



ALLOTRANSPLANTATION D'UN LAMBEAU LIBRE DE TYPE INGUINAL

Etude Prospective de Faisabilité sur le Modèle Animal

Série de 6 Transferts

MÉMOIRE

JUIN 2010

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme Universitaire de Techniques Microchirurgicales

Dr Priscilla D'AGOSTINO

Université Paris-XIII UFR LEONARD DE VINCI
Santé Médecine et Biologie Humaine (SMBH)-Bobigny
Ecole de Chirurgie de Paris
LABORATOIRE DE MICROCHIRURGIE

Directeur d'Enseignement : Professeur A.-C. MASQUELET
Organisateur du DU : Professeur A. GILBERT
Ingénieur et Technicien de la Recherche : J. LEGAGNEUX et J.-L. VIGNES



ALLOTRANSPLANTATION D'UN LAMBEAU LIBRE DE TYPE INGUINAL

Etude Prospective de Faisabilité sur le Modèle Animal

Série de 6 Transferts

MÉMOIRE

JUIN 2010

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme Universitaire de Techniques Microchirurgicales

Dr Priscilla D'AGOSTINO

Université Paris-XIII UFR LEONARD DE VINCI
Santé Médecine et Biologie Humaine (SMBH)-Bobigny
Ecole de Chirurgie de Paris
LABORATOIRE DE MICROCHIRURGIE

Directeur d'Enseignement : Professeur A.-C. MASQUELET
Organisateur du DU : Professeur A. GILBERT
Ingénieur et Technicien de la Recherche : J. LEGAGNEUX et J.-L. VIGNES

Remerciements

La réalisation d'un travail expérimental et la participation à un diplôme universitaire d'un tel niveau d'exigence et de prestige de par ceux qui le composent et l'organisent, a été pour moi source d'un grand enthousiasme.

Je remercie tout particulièrement les Professeurs Masquelet et Gilbert de diriger et d'organiser ce diplôme universitaire de techniques microchirurgicales, et de lui permettre ainsi d'exister.

Je remercie grandement Monsieur Jean-Luc Vignes pour son encadrement au cours de toutes ces séances, sa pédagogie, son infinie patience, son grand professionnalisme, sa disponibilité, son engagement, sa juste intransigeance, sa rigueur, sa fiabilité, son calme. Cet homme a été pour moi un exemple et représente l'image de la performance que j'aimerais un jour atteindre.

Je remercie par ailleurs Madame Josette Legagneux pour ses réflexions toujours stimulantes d'un point de vue intellectuelle, nous rappelant qu'il faut savoir aller toujours plus loin.

Cet entraînement à la microchirurgie et toute la formation qui l'accompagne ont été riches d'enseignement pour moi, non seulement sur le plan chirurgical mais aussi sur le plan humain.

Je remercie tous ceux qui m'ont témoigné leur soutien et encouragé dans mon choix de réaliser cette ultime formation chirurgicale.

Je vous remercie tous et chacun individuellement pour ce que vous avez su m'apporter.

J'en ressors grandie et changée.



Table des Matières

1. Introduction.....	1
1.1 Revue de la Littérature	1
1.2 Objectifs de l'Étude	2
1.2.1 Objectif Primaire	2
1.2.2 Objectif Secondaire	2
2. Matériels et Méthodes.....	2
2.1 Modèle de l'Etude	2
2.2 Population Etudiée	3
2.3 Modèle de Transfert Libre et Anatomie	4
2.4 Préparation Pré-opératoire de l'Animal	6
2.4.1 Technique d'Anesthésie	6
2.4.2 Préparation des Sites Opératoires	6
2.4.3 Instrument de Pesée	6
2.5 Poste de Travail	7
2.5.1 Microscope et Installations	7
2.5.2 Matériel Chirurgical	7
2.5.2.1 Instruments Macrochirurgicaux	7
2.5.2.2 Instruments Microchirurgicaux	8
2.5.2.3 Fils	8
2.5.2.4 Disposables	9

2.6 Protocole Chirurgical	10
2.6.1 Installation sur Table	10
2.6.2 Préparation du Site Inguinal Releveur du Rat Transplanté	10
2.6.2.1 Voie d'abord Chirurgicale	10
2.6.2.2 Dissection Microchirurgicale	10
2.6.3 Technique de Levée du Lambeau Inguinal sur le Rat Donneur	11
2.6.3.1 Dissection Macroscopique	11
2.6.3.2 Dissection Microchirurgicale	12
2.6.3.3 Technique de Lavage du Lambeau	13
2.6.4 Allotransplantation du Lambeau Inguinal Libre	13
2.6.4.1 Clampage des Vaisseaux Fémoraux Releveurs	13
2.6.4.2 Anastomoses Termino-latérales des Vaisseaux Fémoraux	14
2.6.4.3 Contrôle de la Technique Microchirurgicale	14
2.6.4.4 Positionnement du Lambeau et Fermeture	15
2.7 Surveillance Post-opératoire de la Viabilité du Rat et du Transfert	16
3. Résultats.....	18
3.1 Analyse Statistique des Données	18
3.1.1 Caractéristiques de la Cohorte	18
3.1.2 Mesure des Temps Opératoires	18
3.1.3 Perméabilité Vasculaire Per-opératoire, Analyse des Complications et Taux d'Échec	20
3.1.4 Evolution Post-opératoire, Contrôle de l'Aspect du Lambeau et des Anastomoses du rat Wistar R vivant	22
3.1.5 Analyses des Données Subjectives	23
4. Discussion.....	23
4.1 Facteurs Influençant le Résultat	23
4.2 Courbe d'Apprentissage à la Technique Microchirurgicale	25
5. Conclusion.....	26
6. Bibliographie.....	28
7. Annexe.....	30

1. Introduction

1.1 Revue de la Littérature

Dans l'histoire de la microchirurgie, la première utilisation clinique d'un microscope binoculaire remonte à 1923 par Holmgren, chirurgien suédois. Cette innovation jettera les bases de la chirurgie microvasculaire moderne (Tamai 2009).

La maîtrise des techniques microchirurgicales est indispensable à la pratique de la chirurgie reconstructrice, quelque soit la spécialité dans laquelle elle s'inscrit (chirurgie plastique, chirurgie de la main...), dans la réalisation de procédures particulières et propres à ces spécialités (réimplantation, transfert de tissus composites ou fascio-cutanés, rétablissement de continuité vasculaire et/ou nerveuse, pontage/greffe vasculaire et/ou nerveuse,...). La microchirurgie constitue une part importante de l'armementarium en chirurgie reconstructrice.

Le choix du lambeau inguinal s'est imposé de par sa reproductibilité sur le modèle expérimental du rat et du fait de sa grande similitude avec les transferts de lambeaux libres chez l'homme. L'allogreffe étant dans l'ère du temps, dans une recherche permanente de tissus de substitution. C'est sur ce mode que se fera le transfert dans cette étude, d'un spécimen donneur à un receveur avec quelques subtilités techniques préalables.

La première transplantation expérimentale d'un lambeau libre de paroi cutanée abdominale basée sur le pédicule vasculaire épigastrique superficiel a été décrite et réalisée sur un chien par Krisek en 1965 (Krisek et coll., 1965 ; Tamai 2009). Ce sont Strauch et Murray en 1967 qui démontrent la faisabilité d'un tel transfert microchirurgical en libre chez le rat (Strauch et Murray 1967). Stock et Oesterwitz en 1983 en proposeront l'utilisation comme modèle expérimental. L'intérêt étant double, à savoir la connaissance de l'anatomie et des différents temps de levée du lambeau, ainsi que l'apprentissage d'une dissection minutieuse avec l'acquisition d'une gestuelle indispensable à une bonne pratique ultérieure (Stock et Oesterwitz 1983).

1.2 Objectifs de l'Etude

1.2.1 Objectif Primaire

L'objectif premier de cette étude est d'évaluer la courbe d'apprentissage à la microchirurgie sur une série de 6 transferts portant sur 12 rats, selon des critères d'évaluation objectifs et subjectifs prédéfinis. Les critères objectifs retenus sont: la durée de dissection (temps de préparation du site receveur et de levée du lambeau), la durée de clamage (vaisseaux fémoraux site receveur), le temps de réalisation des anastomoses artério-veineuses, l'évaluation de la perméabilité des anastomoses et l'analyse des causes d'échec de celles-ci. Les critères subjectifs retenus sont: l'installation (vis-à-vis du microscope et de l'animal, maniement des instruments, positionnement des clamps), la manipulation des aiguilles (9/0-11/0), l'état physique de l'opérateur (avant et à la fin de la séance) (**Annexe**).

1.2.2 Objectif Secondaire

L'objectif secondaire de cette étude est d'évaluer la faisabilité d'une allotransplantation sur ce modèle animal en termes de viabilité du lambeau transféré et de survie du rat.

2. Matériels et Méthodes

2.1 Modèle de l'Etude

Cette étude a été conduite sur le modèle prospectif non randomisé. Il s'agit d'une étude (de recherche) pratique expérimentale sur le modèle animal. Le protocole d'étude a été soumis à la Commission d'Enseignement du diplôme, responsable moralement des expérimentations pratiquées sur l'animal vis à vis du Ministère français de la recherche et de l'agriculture (Charte nationale 2008).

Cette Commission est représentée par son Directeur d'enseignement en la personne du Professeur Alain-Charles Masquelet et se compose de deux scientifiques de niveau 1 en recherche expérimentale selon la réglementation actuelle en vigueur (article R 214-87 à 90 du code rural), respectivement Josette Legagneux et Jean-luc Vignes. Cette dernière a émis un avis favorable définitif et, validé ce projet. Cette étude s'est tenue en un seul centre. L'ensemble de l'expérimentation a été réalisé au Laboratoire de Microchirurgie de l'Ecole de Chirurgie de Paris, dépendant de l'Université de Paris XIII.

2.2 Population Etudiée

Le modèle animal utilisé dans cette étude est le rat albinos de type Wistar. Deux raisons principales motivent ce choix, la faible variation anatomique entre les individus de cette souche et le moindre coût. L'obtention d'une colonie de rats où les variations anatomiques sont quasi exclues, a été rendue possible par la reproduction entre mâles et femelles de la même fratrie sur 10 générations, au départ d'une colonie primaire de géniteurs. Le Wistar constitue par ailleurs le modèle expérimental animal le moins cher de son espèce.

De plus, la manipulation et l'anesthésie du Wistar sont aisées. La survenue d'une infection reste un phénomène exceptionnel.

Entre mars et avril 2010, douze rats Albinos de type Wistar mâles et femelles ont été inclus dans l'étude. De façon non randomisée, six donneurs ont été prélevés pour un lambeau inguinal libre et six receveurs ont été transplantés par ce même transfert. De façon arbitraire, le lambeau a toujours été levé au dépend du creux inguinal gauche du rat donneur et transposé au creux inguinal droit du rat receveur.

2.3 Modèle de Transfert Libre et Anatomie

Les lambeaux à pédicules axiaux de la paroi abdominale chez le rat d'expérimentation ont été utilisés et décrits par Finseth et Cutting, Sasaki et Pang, Strauch et Murray (Finseth et Cutting 1978, Sasaki et Pang 1980, Strauch et Murray 1967). Par la suite, d'autres auteurs les ont repris avec différentes modifications. Ces chercheurs ont défini les dimensions ainsi que les limites médiale et inférieure du lambeau inguinal.

Pour cette étude, dans un souci de reproductibilité, le design de notre lambeau sera basé sur la description anatomique de la vascularisation du lambeau inguinal (Epigastric flap) de Petry et Wortham, qui en ont défini les limites latérales (Petry et Wortham 1984).

Le lambeau inguinal du rat est de type fascio-cutané à pédicule axial. Sa vascularisation se fait au dépend du tronc épigastrique superficiel, issu du tronc artério-veineux fémoral provenant des vaisseaux iliaques externes. Ce pédicule axial épigastrique naît de façon constante 1,5cm en aval de l'arcade crurale au niveau du creux inguinal (**fig. 1**). Ce tronc épigastrique superficiel va donner une petite branche (branche médiale) qui va s'étendre du côté médial de la paroi abdominale selon une direction verticale ascendante et s'anastomoser avec une ou plusieurs collatérales du réseau mammaire interne provenant de la paroi thoracique. Le tronc épigastrique superficiel va par ailleurs donner une extension vasculaire plus large (branche latérale) s'étendant latéralement et crânialement pour s'anastomoser avec un vaisseau de la paroi thoracique latérale, probablement l'artère thoracique latérale (Petry et Wortham 1984, EC Greene eds 1935) (**fig. 2**).

Les diamètres externes des artère et veine fémorales sont respectivement de 0,9-1,0mm et 1,2-1,4mm. Les diamètres externes des artère et veine épigastriques sont respectivement de 0,3-0,5mm et 0,6-0,8mm (Hirase, Tamai 2nd edition 2004).

Le lambeau inguinal sera levé en respectant l'anatomie de sa vascularisation et de sa distribution. Il sera ensuite transplanté au creux inguinal droit du rat receveur.

Chez l'homme, le territoire cutané du lambeau inguinal est centré sur l'axe vasculaire de l'artère circonflexe iliaque superficielle, naissant de façon constante à 2cm de l'arcade crurale de la face latérale de l'artère fémorale. C'est MacGregor qui en fera la mise au point en 1972, selon les principes de la technique de mise en nourrice sur un site receveur d'une unité tissulaire vascularisée, réalisée un siècle plus tôt par John Wood en 1862 (Masquelet 2004 ; Marcucci 2007).

Fig 1 :
Anatomie de la région inguinale du rat

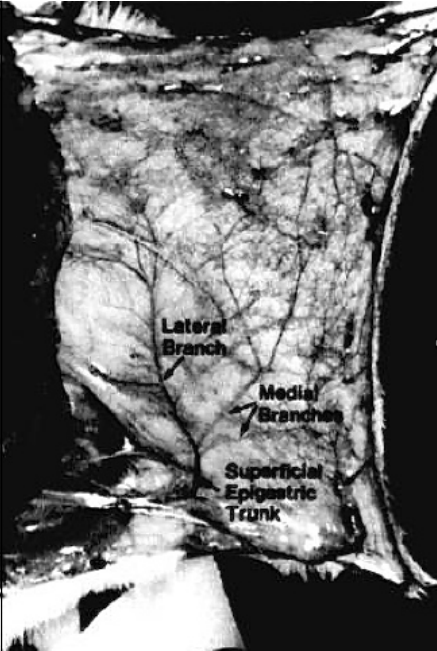
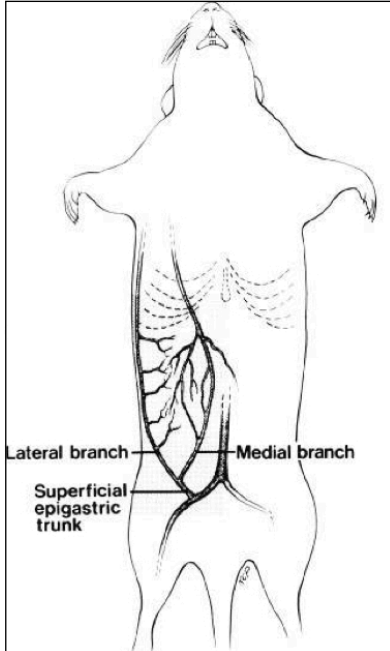
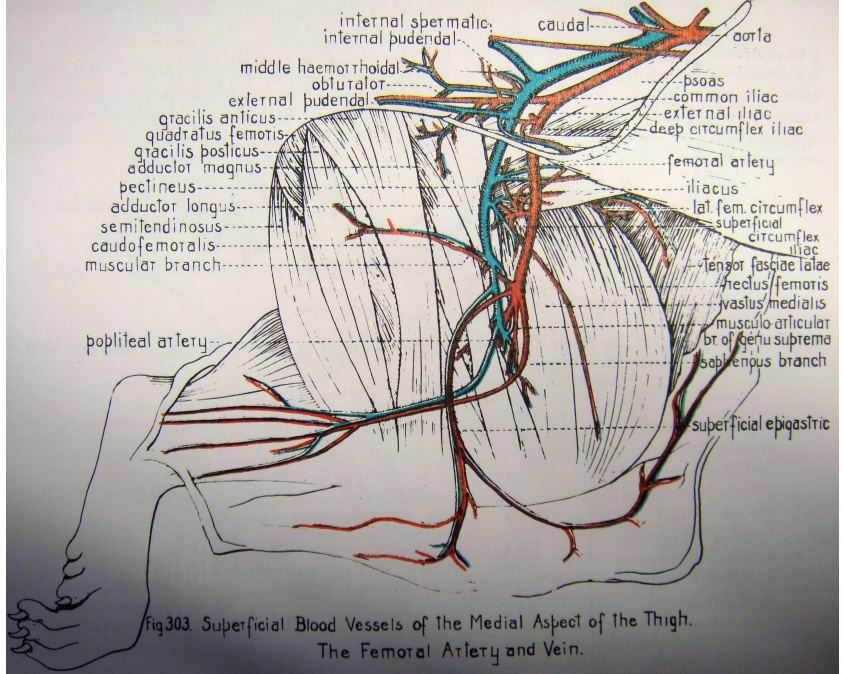


Fig 2 :
Pédicule épigastrique et sa distribution cutanée (Petry and Wortham, 1984)

2.4 Préparation Pré-opératoire de l'Animal

2.4.1 Technique d'Anesthésie

Le protocole anesthésique retenu pour la réalisation de cette allotransplantation, est une anesthésie parentérale par injection intramusculaire (IM bras ou cuisse) d'un mélange de kétamine (120mg/kg) et de chlorpromazine (1,7mg/kg). L'injection IM d'un volume moyen de 0,7ml de ce produit anesthésiant (mélange de 1,5ml de chlorpromazine dosé à 5mg/ml à 10ml de kétamine dosée à 50mg/ml) est nécessaire à l'obtention d'une anesthésie efficace pendant approximativement 3 heures chez un rat de 200g.

Les avantages de ce protocole sont sa simplicité, sa reproductibilité, la bonne protection de l'animal contre l'hypothermie, la possibilité de compléter l'anesthésie en peropératoire par des doses de 0,3ml avec un risque limité de surdosage et l'absence de nécessité d'une surveillance particulière de l'animale. L'inconvénient réside dans une myorelaxation imparfaite (Gilbert et coll.;1998).

2.4.2 Préparation des Sites Opératoires

Après complet endormissement des deux rats, les zones opératoires sont rasées par le biais d'une tondeuse électrique (AESCULAP®). Chez le rat donneur et receveur, l'entièreté de la paroi abdominale sera ainsi préparée. Une désinfection des sites de rasages est ensuite réalisée par utilisation d'alcool éthylique à 70° (Alcool Modifié Cooper®).

2.4.3 Instrument de Pesée

Chacun des rats inclus dans le protocole a fait l'objet d'une pesée. L'instrument de mesure utilisé fut la balance analogique TESTUT du laboratoire, calibrée à chaque séance par la même tare et le même technicien de laboratoire, de façon à être reproductible. Le rat le plus lourd en terme de poids

exprimé en gramme, a systématiquement été désigné comme étant le rat receveur de l'allotransplant. Le postulat de départ était que le diamètre des vaisseaux fémoraux receveurs devait être plus important chez le rat le plus gros, et faciliter ainsi leur manipulation lors des anastomoses termino-latérales en les rendant plus aisées.

2.5 Poste de travail

2.5.1 Microscope et Installations

Toutes les procédures microchirurgicales relatives à ce protocole d'allotransplantation ont été réalisées sous microscope à statif mural et à réglage manuel avec objectif à focale de 250mm et grossissement jusqu'à 40 fois. Pour chaque allotransplantation, le même microscope de laboratoire (Carl Zeiss OPMI Pico) a systématiquement été utilisé (**Fig 3a**).

L'installation s'est faite sur une table de travail fixe d'une hauteur relative de 85cm. L'assise était constituée d'un tabouret sans roulettes, réglable en hauteur. Une planche opératoire a toujours été utilisée (une planche par rat) et le poste de travail était équipé d'une console bipolaire complète (Lamidey Noury, SURGILEC MC2). Les différents temps opératoires ont été minutés pour chaque allotransplantation par la même horloge calibrée par son manufacturier (EA-AR-0176).

2.5.2 Matériel Chirurgical

2.5.2.1 Instruments Macrochirurgicaux

Plusieurs instruments de chirurgie conventionnelle ont été nécessaires à la réalisation de la procédure (incision cutanée, exposition du champs opératoire, mise en place du lambeau) (**Fig 3b**). Notamment, un bistouri stérile lame 11 à usage unique (Swann-Morton, England), des écarteurs artisanaux

(attaches trombones chantournées et élastiques), une paire de ciseaux (Kelly), un porte-aiguilles (Mayo-Hegar), une pince à griffes (Adson).

2.5.2.2 Instruments Microchirurgicaux

Les instruments de microchirurgie suivants ont été indispensables à la réalisation du protocole (**Fig 3b**):

- une paire de ciseaux courbes à bouts mousses de Castroviejo-Gilbert
- une pince fine droite n°3 de Dumont pour la dissection
- une pince fine droite n°5 de Dumont pour les anastomoses
- un porte aiguille à bouts courbes d'O'Brien
- un clamp double à mors variables de Gilbert
- un clamp simple d'Ikuta
- une seringue en silicone stérilisable de 10ml avec canule d'irrigation
- une pince à électrocoagulation bipolaire
- un champ plastifié de contraste souple (couleur jaune)

2.5.2.3 Fils

Les fils utilisés dans cette procédure sont: les 9/0 et 11/0 non résorbables monobrins en polyamide noir.

L'Ethylon 9/0 (Ethicon™, Johnson-Johnson) de 35µm de diamètre monté sur une aiguille ronde de 3/8 de cercle et 100µm de diamètre (longueur 13cm) pour la réalisation des ligatures vasculaires.

L'Ethylon 11/0 (Ethicon™, Johnson-Johnson) de 14µm de diamètre monté sur une aiguille ronde de 3/8 de cercle et de 50µm de diamètre (longueur 5cm) pour les anastomoses vasculaires.

Un fil tressé non résorbable en polyester Mersutures 3/0 (Ethicon™, Johnson-Johnson) a été nécessaire à la réalisation des sutures cutanées de positionnement du lambeau.

2.5.2.4 Disponibles

Enfin, le recours à du petit matériel a été utile à la bonne réalisation de la procédure. Notamment, une blouse opératoire (Evercap®), des gants d'examen médicaux non stériles sans poudre XS (Flexam Stretchy Nitrile, CardinalHealth), des compresses stériles 7,5x7,5cm (Laboratoire TETRA Medical), du sérum physiologique (Versylene®Fresenius NaCl 0,9%), des bandelettes adhésives élastiques (Elastoplaste®BSN medical), une couverture de survie en aluminium doré (Ebony), un feutre chirurgical avec latte intégrée, graduée en centimètre (Devon® Skin Marker and Ruler, Tyco Healthcare), un bac plastique à déchets, une cupule aluminium (**Fig 3c**).

Fig 3 : Poste de travail et matériel chirurgical



Fig 3a : Installation

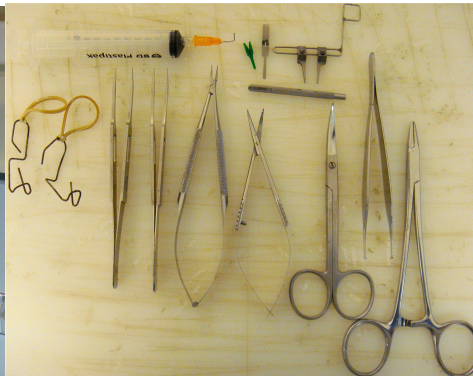


Fig 3b : Matériel macro- et microchirurgical



Fig 3c : Disponibles

2.6 Protocole Chirurgical

2.6.1 Installation sur Table

L'installation du rat s'est faite longitudinalement en décubitus dorsal sur une planche opératoire, la tête positionnée vers le haut et les quatre membres fixés par de l'élastoplaste. Une certaine tension était imprimée lors de la fixation des membres inférieurs de façon à les fixer en traction, rendant plus aisé la dissection des axes vasculaires de la région inguinale du rat (fémoraux et épigastriques). A l'opposé, l'immobilisation des membres supérieurs s'est faite sans tension aucune, pour ne pas entraver la ventilation de l'animal.

Les deux rats, donneur et receveur, ont été immobilisés selon les mêmes modalités, chacun sur une planche opératoire distincte et protégé d'une couverture de survie de façon à limiter la déperdition de chaleur.

2.6.2 Préparation du Site Inguinal Receveur du Rat Transplanté

2.6.2.1 Voie d'Abord Chirurgicale

Le premier temps opératoire de ce protocole a consisté en la préparation des vaisseaux receveurs au creux inguinal droit du rat transplanté. Incision cutanée, 1cm sous le creux inguinal droit et parallèlement à celui-ci (incision oblique descendante de latéral en médial). Ouverture du plan sous-cutané aux ciseaux microchirurgicaux et mise en évidence des axes vasculaires fémoraux et épigastriques (**Fig 4a**).

2.6.2.2 Dissection Microchirurgicale

Dissection progressive de l'artère et de la veine fémorale, en débutant en aval des vaisseaux épigastriques jusqu'à l'arcade crurale. Ligature au 9/0 ou électrocoagulation à la bipolaire des

collatérales innominées et collatérales, souvent postéro-latérales, des artère et veine fémorales. Le nerf crural, courant au versant latéral de l'artère fémoral, sera respecté (**Fig 4b**).

En fin de préparation des vaisseaux receveurs, nous nous portons sur le creux inguinal gauche du rat donneur pour y lever le lambeau inguinal libre à transférer.

2.6.3 Technique de levée du Lambeau Inguinal sur le Rat Donneur

2.6.3.1 Dissection Macroscopique

Dans cette étude, les six lambeaux inguinaux ont été prélevés au dépend du creux inguinal gauche des rats donneurs.

Le dessin du lambeau inguinal, du fait de l'obliquité du creux inguinal et de l'anatomie vasculaire de ce lambeau, est dans tous les cas losangique. Les côtés inférieur, médial et supérieur du lambeau sont prédéfinis et constants dans leurs rapports anatomiques (**Fig 4c**). Le quatrième côté externe ou latéral gauche ne sera défini qu'en fin de procédure par visualisation directe de la distribution vasculaire cutanée des branches du tronc épigastrique superficiel, selon les recommandations de Petry et Wortham. La localisation anatomique de la branche latérale du tronc épigastrique superficiel n'étant pas constante (Petry et Wortham 1984).

La première incision (côté inférieur du lambeau) est réalisée 1cm sous le creux inguinal, parallèlement à celui-ci. Cet abord servira au repérage des vaisseaux fémoraux et épigastriques (**Fig 4d**).

La seconde incision (côté médial du lambeau) est parallèle à la ligne médiale, 0,5cm externe à celle-ci et d'une hauteur de 4cm. Cette hauteur correspondant à la zone jonctionnelle entre la vascularisation axillaire et épigastrique.

La troisième incision (côté supérieur du lambeau) suit un trajet parallèle à l'incision inguinale et a comme point de départ, l'incision médiale à son extrémité supérieure (**Fig 4e**).

A ce stade de la dissection, le lambeau est levé de l'intérieur vers l'extérieur en respectant le plan de décollement à partir de son versant médial. Cette technique permet la visualisation directe de la vascularisation du lambeau à sa face inférieure (**Fig 4f-g**).

Le quatrième côté peut alors être défini par rapport à l'extension latérale du tronc épigastrique superficiel. La quatrième incision (côté latéral du lambeau) est réalisée de façon à inclure la branche latérale du tronc épigastrique superficiel dans le lambeau et permettre ainsi son centrage (**Fig 4h**).

Le lambeau ainsi levé sur son pédicule épigastrique, sera positionné sur une compresse humide à la gauche de l'animal, sans tension ni torsion.

2.6.3.2 Dissection Microchirurgicale

A ce stade, les vaisseaux fémoraux doivent être disséqués de façon à lever le lambeau en libre pour le transférer sur les vaisseaux receveurs du rat transplanté. Cette dissection s'opère selon les mêmes principes que ceux évoqués précédemment pour la préparation des vaisseaux receveurs. Dans ce cas, la branche du nerf crural accompagnant le pédicule épigastrique devra être sectionnée pour pouvoir libérer le lambeau de toutes ses attaches.

Une double ligature au 9/0 de l'artère et de la veine fémorale, de façon séparée, est réalisée en aval du pédicule épigastrique après identification des vaisseaux poplités, dont l'abouchement se situe à ce niveau sur les vaisseaux fémoraux. A ce stade, les vaisseaux sont laissés en continuité.

L'artère et la veine fémorales sont ensuite ligaturées au ras de l'arcade crurale avec du 9/0, de façon à conserver un maximum de longueur de ceux-ci. Ces deux vaisseaux sont alors sectionnés transversalement par rapport à l'axe vasculaire, juste en aval des ligatures.

2.6.3.3 Technique de lavage du Lambeau

Il s'ensuit un rinçage du lambeau par l'artère fémorale au moyen d'une seringue canulée de 10cc, et par injection intra-artérielle d'un volume de 40cc de sérum physiologique. La vidange veineuse s'observe par le flux de sang s'écoulant de la veine fémorale, parallèlement au rinçage (**Fig 4i**). Une fois le lavage accompli, le lambeau est définitivement sevré de ses dernières attaches vasculaires, par section de l'artère et de la veine fémorales entre les doubles ligatures posées précédemment.

A ce moment, le lambeau inguinal libre est prêt à être transféré. Il est conservé dans une compresse humide pour le protéger de la dessiccation (**Fig 4j**). Le rat est, quant à lui, placé sous une couverture de survie.

2.6.4 Allotransplantation du Lambeau Inguinal Libre

2.6.4.1 Clampage des Vaisseaux Fémoraux Receveurs

Nous nous reportons au creux inguinal droit du rat receveur, où les vaisseaux fémoraux préparés au préalable sont mis en évidence sur un fond plastifié jaune. Un clamp double de Gilbert est posé sur l'artère et la veine fémorale simultanément. Le mors proximal du clamp, par rapport au flux sanguin artériel, sera positionné en premier lieu. Une artériotomie et une veinotomie sont réalisées aux ciseaux courbes de Gilbert, perpendiculairement à l'axe vasculaire et de façon décalée l'une par rapport à l'autre pour plus d'aisance lors de la réalisation des anastomoses.

Les lumières vasculaires sont soigneusement rincées au sérum physiologique. A ce moment, le lambeau inguinal libre est transféré du rat donneur vers le site receveur du rat transplanté (**Fig 4k**).

2.6.4.2 Anastomoses Termino-latérales (TL) des Vaisseaux Fémoraux

Préalablement aux anastomoses TL des vaisseaux fémoraux, l'extrémité proximale de l'artère fémorale, par laquelle s'est fait le rinçage du lambeau, est recoupée d'environ 1mm. Cette recoupe correspond à une zone de paroi abimée lors du lavage et impropre à la suture microchirurgicale.

Les deux anastomoses, artères et veines fémorales, sont réalisées simultanément en plaçant 6 points simples de 11/0 sur chaque vaisseau. Il s'agit dans ce cas de figure de la réalisation d'une anastomose TL avec un vaisseau terminal mobile (les vaisseaux fémoraux du lambeau). L'anastomose des deux faces antérieures de chaque vaisseaux sont réalisées dans un premier temps, en commençant par les deux points d'angle (3h-9h) et surtout, en débutant par la face antérieure du vaisseau le plus éloigné de l'opérateur, à savoir l'artère fémorale.

Une fois la face antérieure suturée sur chacun des vaisseaux, le lambeau est alors basculé vers l'opérateur pour que l'anastomose puisse être contrôlée et complétée à sa face postérieure (**Fig 4l-m**).

2.6.4.3 Contrôle de la Technique Microchirurgicale

En fin de procédure, le clampage est levé de distal en proximal cette fois, par rapport au flux artériel, pour éviter une mise en charge trop brutale des anastomoses. Une compresse humide est posée sur les anastomoses sans les comprimer pendant 3min, le temps qu'une coagulation sur les trous d'aiguille puisse se faire (**Fig 4n-o-p**).

Deux tests de perméabilité particuliers à ce type d'anastomose TL sont réalisés sur l'artère et la veine. Au niveau de la portion terminale mobile de l'anastomose TL artérielle, le test de patency d'O'Brien est le test retenu pour en déterminer la bonne perméabilité. Celui-ci consiste en l'occlusion du vaisseau en aval de la suture par l'intermédiaire de deux pinces de Dumont. La pince la plus en aval chasse le sang dans le sens du flux artériel sur 1cm, tandis que la pince la plus proche de l'anastomose

est relâchée. Le test est considéré positif si le sang afflue immédiatement au travers de l'anastomose jusqu'à la pince de Dumont constituant un obstacle (**Fig 4q-r**).

Quant à l'anastomose veineuse, le test de patency consiste à chasser le sang par le clampage du vaisseau receveur fixe de part et d'autre de l'anastomose, à l'aide des deux pinces de Dumont n°3 et 5. Un déplacement en sens opposé de ces deux pinces suivant l'axe du vaisseau receveur chasse le sang et provoque un vide endoluminal. Le rapprochement ensuite des mors des deux pinces supprime la tension imprimée au vaisseau et si l'anastomose est perméable, la portion de vaisseau comprise entre les deux pinces de Dumont doit s'engorger de sang. Le test est alors positif (**Fig 4s**).

2.6.4.4 Positionnement du Lambeau et Fermeture.

Si le test valide les deux anastomoses, le lambeau est alors positionné et suturé au niveau du creux inguinal droit du rat receveur à l'aide d'un fil de mersutures 3/0, en points simples, relativement rapprochés du fait de la tendance à l'autophagie connue de cette espèce (**Fig 4t**). Le rat est ensuite enveloppé dans une couverture de survie le temps de réveil de l'anesthésie, et placé dans une cage.

Dans le cas contraire, les anastomoses sont ouvertes et contrôlées, à la recherche des causes justifiant l'échec de perméabilité (**Fig 4u-v**). L'animal, toujours sous anesthésie profonde, subit ensuite une euthanasie. La technique retenue ici est la section de l'aorte entraînant un saignement massif et la mort par exsanguination selon les recommandations faites en 1995 par la Commission Européenne en matière d'euthanasie des animaux d'expérimentation.

L'animal donneur est quant à lui sacrifié systématiquement en fin de procédure par la même technique.

2.7 Surveillance Post-opératoire de la Viabilité du Rat et du Transfert

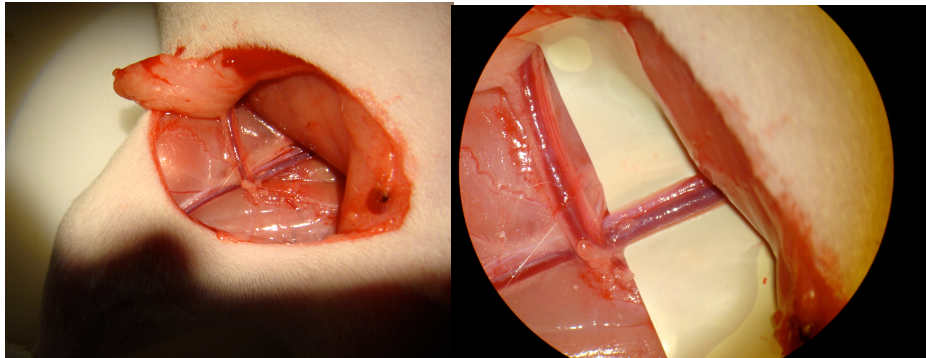
Le réveil se produit en cage dans une pièce du laboratoire réservée à cette effet. L'animal est alors gardé en observation. L'évolution post-opératoire du rat ainsi que du lambeau sont notés. Le décès et sa date de survenue consignés dans un registre le cas échéant.

Lors de la séance suivante, l'aspect du lambeau est contrôlé et les anastomoses réexaminées sous microscope par les tests de perméabilité décrits précédemment.

Fig 4 : Protocole chirurgical

Fig 4a (à gauche) :
Voie d'abord inguinale droite chez le rat receveur

Fig 4b (à droite) :
Préparation des Vx fémoraux receveurs



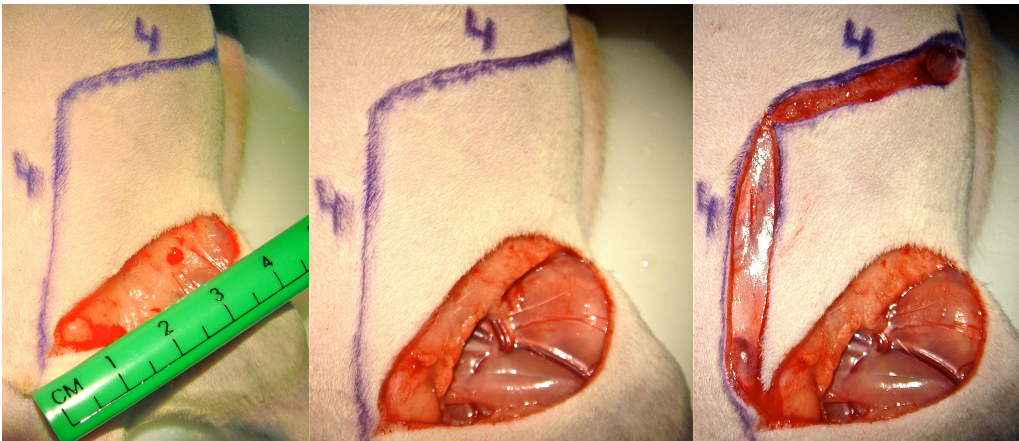


Fig 4c (à gauche) :
Design du lambeau inguinal chez le rat donneur

Fig 4d (au centre) :
Première incision : repérage des pédicules fémoral et épigastrique

Fig 4e (à droite) :
3 incisions cutanées prédéfinies (inférieure, médiale et supérieure)

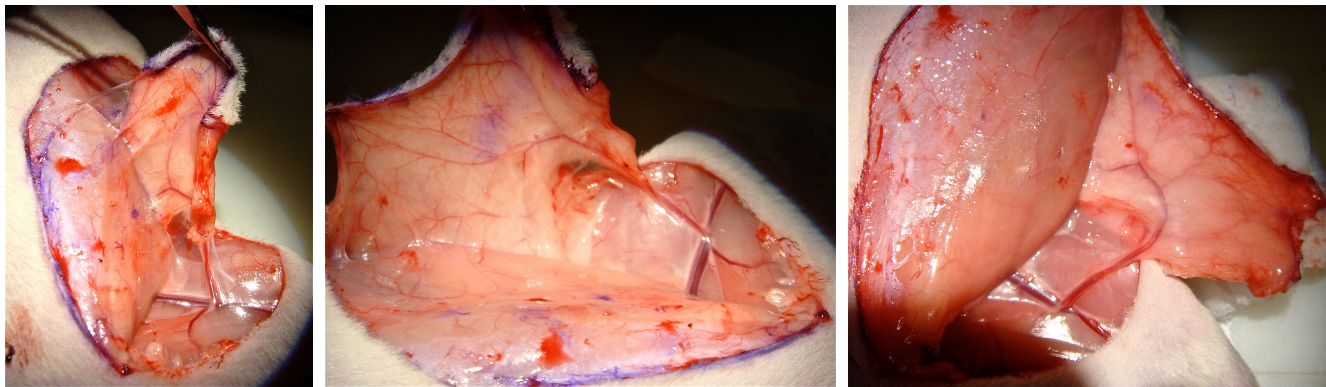


Fig 4f-g (à gauche et au centre) : Technique de levée du lambeau de médial en latéral

Fig 4h (à droite) : Centrage du lambeau sur son pédicule épigastrique et ses branches. Détermination du 4ème côté externe ou latéral du lambeau

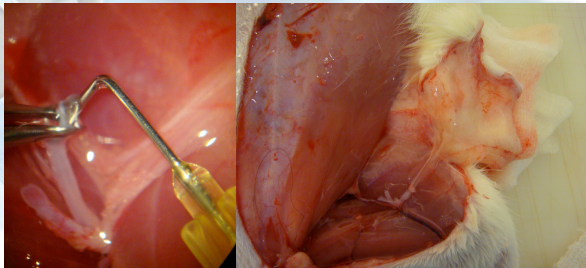


Fig 4i (à gauche) : Technique de lavage du lambeau

Fig 4j (à droite) : Lambeau inguinal rincé

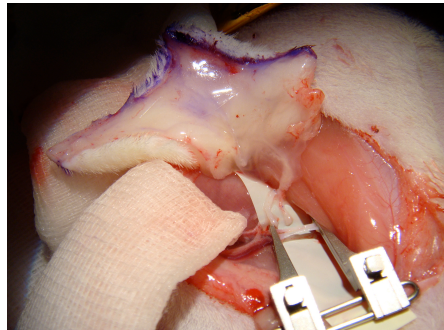


Fig 4k :
Clampage des Vx fémorales receveurs et transfert du lambeau inguinal libre

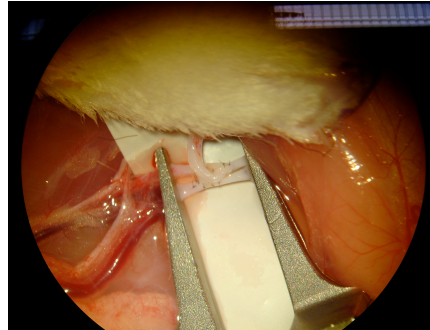


Fig 4l (à gauche) : Anastomoses TL artères et veines fémorales : Face Antérieure

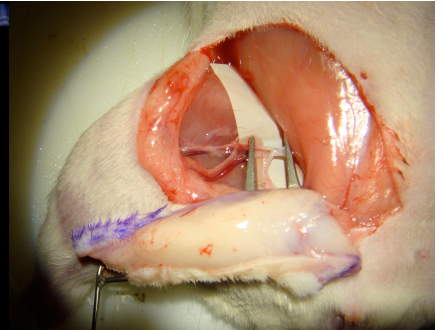


Fig 4m (à droite) : Anastomoses TL artères et veines fémorales: Face Postérieure

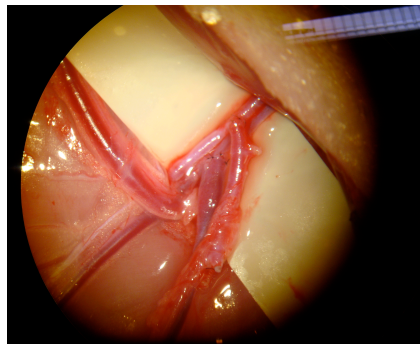


Fig 4n-o (à gauche et au centre) : Mise en charge des anastomoses TL

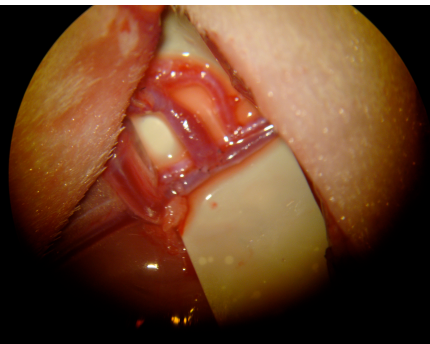


Fig 4p (à droite) : Revascularisation du lambeau

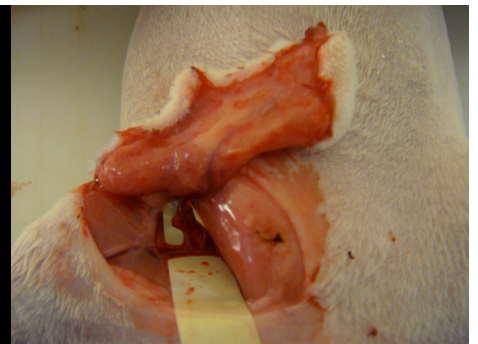


Fig 4q-r : Test d'O'Brien de l'anastomose TL artérielle

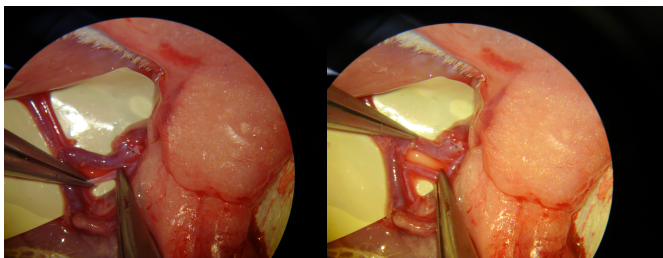


Fig 4s:
Test de Patency de l'anastomose TL veineuse



Fig 4t:
Positionnement du lambeau inguinal

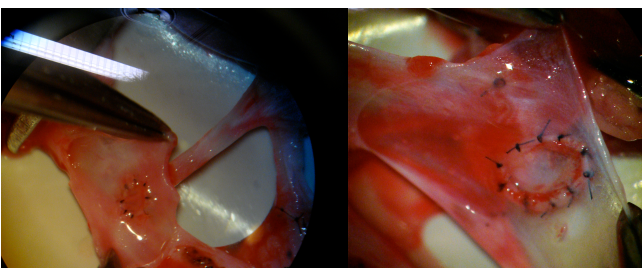


Fig 4u (à gauche) : Contrôle endoluminal de l'anastomose TL artérielle

Fig 4v (à droite) : Contrôle endoluminal de l'anastomose TL veineuse

3. Résultats

3.1 Analyse Statistique des Données

3.1.1 Caractéristiques de la Cohorte

Ce protocole inclut douze rats Wistar formant six couples de Donneur/Receveur (6D/6R). Cette série se compose de trois couples de rats Wistar mâles (50%) et trois couples de rats Wistar femelles (50%). Le poids moyen des Wistar D est de 257g (min 220g - max 295g). Le poids moyen des Wistar R est de 268g (min 245g - max 300g).

Dans tous les cas, le lambeau inguinal libre a été prélevé au dépend du creux inguinal gauche du Wistar D et transplanté au creux inguinal droit du Wistar R. Les dimensions cutanées de ce lambeau est de 4x4cm dans les 6 cas, et est de forme losangique.

3.1.2 Mesure des Temps Opératoires (Tableau 1)

L'analyse statistique des résultats montre que dans ce protocole, le temps moyen de dissection (temps de préparation du site receveur et temps de levée du lambeau) est de 34min (min 31min - max 43min). Le temps moyen de rinçage du lambeau est de 15min (min 7min - max 25min). Le temps moyen de réalisation des anastomoses A-V est de 40min (min 35min - max 47min) pour un nombre moyen de 14 points de 11/0 par rat (6 points/A- 8 points/V). Le temps nécessaire à la mise en place d'un point de Nylon 11/0 est en moyenne de 2,9min (manoeuvres connexes comprises: rinçage Vx, prise de photos, déplacements,...). Le temps moyen de clamage A-V est de 50min (min 43min - max 60min). Dans mes mains, le temps moyen de réalisation de ce protocole d'allotransplantation est de 99min (min 81min - max 128min).

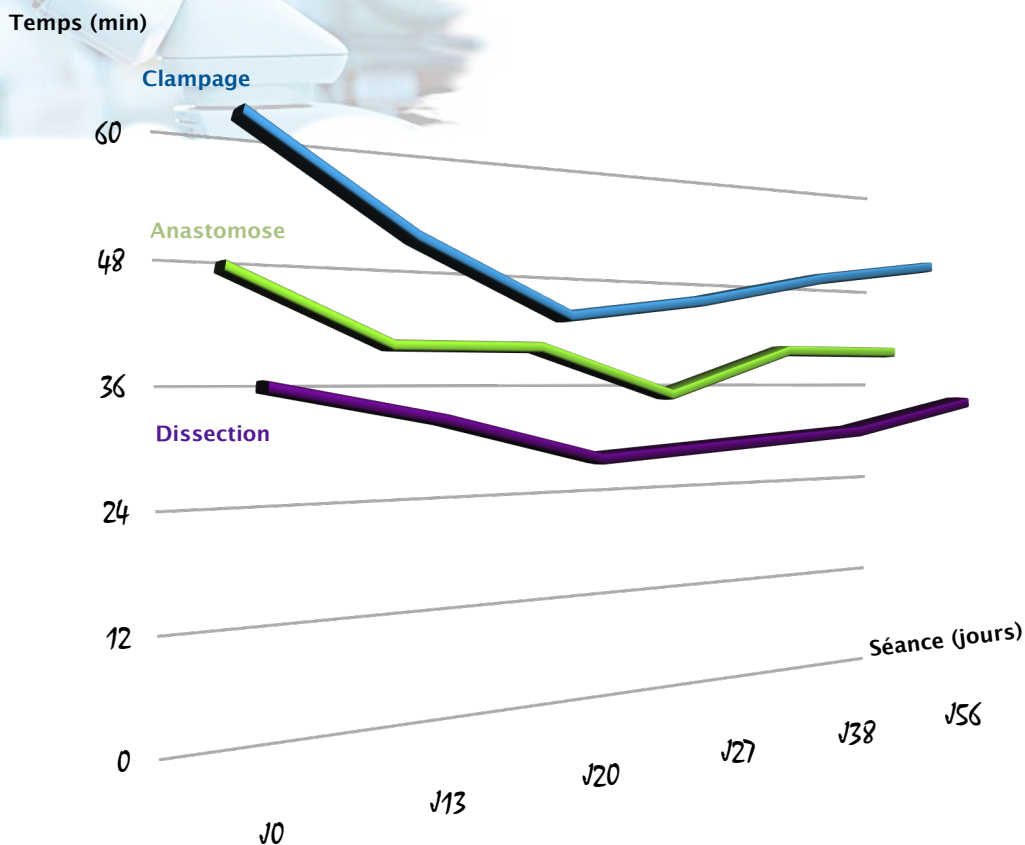
Nous observons pour les trois temps principaux de dissection, d'anastomose et de clamage, des courbes d'apprentissage de progression non-linéaire, d'évolution positive et symétrique dans le temps (**Fig 5**).

Tableau 1 : Données Peropératoires

Couple	Tps Levée Lamb (min)		Taille (cm)	Tps rîncage (min)			Tps Anast AV (min)		Perméabilité Test	
	Tps Prépa Site Rec (min)	Découpe		Prépa Vx	Tps Clamp Site Rec (min)	Tps Anast AV (min)	Artère	Veine		
n°1 (J0)	13	5	18	4x4	7	60	47	Echec	Doute → Echec	
n°2 (J13)	10	8	15	4x4	23	50	40	Perm	Doute → Echec	
n°3 (J20)	8	5	16	4x4	25	43	40	Perm	Perm	
n°4 (J27)	15	8	20	4x4	15	45	35	Perm	Perm	
n°5 (J38)	12	5	14	4x4	12	55	40	Perm	Perm	
n°6 (J56)	10	4	20	4x4	10	50	40	Perm	Perm	

Prépa : Préparation; Tps : Temps; Rec : Receveur; Lamb : Lambeau; Clamp : Clampage; Anast AV : Anastomoses Artère et Veine; Perm : Perméabilité

Fig 5 : Courbes d'Apprentissage



3.1.3 Perméabilité Vasculaire Per-opératoire, Analyse des Complications et Taux d'Échec (Tableau 1 et 2)

Dans 5/6 cas, les tests de perméabilité de l'anastomose artérielle ont été positifs après 3min. Dans 2/6 cas, la perméabilité de l'anastomose veineuse était relative à 3min et l'évolution s'est faite vers la thrombose. Dans 4/6 cas, l'anastomose veineuse est restée perméable après 3min.

Deux rats Wistar R de la série (33%) ont dû être sacrifiés sur l'autel de la courbe d'apprentissage pour défaut de perméabilité de l'anastomose TL veineuse dans un cas, et défaut de perméabilité de l'anastomose TL artérielle et veineuse dans l'autre cas. Dans quatre cas, l'allotransplant a pu être

positionné au niveau du creux inguinal droit du rat Wistar R et suturé par des points simples relativement rapprochés. Nous n'avons déploré aucun décès per-opératoire.

Les causes d'échec mises en évidence par contrôle endoluminal des anastomoses sont pour l'artère, l'existence d'un flap intimal sur un point non total de la paroi avec une anastomose mal équilibrée en terme de répartition des points (intervalles irréguliers). Pour la veine, la thrombose a été secondaire dans un cas, à une prise de berge un peu large et dans l'autre, à un point transfixiant. Tous deux concourant à l'obstruction de la lumière par de la fibrine.

Tableau 2 : Viabilité du Rat et du Lambeau

Couple	Viabilité du Rat	Aspect Lambeau Contrôle Anastomoses sous Microscope
n°1	‡	Artère : - répartition pts ok (6 pts) - flap intimal < rinçage (artère non recoupée) Veine : - répartition pts ok (8 pts) - prise berge un peu large
n°2	‡	Artère: - répartition pts ok (6 pts) - lumière ok Veine : - répartition pts ok (8 pts) - 1 pt transfixiant - lumière occluse par fibrine
n°3	Ok	‡ à J1 avec patte cyanosée Thrombose veine
n°4	Ok	Autopsie J12 : nécrose complète du lambeau Artère : ok perméable Veine : ok perméable
n°5	Ok	‡ à J1 ∅ cause évidente
n°6	Ok	Autopsie J13 : nécrose et fonte complète du lambeau Artère : ok perméable Veine : ok perméable

‡ : rat sacrifié ; pt(s) : point(s) ; ∅ : absence

3.1.4 Evolution Post-opératoire, Contrôle de l'Aspect du Lambeau et des Anastomoses du rat Wistar R vivant (Tableau 2)

L'évolution post-opératoire des quatre rats Wistar R vivants est marquée dans deux cas par un décès à J1 (<24h). Dans un cas, aucune cause évidente n'a pu être déterminée. Nous avons conclu à un décès sur arrêt cardio-respiratoire dans les suites de l'anesthésie. Dans l'autre cas par contre, le décès s'accompagne d'une patte inférieure droite totalement cyanosée signant une vraisemblable thrombose de l'anastomose veineuse. Dans les deux cas, aucune signe de nécrose n'était encore présent au niveau du lambeau.

Pour les deux autres rats vivants, l'autopsie sera réalisée à J12 dans un cas et J13 dans l'autre. Cette autopsie réalisée sous anesthésie mettra en évidence des anastomoses perméables tant artérielles que veineuses dans les deux cas.

Macroscopiquement toutefois, l'évolution des deux lambeaux semble avoir suivi des voies différentes. Dans un cas, le lambeau apparaît totalement nécrosé et forme un placard induré. Dans l'autre, le lambeau en se nécrosant, a totalement disparu (**Fig 6a-b**).

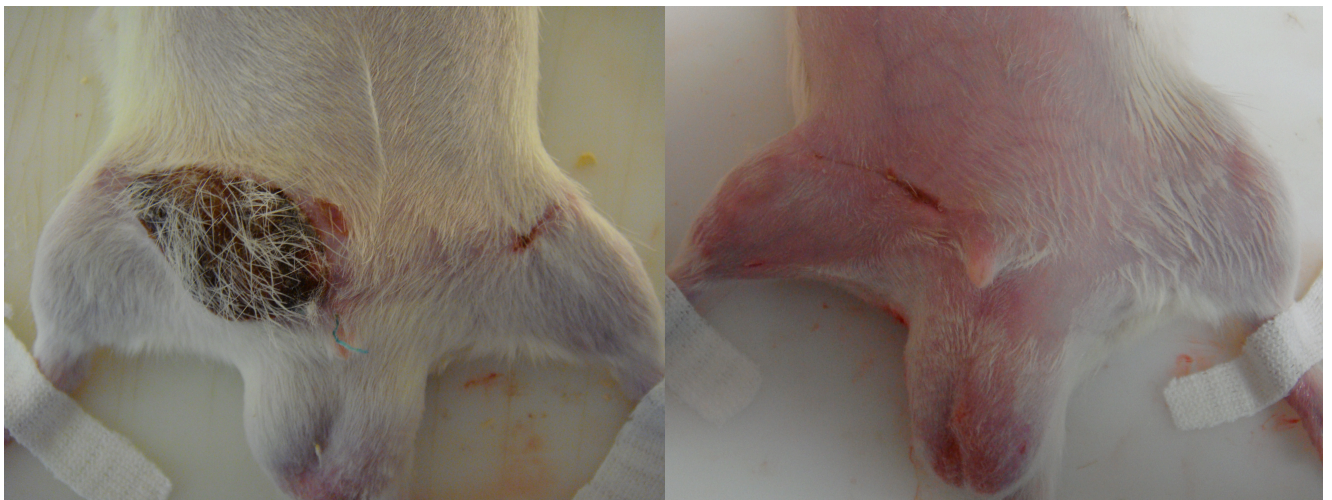


Fig 6 : Evolution post-opératoire du lambeau inguinal

Fig 6a (à gauche) : Nécrose complète du lambeau

Fig 6b (à droite) : Nécrose et fonte complète du lambeau

3.1.5 Analyses des Données Subjectives

Au cours de la réalisation du protocole d'allotransplantation, la manipulation du microscope, des instruments microchirurgicaux, y compris des clamps vasculaires a toujours été ressentie comme étant bonne dans tous les cas. La manipulation des aiguilles de nylon 9/0 a toujours été facile comparativement à celle des aiguilles de nylon 11/0; elle a été ressentie, dans les quatre premiers cas, moyennement difficile pour devenir pour les deux derniers cas, facile. L'état physique de l'opérateur était marqué par une fatigue légère mais incompressible liée au 2h de transports en commun (taxi-train-métro) précédant chacune des séances hebdomadaires. Un tremblement des mains perceptible en début de séance était présent pour les deux premiers cas, lié à un phénomène d'excitation endogène (profond énervement) secondaire à des problèmes d'acheminement jusqu'au laboratoire.

En aucun cas, ne sont apparus en fin de séances, des maux de tête ou de dos, des cervicalgies, une fatigue visuelle ou un tremblement accru des mains.

4. Discussion

4.1 Facteurs Influençant le Résultat

De multiples facteurs influent sur le résultat et conditionnent le succès d'une telle procédure de transfert de lambeau libre sur ce mode de l'allotransplantation. Parmi eux, des facteurs humains, des facteurs techniques (matériel et protocole), des facteurs biologiques et immunologiques (Gilbert et coll.;1998, Yeniduniya et Yeniduniya 2000, Adams et Coll.; 2000, Furka et coll.;2006).

Des facteurs humains endogènes tels que l'état de fatigue, la fatigue visuelle, des maux de tête ou de dos, des cervicalgies, des mains tremblantes peuvent avoir un retentissement néfaste sur la réalisation d'anastomoses microchirurgicales. Dans cette série, on observe que dans les deux premiers transferts, les tests de patency sont

négatifs et concomitants à des problèmes de tremblement des mains dans un contexte de fatigue et de pic tensionnel.

Des facteurs humains exogènes peuvent également retentir sur le succès des anastomoses. Il s'agit notamment de la qualité de l'anesthésie, de la préparation du rat et de son installation sur la table d'opération, ainsi que de la qualité de l'installation de l'opérateur par rapport à son microscope. L'anesthésie n'a pas de retentissement direct sur la perméabilité des anastomoses, mais sa qualité en terme de profondeur d'endormissement et de durée peut avoir un impact crucial sur la réalisation sereine des anastomoses. L'anesthésie par injection, utilisée dans ce protocole, autorise un temps de travail de 3h. Nous n'avons déploré dans cette série aucun réveil per-opératoire problématique sur le plan chirurgical, ni chez le rat Wistar D, ni chez le rat Wistar R. Nous n'avons pas observé par ailleurs de décès per-opératoires liés à un surdosage d'anesthésiants.

La préparation cutanée du rat à toute son importance dans la survenue de corps étranger dans la lumière des vaisseaux à anastomoser. Il est important que la zone opératoire soit rasée et nettoyée à l'alcool de façon à réduire le risque de présence de poils en endoluminal au niveau de l'anastomose. Dans notre série, aucune thrombose n'est secondaire à ce phénomène.

L'installation correcte du rat sur la table opératoire est primordiale et va conditionner le bon déroulement de l'intervention. Le rat doit-être fixé à ses extrémités en traction des membres inférieurs pour mieux exposer les pédicules fémoraux et épigastriques, et sans tension des membres supérieurs pour éviter toute gêne respiratoire. Pendant toute la procédure, il doit-être couvert pour limiter son refroidissement. Nous n'avons observé aucun décès per-opératoire par arrêt respiratoire ou hypothermie. De plus, on observe dans cette série, l'absence de survenue d'une fatigue générale ou visuelle ou de douleur du rachis en fin de procédure. Ceci démontrant une installation systématique adéquate vis-à-vis du microscope et de l'animal.

Des facteurs techniques liés au matériel de microchirurgie peuvent grever la procédure d'un certain taux d'échec. Le matériel microchirurgical mis à disposition au laboratoire n'a jamais été mis en cause dans la survenue des thromboses des anastomoses de cette série.

D'autres facteurs techniques liés au protocole opératoire interviennent dans les résultats, tels que la précision et la qualité du clamage et des artério-veinotomies, la manipulation des vaisseaux. Dans ce protocole, l'élément technique apparaissant le plus à même d'induire des thromboses pour l'anastomose artérielle est le lavage du lambeau au sérum physiologique sous pression par l'artère fémorale. Le risque de thrombose existe non seulement au niveau de l'anastomose artérielle par lésion directe de la paroi artérielle par la canule de rinçage, mais aussi indirecte, de l'intima des microvaisseaux terminaux du lambeau secondaire au lavage sous pression. L'artère fémorale par laquelle le rinçage était réalisé, a été recoupée dans 5/6 cas d'1mm de façon à retrouver une paroi saine suturable. Dans le premier cas de la série, elle ne l'a pas été par omission et nous avons pu observer une évolution vers la thrombose de l'anastomose TL artérielle avec un test de patency négatif à 3min et la présence d'un flap intimal au contrôle de l'anastomose.

Cet élément technique de rinçage du lambeau pourrait expliquer en partie, la coexistence possible d'anastomoses artérielle et veineuse perméables avec une nécrose complète du lambeau observée dans 2 des 6 cas de notre série. Cette nécrose est d'évolution centripète.

Des facteurs immunologiques propres à la technique d'allogreffe interviennent dans l'apparition de cette nécrose et dans le risque de thrombose anastomotique. Dans ce protocole, nous n'avons utilisé aucun agent immunosuppresseur.

4.2 Courbe d'Apprentissage à la Technique Microchirurgicale

Les résultats des temps obtenus pour les différentes phases principales de ce protocole d'étude (dissection-clamage-anastomose) confirment l'aspect non-linéaire de la courbe d'apprentissage aux techniques microchirurgicales, l'évolution de l'opérateur se faisant par palier (Lascar et coll.; 2007). L'amélioration progressive des temps signe une acquisition de la gestuelle indispensable à la pratique de la microchirurgie. L'acquisition définitive de cette gestuelle n'est possible qu'au prix d'un entraînement intensif et répété en laboratoire (Gilbert et coll.; 1998, Lascar et coll.; 2007).

5. Conclusion

La microchirurgie est une discipline exigeante dont l'apprentissage impose une grande rigueur, une maîtrise de soi, beaucoup d'humilité, une endurance physique et psychique particulière face à l'épreuve. Le chirurgien doit faire preuve de dispositions mentales particulières et d'une infinie patience dans la réalisation de techniques microchirurgicales où l'approximation n'a pas droit de cité et où les erreurs techniques se soldent d'une sanction irrévocable et immédiate : l'Échec. Celui-là même qui place le Médecin « tout puissant » devant sa condition d'être humain imparfait et limité, nous renvoyant à cet horrible sentiment d'impuissance qui nous anime lorsque les limites de notre possible sont atteintes. Il s'agit d'une lutte interne entre les limites humaines physiques (fatigue, tremblement physiologique), technique (habileté chirurgicale), mentale (confiance, peur de l'échec) et l'impitoyable exigence de cette discipline.

Mais le Caducée de Médecine, symbole même de notre corporation, n'est-il pas surmonté du Miroir de l'Introspection, invitation à l'autoévaluation et par extension à l'amélioration et au dépassement de soi? La microchirurgie est une excellente école pour apprendre à se maîtriser soi-même, à s'auto-évaluer et à se dépasser avant de pouvoir enfin dompter les éléments qui nous entourent. La microchirurgie constitue aussi une excellente thérapie pour acquérir une meilleure confiance en soi. L'acquisition de cette technicité n'étant possible qu'au prix de frustrations mais conduisant à une meilleure connaissance de soi et de ses possibles.

La maîtrise des techniques microchirurgicales résulte en un sentiment de «Victoire remportée sur soi-même» (A-C Masquelet), une image de soi renforcée, doublée par un sentiment de confiance accrue en ses possibilités techniques.

Pour ma part, ce sont sur des difficultés que je me suis construite jusqu'ici me semble t-il.

Ce protocole de transfert d'un lambeau inguinal libre constitue un excellent modèle d'apprentissage à la technique microchirurgicale. Cet acquis pouvant ensuite être transposé en pratique clinique.

Ce travail expérimental sur le modèle animal corrobore le fait que, «les animaux et particulièrement les animaux de laboratoire, sont indispensables (et irremplaçables) à la survie et au développement des sociétés humaines» (Ramousse 1996).

6. Bibliographie

1. Adams WP, Ansari MS, Hay MT, Tan J, Robinson JB, Friedman RM, Rohrich RJ. Patency of different arterial and venous end-to-side microanastomosis techniques in a rat model. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105(1):151-161.
2. Charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale. Comité national de réflexion éthique sur l'expérimentation animale, 2008. République française.
3. Finseth F and Cutting C. An experimental neurovascular island skin flap for the study of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg.* 1978 ;61 :412.
4. Furka I, Brath E, Nemeth N, Miko I. Learning microsurgical suturing and knotting techniques: comparative data. *Microsurgery* 2006;26:4-7.
5. Gilbert A, Legagneux J et Lapierre F. Apprentissage de la microchirurgie. *Encycl Méd Chir* (Elsevier, Paris), Techniques chirurgicales - Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, 45-025, 1998, 24p.
6. Greene EC. Circulatory system, arteries of the lower extremity. In "The anatomy of the rat" p207-208, Ennice Chace Greene, Braintree Scientific Inc, eds 1935.
7. Hirase Y. Skin and muscle flaps in the rat. In « Experimental and reconstructive microsurgery» p111-114, Susumu Tamai, Springer 2nd edition 2004.
8. Krisek TJ, Tani T, Desprez QQ, Kriehn CL. Experimental transplantation of composite grafts by microvascular anastomosis. *Plast Reconstr Surg.* 1965;36:538.
9. Lascar I, Totir D, Cinca A, Cortan S, Stefanescu A, Bratianu R, Udrescu G, Calcaianu N, Zamfirescu DG. Training Program and learning curve in experimental microsurgery during the residency in plastic surgery. *Microsurgery* 2007;27:263-267.
10. Marcucci L. Lambeau Inguinal de MacGregor. Dans « Couverture des pertes de substance cutanée de la main et des doigts » p183-194, Dominique Le Nen et coll., Springer 2007.
11. Masquelet AC. Réparation des parties molles par lambeaux. Sept procédés de base : indications et techniques. Dans « Chirurgie orthopédique. Principes et généralités » p290-292, Alain-Charles Masquelet, Masson, Paris, 2004.
12. Pederson WC. Principles of Microvascular Surgery. In « Green's Operative Hand surgery», Fifth Edition, Volume Two, Chapter 44, p 1529-1568, Elsevier Churchill Livingstone 2005.
13. Petry JJ and Wortham KA. The anatomy of the epigastric flap in the experimental rat. *Plast Reconstr Surg.* 1984;74(3):410-413.
14. Ramousse R. Ethique et expérimentation animale 1996. <http://www.cons-dev.org/elearning/ethic/EA10.html>

15. Sasaki GH and Pang CY. Hemodynamics and viability of acute neurovascular island skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg.* 1980;65:152.
16. Stock A and Oesterwitz H. Technic of vascular microsurgery of the inguinal flap of the rat. *Zentralbl chir* 1983;108(12):761-765.
17. Strauch B and Murray DE. Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1mm in external diameter using microsurgical techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1967;40(4):325-329.
18. Tamai S. History of microsurgery. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(6):282-294.
19. Yenidunya MO and Yenidunya S. Initially alloperfused autograft: an experimental study with rat groin free flap. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105(2):648-653.

7. Annexe

Fiche Technique du Laboratoire :

Critères d'évaluation objectifs et subjectifs du déroulement de la séance d'entraînement aux techniques microchirurgicales

Nom :

Date :

Technique(s) pratiquée(s)	Durée de la dissection	Durée du clampage	Dissection		Réalisation des sutures		Perméabilité					
			Facile	Difficile	Facile	Difficile	Réussite	Echec	Doute			

Fils utilisés : Préciser le nombre ainsi que la quantité (ex : 1 fil 1/4 de 10/0)

Quantité

Nombre de fils desserrés

Manipulation des aiguilles :

9/0 Facile Moyen Difficile
 10/0 Facile Moyen Difficile
 11/0 Facile Moyen Difficile

Installation :

Vis-à-vis du microscope
 Vis-à-vis de l'animal
 Maniement des instruments
 Positionnement des clamps

Bonne Moyenne Mauvaise

Etat Physique :

Avant de commencer
 Fatigue générale
 Fatigue visuelle
 Maux de tête

A la fin de la séance
 Fatigue générale
 Fatigue visuelle
 Maux de tête

Remarques :

Mal de dos
 Mal aux cervicales
 Tremblement des mains

Mal de dos
 Mal aux cervicales
 Tremblement des mains