

Disponible en ligne sur  
**SciVerse ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



ARTICLE ORIGINAL

# Le microscope électronique à balayage environnemental est-il un outil pertinent pour l'analyse des capsules périprothétiques mammaires ?

*Is environmental scanning electron microscopy a pertinent tool for the analysis of periprosthetic breast capsules?*

L.S. Paek<sup>a</sup>, J.O. Tétreault-Paquin<sup>a</sup>, S. St-Jacques<sup>a</sup>, M. Nelea<sup>b</sup>,  
M.A. Danino<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Service de chirurgie plastique, hôpital Notre-Dame, centre hospitalier de l'université de Montréal, Montréal, Canada

<sup>b</sup> Département de génie chimique, école polytechnique de Montréal, Montréal, Canada

Reçu le 7 mars 2012 ; accepté le 20 novembre 2012

## MOTS CLÉS

Microscopie électronique à balayage (MEB) ;  
Implants ;  
Capsule ;  
High vacuum ;  
ESEM

## Résumé

**But de l'étude.** – Le microscope électronique à balayage (MEB) est un vieil allié dans notre compréhension des interactions entre les biomatériaux que nous utilisons et le corps humain. Avec le MEB conventionnel (HiVac), les échantillons biologiques ne peuvent être observés directement du fait de leurs fortes hydratations. Le but principal de cet article est de présenter les révolutions récentes en MEB, notamment le mode environnemental (ESEM). L'objectif secondaire sera de définir les intérêts potentiels de ces technologies dans l'analyse des capsules périprothétiques.

**Patientes et méthode.** – Il s'agit d'une étude prospective sur dix patientes atteintes de cancer du sein en cours de reconstruction par expanseurs-prothèses. Lors de l'exérèse de l'expanseur, un échantillon de capsule périprothétique a été prélevé. Chaque échantillon a été examiné en HiVac ainsi qu'en ESEM. Une analyse spectroscopie X à dispersion d'énergie (EDX) a été effectuée afin d'identifier les composants chimiques dans le tissu capsulaire. Pour chaque modalité, nous avons comparé les informations concernant la texturation de la surface capsulaire, le décompte cellulaire et la présence d'un biofilm sur l'interface. Pour chaque image un score de 1 à 3 selon une échelle de Likert a été attribué par trois experts en microscopie électronique indépendant.

\* Auteur correspondant.

Adresses e-mail: Laurence.paek@gmail.com (L.S. Paek), jtetr038@uottawa.ca (J.O. Tétreault-Paquin), samstjacques@gmail.com (S. St-Jacques), Monica.nelea@polymtl.ca (M. Nelea), daninoalain@yahoo.fr (M.A. Danino).

**KEYWORDS**

Scanning electron microscopy (SEM);  
Implants;  
Capsule;  
High vacuum;  
ESEM

**Résultats.** — Le mode HiVac apparaît supérieur au mode ESEM concernant la définition de la texturation, l'identification des cellules et la présence d'un biofilm. L'analyse EDX permet dans les deux modes une analyse équivalente.

**Conclusion.** — Le mode HiVac s'avère être plus approprié que le mode ESEM dans l'analyse des capsules périprothétiques. L'analyse EDX permet de mettre en évidence des éléments chimiques atypiques.

© 2012 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Summary**

**Purpose.** — Scanning electron microscopy (SEM) is a powerful analytical tool that allows the study of interactions between commonly used biomaterials and the human body. In conventional SEM (HiVac), hydrated biological samples cannot be analyzed in their natural state and must be dried and metallized. The primary goal of this study is to present recent developments in SEM, notably Environmental SEM (ESEM). The secondary objective is to define the potential utility of these new technologies in the study of periprosthetic breast capsules.

**Materials and methods.** — Our pilot study group prospectively included 10 patients with breast cancer undergoing 2-stage expander to implant reconstruction. Periprosthetic breast capsule specimens were sampled during expander removal. Each sample was analyzed using both HiVac and ESEM modalities. Energy dispersive X-ray (EDX) studies were also conducted in order to assess the chemical composition of the capsular tissue samples. Under each observation mode, comparisons of samples' three-dimensional surface relief, cellular composition and biofilm presence were made. For each image, a score from 1–3 on a Likert scale was attributed by three independent experts in electron microscopy.

**Results.** — HiVac mode was found to be superior to ESEM for the assessment of the three main study parameters (surface relief, cellularity, biofilm). The quality of the EDX analysis was equivalent under both SEM modalities.

**Conclusion.** — HiVac mode was shown to be more appropriate than ESEM for the global analysis of periprosthetic breast capsules. EDX analysis permits the identification of atypical chemical elements in tissue samples.

© 2012 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Introduction**

Historiquement les implants mammaires représentent une source de tension constante entre les chirurgiens, les institutions sanitaires et les patientes, cela ayant amené plusieurs moratoires dans le monde [1,2]. Cette situation nous oblige à inclure dans notre corpus scientifique des éléments de compréhension et d'analyse sur les produits que nous mettons en place. L'actualité récente nous montre que nous ne pouvons nous fier totalement aux industriels pour nous donner ces informations [3]. Le microscope électronique à balayage (MEB) permet d'obtenir des images de surfaces de pratiquement tous les matériaux solides, à des échelles allant de celle de la loupe (10×) à celle du microscope électronique en transmission (500 000× ou plus). Ces images frappent d'abord par le rendu très parlant du relief et la grande profondeur de champ. Équipé de détecteurs appropriés, le MEB permet de faire entre autres de la micro-analyse spectroscopie X à dispersion d'énergie (EDX), une analyse élémentaire locale [4–8].

Le MEB conventionnel fonctionne dans un vide ordinaire (10–5 à 10–6 mbar) ; les échantillons peuvent être massifs, de dimension allant de quelques µm (particules) à une dizaine de cm de diamètre, voire plus (prélèvements industriels). Ils doivent supporter le vide sans le polluer et être conducteurs ; la préparation est en général simple. Le MEB à pression contrôlée, depuis la fin des années 90 (dit environnemental ou « low vacuum) permet l'observation dans un vide allant jusqu'à 30 mbar, rendant ainsi possible l'examen

d'échantillons humides ou gras (échantillons biologiques), d'isolants sans métallisation préalable (céramiques, métaux corrodés), voire en présence de liquide.

Des observations ont été régulièrement publiées sur des échantillons biologiques dans différentes spécialités : les muqueuses intestinales et pulmonaires, l'os, et plusieurs microorganismes ont ainsi été étudiés avec ce nouvel outil [9–11]. Parallèlement au développement du mode environnemental, le microscope conventionnel bénéficiera de plusieurs avancées permettant notamment de faire un séchage à l'air sans passer par la substitution de l'eau à l'alcool et la déshydratation au point critique. La révolution photographique numérique a bénéficié grandement à la microscopie électronique permettant l'obtention et le traitement d'images beaucoup plus facilement.

L'analyse des capsules périprothétiques est l'application la plus connue du MEB en chirurgie plastique [12,13]. Le but de ce travail est de comparer pour la première fois en chirurgie plastique les observations faites sur des capsules périprothétiques avec le MEB conventionnel « high vacuum » (HiVac) et le MEB environnemental (ESEM). Les performances de ces deux modes d'observation pour détecter les compositions et modifications structurales des capsules périprothétiques sont évaluées et discutées.

**Patients et méthode**

Il s'agit d'une étude d'impact prospective incluant des patientes suivies dans notre centre hospitalier universitaire

pour reconstruction du sein post-cancer par technique de prothèse d'expansion mammaire. Ces reconstructions étaient réalisées avec les deux prothèses les plus répandues sur notre marché nord-américain : le Mentor Siltex™ et Allergan Biocell®. L'étude impliquait la participation de cinq chirurgiens plasticiens. Lors de l'intervention de remplacement de la prothèse d'expansion par un implant définitif, 1 cm<sup>2</sup> de capsule périprothétique est prélevée face au dôme de la prothèse. Sont alors colligés la présence d'une double membrane, l'adhérence capsule-prothèse et la présence d'un liquide pseudosynovial. Le prélèvement est immédiatement orienté avec un fil sur la surface capsulaire en contact avec la prothèse. Le prélèvement est ensuite fixé dans du glutaraldehyde 2 % et du cacodylate de sodium 0,1 M pour stabiliser les structures cellulaires à un ph de 7,3. Le prélèvement est conservé au réfrigérateur à 4 °C pour au moins 24 heures.

Avant l'observation, chaque échantillon est divisé en deux parties égales d'au minimum 3 × 3 mm. L'une sera examinée en HiVac et l'autre en ESEM.

Pour l'examen en microscopie électronique conventionnelle HiVac, les échantillons sont lavés à l'eau, séchés à l'air pendant 20 minutes, puis pulvérisés d'or avec le pulvérisateur manuel AGAR pour une métallisation à faible pression négative.

L'examen en ESEM ne requiert aucune préparation supplémentaire ; les échantillons sont maintenus à 60 % d'humidité avec une pression à 3,6 torr et une température de 4 °C.

Nous avons utilisé un microscope (Quanta 200 FEG, FEI Company, Hillsboro, OR, États-Unis) avec détecteur EDAX. Les observations dans les deux modes ont été faites à grossissement 800×, 1600× et 3000×. Toutes les images HiVac et ESEM sont analysées avec le logiciel XT docu (FEI inc.).

Trois experts indépendants spécialistes en MEB ont d'abord déterminé les éléments observables dans toutes les images sans distinction de mode. Toutes les images étaient revues par les analystes qui listaient les éléments qu'ils observaient sur chaque photo. Seuls les paramètres communs aux trois observateurs étaient gardés. Cela permettant l'établissement de paramètres d'observation.

Puis nous avons comparé ces paramètres sur les deux modes d'observation HiVac et ESEM, soit avec un score de Likert de 1 à 3 (1 = faible qualité, 2 = qualité moyenne et 3 = qualité excellente) déjà utilisé par van Heerden et al. [14] soit avec un décompte quand le paramètre s'y prêtait. Pour chaque échantillon dans chaque mode d'observation les analystes disposaient de trois photographies ; ils donnaient un score global de performance pour le paramètre d'observation. Nous avons donc eu un total de 30 scores HiVac et 30 ESEM.

La détection d'un biofilm à l'observation des clichés était notée « oui » ou « non » par chaque observateur pour chaque échantillon et chaque mode d'observation. Notons que les caractéristiques principales recherchées étaient une couche pseudo-acellulaire ainsi que la présence de cellules coccoïdes compatibles avec le *Staphylococcus epidermidis*. Les résultats étaient comparés à la détection lors de la chirurgie de pseudomembrane, ou de liquide pseudosynovial.

Une analyse statistique de ces scores a été faite au test *t* de student.

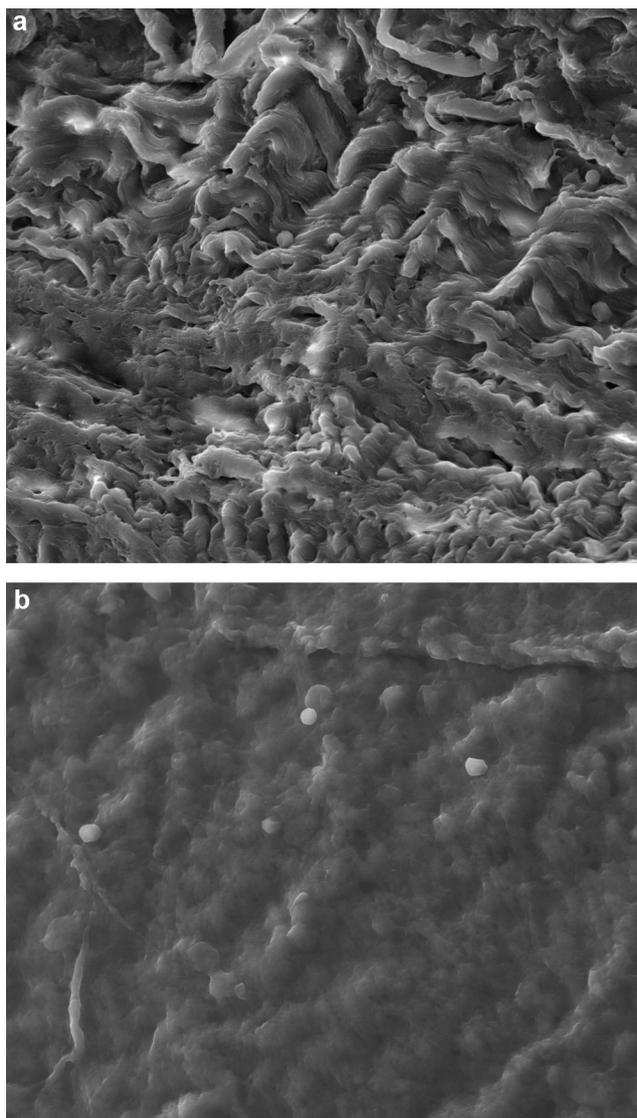
Pour vérifier la fiabilité de nos évaluations, nos trois experts indépendants ont relu toutes les images en les

classant selon les paramètres choisis. Enfin, un taux de corrélation a été établi entre les différentes mesures et celle de notre équipe.

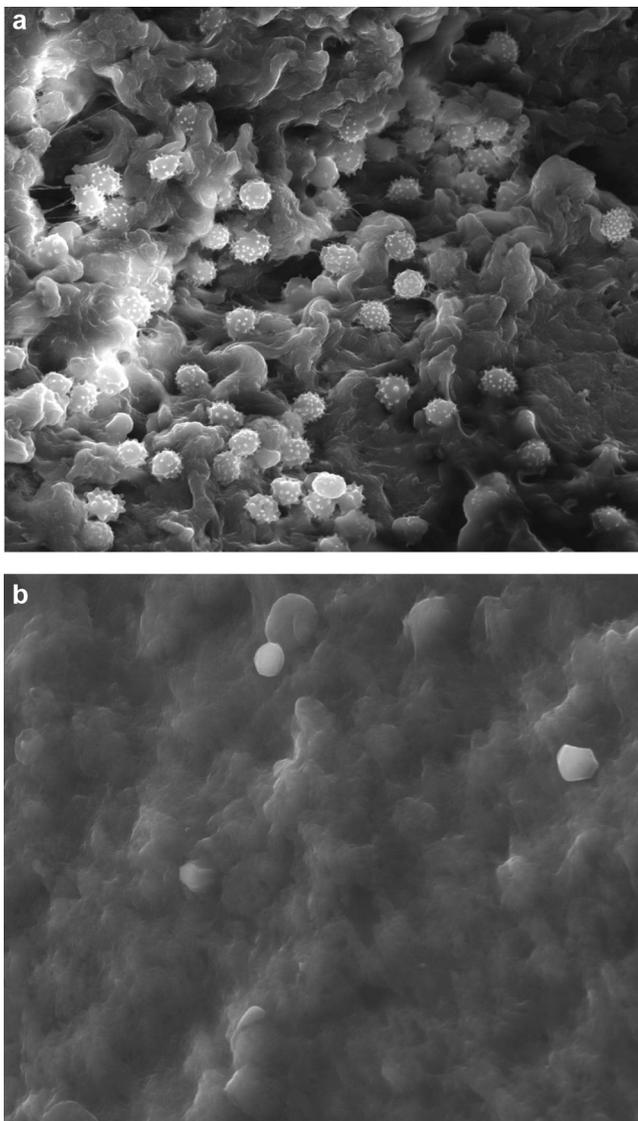
Une micro-analyse EDX, une technique utilisée en combinaison avec le MEB pour l'analyse chimique élémentaire des échantillons, a été effectuée pour tous les échantillons en mode HiVac et ESEM.

## Résultats

Dix patientes ayant un cancer du sein – reconstruit par technique de prothèse d'expansion mammaire – ont été incluses dans cette étude pilote prospective. Dix prélèvements ont été réalisés lors de l'intervention de remplacement de la prothèse d'expansion par un implant définitif. Ce qui a permis de faire dix observations en HiVac et dix en ESEM. Dans



**Figure 1** Clichés avec magnification 1600× d'un échantillon de capsule périprothétique en mode microscope électronique à balayage (MEB) conventionnel (HiVac) (a) et MEB environnemental (ESEM) (b). Le mode HiVac permet une meilleure visualisation du relief tridimensionnel ainsi que la possibilité de mesurer les dimensions des aspérités.



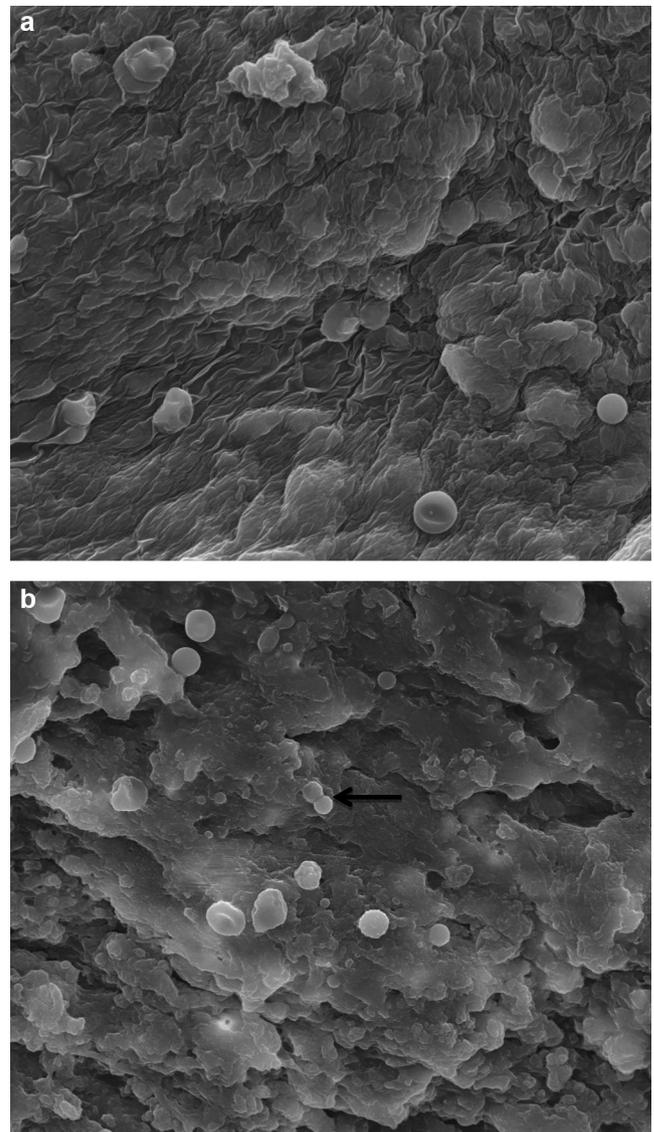
**Figure 2** Clichés avec magnification 3000× d'un échantillon de capsule périprothétique en mode microscope électronique à balayage (MEB) conventionnel (HiVac) (a) et MEB environnemental (ESEM) (b). Le mode HiVAC permet un décompte plus précis des cellules et facilite leurs caractérisations ; les échinocytes (érythrocytes dont la membrane cellulaire était modifiée) constituent le type cellulaire majoritaire de cet échantillon.

chaque mode, des photographies ont été faites à 800×, 1600× et 3000× de grossissement, ce qui a constitué une banque totale de 60 photographies. Par ailleurs, 20 micro-analyses EDX (analyse de composition locale) ont été réalisées.

#### Détermination des paramètres d'observation

Tous les observateurs ont stipulé qu'ils pouvaient pour chaque échantillon :

- déterminer le degré de texturation de la capsule (Fig. 1) ;
- faire le compte et la caractérisation des cellules sur la capsule (Fig. 2) ;
- déterminer la présence d'un biofilm sur la capsule (Fig. 3).



**Figure 3** Clichés avec magnification 3000× d'un échantillon de capsule périprothétique avec biofilm en mode microscope électronique à balayage (MEB) conventionnel (HiVac). L'aspect pseudo-acellulaire du biofilm est bien visualisé (a). Des cellules coccoïdes compatibles avec du *Staphylococcus epidermidis* sont indiquées par la flèche (b).

#### Comparaison des performances entre MEB conventionnel (HiVac) et MEB environnemental (ESEM)

##### Détermination du degré de texturation

Le score moyen de performance du mode HiVac était de 30 contre 15 en ESEM. Une supériorité statistiquement significative pour HiVac. Le taux de corrélation entre les observateurs était de 83 %.

##### Décompte et caractérisation cellulaire

Les cellules retrouvées étaient des globules rouges, des échinocytes (érythrocytes dont la membrane cellulaire était modifiée) et des lymphocytes. Le score moyen de

**Tableau 1** Sommaire des paramètres d'étude et performances.

Paramètre	Mode d'opération MEB supérieur
Détermination du degré de texturation	HiVac
Décompte et caractérisation cellulaire	HiVac
Présence de biofilm	HiVac
Analyses EDX	HiVac et ESEM

MEB : microscope électronique à balayage ; HiVac : MEB conventionnel ; ESEM : MEB environnemental ; EDX : spectroscopie X à dispersion d'énergie.

performance du mode HiVac était de 30 contre 12 en ESEM. Une supériorité statistiquement significative pour HiVac. Le taux de corrélation entre les observateurs était de 100 %.

### Biofilm

La présence de biofilm était constatée dans trois échantillons en mode HiVac. Le biofilm n'a jamais pu être identifié en ESEM. Le taux de corrélation entre les observateurs était de 100 %. De plus, la corrélation entre l'identification en MEB HiVac et la clinique était de 100 %.

### Spectroscopie X à dispersion d'énergie (EDX)

La qualité de l'analyse élémentaire de la caractérisation chimique des échantillons était strictement identique dans les deux modes d'observation. (Tableaux 1 et 2).

## Discussion

### Microscope électronique à balayage (MEB) dans la recherche en chirurgie plastique : revue de la littérature des 20 dernières années

Encouragés par les succès initiaux des implants mammaires recouverts d'une couche de polyuréthane texturé à résister à l'évolution de la contracture capsulaire, les implants de silicone à surface texturée ont été développés comme alternative dans les années 1980. On espérait que ces nouveaux produits puissent conserver les avantages du revêtement texturé proposés, tout en évitant les inquiétudes liées à l'hydrolyse de polyuréthane dans l'organisme ainsi que le délaminage potentiel de la surface texturée. Les implants de

**Tableau 2** Taux de corrélation entre les différents observateurs pour les paramètres d'observation.

Paramètre	Corrélation entre observateurs (%)
Détermination du degré de texturation	83,3
Décompte et caractérisation cellulaire	100
Présence de biofilm	100

polyuréthane ont été retirés du marché volontairement par le fabricant en 1991. Parmi les types d'implants de silicone texturée qui ont été initialement popularisés, et continuent d'être utilisés aujourd'hui, sont le Siltex<sup>TM</sup> de Mentor et le Biocell<sup>®</sup> d'Allergan. La surface Siltex<sup>®</sup> est obtenue par le moulage de la couche externe de trempage sur un support rugueux [12]. Allergan utilise la technique « lost-salt » plus agressive ; la surface est posée avec une pression sur un lit de cristaux de sel calibré de petite taille [12]. De nombreuses études ont démontré que ces implants texturés sont généralement efficaces pour réduire l'incidence de contracture capsulaire [15].

Depuis les années 1990, l'ultrastructure des capsules périprothétiques a généré beaucoup d'intérêt. Par conséquent, le MEB conventionnel est devenu un outil précieux dans la recherche en chirurgie plastique. Les études antérieures sur des échantillons provenant de sujets humains ont fourni quelques détails initiaux concernant la structure et la composition de la capsule [16,17]. Autour de la même période, Del Rosario et al. ont pu identifier de véritables membranes synoviales entourant sept des 15 implants mammaires retirés en raison d'une contracture capsulaire. Leurs analyses au MEB de ces capsules ont révélé des concentrations élevées de particules de silicone à l'intérieur de cellules phagocytaires ainsi que dans le stroma collagèneux. Ils ont proposé une fuite de gel de silicone comme un facteur contribuant à cette métaplasie synoviale [18]. Dans une étude antérieure réalisée sur des modèles de lapin, Whalen et al. ont aperçu que la radiothérapie modifiait les propriétés angiogéniques et cellulaires des capsules [19]. À la suite de ces premières études, il s'est avéré que de nombreux facteurs environnementaux, soit internes ou externes, avaient probablement des influences très particulières sur l'évolution de la capsule périprothétique.

En utilisant le MEB, la complexité de l'architecture capsulaire a ensuite été rendue plus évidente par Rubino et al. ; ils ont effectué des coupes tangentielles sur des capsules provenant d'implants texturés sous-pectoraux retirés en raison d'une contracture Baker grade III. Une structure à cinq couches a été observée dans ces échantillons, et celle-ci comprenait une « couche vasculaire » interne ainsi qu'externe. Il est intéressant de noter que cette architecture multicouche n'était pas identifiable dans leurs échantillons de contrôle provenant d'implants sans contracture. Cependant, les modèles d'implants texturés concernés dans l'étude n'étaient pas spécifiés [20].

Au cours de la dernière décennie, l'essentiel de la réflexion semble s'être réorienté vers les subtilités de l'ultrastructure de la surface prothétique et ses effets subéquents sur la réponse capsulaire. Le MEB conventionnel a continué à jouer un rôle clé dans ces études. En 2001, les différences ultrastructurales des surfaces Siltex<sup>TM</sup> et Biocell<sup>®</sup> ont été décrites et illustrées en détail. En illustrant la réponse en miroir capsulaire-tissu, ou « l'effet Velcro », l'étude a confirmé la capacité de la surface Biocell<sup>®</sup> d'accueillir la croissance de tissu. Par ailleurs, un patron de fibre linéaire a été observé chez les capsules provenant d'implants de gamme Siltex<sup>TM</sup> 13.

Également par MEB, Barr et al. ont mené une étude observationnelle de la surface des implants Mentor Siltex<sup>TM</sup>, Allergan Biocell<sup>®</sup>, Allergan lisse, Cereplas Cereform<sup>®</sup> et Polytech Microthane<sup>®</sup> (micropolyuréthane). Les images

présentées ont ajouté de nouvelles informations portant sur les topographies nanométriques variées de ces produits [21]. En créant un milieu de culture comprenant des fibroblastes de souris, Prasad et al. ont étudié la relation entre la topographie superficielle et la cicatrisation afin d'arriver à mieux comprendre la formation capsulaire. Ils ont préparé des échantillons d'élastomère de silicone avec des rugosités de surface variées ; les degrés de rugosité des échantillons ont été analysés qualitativement par le MEB et quantitativement en utilisant des outils associés, soit le microscope à force atomique (MFA). Il est intéressant de noter qu'en utilisant un essai PicoGreen<sup>®</sup>, la croissance des fibroblastes a diminué face à l'augmentation de la rugosité de surface. De plus, les surfaces lisses ont révélé des concentrations considérablement plus élevées en fibroblastes [22]. Des études menées par Dalby et al. ont démontré que les filopodes cellulaires, des protrusions sensorielles, sont capables de détecter des îlots nanométriques aussi petits que 10 nm [23]. Ces observations soulignent la pertinence de certaines caractéristiques de la surface des implants en ce qui concerne l'évolution naturelle de la capsule adhérente et peuvent avoir des implications pour les futures techniques de fabrication des produits.

D'autres études, tout en utilisant le MEB comme outil d'étude, ont fourni d'importantes nouvelles données dans l'analyse de la capsule avec des implications cliniques plus palpables. Le MEB a joué un rôle important dans l'analyse des biofilms dans les échantillons de capsules mammaires. Pajkos et al. ont démontré l'existence de vastes dépôts amorphes biologiques sur les implants mammaires retirés pour cause de contracture capsulaire. Il est à noter que les images MEB ont été en mesure de révéler un biofilm sur un échantillon de capsule, malgré une culture négative bactérienne. Les auteurs ont postulé que le biofilm bactérien induit et accélère la formation capsulaire [24]. Tamboto et al. ont exploré cette hypothèse dans leur étude d'inoculation de *S. epidermidis* autour d'implants Biocell<sup>®</sup> remplis de gel dans les modèles porcins. Les cellules coccoïdes enfermées dans une matrice de glycocalyx ont été observées au MEB sur tous les échantillons de capsules possédant un biofilm ; la culture bactérienne était négative dans 19% des biofilms. Les auteurs ont remarqué un risque quatre fois plus élevé de développer une contracture lorsque l'on compare l'inoculation aux groupes de témoins [25]. Les expériences in vitro de van Heerden et al. sur les effets des différents agents de revêtement antibactériens sur la formation de biofilm, ont produit des résultats intéressants qui pourraient conduire à des changements dans la pratique clinique en chirurgie plastique. En utilisant le MEB afin de mesurer la formation de biofilm sur les disques de silicone texturé et lisse à la fois, ils ont noté que le chloramphénicol, l'acide fusidique et l'oxytétracycline/polymyxine B sulfate étaient supérieurs à la mupirocine, la sulfadiazine d'argent et la néomycine/chlorhexidine en termes de résistance à la formation de biofilm sur une période de sept jours [14].

Au cours des 20 dernières années, une multitude d'études importantes, provenant de groupes à la fois dans la chirurgie plastique et les sciences fondamentales, ont conduit à une meilleure compréhension de la capsule périprothétique mammaire et les facteurs qui influencent sa formation ainsi que sa contracture. La technologie du MEB conventionnel a été une force motrice de cette recherche, ce qui a permis

une visualisation directe sans précédent de plusieurs des caractéristiques architecturales et cellulaires imperceptibles d'échantillons d'étude.

### Microscope électronique à balayage (MEB) conventionnel (HiVac) versus environnemental (ESEM)

Jusqu'à présent, les études antérieures sur les prothèses et les capsules, aussi bien dans la chirurgie plastique que dans la littérature des sciences fondamentales, se sont appuyées sur la technologie du MEB conventionnel, qui exige que les échantillons soient déshydratés et conducteurs d'électricité. Comme mentionné auparavant, les échantillons biologiques doivent donc subir un processus de séchage et de revêtement métallique. En évitant les étapes de préparation mentionnées ci-dessus, l'ESEM permet théoriquement une analyse de l'échantillon plus facile, plus rapide tout en réduisant le risque de modifications de surface ou d'artefacts. Au cours de cette étude, nous reconnaissons que l'approche ESEM offre des avantages logistiques en comparaison avec le traditionnel HiVac en ce qui concerne la préparation d'échantillons. Cependant, notre intérêt principal dans cette étude était de comparer directement la qualité et le potentiel des images obtenues afin de déterminer quel mode serait le mieux adapté pour la recherche future sur le surfaçage des prothèses mammaires et la pathologie capsulaire.

En termes d'analyse EDX, le HiVac et l'ESEM se sont avérés être identiques. Cependant, il est important de noter que quelques études dans la littérature biologique environnementale indiquent des potentielles limitations de l'ESEM dans la détection d'éléments [26,27]. De plus, nos observations comparatives indiquent plusieurs limitations importantes de l'ESEM à l'égard de l'évaluation des trois paramètres de notre étude. En ce qui concerne le relief et les aspects cellulaires de la capsule, nous avons constaté que le HiVac offre des images de qualité nettement supérieure, tel que rapporté par nos experts indépendants. Nos taux de corrélation élevés de 83 % et 100 %, respectivement, nous permettent de juger avec assez d'assurance que le mode de HiVac est préférable pour ces analyses. En revanche, ce qui est encore plus frappant, c'est que nos experts n'ont pas pu identifier les biofilms en utilisant l'ESEM dans les trois échantillons qui s'étaient révélés positifs à la fois sur la base d'observations de HiVac et d'observations cliniques au moment de l'enlèvement des prothèses d'expansion.

Nos résultats valident certainement les résultats de recherches antérieures effectuées dans ce domaine ; une répétition des études antérieures citées dans notre étude, en utilisant la technologie ESEM, ne serait pas susceptible de produire une analyse de qualité supérieure ou des détails additionnels pertinents. Par conséquent, en ce qui concerne nos paramètres d'étude énumérés, les avantages pratiques de la technologie ESEM actuelle ne justifient pas son utilisation dans des études ultérieures de tissus biologiques périprothétiques. Il est important de noter que selon nos résultats, il n'est pas possible d'extrapoler les conclusions de notre étude à celle d'autres tissus biologiques pertinents pour les chirurgiens plasticiens. Bien que quelques études comparatives MEB conventionnel/ESEM aient attesté la supériorité de l'ESEM en ce qui a trait à la préservation de « l'état naturel » dans la matrice extracellulaire végétale

[28] et dans la muqueuse intestinale de rat [11], cette dernière étude remarque que les deux modes doivent néanmoins être utilisés conjointement afin d'obtenir une évaluation plus complète des tissus.

## Conclusion

Le mode HiVac permet une meilleure appréciation tridimensionnelle de la texturation ainsi qu'une caractérisation et un décompte cellulaire plus précis à la surface des échantillons. De plus, il rend possible l'identification de biofilms bactériens ayant un lien démontré dans l'évolution pathologique des capsules. L'analyse EDX permet de mettre en évidence des éléments chimiques atypiques retrouvés dans le tissu capsulaire, peu importe le mode d'observation utilisé. Il est à noter que, bien qu'il soit primordial de réévaluer de façon intermittente les avantages potentiels de la technologie ESEM alors qu'elle poursuit son évolution, nous concluons que le mode HiVac est actuellement un outil de qualité supérieure pour l'analyse complète des capsules périprothétiques.

## Déclaration d'intérêts

L.S. Paek : aucun.  
 J.-O. Tétreault-Paquin : aucun.  
 S. St-Jacques : aucun.  
 M. Nelea : aucun.  
 M.A. Danino : consultant, Allergan Inc.

## Références

- [1] Spear SL, Parikh PM, Goldstein JA. History of breast implants and the food and drug administration. *Clin Plast Surg* 2009; 36(1):15–21 [v].
- [2] Gangloff D, Ghislain JC, Grolleau JL, Chavoïn JP. Evolutive French regulation and materiovigilance specific to the breast implants. *Ann Chir Plast Esthet* 2005;50(5):408–21.
- [3] Smith R, Lunt N, Hanefeld J. The implications of PIP are more than just cosmetic. *Lancet* 2012;379(9822):1180–1.
- [4] Carlton RA, Lyman CE, Roberts JE. Charge neutralization in the ESEM for quantitative X-ray microanalysis. *Microsc Microanal* 2004;10(6):753–63.
- [5] Cazaux J. About the mechanisms of charging in EPMA, SEM, and ESEM with their time evolution. *Microsc Microanal* 2004;10(6): 670–84.
- [6] Danilatos GD. Introduction to the ESEM instrument. *Microsc Res Tech* 1993;25(5–6):354–61.
- [7] Danilatos GD. Bibliography of environmental scanning electron microscopy. *Microsc Res Tech* 1993;25(5–6):529–34.
- [8] Danilatos GD. Figure of merit for environmental SEM and its implications. *J Microsc* 2011;244(2):159–69.
- [9] Gatti AM, Kirkpatrick J, Gambarelli A, Capitani F, Hansen T, Eloy R, et al. ESEM evaluations of muscle/nanoparticles interface in a rat model. *J Mater Sci Mater Med* 2008;19(4):1515–22.
- [10] Gilbert LC, Doherty RE. Using ESEM and SEM to compare the performance of dentin conditioners. *Microsc Res Tech* 1993; 25(5–6):419–23.
- [11] Hbold C, Dunel-Erb S, Chevalier C, Laurent P, Le Maho Y, Lignot JH. Observations of the intestinal mucosa using environmental scanning electron microscopy (ESEM); comparison with conventional scanning electron microscopy (CSEM). *Micron* 2003;34(8):373–9.
- [12] Danino A, Rocher F, Blanchet-Bardon C, Revol M, Servant JM. A scanning electron microscopy study of the surface of porous-textured breast implants and their capsules. Description of the 'velcro' effect of porous-textured breast prostheses. *Ann Chir Plast Esthet* 2001;46(1):23–30.
- [13] Danino AM, Basmacioglu P, Saito S, Rocher F, Blanchet-Bardon C, Revol M, et al. Comparison of the capsular response to the biocell RTV and mentor 1600 siltex breast implant surface texturing: a scanning electron microscopic study. *Plast Reconstr Surg* 2001;108(7):2047–52.
- [14] van Heerden J, Turner M, Hoffmann D, Moolman J. Antimicrobial coating agents: can biofilm formation on a breast implant be prevented? *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2009;62(5):610–7.
- [15] Spear SL, Elmaraghy M, Hess C. Textured-surface saline-filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg* 1542;105(4):1542–52.
- [16] Raso DS, Crymes LW, Metcalf JS. Histological assessment of fifty breast capsules from smooth and textured augmentation and reconstruction mammoplasty prostheses with emphasis on the role of synovial metaplasia. *Mod Pathol* 1994;7(3):310–6.
- [17] Luke JL, Kalasinsky VF, Turnicky RP, Centeno JA, Johnson FB, Mullick FG. Pathological and biophysical findings associated with silicone breast implants: a study of capsular tissues from 86 cases. *Plast Reconstr Surg* 1997;100(6):1558–65.
- [18] del Rosario AD, Bui HX, Petrocine S, Sheehan C, Pastore J, Singh J, et al. True synovial metaplasia of breast implant capsules: a light and electron microscopic study. *Ultrastruct Pathol* 1995;19(2):83–93.
- [19] Whalen RL, Bowen MA, Fukumura F, Fukamachi K, Muramoto K, Higgins P, et al. The effects of radiation therapy on the tissue capsule of soft tissue implants. *ASAIO J* 1994;40(3):M365–70.
- [20] Rubino C, Mazzarello V, Farace F, D'Andrea F, Montella A, Fenu G, et al. Ultrastructural anatomy of contracted capsules around textured implants in augmented breasts. *Ann Plast Surg* 2001;46(2):95–102.
- [21] Barr S, Hill E, Bayat A. Current implant surface technology: an examination of their nanostructure and their influence on fibroblast alignment and biocompatibility. *Eplasty* 2009;9:e22.
- [22] Prasad BR, Brook MA, Smith T, Zhao S, Chen Y, Sheardown H, et al. Controlling cellular activity by manipulating silicone surface roughness. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2010;78(2): 237–42.
- [23] Dalby M, Riehle M, Johnstone H, Affrossman S, Curtis A. Investigating the limits of filopodial sensing: a brief report using SEM to image the interaction between 10 nm high nano-topography and fibroblast filopodia. *Cell Biol Int* 2004;28(3):229–36.
- [24] Pajkos A, Deva A, Vickery K, Cope C, Chang L, Cossart Y. Detection of subclinical infection in significant breast implant capsules. *Plast Reconstr Surg* 2003;111(5):1605–11.
- [25] Tamboto H, Vickery K, Deva A. Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg* 2010;126(3): 835–42.
- [26] Egerton-Warburton L, Griffin B, Kuo J. Microanalytical studies of metal localization in biological tissues by environmental SEM. *Microsc Res Tech* 1993;25(5–6):406–11.
- [27] Egerton-Warburton L, Griffin B. Levels of mineral nutrients in fresh- and frozen bulk hydrated biological specimens: a comparison of EDS data collected in the environmental SEM and a conventional cryo-SEM. *Micron* 1994;25(6):607–12.
- [28] Popielarska-Konieczna M, Bohdanowicz J, Starnawska E. Extracellular matrix of plant callus tissue visualized by ESEM and SEM. *Protoplasma* 2010;247(1–2):121–5 [Epub 2010 Apr 28].