoir accepté, de bon *cœur*, d'être mon tuteur. Merci à Daniel de m'avoir proposé son idée de recherche et de m'avoir prise sous son aile. Vous avez tous deux rendu ce travail possible, je vous en remercie. Vous m'avez suivi sans faire les gros *yeux*, et jamais vous n'avez contre moi eu *la dent dure*.

Merci de tout *cœur* à Nathalie de m'avoir accueillie *les bras* ouverts et de m'avoir saisie à *bras le corps*. Tu as toujours eu les choses en *main* et tu as su avec *doigté* me donner un coup de *pouce* qui s'est avéré *majeur* !

Arrivée *la bouche en cœur* au laboratoire du DAL, Catherine, *la main* sur *le cœur*, m'a appris à débiter les blocs de paraffines pour en faire les lames d'histologies. Je la remercie également pour toutes celles qu'elle a coupées d'*une main* de velours pour moi.

Dans le service de dermatologie, c'est à Kimberley que j'ai fait *les yeux doux* pour qu'elle jette un coup d'*œil* aux lames histologiques. Merci de m'avoir appris en *un clin d'œil* à voir ce qui sautait *aux yeux* !

Mon *talon* d'Achille a toujours été la physique ; ainsi, Olivier, je te remercie pour le coup de *main* que tu m'as rendu *au pied levé*.

Merci à ma famille et à mes amis pour m'avoir *épaulée*, sans jamais me tourner *le dos*. D'avoir *rhésus-cité* mon enthousiasme lors ce que je me faisais du mauvais *sang* et d'avoir eu *foie* en moi, même quand tout n'était pas *cirrhose* que ça.

Grâce à eux, j'ai pu faire *front*, même dans les moments les plus à *rides*. Maintenant que ce travail est terminé, et que je connais mon sujet *par cœur*, sur *le bout des doigts*, je vais pouvoir arrêter de me faire de *la bile*, tourner *le dos* à tout ce qui m'empêchait de fermer *l'œil* de la nuit, et enfin dormir sur *mes deux oreilles*.

Il n'y a pas de *maux* suffisants dans le corps humain pour vous dire à quels *poings* je vous remercie de m'avoir donné un coup de *main* pour ce travail...que j'ai désormais dans *la peau* !

Contexte et objectifs

Le diagnostic précoce du degré de brûlure est un point clé dans la prise en charge et dans le choix du traitement des patients victimes de brûlures. Les brûlures de 2^{ème} degré superficiel et profond sont un défi diagnostique, basé actuellement sur l'apparence clinique des lésions. Ces deux degrés de brûlures requièrent des prises en charge différentes. Les brûlures de 2^{ème} degré superficiel demandent un traitement conservateur et guérissent spontanément, tandis que les brûlures de 2^{ème} degré profond ont besoin d'un traitement chirurgical, car aucune cicatrisation n'est possible. A cause de la difficulté à différencier ces deux grades de brûlures, les traitements sont retardés, augmentant le risque de séquelles esthétiques et fonctionnelles.

Un modèle de brûlure est important pour la réalisation de multiples expériences sur des degrés de brûlures connus. Nous proposons, à travers ce travail, la création d'un modèle de brûlure *ex vivo*, sur des échantillons de peau humaine. Nous allons pour ce faire chercher à déterminer les paramètres précis de fluence et de pulsation d'un laser colorant pulsé, induisant des brûlures de 2^{ème} degré superficiel et de 2^{ème} degré profond.

Méthode

De la peau abdominale en excès, provenant de la biobanque DAL (Department of Musculoskeletal Medicine), a été récoltée chez six femmes blanches (phototype II à III) à la suite d'une opération électorale de reconstruction du sein par la technique DIEP (Deep Inferior Epigastric Perforator). Dans un délai d'une heure post-opératoire, des brûlures ont été induites à l'aide d'un laser à colorant pulsé (595nm), sur la peau dégraissée et coupée en échantillons de 1x1cm². Avec des paramètres variables de fluence, de temps et de nombre de pulsation, 53 brûlures ont été effectuées avant d'être traitées pour analyse histologique.

Résultats

Un modèle de brûlure de deuxième degré superficiel et profond a été créé.

Avec des paramètres fixes que sont une longueur d'onde de 595nm, une fluence de 13 J/cm², un diamètre de faisceau laser de 7mm et une durée de pulsation de 3ms, des brûlures de deuxième degré superficiel ont été réalisées avec 15 pulsations et des brûlures de deuxième degré profond avec 30 pulsations.

Conclusion

Les résultats de l'étude tendent à montrer que le modèle de brûlure *ex vivo* sur peau humaine est un modèle précis et reproductible de brûlures de second degré superficiel et profond, proche de la réalité clinique. Dans la perspective d'améliorer les stratégies thérapeutiques, ce modèle pourrait servir de support à l'expérimentation de nouveaux traitements sur des degrés de brûlure connus, en complément aux études *in vivo*, avec l'avantage de ne pas être soumis aux mêmes restrictions et contraintes que ces dernières.

Mots-clés

Brûlure pédiatrique - Modèle de brûlure de deuxième degré superficiel et profond - Modèle de brûlure sur peau humaine *ex vivo* - Laser à colorant pulsé

TABLE DES MATIERES

<u>1. INTRODUCTION</u>	
1.1 Peau humaine	5
1.1.1 Epiderme	5
1.1.2 Derme	6
1.1.3 Hypoderme	6
1.2 Brûlure	7
1.2.1 Epidémiologie	7
1.2.2 Définition	7
1.2.2.1 La superficie	7
1.2.2.2 La profondeur	8
1.2.2.3 La localisation	9
1.2.3 Prise en charge	9
1.2.3.1 Suivi ambulatoire versus hospitalisation	9
1.2.3.2 Traitement conservateur versus chirurgical	10
1.3 Laser	11
1.3.1 Généralités sur les lasers	11
1.3.2 Propriétés et paramètres	12
1.3.3 Interaction du laser sur la peau	13
1.3.4 Brûlure par rayonnement laser (effet thermique)	13
1.3.5 Type de Laser	14
1.3.6 Laser à colorant pulsé (PDL) 595nm	15
1.4 Objectifs de ce travail	15
<u>2. EXPERIMENTATION SUR PEAU HUMAINE EX VIVO</u>	
2.1 Méthode et matériels	15
2.1.1 Laser à colorant pulsé (PDL)	15
2.1.2 Echantillon de peau	16
2.1.3 Paramètres expérimentaux	16
2.2 Histologie	17
<u>3. RESULTATS</u>	
3.1 Observation macroscopique des lésions thermiques	18
3.2 Observation histologique des lésions thermiques	19
3.2.1 Effet du nombre de pulsation	22
3.2.1.1 Pour une fluence de 7 J/cm ²	22
3.2.1.2 Pour une fluence de 13 J/cm ²	22
3.2.2 Effet de la durée de la pulsation	23
3.2.3 Effet de la fluence	24
3.3 Résumé des résultats	24
<u>4. DISCUSSION</u>	
4.1 Choix du modèle de brûlure sur peau humaine ex vivo	24
4.2 Explications des résultats	25
4.2.1 Corrélation entre dommages et paramètres du laser	25
4.2.1.1 Effet de la durée et du nombre de pulsations	25
4.2.1.2 Effet de la fluence	27
4.2.2 Brûlures dermiques	27
4.2.3 Reproductibilité	27
4.3 Biais et erreurs de cette étude	28
4.4 Mise en culture des échantillons de peau	29
<u>5. PERSPECTIVES</u>	30
<u>6. BIBLIOGRAPHIE ET INTERVENANTS</u>	31
<u>7. ANNEXES</u>	35
<u>8. CLOTURE</u>	42

Ce travail de maîtrise se déclinera de la manière suivante :

Le premier chapitre est consacré à la peau, aux brûlures et aux lasers. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons d'abord à la physiologie et à l'anatomie de la peau. Nous aborderons ensuite la brûlure, décrivant ses caractéristiques cliniques et microscopiques, et évoquerons également quelques éléments de prise en charge. Ce chapitre se terminera par le rappel de quelques notions de base en physique optique, ainsi qu'au fonctionnement des lasers et des spécificités du laser à colorant pulsé. Le deuxième chapitre sera consacré au déroulement de l'expérimentation. Le troisième chapitre décrira les résultats macroscopiques et microscopiques obtenus. L'avant-dernier chapitre permettra d'analyser et de discuter les résultats obtenus. Enfin, le dernier chapitre offrira la possibilité de clore ce travail de master en abordant les perspectives futures.

1.1 Peau humaine

La peau est un organe essentiel et le plus grand du corps humain(1). Elle nous protège du monde extérieur et maintient notre homéostasie intérieure, grâce à trois couches de tissus cellulaires et fonctionnellement distinctes : l'épiderme, le derme et l'hypoderme.

1.1.1 Epiderme

L'épiderme est le premier type de tissu en contact direct avec l'extérieur. Son épaisseur varie selon sa localisation ; elle atteint sa plus grande épaisseur au niveau des pieds, tandis qu'elle est la plus fine au niveau des paupières. Grâce aux kératinocytes qui la composent à 97%(2), mais également grâce à d'autres types de cellules, le rôle principal de l'épiderme est la protection face à divers agressions extérieures, telles que le froid, le chaud ou les agents pathogènes.

Les mélanocytes sont un autre type de cellules ne représentant même pas 1%(3) des différentes cellules composant l'épiderme ; ils se retrouvent également dans les follicules pileux du derme profond. Bien que peu présents dans les cellules, les mélanocytes sont cependant très importants car ils synthétisent la mélanine, un pigment photo-protecteur qui absorbe les rayons UV du soleil (entre 200 et 2000nm(4)), protégeant ainsi l'ADN contenu dans les cellules de la peau. C'est également ce pigment, selon la quantité synthétisée et sécrétée, qui donne une couleur plus ou moins foncée à la peau. Les peaux sont classées selon leur couleur en différents phototypes. Les phototypes I sont les plus clairs, se trouvant chez des individus aux cheveux et aux yeux clairs avec une peau sensible aux rayons du soleil qui rougit plus vite qu'elle ne bronze. A l'opposé, les phototypes VI sont les peaux les plus foncées, chez des individus aux cheveux et yeux foncés, supportant bien les UV.

Phototype	Réaction au soleil	Type
I	Ne bronze pas Attrape des coups de soleil	Peau très claire Ephélides Yeux clairs Cheveux blonds/roux
II	Bronze difficilement Attrape souvent des coups de soleil	Peau très claire Ephélides au soleil Yeux clairs Cheveux blonds/châtains
III	Bronze progressivement Attrape parfois des coups de soleil	Peau claire Cheveux blonds/châtains
IV	Bronze rapidement Attrape rarement des coups de soleil	Peau mate Yeux foncés Cheveux châtons/bruns/noirs
V	Bronze rapidement Attrape rarement des coups de soleil	Peau brune Yeux foncés Cheveux bruns/noirs
VI	Jamais de coups de soleil	Peau brune foncée/noire Yeux foncés Cheveux noirs

Tableau 1 : Classification de Fitzpatrick

Cette première couche de la peau étant directement en contact avec l'extérieur, subit une contrainte mécanique constante, qui entraîne une desquamation de cette dernière. Grâce à des cellules dites « basale », se trouvant sur la lame basale, l'épiderme se renouvelle régulièrement pour compenser la perte de cellules.

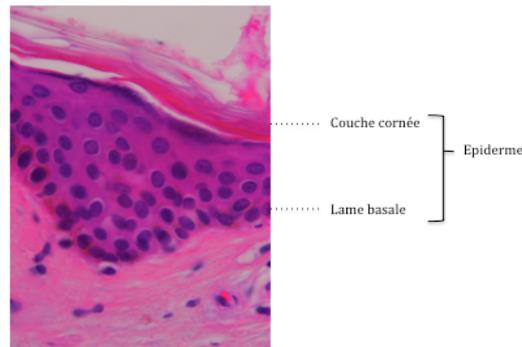


Figure 1 : *Epiderme. Coupe de peau abdominale humaine saine colorée à l'Hématoxyline & Eosine. Photographie au microscope(x200)*

1.1.2 Derme

Le derme est la deuxième couche de tissu permettant à la peau d'être résistante et élastique grâce, à ses fibres collagènes et élastiques. Il contient également des cellules jouant un rôle dans le système immunitaire, ainsi que des vaisseaux sanguins et des nerfs. La particularité du derme est qu'il est divisé en deux zones : le derme superficiel (zone papillaire) et le derme profond (zone réticulaire)- qui constitue la majeure partie du derme. Le derme profond est la zone où les glandes et les follicules pileux (annexes cutanées) sont localisés. Cette notion est importante, car seules les cellules se trouvant dans cette couche, sont capables de se différencier et se multiplier pour reformer de l'épiderme.

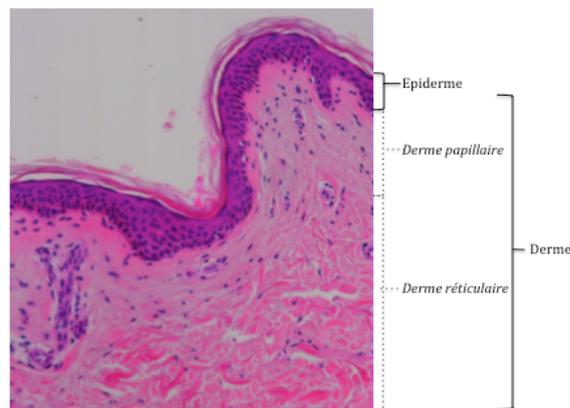


Figure 2 : *Epiderme et derme. Coupe de peau abdominale humaine saine colorée à l'Hématoxyline & Eosine. Photographie au microscope(x50)*

1.1.3 Hypoderme

L'hypoderme, troisième couche de tissu, est constitué majoritairement d'adipocytes. Ces cellules permettent d'une part à la peau de glisser sur les plans plus profonds, mais elles constituent également un réservoir énergétique et une protection thermique pour l'organisme.

1.2 Brûlure

1.2.1 Epidémiologie

Les lésions par brûlure sont aujourd'hui un enjeu important et un problème de santé publique mondial. En effet, l'OMS (Organisation mondiale de la santé) estime que 265 000 décès par an sont provoqués par celles-ci. Les brûlures sont l'une des premières causes de morbidité, d'incapacité et de défiguration. Elles sont également la troisième cause la plus fréquente de lésions mortelles dans la population pédiatrique.

1.2.2 Définition

D'après le Larousse médical, une brûlure est « une lésion de la peau ou des muqueuses provoquée par leur exposition à une chaleur intense ou par leur contact avec un agent physique ou chimique. » La brûlure se produit sur une peau quand il y a un transfert d'énergie entre celle-ci et une source thermique ou caustique. Le transfert d'énergie peut se faire par contact direct ou par contact indirect, comme dans le cas du rayonnement ou de l'irradiation. Les lésions au niveau des tissus se produisent dès que l'équilibre entre l'absorption d'énergie et sa dissipation est rompu ; les cellules se mettent à chauffer, entraînant des modifications tissulaires et cellulaires au-delà de 44°C (5).

L'évaluation des brûlures, la prise en charge et le pronostic des patients brûlés dépendent d'une part de la cause de la brûlure, principalement thermique, électrique, radique ou chimique, et d'autre part de la surface du corps atteinte, de la profondeur de la lésion et de sa localisation.

1.2.2.1 La superficie

Le pourcentage du corps atteint par les brûlures est la première estimation dans l'évaluation d'un patient brûlé. La superficie de la brûlure est estimée chez l'adulte avec la règle de Pulsaki et Wallace, divisant les segments du corps en multiple de 9(6). Cette règle doit être adaptée chez l'enfant, qui a une plus grande tête proportionnellement aux jambes. Lund et Bowder proposent une table de surface corporelle adaptée aux proportions anatomiques selon l'âge. Malgré l'existence de ces classifications, l'étendue des surfaces brûlées a souvent tendance à être surévaluée. La méthode d'estimation des brûlures à l'aide de la paume de la main du patient, représentant 1% de la surface de leur corps(7), est la plus fiable et permet une estimation plus précise des zones atteintes.

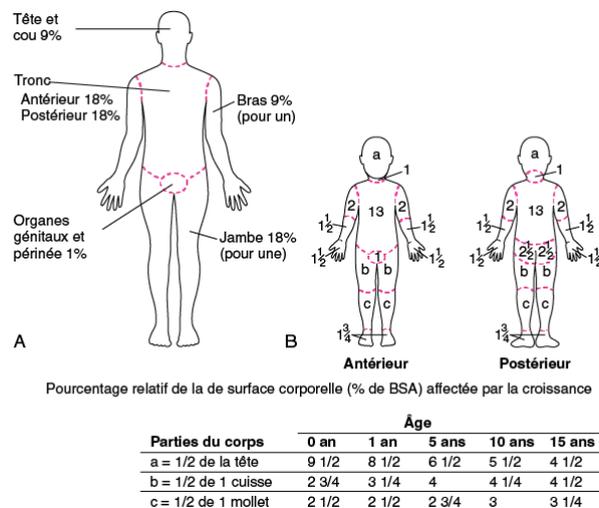


Figure 3 : Evaluation des brûlures selon la règle de Pulsaki et Wallace pour l'adulte (A) et selon Lund et Bowder pour l'enfant (B). Image tirée du manuel MSD.(8)

1.2.2.2 La profondeur

Actuellement, les brûlures sont classées en trois catégories, selon la profondeur de la lésion. L'évaluation du degré de brûlure se fait cliniquement sur la base de l'observation de la peau et du caractère algique ou non de la brûlure. Cette évaluation est d'autant plus difficile qu'elle doit tenir compte du caractère évolutif des brûlures(9). Les brûlures superficielles (1^{er} degré) et profondes (3^{ème} degré) sont facilement diagnostiquées, contrairement aux brûlures intermédiaires(10) que sont les brûlures de 2^{ème} degré superficiel et profond.

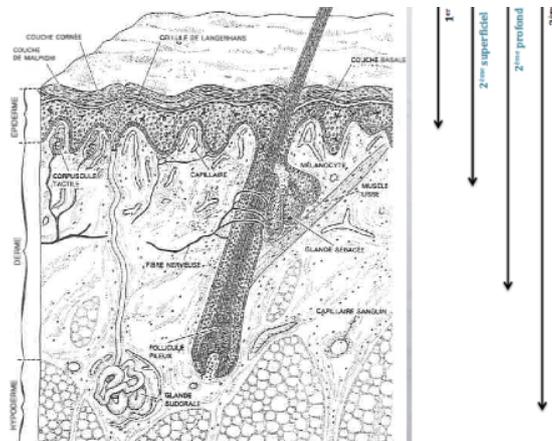


Figure 4 : Degrés de brûlure. Schéma de la structure de la peau du livre « La peau » de A. Mélissopoulos et C. Levacher(4)

- Brûlures de 1^{er} degré
Histologiquement, les brûlures de premier degré sont une atteinte d'une partie ou de la totalité de l'épiderme, à l'exception de la couche basale. Cette notion est importante, car en cas de brûlure, une guérison complète et sans séquelle est possible. Pour cette raison, ce degré de brûlure n'est pas considéré dans le bilan d'évaluation des grands brûlés. L'aspect clinique se traduit par un érythème douloureux de la peau atteinte, qui va guérir en moins d'une semaine après desquamation.
- Brûlures de 2^{ème} degré
Ces brûlures intermédiaires se caractérisent par une atteinte complète de l'épiderme et d'une partie, plus ou moins importante, du derme. Selon l'atteinte du derme, les brûlures de deuxième degré sont classées en brûlures superficielles ou profondes. Il est compliqué de faire cliniquement la différence entre ces deux atteintes, et pourtant cela est fondamental pour choisir le type de prise en charge adéquate.

2^{ème} degré superficiel

L'atteinte du derme dans la brûlure de deuxième degré superficiel s'arrête au derme papillaire avec une séparation des couches dermo-épidermiques et une accumulation d'exsudat. Cette accumulation de liquide se traduit cliniquement par l'apparition d'une phlyctène. La peau est érythémateuse et très douloureuse. La douleur est un point important dans la différenciation des brûlures de deuxième degré.

Les brûlures de deuxième degré superficiel peuvent évoluer sur quelques jours en brûlures profondes. Ce mécanisme s'explique par le riche réseau vasculaire s'étendant aux travers de capillaires entre les différentes couches de peau. Les capillaires atteints par une brûlure vont entraîner une vasoconstriction et un œdème secondaire dans des couches inférieures de la peau et approfondir la brûlure à cause de l'ischémie créée par ce phénomène(11). Après quelques jours, il sera donc nécessaire de réévaluer les brûlures de deuxième degré avant de décider d'une prise en charge.

2^{ème} degré profond

Dans les brûlures de deuxième degré profond, le derme est brûlé jusqu'à sa couche réticulaire atteignant, de manière variable, les cellules souches épidermiques se trouvant à la base des poils. A cause de l'atteinte de ces cellules, l'épiderme ne sera pas en mesure de se reformer. La peau est cliniquement difficile à différencier du deuxième degré superficiel, avec un aspect de la peau entre le deuxième degré superficiel et le troisième degré. La peau est moins douloureuse, voire anesthésiée, ce qui laisse présager d'une atteinte des terminaisons nerveuses.

Les poils quant à eux tombent, lorsque l'on exerce une légère traction, car leurs bulbes, se trouvant dans les parties profondes du derme, peuvent être atteints par la brûlure. Cet élément clinique permet en partie de différencier les brûlures de deuxième degré superficiel et profond.

- Brûlures de 3^{ème} degré

Cette atteinte est la plus profonde. L'épiderme, le derme papillaire ainsi que le derme réticulaire (comprenant les annexes cutanées) sont touchés, atteignant parfois également l'hypoderme. Une régénération des couches de la peau est impossible. Le diagnostic de ces brûlures est aisé avec un aspect de la peau cartonnée, rétractée, pouvant être de couleur blanc à noir, avec des poils tombant à la traction. La peau ne saigne pas lors d'un débridement léger et les vaisseaux thrombosés, de couleur violet foncé à noir, sont visibles. Le patient ne se plaint pas de douleurs ; les nerfs étant brûlés, la peau est insensible.

1.2.2.3 La localisation

Certaines brûlures se situant dans des localisations critiques, requièrent une prise en charge attentive. C'est le cas des brûlures de la face, qui doivent faire suspecter une atteinte pulmonaire, nécessitant alors une prise en charge urgente des voies respiratoires. C'est également le cas des brûlures circulaires des extrémités, du cou et du tronc, qui demandant une prise en charge chirurgicale rapide (incisions de décharges : escarrotomie, fasciotomie) afin de diminuer la pression, et donc le risque d'ischémie sur les tissus avoisinant la brûlure.

D'autres brûlures se situant dans des zones mobiles comme les mains, les pieds, les coudes, les genoux, le cou ou les organes génitaux, peuvent entraîner des complications fonctionnelles (rigidité des articulations, rétractions, brides cicatricielles) lors de la cicatrisation. Elles requièrent donc une attention particulière sur le traitement à plus long terme.

La gravité des brûlures est aussi différente suivant la localisation de la brûlure. Les atteintes les plus profondes se retrouvent aux endroits où la peau est la plus fine comme chez les enfants ou comme la peau du dos et des organes génitaux chez les adultes. Elles requièrent le plus souvent une prise en charge chirurgicale(2).

1.2.3 Prise en charge

1.2.3.1 Suivi ambulatoire versus hospitalisation

Le tri des patients brûlés arrivant aux urgences débute par l'évaluation des brûlures et la décision d'un suivi ambulatoire ou d'une hospitalisation. Les patients considérés comme « grands brûlés » requièrent une hospitalisation avec une prise en charge interdisciplinaire dans un centre spécialisé. Les grands brûlés sont définis sur la base de la surface de peau atteinte (Body Surface Area = BSA), soit à partir de 10% BSA chez la population pédiatrique et 20% BSA chez l'adulte. D'autres critères, comme des âges extrêmes, une atteinte touchant des localisations critiques (citées plus haut) ou une atteinte profonde, rendent l'hospitalisation souvent indispensable. L'hospitalisation permettra une prise en charge intensive et complète du patient brûlé, qui ne sera pas détaillée dans ce travail.

Le tableau de l'American Burn Association résume les critères d'admission dans un centre spécialisé :

- Brûlure de 2^e degré >10% BSA enfant, >20% BSA adulte
- Brûlure du visage, des mains, des pieds, des organes génitaux, du périnée ou des grandes articulations
- Brûlure du 3^e degré, quel que soit l'âge
- Brûlure électrique, y compris la foudre
- Brûlure chimique
- Syndrome d'inhalation
- Comorbidités importantes
- Traumatisme (fracture) associé aux brûlures
- Brûlure chez un enfant dans un hôpital sans facilités pédiatriques

Figure 5 : Tableau tiré de l'article « Pourquoi deux Centres de Brûlés adultes en Suisse, dont un au CHUV ? » du bulletin des médecins suisses(12)

1.2.3.2 Traitement conservateur versus chirurgical

Le traitement et le pronostic des patients brûlés sont étroitement corrélés à la classification, détaillée dans le chapitre précédent. En effet le potentiel de guérison des brûlures est directement lié à la profondeur de l'atteinte. Une prise en charge conservatrice est possible pour les brûlures de 1^{er} et de 2^{ème} degré superficiel, tandis qu'à partir des brûlures de 2^{ème} degré profond, une prise en charge chirurgicale s'avère nécessaire, la brûlure ayant détruit les cellules capables de régénérer les couches superficielles de la peau.

- Brûlures de 1^{er} degré
Ce degré de brûlure est cliniquement évident et est considéré comme négligeable. Il ne nécessite pas de traitement spécifique. Cette atteinte superficielle ne laissera aucune cicatrice et guérira spontanément.
- Brûlures de 2^{ème} degré
Le choix de traitement, s'il paraît évident pour des brûlures de 1^{er} ou de 3^{ème} degré, est un défi médical pour les atteintes de second degré. En effet, comme expliqué précédemment, il est difficile de faire cliniquement la différence entre les brûlures de 2^{ème} degré superficiel et profond. Cependant, cette distinction est primordiale pour décider d'une prise en charge conservatrice ou chirurgicale.

2^{ème} degré superficiel

Dans ce degré d'atteinte, grâce à une couche basale et des îlots cellulaires à la base des follicules pileux en partie épargnés par la brûlure, une cicatrisation est encore possible. Il n'y aura donc pas ou peu de séquelles en cas de traitement conservateur, hormis une possible réaction des mélanocytes, qui pourrait provoquer un trouble de la pigmentation.

2^{ème} degré profond

En raison d'une atteinte de la couche profonde du derme, la peau ne sera plus en mesure de se régénérer. Dans ce cas de figure, une prise en charge chirurgicale avec greffe de peau autologue sera nécessaire. La restitution de la barrière cutanée se fait au prix de cicatrices (du site donneur et du site receveur), d'une prise en charge contraignante et de possibles complications secondaires.

- Brûlures de 3^{ème} degré
Ce degré de brûlure est cliniquement évident et nécessite une prise en charge chirurgicale.

1.3 Laser

1.3.1 Généralités sur les lasers

Le mot « LASER » est l'acronyme de « Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation ». Il a été obtenu pour la première fois par Theodore Miaman, en 1960. Les lasers sont classés selon le milieu excitable qu'ils utilisent. Il existe par exemple des lasers à gaz, à liquide ou à solide. Ces milieux en question sont un réservoir d'électrons qui peuvent être excités par une source d'énergie externe (comme une lampe, une réaction chimique, un courant électrique) qui permet de faire passer un ensemble d'électrons stables (état fondamental) d'un niveau E_1 à un niveau E_3 instable.

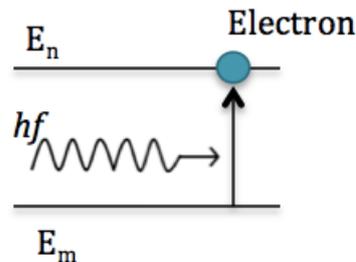


Figure 6 : *Absorption*

Les électrons se trouvant à un niveau E_3 vont ensuite rapidement descendre à un niveau E_2 en émettant de manière spontanée un photon (soit une particule de lumière), ce dernier niveau représente un état stable, où l'électron a une probabilité plus faible de redescendre d'un niveau. Ce processus va permettre d'accumuler une plus grande quantité d'électrons dans le niveau E_2 . Les électrons de ce deuxième niveau peuvent retourner au niveau fondamental E_1 , soit par émission spontanée d'un photon, soit par émission stimulée.

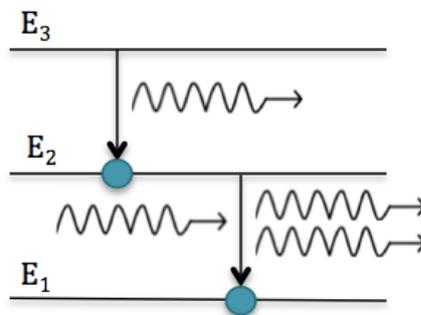


Figure 7 : *Emission spontanée puis émission stimulée*

L'émission stimulée ou émission induite, est le phénomène qui permet à un électron d'absorber un photon incident, qui va le désexciter vers un niveau d'énergie plus stable en émettant deux photons identiques (cohérents). Le photon incident et produit sont identiques.

Les photons vont être réfléchis sur des miroirs augmentant la probabilité que ceux-ci rencontrent d'autres électrons se trouvant en niveau E_2 et produisant une émission stimulée. Ce processus va permettre d'obtenir un nombre exponentiel de photons identiques allant dans la même direction et donc d'amplifier un rayon lumineux, qui va alors passer par un trou entre les miroirs pour produire une puissante lumière monochromatique.

Ce mécanisme d'amplification du rayonnement est possible si le nombre d'émissions stimulées est supérieur à celui des absorptions de photons. Pour que les électrons soient plus nombreux au niveau E_2 qu'au niveau E_1 , autrement dit, qu'il y ait plus d'électrons excités que d'électrons

stables, il faut les « pomper » du niveau E1 à E3 en les excitant continuellement grâce à une source d'énergie externe. On appelle ce phénomène « inversion de population ».

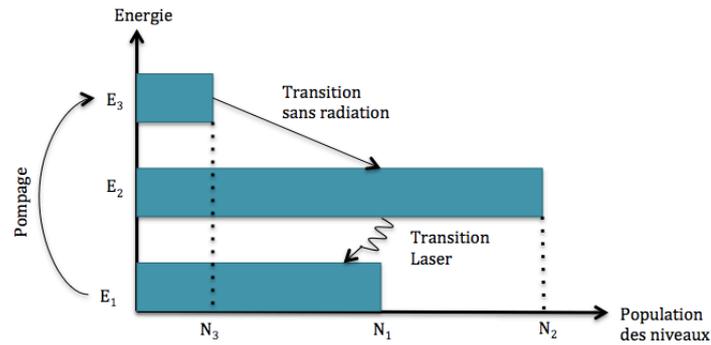


Figure 8 : Inversion de population par mécanisme de pompage selon Dr. N. Museux(1)

1.3.2 Propriétés et paramètres

Le faisceau de lumière du laser est une onde électromagnétique oscillante. L'onde doit être imaginée comme un flux de photons. Cette onde oscille, d'une part, dans le temps - elle se caractérise alors par sa fréquence ($f = \frac{1}{T}$) en Hz (1/s) qui est le nombre d'oscillations par unité de temps T(s) - et, d'autre part, dans l'espace (*longueur d'onde* $\lambda = \frac{c}{f}$) à la vitesse de la lumière ($c \cong 300'000 \text{ km/s}$) (nomenclature en annexe 1). Cette onde a une longueur spécifique (λ) qui caractérisera le type de laser et la cible de celui-ci. Plus la longueur d'onde est petite, plus la fréquence des oscillations est grande et plus le photon aura une haute énergie (car la vitesse de la lumière reste constante). Une petite longueur d'onde subira une grande absorption et beaucoup de diffusions, et ne permettra pas d'atteindre des structures profondes dans la peau.

Lors de l'utilisation d'un laser, un certain nombre de paramètres peuvent être définis, tels que la fluence, le diamètre du faisceau laser, le temps de durée et le nombre de pulsations.

La fluence est l'énergie délivrée par unité d'aire (J/m^2). Plus la fluence est élevée, plus l'énergie délivrée à la cible sera grande - avec, donc, de possibles dégâts. Le diamètre du faisceau, quant à lui, dépend de la pièce à main utilisée. Plus le diamètre du faisceau est grand, plus la diffusion sera faible, ce qui permettra d'utiliser moins d'énergie. Cela s'explique par le fait qu'un faisceau de grand diamètre subira moins de diffusions de ses photons, car il possède une plus petite surface pour un même volume, qu'un faisceau de diamètre plus petit. Cependant, un grand diamètre de faisceau ne permet pas d'atteindre des structures plus profondes dans la peau et ne pourra pas compenser une longueur d'onde insuffisante. Pour ce qui est de la durée d'une impulsion, on constate qu'un temps de pulsation plus long permettra d'obtenir une plus grande énergie et donc plus de lésions. De plus, il faut noter que la diffusion de chaleur est directement reliée au temps d'impulsion. Un temps d'impulsion court fera des dommages plus profonds car la chaleur n'aura pas le temps de se diffuser dans les structures avoisinante la brûlure(13). Dans le même ordre d'idée, un plus grand nombre de pulsations fera lui aussi plus de dégâts.

En résumé, et avec d'autres mots reprenant ces notions, un laser est un faisceau lumineux *monochromatique* (c'est à dire d'une seule couleur, avec même fréquence et même longueur d'onde), *monodirectionnel* (tous les rayons du faisceau lumineux sont parallèles et vont dans la même direction) et *cohérent* dans le temps et dans l'espace (les photons sont organisés entre eux - ils sont « en phase »- et partagent les mêmes propriétés (longueur d'onde, amplitude, direction), ce qui permet un faisceau de lumière étroit.

1.3.3 Interaction du laser sur la peau

L'interaction du faisceau lumineux du laser sur la peau, dépend des caractéristiques du laser et des propriétés optiques de la peau. Il faut rappeler que la peau est un organe complexe de plusieurs couches cellulaires différentes, ce qui la rend difficilement sélective pour un laser.

Il existe quatre grands principes en optique : la réflexion, l'absorption, la diffusion et la transmission.

La *réflexion* du faisceau lumineux est de 4-7% (si le laser est à angle droit avec la peau)(13) et elle est engendrée par la différence de coefficient optique existante entre les différentes surfaces par lesquelles le faisceau doit passer. Ainsi, une petite partie va être réfléchi directement à la surface de l'épiderme, au contact des cellules kératinisées, qui possèdent, elles, un indice optique différent de celui de l'air. L'*absorption* est le phénomène qui permet aux rayons lumineux de parcourir parallèlement une distance dans le tissu, avant de s'éteindre. Il faut, à ce titre, savoir que la distance de transmission de la lumière est inversement proportionnelle au coefficient d'absorption. Selon la longueur d'onde du laser, la lumière va être capable d'atteindre une cible. Les cibles en question s'appellent des chromophores (=cellules pigmentées capables d'absorber la lumière). Dans la peau, les chromophores principaux sont l'eau contenue dans les tissus, le collagène, la mélanine et l'hémoglobine. Toutes sont spécifiques à certaines longueurs d'ondes (voir chapitre suivant). La *diffusion*, principalement due au collagène(14), augmente l'extinction de la lumière et, par ce biais, diminue l'absorption disponible pour les chromophores. Les rayons lumineux sont alors déviés et ne cheminent plus parallèlement les uns aux autres, comme c'est le cas dans l'absorption. Cette diffusion est plus faible lors de l'augmentation de la longueur d'onde du laser. Le faisceau du laser, qui n'a pas subi l'un des trois mécanismes décrits ci-dessus, continue sa trajectoire en direction des tissus profonds ; cette phase est celle de la *transmission*.

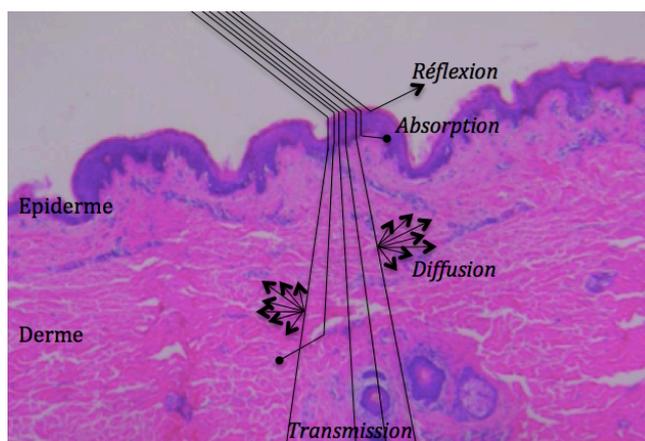


Figure 9 : Schéma du trajet d'un faisceau laser dans la peau. Photographie à la loupe(x50)

1.3.4 Brûlure par rayonnement laser (effet thermique)

L'interaction laser-peau peut engendrer les effets suivants : thermique, photochimique, électromécanique et photoablatif. Nous allons nous concentrer sur l'effet thermique, seul mécanisme qui nous intéresse dans cette étude.

Comme expliqué précédemment, les différents paramètres de la peau et du laser vont influencer les dégâts créés. Cependant, il est possible de constater différents effets sur la peau selon l'énergie lumineuse absorbée par le tissu, qui va ensuite se transformer en chaleur et engendrer des dégâts proportionnels à l'augmentation de sa température.

On constate d'abord une dénaturation des protéines à 60 °C, puis une coagulation à 80°C qui se résume par une nécrose irréversible, sans perte de tissus. Enfin, une volatilisation, soit une perte de substance des tissus, au-delà de 100°C.

Lorsqu'un laser possède un temps d'émission suffisamment court pour que la chaleur n'ait pas le temps de diffuser (soit un temps inférieur à celui de la relaxation thermique, qui est le temps nécessaire pour que 63% de la chaleur gagnée par le tissu se dissipe), il y aura une accumulation thermique qui va créer une dilatation des tissus locaux qui ne pourront alors pas s'étendre à cause des tissus adjacents. Ceci va conduire à une vaporisation explosive locale. (68)

Le tableau de S. Mordon permet de se faire une idée quant aux dommages des tissus après irradiation laser en fonction de la température tissulaire(5).

Température	Modifications
45°C	Vasodilatation Dommage endothélial
50°C	Disparition de l'activité enzymatique
60°C	Désordre des membranes cellulaires Dénaturation des protéines
70°C	Dénaturation du collagène Perméabilisation des membranes
80°C	Contraction des fibres de collagènes Nécrose
100°C	Vaporisation de l'eau Déshydratation totale
>100°C	Volatilisation des constituants organiques

Tableau 2 : Lésions de la peau par irradiation au laser

1.3.5 Type de Laser

Les lasers sont classés selon le milieu excitable qu'ils utilisent. Ces milieux actifs peuvent être un solide, comme dans les lasers YAG (Yttrium-Aluminum-Garnet), un gaz comme dans les lasers à CO₂ ou un laser liquide, comme les lasers à colorant pulsé (PDL). Comme décrit précédemment, la longueur d'onde des lasers est définie par ce milieu actif et définira sa cible (ou chromophore).

- L'eau absorbera de préférence des longueurs d'ondes se situant dans les infrarouges avec des pics à 1,480nm et 10,600nm, et elle sera la cible des laser Er (Erbium) :YAG de 2,940nm et du CO₂ de 10.6µm(13).
- La mélanine, se trouvant dans l'épiderme sera spécifique au laser Nd (Neodymium):YAG de 1,064nm, car ses longueurs d'ondes d'absorption se situent entre 532 et 1064nm (13).
- L'hémoglobine oxygénée absorbe les longueurs d'ondes similaires à la mélanine, avec des pics à 418, 542 et 577nm. Elle sera la cible du laser à colorant pulsé de 450 à 900 nm(13).

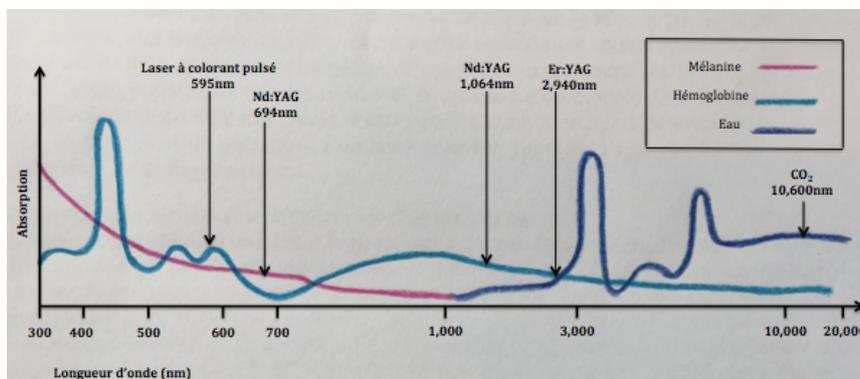


Figure 10 : Cibles des lasers en fonction de la longueur d'onde

Le tableau de la Revue Médicale Suisse ci-dessous, regroupe trois grandes catégories de lasers, selon leurs cibles et leurs utilisations(15).

Types de laser	Nom du laser et longueur d'onde	Types de cible et chromophore	Types d'effets obtenu	Indications principales
Laser vasculaire	Laser colorant pulsé 595nm	Hémoglobine, Oxyhémoglobine	Coagulation sélective vasculaire dermique et superficielle	Angiome plan, hémangiome infantile, angiomes stellaires, cicatrices érythémateuses
Laser de vaporisation	Laser CO₂ 10600nm Laser Er : YAG 2940 nm	Eau intra et extracellulaire dermo-épidermique	Vaporisation avec cicatrisation dirigée superficielle	Lésions épidermiques : hamartomes, verrues résistantes
Laser pigmentaire	Laser Nd : YAG 694nm	Mélanine épidermique	Photodisruption mécanique et thermique épidermique et pileaire	Tache café au lait, naevus d'Ota, hypertrichose

Tableau 3 : *Types de lasers*

1.3.6 Laser à colorant pulsé (PDL) 595nm

Le PDL est utilisé pour traiter les lésions et malformations vasculaires. Il sera notamment employé dans le traitement des hémangiomes infantiles, conjointement au Propranolol, pour accélérer leur régression(15). C'est également une technique de choix dans la prise en charge des angiomes plans, qu'ils soient liés ou non à un syndrome, les angiomes stellaires, ou dans les malformations veineuses superficielles. Le PDL peut aussi être une alternative ou un complément au traitement chirurgical des malformations lymphatiques, lorsque celui-ci est impossible ou incomplet.

Le PDL qui va être utilisé dans cette étude possède une longueur d'onde de 595 nm. Cette longueur d'onde est absorbée de manière privilégiée par le chromophore oxyhémoglobine, situé dans les vaisseaux sanguins du derme(14). Notre expérience se déroulant à l'extérieur du corps humain, une majeure partie du sang a quitté les vaisseaux ; le chromophore principal à cette longueur d'onde sera par conséquent la mélanine. Cette condition peut être retrouvée en clinique en ciblant la mélanine comme chromophore principal du PDL 595nm, en compressant la pièce à main sur la peau lors de l'irradiation, ce qui a pour conséquence de vider les vaisseaux sanguins. (13).

Le choix de ce laser a été motivé par sa disponibilité au sein du service de chirurgie pédiatrique du Centre Hospitalier Universitaire Lausannois et par l'absence, dans la littérature, de modèle de brûlures de 2^e degré superficiel et profond à l'aide d'un laser de cette longueur d'onde.

1.4 Objectifs de ce travail

Les objectifs de cette recherche sont de déterminer les paramètres de fluence, de durée, ainsi que le nombre de pulsations du laser à colorant pulsé de 595nm, induisant des brûlures de second degré superficiel et second degré profond. Les brûlures seront objectivées par analyse histologique.

Le protocole de ces expériences est décrit dans les chapitres suivants.

2. EXPERIMENTATIONS SUR PEAU HUMAINE EX VIVO

2.1 Méthode et matériels

2.1.1 Laser à colorant pulsé (PDL)

C'est le laser à colorant pulsé, Syneron Candela V-beam™, qui a été utilisé dans cette étude. Ce laser a une longueur d'onde de 595 nm, avec une pièce à main produisant un faisceau de 7 mm

de diamètre. Les brûlures modélisées sont créées à des fluences variant entre 4 et 20 J/cm², avec des séries de 5 à 45 pulsations. Une pulsation est délivrée pendant une durée de 0,45 à 40 ms et est composée de micropulsations générées à des intervalles réguliers de 100micro-secondes. Par exemple, la majorité des séries de brûlures V à IX (se référer à l'annexe 2) ont été faites avec une durée de pulsation fixe de 40ms, soit avec quatre micropulsations à des intervalles de 13.3 ms(16).

L'équipement de protection suivant est utilisé pendant les irradiations laser ; lunettes de protection laser, masque et gants stériles.

2.1.2 Echantillon de peau

La peau est obtenue par la biobanque du DAL, travaillant avec le service de chirurgie plastique et reconstructive du Centre Hospitalier et Universitaire Vaudois de Lausanne (CHUV). Il s'agit de peau abdominale de six femmes consentantes, blanches (phototype de peau entre II-III), ayant bénéficié d'une reconstruction mammaire par la technique DIEP (Deep Inferior Epigastric Perforator).

La peau a été récoltée en salle d'opération avec l'épiderme, le derme et l'hypoderme. La suite du protocole a été réalisée dans un délai d'une heure post-opératoire, sauf pour la série VI qui est restée une nuit au frigo à 4°C. Dans des conditions stériles, la peau a été coupée en morceau d'environ 1x1cm² et la couche adipeuse a été retirée au maximum avec un ciseau fort, laissant seulement une très fine couche de graisse sous le derme. Les échantillons de peau ont été placés dans des boîtes de Petri et les lésions par laser ont été réalisées sur chaque échantillon, sauf un échantillon, qui servira au contrôle. La peau était à température ambiante avant les irradiations, sauf la peau de la série VI, qui se trouvait à une température inférieure.

2.1.3 Paramètres expérimentaux

Les brûlures ont été induites sur chaque série d'échantillon de peau avec le PDL, pourvu d'une pièce à main de 7mm, directement appliqué sur l'épiderme. Pour chaque série d'échantillons, une fluence, une durée et un nombre de pulsations différents ont été appliqués. A noter qu'à partir d'un certain nombre d'enchaînement de pulsations, une phlyctène se faisait visible à la surface de l'épiderme et pouvait être débridée ou non, à l'aide d'une compresse stérile. Ceci avant de poursuivre un autre enchaînement de pulsations.

Le tableau ci-dessous regroupe les différentes séries effectuées selon les paramètres du laser choisi.

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Nombre total des échantillons irradiés selon ces paramètres	Nombre de séries
7	5	40	7	3	1
7	10	40	7	6	2
7	15	40	7	6	2
7	20	40	7	6	2
7	25	40	7	3	1
13	15	3	7	5	1
13	15	1.5	7	2	1
13	15	40	7	1	1
13	30	3	7	5	1
13	15+15=30	40	7	8	3
13	15+30=45	40	7	7	3
18	15	1.5	7	1	1

Tableau 4 : Paramètres expérimentaux

2.2 Histologie

L'analyse des coupes histologiques se concentre sur la profondeur de la lésion en recherchant la perte de structure des différentes couches de la peau, la perte de substance ainsi que la coagulation du collagène. La coagulation du collagène sera mise en évidence à l'aide du Trichrome de Masson. Cette coloration se révélant couteuse, n'a été réalisée que sur un nombre réduit de lames.

Après la brûlure, les échantillons de peau sont fixés avec du paraformaldéhyde 4% (PAF) pendant quarante-huit heures, pour ensuite être rincés au PBS, puis inclus dans de la paraffine. Des coupes transversales de 5µm ont été effectuées au microtome et ont été mises à sécher vingt-quatre heures sur une lame. Après les traitements habituels de déparaffinage et hydratation, les lames sont colorées au Hématoxyline & Eosine (H&E) ainsi que, certaines lames, au Trichrome de Masson, avant d'être une nouvelle fois déshydratées et définitivement fixées. Ces manipulations ont été faites par l'Histology Core Facility de l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne.

La lecture des lames histologiques a été réalisée à l'aide d'un microscope Leitz Laborlux 12, du service de dermatopathologie du CHUV, par un microscope Leitz DMRB et une loupe Leica M205 FA de l'Unité de Thérapie Régénérative (UTR). La lecture des lames a également été faite par la Dr. Nathalie Hirt-Burri, biologiste à l'UTR, et par la Dr. Kimberley George, dermatologue au CHUV. Les lectures des lames histologiques ont été opérées à l'aveugle, afin que l'appréciation du degré de brûlure ne soit pas influencée par les paramètres du laser appliqués aux échantillons de peau. Dans un deuxième temps, une mise en commun des appréciations histologiques a été effectuée et les hypothèses ont été débattues et discutées.

Les critères histologiques et dermatopathologiques listés dans le tableau suivant, ont permis de déterminer le degré de brûlure des échantillons visualisés.

Brûlure grade 1	<ul style="list-style-type: none"> -+/- nécrose partielle de l'épiderme -Œdème de l'épiderme -Pas d'atteinte du derme ou de décollement sous-épidermique
Brûlure grade 2-	<ul style="list-style-type: none"> -Nécrose de tout l'épiderme -Lésion partielle de la membrane basale -Bulle sous épidermique -Atteinte du derme papillaire -Discret infiltrat inflammatoire
Brûlure grade 2+	<ul style="list-style-type: none"> -Atteinte du derme réticulaire -Lésion complète de la membrane basale -Destruction partielle des annexes (les annexes plus superficielles sont atteintes mais celles en profondeurs peuvent être épargnées) avec nécrose et structures anarchiques de certaines annexes -Fusion des branches de collagène avec aspect eosinophile -+/- thrombose -+/- tissu granulation
Brûlure grade 3	<ul style="list-style-type: none"> -Nécrose de toutes les couches jusqu'à l'hypoderme -Toutes les annexes sont brûlées -Infiltrat inflammatoire dans le tissu résiduel

Tableau 5 : Critères histologiques

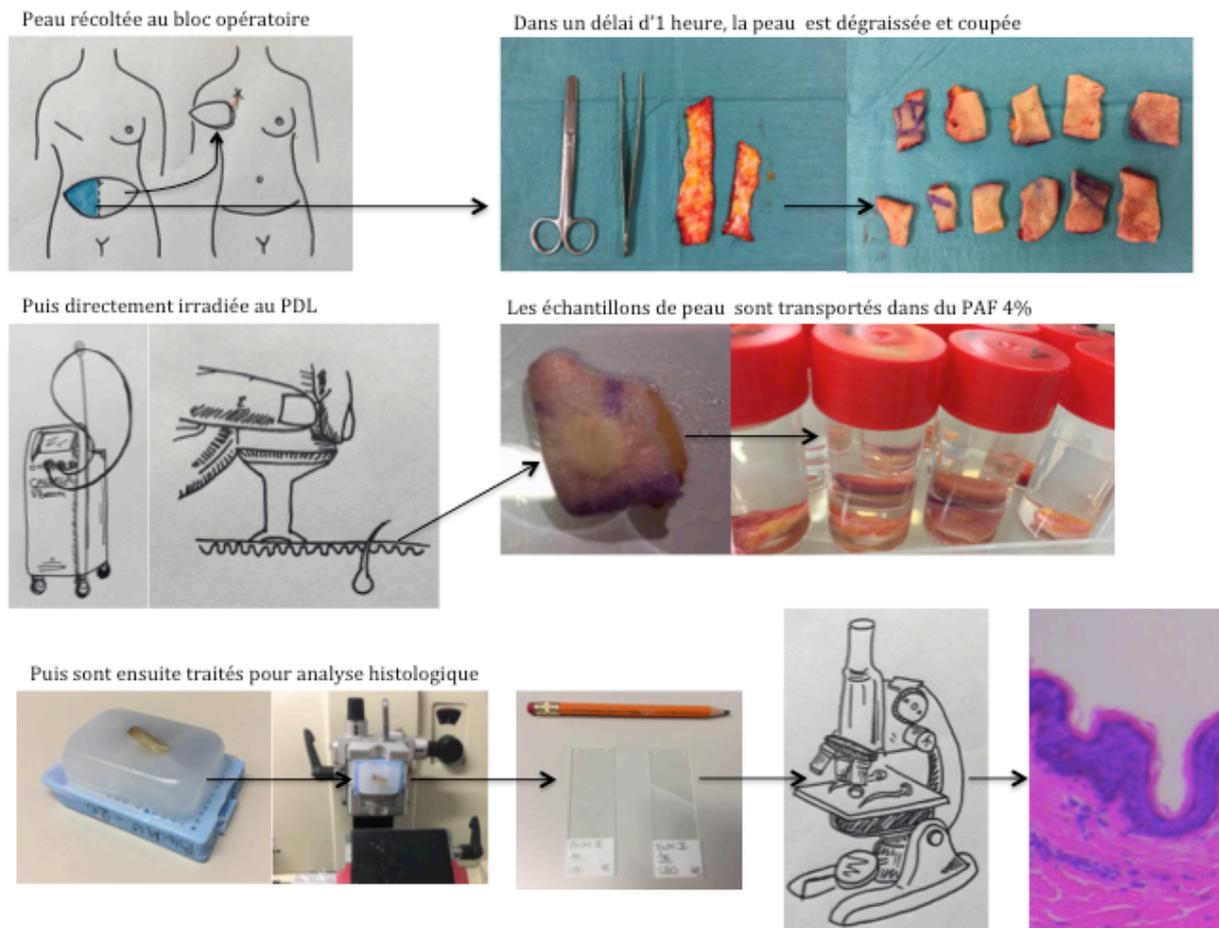


Figure 11 : *Méthodologie*

3. RESULTATS

3.1 Observation macroscopique des lésions thermiques

Une première évaluation macroscopique des lésions a été effectuée directement après irradiation, ceci afin d'estimer leurs profondeurs.

Avant l'apparition d'une phlyctène, les brûlures sont estimées à un 1^{er} degré, comme sur la figure 12. En augmentant le nombre de pulsation, tout en conservant constants les autres paramètres du laser, une phlyctène se formait, comme nous pouvons l'observer sur l'image de droite. En clinique l'apparition d'une phlyctène sur une peau brûlée est caractéristique d'une lésion de 2^e degré. Macroscopiquement, une estimation plus précise du degré de brûlure n'a pas été rendue possible.

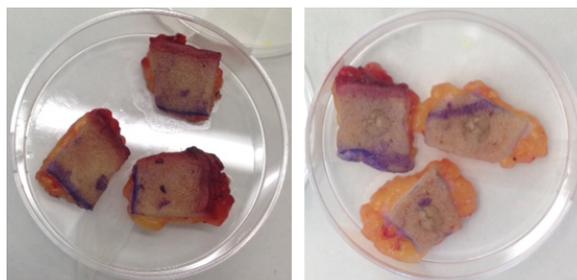


Figure 12 : *Echantillon de peau après 5 et 15 pulsations à une fluence de 7 J/cm², une pièce à main de 7mm, une durée d'impulsion de 40ms*

3.2 Observation histologique des lésions thermiques

Les photos de ce chapitre décrivent les atteintes cellulaires spécifiques aux différents degrés de brûlure.

La majorité des lames ont été colorées au Hématoxyline et Eosine. Cette coloration bichromatique permet, grâce à l'Hématoxyline, une coloration des noyaux cellulaires en bleu/violet et, grâce à l'Eosine, une coloration des cytoplasmes en rose. Les autres composants de la peau sont colorés par l'Eosine dans des nuances de roses différentes, selon l'acidophile des éléments en question. On peut notamment visualiser la couche cornée et les kératinocytes de l'épiderme en rose foncé, le collagène du derme en rose plus ou moins pâle, les annexes cutanées et les leucocytes en violet.

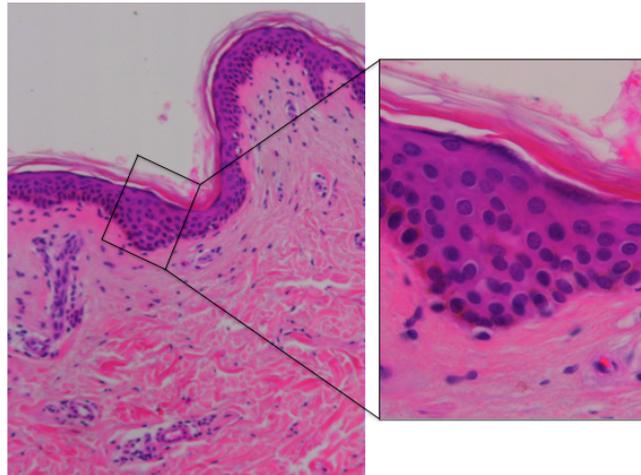


Figure 13 : *Peau abdominale saine colorée Hématoxyline & Eosine. Photographie au microscope (x50, x200)*

Lors d'une brûlure de 1^{er} degré, on observe une modification histologique de l'épiderme ; une vacuolisation se forme dans le cytoplasme des kératinocytes nécrosés qui se traduit par un espace blanc sur l'image ci-dessous. A ce stade de brûlure, la couche basale n'est pas complètement détruite et l'épiderme est toujours en contact avec le derme.

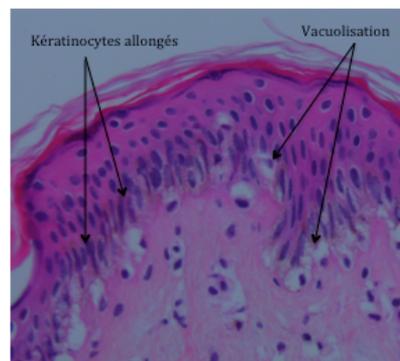


Figure 14 : *Brûlure de 1^{er} degré avec nécrose de l'épiderme. Photographie au microscope(x200)*

Dès l'apparition d'une phlyctène macroscopiquement, on constate à l'histologie une brûlure de 2^{ème} degré. Une phlyctène est un décollement de l'épiderme. Cette bulle épidermo-dermique s'observe aisément sur les coupes histologiques par un espace séparant les deux premières couches de la peau. Lors d'une brûlure de 2^{ème} degré, qu'elle soit superficielle ou profonde, une elongation verticale des kératinocytes de l'épiderme peut être observé, ainsi qu'une coagulation du collagène du derme. Cette coagulation apparaît à l'histologie comme une zone en forme de lentille, plus clair que le reste du derme.

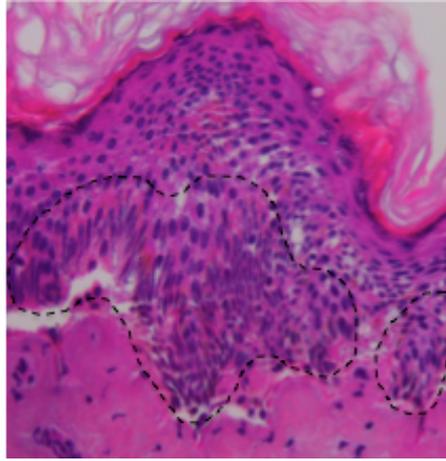


Figure 15 : Allongement des kératinocytes de l'épiderme. Photographie au microscope (x200)

La brûlure de 2^{ème} degré superficiel se caractérise par une coagulation du collagène dans la couche superficielle du derme (derme papillaire). Les annexes du derme réticulaire ne sont pas atteintes dans ce grade de brûlure.

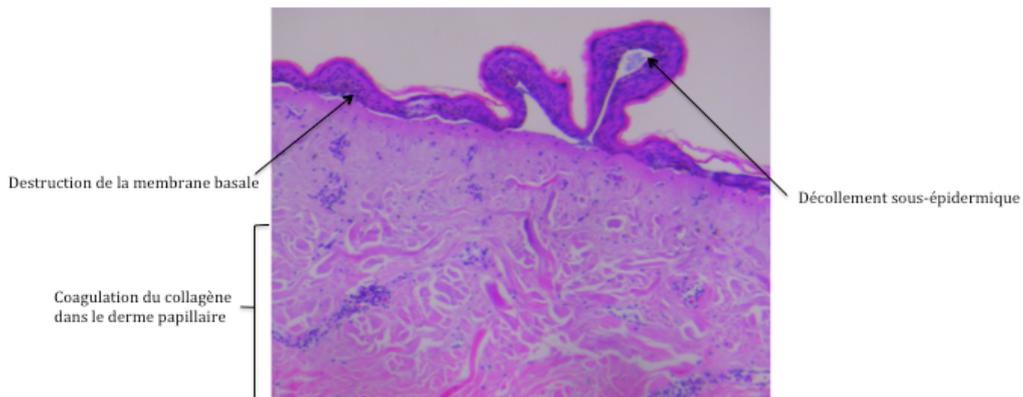
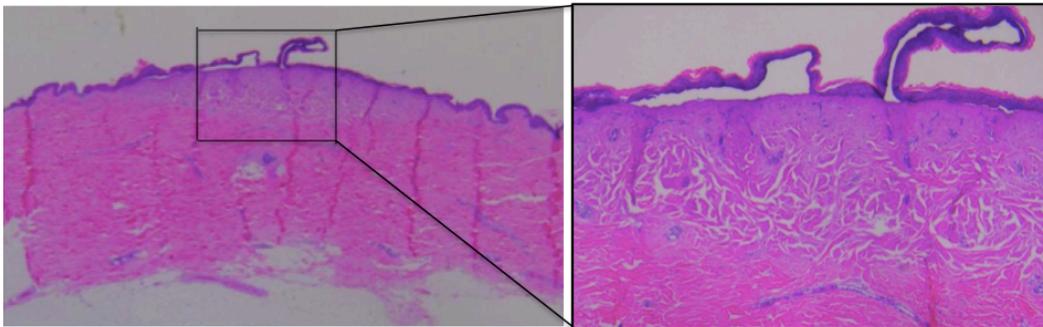


Figure 16 : Brûlure de 2^{ème} degré superficiel avec nécrose de l'épiderme, lésion de la membrane basale et atteinte du derme papillaire. Photographie à la loupe (x10, x50, x100)

Sur le plan histologique, la brûlure de 2^{ème} degré profond se différencie essentiellement de la brûlure de 2^{ème} degré superficiel par une coagulation du collagène atteignant les couches du derme profond (derme réticulaire). Les faisceaux de collagènes sont épaissis et fusionnent pour prendre un aspect oesinophilique, c'est-à-dire une coloration rose plus intense. Dans le cas de telles atteintes, certaines annexes cutanées peuvent être partiellement détruites, adoptant une structure anarchique.

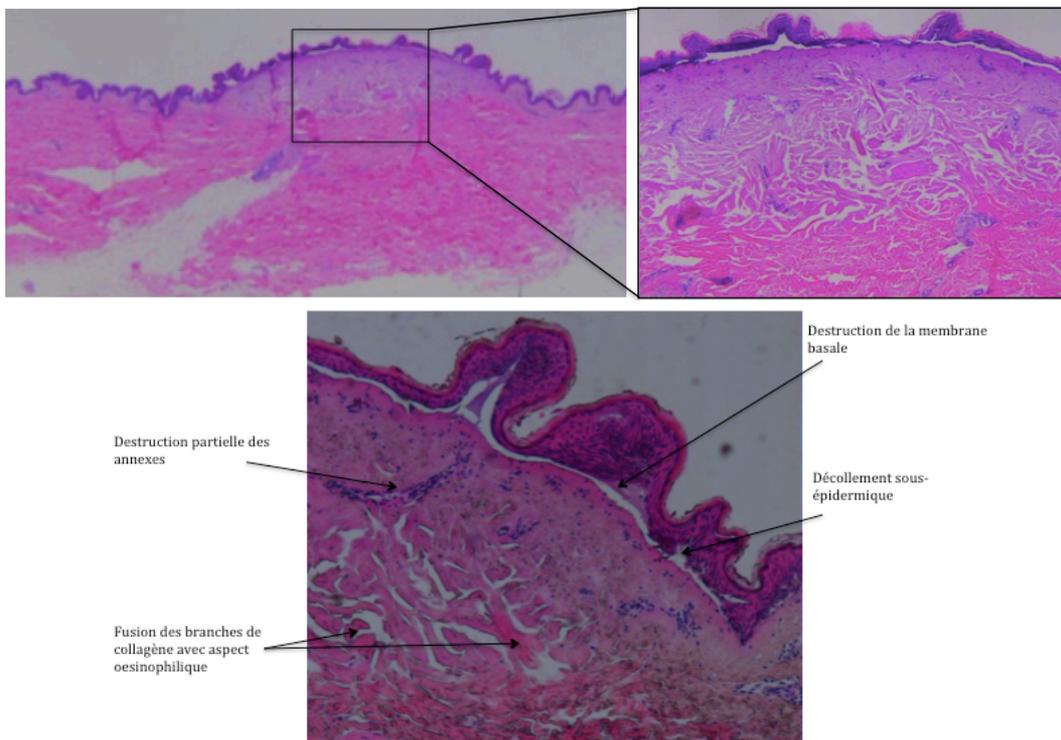


Figure 17 : Brûlure de 2^{ème} degré profond avec nécrose de l'épiderme, bulle sous épidermique, lésion complète de la membrane basale, atteinte du derme papillaire et réticulaire. Photographie à la loupe (x10, x50) et au microscope (x100)

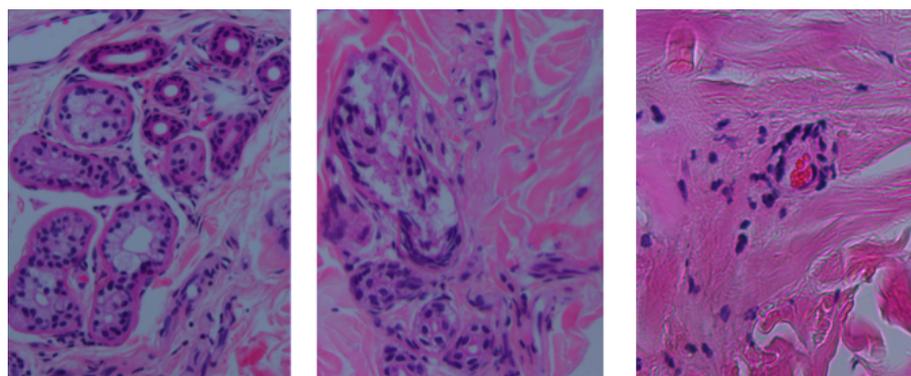


Figure 18 : Glandes sébacées et sudoripares saines, glandes brûlées, thrombose d'un vaisseau avec globules rouges agglutinés. Photographie au microscope (x200)

Comme on peut le constater dans les illustrations précédentes, la délimitation de la brûlure avec une coloration au H&E, est visible, mais pas évidente. La coloration au Trichrome de Masson permet une délimitation précise de la coagulation du collagène et donc de la brûlure. Le collagène dans le derme est teint en bleu par ce colorant et vire au bordeaux quand celui-ci est coagulé. L'atteinte du collagène, visualisée grâce à ce colorant est décrite comme une méthode fiable pour déterminer la profondeur d'une brûlure(17).

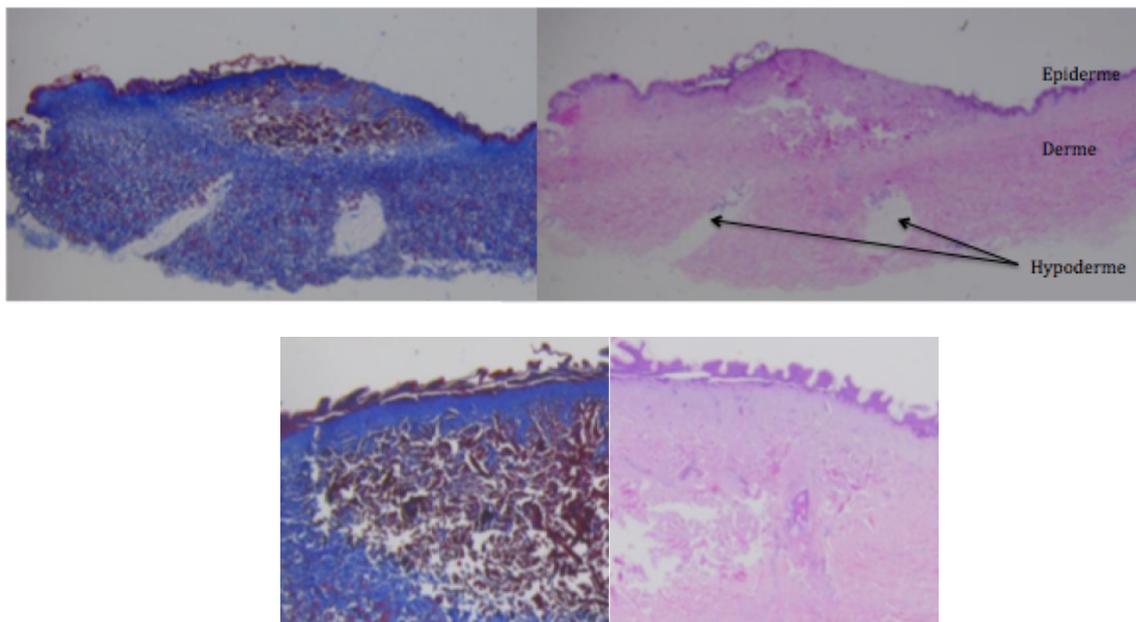


Figure 19 : Brûlures de 2^e degré profond sur peau humaine, colorées au Trichrome de Masson et au Hématoxyline & Eosine. Photographie à la loupe (x10 et x50)

3.2.1 Effet du nombre de pulsation

Une augmentation du nombre de pulsation augmente la profondeur de la brûlure pour une fluence de 7 ou de 13 J/cm².

3.2.1.1 Pour une fluence de 7 J/cm²

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
7	5	40	7	1	3/3
7	10	40	7	2-	3/3
7	15	40	7	2-	3/3
7	20	40	7	2+	3/3

Tableau 6

3.2.1.2 Pour une fluence de 13 J/cm²

- Avec une durée de 3 ms d'impulsion

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
13	15	3	7	2-	4/4
13	30	3	7	2+	3/3

Tableau 7

- Avec une durée de 40 ms d'impulsion

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
13	15	40	7	2-	1/1
13	30	40	7	2+	7/7
13	45	40	7	2+	5/6

Tableau 8

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
13	45	40	7	3	1/6

Tableau 9

3.2.2 Effet de la durée de la pulsation

La durée de la pulsation, variant de 1.5 à 40ms, ne change pas le degré de brûlure estimé à l'histologie.

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
13	15	1.5	7	2-	1/1
13	15	3	7	2-	5/5
13	15	40	7	2-	1/1

Tableau 10

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
13	30	1.5	7	2+	1/1
13	30	3	7	2+	3/3
13	30	40	7	2+	7/7

Tableau 11

3.2.3 Effet de la fluence

La fluence, passant de 7 à 13 J/cm² ne change pas le grade de la brûlure.

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
7	15	40	7	2-	5/5
13	15	40	7	2-	1/1

Tableau 12

3.3 Résumé des résultats

Le tableau ci-dessous détaille les degrés de brûlures correspondant aux différents paramètres du laser. Pour une observation plus fine, un tableau complet, comprenant les observations histologiques des grades de brûlure pour chaque échantillon de peau se trouve en annexe (annexe 2). A noter que le nombre d'échantillon total est distinct de celui obtenu dans la méthodologie. Cela s'explique par le fait que certains échantillons ont été mis en culture ou ont été mal coupés et ne peuvent dès lors être pris en compte dans les résultats histologiques, puisqu'aucune estimation du degré de brûlure n'a pu être opérée.

Fluence (J/cm ²)	Nombre de pulsation	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
7	10	40	7	2-	3/3
7	15	40	7	2-	5/5
7	20	40	7	2+	3/3
7	25	40	7	2+	2/2
13	15	3	7	2-	5/5
13	30	3	7	2+	3/3
13	30	40	7	2+	7/7
13	45	40	7	2+	5/6

Tableau 13 : Résumé des résultats

4. DISCUSSION

4.1 Choix du modèle de brûlure sur peau humaine ex vivo

Un certain nombre de modèles de brûlures *in vivo*, *in vitro* ou *ex vivo* ont déjà été expérimentés. La majorité des manipulations ont été réalisées sur des modèles animaux ; souris, rats, cochons, mais également sur des peaux humaines.

La peau de cochon semblerait, parmi les modèles animaux retenus, celle qui est la plus proche de la peau humaine(18), raison pour laquelle ce modèle expérimental est souvent utilisé. La peau de cochon se différencie toutefois à plusieurs égards de la peau humaine. Montagna et Yun, en 1964, à travers leur étude histologique, ont, en effet, mis en évidence des dissemblances, observables à chaque niveau des couches de la peau(19).

A l'échelle de l'épiderme, Weinstein et son équipe ont constaté un temps de cicatrisation plus rapide chez le cochon(20), ainsi que la présence, en plus petite quantité, de grands mélanocytes. Dans la couche de derme, Meyer et al. remarquent : un nombre restreint de fibres élastiques unies aux fibres de collagènes(21-23), une vascularisation plus pauvre, des glandes sébacées plus rares et une absence de glandes de type eccrines (19) (phénomène déjà décrit par Montagna et al). Ces différentes caractéristiques de la peau animale sont à prendre en compte, même si les similitudes avec la peau humaine sont nombreuses (pilosité, coloration de peau, peau sujette aux coups de soleil, etc). Des raisons éthiques, économiques et pratiques peuvent également être considérées comme des obstacles à cette pratique.

Pour contourner ces difficultés, nous avons décidé de créer notre propre modèle à partir de peau humaine, ce qui a pour avantage de nous rapprocher de la réalité clinique. Toutefois, les modèles sur peau humaine *in vivo* nous confrontent, eux aussi, à certaines difficultés, notamment celles de l'échantillonnage et de la standardisation. En effet, la cicatrisation de la peau est influencée par de multiples facteurs, concernant le patient (âge, circulation, nutrition, infection)(24). D'autre part, il serait impossible de standardiser une brûlure accidentelle et il serait évidemment inenvisageable de l'induire de manière iatrogène. En ce qui concerne les modèles *in vitro*, la structure 3D de la peau et donc ses caractéristiques optiques, sont, à l'heure actuelle, mal simulés(26). Ces éléments justifient, selon nous, le fait d'avoir créé un modèle *ex vivo*, ce qui permet une grande précision et le contrôle de la standardisation des échantillons. Un modèle de ce type a également pour avantage d'être moins cher, souvent plus rapide, et plus facilement reproductible.

Un certain nombre de recherches sur des modèles de brûlures ont été réalisées à partir d'eau chaude(27-31), d'électricité(32,33), d'aluminium (34-38), de laiton(10,17,28,31,39-41) ou d'acier(42) chauffé. De nombreuses stratégies ont été mises en place pour permettre à ces expériences d'être reproductibles. Cependant, ce type de modèles requiert un matériel important et rend délicate les opérations de montage. Nous avons donc préféré induire nos brûlures à l'aide d'un laser.

Comme tous les modèles proposés, ce modèle a ses limitations. Ainsi, un modèle *ex vivo* ne possède plus de circulation sanguine et ne peut donc pas générer de réelles réponses inflammatoires. Il faut aussi relever que nos résultats peuvent différer d'expérimentations *in vivo* au laser (43-61), car le faisceau laser n'est pas absorbé de manière préférentielle par le sang des vaisseaux dans notre modèle. De plus, il y a moins de chromophores disponibles dans la peau *ex vivo* et celle-ci à une température plus basse. Une peau plus froide, à température ambiante de la pièce, subira en effet des lésions à une dose d'irradiation plus élevée qu'un modèle *in vivo* (26,62). Ces éléments ne sont cependant pas significatifs pour notre étude, qui, pour rappel, ne cherche pas à corrélérer le degré de brûlure *ex vivo* à la clinique, mais bien à créer un modèle de brûlures pour l'expérimentation de futurs traitements topiques.

4.2 Explications des résultats

4.2.1 Corrélation entre dommages et paramètres du laser

Les images des figures 20 à 22 sont à analyser avec prudence car, malgré des paramètres de laser identiques et la variation d'un seul paramètre, les séries d'expériences ont été faites sur différentes peaux, provenant de patientes différentes. Ce qui implique des fluctuations de brûlures non paramètres-dépendant dû à des variations anatomiques entre les échantillons de peaux.

4.2.1.1 Effet du nombre et de la durée des pulsations

C'est, sans surprise, que nous observons qu'une augmentation du nombre de pulsations augmente les dégâts sur la peau.

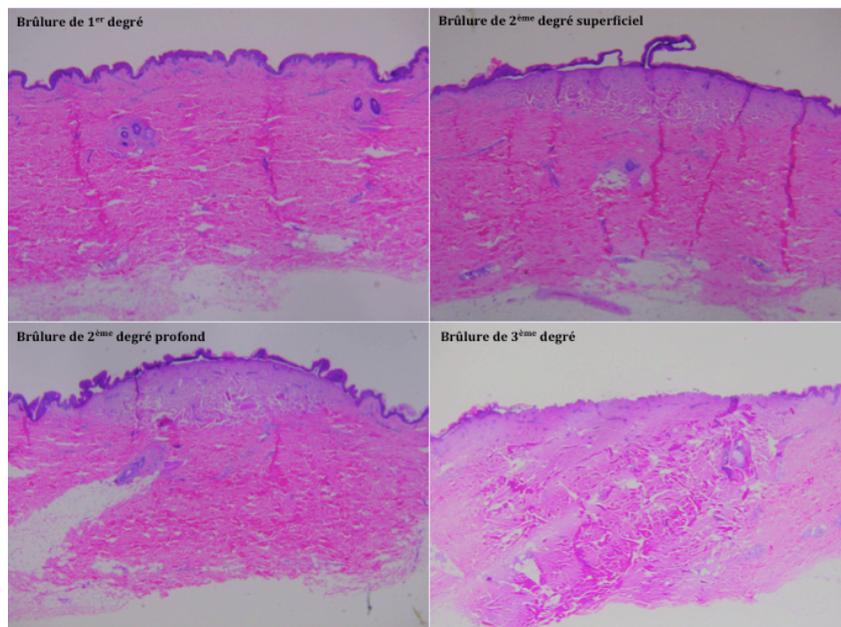


Figure 20 : Brûlures de 1^{er}, 2^{ème} degré superficiel, 2^{ème} degré profond et 3^{ème} degré après 5, 15, 20, 45 pulsations à une fluence de 13 J/cm², une pièce à main de 7mm, une durée d'impulsion de 40ms. Photographie à la loupe (x10)

Il semblerait cependant qu'une diminution du temps d'impulsion (passant de 40ms à 1.5ms) ne changera pas le grade de la brûlure, mais fera peut-être moins de dommages aux cellules adjacentes à la brûlure. Cette observation va à l'encontre de celles de Nouri et al., ainsi que de Pikkula et al, qui stipulent qu'un temps de pulsation plus court induirait des dommages plus profonds, car la chaleur n'aurait alors pas le temps de diffuser(13,44). On peut donc se demander si les lésions, quoique possiblement plus profondes, ne suffiraient pas pour induire une brûlure de grade supérieur. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait, sur des échantillons de peaux provenant de la même patiente, refaire des expériences, avec des paramètres fixes de fluence et un nombre déterminé de pulsation, en faisant varier uniquement le temps.

En comparant deux photographies (selon les mêmes paramètres du laser) avec un temps d'impulsion plus de 13 fois supérieur, on constate, en effet, que la brûlure réalisée avec un temps d'impulsion plus long semble plus large et moins profonde.

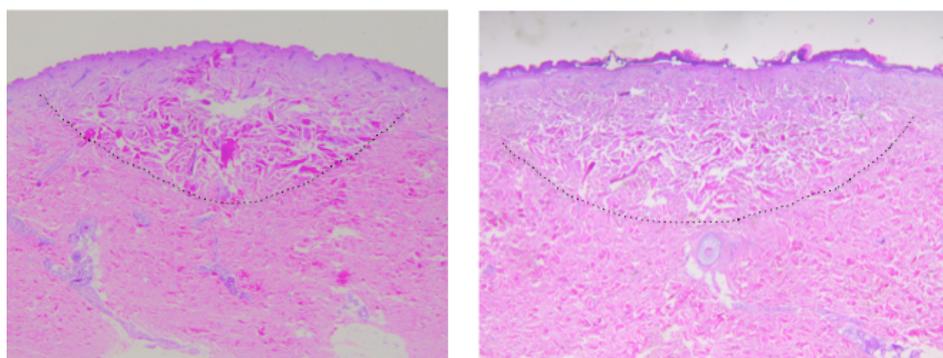


Figure 21 : Brûlures de 2^{ème} degré profond après 30 pulsations à une fluence de 13 J/cm², une pièce à main de 7mm, une durée d'impulsion de 3 ms, respectivement 40ms. Photographie à la loupe(x17).

Dai et al. (16) ont, quant à eux, infligé des dommages avec un PDL (λ 595nm, diamètre du faisceau 7mm) sur de la peau humaine *ex vivo* en faisant varier le temps d'irradiation. La conclusion de leur étude est, qu'en maintenant une fluence constante, des temps de pulsation plus longs réduiraient les lésions thermiques subies par l'épiderme. Ils expliquent cela par le fait que la chaleur pourrait diffuser de la couche basale de l'épiderme vers les couches du derme en

réduisant la température atteinte par l'épiderme. Dans notre étude, nous n'avons pas observé de phénomènes similaires. En effet, le degré de brûlure restait le même malgré un temps de pulsation passant de 40ms à 1.5ms.

4.2.1.2 Effet de la fluence

De manière surprenante, une augmentation de la fluence (de 7 à 13 J/cm²) ne semble pas provoquer des degrés de brûlures plus importants. Ferraq et al. ainsi que Drnovsek-Olup et al.(9,45) remarquent cependant qu'une augmentation de la fluence avec un laser Er : YAG induit, de manière linéaire, des lésions plus profondes. On peut donc réaffirmer l'hypothèse précédente et supposer que la lésion est peut-être plus profonde, sans nécessairement changer l'estimation de la gravité de la brûlure.

Cette hypothèse peut être en partie confirmée en comparant deux brûlures induites à une fluence de 7J/cm² et 13 J/cm². Les flèches représentent la distance du point le plus profond de la brûlure jusqu'à l'hypoderme.

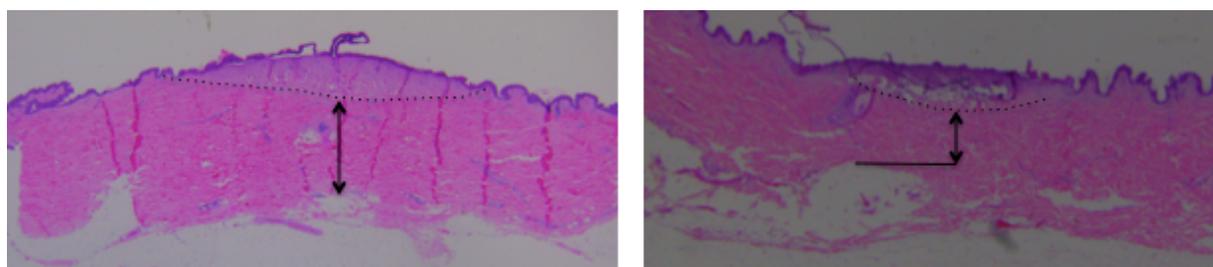


Figure 22 : Brûlures de 2^{ème} degré superficiel après 15 pulsations à une fluence de 7, respectivement 13 J/cm², une pièce à main de 7mm et une durée d'impulsion de 40ms. Photographie à la loupe(x10).

4.2.2 Brûlures dermiques

On peut s'interroger sur le mécanisme induisant les dommages au derme. A ce titre, Tunnell et al. ont fait plusieurs expériences, dont une, en 2000, sur de la peau humaine de cadavre à l'aide d'un PDL de 585nm(26). Sur la base de ces expériences, ils font l'hypothèse que les lésions induites au derme sont causées par la diffusion de chaleur provenant de l'épiderme, car le derme ne possède plus le chromophore oxyhémoglobine absorbant le faisceau laser. Cette hypothèse est possible mais semble insatisfaisante en ce qui concerne notre expérience. En effet, le derme de nos échantillons de peau contient encore de l'eau comme chromophore et est capable d'absorber en partie le faisceau laser.

4.2.3 Reproductibilité

Les mêmes paramètres du laser ont été appliqués sur plusieurs échantillons de peaux au sein de la même série afin d'apprécier la reproductibilité intra-expérimentale. Ils ont également été appliqués sur des échantillons de peau différentes de différentes séries afin, cette fois-ci, de constater la reproductibilité entre les expériences. Le point central dans notre étude est de déterminer si le laser choisi est capable, au-delà des modulations possibles (de fluence et de pulsation), d'induire des brûlures de second degré de manière reproductible. Dans sa thèse, Museux constate que les lasers avec des longueurs d'ondes plus basses (808nm dans son étude) ne permettent pas une bonne reproductibilité des expériences, comparés aux lasers de longueurs d'ondes plus hautes(1). Le postulat de cette chercheuse semble aller à l'encontre de nos résultats. En effet, nos expériences tendent à montrer que le PDL de 595nm semble pouvoir induire des brûlures de manière reproductible. La différence de résultats avec cette chercheuse peut provenir, d'une part, d'un nombre plus restreint d'échantillons. D'autre part, cet écart peut également s'expliquer par le fait que le laser de 808nm, malgré une longueur d'onde plus grande que notre PDL de 595nm, permet une absorption moindre de la mélanine et de l'hémoglobine, les pics de ces chromophores se trouvant à des longueurs d'ondes plus basses.

Cette absorption plus petite, malgré une énergie plus haute, induit certainement plus de transmission et de diffusion du faisceau laser, entraînant, dès lors, des brûlures moins précises.

Selon nos résultats, qui contiennent de nombreux échantillons irradiés selon des paramètres différents, nous ne pouvons que constater une tendance. Cette tendance semble aller dans le sens de nos hypothèses. En effet, en regardant le tableau 13, il est aisé de constater, qu'hormis certains échantillons ininterprétables, et donc exclus de nos résultats, les expériences sont reproductibles au sein d'une même série et entre les différentes séries (comprenant des peaux de patientes différentes).

4.3 Biais et erreurs de cette étude

Bien qu'elle se veuille aussi complète que possible, cette recherche possède une part de biais liée à sa réalisation.

Concernant la méthodologie, nous pourrions, par exemple, nous demander si le fait de dégraisser la peau, sans toutefois réussir à retirer la graisse de manière homogène et identique sur chaque échantillon de peau, a eu un impact sur l'absorption du laser. Selon Sowa et al. l'hypoderme n'aurait qu'un rôle mineur dans l'absorption et la diffusion du faisceau laser(14). On peut donc raisonnablement écarter ce risque de biais de notre expérimentation.

Il est impossible de comprendre et référencer tous les phénomènes physiologiques qui agissent dans la cinétique de la brûlure. On peut, par contre, relever que quand la peau est brûlée à la surface, une couche de carbone noire s'y dépose et modifie l'absorption du laser. Cette couche de carbone devient un chromophore exogène qui absorbe préférentiellement le faisceau de notre laser et change la dynamique de l'absorption de chaleur par la peau(13). Ce phénomène explique peut-être une certaine variabilité entre les différentes brûlures observées dans nos échantillons de peau pour les mêmes paramètres du laser. Il faut également rappeler que la peau des patientes sélectionnées pour ces expériences est de qualité et d'âge différents. Cela peut avoir une importance sur l'épaisseur des différentes couches de la peau à cause du phénomène de vieillissement (dermatoporose(63) et atrophie cutanée), et donc apporter des résultats variables.

Une des erreurs survenues au cours de ce travail a permis de mettre en évidence un point important dans la méthodologie de l'expérimentation ; La peau doit impérativement être à température ambiante avant les irradiations. En effet, une série expérimentale a été effectuée après que la peau prélevée au bloc opératoire soit restée une nuit au réfrigérateur. Malgré des paramètres de laser identiques, les brûlures ont été estimées à un grade de brûlure inférieur que les échantillons d'autres séries irradiés directement en post-opératoire (se référer au tableau 14). La différence du degré de brûlure s'explique par le fait que la peau sortant du réfrigérateur était à une température inférieure au moment des irradiations, entraînant des lésions moins profondes. De plus, la peau restée au réfrigérateur une nuit a eu le temps de davantage se déshydrater et a, par ce fait, perdu une partie de l'un des chromophores (l'eau) capable d'absorber le faisceau laser. Le rayon laser du PDL sera par conséquent préférentiellement absorbé par la mélanine (contenue dans l'épiderme) et induira des brûlures plus superficielles.

Série	Fluence (J/cm ²)	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Nombre de pulsation	Degré de brûlure histologique	Nombre d'échantillon d'un degré de brûlure/total des échantillons irradiés selon ces paramètres
À température ambiante	7	40	7	20	2+	3/3
Une nuit au réfrigérateur	7	40	7	20	2-	2/2

Tableau 14 : Détails des séries pour une fluence de 7 J/cm², durée de 40ms et 20 pulsations

En ce qui concerne le protocole histologique, on peut remettre en question la manière de découper la peau avant de l'inclure dans la paraffine. En effet, la peau a été coupée au bord de la phlyctène avant de suivre le traitement décrit dans la méthodologie. Cette manière de couper la peau peut poser problème lors du débitage des blocs de paraffine au microtome. En effet, il est difficile de tomber sur la zone la plus profonde de la brûlure, se trouvant au centre de la phlyctène. On peut alors suspecter que certaines lames histologiques ont été gradées à un 2^e degré superficiel alors qu'elles auraient été estimées à un 2^e degré profond, si les coupes avaient été faites à un autre endroit du bloc de paraffine.

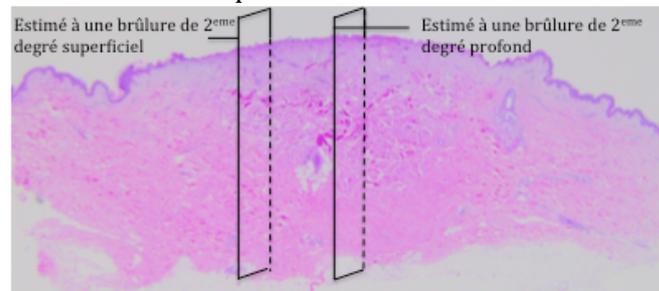


Figure 23 : Relation entre la profondeur de découpe au microtome et l'estimation du grade de brûlure

Il serait donc important, pour les prochaines expériences, de couper les échantillons de peau au milieu de la phlyctène avant de les fixer, pour s'assurer d'obtenir systématiquement la zone de brûlure la plus profonde au début du bloc de paraffine.



Figure 24 : Découpage actuel de la peau avant emballage dans la paraffine versus proposition de découpage pour une future expérience

4.4 Mise en culture des échantillons de peau

Quelques échantillons de peau ont reçu un traitement particulier par Dr. Nathalie Burri-Hirt. Après une fixation au PAF, ces échantillons de peau ont été mis dans un milieu de culture pour kératinocytes et fibroblastes ; Ker Med et Fib Med. Ils ont ensuite été placés cinq jours dans un incubateur. L'objectif de ce traitement était de déterminer si les échantillons de peau pouvaient être maintenus en vie pour une durée de quatorze jours.

Cette expérience supplémentaire a permis de mettre en évidence que les échantillons de peau brûlés sont capables d'être maintenus en vie quatorze jours dans un milieu de culture. D'autres auteurs ont déjà essayé de faire cette expérience en observant une re-épithélialisation de la zone brûlée(24,25,64). Cependant, lors de notre expérience, aucune migration des cellules de la

couche basale n'a été observée. Est-ce dû à la phlyctène qui n'a pas été débridée dans cette série ? La phlyctène pourrait en effet faire office de pansement et empêcher les produits de thérapies cellulaires d'accéder à la partie endommagée de la peau.

Nouri et al. expliquent dans leur livre que des temps de pulsation longs (plus longs que le temps de relaxation des tissus irradiés) induisent plus de dommages cellulaires autour de la brûlure à cause de la diffusion de la chaleur(13). On peut alors imaginer que nos paramètres de lasers, notamment le temps de pulsation, était trop long dans cette série, et cela a induit des dommages cellulaires plus larges ne permettant pas une re-épithélialisation de la zone lésée.

Rappel des paramètres utilisés dans la série VI :

Fluence (J/cm ²)	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Nombre de pulsation
7	40	7	10
7	40	7	15
7	40	7	20
7	40	7	25

Tableau 15

Dans un souci de créer un modèle de brûlure capable d'être maintenu en culture, il serait intéressant de répéter la mise en culture d'échantillons de peau irradiés, avec les mêmes paramètres que la série X, comprenant une durée d'impulsion plus courte. Cette dernière série a, également, l'avantage d'avoir démontré une reproductibilité intra-expérimentale parfaite ;

Fluence (J/cm ²)	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Nombre de pulsation	Nombre d'échantillon
13	3	7	15	5
13	3	7	30	3

Tableau 16

5. PERSPECTIVES

Ce travail a permis de déterminer les paramètres (tableau 17) du laser à colorant pulsé induisant des brûlures de deuxième degré superficiel et profond.

La dernière série expérimentale a notamment permis de créer ce modèle avec des temps d'impulsion relativement courts. Afin, de confirmer la reproductibilité de cette étude, cette série devra toutefois être effectuée sur un plus grand nombre d'échantillons de peaux.

Fluence (J/cm ²)	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Nombre de pulsation	Nombre d'échantillon
13	3	7	15	5
13	3	7	30	3

Tableau 17 : Série X

Dans une perspective future, ce modèle de brûlure pourrait également être mis en culture afin d'observer si une re-épithélialisation est possible sur le site de la lésion. Dans l'affirmative, il pourrait permettre l'expérimentation de nouveaux traitements topiques ou anti-bactériens et en apprécier l'efficacité.

Finalement, ce modèle pourrait également être utilisé pour tester des traitements topiques sur des brûlures de deuxième degré profond et espérer un jour rendre possible une re-épithélialisation de celles-ci, permettant ainsi de s'affranchir d'une prise en charge chirurgicale.

6. BIBLIOGRAPHIE ET INTERVENANTS

6.1 Bibliographie

1. **Museux N.** Expertise biothermique de matériaux soumis à des rayonnements infrarouges intenses : De l'identification paramétrique à l'évaluation des risques de brûlure [phdthesis]. Université d'Angers; 2010
2. **Raffoul W., Berger M.** Les brûlures: de l'ébouillement à l'électrisation - définitions et traitement. Swiss Medical Forum = Forum Médical Suisse, 6 (10) pp. 243-250. 2006.
3. **Young, O'Dowd, Woodford.** Atlas d'histologie fonctionnelle de Weater. 6e éd. de boeck; 2015.
4. **Mélissopoulos A, Levacher C.** La peau. Structure et physiologie. TEC & DOC; 2001.
5. **Mordon S.** Actions thermiques des lasers. Encyclopédie des lasers en médecine et en chirurgie. Padoue: Piccin Nuova Libreria SpA; 1995.
6. **Wachtel TL, Berry CC, Wachtel EE, Frank HA.** The inter-rater reliability of estimating the size of burns from various burn area chart drawings. Burns J Int Soc Burn Inj. mars 2000;26(2):156-70.
7. **Toon MH, Maybauer DM, Arceneaux LL, Fraser JF, Meyer W, Runge A, et al.** Children with burn injuries--assessment of trauma, neglect, violence and abuse. J Inj Violence Res. juill 2011;3(2):98-110.
8. Figure: (A) Règle des neufs (pour les adultes) et (B) Tableau de Lund-Browder (pour les enfants) pour l'estimation de la surface des brûlures. [Internet]. Édition professionnelle du Manuel MSD.
9. **Ferraq Y, Black D, Lagarde JM, Schmitt AM, Dahan S, Grolleau JL, et al.** Use of a 3-D imaging technique for non-invasive monitoring of the depth of experimentally induced wounds. Skin Res Technol. 1 nov 2007;13(4):399-405.
10. **Ponticorvo A, Burmeister DM, Yang B, Choi B, Christy RJ, Durkin AJ.** Quantitative assessment of graded burn wounds in a porcine model using spatial frequency domain imaging (SFDI) and laser speckle imaging (LSI). Biomed Opt Express. 1 oct 2014;5(10):3467-81.
11. **Banzet Pierre, Servant Jean-Marie.** Chapitre 42; Brûlures récentes. In: Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique. Flammarion. 1994. (Médecine-sciences).
12. **Berger M. M, Raffoul W, Maravic P, Séchet V, Chioléro R.** pourquoi_deux_centres_de_brules_adultes_en_suisse_dont_un_au_chuv.pdf [Internet].
13. **Nouri K.** Lasers in Dermatology and Medicine. Springer Science & Business Media; 2011. 621 p.
14. **Sowa MG, Leonardi L, Payette JR, Fish JS, Mantsch HH.** Near infrared spectroscopic assessment of hemodynamic changes in the early post-burn period. Burns J Int Soc Burn Inj. mai 2001;27(3):241-9.
15. **Netgen.** Les traitements laser en dermatologie pédiatrique [Internet]. Revue Médicale Suisse.
16. **Dai T, Pikkula BM, Tunnell JW, Chang DW, Anvari B.** Thermal response of human skin epidermis to 595-nm laser irradiation at high incident dosages and long pulse durations

- in conjunction with cryogen spray cooling: An ex-vivo study. *Lasers Surg Med.* 1 juill 2003;33(1):16-24.
17. **Chvapil M, Speer DP, Owen JA, Chvapil TA.** Identification of the depth of burn injury by collagen stainability. *Plast Reconstr Surg.* mars 1984;73(3):438-41.
 18. **Sullivan TP, Eaglstein WH, Davis SC, Mertz P.** The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc.* avr 2001;9(2):66-76.
 19. **Montagna W, Yun JS.** THE SKIN OF THE DOMESTIC PIG. *J Invest Dermatol.* juill 1964;42:11-21.
 20. **WEINSTEIN G.** Comparison of turnover time and of keratinous protein fractions in swine and human epidermis. *Swine Biomed Res.* 1966;287-9.
 21. **Meyer W, Schwarz R, Neurand K.** The skin of domestic mammals as a model for the human skin, with special reference to the domestic pig. *Curr Probl Dermatol.* 1978;7:39-52.
 22. **Meyer W, Neurand K, Radke B.** Elastic fibre arrangement in the skin of the pig. *Arch Dermatol Res.* 1981;270(4):391-401.
 23. **Meyer W, Neurand K, Radke B.** Collagen fibre arrangement in the skin of the pig. *J Anat.* janv 1982;134(Pt 1):139-48.
 24. **Emanuelsson P, Kratz G.** Characterization of a new in vitro burn wound model. *Burns J Int Soc Burn Inj.* févr 1997;23(1):32-6.
 25. **Coolen NA, Vlig M, van den Bogaerdt AJ, Middelkoop E, Ulrich MMW.** Development of an in vitro burn wound model. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc.* août 2008;16(4):559-67.
 26. **Tunnell James W., Nelson J. Stuart, Torres Jorge H., Anvari Bahman.** Epidermal protection with cryogen spray cooling during high fluence pulsed dye laser irradiation: An ex vivo study. *Lasers Surg Med.* 26 oct 2000;27(4):373-83.
 27. **Wang X-Q, Kravchuk O, Kimble RM.** A retrospective review of burn dressings on a porcine burn model. *Burns J Int Soc Burn Inj.* août 2010;36(5):680-7.
 28. **Gaines C, Poranki D, Du W, Clark RAF, Van Dyke M.** Development of a porcine deep partial thickness burn model. *Burns J Int Soc Burn Inj.* mars 2013;39(2):311-9.
 29. **Busch NA, Zanzot EM, Loiselle PM, Carter EA, Allaire JE, Yarmush ML, et al.** A Model of Infected Burn Wounds Using *Escherichia coli* O18:K1:H7 for the Study of Gram-Negative Bacteremia and Sepsis. *Infect Immun.* juin 2000;68(6):3349-51.
 30. **McVay CS, Velásquez M, Fralick JA.** Phage Therapy of *Pseudomonas aeruginosa* Infection in a Mouse Burn Wound Model. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2007;51(6):1934-8.
 31. **Crouzet C, Nguyen JQ, Ponticorvo A, Bernal NP, Durkin AJ, Choi B.** Acute discrimination between superficial-partial and deep-partial thickness burns in a preclinical model with laser speckle imaging. *Burns J Int Soc Burn Inj.* août 2015;41(5):1058-63.
 32. **Kim JY, Dunham DM, Supp DM, Sen CK, Powell HM.** Novel burn device for rapid, reproducible burn wound generation. *Burns J Int Soc Burn Inj.* mars 2016;42(2):384-91.

33. **Middelkoop E, van den Bogaerdt AJ, Lamme EN, Hoekstra MJ, Brandsma K, Ulrich MMW.** Porcine wound models for skin substitution and burn treatment. *Biomaterials*. avr 2004;25(9):1559-67.
34. **Burmeister DM, Ponticorvo A, Yang B, Becerra SC, Choi B, Durkin AJ, et al.** Utility of spatial frequency domain imaging (SFDI) and laser speckle imaging (LSI) to non-invasively diagnose burn depth in a porcine model. *Burns J Int Soc Burn Inj*. sept 2015;41(6):1242-52.
35. **Venter NG, Monte-Alto-Costa A, Marques RG.** A new model for the standardization of experimental burn wounds. *Burns J Int Soc Burn Inj*. mai 2015;41(3):542-7.
36. **Singh M, Nuutila K, Minasian R, Kruse C, Eriksson E.** Development of a precise experimental burn model. *Burns J Int Soc Burn Inj*. nov 2016;42(7):1507-12.
37. **Branski LK, Mittermayr R, Herndon DN, Norbury WB, Masters OE, Hofmann M, et al.** A porcine model of full-thickness burn, excision and skin autografting. *Burns J Int Soc Burn Inj*. déc 2008;34(8):1119-27.
38. **King DR, Li W, Squiers JJ, Mohan R, Sellke E, Mo W, et al.** Surgical wound debridement sequentially characterized in a porcine burn model with multispectral imaging. *Burns J Int Soc Burn Inj*. nov 2015;41(7):1478-87.
39. **Wilson RH, Nadeau KP, Jaworski FB, Rowland R, Nguyen JQ, Crouzet C, et al.** Quantitative short-wave infrared multispectral imaging of in vivo tissue optical properties. *J Biomed Opt*. août 2014;19(8):86011.
40. **Nguyen JQ, Crouzet C, Mai T, Riola K, Uchitel D, Liaw L-H, et al.** Spatial frequency domain imaging of burn wounds in a preclinical model of graded burn severity. *J Biomed Opt*. juin 2013;18(6):66010.
41. **Kumari S, Harjai K, Chhibber S.** Bacteriophage versus antimicrobial agents for the treatment of murine burn wound infection caused by *Klebsiella pneumoniae* B5055. *J Med Microbiol*. 2011;60(2):205-10.
42. **Sheu S-Y, Wang W-L, Fu Y-T, Lin S-C, Lei Y-C, Liao J-H, et al.** The pig as an experimental model for mid-dermal burns research. *Burns J Int Soc Burn Inj*. déc 2014;40(8):1679-88.
43. **Tunnell JW, Chang D, Johnston C, Torres JH, Patrick CW, Miller MJ, et al.** In-vivo study of epidermal protection by cryogen spray cooling during pulsed-laser irradiation at high radiant exposures. In: *Lasers in Surgery: Advanced Characterization, Therapeutics, and Systems XII* [Internet]. International Society for Optics and Photonics; 2002
44. **Pikkula BM, Chang DW, Dai T, Anvari B.** Epidermal and vascular damage analysis of in vivo human skin in response to 595 nm pulsed laser irradiation. *Lasers Surg Med*. juill 2005;37(1):19-28.
45. **Drnovsek-Olup B, Beltram M, Pizem J.** Repetitive Er:YAG laser irradiation of human skin: a histological evaluation. *Lasers Surg Med*. 2004;35(2):146-51.
46. **Cohen M, Scharf V, Leshem D, Shafir R, Gatt A, Weiss J, et al.** Monitoring of the infrared radiation emitted from skin layers during CO₂ laser resurfacing: a possible basis for a depth navigation device. *Lasers Med Sci*. 2001;16(3):176-83.
47. **Oliver JW, Stolarski DJ, Noojin GD, Hodnett HM, Harbert CA, Schuster KJ, et al.** Infrared skin damage thresholds from 1940-nm continuous-wave laser exposures. *J Biomed Opt*. déc 2010;15(6):65008.

48. **Regan TD, Uebelhoer NS, Satter E, Ross EV.** Depth of tissue ablation and residual thermal damage caused by a pixilated 2,940 nm laser in a swine skin model. *Lasers Surg Med.* juill 2010;42(5):408-11.
49. **Rico PJ, Johnson TE, Mitchell MA, Saladino BH, Roach WP.** Median effective dose determination and histologic characterization of porcine (*Sus scrofa domestica*) dermal lesions induced by 1540-nm laser radiation pulses. *Comp Med.* déc 2000;50(6):633-8.
50. **Majaron B, Kelly KM, Park HB, Verkruysse W, Nelson JS.** Er:YAG laser skin resurfacing using repetitive long-pulse exposure and cryogen spray cooling: I. Histological study. *Lasers Surg Med.* 2001;28(2):121-30.
51. **Dai T, Diagaradjane P, Yaseen MA, Pikkula BM, Thomsen S, Anvari B.** Laser-induced thermal injury to dermal blood vessels: analysis of wavelength (585 nm vs. 595 nm), cryogen spray cooling, and wound healing effects. *Lasers Surg Med.* sept 2005;37(3):210-8.
52. **Ross EV, Barnette DJ, Glatter RD, Grevelink JM.** Effects of overlap and pass number in CO2 laser skin resurfacing: a study of residual thermal damage, cell death, and wound healing. *Lasers Surg Med.* 1999;24(2):103-12.
53. **Museux N, Perez L, Autrique L, Agay D, serra J-J.** Evaluation du risque de brûlure par exposition à des rayonnements lasers. *Expérimentations et modélisation.* 2010;
54. **Museux N, Scheer E, serra J-J.** Modélisation des effets d'un rayonnement lumineux intense sur la peau. *Etude du seuil de brûlure de second degré.* 2008;
55. **Chen B, Thomsen SL, Thomas RJ, Welch AJ.** Modeling thermal damage in skin from 2000-nm laser irradiation. *J Biomed Opt.* déc 2006;11(6):64028.
56. **Chen B, O'Dell DC, Thomsen SL, Rockwell BA, Welch AJ.** Porcine skin ED50 damage thresholds for 2,000 nm laser irradiation. *Lasers Surg Med.* déc 2005;37(5):373-81.
57. **Chen B, Thomsen SL, Thomas RJ, Oliver J, Welch AJ.** Histological and modeling study of skin thermal injury to 2.0 microm laser irradiation. *Lasers Surg Med.* juill 2008;40(5):358-70.
58. **Museux N, Perez L, Autrique L, Agay D.** Skin burns after laser exposure: histological analysis and predictive simulation. *Burns J Int Soc Burn Inj.* août 2012;38(5):658-67.
59. **Autrique L, Lormel C.** Numerical design of experiment for sensitivity analysis--application to skin burn injury prediction. *IEEE Trans Biomed Eng.* avr 2008;55(4):1279-90.
60. **Luo D, Cao Y, Wu D, Xu Y, Chen B, Xue Z.** Impact of intense pulse light irradiation on BALB/c mouse skin-in vivo study on collagens, matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factor. *Lasers Med Sci.* janv 2009;24(1):101-8.
61. **Alves DR, Booth SP, Scavone P, Schellenberger P, Salvage J, Dedi C, et al.** Development of a High-Throughput ex-Vivo Burn Wound Model Using Porcine Skin, and Its Application to Evaluate New Approaches to Control Wound Infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 15 juin 2018
62. **Verkruysse W, Lucassen GW, de Boer JF, Smithies DJ, Nelson JS, van Gemert MJ.** Modelling light distributions of homogeneous versus discrete absorbers in light irradiated turbid media. *Phys Med Biol.* janv 1997;42(1):51-65.
63. **Kaya Gürkan.** Dermatoporose : un syndrome émergent - *Revue Médicale Suisse.* 2008.

64. **Xu W, Jong Hong S, Jia S, Zhao Y, Galiano RD, Mustoe TA.** Application of a partial-thickness human ex vivo skin culture model in cutaneous wound healing study. Lab Invest J Tech Methods Pathol. avr 2012;92(4):584-99.
65. **David E. Elder.** Histopathology Of The Skin. 11ème. Lever's; 2009. (Lippincott Williams & Wilkins).
66. **Lengyel BA.** Introduction à la physique du laser. Eyrolles; 1966.
67. **Patterson James W.** Weedon's Skin Pathology. 4ème. Elsevier; 2016. (Churchill Livingstone).
68. **Niemz M.** Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications. Springer Science & Business Media; 2013. 303 p.
69. **Bretenaker F, Treps N, Collectif.** Laser (le) - 2ème édition. EDP Sciences; 2016. 190 p.
70. **Gil Evelyne.** D'où vient la lumière laser ? Les petites pommes du savoir. LE POMMIER;
71. **Hecht Eugène.** Physique. ITP de boeck;
72. **Dändliker R.** Les lasers, principe et fonctionnement. deuxième édition, revue et augmentée. Presses polytechniques romandes; 1996.

6.2 Intervenants

Le chapitre 1.3 sur les lasers a été écrit à l'aide d'un certain nombre de livres, cités dans la bibliographie ; il s'appuie également sur le cours du Professeur de physique **Gaetano Mileti** (Université de Neuchâtel, Institut de Physique). Ce chapitre a, enfin, été discuté et revu par **Olivier Simon**, physicien et enseignant au Gymnase de Bienne.

Le tableau 5, décrivant les critères histologiques des degrés de brûlure, du chapitre 2.2 a été élaboré avec la Dr. **Kimberley George** (Service de Dermatologie du Centre Hospitalier Universitaire Vaudois) ainsi qu'avec les supports suivants : « Histopathology Of The Skin » de David E. Elder et « Skin Pathology » de Patterson James W. Weedon's (65,67).

Ce travail de maîtrise a été revu et discuté avec le Dr. **Sébastien Duquenne**, responsable du Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques du Centre Hospitalier Universitaire de Saint Pierre, la Réunion.

7. ANNEXES

7.1 Nomenclature

λ	Longueur d'onde	J/cm ²
$c \cong 300'000$	Vitesse de la lumière	Km/s
f	Fréquence de l'onde électromagnétique	Hz=1/s
T	Temps	s
D	Diamètre du faisceau laser	cm
$P = E/T$	Puissance	Watt
$E = h \cdot f$	Energie du photon	J (Joules)
$h \cong 6,63 \cdot 10^{-34}$	Constante de Planck	J·s

7.2 Protocoles et résultats des expériences

Echantillon	Fluence (J/cm ²)	Durée (ms)	Pièce à main (mm)	Nombre de pulsation	Débridement de la plectène	Degré de brûlure histologique
Contrôle	-	-	-	-		
Série V						
1	7	40	7	5	Non	1
2	7	40	7	5	Non	1
3	7	40	7	5	Non	1
4	7	40	7	10	Non	2-
5	7	40	7	10	Non	2-
6	7	40	7	10	Non	2-
7	7	40	7	15	Non	2-
8	7	40	7	15	Non	2-
9	7	40	7	15	Non	2-
10	7	40	7	20	Non	2+
11	7	40	7	20	Non	2+
12	7	40	7	20	Non	2+
Série VI						
1	7	40	7	10	Non	1
2	7	40	7	10	Non	1
3	7	40	7	10	Non	Coupe à J14
4	7	40	7	15	Non	2-
5	7	40	7	15	Non	2-
6	7	40	7	15	Non	Coupe à J14
7	7	40	7	20	Non	2-
8	7	40	7	20	Non	2-
9	7	40	7	20	Non	Coupe à J14
10	7	40	7	25	Non	2+
11	7	40	7	25	Non	2+
12	7	40	7	25	Non	Coupe à J14
Série VII						
1	13	40	7	15	Non	2-
2	13	40	7	15+15=30	Non	2+
3	13	40	7	15+15=30	Oui	2+
4	13	40	7	15+30=45	Oui	2+
Série VIII						
1	13	40	7	15+15=30	Oui	2-
2	13	40	7	15+15=30	Oui	2+
3	13	40	7	15+30=45	Oui	2+
4	13	40	7	15+30=45	Oui	2+
5	13	1.5	7	15	Oui	2+
6	13	1.5	7	15	Oui	2-
7	18	1.5	7	15	Oui	2+
Série IX						
1a	13	40	7	15+15=30	Oui	Non interprétable
1b	13	40	7	15+15=30	Oui	2+
1c	13	40	7	15+15=30	Oui	2+
1d	13	40	7	15+15=30	Oui	2+
2a	13	40	7	15+30=45	Oui	3
2b	13	40	7	15+30=45	Oui	2+
2c	13	40	7	15+30=45	Oui	2+
2d	13	40	7	15+30=45	Oui	2+
Série X						
1a	13	3	7	15	Non	2-
1b	13	3	7	15	Non	2-
1c	13	3	7	15	Non	2-
1d	13	3	7	15	Non	2-
1e	13	3	7	15	Non	2-
2a	13	3	7	30	Non	2+
2b	13	3	7	30	Non	Non interprétable
2c	13	3	7	30	Non	2+
2d	13	3	7	30	Non	Non interprétable
2e	13	3	7	30	Non	2+

! A noter que les séries de ce tableau comportent le numéro du protocole expérimental et non le numéro du protocole histologique ; Série expérimental V = série histologique 2, série expérimental VI= série histologique 3, série expérimental VII= série histologique 5, série expérimental VIII= série histologique 6, série expérimental IX= série histologique 7, série expérimental X = série histologique 10.

7.3 Tableau, non exhaustif, de littérature

Références	date	modèle	outil	paramètres	brûlures	Méthodes peau	analyses	résultats
Peau humaine <i>Repetitive Er:YAG laser irradiation of human skin : A histological evaluation</i> - Brigita Drnovsek-Olup	2004	IN VIVO Humain -paupière	Laser Er :YAG	- λ 2,940 nm -fluence D= 0,5 ;1,25 J/cm ² -6 pulses par paquet -t= 550 micros/pulse 250 millis/paquet -spot 5mm -répétition 20Hz	-> épiderme et membrane basale 2-	-Histo 10% Formalin + paraffin. H&E -Analyse histo J0 J7 J21 -Organoculture	-Histo -Immuno	-dommage à l'épiderme proportionnel à la fluence -re-épithélialisation, prolifération de macrophages, monocytes, fibroblastes, collagène.
<i>Use of 3-D imaging technique for non-invasive monitoring of the depth of experimentally induced wounds</i> - Y. Ferraq	2007	EX VIVO Humain -mammaire	Laser Er :YAG	- λ 2940 nm - D= 10 ;50 ;200 J/cm ² 0,2 ;1 J/pulse - t = 250 micros - distance 3,7 cm - diamètre 1,6 mm	->épiderme, derme papillaire et réticulé 2+	-Histo nitrogène liquide, coupe de 7 microm. H&E	-Imagerie 3-D J0 -Histo	-dommage à l'épiderme proportionnel à la fluence -ratio fluence et profondeur épiderme lésé est env. 1J/cm ² /microm d'épiderme (fluence 50J/cm ² enlève 50microm d'épiderme) -10 J/cm ² =1 stratum corneum fragmenté 50 J/cm ² =2- ablation épiderme, coagulation du derme papillaire 200 J/cm ² =2+ ablation épiderme, derme papillaire et partie derme réticulaire.
<i>Thermal response of human skin epidermis to 595-nm laser irradiation at high incident dosage and long pulse durations in conjunction with cryogen spray cooling : An ex-vivo study</i> - Tianhong Dai	2003	EX VIVO Humain -abdomen (épid-derme-hypod) -phototypes I-IV	V-beam Pulsed dye laser	- λ 595 nm -Diamètre 7mm -D= 4 ;6 ;10 ;15 ;20 J/cm ² -t= 1,5 ;10 ;40millis	->épiderme 1, 2-	-Histo 10% Formalin	-Evaluation macroscopique (visuel, odeur) -Histo H&E	-T pulse plus long diminue dommage à l'épiderme (D constant) -lésion sur peau avec variation de D et t en fonction du phototype de peau -élongation des cellules, vacuolisation cytoplasme et rétrécissement des noyaux. Lacunes membrane basale, séparation de la membrane basale, ablation complète épiderme
<i>Intradermally focused infrared laser pulses : Thermal effects at defined tissue depths</i> -Misbath Huzaira Khan	2005	EX VIVO Humain -face (avec fine couche d'hypod)	Laser IR Diode (+ glass plate + solution fructose sur la peau)	- λ 1,500 nm - basse puissance 1 W -t= 3, 4,12, 20millis -diamètre <20 microm -profondeur 50, 200, 450, 600 microm	->derme sans lésion épidermique	-Histo coupes gelées de 10microm. H&E -Immuno au nitro-blue tetrazolium chloride (LDH activity stain)	-Histo -Immuno	lésion uniquement dermique (sans léser l'épiderme) -Permet contrôler la profondeur, taille du foyer de brûlure en épargnant les tissus autour -Inactivation du LDH (-cells lethality), dénaturation de la matrice extracellulaire, dénaturation du collagène I dermique (lésion à température plus haute que perte LDH)
<i>Monitoring of the infrared radiation emitted from skin layers during CO₂</i>	2001	IN VIVO & EX VIVO	Laser CO ₂	-Puissance 40 W (resurfacing scanner	->épiderme, derme nanillaire.	H&E	-Histo	-Lien entre le nombre de passage du laser et profondeur lésion

<i>In-vivo study of epidermal protection by cryogen spray cooling during pulsed-laser irradiation at high radiant exposures</i> -James W. Tunnell	2002	IN VIVO Humain -abdominal (TRAM) -phototypes I-VI	Pulsed Dye Laser (Candela ScleroPlus)	-λ 585 nm -D= 8, 16, 23, 30 J/cm ² -t= 1,5 ms -diamètre 5 mm	->épiderme 1, 2- lacune mbrn basale dès fluence 23 pour peau III-IV dès 8 pour peau>V	-J0 brûlure + biopsie -Histo 10% formalin, H&E	-Evaluation macro -Histo	-la peau blanchit, purpura, phlyctène -Différence entre les phototypes de peau -Lésion épiderme selon dose: élongation cellules basales rétrécissement et vacuolisation du cytoplasme séparation partielle de la membrane basale lacunes membrane basale ablation complète de l'épiderme
<i>Epidermal protection with cryogen spray cooling during high fluence pulsed dye laser irradiation : an ex vivo study</i> -James W. Tunnell	2000	EX VIVO Humain Cadavre -dos -phototypes II-III	Pulsed Dye Laser (Candela ScleroPlus)	-λ 585 nm -D= 8, 15, 22, 30 J/cm ² -t= 1,5 ms -diamètre 5 mm	->jusqu'à coag derme papillaire 2- atteinte mbrn basale dès fluence 22	-peau congelée -40°C pendant 3 sem -J0 décongelé 1,5h à température ambiante -Histo 10% formalin, H&E	-Histo	-3 types de lésions : vacuolisation des kératinocytes de l'épiderme séparation de la membrane basale dès 22J/cm ² coagulation du derme papillaire-> par diffusion chaleur du laser sur l'épiderme. Pas de chromophore oxyhémoglobine dans le derme, fluence basse, petit pulse= pas suffisant pour atteindre le derme
<i>Epidermal and vascular damage analysis of in vivo human skin in response to 595 nm pulsed laser irradiation</i> -Brian M. Pikkula	2005	IN VIVO Humain -abdominal (TRAM) -phototypes I-V	V-beam Pulsed dye laser	-λ 595 nm -D= 8->30 J/cm ² 4->15 J/cm ² -t= 1,5 ms -diamètre 5 mm	->épiderme 1, 2-	-J0 brûlure + biopsie -Histo 10% formalin, H&E	-Evaluation macro -Histo	-Pupura -Lésion épiderme selon la dose: élongation cellules basales rétrécissement et vacuolisation du cytoplasme séparation partielle de la membrane basale ablation complète de l'épiderme -dommage vasculaire

Peau animale <i>Skin burns after laser exposure : Histological analysis and predictive simulation</i> - Nathanaëlle Museux	2011	IN VIVO Cochon	-Laser IR -Laser de longueur d'onde visible	- λ 1940 nm t =1 à 40s Irradiance 9,3 ; 10,7 ; 12,2 ; 14 kW/m ² - λ 808 nm t = 2 à 20s Irradiance 9,3 ; 14 ; 96,4 ; 110 ; 122	-de 2+ à 3 -de 1 à 3	-J3 animal euthanasié + biopsie -Histo 10% formalin puis solution alcoolique, xylène, paraffine. Coupe 5 microm Hematoxylin Eosin Safran (H&ES)	-Kaleidoscope -mesure de la température peau -Histo -modèle mathématique	-Selon la longueur d'onde du laser, les lésions de la peau seront différentes. -une plus grande surface est chauffée avec le laser 1940 nm. -pour une irradiance donnée et un temps d'exposition le laser 808 nm fait moins de dommages.
<i>Evaluation du risque de brûlure par exposition à des rayonnements lasers. Expérimentation et modélisation.</i> - Nathanaëlle Museux	2010	IN VIVO cochon	-Laser fibré -fibré IR -CO ₂	- λ 808nm -P 60W - λ 1,94 microm -P 4W - λ 10,6 microm -P 40W ->tous D=9 à 22 kW/m ² t=0,1 à 4s	-0 -3 -2+	- J2 animal euthanasié + biopsie - H&ES	-Kaleidoscope -mesure de la température peau -Histo -modèle mathématique	-laser 1,94 microm lésion 3 -laser 10,6 microm lésion 2+ -laser 808 nm lésion 0 -Comparaison avec littérature différente pour laser 1,94 et 10,6 microm

<i>Porcine skin ED₅₀ damage thresholds for 2,000 nm laser irradiation</i> -Bo Chen	2005	IN VIVO cochon	-Laser CW (continuous wave)	- λ 2,000 nm -P 20 W -diamètre 4.83, 9.65, 14.65 mm -t= 0.25, 0.5, 1, 2.5 s	-2 = persistance rougeur 3 = persistance érythème (skin reddening, no withening)	-48h post laser ; taille et type de lésion observés et photographiés avec caméra IR	-Evaluation macroscopique	- proche du seuil : post 48h contraction épiderme au centre de l'irradiation avec papules rouges - au dessus du seuil : augmentation de la taille de la papule avec un ulcère superficiel - 1,5- 2x seuil : post 48h croute, coagulation et déshydratation épiderme -4x seuil : son audible au moment de l'augmentation brutale de température >160°C sans blanchiment qui est typique du 3 ^e degré (peau cochon à une pigmentation foncé qui empêche observation macro) + érythème persistant -t 2.5s, de 9.65 de diamètre, à 1.57 W =lésions. A une puissance inférieure à 1.25W pas de lésion
<i>Modeling thermal damage in skin from 2000-nm laser irradiation</i> -Bo Chen	2006	IN VIVO cochon	Ho :YAG Laser	- λ 2,000 nm -P variable -t=0.25, 0.5, 1, 2.5 s		-48h post laser biopsie -Histo 10% formalin, H&E	-observation macro -Histo	rougeur persistant après irradiation 2.5s, d 2.44mm, P 0.41 W -Papule rouge, rétrécissement épiderme, nécrose, coagulation, perte d'épiderme, dilatation vasculaire, thrombose des vaisseaux du derme, inflammation péri vasculaire plus profond -Certains tissus sont plus sensibles comme l'endothélium, les vaisseaux et les tissus de soutien. - gonflement fibres de collagènes
<i>Histological and modeling study of skin thermal injury to 2.0 microm laser irradiation</i> -Bo Chen	2008	IN VIVO cochon	Thulium CW laser	- λ 2 microm -P max 20 W -diamètre 5, 10, 15 mm -t = 0.25, 0.5, 1, 2.5 s		-48h post laser biopsie -Histo 10% formalin, H&E	-observation macro -Histo	-Peau érythème disparaît à 48h. Si persistant due aux thromboses, hémorragies péri vasculaires, dilatations vasculaires. -Hyperkeratose non liée à un dommage thermique, juste à un traumatisme mécanique. -Si irradiance augmente (augmentation irradiance en lien avec niveau lésion): 1. inflammation et oedème péri-vasculaire 2. nécrose épiderme 3. thrombose des vs derme 4. diminution collagène derme à une irradiance 1.5-2.5 fois après le seuil d'érythème persistant
<i>Depth of tissue ablation and residual thermal damage caused by a pixilated 2,940 nm laser in a swine skin model</i> -Thomas D. Regan	2010	IN VIVO cochon	-Laser Er :YAG	- λ 2,940 nm - Pulse energy= 150, 285, 500 mJ -49-81 microbeams par 11mm x 11 mm -pulses 1,3 et 6 - nbre de passages= 1,3,6	Profondeur des lésions en microm	-Histo direct après lésions, Formalin et H&E -Analyse histo par dermatopathologiste	-Histo	-150 mJ, 1 pulse : ablation partiel de l'épiderme -285 mJ, 1 pulse : ablation total de l'épiderme -500 mJ, 1 pulse : profondeur de 90 microm, ablation partiel du derme -Nbre de pulse augmente les lésions avec une profondeur d'ablation max à 140 microm pour 500mJ et 6 pulses. >6pulses n'augmentent pas la profondeur mais la largeur

<p><i>Effects of overlap and pass number in CO₂ laser skin resurfacing : A study of residual thermal damage, cell death, and wound healing</i> - E. Victor Ross</p>	1999	IN VIVO cochon	<p>-Laser CO₂ 40W (continuous wave)</p> <p>-Laser ultra-pulse 5000C</p>	<p>-P 16 W -diamètre= 400 microm - D 13 J/cm² -nbre de passages= 3, 4, 1+2, 1+3</p> <p>-Pulse energy 300 mJ, D=7,5 J/cm² -Density=3, 6, 9 -t=500-800 micros -diamètre 2,25 mm -répétition 200 Hz -nbre de passages= 3</p>		<p>(pas de débridement in vivo) -J0 J1 J5 J21 J42 biopsies -Histo formalin, paraffine, H&E. Coupe 0,5 mm - nitro-blue tetrazolium chloride (LDH activity-depth of tissue necrosis)</p>	<p>-Histo -Immuno</p>	<p>-plusieurs pulses à la suite augmentent le risque de lésions -tableau profondeur lésion pour chaque biopsie, coagulation, changement collagène, leucocytes, polymorphonucléaire, zone de fibroplasie.</p>
--	------	--------------------------	--	---	--	--	---------------------------	--

<p>Peau + brûlure non laser <i>Development of a high-throughput ex-vivo burn wound model using porcine skin, and its application to evaluate new approaches to control wound infection</i> -Diana R. Alves</p>	2018	IN VIVO Cochon	broches de laiton chauffées	<p>-100°C -60sec</p>	-2-	<p>-Différents traitements de la peau en lien avec étude infection -Histo nitrogen, coupe 8 microm, H& (1%)E</p>	<p>-Imagerie avec Environmental Scanning Electron Microscope (ESEM) directement de la peau sans fixation ni coloration -Histo pour confirmer le modèle de brûlure -analyse en lien avec le modèle d'infection</p>	<p>-brûlure 2- avec perturbation du stratum corneum, lésion de l'épiderme et du collagène. Lésions et fistules visibles (vs échantillon contrôle) -autres résultats en lien avec modèle infection</p>
<p><i>Development of an in vitro burn wound model</i> - Neeltje A. Coolen</p>	2008	IN VITRO Humain -peau abdominale	Fer à soudé	-95°C			<p>-Histo -Immuno -viabilité cellules avec MTT et RNA -LPS (pseudomonas aeruginosa)</p>	<p>-Re-épithélialisation -migration, prolifération des fibroblastes -membrane basale reformée (collagène IV, laminine) -leucoprotéinase, keratine 17 exprimés</p>

<i>Surgical wound debridement sequentially characterized in a porcine burn model with multispectral imaging</i> -Darlene R. King	2015	IN VIVO cochon	Tige d'aluminium	-100°C -variation du temps d'application 30s, 45s, 90s	-2- -2-/ + -2+	-J0 brûlure + biopsie -Histo 10% formalin, H&E	-imagerie -Histo	-température, temps d'exposition, taux de protéines dénaturées sont les facteurs déterminants des dommages par brûlures -2- après 30s de contact avec la tige d'aluminium, 2-/ + après 45s, 2+ à 90s
<i>Quantitative assessment of graded burn wounds in a porcine model using spatial frequency domain imaginf (SFDI) and laser speckle imaging (LSI)</i> -Adrien Ponticorvo	2014	IN VIVO cochon				image à 1, 24, 48 puis 72h post laser. -biopsie	-Evaluation par imagerie -Histo	
<i>Characterization of a new in vitro burn wound model</i> -P. Emanuelsson & G. Kratz	1997	IN VITRO Humaine -seins	Corde en laiton	-150°C -t=1s		-2ml Dulbecco's Modified Eagle's medium -incubation dans 2%, 10% de fetal calf serum et antibio (peni+strepto) -culture à 37°, 95% humidité 1-14j	-Histo	-Fibroblastes et keratinocytes viables après 2 semaines d'incubation dans 2% FCS -complète re epithélialisation après 7j dans 10% de FCS, rien avec 2% -Prolifération fibroblaste après 14j -> suggère granulation dans le derme

8. CLOTURE

— « En revanche, j'espère qu'on devient plus... *profond*?

— Je n'ai pas cette impression. D'ailleurs, – *profond* ?... J'ai grand'peur qu'il n'y ait de grandes illusions dans les tentatives que nous faisons pour nous creuser... Les uns croient pénétrer dans les couches primaires de leur existence... Ils y cherchent généralement des fossiles obscènes.

— Ils ne les chercheraient pas s'ils ne les avaient pas déjà trouvés.

— Bien entendu. Les autres imaginent qu'ils approchent ainsi de... *ce qu'ils sont*, au prix d'une contention et d'une sorte de... négation extérieure très pénible... Ils ne voient pas qu'ils ne font que s'infliger une déformation particulière... Ils essaient d'accommoder la sensibilité de leur conscience à je ne sais quelle vision retournée, à des choses *en deçà*... En somme, il y a peut-être des profondeurs *accessibles*, (mais ce que l'on y trouve ne vaut guère la peine d'y descendre), et des profondeurs *insondables*... Si même on y pouvait se risquer et y apercevoir quelque chose, on ne comprendrait rien à ce qu'on y trouverait.

– Quant à moi, je suis simpliste. Si je m'observe, je trouve... qu'il y a des choses que l'on peut dire aux autres ; et d'autres, qu'on ne peut dire qu'à soi-même... et d'autres, qu'on ne peut même pas se dire à soi-même. Il y a quelques saletés, évidentes, – et d'ailleurs universelles... Cela n'a donc pas un immense intérêt. Et il y a encore des choses., qui semblent puissantes, indistinctes...

— Tout à fait d'accord. Des choses qui ne ressemblent rien... J'entrevois ici la vie des viscères...

– Halte. Défense d'entrer. Danger de mort... Restons à la surface... A propos de surface, est-il exact que vous ayez dit ou écrit ceci : *Ce qu'il y a de plus profond dans l'homme, c'est la peau ?*

– C'est vrai.

– Qu'entendiez-vous par là ?

— C'est simplissime... Un jour, agacé que j'étais par ces mots de *profond* et de *profondeur*...

– Que nous venons d'employer à notre aise... Ecoutez : je constate que vous manifestez une sensibilité exagérée à l'endroit des mots. Vous vous cabrez à chaque instant. Ce sont des expédients, que diable !...La vie n'a pas le temps d'attendre la rigueur. On se débrouille. Napoléon disait qu'à la guerre, on s'engage de partout, et puis l'on voit...

– Oh ! Sur la guerre, il en a dit de toutes les couleurs... D'ailleurs, tous ceux qui ont pratiqué quelque chose, quand ils veulent exprimer ou transmettre leur expérience... Règle générale, ils émettent les préceptes les plus contradictoires... Vous en trouverez jusque dans l'Évangile...

– J'avoue qu'en médecine même...

— Même dans Hippocrate... Essayez de combiner *Principiis obsta*, avec : *Quieta non movere*...

– On fait ce qu'on peut. Mais j'en reviens à vous. Vous butez à chaque mot... On ne peut pas parler tranquillement avec vous. On verse à chaque instant. Vous arrivez à ne plus pouvoir causer avec vous-même. Comment diable pouvez-vous parvenir à former la moindre pensée, dans ces conditions ? Je me le demande !

— Mon cher docteur, j'aime mieux n'arriver à rien consciemment, que de n'arriver à rien...sans m'en douter... Donc, j'étais agacé. *Profond* et *profondeur* m'exaspéraient.

— Je parie que vous aviez lu quelque article sur Pascal.

— Je ne tiens pas ce pari. Pas plus que celui de Pascal...

– Et alors ?

– Alors ?... Il m'est souvenu de ce qu'on trouve dans les livres de médecine au sujet du développement de l'embryon. Un beau jour, il se fait un repli, un sillon dans l'enveloppe externe...

— L'ectoderme. Et cela se ferme...

– Hélas !... Tout notre malheur vient de là... *Chorda dorsalis* ! Et puis, moelle, cerveau, tout ce qu'il faut pour sentir, pâtre, penser..., *être profond* : Tout vient de là...

— Et alors ?

— Eh bien, ce sont des inventions de la peau !... Nous avons beau creuser, docteur, nous sommes...ectoderme.

– Oui, mais... il y a des prolongements.

— Nous poussons jusque dans les viscères... Mais, de ce côté, nous n'avons pas d'appareils très perfectionnés. Rien qui ressemble aux combinaisons de mécanismes, à l'étalement de sensations qui se trouvent dans l'oreille et dans l'oeil. Tout est grossier. Brutal. Cela ne sait guère dire que:

Bon, ou mauvais.

– Généralement : mauvais.

– Mais rien de plus puissant, n'est-ce pas ?... Il y a là quelques gros tyrans qui agissent sans s'expliquer... La vie serait supportable sans les viscères

– Vous voulez me réduire à la mendicité !

— Bref, la poussée de la sensibilité est fort inégale, ses moyens bien différents selon qu'elle s'épanouit vers...l'extérieur, ou qu'elle plonge dans les masses...

— Laborieuses ! Je suis sûr que vous digérez capricieusement, et que nous avons le foie un peu gros...

– Je n'en doute pas. Et c'est pourquoi je complète ma formule : *Ce qu'il y a de plus profond dans l'homme, c'est la peau, – en tant qu'il se connaît. (...)*

Paul Valéry

L'Idée fixe. La pléiade, Œuvres II, p. 215,216.