



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :

**Asma MAMMAR**

Le : [Click here to enter a date.](#)

## L'effet du plasma riche en plaquettes dans la thérapie régénérative

---

### Jury :

Mme.	Hafida BELKHARCHOUCHE	M.C.B	Université de Biskra	Président
M.	Abdelouahab DEHIMAT	M.A.A	Université de Biskra	Rapporteur
M.	Ahmed ATHEMENA	M.C.B	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

## **Remerciements**

*Louange à ALLAH tout puissant, qui m'a donné la force et patience d'accomplir ce Modest travail et m'a permis de voir ce jour tant attendu.*

***A monsieur le promoteur DEHIMAT Abdelouahab***

*Je tiens à vous remercier d'avoir accepté d'être le promoteur de ce travail, d'une part, pour la confiance qu'vous m'a accordée dès mon propose ce sujet de mémoire.*

*Je vous remercie de votre disponibilité, votre gentillesse, votre écoute et vos conseils ainsi que le temps que vous avez accepté de me consacrer pour m'aiguiller afin d'améliorer ce travail.*

*Veillez trouver, par la réalisation de ce travail l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma profonde estime.*

***Aux membres de jury***

*Vous nous avez accordé un grand honneur en acceptant de juger ce travail.*

***A monsieur le professeur BENNOUNE Omar***

***De l'institut des sciences vétérinaires et agronomiques de Batna I.***

*Je vous remercie d'avoir dirigé et supervisé l'ensemble de ce travail et surtout pour m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire.*

*Je vous suis par ailleurs particulièrement reconnaissante vos conseils avisés sans lesquels je n'aurai pas obtenu ce résultat.*

*Veillez trouver dans ce travail le témoignage de mes plus vifs remerciements.*

***A monsieur le professeur AISSI Adel***

***De l'institut des sciences vétérinaires et agronomiques de Batna I.***

*Je vous remercie pour l'accueil que vous m'avez donné au sein de votre Service de chirurgie et d'imagerie vétérinaire.*

***A l'étudiant doctoral en chirurgie vétérinaire CHOUCHEANE Mohamed Nadjibe de l'institut des sciences vétérinaires et agronomiques de Batna I.***

*Je vous remercie très sincèrement d'avoir accepté de m'aider dans mon travail et surtout du côté chirurgical, j'ai eu la chance et le privilège de travailler sous votre direction, de profiter de vos compétences professionnelles incontestables.*

*Puissiez trouver ici l'expression de mes sentiments les plus respectueux et de ma profonde reconnaissance.*

***A madame Naïma***

*Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide, ainsi que vos qualités professionnelles ne peuvent que susciter ma grande estime et profond respect.*

## Dédicace

*A mes très chers parents*

*A la personne qui m'a donné la vie et qui depuis n'a jamais cessé de donner sans compter et sans rien demander en retour, a la meilleure, la plus forte et la plus merveilleuse de toutes les mères.*

*A mon très cher père tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par ta droiture, ta persévérance et ta rigueur, Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.*

*J'espère que votre fille a pu réaliser un de vos rêves, que sa réussite est la vôtre et que vous êtes fiers d'elle.*

*Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et tous de vos efforts.*

*Dieu le tout puissant vous préserve, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal.*

*A mes très chers frères Anesse, Abd Elmounaim, A le plus doux Haïthème.*

*A mes sœurs Ikram, Roufaïda et leurs maris, A ma charmante sœur Hala.*

*A mes petites perles Saja Et Siradje.*

*En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleures les plus agréables moments. Puisse ce travail être pour vous source de fierté et un témoignage de mon attachement et de mon amour.*

*A tous mes oncles et mes tantes a tous mes cousins et cousines. A mon grand-père Que ALLAH vous garde en bonne santé, a la mémoire de mon grand-père et mes grand-mères, Que ALLAH, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

*A mes chères amies et confrères*

*A ma formidable copine ma belle Yasmine . à Maïssa ,Basma ,Yossra ,Hassina Chaïma, Amîna, Imene, Manal, Rayane, Houda Sihem, Dhaouïa, Souheïla , Ilhème et Zina, aux vétérinaires Imane et Asma et Algayaet Mimi, à ma grande sœur Fatene un grand merci pour votre soutien moral, vos encouragements.*

*A Tous Ceux Dont L'oubli De La Plume N'est Pas Celui Du Cœur*

# Sommaire

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction.....	1

## Synthèse Bibliographique

### Chapitre 1 :Plasma riche En plaquettes

1.1. Définition .....	3
1.2. Rappel biologique .....	3
1.2.1. Sang.....	3
1.2.2. Plasma .....	3
1.2. 3. Plaquettes sanguines .....	4
1.2.3.1. Morphologie des plaquettes.....	4
1.2.3.2. Développement des plaquettes .....	5
1.2.3.3. Structure des plaquettes.....	5
a)Membrane plasmique des plaquettes.....	5
b) Cytosquelette des plaquettes .....	6
c) Organites des plaquettes .....	6
1.3. Historique du PRP .....	7
1.3.1. Colles de fibrine.....	7
1.3.2. PRP, découverte et développement .....	9
1.4. Propriétés biologiques du plasma riche en plaquette.....	9
1.4.1. Principales propriétés du PRP .....	9
1.4.1.1. Effet anabolique .....	10
a) Facteurs de croissance .....	10
1.4.1.2. Effet anti-inflammatoire .....	11
1.4.1.3. Effet d'échafaudage « Biomatériaux ».....	12
1.4.2. Autre propriété du PRP .....	12
1.4.2.1. Activité anti bactériennes .....	12
1.5. Classification des concentrés plaquettaires .....	13
1.6. Caractéristiques du PRP.....	15
1.6.1. Concentration en plaquettes .....	15
1.6.2. Présence de globules rouges.....	15
1.6.3. Présence des leucocytes .....	15
1.6.4. Utilisation d'anticoagulant .....	15
1.6.5. Utilisation d'activateurs .....	16
1.7. Protocoles d'obtention du PRP.....	16
1.7.1 Centrifugation, principe et généralités .....	17
1.7.2. Technique d'aphérèse .....	18
1.7.3. Protocoles double centrifugation .....	18
1.7.4. Protocoles à centrifugation unique .....	20
1.7.5. Protocole sans centrifugation .....	20
1.8. Applications cliniques du PRP .....	21
1.8.1. Chirurgie cardiaque.....	21
1.8.2. Orthopédie et médecine de sport .....	21

1.8.3. Chirurgie plastique.....	22
1.8.4. Autres domaines d'applications.....	22

## **Chapitre 2 :Cicatrisation des plaies cutanées**

2.1. Structure de la peau .....	23
2.1.1. Epiderme .....	24
2.1.2. Derme.....	24
2.1.3. Hypoderme .....	24
2.1.4. Annexes cutanées.....	25
2.2. Fonctions de la peau .....	25
2.2.1. Thermorégulation .....	25
2.2.2. Réservoir de sang.....	25
2.2.3. Protection .....	25
2.2.3.1. Barrière mécanique .....	25
2.2.3.2. Barrière chimique : .....	25
2.2.3.3. Barrière biologique : .....	25
2.2.4. Sensation cutanées .....	26
2.2.5. Excrétion et l'absorption .....	26
2.3. Cicatrisation .....	26
2.3.1. Définition .....	26
2.3.2. Classification de la cicatrisation des plaies cutanées .....	26
2.3.2.1. Cicatrisation de première intention.....	26
2.3.2.2. Cicatrisation de deuxième intention.....	26
2.3.3. Différentes étapes de la cicatrisation .....	27
2.3.3.1. Hémostase .....	27
a) Hémostase primaire .....	27
b) Coagulation.....	28
c) Fibrinolyse .....	29
2.3.3.2. Phase détersion-inflammatoire .....	30
2.3.3.3. Phase de prolifération.....	30
a) Formation du tissu de granulation .....	30
b) Épithélialisation ou épidermisation.....	32
2.3.3.4. Phase de remodelage/maturation .....	32

### **Partie expérimentale**

## **Chapitre 3 :Matériel et Méthodes**

3.1. Matériel biologique.....	33
3.1.1. Animaux .....	33
3.1.2. Sang.....	33
3.2. Réactif .....	33
3.3. Matériel .....	34
3.3.1. Matériel du prélèvement de sang .....	34
3.3.2. Matériel de la centrifugation .....	34
3.3.3. Matériel et réactifs de la réalisation des frottis.....	35
3.3.4. Matériel d'observation .....	35
3.3.5. Matériel de l'opération chirurgical .....	36
3.3.5.1. Lieu des interventions .....	36
3.3.5.2. Matériel du rasage.....	36
3.3.5.3. Matériels de la réalisation des plaies cutanées .....	37
a)Produits anesthésiques .....	37
b) Instrument de la chirurgie.....	37

---

c) Instruments de suture.....	38
3.4. Méthodes utilisées .....	38
3.4.1. Prélèvements sanguins .....	38
3.4.2. Préparation du PRP (Plateltex®) .....	40
Deuxième centrifugation.....	40
3.4.3. Réalisation des frottis.....	41
3.4.4. Opérations chirurgicales.....	42
3.4.4.1. Préparation de l'opéré .....	42
3.4.4.2. Anesthésie des lapins .....	43
3.4.4.3. Réalisation des plaies .....	43
a) Plaies d'incision .....	44
b) Plaies d'excision.....	45
3.5. Traitements des plaies.....	46
3.6. Suivi de la cicatrisation.....	47
3.6.1. Prise de photographies .....	47
3.6.2. Paramétrage du logiciel de traitement d'image ImageJ® .....	47
3.6.3. Calcul du pourcentage de rétraction .....	48
3.6.4. Calcul de la période de réépithélialisation .....	48
 <b>Chapitre 4 : Résultats et discussion</b>	
4.1. Résultats.....	49
4.1.1. Choix d'animale .....	49
4.1.2. Choix d'utilisation d'anticoagulant .....	49
4.1.3. Choix de protocole de préparation du PRP.....	49
4.1.4. Volume du PRP récupéré .....	50
4.1.5. Résultat d'anesthésie.....	50
4.1.6. Suivi clinique : Les observations cliniques .....	50
4.1.7. Evaluation des aspects macroscopiques des plaies d'incision .....	51
4.8. Etude des plaies d'excision .....	52
4.8.1. Période de réépithélialisation .....	52
4.8.2. Evaluation des aspects macroscopiques.....	53
4.2. Discussion .....	57
Conclusion .....	60
Bibliographie.....	61
Annexe I : Kit Plateltex®prep.....	67
Annexe II : Etapes de suture.....	70
Résumé.....	71

## Liste des Tableaux

Tableau 1. Composition du plasma(Tortora et Derrickson, 2007) .....	4
Tableau 2. Principaux facteurs de croissance plaquettaires(Belayachi, 2019) .....	11
Tableau 3. Volume limite de prelevement sanguin et periodes de recuperation(« guide pratique d'administration et de prelevements sanguins » 2018) .....	39
Tableau 4. Protocole d'anesthésie(Flecknell, 2016) .....	43
Tableau 5. Durées moyennes de réépithélialisation complète des plaies .....	53

## Liste des Figures

Figure 1. Diagramme de la morphologie des plaquettes (Ciesla, 2007). .....	7
Figure 2. Principe de la colle de fibrine Tisseel du laboratoire Baxter® (Chere, 2016). .....	8
Figure 3. Principaux effets biologiques du PRP (Xie <i>et al.</i> , 2014). .....	10
Figure 4. Illustration schématique de l'architecture matricielle et cellulaire des quatre catégories de concentrés plaquettaires (Dohan <i>et al.</i> , 2009). .....	14
Figure 5. Séparation des constituants du sang (Dohan <i>et al.</i> , 2005). .....	17
Figure 6. Obtention du PRP selon la technique dite d'aphérèse (Dohan <i>et al.</i> , 2005). .....	18
Figure 7. Etapes de préparation du PRP (Dhurat and Sukesh, 2014). .....	19
Figure 8. Protocole sans centrifugation ATR du laboratoire Curasan® (2010) .....	20
Figure 9. Vue tridimensionnelle de la peau (Elaine, 2008). .....	23
Figure 10. Cascade de la coagulation (Nicole, 2014). .....	29
Figure 11. Etapes de la fibrinolyse (Nicole, 2014) .....	29
Figure 12. Matériel du prélèvement de sang .....	34
Figure 13. Centrifugeuse SIGMA 2K15 .....	34
Figure 14. Matériel du frotti. ....	35
Figure 15. Matériel d'observation .....	35
Figure 16. Bloc de la de chirurgie .....	36
Figure 17. Matériel du rasage .....	36
Figure 18. Produits anesthésiques .....	37
Figure 19. Instrument chirurgicale .....	37
Figure 20. Instruments de suture .....	38
Figure 21. Etapes de prélèvement sanguin .....	39
Figure 22. Sang total. ....	40
Figure 23. Diagramme de la préparation du plasma riche en plaquettes (PRP). .....	41
Figure 24. Etapes de frotti. ....	42
Figure 25. Rasage et désinfection de la peau .....	43
Figure 26. Traçage des contours des plaies. ....	44
Figure 27. Etapes d'incision de la peau. ....	44
Figure 28. Etapes de la suture .....	45
Figure 29. Etapes d'excision de la peau .....	46
Figure 30. Étapes permettant le calcul des surfaces des plaies .....	48
Figure 31. Evolution de la cicatrisation et aspect macroscopique des plaies d'incision. ....	52
Figure 32. Evolution de la cicatrisation et aspect macroscopique des plaies d'excision. ....	55
Figure 33. Variations du pourcentage de contraction de la surface des plaies .....	56
Figure 34. Kit Plateltex® prep <a href="http://www.plateltex.com/data/pdf/istruction_sheet_prep_2010.pdf">http://www.plateltex.com/data/pdf/istruction_sheet_prep_2010.pdf</a> .....	69
Figure 35. Mise en place du nœud au niveau de la peau (Sevestre, 1980) .....	70

## Liste des abréviations

ACD: Adénosine Citrate Dextrose.	PGE : Prostaglandine.
ACP:Autologous Conditioned Plasma.	PPP : Plasma Pauvre en Plaquettes.
ADP: Adenosine Di Phosphate.	PRF : Plasma Riche en Fibrine.
ATR: Advanced Tissue Regeneration.	PRGF :Plasma Riche En Facteur De Croissance.
CFU-Meg: Colony-Forming Units mégacaryocytes	PRP : plasma riche en plaquettes.
CMT : Concentré De Médiateurs De Thrombocytes.	P-PRF : PRF sans leucocytes.
COX-1 et -2 : Cyclooxygénases 1 et 2	P-PRP : PRP pauvre en leucocyte.
CTAD : Citrate-Théophylline-Adénosine-Dipyramidole.	RCF:Force Centrifuge Relative .
CPD: Citrate-phosphate-dextrose.	RPM:Rotations Par Minute.
c-PRP:Concentrated Platelet Rich Plasma.	SARM : <i>Staphylococcus aureus</i>
CSF : Facteurs de stimulation des colonies.	TGF: Transforming Growth Factor.
DTS : Système Tubulaire Dense .	TGF: Facteur de croissance transformant.
EDTA : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid.	TGF- $\beta$ : Facteur de croissance transformant- $\beta$ .
FGF:Fibroblast Growth Factor.	TNF: Facteur de nécrose tumorale.
GP : Glycoprotéines.	TNF- $\alpha$ : Facteur de nécrose tumorale- $\alpha$ .
GPII b III a : glycoprotéineII betaIII alpha	t-PRP: PRP à température contrôlée.
HGF: Hépatocyte Growth Factor.	VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor.
IGF: Insulin-like Growth Factor.	WF:FactorWillebrand.
IL: Interleukine.	
L-PRF : PRF contenant des leucocytes.	
L-PRP : PRP contenant des leucocytes.	
MGG:May Grunwald et Geimsa.	
NCBI: National Center for Biotechnology Information	
NO : Monoxyde d'azote.	
OCS : Système Canaliculaire Ouvert.	
PDGF: Platelet Derived Growth Factor.	

# **Introduction**

## Introduction

Le plasma riche en plaquettes (PRP) est un produit autologue qui concentre un grand nombre des plaquettes dans un petit volume de plasma , le PRP a été médiatisé de façon planétaire par **Kim Kardashian** et d'autres célébrités selon le nom de "Vampire Lift" , sa popularité initiale est née de son efficacité prometteuse sûre et naturelle à la chirurgie, les partisans du PRP ont promu la procédure comme une thérapie à base organique qui a permis la guérison grâce à l'utilisation de ses propres facteurs de croissance naturels(Harmonet *al.*, 2013 ; Berrada El Azizi,2017).

A la base, les concentrés plaquettaires sont des produits dérivés du sang utilisés dans la prévention et le traitement des hémorragies, notamment dans le cas des thrombopénies , des aplasies médullaires, des leucémies aigües...(Mercier, 2011).

Initialement, le premier dispositif ayant été décrit comme possédant des propriétés intéressantes sur la cicatrisation fut la colle de fibrine dans les années 70.L'idée est donc de comprendre comment de la colle de fibrine, la recherche est arrivée aux concentrés plaquettaires autologues à usage topique et notamment au Platelet Rich Plasma(Matras, 1998 ; Chere, 2016).

Ces concentrés des plaquettes semblent inclure dans leur composition, de nombreux éléments essentiels à la cicatrisation, principalement les facteurs de croissance (PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, IGF-1 et HGF) sont contenus dans les granules alpha des plaquettes, ils accélèrent la mitose, l'angiogénèse, la différenciation, l'inflammation et le renouvellement tissulaire afin de promouvoir sa réparation plus rapide et donc une amélioration de la cicatrice. Ces facteurs sont libérés lorsque les plaquettes sont activées(Mercier, 2011 ; Belayachi, 2019).

Maintenant il ya plus de 5200 entrées dans le National Center for Biotechnology Information (NCBI) pour PRP allant dans les domaines de l'orthopédie, médecine sportive, dentisterie, oto-rhino-laryngologie, neurochirurgie, ophtalmologie, urologie, cardiothoracique et maxillo-faciale,chirurgie esthétique, et la cicatrisation des plaies(Harmonet *al.*, 2013).

La cicatrisation des plaies est l'un des événements biologiques les plus complexes et dynamique, La connaissance de ces mécanismes, des acteurs et des besoins de la cicatrisation a permis d'appréhender par quels moyens le PRP y participe.

Notre étude opte pour but d'évaluer l'efficacité du PRP autologue par son application topique sur des plaies cutanées produites expérimentalement chez les lapins.

Notre recherche devise en deux grandes parties, commençant par la partie théorique, où on a cité dans la premier chapitre des généralités sur le PRP et son historique et ses propriétés biologique, sa classification, ses caractéristiques, aussi en y découvrant ses différents types de préparation, ses domaines d'application, ainsi que dans le deuxième chapitre , on a expliqué la structure de la peau et ses différentes fonctions vitales, et aussi on s'est intéressé à définir le phénomène de la cicatrisation, et à décrire ses classification, les principaux mécanismes de guérisons des plaies cutanées.

Dans la deuxième partie concernant l'expérimentation qui a comporté :

- Préparation du plasma riche en plaquettes selon le protocole de Plateltex®.
- Réalisation des plaies d'incision de première intention et des plaies d'excision de deuxième intention.
- Les différentes plaies sont traitées par le PRP, mélange d'huiles de lentisque et huile de sésame, par un médicament cicatrisant le Madécassole, et les plaies témoins traités par un sérum physiologie Na Cl.
- Suivie de cicatrisation des plaies évaluées par un examen macroscopique dans le 3ème, 6ème, 21ème, 18<sup>ème</sup> et 24ème jour jusqu'à la guérison complète des plaies.

# **Synthèse Bibliographique**

# **Chapitre 1 :** **Plasma riche En** **plaquettes**

Le plasma riche en plaquettes est une notion récemment entendue mais encore méconnue pour une grande majorité.

Ce chapitre va donc nous permettre de nous « familiariser » avec ce concept, à travers une définition, quelques mots d'histoire, ses propriétés biologiques, ses caractéristiques, et ses classifications, en y découvrant ses différents types de préparation, ses domaines d'application.

### **1.1. Définition**

Le plasma riche en plaquettes c'est un volume de plasma autologue dont la concentration plaquettaire est supérieure à la valeur initiale, mais aussi et surtout, il semble inclure dans leur composition, des nombreux éléments essentiels à la cicatrisation, principalement les facteurs de croissance(Marx, 2001).

Puisque le PRP est un produit sanguin autologue, il ne présente aucun risque de transmission de maladie infectieuse(Smith et Campbell, 2007).

Le fait d'être préparé à partir du propre sang du patient lui-même justifie une seconde appellation, beaucoup moins connue et utilisée : celle d'ACP, Autologous Conditioned Plasma, le Plasma Autologue Conditionné(Chere, 2016), par ailleurs plusieurs appellations sont retrouvées : c PRP pour « concentrated platelet rich plasma »proposé par Dugrillon *et al.*(2002), le PRGF décrit par Anitua (2001) pour plasma riche en facteur de croissance,

Le PRP est obtenu habituellement par un processus de centrifugation de sang total autologue, et pour un PRP possédant des propriétés de stimulation, il doit contenir 1 000 000 plaquettes/ $\mu$ l dans un volume de 5 ml de plasma, le PRP doit être stérile et sans pyrogène et bien sûr les plaquettes doivent être viables non endommagées(Marx, 2001).

### **1.2. Rappel biologique**

#### **1.2.1. Sang**

Pour rappel, le sang total est une suspension de cellules et fragments de cellules (érythrocytes, leucocytes, thrombocytes) dans le plasma représentant 45% du volume total, L'ensemble est contenu dans les vaisseaux sanguins. Le volume total du sang d'un homme sain est de 5 à 6 litres, il constitue environ 8% de la masse corporelle(Elaine, 2008).

#### **1.2.2. Plasma**

le plasma c'est un liquide de couleur jaunâtre qui représente 55% du volume du sang, il contient environ 91,5% d'eau jouant un rôle de solvant, de milieu de transport et diffusion de 8,5% de solutés, la plupart de ces solutés sont des protéines plasmatiques (dont albumine, globuline, fibrinogène, transferrine...) et les autres solutés sont des électrolytes

(ions), des nutriments, des substances régulatrices telle que les enzymes et les hormones, ainsi que des gaz et des déchets cellulaires(Tortora et Derrickson, 2007) ; le tableau 1 récapitule les différents composants du plasma.

**Tableau 1.**Composition du plasma(Tortora et Derrickson, 2007).

Constituants	Description
Eau (91,5%)	Milieu de dissolution et suspension des composants du sang, absorbe, transporte et libère de la chaleur.
Protéine plasmatique (7.0%) -Albumine -Fibrinogènes -Globulines	Maintient la pression osmotique et pH sanguin.  -Assurent le transport de plusieurs hormones stéroïdes et acides gras. -Joue un rôle essentiel dans la coagulation du sang. -Transportent le fer, lipide et les vitamines liposolubles et les immunoglobulines.
Sels (électrolytes) Sodium, Potassium Calcium, Magnésium Chlorure, Bicarbonate	Maintient la pression osmotique et joue un rôle déterminant dans le fonctionnement cellulaire.
Substances transportées par le sang : Nutriments (glucose, acide gras, acides aminés, vitamines) Déchets du métabolisme (urée, acide urique) Gaz respiratoire (O <sub>2</sub> et CO <sub>2</sub> ) Hormones	

### 1.2.3. Plaquettes sanguines

Les plaquettes ont été reconnues en 1882 par Bizzozero comme une structure cellulaire différente des cellules rouges et blanches(Ciesla, 2007).

#### 1.2.3.1. Morphologie des plaquettes

Les thrombocytes contiennent un cytosquelette dense qui maintient leur forme discoïde à l'état normal et transforme les plaquettes en forme de sphère compacte avec de longs prolongements dendritiques facilitant leur adhérence après leur activation(Nguyen, 2013).Les thrombocytes sont de petites cellules anucléés de longueur 1 à 4 µm, ainsi qu'une épaisseur de

0,5µm. On retrouve normalement entre 150 et 400 thrombocytes par nanolitre de sang (Nicole, 2014) ne vivent que de 5à9 jours(Tortora et Derrickson, 2007).

### **1.2.3.2. Développement des plaquettes**

Les cellules sanguines dérivent d'une cellule souche commune, capable, par ses propriétés d'auto renouvellement et pluripotentialité, de générer de façon stable l'ensemble des cellules de sang, sous l'influence de facteurs locaux et humoraux, agissant sur des récepteurs membranaires, ces cellules souches s'engagent dans des processus de différenciation ou elles perdent leurs propriétés d'auto renouvellement et pluripotentialité.(Harald *et al.*,2006).

Les plaquettes, ou thrombocytes synthétisées dans la moelle osseuse et stimulées par l'hormone thrombopoïétine, elles sont développées à partir d'une cellule souche pluripotente qui a été influencée par des facteurs de stimulation des colonies (CSF) produits par des macrophages, des fibroblastes, des lymphocytes T et des cellules endothéliales stimulées. Donc, les cellules souches myéloïdes se transforment en cellules progénitrices (CFU-Meg) qui, à leur tour, deviennent des cellules précurseurs appelés mégacaryoblastes (10 à 15 µm) qui se transforment en mégacaryocytes sont les cellules mères des plaquettes, ces grandes cellules (80 à 150 µm) se trouvent dans la moelle osseuse. Les mégacaryocytes ne subissent pas une division cellulaire complète, mais subissent un processus appelé endomitose ou endoreduplication créant une cellule avec un noyau multilobé. Chaque mégacaryocytes énormes cellules qui éclatent en 2000 à 3000 fragments chaque fragment recouvert d'une portion de membrane cellulaire constitue un thrombocyte(Tortora et Derrickson, 2007).

Alors la thrombopoïétine stimule la maturation et la libération des plaquettes. Cette hormone est produite principalement par le rein et en partie par la rate et le foie. Il n'y a pas de réserve de plaquettes dans la moelle osseuse : 80% sont en circulation et 20% sont dans la pulpe rouge de la rate(Ciesla, 2007).

### **1.2.3.3. Structure des plaquettes**

#### **a)Membrane plasmique des plaquettes**

La membrane plasmique est semblable aux autres cellules, est constituée d'une bicouche lipidique caractérisée par des phospholipides riches en cholestérol libre et en lipides neutres, dans laquelle sont implantés de nombreux récepteurs, dont le plus important est celui de la thrombine, et, des glycoprotéines (GPIIb, IIIa, Ib) impliquées dans la fonction plaquettaire : les interactions cellules-cellules, la détection de molécules extra cytoplasmiques et la transduction des signaux (Mercier, 2011; Nguyen, 2013).

L'asymétriquement des phospholipides agencés, la phosphatidylcholine et la sphingomyéline sont majoritairement situées sur le feuillet externe, tandis que la phosphatidyléthanolamine, la phosphatidylsérine et le phosphatidylinositol sont majoritaires sur le feuillet interne, les charges négatives étant confinées essentiellement dans le feuillet interne maintiennent la stabilité de sa surface à l'état non pro-coagulant. Au cours de l'activation des plaquettes, les charges négatives migrent vers le feuillet externe sous l'action des floppases ATP-dépendante et scramblases, pour initier la cascade de coagulation.

Le feuillet externe présent de nombreuses invaginations ouvertes sur l'extérieur formant ainsi le système canaliculaire ouvert (OCS) Ce système permet l'endocytose de substances plasmatiques. Il permet aussi la libération du contenu des granules et représente une source de membranes utilisables lors de changement de forme des plaquettes tel que la formation de pseudopodes lors de l'activation plaquettaire et se trouve aussi le système tubulaire dense (DTS) non connecté à la surface, correspondant au réticulum endoplasmique qui séquestre le calcium ( $Ca^{2+}$ ) et les enzymes impliquées dans la synthèse des prostaglandines. Il apparaît que les deux systèmes membranaires OCS et DTS sont étroitement liés pour favoriser la libération du contenu des granules de sécrétions (Nguyen,2013 ; Daikh, 2019).

### **b) Cytosquelette des plaquettes**

Située en dessous de la membrane plasmique, la bande marginale circonférentielle composée de multiples microtubules est responsable de la forme discoïde des plaquettes au repos, L'actine aussi c'est un composant essentiel du cytosquelette plaquettaire, résulte de la polymérisation d'actine monomérique (actine G) en proto-filaments qui vont s'associer deux à deux pour former le filament d'actine ou actine F.

Le changement morphologique des plaquettes lors de leur activation est le résultat du désassemblage et d'assemblage des microtubules et d'actine (Hartwig, 2006).

### **c) Organites des plaquettes**

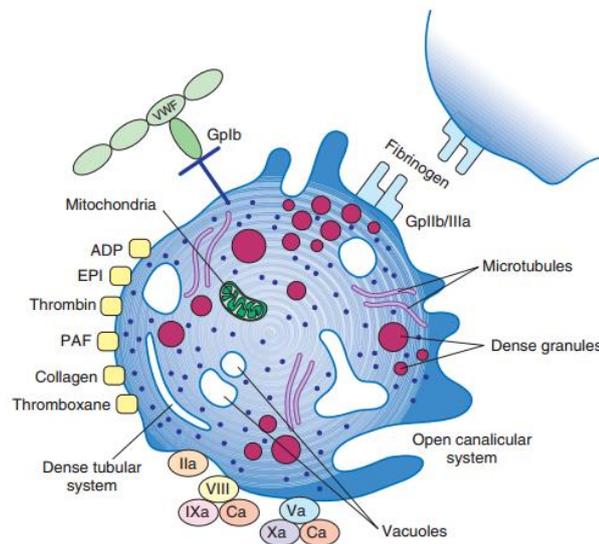
Le cytoplasme des plaquettes contient un grand nombre d'organites comme des mitochondries, les peroxysomes et des grains de glycogènes et de différents types de granules dont certains sont spécifiques aux plaquettes. Les granules  $\alpha$ , les granules denses et les lysosomes sont des organelles sécrétoires ; sont positionnées à proximité des OCS ; ainsi, lors de l'activation des plaquettes, elles fusionnent et sécrètent la plupart de leur contenu dans OCS (Figure 1).

**-Granules alpha** sont plus nombreux (20 à 200 par cellule) et de taille plus grande de 200 à 500 nm de longueur. Ils renferment diverses protéines d'adhésion, notamment le facteur

de Von Willebrand, mais aussi des facteurs de coagulation (fibrinogène), des facteurs de croissance (PDGF), des cytokines, inhibiteurs de la fibrinolyse, Mais également des protéines plasmatiques incorporées tels que l'albumine et des immunoglobulines.

-**Granules denses** : Sont reliées à la membrane et à la surface de la cellule, ils sont moins nombreux que les granules alpha (2 à 10 par cellule) et de petite taille, contiennent différentes substances nécessaires à l'hémostase : la sérotonine (provenant du plasma), l'histamine. L'exocytose de ces granules est dépendante du  $Ca^{2+}$  et observée lors de l'activation plaquettaire en particulier après la stimulation par le collagène ou l'ADP et favorise l'agrégation plaquettaire.

**Granules  $\lambda$**  ; qui correspondent aux lysosomes se sont des petits organites qui contiennent une grande variété d'enzymes de dégradation. (Hélène, 2009; Nguyen, 2013 ; Daikh, 2019)



**Figure 1.** Diagramme de la morphologie des plaquettes (Ciesla, 2007).

### 1.3. Historique du PRP

Avant l'arrivée du PRP, de nombreuses technologies innovantes ont vu le jour pour favorisant l'hémostase et améliorer la cicatrisation des tissus après une chirurgie, Parmi les nombreux protocoles développés, la colle de fibrine a joué un rôle prépondérant dans la découverte du PRP.

#### 1.3.1. Colles de fibrine

En 1909, Bergel reconnaît la fibrine comme substance capable de favoriser l'hémostase. Grey en 1915, puis Harvey, un an plus tard, utilisent la fibrine en application locale pour maîtriser les saignements (Mercier, 2011).

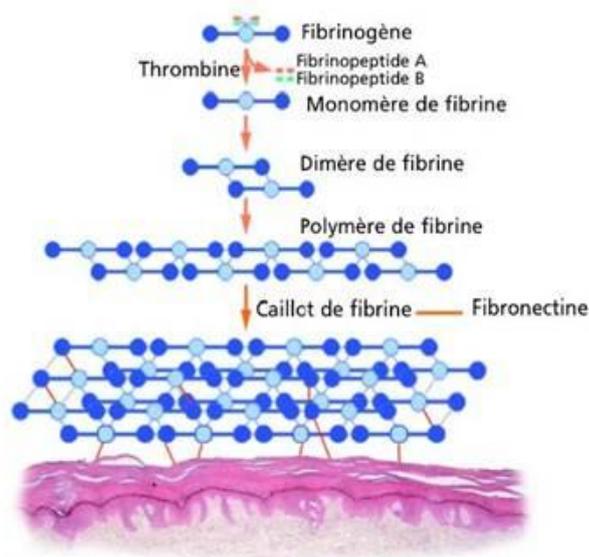
L'idée d'utiliser des substances de coagulation pour la gestion des plaies et l'hémostase remonte à l'époque de la Première Guerre mondiale (Matras, 1985).

Les premières expérimentations dans le domaine de la chirurgie nerveuse, apparaissent par Young et Medawar (1940) qui utilisent le concentré du plasma sanguin coagulé pour réunir les nerfs périphériques coupés chez les animaux. Des expériences analogues ont été menées par Tarlov *et al.* (1943).

Le développement de colle de fibrine remonte au début des années 1970 par Matras qui utilise les colles de fibrine cryoprécipitées pour sceller une plaie. Elles sont composées de fibrinogène polymérisant sous l'action de thrombine et de calcium. Ces premières colles sont obtenues à partir de plasma collecté dans les banques du sang; cependant, à cause de l'instabilité, liée à une faible concentration en fibrinogène et le risque de transmission virale (VIH, hépatite C, autres agents pathogènes) du fait de l'origine des produits conduisent à leur interdiction aux Etats-Unis en 1978 (Chere, 2016).

Plus récemment, des produits de scellement à base de fibrine, tels que le Tisseel® (laboratoire de Baxter Healthcare Corp.), ont été mis sur le marché (Figure 2). Ces produits sont thermotraités, ce qui réduit énormément, mais pas totalement, le risque de transmission de maladies infectieuses.

Quant aux colles de fibrine autologues, bien qu'elles fussent reconnues comme d'excellents agents hémostatiques leur utilisation restera limitée par la complexité des protocoles et le coût de production élevé (Dohan *et al.*, 2005).



Polymérisation du fibrinogène à la fibrine

**Figure 2.** Principe de la colle de fibrine Tisseel du laboratoire Baxter® (Chere, 2016).

### 1.3.2. PRP, découverte et développement

Rappelons-le, l'interdiction d'utilisation de la colle de fibrine aux USA, va être un véritable tremplin dans la découverte et le développement du PRP. Ainsi, dans l'objectif de pallier le risque de transmission de pathologies, les différentes recherches vont se tourner vers l'élaboration d'un produit autologue.

En 1994, Tayapongsak et al. Introduit la nouvelle idée, le AFA, Autologous Fibrin Adhesive. Son objectif est de produire un concentré en fibrinogène afin de maintenir ses greffes. Sans le vouloir il isole principalement un concentré de plaquettes. La procédure reste malheureusement complexe, le sang est prélevé 2 à 3 semaines avant l'intervention et nécessite deux jours de manipulation. Ce sont les prémices de la technologie des concentrés plaquettaires (Marx *et al.*, 1998; Dohan *et al.*, 2005).

En 1997, Whitman suggère la possibilité de récupérer les cytokines et les facteurs de croissance par centrifugation du sang total pour améliorer la cicatrisation lors des chirurgies de reconstruction maxillo-faciale, Whitman et son équipe décrivent une technique de préparation de PRP Il prélève le sang du patient en présence d'anticoagulant dans les tubes, puis centrifugé deux fois juste avant l'acte chirurgical. Cette technique autologue écarte le risque de transmission virale et conduit à l'obtention du cPRP (Mercier, 2011 ; Terdjman, 2017).

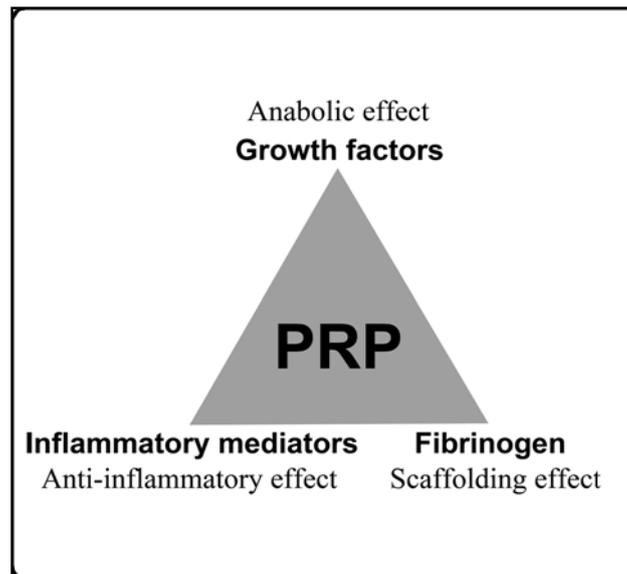
La popularité du PRP s'est agrandie au fur et à mesure que les médecins ont remarqué Des résultats encourageants ont été publiés par un certain nombre de chercheurs, et plusieurs champs d'application, ont été envisagés par des équipes de recherches telles que la chirurgie cardiaque, la chirurgie dentaire, la chirurgie pédiatrique, gynécologie, urologie, ophtalmologie et chirurgie plastique (Daikh, 2019).

## 1.4. Propriétés biologiques du plasma riche en plaquette

Les concentrés plaquettaires sont «des produits sanguins faisant fonction de médicament dans certaines pathologies graves » comme a été définie par Dohan *et al.* (2005).

### 1.4.1. Principales propriétés du PRP

Le plasma riche en plaquette contient des facteurs de croissance qui stimulent l'anabolisme cellulaire, médiateurs et modulateurs inflammatoires qui exercent un effet anti-inflammatoire et le fibrinogène qui agit comme un échafaudage de biomatériaux, En effet, Xie *et al.* (2014), ont simplifiés toutes ces propriétés, par le schéma suivant (Figure 3).



**Figure 3.** Principaux effets biologiques du PRP (Xie *et al.*, 2014)

#### 1.4.1.1. Effet anabolique

Le PRP exerce l'effets anabolique et capacité d'induire la différenciation cellulaires via la dégranulation des granules alpha des plaquettes contenant des facteurs de croissance à une augmentation de trois à cinq fois la concentration aux taux sanguins initiaux, dont des propriétés varient considérablement sont présentées dans Tableau 2 (Smith et Campbell, 2007).

##### a) Facteurs de croissance

S'il est toujours question, dans les publications associées aux concentrés plaquettaires, de facteurs de croissance, il convient d'en éclaircir la définition et les fonctions. Les facteurs de croissance ou les cytokines plaquettaires sont des protéines de petite taille capables de transmettre des messages pro-prolifératifs ou pro-différenciant, de cellules en cellules par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques, Ces messages peuvent s'organiser sous la forme de cascades d'induction entre diverses cellules. Leur mode d'action est autocrine, paracrine et rarement endocrine (Dohan *et al.*, 2005) se fait juste après l'activation plaquettaire, les granules  $\alpha$  fusionnent avec la membrane plasmique plaquettaire, ces protéines bioactives sont sécrétées puis se lient à des récepteurs transmembranaires de cellules cibles (cellules souches mésenchymateuses, ostéoblastes, fibroblastes, cellules endothéliales, cellules épidermales) (Eppley *et al.*, 2006).

Les plaquettes sécrètent activement leur protéine dans les dix minutes qui suivent la coagulation. Plus de 95% des facteurs de croissance sont libérés dans 1 h. (Smith et Campbell, 2007).

Une fois liées aux récepteurs spécifiques (tyrosine kinase ou sérine thréonine kinase), les protéines de signalisation cellulaires sont activées. Ceci mène à l'expression de gènes qui contrôlent et régulent la migration, le chimiotactisme et accélèrent la mitose, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'angiogénèse, l'inflammation et le renouvellement tissulaire afin de promouvoir sa réparation plus rapide et donc une amélioration de la cicatrice (tableau 2)(Berrada El Azizi, 2017).

**Tableau 2.** Principaux facteurs de croissance plaquettaires(Belayachi, 2019).

Facteur	Tissus/cellules cibles	Fonction
PDGF-AB (PlateletDerived Growth Factor)	Fibroblastes, chondrocytes, ostéoblastes, myocytes	Croissance cellulaire, recrutement, différenciation, sécrétion de cytokines
TGF(Transfomig Growth Factor)	Endothélium, fibroblastes, monocytes, ostéoblastes	Synthèse de collagène, régulation de la croissance cellulaire et apoptose,différenciation, chimiotactisme
IGF(Insulin-like GrowthFactor)	Os, endothélium, kératocytes, Fibroblastes	Croissance cellulaire, différenciation , recrutement, synthèse de collagène, migration cellulaire, néoangiogénèse
FGF (Fibroblast GrowthFactor)	Endothélium, myocytes, fibroblastes	Croissance cellulaire
VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	Endothélium	Croissance cellulaire, migration, néoangiogénèse.

#### 1.4.1.2. Effet anti-inflammatoire

Les thrombocytes du PRP pouvant être également une source importante des médiateurs et des modulateurs inflammatoires, une étude menée par Amable et son équipe(2013), permet la quantification de certains facteurs de croissance et cytokines contenue dans le PRP , on constate qu'une forte concentration de facteurs de croissance et cytokines pro- et anti-inflammatoires est sécrétée par le PRP activé. Ces concentrations sont, pour la plupart, supérieures à celles présentes dans le sang non centrifugé.

Pour but d'évaluer l'effet anti-inflammatoire du PRP à travers la libération d'HGF (hepatocyte growth factor )Zhang *et al.*(2013) effectuent une expérience *in vitro* sur des cellules de tendon de lapin et une expérience *in vivo* sur un modèle de souris présentant une lésion au tendon d'Achille. Lorsque les tissus sont blessés, le processus de guérison passe par la phase inflammatoire. Pendant cette phase, les médiateurs inflammatoires tels que l'IL-1 sont produits, et engendrent une surexpression des cyclooxygénases 1 et 2 (COX-1 et -2) et de

la prostaglandine synthétase (PGE2 synthétase): trois enzymes impliquées dans la production de prostaglandines (PGE2) par les cellules tissulaires provoquant une vasodilatation et une hyperalgie. Ainsi, ces expériences vont permettre d'évaluer l'expression des COX-1 et -2 et de PGE2 synthétase, et de quantifier la production de PGE2 en fonction de la présence de PRP ou d'HGF. Les résultats obtenus dans cette étude montrent l'expression de COX-1 et -2 a largement chuté trois jours après l'injection de PRP ou d'HGF. Alors cette étude fournit donc des preuves scientifiques sur le caractère anti-inflammatoire du PRP, pouvant réduire les douleurs liées à une lésion.

#### **1.4.1.3. Effet d'échafaudage « Biomatériaux »**

Le PRP possède une variété de protéines plasmatiques, le fibrinogène et d'autres facteurs de coagulation, qui peuvent être activés pour former un échafaudage de fibrine provisoire permettant aux cellules d'adhérer, de migrer et de proliférer. En outre au sein de cette matrice les plaquettes s'agrègent le long de ces fibres pendant la coagulation, l'échafaudage tridimensionnel qui en résulte peut également agir comme un réservoir de facteurs de croissance qui exercent des effets favorables sur les cellules. Les avantages cliniques de la matrice de fibrine PRP sont bien connus dans la chirurgie maxillo-faciale, comme le cartilage articulaire ne contient aucun vaisseau sanguin et est donc incapable d'initier le même processus de cicatrisation que les autres tissus ayant un bon potentiel de régénération, l'introduction de l'échafaudage PRP peut limiter l'étape initiale de cicatrisation et de réparation tissulaire (Xie *et al.*, 2014).

#### **1.4.2. Autre propriété du PRP**

##### **1.4.2.1. Activité anti bactériennes**

La présence d'un grand nombre des plaquettes, des concentrations des leucocytes (qui peuvent posséder des actions de défense contre les bactéries et les champignons) et de multiples peptides antimicrobiens offre aux concentrés plaquettaires, des propriétés anti-infectieuses, par l'intermédiaire des médiateurs qu'ils sécrètent (Tang *et al.*, 2002 ; Hongshuai et Bingyun, 2013).

En 2007, Bielecki *et al.* ont analysé les effets potentiels du PRP, sur différentes souches bactériennes dont:

- *Staphylococcus aureus* (SARM) résistant aux méthicillins.
- *Staphylococcus aureus* sensible aux méthicillines.
- *Escherichia coli* productrice de bêta lactamase à spectre étendu.
- *Escherichia coli*.

- *Klebsiella pneumoniae*.
- *Enterococcus faecalis*.
- *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces bactéries ont été mises en culture sur boîte de pétri, puis des disques de 6mm de PRP ont été déposés. Là où le PRP est actif, les germes ne se développent pas.

Après 16 à 18h d'incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées.

Le PRP a significativement inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus* et était également actif contre *Escherichia coli*. Il n'y a eu aucune activité contre *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

En 2013, Hongshuai et Bingyun ont étudié une nouvelle stratégie dans la prévention des infections associées à l'implant basée sur les propriétés antimicrobiennes potentielles du PRP. En raison de ses propriétés bien étudiées pour favoriser la guérison.

Des résultats antimicrobiens cohérents et constaté que le PRP possède de fortes propriétés antimicrobiennes *in vitro* contre des souches bactériennes cliniques qui sont couramment trouvées dans les infections orthopédiques telles que *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline et résistant à la méthicilline, *Streptococcus* du groupe A et *Neisseria gonorrhoea*.

Une autre étude *in vivo* menée par Farghali *et al.*(2019) a confirmé l'hypothèse de l'activité antimicrobienne du PRP contre les plaies cutanées infectées par le SARM.

Les SARM a été injectée localement dans des plaies cutanées ont été créées sur Six chiens, le traitement a commencé à la première semaine après l'infection par infiltration sous-cutanée du PRP autologue activé, En conclusion, le PRP activé présente une activité antimicrobienne contre l'infection à SARM, qui a amélioré la réépithélisation de la cicatrisation des plaies infectées et la formation des tissus de granulation.

### **1.5. Classification des concentrés plaquettaires**

En 2009, Dohan *et al.* a proposé une classification de 4 familles principales de préparations selon 2 paramètres principaux: la présence ou l'absence d'un contenu cellulaire (comme les leucocytes) et l'architecture de la fibrine dans chaque catégorie, le concentré peut être produits par différents méthodes (Figure 4) :

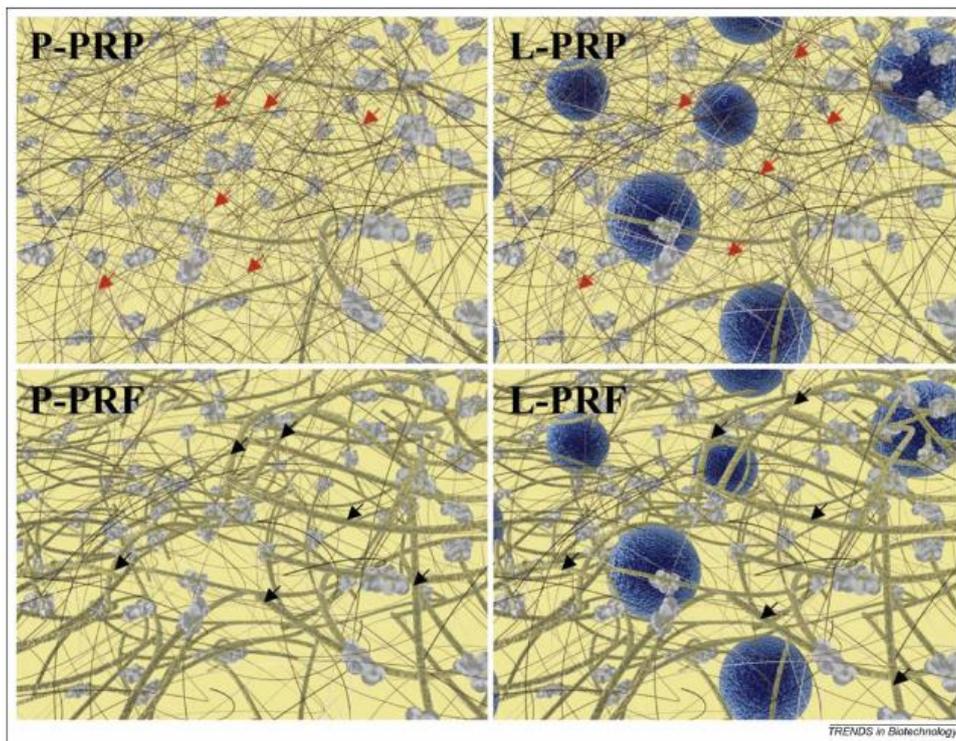
Le PRP pur ou PRP pauvre en leucocytes (P-PRP): la préparation est obtenue sans leucocytes et présente un réseau de fibrine basse densité après activation. Il produit par des protocoles automatisés telle que la plasmaphérèse avec un séparateur de cellules, et des protocoles manuels comme le PRGF d'Anitua.

Leucocytes et PRP(L-PRP), les préparations contiennent des leucocytes et présentent un réseau de fibrine basse densité. Cette famille de PRP qui est la plus répandue dans les formes commerciales actuelles :Curasan, Regen, **Plateltex**, comme protocoles manuels de préparation du L-PRP, Le PCCS(Platelet Concentrate Collection System), le Magellan comme protocoles automatisés.

PRF pur ou PRF pauvre en leucocytes (P-PRF), gel de PRF sans leucocytes avec un réseau de fibrine à haute densité, ces produits ne peuvent pas être injectés. Peut produire par le kit : Fibrinet PRF.

Fibrine riche en leucocytes (L-PRF), gel de PRF de seconde génération contenant des leucocytes avec un réseau de fibrine à haute densité (protocole de Choukroun's PRF).

Les deux premiers sont des PRP, les deux derniers sont des PRF.



**Figure 4.** Illustration schématique de l'architecture matricielle et cellulaire des quatre catégories de concentrés plaquettaires (Dohan *et al.*, 2009)

Deux paramètres clés sont importants: la teneur en leucocytes (bleu cercles) et la densité de la fibrine (fibres jaunes / brun clair). Les agrégats plaquettaires (formes gris clair) sont toujours assemblés sur les fibres de fibrine.

En P-PRP et L-PRP typiques préparations (panneaux supérieurs), le réseau de fibrine est immature et se compose principalement de fibrilles de petit diamètre (flèches rouges) dues à une simple polymérisation des fibres. Dans les préparations P-PRF et L-PRF (panneaux inférieurs), les fibres de fibrine sont épaisses (noires flèches) en raison de l'assemblage de plusieurs fibres et constituent une matrice résistante qui peut être considérée comme un biomatériau de fibrine.

## **1.6. Caractéristiques du PRP**

### **1.6.1. Concentration en plaquettes**

En 2001, Marx déclare qu'une concentration inférieure à  $1000 \times 10^9$  plaquettes/L de sang ne serait pas fiable pour améliorer la cicatrisation.

Ce même Marx, en(2004) annonce, cette fois ci, qu'un PRP doit avoir une concentration en plaquettes de  $200,000 \pm 75,000/\mu\text{l}$ , à 1 million des plaquettes/ $\mu\text{l}$  de celle du sang entier afin d'être considéré comme un « PRP thérapeutique ».

Or, Sanchez, lors d'une conférence sur le PRP en 2012, affirmait ceci :

- [plaquettes] x 4-5 : mauvaise réponse
- [plaquettes] x 2 : bonne réponse
- En dessous : pas d'effets
- Au dessus : risque d'effets indésirables

### **1.6.2. Présence de globules rouges**

Selon ,Scott *et al.*(2004), la présence des radicaux libres libérés lors la lyse de globules rouges présente dans la composition du PRP aurait un effet délétère sur la réparation tissulaire.

### **1.6.3. Présence des leucocytes**

Ce paramètre reste un point de discussion important aujourd'hui lors de la préparation du PRP: « Le PRP doit-il contenir des leucocytes ? ».

En effet, plusieurs études ont été publiées dans ce contexte, il y a actuellement un désaccord dans la littérature sur la présence des cellules de la lignée blanche dans le PRP

Certains groupes ont donc préconisé que la présence de leucocytes peut être négative pour le résultat thérapeutique, en raison d'un risque de stimulation du processus inflammatoire après injection au niveau du site blessé.

D'autres n'ont trouvé aucunes raisons valables de les annuler, leur présence pouvant augmenter la libération de facteurs de croissance, de médiateurs anti-douleurs et l'activité anti-infectieuse naturelle(Chere, 2016).

### **1.6.4. Utilisation d'anticoagulant**

L'anticoagulant a pour but d'éviter la formation trop rapide du caillot de fibrine(l'activation et la dégranulation plaquettaires,), avant même de rendre le PRP utilisable(Dohan *et al.*, 2005).

### 1.6.5. Utilisation d'activateurs

L'étape de gélification n'est valable que pour la préparation d'un PRP sous forme gel correspond à l'étape de formation du caillot.

En fait, Le fibrinogène doit être transformé en fibrine qui polymérise et forme ainsi un réseau tridimensionnel adhésif(Dohan *et al.*, 2005).

Pour cela, avant son utilisation, le PRP doit être lentement activé en mettant au contact d'une source de calcium pour chélate l'anticoagulant et d'une enzyme capable de transformer le fibrinogène en fibrine polymérisée.

La source de calcium est, le plus souvent, apportée par du chlorure de calcium, et L'enzyme naturelle de conversion du fibrinogène est la thrombine. La plupart des protocoles trouvent cette source via la thrombine bovine.

De plus, la thrombine bovine est susceptible de déclencher une réaction immunitaire pouvant endommager les tissus.car il est ajoutée contienne des facteurs V. Ces facteurs de coagulation d'origine bovine stimulent le système immunitaire du patient qui développe alors des anticorps spécifiques, noté que, la législation française interdit toute manipulation des produits dérivés du sang(Terdjman, 2017).

D'autre part, PRP non activé sous forme liquide est utilisé, les plaquettes s'activent naturellement ou sont activées in vivo après injection au niveau du site lésé(Andia *et al.*, 2012).

Dans notre étude, pour pallier le problème de trombine aucun activateur n'a été utilisé. Les plaquettes contenues dans le PRP étaient activées in vivo après chaque injection au contact de la cicatrice.

Actuellement, les protocoles tendent vers l'utilisation de thrombine autologue ou bien des dérivés, le procédé **Plateltex®** utilise la batroxobine au lieu de la thrombine(Les plaquettes traitées avec cette enzyme ne deviennent pas activées, et la libération des facteurs de croissance se fait donc lentement)pour éviter les problèmes d'antigénécité (Berrada El Azizi,2017).

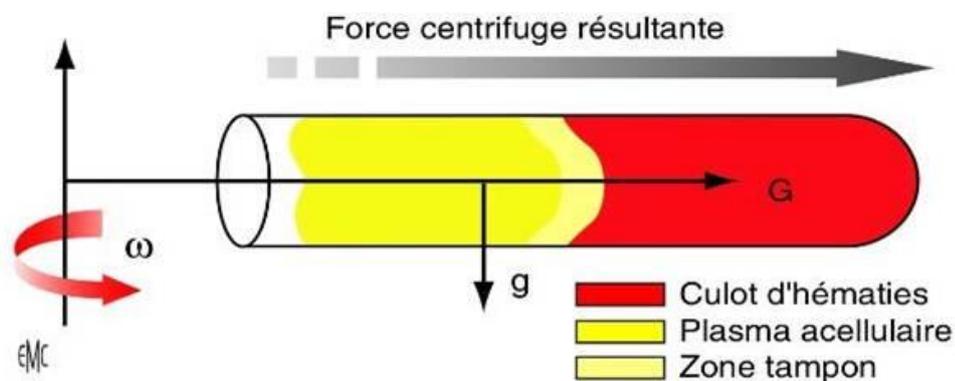
### 1.7. Protocoles d'obtention du PRP

Marx *et al.* (1998) ont déclaré qu'une technique à double centrifugation était nécessaire afin de concentrer les plaquettes du sang autologue.

### 1.7.1 Centrifugation, principe et généralités

C'est une méthode qui utilise la force centrifuge pour séparer les différentes particules en suspension dans une solution liquide. Une rotation très rapide est communiquée au liquide dans le tube.

En l'occurrence, dans le cas étudié, il s'agit du sang. Les particules de sang, de nature, de masse et de taille différentes, vont se déposer à des distances différentes du fond du tube et sont de ce fait séparées à la fin de l'opération. Pour ce faire, on communique à la solution contenue dans un tube (Figure 5).



**Figure 5.** Séparation des constituants du sang selon leur taille et leur masse (Dohan *et al.*, 2005).

Les plus gros et lourds se déposent au fond du tube (hématies) tandis que les éléments les plus légers restent proches de l'axe de rotation (fibrinogène, fibronectine et autres molécules plasmatiques...) (Dohan *et al.*, 2005).

Bien souvent dans la littérature Les protocoles de centrifugation sont, bien souvent, décrits en tours/minute. En effet, une vitesse de rotation seule ne reflète pas une force, car celle-ci dépend tout autant de la distance moyenne entre le tube et l'axe de rotation est un critère important. Ainsi, la force centrifuge relative (RCF) est fonction de la vitesse de rotation et de la distance entre l'axe du rotor et le tube à centrifugation (ou rayon de rotation), donc dépendante des données du fabricant (Berrada El Azizi, 2017).

**Formule de calcul de la force centrifuge relative (RCF) :**

$$RCF = 1,118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$$

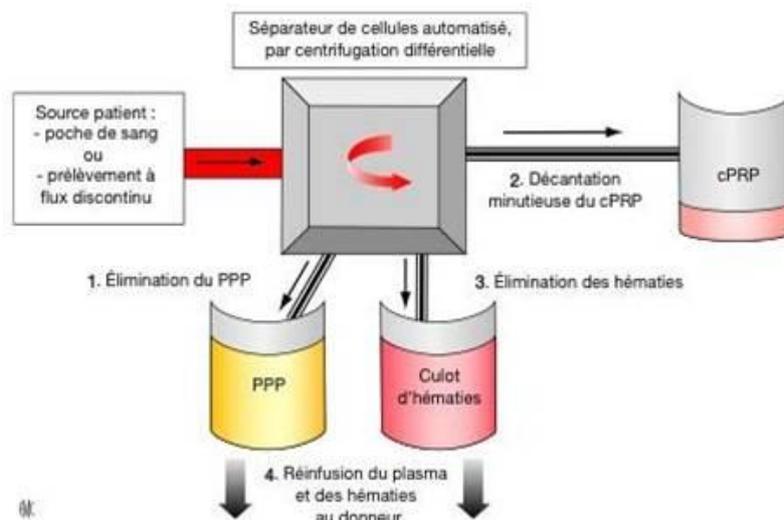
**RCF** est la force centrifuge relative (g)

**RPM** représente les rotations/min

**r** le rayon de rotation ou distance entre l'axe du rotor et un point considéré en cm (Mercier, 2011).

### 1.7.2. Technique d'aphérèse

Le concept général d'élaboration des concentrés plaquettaires autologues repose sur la technique d'aphérèse ou bien le Plasmaphérèse (Figure 6) Ce fut la première méthode développée pour obtenir des concentrés plaquettaires, Qu'elle soit faite à flux discontinu (c'est-à-dire que le patient reste connecté à la machine qui lui filtre le sang jusqu'à obtenir le nombre de plaquettes souhaité) ou à partir d'une poche de 500 ml de sang prélevé sous anticoagulant, le concept reste le même, Les éléments figurés du sang sont séparés par centrifugation (Une ultracentrifugation différentielle), les composés inutilisés étant rendus au patient, Cette méthode permet d'obtenir 30 à 40 ml de cPRP à partir de 450 ml de sang total. À flux discontinu, on peut même récolter jusqu'à 300 ml de cPRP, cette technologie lourde n'est réservée qu'aux laboratoires spécialisés (Dohan et al., 2005).



**Figure 6.** Obtention du PRP selon la technique dite d'aphérèse (Dohan *et al.*, 2005).

Puis, le développement de techniques plus simplifiées, commercialisées sous forme de kit et utilisant la centrifugation, a rendu possible la préparation et l'usage du PRP en pratique courante.

### 1.7.3. Protocoles double centrifugation

Le sang veineux est prélevé sous anticoagulant évitant ainsi l'activation et la dégranulation du contenu des plaquettes (Figure 7).

Une première centrifugation, ou *soft spin*, sépare le sang en trois :

Le fond du tube est constitué d'hématies et de leucocytes.

- En surface il s'agit du plasma acellulaire, nommé PPP (plasma pauvre en plaquette).

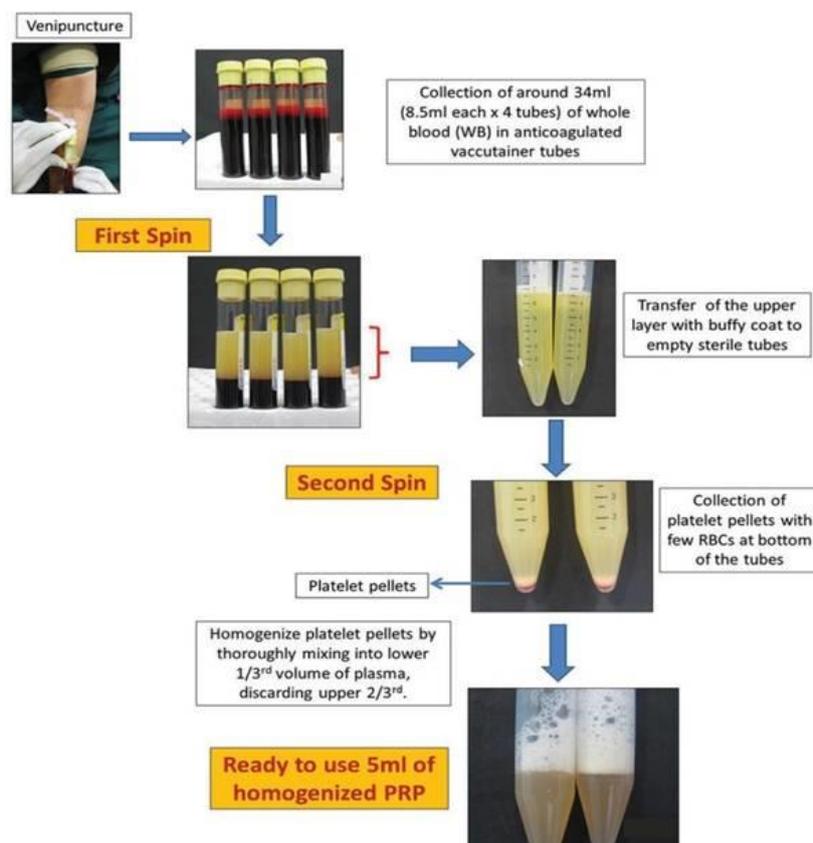
Il est composé essentiellement de molécules plasmatiques circulantes dont le fibrinogène.

• Entre les deux couches réside le futur PRP, cette couche est la plus concentrée en plaquettes et en fibrinogène. Elle porte le nom de « buffy coat »

L'étape suivante consiste à isoler cette couche intermédiaire, à l'aide d'une seringue stérile ou de façon automatique selon les protocoles, afin de lui faire subir une seconde centrifugation. Ainsi, lors du recueillement du L-PRP, il est possible, et même fort probable, que, la couche entière de couche leucocytaire et quelques hématies sont transférées, pour la préparation du P-PRP, la couche supérieure et la couche leucocytaire superficielle sont transférées dans un tube vide stérile.

La deuxième centrifugation, ou *hard spin*, plus longue et plus rapide, permet d'obtenir à nouveau trois couches :

- Quelques hématies résiduelles au fond du tube
- En surface, le PPP, plasma acellulaire représentant environ 80% du volume total au PRP. (Dhurat et Sukesh 2014;Berrada El Azizi, 2017)



**Figure 7.**Etapes de préparation du PRP (Dhurat et Sukesh, 2014)

Plusieurs protocoles utilisant la double centrifugation ont été développés pour faciliter l'application clinique du PRP :Le système PCCS®, le système Smart Prep® et la technique Plateltex®(Chere, 2016).

Récemment, une nouvelle méthode de préparation du PRP décrit par Du *et al.*(2018) présente selon le nom du **PRP à température contrôlée(t-PRP)** c'est une méthode de préparation et activation du PRP sans aucun additif: Les échantillons de sang humain ont été traités par un processus de centrifugation en deux étapes dans des conditions hypothermiques (4°C) pour obtenir le t-PRP et réchauffer jusqu'à 37°C pour activer le t-PRP, Par rapport au c-PRP, Le t-PRP reflète plus de caractéristiques physiologiques tout en maintenant une qualité élevée.

#### 1.7.4. Protocoles à centrifugation unique

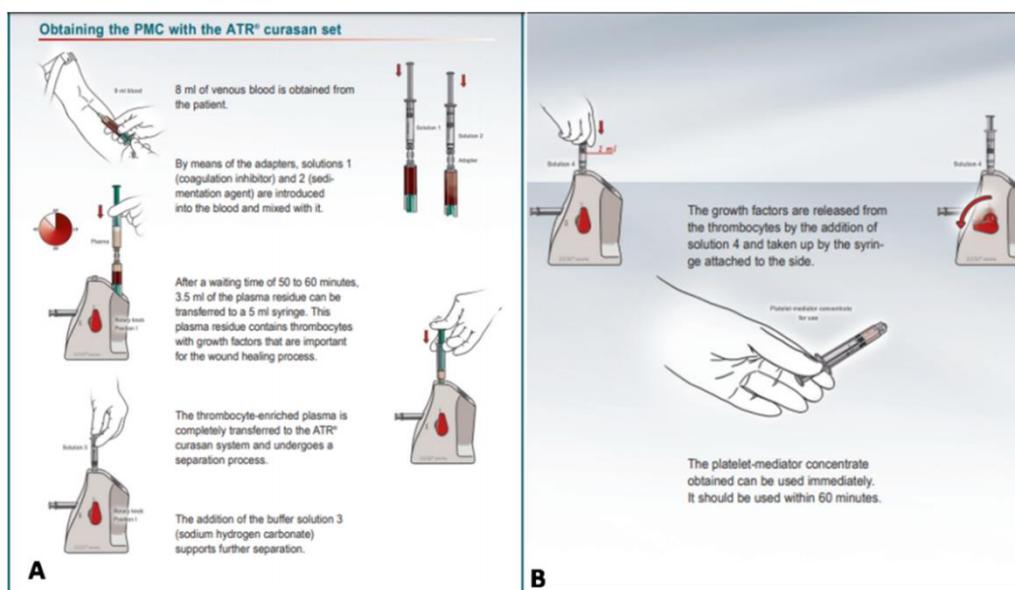
Ces protocoles reposent sur une seule et unique étape de centrifugation à partir du sang prélevé sous anticoagulant afin de récupérer le PRP.

Il existe une multitude de protocoles et de marques de centrifugeuse, comme pour la technique précédente (le système GenesisCS, Cytomedix Angel, Cascade® platelet rich plasma...(Chere, 2016).

#### 1.7.5. Protocole sans centrifugation

Sumida et son équipe(2006) décrivent un protocole de préparation du PRP sans centrifugation. Pour cela, ils ont testé 16 polymères hydrosolubles. De cette étude ressortent 3 polymères capables de séparer les plaquettes des autres éléments du sang.

En octobre 2010, le laboratoire Curasan® a commercialisé un système capable de récupérer d'un concentré des médiateurs de thrombocytes (CMT) sans avoir recours à la centrifugation, l'ATR (Advance Tissue Regeneration) les étapes la récupération de CMT présenter dans la figure suivant :



**Figure 8.** Protocole sans centrifugation ATR du laboratoire Curasan®(2010)

## 1.8. Applications cliniques du PRP

En clinique, les propriétés réparatrices du PRP ont déjà été utilisées avec succès thérapeutique dans les domaines de la chirurgie maxillo-faciale, parodontale et ophtalmique, mais également en chirurgie plastique.

### 1.8.1. Chirurgie cardiaque

Décrit en chirurgie cardiaque, l'utilisation de gel de plaquettes autologues permettrait d'améliorer l'hémostase et la cicatrisation (Gunaydin *et al.*, 2008), et diminuerait les risques d'infection grâce à ses propriétés antimicrobiennes (Hongshuai et Bingyun, 2013). Les douleurs postopératoires seraient également moindres (Englert *et al.*, 2005).

### 1.8.2. Orthopédie et médecine de sport

C'est sans doute dans ce domaine que l'utilisation du PRP fait le plus parler de lui, notamment dans le domaine sportif au début des années 2000. Le premier grand buzz a été le cas du joueur de football américain **Hines Ward**, traité en 2005 pour une entorse au ligament croisé médian, par le biais d'injections de PRP. En football aussi, le PRP a connu sa place notamment dans le cas de l'argentin **Lionel Messi**, blessé au biceps fémoral droit en 2013 il a bénéficié d'un traitement PRP, quoi que celui-là fut jugé insuffisant, vu la récurrence de la blessure quatre mois plus tard, aussi le joueur de tennis **Raphael Nadal** a bénéficié d'injections de PRP pour soigner avec succès des lésions articulaires, (Schnabel *et al.*, 2007; Berrada El Azizi, 2017).

Beaucoup d'articles relatent les effets bénéfiques des injections de PRP dans l'épaule, le pied les genoux, les muscles et tendons.

Des études laboratoire chez des rats présentent des meilleures preuves suggèrent que PRP efficace dans le processus de régénération des muscles ainsi que l'amélioration de la myogénèse (Hammond *et al.*, 2009 ; Quarteiro *et al.*, 2015).

Dans le cadre d'une autre expérience réalisées in vitro, sur des cultures des explants de tendon, des ténocytes humaines, supportent l'utilisation du PRP dans le traitement des blessures et troubles tendineux (Schnabel *et al.* 2007 ; Marieke *et al.*, 2008).

De même, les injections de PRP apporteraient peut être une utilité dans le traitement d'arthrose du genou, Charousset a dénoté 78% d'amélioration fonctionnelle chez un panel de 168 patients souffrent de gonarthrose (Charousset, 2017).

### 1.8.3. Chirurgie plastique

Les chirurgiens plasticiens l'utilisent déjà couramment afin de limiter le risque de formation de cicatrices chéloïdes, au rendu inesthétique. Ainsi, l'application peut se faire sur des plaies cutanées après lifting de la face ou du cou, abdominoplastie ou après une incision thoracique lors de la pose de prothèses mammaires en silicone (Dohan et al., 2005), et aussi le PRP est employé dans diverses procédures telle que :

**Rajeunissement facial** : Les injections du PRP relance la synthèse du collagène pour le but de traiter les rides de la peau du visage et du décolleté qui commence à apparaître partir de la quarantaine.

**Traitement des imperfections cutanées** : Le PRP permet d'atténuer les cernes, améliorer l'aspect de toutes les cicatrices (cicatrices d'acné, cicatrices post-traumatiques ou cicatrices post-chirurgicales) et traiter les vergetures,

**Rajeunissement intime** : Le PRP a des vertus régénératrices au niveau des grandes lèvres vaginales, pour leur redonner fermeté et tonicité.

**Stimulation capillaire** : Le PRP convient également pour ralentir la chute capillaire et de stimuler la repousse en cas d'alopécie.

**Prévention du vieillissement de la peau** : par le préserve l'hydratation naturelle de la peau et la protège des agressions extérieures (Berrada El Azizi, 2017)

### 1.8.4. Autres domaines d'applications

D'autres domaines d'applications du PRP font également l'objet de plusieurs recherches à savoir le domaine ophtalmologie les concentrés plaquettaire ont été utilisés localement en ophtalmologie en tant qu'adjuvant au traitement chirurgical des déchirures de la macula (Paques *et al.*, 1999).

A son tour, le domaine de chirurgie parodontale et implantaire est l'objectif de plusieurs applications du PRP sur la cicatrisation de greffes, l'intégration implantaire mais aussi sur la cicatrisation des tissus mous.

Récemment, des études se sont penchées sur la possibilité du PRP à être incriminé dans la régénération des nerfs périphériques (Mercier, 2011).

# **Chapitre 2 : Cicatrisation des plaies cutanées**

La peau est aussi appelée tégument (ce qui signifie simplement « couverture »), mais elle est bien plus qu'un revêtement pour le contenu du corps, Dans ce chapitre, nous allons expliquer la structure de la peau et leur différent fonctions vital, et nous allons intéresser à définie le phénomène de cicatrisation, ses classification, et à décrire les principaux mécanismes de guérisons des plaies cutanées.

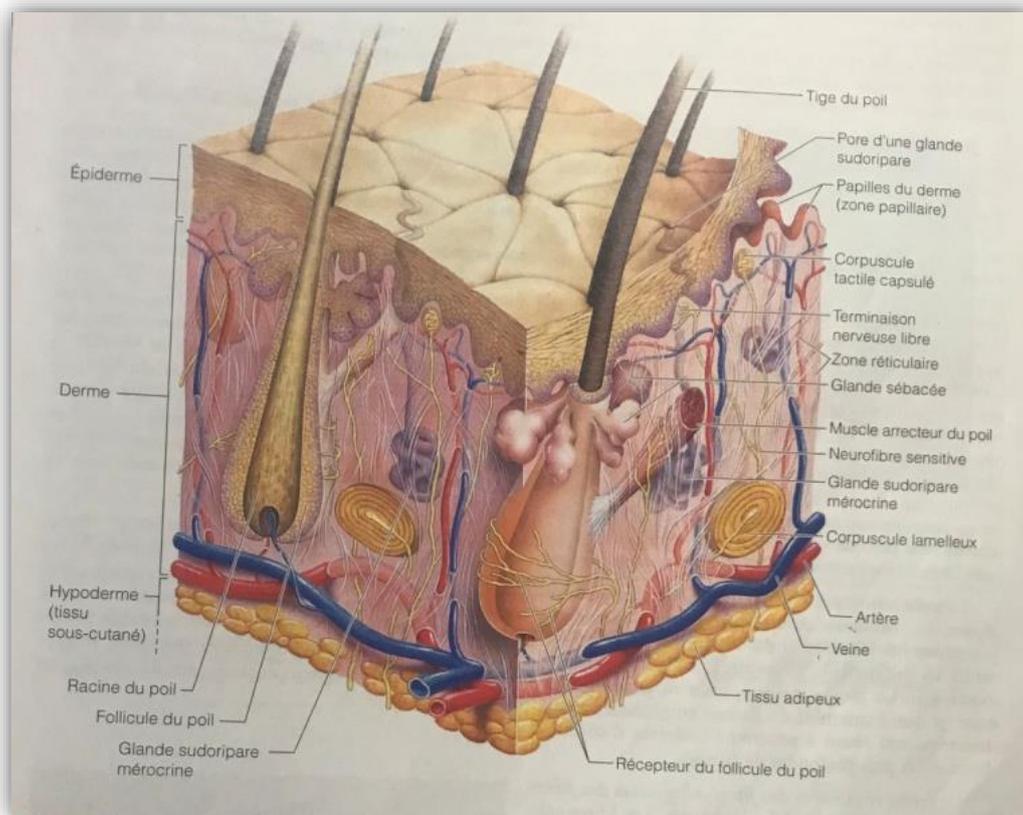
### 2.1. Structure de la peau

Sur le plan structural (Figure 9), L'architecture de la peau comprend couches principales qui sont de la superficie vers la profondeur :

**Epiderme** : c'est la partie superficielle, la plus mince, se compose de tissu épithélial.

**Derme** : c'est la partie la plus profonde, et la plus épaisse, se compose de tissu conjonctif.

**Couche sous cutanée** se trouve au-dessous du derme, elle est appelée **fascia superficiel** ou encore **hypoderme**, et se compose de tissu adipeux.



**Figure 9.**Vue tridimensionnelle de la peau(Elaine, 2008)

### 2.1.1. Epiderme

L'épiderme est un épithélium stratifié pavimenteux kératinisé et aviculaire, les quatre principaux types de cellule qui se le composent sont :

**kératinocytes :** Constituent environ 90% des cellules épidermiques produisent la kératine (est un protéine fibreuse et résistante qui protège la peau).

**Mélanocytes :** constituent environ 08% des cellules épidermique produisent la mélanine (est un pigment jaune orangé ou brun foncé qui colore la peau et absorbe les rayons UV nocifs).

**Cellules de Langerhans (macrophagocyte intra épidermique) :** naissent dans la moelle osseuses rouge puis se fixe dans l'épiderme pour y exerce une activité phagocytaire locale.

**Cellules de Merkel :** Constituent avec les *corpuscules tactiles non capsulés* (neurone sensitif) un récepteur sensoriel cutané qui détecte différents types de stimulus tactiles

D'une épaisseur moyenne de 0,1mm, l'épiderme est constitué de cinq couches ou stratum qui sont de l'intérieur vers l'extérieur ; la couche basale, la couche épineuse, la couche granuleuse, la couche claire, la couche cornée (Tortora et Derrickson, 2007).

### 2.1.2. Derme

C'est un tissu conjonctif, qui est situé sous l'épiderme, peut présenter jusqu'à 2,4mm d'épaisseur au niveau la paume de mains et de la plante des pieds mais seulement de 0,3mm au niveau des paupières et pénis, Le derme comprend des fibres collagènes et élastiques, des vaisseaux sanguins, on distingue deux couches:

Le derme papillaire et composée de tissu conjonctif lâche avec de fine fibre élastique, certaines papilles dermiques contiennent des récepteurs sensitifs les corpuscules de Meissner

Le derme réticulaire c'est la couche profonde du derme est formée de tissu conjonctif dense irrégulier contenant des fibroblastes, des fibres de collagène et élastique, contient également des vaisseaux sanguin, du tissu adipeux, des follicules pileux, des nerfs des glandes sébacées et sudoripares (Nicole, 2014).

### 2.1.3. Hypoderme

L'hypoderme est constitué de tissu conjonctif lâche qui relie la peau aux organes sous-jacents, elle sert de réservoir du tissu adipeux et contient des gros vaisseaux sanguin et renferme aussi des terminaison nerveuses, les corpuscule lamelleux qui sont sensible à la pression (Tortora et Derrickson, 2007 ; Nicole, 2014).

### 2.1.4. Annexes cutanées

Elles comprennent les poils : est une structure kératinisée propre aux mammifères ; chaque poil est planté dans un follicule pileux, il présente une tige visible à la surface et une racine attachée à la papille dermique sous-jacente (Abdeldjelil, 2016), les glandes de la peau sont deux groupes de glandes : glandes sébacées (produite le sébum) et sudoripares (sécrètent la sueur) (Elaine, 2008), et les ongles : sont des plaques de cellules cornées épidermiques assemblées de manière compacte vêt dure (Nicole, 2014). Il est important de noter que les cellules de ces annexes sont d'origine ectodermique, ils remplissent de nombreuses fonctions, les poils et les ongles protègent le corps ; les glandes sudoripares contribuent à la thermorégulation (Tortora et Derrickson, 2007).

## 2.2. Fonctions de la peau

Le système tégumentaire joue un effet plusieurs rôles de premier plan en particulier :

### 2.2.1. Thermorégulation

La peau contribue de deux manières à la thermorégulation, c'est à-dire la régulation de l'hémostatique de la température corporelle ; d'un part en libère la sueur à la surface du corps et, autre part, en ajustant le débit sanguin dans le derme.

### 2.2.2. Réservoir de sang

Chez l'adulte en repos, le vaste réseau des vaisseaux sanguin contenus dans le derme transporte de 8 à 10% de la quantité de sang totale.

### 2.2.3. Protection

La peau constitue en elle-même une véritable barrière à la fois :

**2.2.3.1. Barrière mécanique** : est formée par la superposition des couches de cellules kératinisées de l'épiderme, et la kératine et sa protection contre les agressions, de plus le renouvellement constante des kératinocytes mortes par les cellules germinatives de la couche basale assure le maintien de l'épaisseur de l'épiderme.

**2.2.3.2. Barrière chimique** : est formée par la sécrétion de la peau, les lipides libérés par les glandes lamellées ralentissent l'évaporation de l'eau, le pH acide de la sueur ralentit le développement des microorganismes et aussi la mélanine et sa protection contre les rayons UV nocifs.

**2.2.3.3. Barrière biologique** : est formé par la protection immunitaire (macrophagocyte intraépidermique).

#### **2.2.4. Sensation cutanées**

C'est à-dire les sensations prennent naissance dans la peau, comprennent les sensation tactiles (touche et de pression), sensation thermique (chaleur et froid), et douloureuses (lésion tissulaire), la perception et la transmission des diverses sensations assurée par des récepteurs sensoriels qui sont répartis dans la peau (*corpuscules tactiles non capsulés* et *corpuscules de Meissner* et les *corpuscule lamelleux, plexus de la racine du poil*).

#### **2.2.5. Excrétion et l'absorption**

La peau joue normalement un rôle secondaire dans l'excrétion soit l'élimination des déchets, et dans l'absorption soit la pénétration de certaines matières du milieu extérieur dans les cellules du corps (Tortora et Derrickso, 2007).

### **2.3. Cicatrisation**

#### **2.3.1. Définition**

La cicatrisation est un phénomène biologique naturel qui permet d'aboutir au comblement des pertes de substance et à la réunion des berges de la plaie. C'est un processus complexe faisant intervenir un grand nombre d'intervenants et de mécanismes cellulaires, depuis l'arrivée des cellules sur le site lésé jusqu'à la formation d'une matrice extracellulaire spécifique du tissu en question., le but ultime étant la réparation du tissu mais aussi la lutte contre l'infection (Hé, 2006 ; Mercier, 2011).

#### **2.3.2. Classification de la cicatrisation des plaies cutanées**

##### **2.3.2.1. Cicatrisation de première intention**

Dite primaire, qui correspond à une réparation simultanée de l'épiderme et du derme. Elle fait généralement suite à une plaie chirurgicale suturée ou les deux berges ne sont pas contuses et mises au contact bord à bord.

Elle survient en quelques jours, représente le mode de cicatrisation idéal tant au niveau fonctionnel qu'esthétique, ce mode de cicatrisation correspond à des plaies suturées en première intention remplissant plusieurs conditions :

- Affrontement bord à bord des lèvres de la plaie, sous une tension physiologique
- Absence de tissu dévitalisés et de corps étrangers
- Absence d'hémorragie, perte de substance minimale
- Plaie aseptique. (Hé, 2006)

##### **2.3.2.2. Cicatrisation de deuxième intention**

C'est une cicatrisation de la plaie avec perte de substance, correspond à une réparation couche par couche, Elle survient chaque fois qu'il n'y a pas de réunion des berges de la plaie (Beroual, 2014).

Elle concerne les plaies ne réunissant pas absolument toutes les caractéristiques de la cicatrisation par première intention. Ne pouvant être suturées, elles sont laissées ouvertes. En pratique, ce sont les plaies caractérisées par un ou plusieurs des éléments suivants :

- Lèvres très écartées ;
- Taille importante ;
- Pertes de substances importantes ;
- Localisation délicate ;
- Contamination importante avec des corps étrangers ou des tissus nécrosés ou dévitalisés(Hé, 2006).

### **2.3.3. Différentes étapes de la cicatrisation**

La cicatrisation est décrite selon quatre phases, commence par un processus d'hémostase et de dépôt de fibrine, résultant d'une cascade ordonnée d'évènements inflammatoires et tissulaires, suivies des phases de réparation (phase proliférative) et de maturation (phase de remodelage), toutes ces étapes sont interdépendantes, elles ne sont pas strictement séparées dans le temps mais se chevauchent. Ainsi, plusieurs phases peuvent coexister simultanément au sein d'une même plaie(Hé, 2006; Abdeldjelil, 2016).

#### **2.3.3.1. Hémostase**

L'hémostase (*haima*, «sang » ; *stasis* « arête ») c'est une séquence de réaction qui arrête le saignement lorsque les vaisseaux sanguins sont endommagés ou rompus s'effectue en trois phases : l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse(Elaine, 2008).

##### **a) Hémostase primaire**

L'hémostase primaire comporte un spasme vasculaire, puis la formation du clou plaquettaire

##### **-Spasme vasculaire**

Les plaquettes libèrent la sérotonine et de la thromboxane A<sub>2</sub> les deux agissent comme vasoconstriction qui provoquent et maintiennent la contraction des muscles lisses vasculaire en vue l'empêcher l'écoulement de sang jusqu' au moment de la coagulation(Elaine, 2008).

##### **-Formation du clou plaquettaire**

La formation du clou plaquettaire inclut les étapes suivantes :

- Les thrombocytes entrent en contact avec les fibres collagènes du tissu conjonctif situé sous les cellules endothéliales endommagées, et s'y fixent, La fixation se fait essentiellement par l'intermédiaire du facteur Willebrand (vWF) qui établit un pont entre les glycoprotéines Ib plaquettaires et le sous-endothélium, cette étape appelée **l'adhésion plaquettaire**.

-L'adhésion déclenche l'activation des plaquettes C'est à ce moment, qu'on parle de la sécrétion plaquettaire, là où les thrombocytes se émettent de nombreux prolongements grâce auxquels ils se touchent et interagissent, puis ils commencent à libèrent le contenus de leur granulations cette étape appelée **réaction de libération plaquettaire**

-Par suit de libération ADP (adénosine diphosphate) recruté et activé les autres thrombocytes avoisinantes et ils deviennent collant, ce rassemblement de thrombocytes est appelé **agrégation plaquettaire**, alors que l'accumulation et l'union d'un grand nombre des plaquettes forme bientôt **le clou plaquettaire** (Tortora et Derrickson, 2007).

### **b) Coagulation**

Les trois principales étapes de la coagulation sont les suivantes :

a. Deux séries de réaction différentes initiées lors d'une lésion vasculaire, appelées voie extrinsèque et intrinsèque, permettent la formation de la prothrombinase.(Figure 10)

-Voie extrinsèque

La voie extrinsèque est initiée par la libération de thromboplastine tissulaire qui a été exprimée après des dommages à un vaisseau. Le facteur VII forme un complexe avec la thromboplastine tissulaire et le calcium. Ce complexe convertit les facteurs X forme inactif en Xa forme actif, lorsqu'il activé le facteur X se lie au facteur V pour former en présence de  $Ca^{2+}$  former une enzyme activé, la prothrombinase(Ciesla, 2007).

-Voie intrinsèque

Le voie intrinsèque est le plus complexe que la voie extrinsèque et demande donc plus de temps, nommée aussi par la voie intravasculaire par ce que ses activateurs présent à l'intérieure de sang s'il y ait de tissu endommagé l'extérieur des vaisseaux les cellule endothéliales deviennent rugueuses, le contact de sang avec les fibres de collagène dans le tissu conjonctif entourant l'endothélium du vaisseau sanguin peut activé le facteur XII , de plus les lésion des cellule endothéliales endommagent les plaquettes qui libèrent les phospholipides. Ce dernier associé avec le  $Ca^{2+}$  et le facteur XII activé, le complexe formé peuvent participer à l'activation du facteur X qu'il se copine au facteur V pour former exactement comme le voie extrinsèque une enzyme activé, la prothrombinase.

Une fois le prothrombinase formée la séquence de réaction pour les deux étapes suivant est le même pour le voie extrinsèque et intrinsèque, c'est pour ça en parle de vois commune pour les deux étapes.

b. La prothrombinase convertit la prothrombine en thrombine

c. La thrombine convertit le fibrinogène soluble en fibrine insoluble, une protéine filamenteuse qui forme les filaments de caillot (Tortora et Derrickson, 2007).

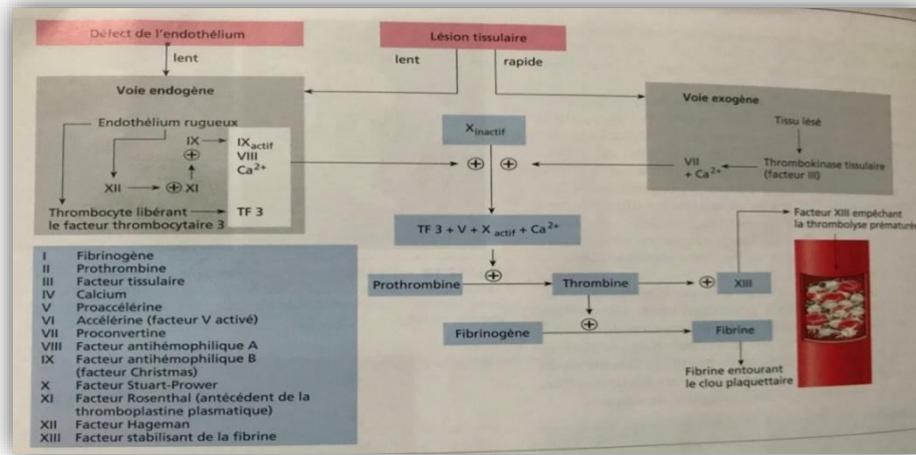


Figure 10 . Cascade de la coagulation(Nicole, 2014).

**c) Fibrinolyse**

La fibrinolyse c'est le processus de la dissolution de caillots, une fois l'endothélium finit par se régénérer et lorsqu' un caillot se forme, une enzyme plasmatique inactive, appelée plasminogène d'origine hépatique a une forte affinité pour le réseau de fibrine, s'introduit à l'intérieur du caillot.les tissus de l'organisme et le sang contiennent des substances capables d' activer le plasminogène pour converti en plasmine, qui est une enzyme protéolytique puissante mais non spécifique (activateur tissulaire du plasminogène (tPA) ), la plasmine peut dissoudre le caillot en dégradant des filament de fibrine et en inactivation diverses substance comme le fibrinogène et la prothrombine et les facteurs V et XII(figure 11)

Alors La présence ou l'absence d'hémorragie ou de thrombose dépend d'un équilibre entre le procoagulant et le système fibrinolytique(Ciesla, 2007).

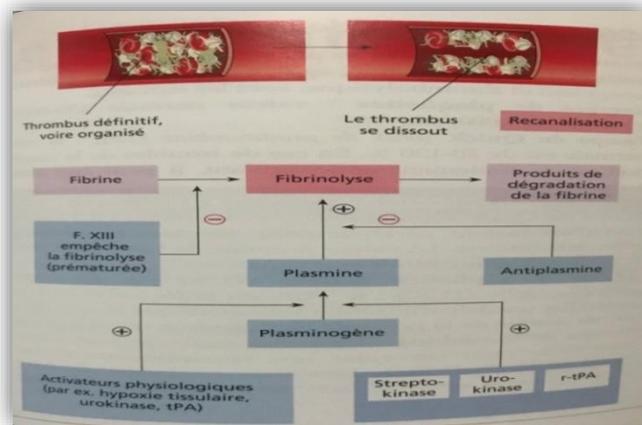


Figure 11.Etapes de la fibrinolyse(Nicole, 2014)

En plus de leur rôle dans l'hémostase, Les plaquettes activées libèrent de leurs granules une variété de cytokines et de facteurs de croissance (PDGF, TGF  $\beta$ , IGF-1, EGF...) qui jouent plusieurs rôles au cours du processus de cicatrisation : recrutement et activation des leucocytes, macrophages et fibroblastes ; stimulation des mitoses des fibroblastes et cellules endothéliales ; stimulation de la synthèse de collagène ; de l'angiogenèse ; de la contraction et du remodelage de la plaie(Singer, 1999).

### **2.3.3.2. Phase détersion-inflammatoire**

L'inflammation commence, en général, dès l'agression initiale et dure jusqu'au quatrième jour de la cicatrisation, rougeur, tuméfaction avec chaleur et douleur résume assez bien les caractéristiques macroscopiques cliniques de l'inflammation(Hé, 2006).

Les premiers leucocytes à arriver au niveau de la plaie sont les granulocytes neutrophiles. Les neutrophiles sont guidés jusqu'au site de l'inflammation grâce à un gradient de médiateurs chimiotactiques dont font partie, les fibrinopeptides, des peptides bactériens solubles, des dérivés plaquettaires comme le PDGF et des cytokines produites par les cellules endothéliales lésées (TNF $\alpha$ , IL-1 et IL-8), sous l'influence de le TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ) libéré précocement par les plaquettes sanguines (agents chimiotactiques les plus puissants vis-à-vis des monocyte), les monocytes infiltrent la plaie et deviennent des macrophages qui jouent un rôle anti-infectieux et de détersion locale grâce à leurs capacités de phagocytose et la collagénolyse, les macrophages sont également une source importante de nombreux médiateurs qui jouent des rôles importants au cours du processus de cicatrisation (recrutement et activation cellulaires, synthèse matricielle et angiogenèse.(Singer, 1999)

A la fin de la phase de détersion, le foyer est propre, les réactions cataboliques se sont stabilisées et l'environnement de la plaie contient de nombreux facteurs qui vont stimuler les acteurs de la phase de réparation.

### **2.3.3.3. Phase de prolifération**

Appelée également phase de réparation, en raison de l'importance des proliférations cellulaires, cette phase regroupe deux grands phénomènes anaboliques : la formation du tissu de granulation et l'épidermisation qui va recouvrir ce tissu.

#### **a) Formation du tissu de granulation**

Cette phase se compose de la migration et de la multiplication des fibroblastes, de la synthèse fibroblastique et de la néo-angiogénèse. Elle débute dans les zones de la plaie correctement préparées lors de la phase de détersion. Ainsi, sur une même plaie, certaines

zones peuvent présenter une progression du tissu de granulation, alors que d'autres zones sont encore en phase de détersion (Abdeldjelil, 2016).

#### **- Migration et prolifération fibroblastiques**

La migration des fibroblastes se décompose en plusieurs étapes : recrutement, chimiotactisme, adhésion cellulaire puis détachement et nouvelle adhésion au substrat,

Leur recrutement dépend du chimiotactisme exercé par les médiateurs tels que le FGF le PDGF le TGF $\beta$  et l'IL1 issus principalement des plaquettes, des macrophages et de certains lymphocytes. Après avoir migré au niveau de la plaie, les fibroblastes se multiplient et commencent leurs synthèses afin de combler la perte de substance, grâce à :

Le PDGF, joue un rôle à la fois chimioattracteur et mitogénique pour les fibroblastes est le plus puissant activateur de la mitose des fibroblastes.

L'IL-1 produite principalement par les macrophages et les kératinocytes de l'épiderme lésé, stimule également la prolifération des fibroblastes (Hé, 2006).

#### **- Néo-angiogenèse**

L'angiogenèse est le processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants, La néo-angiogenèse progresse donc simultanément avec les fibroblastes.

La néovascularisation nécessite une stimulation, une migration et une prolifération des cellules endothéliales, les cellules endothéliales nécessitent stimulées par des facteurs chimiotactiques et facteurs de croissance produits par diverses cellules (macrophages, fibroblastes et kératinocytes). Parmi ces facteurs, le VEGF (Vascular endothelial growth factor) est le facteur angiogénique le plus puissant. La prolifération des cellules endothéliales permet la formation de structures tubulaires qui s'unissent les uns aux autres et se différencient progressivement en artérioles ou en veinules (Abdeldjelil, 2016).

#### **- Synthèses fibroblastiques**

La production de substance fondamentale et de fibres de collagène par les fibroblastes constitue l'événement essentiel du processus de fibrogénèse. Les fibroblastes commencent par la synthèse des protéoglycanes, des polysaccharides, et diverses glycoprotéines notamment la fibronectine pour former la nouvelle substance fondamentale. Elles synthétisent également du collagène sous l'effet de divers médiateurs libérés principalement par les macrophages et les cellules endothéliales (FGF, TGF- $\beta$ , EGF, PDGF). Le collagène est déposé au fur et à mesure que la fibrine est dégradée. Il la remplace alors et forme un tissu plus résistant que le réseau de fibrine. Après une phase de croissance rapide, le tissu de granulation s'arrête de croître au

niveau de la surface épidermique pour un support sur lequel l'épiderme va pouvoir se reconstituer (Hé, 2006).

#### **-Phase de contraction**

La contraction de la plaie se définit comme un mécanisme de réduction de la taille de la plaie par le mouvement centripète du tissu cutané entourant la plaie. C'est un processus dans lequel les fibroblastes joueraient un rôle du premier plan se produisant sept jours après la blessure, et son activité atteint un pic après deux semaines(Djerrou, 2011).

#### **b) Épithélialisation ou épidémission**

La ré-épithélialisation est la dernière étape avant que la continuité de la peau soit rétablie assure la couverture finale de la plaie par un épithélium stratifié et kératinisé, formé à partir des cellules épidermiques provenant des berges du foyer cicatriciel, voire des follicules pileux (Djerrou, 2011).

#### **2.3.3.4. Phase de remodelage/maturation**

Dernière et ultime étape de la cicatrisation, c'est elle qui détermine les aspects esthétiques, structuraux et fonctionnels du tissu cicatrisé.

Le remodelage est un équilibre précis entre synthèse et dégradation, contrôlé par les métalloprotéinases matricielles sécrétées par les macrophages, les cellules épidermiques, les cellules endothéliales et les fibroblastes. Grossièrement, cette étape se charge de dégrader les fibres de collagène non orientées de manière fonctionnelle et de perfectionner les fibres ordonnées sont maintenues, renforcées et perfectionnées. Des fibres d'élastine et des protéoglycanes réapparaissent, la membrane basale se réorganise : le tout étant de reconstruire un réseau stable et fonctionnel(Chere, 2016).

Concernant la nouvelle peau de cicatrisation elle révèle une déficience ou une absence totale des mélanocytes, des follicules pileux (poils), des glandes sudoripares ou sébacées (Berrada El Azizi, 2017).

# **Partie expérimentale**

**Karl MARX cita que « c'est dans la pratique qu'il faut que l'homme prouve la vérité».**

# **Chapitre 3 :**

# **Matériel et Méthodes**

Le but de ce chapitre est d'objectiver l'effet « accélérateur » de concentrés plaquettaires sur la cicatrisation cutanée. Pour ce faire, nous nous fonderons sur diverses analyses macroscopiques réalisées sur des lapins.

### 3.1. Matériel biologique

#### 3.1.1. Animaux

Les animaux ont été utilisés pour cette étude sont 06 lapins males de race néo-zélandaise ont été élevés dans des cages individuelles au sein de l'animalerie de l'institut des sciences vétérinaires et des sciences agronomiques de l'université de Batna 1, Ces animaux sont cliniquement sains avec un poids moyen de 2kg et de 8 mois d'âge, ils sont soumis à une période d'adaptation de 07 J avec un régime alimentaire ordinaire de la nourriture standard pour les lapins (Fourrage 100g distribué sur Cinq fois par jour ),des vitamines et antistress « Neoxyvital » ont été utilisées et un accès libre à l'eau , La litière renouvelé quotidiennement pour éviter des éventuelles infections, tous ces lapins ont été vaccinés à l'aide d'un vaccin antiparasitaire,et un vaccin pour la prévention des entérotaxémies chaque Cinq semaine(Coglavax 01ml pour un lapin par voie sous cutanée)

#### 3.1.2. Sang

Le sang prélevé pour préparer le PRP, est récupéré à partir d'une ponction de l'artère centrale de l'oreille du lapin.

### 3.2. Réactif

Les différents traitements appliqués sur les plaies cutanées sont :

-Eau physiologique : Il s'agit de liquide physiologique : le NaCl à 0.9% utilisé comme placebo.

-PRP : plasma riche en plaquettes

-Madécassol® : Médicament de référence, utilisée comme adjuvant de la cicatrisation pour les plaies (Pointel *et al.*, 1987)et qui contient comme un principe actif l'**hydrocotyle**(extrait de *Centella Asiatica*), et comme **Excipients** le Talc et Magnésium stéarate.

- Mélange des huiles : huile de sésame et huile de lentisque (M.Huilles)

L'huile de sésame : huile végétale extraite des graines de *Sesamum indicum L.* favorisant la contraction des plaies et accélèrent la réépithélialisation (Kiran et Asad, 2008)

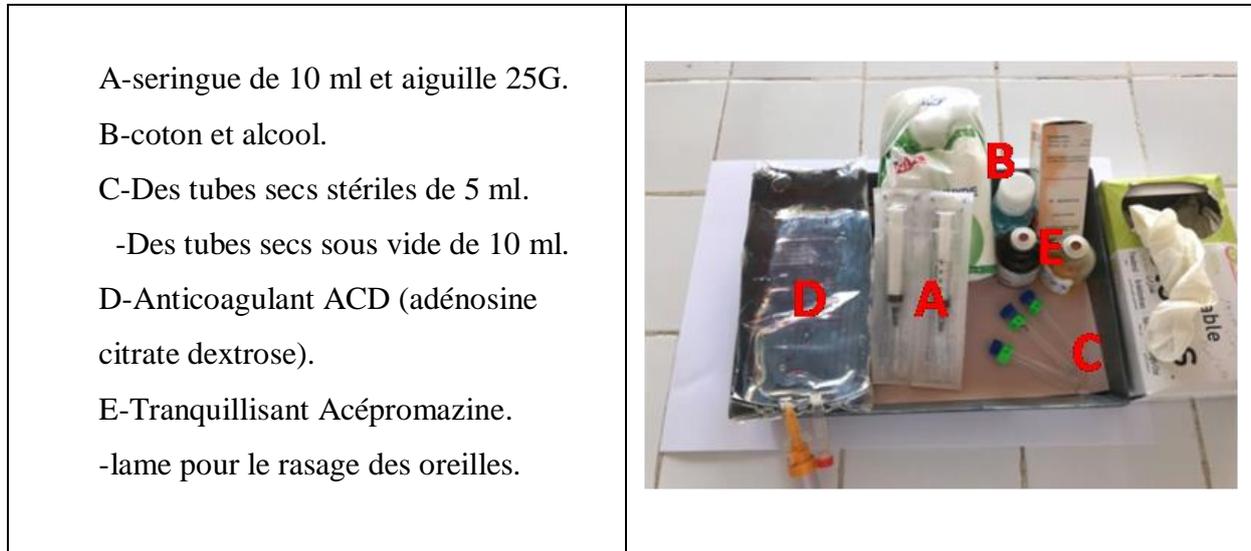
L'huile de lentisque : huile végétale extraite de *Pistacia lentiscus L.* (Anacardiaceae) a été sélectionné comme remède populaire potentiel de cicatrisation basé sur informations ethno pharmacologiques fournies par les communautés locales. L'effet cicatrisant de l'huile de

lentisque a été également prouvé pour le traitement des plaies d'excision chez le rat par Boulebda *et al.* (2009)

### 3.3. Matériel

#### 3.3.1. Matériel du prélèvement de sang

Le matériel du prélèvement du sang est photographié et présenté dans la figure 12 :



**Figure 12.**Matériel du prélèvement de sang

#### 3.3.2. Matériel de la centrifugation

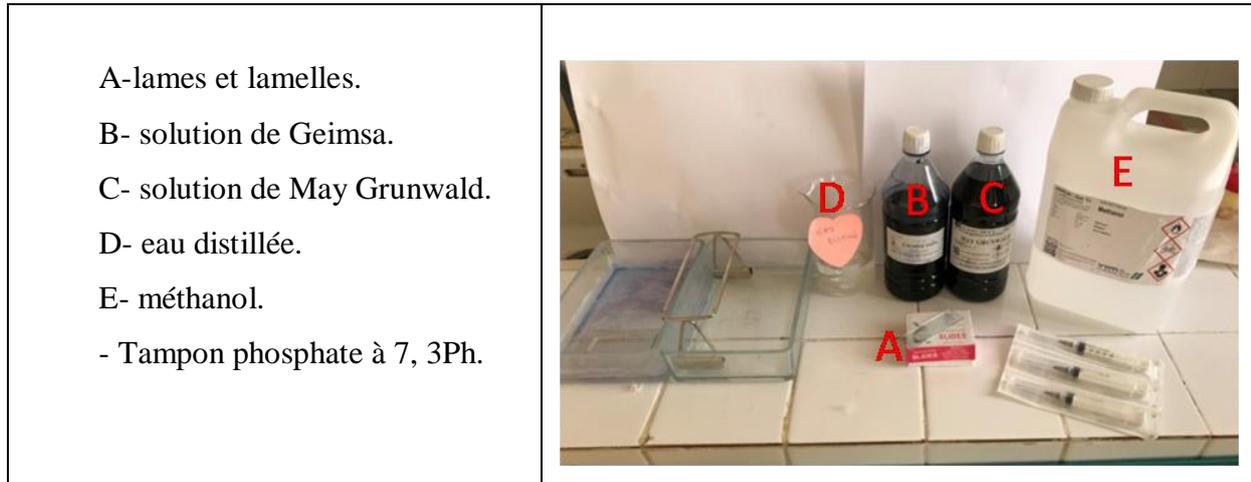
Une centrifugeuse réglable et réfrigérée (Centrifugeuse SIGMA 2K15) a été utilisée pour la préparation du plasma riche en plaquettes permettant ainsi une séparation des différents éléments figurés de sang (Figure 11).



**Figure 13.** Centrifugeuse SIGMA 2K15

### 3.3.3. Matériel et réactifs de la réalisation des frottis

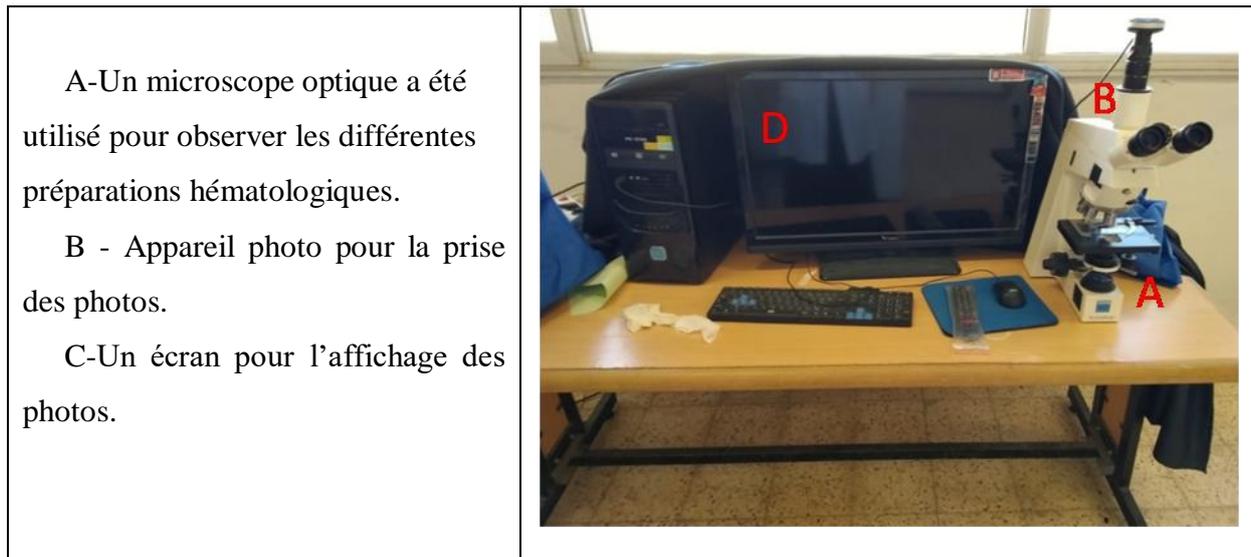
Pour la réalisation des frottis le matériel suivant a été utilisé (Figure 14) :



**Figure 14.** Matériel du frotti

### 3.3.4. Matériel d'observation

Le matériel d'observation présenté dans la figure 15 :



**Figure 15.** Matériel d'observation

### 3.3.5. Matériel de l'opération chirurgicale

#### 3.3.5.1. Lieu des interventions

Service de chirurgie et d'imagerie vétérinaire à l'institut des sciences vétérinaires et des sciences agronomiques de l'université de Batna 1.



Figure 16. Bloc de la de chirurgie

#### 3.3.5.2. Matériel du rasage

Ce matériel présenté dans la figure 15 a été utilisé pour le rasage des poils des lapins :

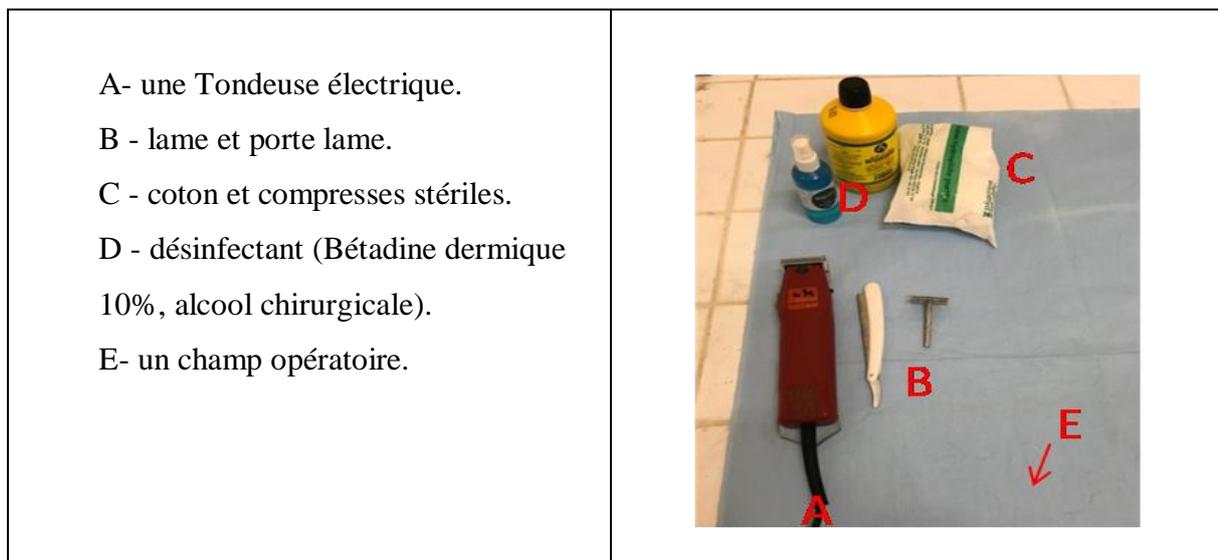
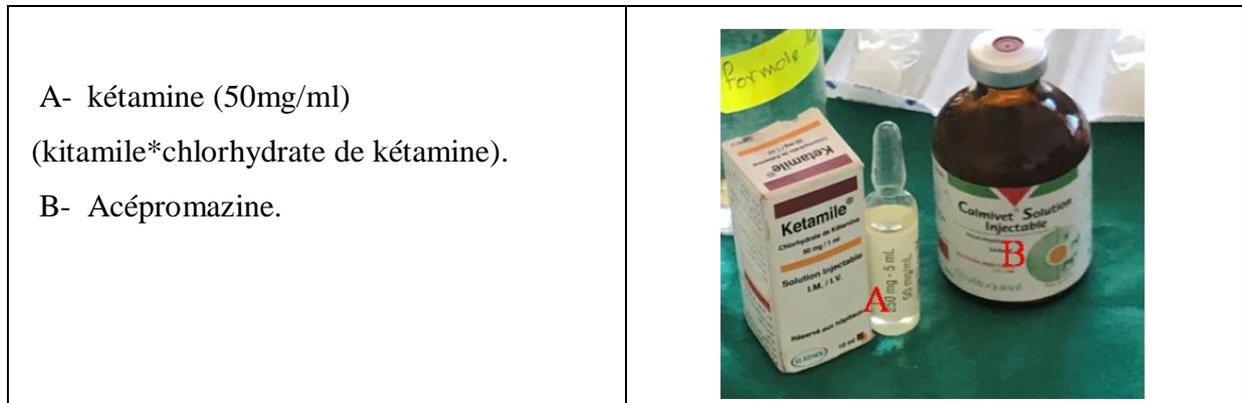


Figure 17. Matériel du rasage

### 3.3.5.3. Matériel de la réalisation des plaies cutanées

#### a) Produits anesthésiques

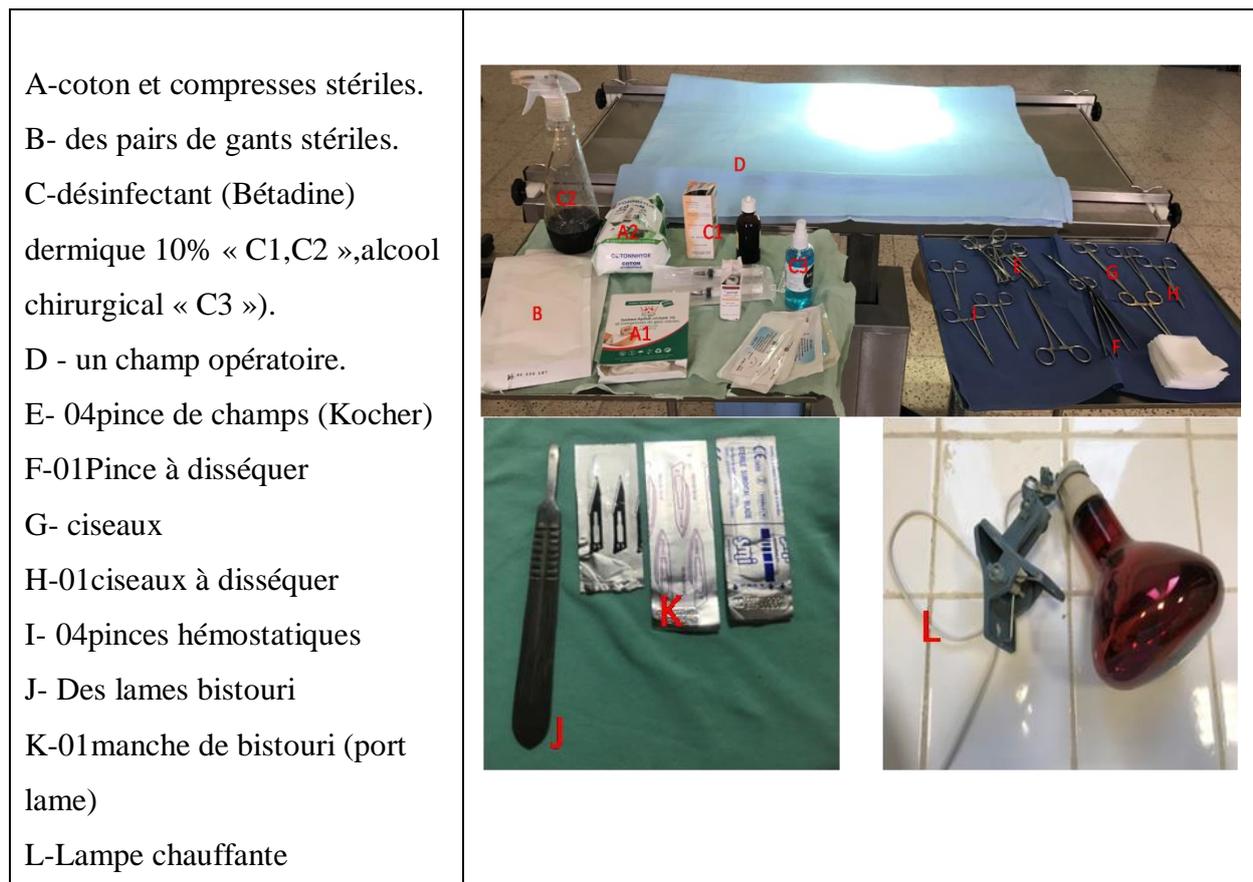
Les anesthésies sont mentionnées dans la figure suivante :



**Figure 18.**Produits anesthésiques

#### b) Instruments de la chirurgie

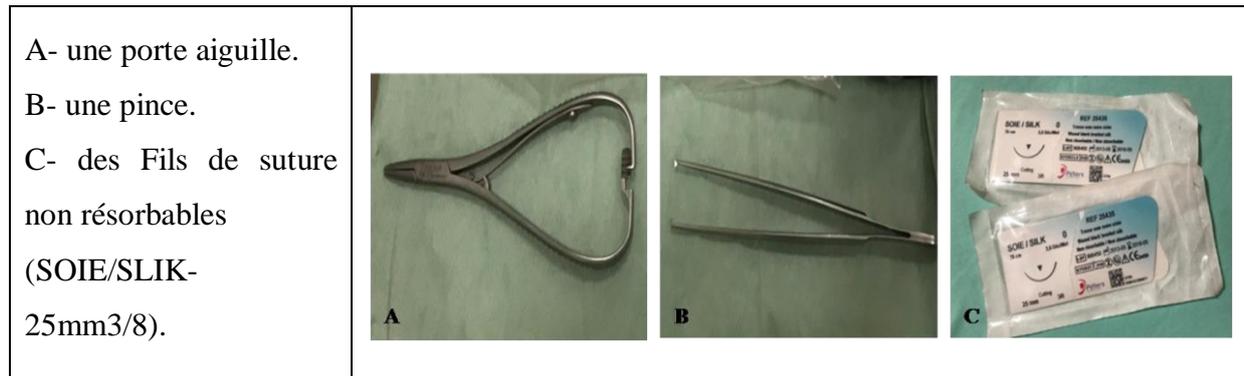
Pour l'opération en utilise les instruments mentionnés dans la figure 17:



**Figure 19.**Instrument chirurgicale

### c) Instruments de suture

L'instrument utilisé pour la suture des plaies est photographié et présenté dans la figure 20 :



**Figure 20.** Instruments de suture

### 3.4. Méthodes utilisées

#### 3.4.1. Prélèvements sanguins

Les lapins sont facilement stressés, donc, dans la mesure du possible, un tranquillisant ou un sédatif doit être administré avant la prise de sang, les animaux ont été d'abord tranquilisés à l'aide l'acépromazine à une dose de 0,1 mg/kg par voie intramusculaire, qui provoque aussi une vasodilatation.

Des prélèvements sanguins sont réalisés à partir d'une ponction de l'artère central de l'oreille du lapin lorsque des quantités de sang importantes sont nécessaires, le site de ponction étant désinfecté également par un coton et un alcool chirurgical, et avant le prélèvement on a aspiré 01 ml de citrate dextrose (ACD) dans une seringue de 10 ml, puis un volume de 06 ml de sang a été prélevé dans chaque seringue(Figure 21.A),immédiatement le sang collecté est bien mélangé avec l'anticoagulant (Figure 21.C),puis distribué dans des tubes secs stériles de capacité de 5ml, au total on obtient 03 tubes contenant 4 ml de sang sont utilisées pour chaque animal(Figure 22).

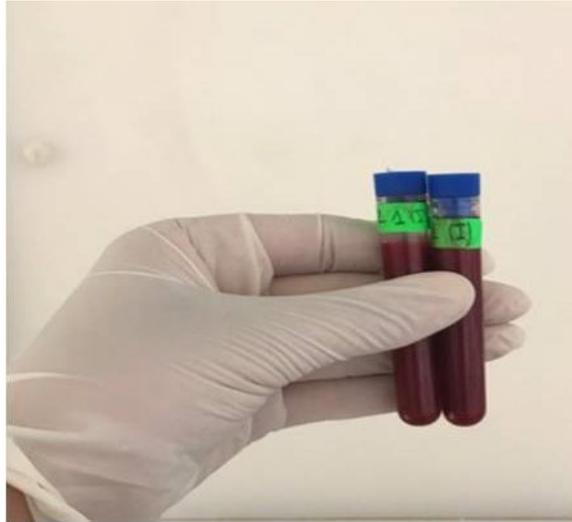
Ces prélèvements sont réalisés avec une aspiration modérée pour éviter toute forme d'hémolyse, on utilise une lampe de téléphone pour mieux voir les veines (Figure 21.B).

Le volume de sang qui peut être prélevé est grandement associé au volume circulant total, pas plus de 20 % de la valeur inférieure du volume sanguin totale estimé sont prélevés en espace de deux semaines (Tableau 3).

**Tableau 3.** Volume limite de prélèvement sanguin et périodes de récupération (« guide pratique d'administration et de prélèvements sanguins » 2018)

Espèce d'animale	Volume sanguin total		20% volume sanguin circulant prélevé	Période de récupération minimale
	Volume moyen (ml/kg)	Écart (ml/kg)		
Lapin	56	44-70	11	2 semaines

**Figure 21.** Etapes de prélèvement sanguin



**Figure 22.** Sang total

### **3.4.2. Préparation du PRP (Plateltex®)**

Le détail de kit Plateltex® présenté dans l'annexe 1

#### **Première centrifugation**

Les échantillons de sang total ont été centrifugés, le tube primaire, à 160g pendant 10 minutes.

Après centrifugation (Figure 23.A), le sang est séparé en trois couches :

La couche inférieure est principalement constituée de globules rouges

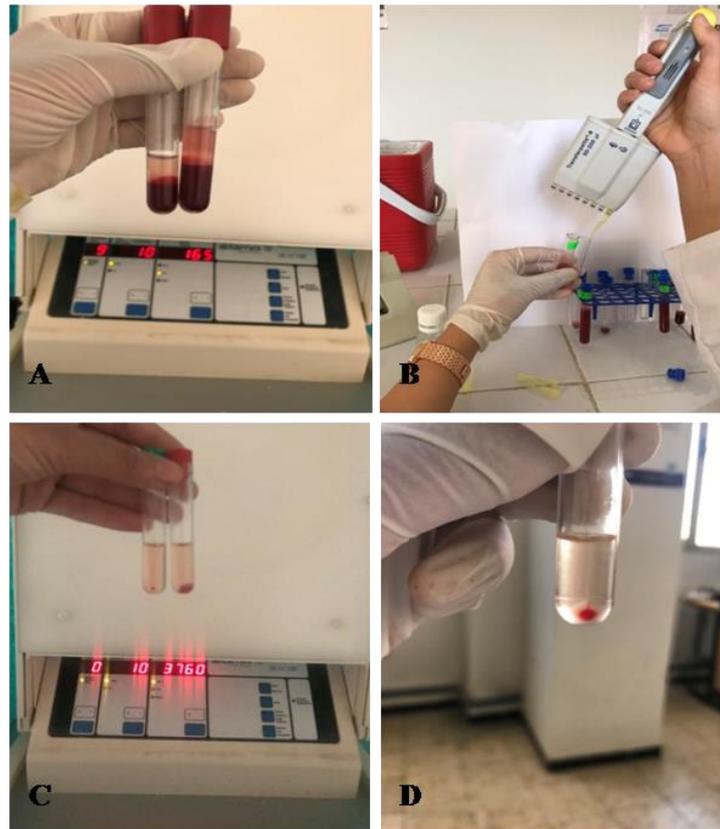
La couche intermédiaire (généralement dénommée "couche leucocytaire") est composée de plaquettes concentrées et de leucocytes.

La couche supérieure est principalement du plasma tout le contenu au-dessus du culot globulaire a été pipeté et transféré dans un autre tube sec de 5 ml sans anticoagulant (le surnageant est récupéré = PRP) (Figure 23.B).

#### **Deuxième centrifugation**

- Pour augmenter la concentration en plaquettes, le PRP est centrifugé à 1200g pendant 10 minutes (précipitation des plaquettes), Il résulte une petite fraction rouge en bas de chaque tube et un surnageant en haut (Figure 23.C)

- La moitié inférieure du plasma est conservée pour injection (PPP est enlevé)(Figure23.D)



**Figure 23.**Diagramme de la préparation du plasma riche en plaquettes (PRP).

A : La 1ère centrifugation B : transfert du plasma issu de la 1ère centrifugation dans un autre tube sec. C : La 2ème centrifugation D : Collecte du volume total du PRP.

### 3.4.3. Réalisation des frottis

Les frottis ont été réalisés à partir du sang et des échantillons du PRP a pour objectif :

-De préciser tous les changements hématologiques, détectés au sein des différents éléments figurés du sang.

-De détecter s'il y'a des maladies sanguines (cas des thrombopénies).

-D'évaluer l'efficacité du dextrose (ACD) comme un anticoagulant.

Ce protocole constitué de plusieurs étapes comme les suivant :

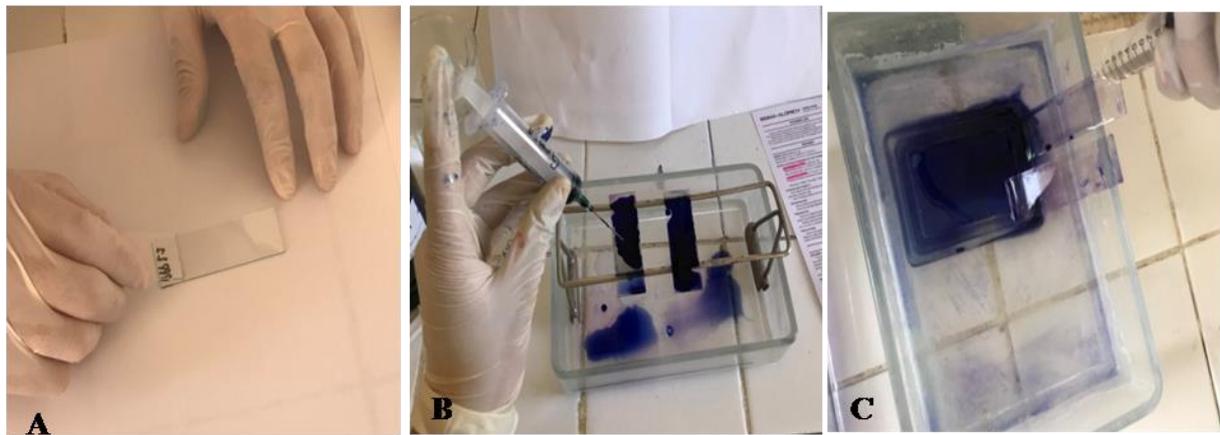
1- sur une lame on dépose une goutte de sang totale ou du PRP de la taille d'une tête d'épingle près de l'extrémité libre de la lame, et mettre une deuxième lame avec un angle de 30°, on essaye d'étaler de glisser le sang (ou PRP) rapidement vers l'autre extrémité et on l'arrive avant le bord de la deuxième lame, le frottis doit ensuite être séché a l'air libre (Figure 24.A).

2- fixation du frottis dans le méthanol pendant 10min, après 02 heures de séchage on inscrit le nom et la date.

3- la coloration de May-Grunwald-Giemsa (MGG) c'est une technique basée sur un mélange de colorants basiques « bleu de méthylène, azur de méthylène » et acide « éosine »

La lame est placée horizontalement puis recouverte pendant 3min avec une solution May- Grunwald, ensuite on lui ajoute une quantité égale d'un tampon phosphate à 7,3 pH et après 3min supplémentaires le mélange est délicatement éliminé.

La lame est ensuite recouverte par la solution de Giemsa déjà diluée, après 15 min les frottis sont rincés sous le jet d'eau neutre, finalement le séchage du frottis se fait par égouttage (Figure 24.B,C)



**Figure 24.** Etapes de frottis

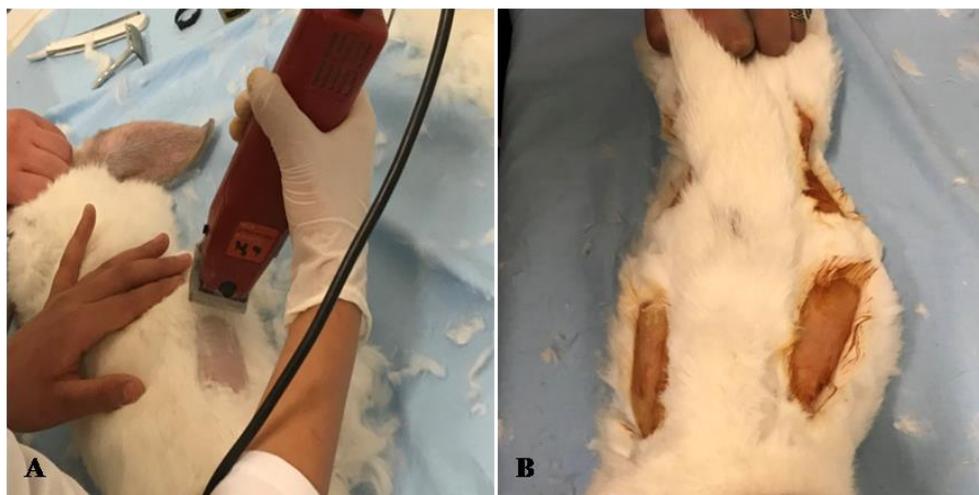
#### **3.4.4. Opérations chirurgicales**

##### **3.4.4.1. Préparation de l'opéré**

Un soin préopératoire a été effectué par :

- Diète alimentaire 06 h avant l'opération.
- Examen clinique simple (apparence générale, température corporelle)
- Prise de poids.

Durant la préparation, l'opéré a reçu une préparation locale de la peau, les quatre zones opératoires peuvent être tondues à l'aide d'une tondeuse électrique adaptée aux poils des lapins (Figure 25.A), ensuite, la peau rasée doit être bien désinfectée par application d'une solution iodée (Bétadine Dermique 10%). Ces quatre zones sont localisées sur le dos de l'animal (Figure 25.B).



**Figure 25.** Rasage et désinfection de la peau

#### 3.4.4.2. Anesthésie des lapins

On utilise ce protocole d'anesthésie (Tableau4):

Kétamine/Acépromazine : cette combinaison procure une anesthésie peu profonde qui dure en moyenne 20à30minutes(Flecknell, 2016).

**Tableau 4.** Protocole d'anesthésie(Flecknell, 2016).

	Produit	Dose	Voie D'administration
Prémédication	Acépromazine	1Mg /Kg en IM	Intramusculaire
Induction	Kétamine	50Mg/Kg en IM	Intramusculaire

Nous l'appliquons comme suit :

-En administre jusqu'à 0,4 ml l'acépromazine comme une prémédication afin de tranquilliser l'animal, Le lapin peut ensuite être transporté au bloc opératoire sous sédation,

- Après 10 min, l'animale commence à se sentir indifférent, on injecte 1-2 ml de kétamine en IM.

-Après 5min l'animale commence à perdre sa conscience.

#### 3.4.4.3. Réalisation des plaies

Les plaies ont été réalisées sur la peau de la région dorsale de chaque animal; le choix de cette région est motivé par la facilité d'accès, tant pour la réalisation de la plaie que pour le suivi de l'évolution de la plaie et le relevé des mensurations. La localisation des plaies à ce niveau prévient également l'auto léchage des plaies par les animaux.

Avant les opérations chirurgicales, on doit maintenir une meilleure stérilité par la mise en place des champs opératoires qui sont assujettis à la peau par des pinces à champ, puis à l'aide d'un crayon, d'une règle et d'une pièce ronde, tous les contours des plaies ont été tracés (Figure 26).



**Figure 26.** Traçage des contours des plaies.

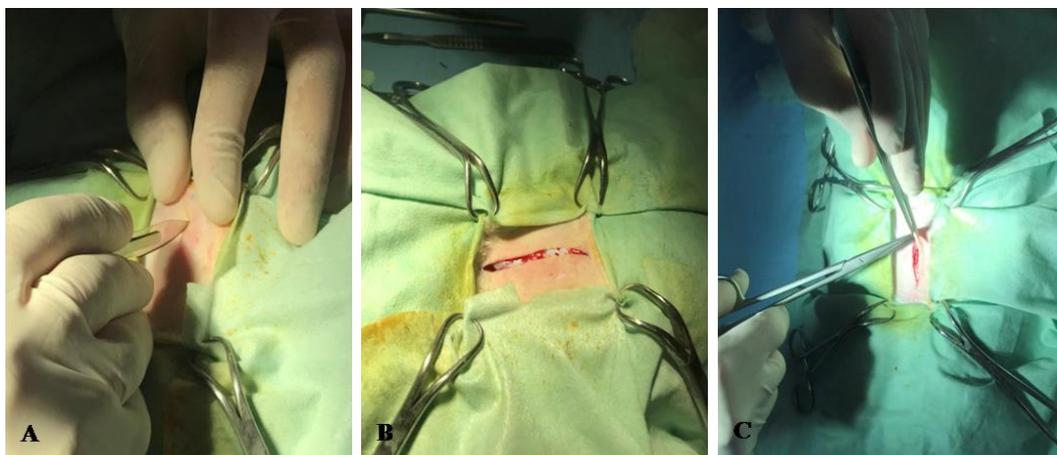
#### a) Plaies d'incision

##### ○ Incision de la peau

Quatre plaies d'incisions de pleine épaisseur de 4,5 cm de longueur ont été créées sur le dos de chaque animal.

- On dirige la pointe du bistouri vers le lieu de l'incision et on tend entre deux doigts de la main libre l'élément à inciser, puis on glisse la lame avec une force d'appui très modérée (Figure 27.A)

-A la fin de l'incision on va disséquer les deux lèvres des plaies à l'aide d'une pince à disséquer et ciseaux à disséquer pour ensuite suturer (Figure 27.B, C).

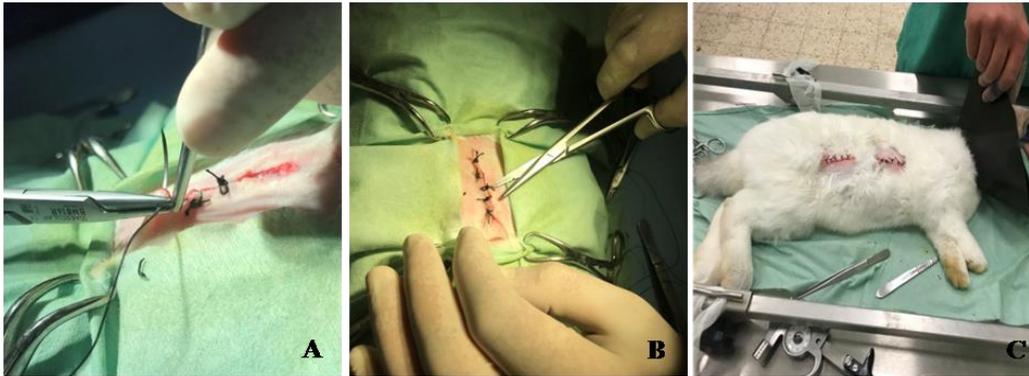


**Figure 27.** Etapes d'incision de la peau

### Suture des plaies

Les nœuds de la suture sont faites selon le procédé de suture à points séparés à l'aide d'un fil de suture non résorbable (Figure 28.A), la réalisation des nœuds du suture est représenté dans l'annexe II.

Lorsque les plaies ont été suturées on utilise des collerettes vétérinaires (carcan) ou collier élisabéthain, qui est un ustensile de soins des animaux. Ce cône tronqué et fixé au cou de l'animal de façon à entourer sa tête, sert à l'empêcher de se mordre, de se lécher, ou encore de se gratter la plaie au cours de la guérison (Figure 28.B, C)



**Figure 28.** Etapes de la suture

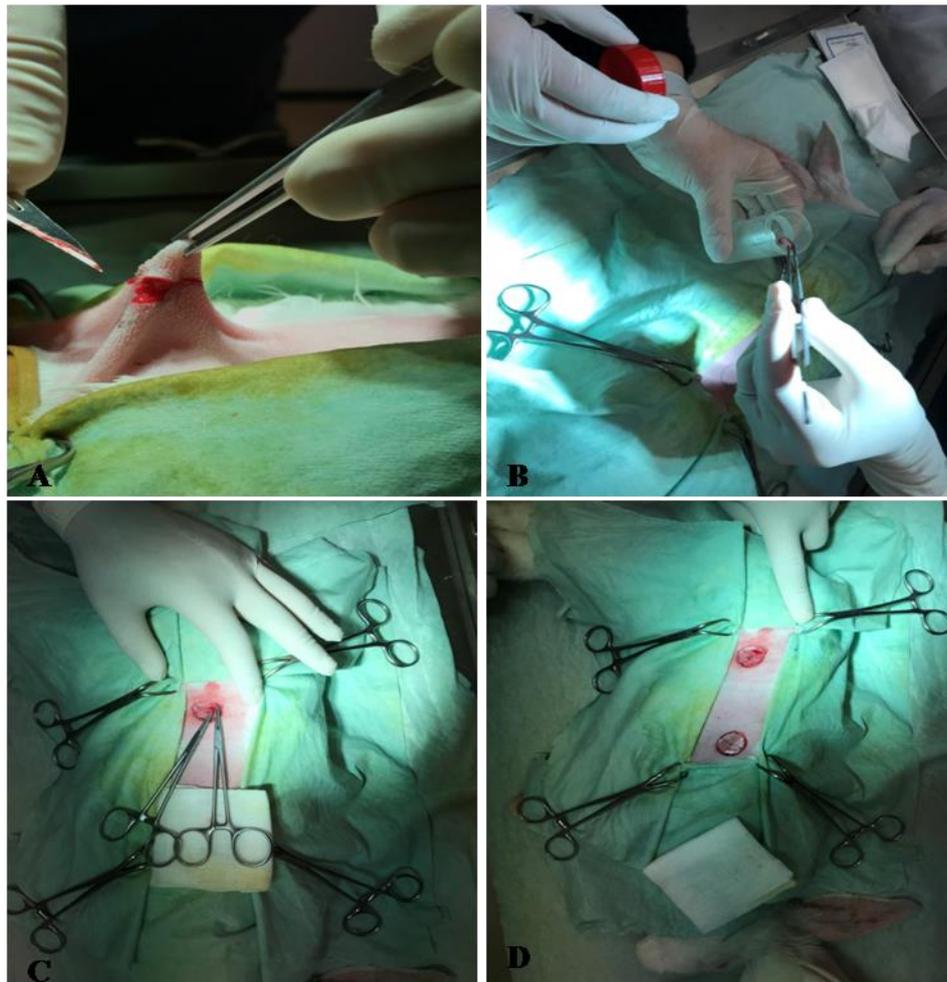
### b) Plaies d'excision

Quatre plaies d'excision complète de la peau ont été créées au niveau du dos de chaque animal, disposées d'une façon symétrique par rapport à la colonne vertébrale.

A l'aide d'une pince à disséquer la peau a été immobilisée, et à l'aide d'un bistouri elle a ensuite été excisée soigneusement se forme circulaire de 2cm de diamètre, afin de récolter l'épiderme et derme, et le fascia musculaire a été exposé. Ensuite, la peau excisée a été fixée dans un formol (10%) tamponné pour l'examen histologique d'une peau saine chez les lapins (Figure 29. A, B)

Pour l'arrêt du saignement, on utilise des pinces hémostatiques (Figure 29.C)

Toutes les règles de l'asepsie ont été rigoureusement respectées et toutes les plaies restent ouvertes et non suturées. (Figure 29. D)



**Figure 29.** Etapes d'excision de la peau

### 3.5. Traitements des plaies

L'administration des différents traitements a été effectuée localement par voie topique deux fois par jour pendant 3 jours. L'application des différents traitements a été réalisée à l'aide micropipette et l'ampoule renouvelée après chaque application.

Chaque lapin avec 4 plaies a été traité comme suivant

**Première plaie** c'est un témoin négatif a été traité par solution saline (Na Cl 09%).

**Deuxième plaie** c'est un témoin positif a été traité par Madécassol à 2% en poudre.

**Troisième plaie** a été traitée par le PRP (1ml par jour)

**Quatrième plaie** a été traitée par un mélange d'huile de lentisque et huile de sésame (1ml par jour)

### **3.6. Suivi de la cicatrisation**

#### **Suivi macroscopique**

##### **Étude de l'évolution de la cicatrisation par planimétrie digitale**

L'évaluation de la cicatrisation cutanée a été appréciée par planimétrie digitale ; le principe général de cette méthode consiste en la prise de photographies des plaies à intervalles réguliers le 3ème, 6ème, 12ème, 18ème et le 24ème jour postopératoire, jusqu'à ce que les plaies soient guéries, puis étudier l'évolution de leur surface par un logiciel de traitement d'image.

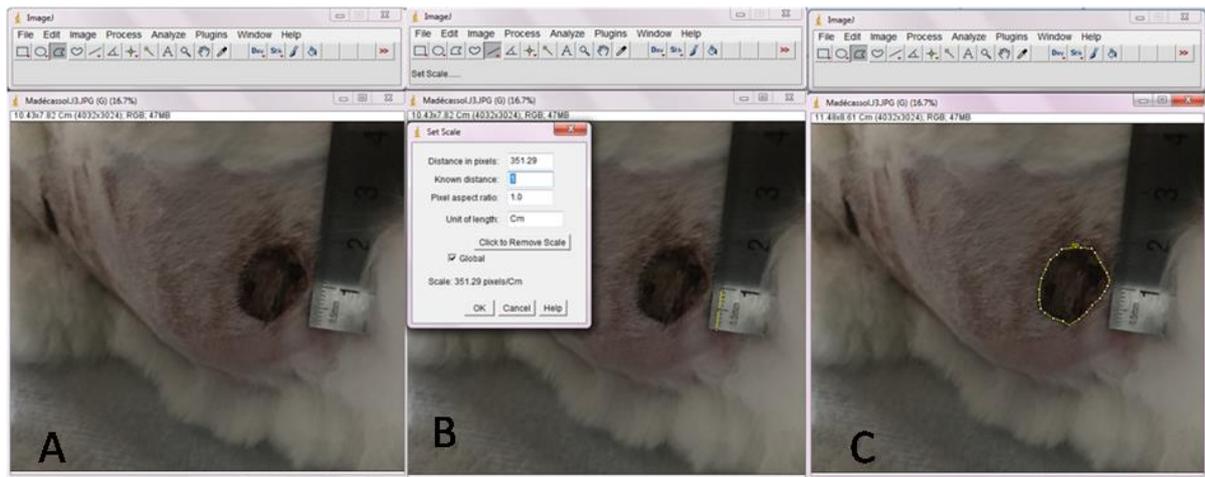
##### **3.6.1. Prise de photographies**

Les photographies des plaies ont été prises, avec une caméra de téléphone (iPhone 7 ; 12 Mégapixels). Une règle numérique a été placée autour de la plaie et inclus dans le cadre photographique pour permettre le calcul des dimensions de la plaie une fois téléchargées sur l'ordinateur.

L'avantage de la documentation de l'évolution de la cicatrisation par la photographie est qu'elle ne nécessite pas de contact avec la plaie ainsi qu'elle fournit un enregistrement permanent non seulement de la taille de la plaie, mais aussi de son apparence (Chang *et al.*,2011).

##### **3.6.2. Paramétrage du logiciel de traitement d'image ImageJ®**

Les photographies prises ont été traitées grâce au logiciel de traitement d'image ImageJ® (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA.) que nous avons adapté à notre étude (Figure 30.A). Ce programme peut donner des mesures précises de longueurs et de largeurs microscopiques dans n'importe quel système d'unité. Afin de permettre au logiciel de calculer les surfaces des plaies, il doit être calibré grâce à un étalon dont les mensurations sont connues ; ainsi toute photo prise doit comporter cet étalon. Nous avons utilisé comme étalon, une règle numérique incluse dans le cadre photographique (Figure 30.B). Après calibrage du logiciel, les bords de la plaie sont tracés en utilisant l'outil main libre de la barre d'outils ImageJ; en prenant soin de délimiter le contour réel de chaque plaie. Le logiciel calibré se charge ensuite d'afficher la surface de la plaie en convertissant les pixels images en centimètre carré (Figure 30.C).



**Figure 30.** Étapes permettant le calcul des surfaces des plaies

### 3.6.3. Calcul du pourcentage de rétraction

La méthode de mesure du pourcentage de rétraction de la zone de contraction des plaies est souvent utilisée par les scientifiques comme un paramètre important pour évaluer la cicatrisation de 2<sup>ème</sup> intention, Le pourcentage moyen de contraction de la plaie a été calculé par l'équation suivant (Singh *et al.* 2014).

$$\text{Le \% de contraction de la plaie} = \frac{\text{surface de plaie à } J(x) - \text{surface de plaie à } J(0)}{\text{surface de plaie à } J(0)} \times 100$$

### 3.6.4. Calcul de la période de réépithélialisation

La période de réépithélialisation est estimée par le nombre de jours requis pour la chute de l'escarre et fermeture totale de la plaie qui ne laisse derrière elle aucune blessure résiduelle à vif. (Boulebdia *et al.*, 2009)

# **Chapitre 4 :**

# **Résultats et discussion**

## **4.1. Résultats**

### **4.1.1. Choix d'animale**

Dans la présente étude, un modèle de lapin a été utilisé puisque les lapins sont significativement plus grands que les animaux de laboratoire les plus couramment utilisés comme les souris et les rats, mais restent faciles à manipuler et peu coûteux (Ramos *et al.*, 2008). Comparé à la peau des humains, la peau des lapins est élastique et abondante, avec une grande surface de tissu cutané par rapport à la taille du corps. Chez le lapin, le processus de guérison implique une contraction maximale de la plaie, avant le début de la migration cellulaire et le remodelage de la matrice (Lemo *et al.*, 2010).

### **4.2.1. Choix d'utilisation d'anticoagulant**

Le prélèvement sous anticoagulant permet d'éviter la formation trop rapide du caillot de fibrine, avant même de rendre le PRP utilisable. Alors, le choix de l'anticoagulant est primordial pour la qualité du PRP.

Lei *et al.* (2009) examinent l'effet des anticoagulants sur le PRP concluent que le ACDA (citrate-dextrose-adenosine acide) et le Citrate-Théophylline-Adénosine Dipyramidole (CTAD) ont obtenu de meilleurs résultats dans le maintien de l'intégrité des structures des plaquettes que l'héparine et le citrate de sodium.

D'autres chercheurs préférèrent l'utilisation d'ACD (adénosine citrate dextrose) et CPD (Citrate-phosphate-dextrose) pendant la préparation du PRP, Ces produits conservent mieux les thrombocytes et dotés, grâce aux ingrédients qu'ils contiennent, d'un pouvoir de soutien de la viabilité et du métabolisme des plaquettaire en prévenant leurs agglutination (Marx, 2001).

L'utilisation d'EDTA (éthylène diamine tétraacetic acid) n'est pas recommandé pour le PRP car cet anticoagulant fragmente les plaquettes. (Dohan *et al.*, 2005) et l'héparine modifie leur fonction (Cazenave *et al.*, 2004).

Durant notre étude, nous avons utilisé 01 volume d'anticoagulant ACD pour 6 volumes de sang (Cazenave *et al.*, 2004) pour toutes les analyses hématologiques réalisées.

### **4.1.3. Choix du protocole de préparation du PRP**

Le système de préparation du PRP est important, car la quantité de facteurs de croissance libérés, et donc secondairement la cicatrisation cutanée pourraient y être liées. Une étude expérimentale chez le lapin a été menée par Nagata *et al.* (2010) afin de comparer la quantité et la qualité des plaquettes d'un PRP issu d'une centrifugation unique et d'une double centrifugation conclue que le protocole de double centrifugation utilisé dans cette étude atteint

des concentrations de plaquettes plus élevées que le protocole de centrifugation unique et aussi a provoqué des altérations de la morphologie plaquettaire

Une autre étude a comparé cinq techniques de préparation en vue du traitement de tendinopathies, a l'objectif de recueillir un volume minimal de PRP afin de diminuer la pression lors de l'injection et de minimiser les douleurs, tout en présentant une concentration élevée en plaquettes. Selon celle-ci, la technique permettant de recueillir le PRP le plus concentré dans le volume le plus faible est la technique Plateltex®.(Kaux *et al.*, 2011)C'est ce qui a été prouvé aussi par l'étude des (Mazzucco *et al.*,2008).

C'est donc cette technique (Plateltex®) qui est utilisée pour préparer le PRP de notre étude.

#### **4.1.4. Volume du PRP récupéré**

À partir de 12 ml de sang total on a récupéré 3ml de PRP pour chaque animal.

La technique de centrifugation utilisée Plateltex® dans cette expérience permettait de recueillir le PRP le plus concentré ( $865 \times 10^9$  plaquettes/L) dans le volume le plus faible (0,34mL)(Kaux *et al.*, 2011).

Les concentrés plaquettaires ainsi préparés ne peuvent être conservés que 5 jours, entre 20 et 24 °C (Dohan *et al.*, 2005).

#### **4.1.5. Résultat d'anesthésie**

Pour une chirurgie de courte durée l'anesthésie générale de lapin est effectuée par un sédatif hypnotique qui fait dormir, un analgésique morphinique pour ne pas avoir mal et éventuellement un curare pour abolir le tonus musculaire(Flecknell, 2016). Dans notre étude, 10min à 15min après de l'injection de l'acépromazine et la kétamine , on note l'absence de la reflexe oculaire à la lumière et l'absence du reflexe musculaire, le lapin reste anesthésié pendant 1h à 1h 30min.

#### **4.1.6. Suivi clinique : Les observations cliniques**

Durant cette étude expérimentale pendant 4 semaines, nous pouvons constater que : D'abords concernant le comportement des animaux, nous n'avons observé aucun changement d'appétit, avec une miction et défécation normale. Les animaux ne semblent pas être affectés par la présence des plaies sur leurs dos, ainsi qu'au cours de l'application du traitement les animaux n'ont montré aucun symptôme d'agressivité ou d'hypersensibilité. Tous les animaux ont bien toléré cette procédure.

#### **4.1.7. Evaluation des aspects macroscopiques des plaies d'incision**

L'observation journalière et attentif des différents aspects macroscopiques des plaies cutanées (plaies traitées par PRP, plaies traitées par mélange d'huile, plaies traitées par Madécassol et plaies témoins traitées à l'aide d'une solution saline), nous a permis de constater ce qui suit :

-Toutes les plaies sont caractérisées par une fermeture primaire par formation d'un caillot sanguin (un exsudat séro-sanguinolent de fibrine) qui assure un « collage » physiologique transitoire de faible résistance durant les 07 heures post chirurgicales.

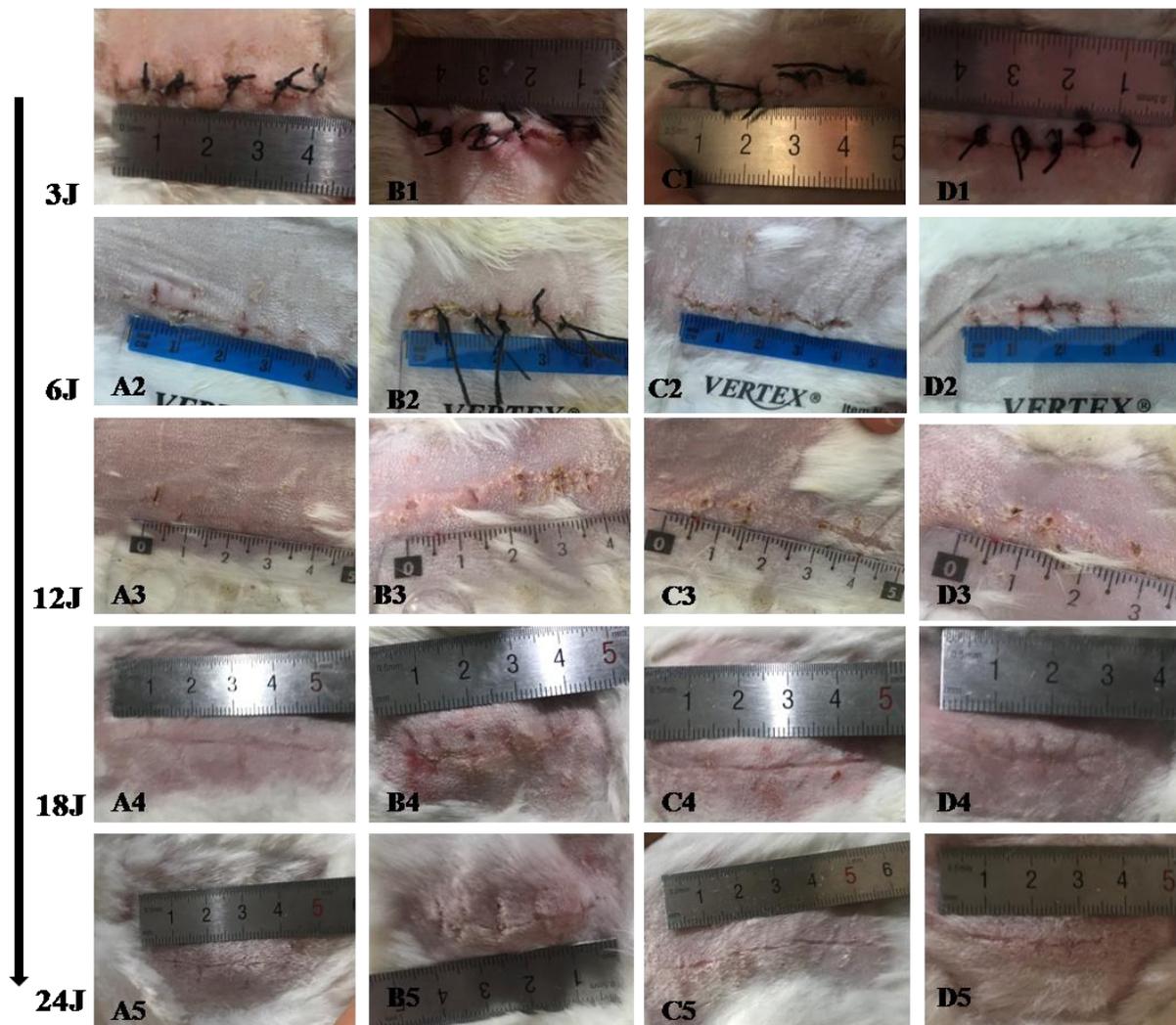
-Durant le 03<sup>ème</sup> jour post-chirurgical, nous observons que les différentes plaies étudiées présentent le même aspect témoignant la réaction inflammatoire, à savoir la rougeur et la tuméfaction. Les observations répétées ne révèlent aucune différence dans la contraction, l'épithélialisation et guérison des plaies avant 3<sup>ème</sup> jour.

-Nous constatons que toutes les plaies subissent un changement considérable de taille et surtout de façon remarquable dans les plaies traité avec PRP et apparition des croûtes, nous notons que l'apparition de cette croûte est précoce ; à partir du 4<sup>ème</sup> jour dans les plaies qui ont été traité par le PRP et à partir du 5<sup>ème</sup> jour dans les plaies traité par Madécassol et le mélange d'huiles est dans le 6<sup>ème</sup> jour pour les plaies témoins.

-Les observations des plaies vers le 6<sup>ème</sup> jour révèlent que les plaies traitées par le PRP subissent une épithélialisation recorde avec une couverture complète par une fine cicatrice, et les plaies traitées par le mélange d'huiles et le Madécassol présentent un tissu de granulation habituel qui le comble, ce tissu de granulation était plus lent dans les plaies témoins.

-Durant le 12<sup>ème</sup> jour, nous observons d'abords que toutes les plaies ont guéries avec une épithélialisation correcte surtout les plaies traitées par le PRP, avec une fine cicatrice dans les plaies traité par Madécassol et le mélange d'huiles et les plaies témoins

-Toutes les plaies sont guéries avec épithélialisation correcte dans le 18<sup>ème</sup> et 24<sup>ème</sup> jour.



**Figure 31.** Evolution de la cicatrisation et aspect macroscopique des plaies d'incision.

(A, B, C, D :1) plaies au 03<sup>ème</sup> j de cicatrisation (A, B, C, D :2) plaies au 06<sup>ème</sup> j de cicatrisation.

(A, B, C, D :3) plaies au 12<sup>ème</sup> j de cicatrisation. (A, B, C, D :4) plaies au 18<sup>ème</sup> j de cicatrisation.

(A, B, C, D :5) plaies au 24<sup>ème</sup> j de cicatrisation

(1,2,3,4,5 :A) : plaies traitées par le PRP. (1,2,3,4,5 : B): Plaies traitées par huiles.

(1,2,3,4,5 :C) : Plaies traitées par Madecassol. (1,2,3,4,5 :D) Plaies témoins, traitées par solution saline.

#### 4.8. Etude des plaies d'excision

##### 4.8.1. Période de réépithélialisation

La durée de cicatrisation totale des plaies, montre une différence significative à l'avantage de la plaie traitée par PRP. Cette dernière a enregistré des durées d'épithélialisation complète de 13 jours contre 15 jours pour les plaies traitées par Madecassol et de 16 jours pour le mélange des deux huiles, et 18 jours les plaies témoins.

**Tableau 5.** Durées moyennes de réépithélialisation complète des plaies

Les traitements	PRP	Madécassole	M.Huile	Na Cl
Le jour d'épithélialisation complète	J13	J15	J16	J18

#### 4.8.2. Evaluation des aspects macroscopiques

Cette méthode est une cicatrisation de deuxième intention, elle permet une meilleure comparaison entre les plaies. Alors un examen macroscopique de ces plaies permet d'évoquer les constatations suivantes :

Durant **les premiers jours post-chirurgical**, qui englobent la phase inflammatoire de la cicatrisation, la totalité des plaies révèlent une coloration rouge avec une tuméfaction importante, en présence moins que les plaies traitées par PRP qui ne démontrent aucun signe d'infection ou d'inflammation, nous notons que des escarres a quantité importante ont été remarquée dans les plaies traitée par le mélange d'huile de lentisque et huile sésame.

Les plaies traitées par le PRP ont enregistré, les premiers, des réductions importantes et significatives de leurs surfaces pendant la 12<sup>ème</sup> heures, et n'ont pas enregistré de réductions de surface comparées aux plaies laissées sans traitement et les plaies traitée par Madécassole, contrairement les plaies traitées par le mélange d'huile sont enregistré des pourcentages de rétraction négatifs. Cela s'est traduit par une augmentation de la taille des plaies par rapport à la taille de la plaie initiale qui suggérant un effet négatif du mélange d'huile durant la phase inflammatoire de la cicatrisation, jusqu'à le 03<sup>ème</sup> jour les plaies ont enregistré leur première réduction de taille surtout plaies témoins et les plaies traitées par Madécassol avec une rétraction inférieure à celle enregistrée par la plaie traitée par le mélange d'huile de lentisque et huile sésame.

L'évaluation macroscopique du 06<sup>ème</sup> jour post-chirurgicale révèle qu'un tissu de granulation est mis en place au sein des plaies traitées par le PRP avec une contraction remarquable des berges des plaies, marquant ainsi une épithélialisation partielle.

Toutes les plaies présentent des croûtes, mais les croûtes de plaies traitées par mélange d'huiles ont présentées un aspect moins sec et rugueux que celui des autres plaies.

Les escarres des plaies traitées par le mélange d'huiles sont ramollies rapidement sous l'effet des traitements. En effet, ces produits naturels gras ont contribué à maintenir la plaie

humide, accélérant ainsi la séparation des tissus vivants des tissus nécrosés, qui sont alors facilement éliminés.

#### **Au 12<sup>ème</sup> jour**

A ce stade, le processus inflammatoire est atténué pour la totalité des plaies avec la chute spontanée de la croûte surtout pour les plaies traitées par PRP et Madécassole.

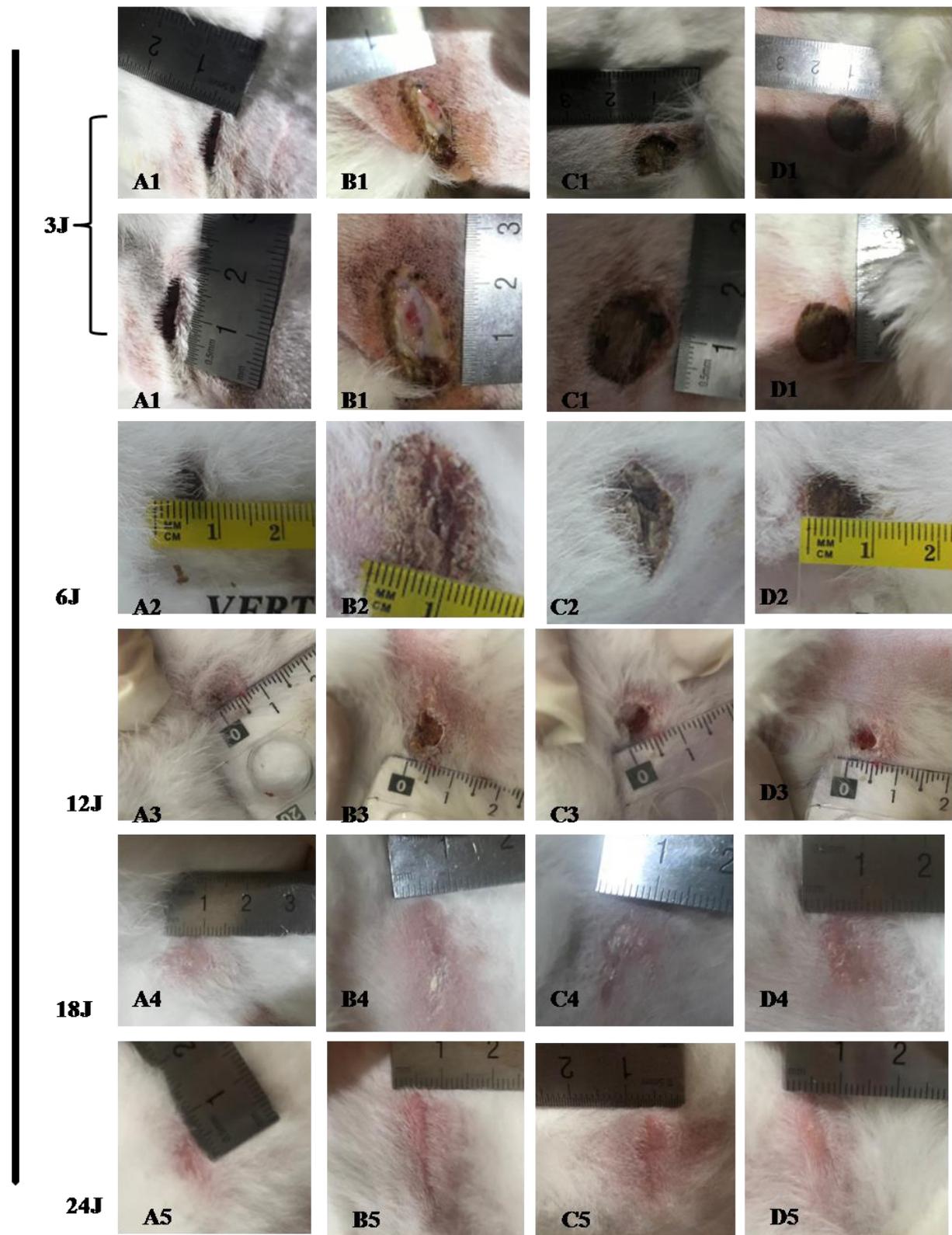
À partir de ce jour, La guérison se fait après le dépôt d'un volume important de tissu de granulation, la réépithélialisation et la contraction de la plaie accélèrent le recouvrement épidermique et la réduction du volume de tissu cicatriciel ainsi que la différence de taille entre les plaies s'est accentuée tandis que la plaie traitée par PRP a gardé sa contraction significative par rapport aux autres plaies (La plaie était presque invisible)

#### **Au 18<sup>ème</sup> jour,**

Nous observons un tissu cicatriciel bien organisé avec épithélialisation correcte et fermeture complète pour les plaies traitées par PRP sans effets chroniques ni formation de granulation tissulaire exubérante et avec un minimum de cicatrices. Nous observons également la réapparition des poils au niveau des sites traités par le PRP.

#### **Au 24<sup>ème</sup> jour.**

Le tissu cicatriciel est à présent mature et la guérison est complète dans toutes les plaies,



**Figure 32.** Evolution de la cicatrison et aspect macroscopique des plaies d'excision.

(A, B, C, D :1) plaies au 03<sup>ème</sup> j de cicatrison(A,B, C,D :2) plaies au 06<sup>ème</sup> j de cicatrison.

(A, B, C, D :3) plaies au 12<sup>ème</sup> j de cicatrison. (A, B, C, D :4) plaies au 18<sup>ème</sup> j de cicatrison.

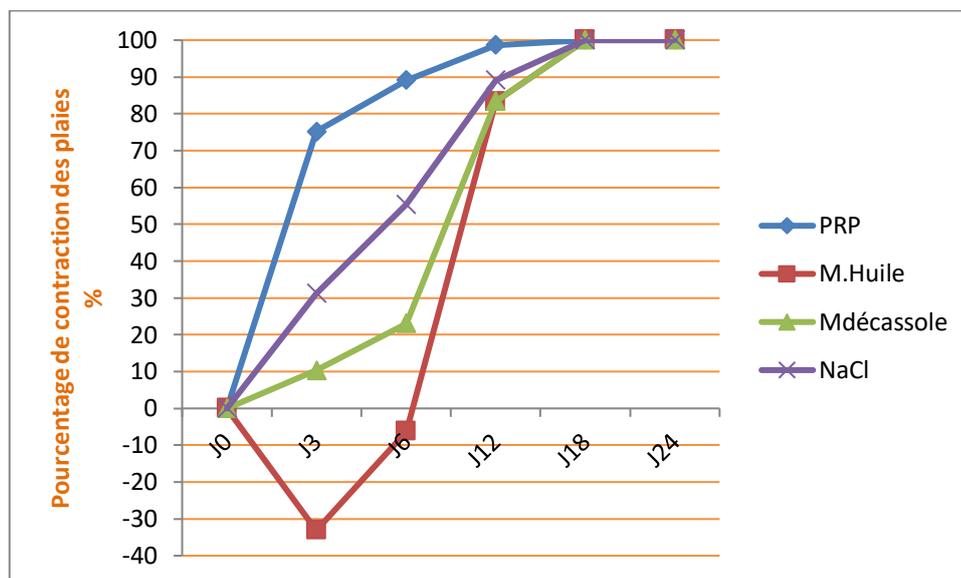
(A, B, C, D :5) plaies au 24<sup>ème</sup> j de cicatrison

(1,2,3,4,5 : A) : plaies traitées par le PRP (1,2,3,4,5 : B): Plaies traitées par huiles.

(1,2,3,4,5 :C) : Plaies traitées par Madécassol. (1,2,3,4,5 :D)Plaies témoins, traitées par solution saline

### 4.8.3. Evaluation de la contraction des plaies :

Le suivi de la contraction des plaies de J0 à J24 est représenté dans la figure suivante :



**Figure 33.** Variations du pourcentage de contraction de la surface des plaies

Les résultats, représentés par la Figure 33, ont montré une réduction significative des surfaces des plaies en fonction de temps, cette réduction est remarquable surtout au niveau des plaies d'animaux traitées par PRP.

Durant les premiers trois jours post-chirurgicale, Nous notons que le pourcentage moyen de contraction dans les plaies traitées par PRP était de (75,13 %) alors qu'il est de (10,29%) pour les plaies traitées par Madécassol et de (31,23%) pour les plaies traitées par la solution saline, le mélange d'huile a enregistré des pourcentages de rétraction négatifs de (-33,12%)

Arrivées à J6, les plaies traitées par PRP ont enregistré une contraction de (89,10%) et les plaies du M.Huiles ont enregistré leur première réduction de taille (-6,28%) par rapport aux plaies du Madécassole, leur pourcentage de rétraction a atteint (23,07%) contre (55,42%) pour les plaies témoins.

À J12, toutes les plaies du PRP ont totalement cicatrisées (98,98%), alors que celles des plaies traitées par Madécassole et M.Huiles présentent encore une surface moyenne d'un pourcentage de rétraction de (83,37%) et (83,33%) et les plaies témoins ont enregistré une réduction de (89,1%).

Au-delà du J18 et jusqu'au J24, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les différents groupes.

## 4.2. Discussion

-Plusieurs études cliniques, en médecine humaine et vétérinaire, sur la restauration de l'intégrité tissulaire ont montré le rôle positif du PRP dans la cicatrisation naturelle des plaies (Iacopetti *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2012).

Selon les résultats de cette étude, les plaies traitées au PRP ont montré une guérison macroscopiquement plus rapide que les groupes témoins et les groupes du Madécassol.

Dans notre étude, les lapins étaient en bonne santé et ne présentaient aucun signe et symptôme d'infection au jour 3 en présence de PRP, bien qu'une croûte partielle complète à la première semaine par le groupe PRP, les plaies ne contiennent ni infection ni congestion, puis ne présentent aucun exsudat. A la deuxième semaine, la plaie guérie complètement, avec une formation d'un nouveau tissu adhère bien au tissu sous-cutané, même au bord de la plaie, on a observé une amélioration complète dans le groupe PRP avec un croûtage plus rapide. Nos résultats sont en accord avec l'étude menée par Abdullah *et al.* (2019) qui ont suggéré que le traitement topique des plaies réalisé sur la peau du lapin par PRP autologue peut être utilisé comme thérapie clinique et peut améliorer la cicatrisation des tissus et une angiogenèse améliorée par rapport au traitement à l'oxyde de zinc.

Ces caractéristiques reflètent une régénération tissulaire accélérée, qui est l'un des effets connus de l'application de PRP (Pereira *et al.*, 2019)

Lorsqu'il est appliqué localement, les plaquettes accélèrent la guérison des tissus normaux et favorisent la cicatrisation des plaies altérées à cause de la libération de facteurs de croissance (PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, IGF-1 et HGF), comme déjà largement démontré (Yang *et al.*, 2011)

Le GF peut également moduler les phases d'inflammation et de prolifération du processus de cicatrisation des plaies; ainsi, réduire le risque de formation de cicatrices chéloïdes et hypertrophiques (Iacopetti *et al.*, 2012)

Les résultats de ces recherches montrent un rôle du PRP pour accélérer la cicatrisation des plaies, des rôles positifs similaires du PRP sont trouvés dans une étude expérimentale sur des lapins menée par Ostvar *et al.* (2016), le PRP a été appliqué localement sur les lésions créées sur le dos des animaux, puis il a été rapporté que la réépithélialisation, l'angiogenèse et le dépôt de collagène étaient statistiquement significativement augmentés par rapport au groupe témoin.

De plus, une étude sur les chiens réalisée par Jee *et al.* (2016), l'effet du PRP injecté dans le site de la plaie a été étudié sur la cicatrisation de la plaie, puis il a été rapporté avoir des

effets positifs sur l'angiogenèse, la formation de granulation, le dépôt de collagène et la réépithélialisation.

Cependant, ces résultats sont en accord avec les études induites par Farghali *et al.*(2019) qui ont noté une accélération de l'épithélialisation des plaies traitées avec PRP et résolution plus rapide dans la réponse inflammatoire et en plus peut augmenter la thérapie antibiotique grâce à sa propriété antimicrobienne.

-Les produits naturels cicatrisants manifestent leurs effets grâce à l'un des mécanismes suivant : effet antimicrobien, anti-inflammatoire, antioxydant, stimulation de la synthèse du collagène, de la prolifération cellulaire et effets angiogéniques. (Abdeldjelil, 2016)

Dans le cas de l'huile de sésame sa richesse en nombre d'antioxydants liposolubles tels que ; le sésamol, le sésaminol, le sésamolinol et la sésamoline, ces constituants possèdent une activité antioxydante très puissante, peuvent être responsables de l'activité de cicatrisation des plaies (Hu *et al.*, 2004; Kiran et Asad, 2008)

Dans le cas de l'huile de *Pistacia lentiscus* sa richesse en produits bioactifs tels que les acides gras, triglycérides, phytostérols, tocophérols...pourrait expliquer l'effet cicatrisant constaté. Les constituants de cette huile agiraient par divers mécanismes, mettant en jeu un effet de barrière et de protection, un effet antioxydant et anti-inflammatoire et enfin un éventuel effet antimicrobien. (Djerrou, 2011 ; Paterniti *et al.*, 2017)

Sachant que des effets synergiques entre les constituants de plusieurs remèdes naturels ont été rapportés (Abdeldjelil, 2016), nous avons comparé l'effet cicatrisant du mélange huile de lentisque et huile de sésame avec l'effet individuel de chacun de ses deux constituants.

Notre résultat montre un effet cicatrisant du mélange d'huile de lentisque et huile de sésame, Malgré un effet négatif sur la rétraction des plaies d'excision lors des premiers jours post-chirurgical, correspondant à la période inflammatoire de la cicatrisation.

Le mélange des huiles de lentisque et huile de sésame a permis un raccourcissement significatif de la période d'épithélialisation (15 jours) grâce à un effet cicatrisant marqué en période proliférative de la cicatrisation par rapport aux plaies témoins (18 jours), et de même que le Madécassol (16 jours).

Il est donc nécessaire d'entreprendre des études dans ce sens, notamment en reprenant l'étude effectuée par Boulebda *et al.*(2009) qui a évalué l'effet de l'huile grasse de fruits *Pistacia lentiscus* sur la cicatrisation cutanée chez le rat, et comparer cet effet à celui des fractions huileuses saponifiables et insaponifiables. L'huile du fruit et les deux fractions ont été évaluées avec un médicament conventionnel, c'est-à-dire Madecassol®. Les résultats

confirment clairement l'effet potentiel de la cicatrisation des plaies par l'application d'huile de lentisque et un pourcentage de contraction de 15,7 % dans le sixième jour.

Une étude comparative concernant les résultats de cicatrisation des plaies traitées par l'huile de sésame ont démontré que le traitement par l'huile de sésame était plus efficace pour cicatriser les plaies d'excision et de brûlure que les plaies d'incision, il augmente le poids des tissus de granulation et la résistance à la rupture avec une contraction de 50% a 9 jours et une période de réépithélisation de 14jours(Kiran et Asad, 2008).

Dans notre étude, l'effet cicatrisant comparatif entre les quatre produits a été significativement différent, suggérant l'efficacité du PRP sur l'accélération de la cicatrisation des plaies et suggérant l'absence d'un effet synergique entre l'huile de lentisque et l'huile de sésame.

# **Conclusion**

## Conclusion

Le PRP regroupe l'ensemble des éléments nécessaires à une cicatrisation optimale : plaquettes, cytokines et facteurs de croissance, parfois leucocytes. Sa rapidité de préparation, sa facilité de production, son utilisation aisée, sa faible nature invasive et son coût relativement bon marché sont autant d'arguments en faveur d'une thérapie de choix.

Notre étude sur les plaies expérimentales chez le lapin constitue une contribution à une meilleure connaissance de l'effet cicatrisant du plasma riche en plaquettes obtenu par un protocole de double centrifugation, sur la cicatrisation cutanée induite par l'incision et l'excision complète de la peau notamment par la comparaison de cet effet avec celui du mélange de huile de lentisque et huile de sésame et le Madecassol.

Nos résultats ont montré que l'utilisation de PRP, réduisait l'inflammation au cours des premiers jours post-chirurgicale, réduisait la surface de contraction des plaies à (89,10%) pendant la 1<sup>ère</sup> semaine et favorise l'épithélialisation en deux semaines de cicatrisation.

Au terme de notre travail, nous avons conclu que l'application topique du PRP est une thérapeutique sûre et efficace dans le traitement des cicatrices cutanées.

Une des limitations qu'on peut citer c'est : Qu'en sera-t-il le PRP dans 20 ans ? L'utilisation du PRP sur la cicatrisation cutanée serait-elle un MYTHE en face à la concurrence féroce ; les traitements par les cellules souches !!!! Ou fera-t-elle définitivement partie de notre REALITE ?

Ce travail n'est pas fini à cause du COVID19!!, et pour mieux confirmer les résultats précédents, il serait important de dégager des perspectives comme suivantes :

- ❖ Comparer des différents protocoles de préparation du plasma riche en plaquettes avec des quantifications des plaquettes et leurs facteurs de croissances.
- ❖ Etudier l'anatomie et pathologie aussi bien que les paramètres biochimiques pour dévoiler l'aspect biochimique et histopathologique.
- ❖ Tester le PRP sur autre types de cicatrisation ; les brûlures
- ❖ Etudier l'effet du PRP sur l'autogreffe de la peau.
- ❖ Evaluer la propriété antimicrobienne du PRP pour la prévention des infections associées à l'implant.

# **Références Bibliographiques**

## Bibliographie

- Abdeldjelil M.C. 2016. Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat. Thèse de doctorat d'état, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Alger, 185p.
- Abdullah B.J., Atasoy N., Omer A.K., 2019. Evaluate the effects of platelet rich plasma (PRP) and zinc oxide ointment on skin wound healing. *Ann. Med. Surg.* 37: 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2018.11.009>
- Amable P., Carias R.B., Teixeira M.V., Cruz Pacheco Í., Corrêa do Amaral R.J., Granjeiro J., Borojevic R. 2013. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res. Ther.* 4: 67. <https://doi.org/10.1186/scrt218>
- Andia I., Sánchez M., Maffulli N. 2012. Joint pathology and platelet-rich plasma therapies. *Expert Opin. Biol. Ther.* 12: 7–22. <https://doi.org/10.1517/14712598.2012.632765>
- Anitua E. 2001. Use of plasma rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pr. Proced Anesth Dent* 13: 487–493.
- Belayachi B. 2019. L'intérêt du Plasma Riche en Plaquettes (PRP) dans la prise en charge de la gonarthrose : Expérience du service de Traumatologie-Orthopédie à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. Thèse de doctorat d'état, Cadi Ayyad, Marrakech, 149p.
- Beroual K. 2014. Impact de *linum usitatissimum* sur la régénération épithéliale et sur la pousse de poils. Thèse de doctorat d'état, Université Constantine 1, Alger, 156p.
- Berrada El Azizi D. 2017. L'apport de l'injection du PRP dans les séquelles de cicatrices cutanées de la face. Thèse de doctorat d'état, Cadi Ayyad, Marrakech, 132p.
- Boulebda N., Belkhiri A., Belfadel F., Bensegueni A., Bahri L. 2009. Dermal Wound Healing Effect of *Pistacia Lentiscus* Fruit's Fatty Oil. *Pharmacogn. Res. Phcog Res* 1(2): 66–71.
- Cazenave J. P., Ohlmann P., Cassel D., Eckly A., Hechler B., Gachet C. 2004. Preparation of Washed Platelet Suspensions From Human and Rodent Blood, in: *Platelets and Megakaryocytes*. Humana Press, New Jersey, pp. 013–028. <https://doi.org/10.1385/1-59259-782-3:013>
- Charousset D.C. 2017. Utilisation du PRP dans la gonarthrose du sportif. *Le Point Sur* 14(127):180-182.
- Chere S. 2016. Les Plasmas Riches en Plaquettes (PRP) dans le traitement local des traumatismes tendino-musculaires. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France, 136p.
- Ciesla B. 2007. *Hematology in practice*. F.A. Davis Co, Philadelphia. 348p.

- Curasan®. ATR-Curasan Set. Curasan Regenerative Medicine [en ligne]  
[http://dent2go.net/pdf/files/ATR-brochure\\_1.pdf](http://dent2go.net/pdf/files/ATR-brochure_1.pdf)
- Daikh B. 2019. L'effet du plasma riche en plaquettes sur la reconstitution des tissus chez les ovins. Thèse de doctorat, Université de Batna 1 - Institut des Sciences Veterinaires et des Sciences Agronomiques, Alger, 121p.
- Dhurat R., Sukesh M. 2014. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *J. Cutan. Aesthetic Surg.* 7:189.  
<https://doi.org/10.4103/0974-2077.150734>
- Djerrou Z. 2011. Etude des effet pharmaco toxicologiuques des plantes médicinales d'Algérie: Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de Pistacia Lentiscus L. Thèse de doctorat, Université Mentouri De Constantine, Alger, 131p.
- Dohan Ehrenfest D.M., Rasmusson L., Albrektsson T. 2009. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 27:158–167.  
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- Dohan S., Dohan A., Choukroun J., Diss A., Simonpieri A., Girard M.-O., Dohan D. 2005. De l'usage des concentrés plaquettaires autologues en application topique. *EMC - Odontol.* 1:141–180. <https://doi.org/10.1016/j.emcodo.2005.04.001>
- Du, L., Miao, Y., Li, X., Shi, P., Hu, Z., 2018. A Novel and Convenient Method for the Preparation and Activation of PRP without Any Additives: Temperature Controlled PRP. *BioMed Res. Int.* 2018, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2018/1761865>
- Dugrillon A., Eichler H., Kern S., Klüter H. 2002. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 31: 615–619. <https://doi.org/10.1054/ijom.2002.0322>
- Elaine M. 2008. Biologie humain: principes d'anatomie et physiologie, 8th édition. Pearson, Paris. 631p.
- Englert S.J., Estep T.H., Ellis-Stoll C.C. 2005. Autologous Platelet Gel Applications During Cardiovascular Surgery: Effect on Wound Healing. *J. Am. Soc. Extra-Corpor. Technol.* 37:148–152.
- Eppley B.L., Pietrzak W.S., Blanton M. 2006. Platelet-Rich Plasma: A Review of Biology and Applications in Plastic Surgery: *Plast. Reconstr. Surg.* 118: 147–159.  
<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000239606.92676.cf>
- Farghali H.A., Abdelkader N.A., AbuBakr H.O., Aljuaydi S.H., Khattab M.S., Elhelw R., Elhariri M. 2019. Antimicrobial action of autologous platelet-rich plasma on MRSA-infected skin wounds in dogs. *Sci. Rep.* 9: 12722. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48657-5>
- Flecknell P.A. 2016. Laboratory animal anaesthesia, Fourth edition. ed. Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier, Amsterdam ; Boston, 321p.

Guide pratique d'administration et de prélèvements sanguins, 2018.

Gunaydin S., McCusker K., Sari T., Onur M., Gurpinar A., Sevim H., Atasoy P., Yorgancioglu C., Zorlutuna Y. 2008. Clinical impact and biomaterial evaluation of autologous platelet gel in cardiac surgery. *Perfusion* 23: 179–186. <https://doi.org/10.1177/0267659108097783>

Hammond J.W., Hinton R.Y., Curl L.A., Muriel J.M., Lovering R.M. 2009. Use of Autologous Platelet-rich Plasma to Treat Muscle Strain Injuries. *Am. J. Sports Med.* 37:1135–1142. <https://doi.org/10.1177/0363546508330974>

Harald T., Heinz D., Torsten H. 2006. Atlas de poche d'hématologie. flammaria, Paris.

Harmon K., Hanson R., Bowen J, Greenberg S.,Magaziner S, Vandenbosch J, Harshfield D, Shiple B, Audley D.2013.Guidelines for the Use of Platelet Rich Plasma.Int. Cell. Med. Soc. 41(2): 356–364.

Hartwig J.H. 2006. The Platelet: Form and Function. *Semin. Hematol.* 43: 94–100. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2005.11.004>

Hé D. 2006. Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanees chez le chien et le chat. thèse de doctorat, Université de Paul-Sabatier de Toulouse, 185p.

Hélène R. 2009. Évaluation de la régénération tendineuse suite à l'injection de concentrés plaquettaires dans les tendons lésés des rats. Mémoire de master, Université de Liège, France, 64p.

Hongshuai L., Bingyun L. 2013. PRP as a New Approach to Prevent Infection: Preparation and In vitro Antimicrobial Properties of PRP. *J. Vis. Exp.* 50351. <https://doi.org/10.3791/50351>

Hu Q., Xu J., Chen S., Yang F. 2004. Antioxidant Activity of Extracts of Black Sesame Seed (*Sesamum indicum* L.) by Supercritical Carbon Dioxide Extraction. *J. Agric. Food Chem.* 52: 943–947. <https://doi.org/10.1021/jf034485x>

Iacopetti I., Perazzi A., Ferrari V., Busetto R. 2012. Application of Platelet-Rich Gel to Enhance Wound Healing in the Horse: A Case Report. *J. Equine Vet. Sci.* 32: 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.012>

Jee C.-H., Eom N.-Y., Jang H.-M., Jung H.-W., Choi E.-S., Won J.-H., Hong I.-H., Kang B.-T., Jeong D.W., Jung D.-I. 2016. Effect of autologous platelet-rich plasma application on cutaneous wound healing in dogs. *J. Vet. Sci.* 17: 79. <https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.1.79>

Kaux J.-F., Le Goff C., Seidel L., Péters P., Gothot A., Albert A., Crielaard J.-M. 2011. Étude comparative de cinq techniques de préparation plaquettaire (platelet-rich plasma). *Pathol. Biol.* 59:157–160. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.04.007>

Kiran K., Asad M. 2008. Wound healing activity of *Sesamum indicum* L seed and oil in rats. *Indian J Exp Biol* 777-782.

- Lei H., Gui L., Xiao R. 2009. The effect of anticoagulants on the quality and biological efficacy of platelet-rich plasma. *Clin. Biochem.* 42: 1452–1460.  
<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.06.012>
- Lemo N., Marignac G., Reyes-Gomez E., Lilin T., Crosaz O., Ehrenfest D.M.D. 2010. Cutaneous reepithelialization and wound contraction after skin biopsies in rabbits: a mathematical model for healing and remodelling index. *Vet Arh.* 80 (5): 637-652.
- Marieke de M., van der Windt A.E., Jahr H., van Schie H.T.M., Weinans H., Verhaar J.A.N., van Osch, G.J.V.M., 2008. Can Platelet-Rich Plasma Enhance Tendon Repair?: A Cell Culture Study. *Am. J. Sports Med.* 36: 1171–1178.  
<https://doi.org/10.1177/0363546508314430>
- Marx R., Carlson Ue.R., Eichstaedt D, Dr.M. 1998. Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral surgery oral medicine oral pathology* 85(6): 638-646.
- Marx R.E. 2004. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 62: 489–496. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2003.12.003>
- Marx R.E. 2001. Platelet-Rich Plasma (PRP): What Is PRP and What Is Not PRP? *Implant dentistry.* 10(4):225-228.
- Matras, H. 1985. Fibrin Sealant in Maxillofacial Surgery Development and Indications A Review of the Past 12 Years. *Facial Plast. Surg.* 2: 297–313.
- Mazzucco L., Balbo V., Cattana E., Borzini P. 2008. Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using Plateltex®. *Vox Sang.* 94: 202–208. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2007.01027.x>
- Mercier, V., 2011. Stimulation de la cicatrisation du tissu gingival et du tissu osseux par l'utilisation de concentrés plaquettaires. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré Nancy-I, France, 158p.
- Nagata M.J.H., Messori M.R., Furlaneto F.A.C., Fucini S.E., Bosco A.F., Garcia V.G., Deliberador T.M., de Melo L.G.N. 2010. Effectiveness of Two Methods for Preparation of Autologous Platelet-Rich Plasma: An Experimental Study in Rabbits. *Eur. J. Dent.* 04:395–402. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1697859>
- Nguyen T.K.A. 2013. Rôle Inflammatoire Des Plaquettes Sanguines : Application En Transfusion. Thèse de doctorat, Jean Monnet de Saint-Étienne, Membre de l'Université de Lyon, France, 318p.
- Nicole M. 2014. *Biologie Anatomie Physiologie*, 5<sup>ème</sup> éd. Maloine, Paris, 407p.
- Ostvar O., Shadvar S., Yahaghi E., Azma K., Fayyaz A.F., Ahmadi K., Nowrouzian I. 2016. Retraction note: Effect of platelet-rich plasma on the healing of cutaneous defects exposed to acute to chronic wounds: a clinico-histopathologic study in rabbits. *Diagn. Pathol.* 11: 113. <https://doi.org/10.1186/s13000-016-0556-5>

- Paques M., Chastang C., Mathis A., Sahel J., Massin P., Dosquet C., Korobelnik J.F., Le Gargasson J.F., Gaudric A. 1999. Effect of autologous platelet concentrate in surgery for idiopathic macular hole. *Ophthalmology* 106: 932–938.  
[https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(99\)00512-6](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(99)00512-6)
- Paterniti I., Impellizzeri D., Cordaro M., Siracusa R., Bisignano C., Gugliandolo E., Carughi A., Esposito E., Mandalari, G., Cuzzocrea S. 2017. The Anti-Inflammatory and Antioxidant Potential of Pistachios (*Pistacia vera* L.) *In Vitro* and *In Vivo*. *Nutrients* 9: 915. <https://doi.org/10.3390/nu9080915>
- Pereira R.C. F., De La Côte F.D., Brass K.E., Silva Azevedo M., Gallio M., Cantarelli C., Dau S.L., Cezar A.S., Inkelmann M.A. 2019. Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds. *J. Equine Vet. Sci.* 72: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.10.00>
- Platextex®. Plateltex®prep Kit for the preparation of concentrated platelet-rich plasma (PRP) [en ligne] [http://www.plateltex.com/data/pdf/istruction\\_sheet\\_prep\\_2010.pdf](http://www.plateltex.com/data/pdf/istruction_sheet_prep_2010.pdf)
- Pointel J.P., Boccalon H., Cloarec M., Ledevaha C., Joubert M. 1987. Titrated Extract of *Centella Asiatica* (TECA) in the Treatment of Venous Insufficiency of the Lower Limbs. *Angiology* 38: 46–50. <https://doi.org/10.1177/000331978703800106>
- Quarteiro M.L., Tognini J.R.F., de Oliveira E.L.F., Silveira I. 2015. The effect of platelet-rich plasma on the repair of muscle injuries in rats. *Rev. Bras. Ortop. Engl. Ed.* 50: 586–595. <https://doi.org/10.1016/j.rboe.2015.08.009>
- Ramos M.L.C., Gragnani A., Ferreira L.M. 2008. Is There an Ideal Animal Model to Study Hypertrophic Scarring?: *J. Burn Care Res.* 29: 363–368.  
<https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3181667557>
- Schnabel L.V., Mohammed H.O., Miller B.J., McDermott W.G., Jacobson M.S., Santangelo K.S., Fortier L.A. 2007. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. *J. Orthop. Res.* 25: 230–240.  
<https://doi.org/10.1002/jor.20278>
- Scott A. 2004. What do we mean by the term “inflammation”? A contemporary basic science update for sports medicine. *Br. J. Sports Med.* 38: 372–380.  
<https://doi.org/10.1136/bjsm.2004.011312>
- Sevestre J. 1980. *Éléments de chirurgie animale bases biologiques et technique: anesthésie réanimation péri-opératoire.* édition du point vétérinaire.
- Shin M.K., Lee J.H., Lee S.J., Kim N.I. 2012. Platelet-Rich Plasma Combined with Fractional Laser Therapy for Skin Rejuvenation: *Dermatol. Surg.* 38: 623–630.  
<https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2011.02280.x>
- Singer A.J. 1999. Cutaneous Wound Healing. *N. Engl. J. Med.* 738-746.
- Singh S., Sharma, N. 2014. Evaluation of wound healing activity of acacia auriculiformis a. *Cunn. Stem Bark* 7(2): 205-207.

- Smith R.G., Campbell M.S. 2007. Platelet-Rich Plasma: Properties and Clinical Applications *The Journal of Lancaster General Hospital* 2(2): 73-78.
- Sumida E., Iwasaki Y., Akiyoshi K., Kasugai S. 2006. Platelet Separation From Whole Blood in an Aqueous Two-Phase System With Water-Soluble Polymers. *J. Pharmacol. Sci.* 101: 91–97. <https://doi.org/10.1254/jphs.FP0060062>
- Tang Y.Q., Yeaman M.R., Selsted M.E. 2002. Antimicrobial Peptides from Human Platelets. *Infect. Immun.* 70: 6524–6533. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.12.6524-6533.2002>
- Tarlov I.M. 1943. PLASMA CLOT SUTURE OF NERVES: EXPERIMENTAL TECHNIC. *Arch. Surg.* 47: 44. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1943.01220130047006>
- Terdjman A. 2017. Intérêt de la fibrine riche en plaquettes (PRF) en chirurgie orale. Paris Descartes, France.
- Tortora et Derrickson. 2007. Principe d'anatomie et de physiologie, 4<sup>ème</sup> ed. De boeck, Paris 1246p.
- Xie X., Zhang C., Tuan, R.S. 2014. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. *Arthritis Res. Ther.* 16: 204. <https://doi.org/10.1186/ar4493>
- Yang H.S., Shin J., Bhang S.H., Shin J.Y., Park J., Im G.I., Kim C.S., Kim B.S. 2011. Enhanced skin wound healing by a sustained release of growth factors contained in platelet-rich plasma. *Exp. Mol. Med.* 43: 622. <https://doi.org/10.3858/emm.2011.43.11.070>
- Young J.Z., medawar P.B., n.d. Fibrin suture of peripheral nerves. *Lancet* 239:1940.
- Zhang J., Middleton K.K., Fu F.H., Im H.J., Wang J.H.C. 2013. HGF Mediates the Anti-inflammatory Effects of PRP on Injured Tendons. *PLoS ONE* 8:67303. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067303>

## Annexes I: Kit Plateltex®prep

Plateltex®prep doit être exclusivement utilisé par un personnel médical formé, sous la surveillance et la responsabilité du médecin. En aucun cas, l'utilisation de ce kit ne peut être autorisée à des fins d'automédication. Les produits biologiques préparés doivent être employés dans le but d'une approche thérapeutique complète et précise.

**Description du contenu :** le kit comprend trois emballages stériles :

N°1 : 1 aiguille 21G à ailettes + 6 tubes de 8,5 mL ACD (Citrates-Dextrose-Adénosine acide) à bouchon jaune

N°2 : 1 seringue *luer-lock* de 20 mL avec aiguille en plastique + 2 tubes vides de 15 mL à bouchon bleu  
N°3 : 1 seringue *luer-lock* de 20 mL avec aiguille en plastique + 1 seringue *luer-lock* de 10 mL avec aiguille en plastique + 2 bouchons *luer-lock*.

Le protocole se déroule en 4 étapes :

Etape 1 :

Vérifier les antécédents médicaux afin de s'assurer que le patient n'est pas sous traitement anticoagulant. Préparer le patient à la prise de sang.

Ouvrir l'emballage n°1.

Utiliser le contenu de l'emballage n°1 pour effectuer la prise de sang du patient, selon les protocoles de soins infirmiers (chacun des tubes sera fixé au système de collecte une fois l'aiguille insérée dans une veine du patient). Remplir les 6 tubes de sang du patient, pour une collecte totale d'environ 50 mL.

Placer les tubes dans une centrifugeuse de manière à équilibrer le système. Exécuter la 1ère centrifugation : 160 à 180g pendant 10 minutes (selon le type de centrifugeuse : rotor angulaire ou basculant)

Etape 2 : sous une hotte à flux laminaire :

Retirer les tubes de la centrifugeuse, les ouvrir et les placer sur un support.

Ouvrir l'emballage n°2, déboucher les 2 tubes gradués (bouchon bleu) et les placer sur un autre support. Monter l'aiguille en plastique sur la seringue de 20 mL.

Aspirer doucement (afin d'éviter les turbulences) du PRP des trois 1ers tubes (environ 5 mL/tube).

La récolte d'une petite partie des globules rouges n'affectera pas le processus. Transférer le PRP dans un des 2 tubes gradués.

Répéter la procédure avec les trois tubes restants et transférer le PRP dans le second tube gradué. Fermer correctement les 2 tubes gradués.

Etape 3 :

Placer les 2 tubes gradués dans la centrifugeuse de façon à équilibrer le système. Exécuter la 2ème centrifugation : 1200 ou 1000g pendant 10 minutes.

**Etape 4** : sous une hotte à flux laminaire : Retirer les tubes de la centrifugeuse et les placer sur un support.

Ouvrir l'emballage n°3 et monter l'aiguille en plastique sur la seringue de 20 mL. Déboucher les 2 tubes gradués. Aspirer doucement, à l'aide de la seringue de 20 mL, le PPP de telle sorte à laisser environ 1,5 mL de PRP+PPP au fond du tube.

Répéter la procédure avec le second tube gradué.

Retirer et jeter l'aiguille. Fermer la seringue contenant le PPP à l'aide d'un bouchon *luer-lock*.

La conserver éventuellement pour une utilisation future. Monter l'aiguille en plastique sur la seringue de 10 mL. Secouer légèrement le PRP+PPP du fond du tube gradué.

Collecter le concentré de PRP à l'aide de la seringue de 10 mL.

Le concentré de PRP est prêt à l'emploi.

Le cas échéant, fermer la seringue à l'aide du bouchon *luer-lock*.

**Quelques recommandations** : Ne jamais utiliser le produit après la date d'expiration. Stocker le kit dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière. L'emballage scellé et étiqueté contient du matériel stérile : ne jamais utiliser le kit si des anomalies sur le conditionnement ont été constatées.



### Kit for the preparation of concentrated platelet-rich plasma (PRP)

**Plateltex Prep®** is a device that allows, through a simple blood collection from the patient and two successive centrifugations, to obtain platelet-rich plasma (PRP). PRP can be used for all known clinical uses in particular, thanks to the high concentration of the final product, it is suitable for the preparation of platelet gel as per **Plateltex Act®**.

**Plateltex Prep®** should be used exclusively by a medical staff or specialist nurses under the physician's immediate monitoring and responsibility. The device and the biological products prepared with it could be employed in the scope of a complete and accurate clinical-therapeutic approach, possibly following the criteria of evidence-based medicine (EBM). In no instance self-medication is allowed using the device and the biological derivatives prepared with the device itself.

#### DESCRIPTION OF CONTENTS

FOUCH-N 1: 1.250 butterfly needle with extension and slider, 6 gel on cap ACD tubes 6.5 ml;  
FOUCH-N 2: 10 mL Luer lock syringe with a plastic needle, 2 empty 10 mL Luer cap graduated tubes;  
FOUCH-N 3: 10 mL Luer lock syringe with a plastic needle, 1.10 mL Luer lock syringe with plastic needle, 2 Luer lock caps

#### INSTRUCTIONS FOR USE

##### STEP 1

- Check the medical history to make sure the patient has not taken anticoagulant drugs and prepare the patient for blood collection, with the necessary procedures.
- Open the outer envelope and pouch # 1
- Use the device in pouch # 1 to perform the collection of blood from the patient's vein, as prescribed by a using protocol, (NOTE: each tube will be attached to the collecting system only after inserting the needle into a vein).
- Each tube will require an amount of 35 ml of blood for a total of approximately 50 mL.
- Store the collected blood by gently turning the tubes upside down several times. Finally, place the tubes in a centrifuge in a way to have them properly balanced and run the first centrifugation.

##### First centrifugation (fig.1)

- With fixed angle rotor: 180 g for 10 minutes
- With G-R® tilt rotor: 180 g for 10 minutes  
(Depending on the centrifuge used, these parameters may be more finely adjusted)

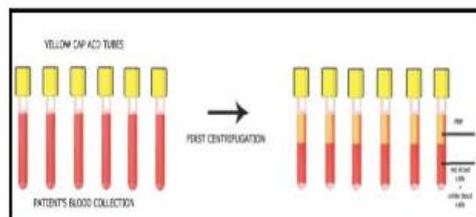


Fig.1

Inside the tubes, after the first centrifugation, there is a PRP in the phase that is above the red blood cells phase.

##### STEP 2 (under a laminar flow hood)

- Remove the tubes from the centrifuge and, under a laminar flow hood, gently open them and place them in a rack.
- Open pouch # 2, unwrap the two graduated tubes and place them in another rack under the same hood.
- Fit the plastic needle on the 20 mL syringe.
- Gently aspirate with the syringe the PRP from the first three tubes starting from the top and ending with the buffy coat above the red cells. Try not to create turbidities, through harvesting of a small part of red blood cells will not affect neither the process nor the therapeutic value of the PRP.
- After completing the collection of PRP from the first three tubes (about 15 mL) transfer it in the first graduated tube.
- Repeat the procedure with the remaining three tubes and transfer the PRP in the second graduated tube.
- Close firmly the two graduated tubes now containing approximately 30 mL of PRP.

##### STEP 3

Take the two tubes from the rack and place them in the centrifuge, being careful to place them in a way that they will be balanced during rotation.

##### Second centrifugation

- With fixed angle rotor: 1200 g for 10 minutes
- With G-R® tilt rotor: 1000 to 1100 g for 10 minutes  
(Depending on the centrifuge used, these parameters may be more finely adjusted)

Inside the tube, after the second centrifugation, concentrated PRP is the phase that is below the PRP (platelet poor plasma) phase. (Fig. 2)

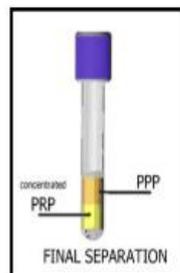


Fig.2

##### STEP 4 (under a laminar flow hood)

- Remove the tubes from the centrifuge and, under a laminar flow hood, place them in a rack.
- Open pouch # 3 and insert the plastic needle on the 20 mL syringe.
- Unwrap the two graduated tubes; with the 20 mL syringe gently aspirate from the first one the PRP starting from top so that about 2-3 mL of PRP will remain on the bottom, depending on the degree of concentration desired.
- Perform the same procedure with the second tube. Remove and discard the plastic needle.
- Close the syringe containing the PRP with the provided cap and keep it for future use. The PRP collected in the 20 mL syringe can be used to obtain fibrin membranes with residual growth factors. To do this, follow the instructions provided with **Plateltex Act®**.
- Gently shake the rack to lead to a slight reshuffling of the PRP concentrate with the remaining PPP and then collect the PRP concentrate obtained with the 10 mL syringe.
- The PRP concentrate is ready for use. It will not be used immediately close the syringe with the provided cap.

#### Recommendations for a correct use of the set

**Plateltex Prep®** set is supplied in a sealed and labeled packaging. The set contains sterile materials. Never use the product after the expiry date. Store the device in a cool and dry place far from the direct sunlight. Never use the device whenever, during the visual inspection, packaging anomalies were found.

#### Procedure of waste disposal

Wastes should be disposed in compliance with National and local regulations for the Disposal of Health Wastes.

#### TABLE OF SYMBOLS

CAUTION	RECYCLE	STERILE	KEEP AWAY FROM CHILDREN	LOT	DO NOT REUSE	DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED	KEEP AWAY FROM LIGHT
TEMPERATURE SENSITIVE	MANUFACTURED	KEEP DRY	LOT	DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED	KEEP DRY	DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED	USE BY

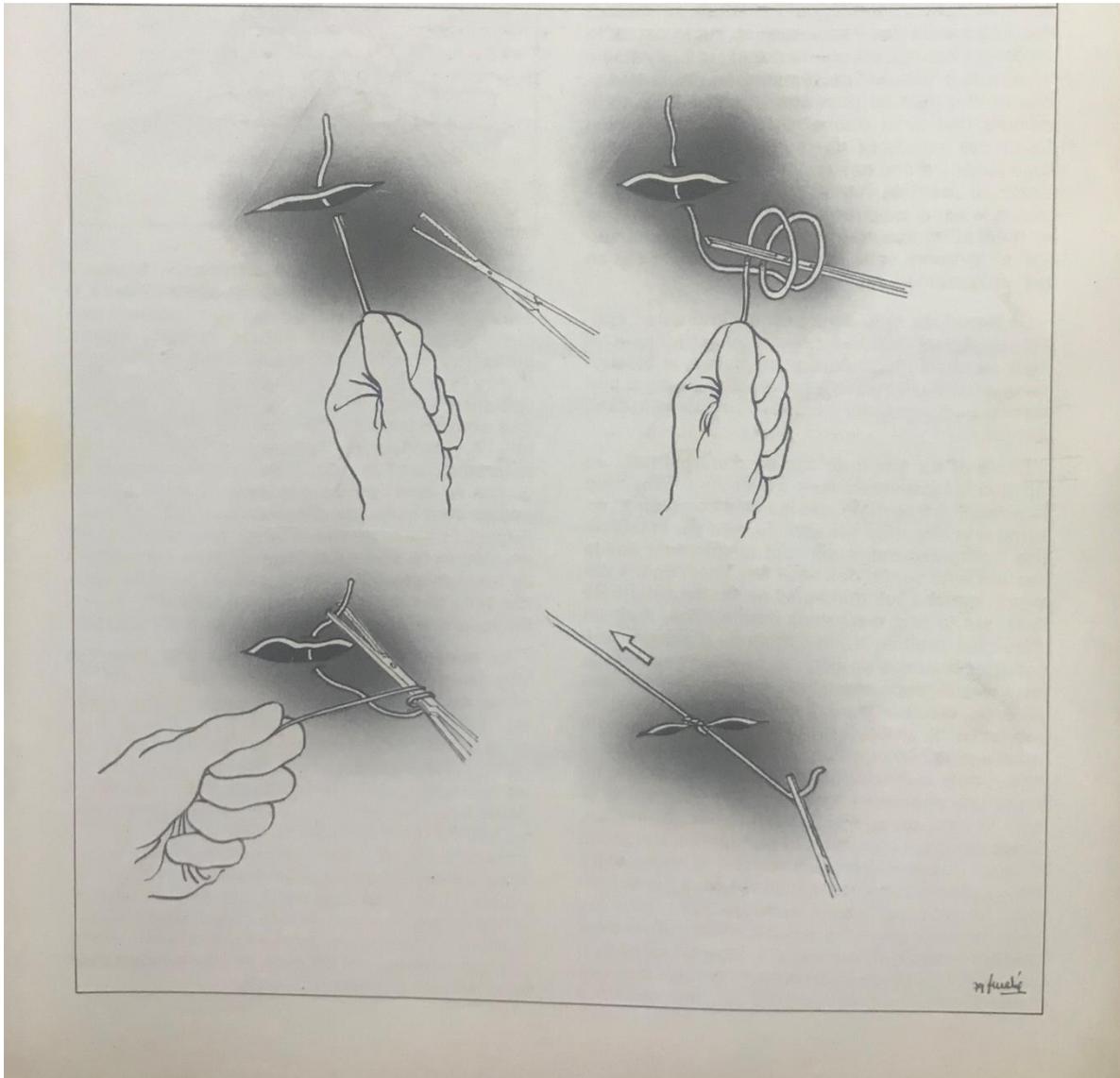
#### Manufacturer

**PLATELTEX S.R.O. Vlaska 24, 11800 Praha 1 Czech Republic**  
Web site: <http://www.plateltex.com> Contact: [info@plateltex.com](mailto:info@plateltex.com)

Rev. 2.1 - Mar. 2022

**Figure 34.** Kit Plateltex®prep  
[http://www.plateltex.com/data/pdf/istruction\\_sheet\\_prep\\_2010.pdf](http://www.plateltex.com/data/pdf/istruction_sheet_prep_2010.pdf)

## Annexe II : Etapes de suture



**Figure 35.** Mise en place du nœud au niveau de la peau (Sevestre, 1980)

## ملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم فعالية البلازما الغنية بالصفائح الدموية (PRP) الذاتية على التئام الجروح وذلك باستعماله الموضعي على جلد الأرانب. الدراسة أجريت على 06 ذكور من الأرانب النيوزيلندية السليمة مقسمة عشوائياً إلى مجموعتين كل مجموعة مكونة من ثلاثة أرانب ، تم القيام بأربعة جروح قطعية ( في المجموعة الأولى) و أربعة جروح نزعية (المجموعة الثانية) على ظهر كل أرنب شملت سمك الجلد بأكمله، تم علاج الجرح الأول باستخدام PRP الذي تم الحصول عليه من خلال بروتوكول Plateltext® ، وتم علاج الجرح الثاني بمزيج من زيت الضرو وزيت السمسم ؛ والجرح الثالث تم علاجه ب Madécassole. أما الجرح الأخير فقد تم علاجه بمحلول ملحي. تم تقدير عملية الشفاء من خلال القياسات الرقمية لمساحة تقلص الجرح والفحوصات المجهرية في اليوم 3 و 6 و 12 و 18 و 24 من فترة الشفاء. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أنه كان هناك تسريع في اندمال الجرح و تسريع زمن تشكل النسيج الظاهري للجروح المعالجة ب البلازما الغنية بالصفائح الدموية ، كما لم يتم العثور على آثار تعاونية بين زيت الضرو وزيت السمسم. يمكن أن يكون PRP خياراً علاجياً جيداً لجرح الجلد.

**الكلمات المفتاحية:** بلازما غنية بالصفائح الدموية ، الأرانب ، الجروح ، التئام، الجلد.

## Résumé

Cette étude a été réalisée pour évaluer l'activité cicatrisante du PRP autologue par son application topique sur la peau expérimentalement chez les lapins. L'étude a été menée sur 06 lapins mâles néo-zélandais cliniquement sains répartis au hasard en deux groupes de trois lapins pour chacun. Quatre plaies cutanées d'incision de pleine épaisseur (Groupe I) et d'excision complète (Groupe II) ont été créées chirurgicalement sur le dos de chaque animal. Puis traitées avec le PRP qui a été obtenu par un protocole de Plateltext® dans la première plaie, la deuxième plaie a été traitée avec un mélange d'huile de lentisque et huile de sésame ; La troisième plaie a été traitée avec Madécassole; et la dernière avec une solution saline. Le processus cicatriciel a été estimé par planimétrie digitale de la surface de contraction des plaies et examens macroscopiques aux 3, 6, 12, 18 et 24 ème jours de guérison. Les résultats obtenus ont révélé qu'il s'agissait d'une accélération de la contraction des plaies traités par le PRP et une réduction de la période d'épithélialisation par rapport aux autres applications, Aucun effet synergique n'a été mis en évidence entre l'huile de lentisque et l'huile de sésame. L'application de PRP pourrait être une bonne option thérapeutique pour les plaies cutanées.

**Mots-clés :** Plasma riche en plaquettes, lapins, plaies, cicatrisation, peau.

## Abstract

This study was carried out to evaluate the healing activity of autologous PRP by its topical application to the skin experimentally in rabbits. The study was carried out on 06 clinically healthy male New Zealand rabbits divided into two groups of three rabbits for each.. Four full-thickness incision wounds (Group I), and complete excisional wounds of skin (Group II) were created on the dorsal surface of each animal. Then treated with the PRP which was obtained by a protocol of Plateltext® in the first wound, the second wound was treated with a mixture of mastic oil and sesame oil; The third wound was treated with Madécassole; the last treated with saline solution. The healing process was evaluated by digital planimetry and macroscopic examination of wound skin at 3, 6, 12, 18 and 24 days of healing. The results obtained showed there was an acceleration of the contraction of wounds treated with PRP and a reduction of the epithelialization period compared to other applications, No Synergistic effects were found between mastic oil and sesame oil. PRP application could be a good therapeutic option for skin wound.

**Keywords:** Platelet-Rich Plasma, rabbits, wounds, healing, skin.