



Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention d'un Master en Biologie
Option : Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire/ Immunologie
THEME

Création d'un modèle animal d'Arthrite septique et mise en évidence de l'effet de la thérapie ciblée (anti IL6) sur le plan inflammatoire et immunologique

Présenté et soutenu le : 02 Juillet 2016

Par : M^{elle} NEGAB IMANE

Devant le Jury

M^{me} Aissani. R	MAA. Université BLIDA- 1	Présidente du Jury
M^{me} Ben Chabane. S	MAA. Université BLIDA- 1	Examinatrice
M^r Boukara. Z	MAA. CHU. Frantz Fanon	Promoteur
M^{me} Benazouz. F	MAA Université BLIDA- 1	Co- Promotrice

Remerciements

Au bon dieu qui ma donner la force et le courage pour terminer mes études

A Madame Aissani. R

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

Avec mes hommages respectueux.

A Madame Benchabane. S

Qui a bien voulu examiner ce modeste travail.

Avec mes vifs remerciements.

A Monsieur Boukara. Z qui a eu la gentillesse d'accepter et diriger la réalisation de ce mémoire, pour son aide et ses conseils.

Avec mes hommages respectueux.

A Madame Benazouz. F qui m'a soutenu tout au long de mes études et durant la réalisation de ce modeste travail. Qu'elle soit remerciée pour sa patience, son sourire et sa passion et qu'elle trouve exprimées ici ma sincère reconnaissance et ma profonde considération.

A Madame Triki et Mademoiselle Zirouti Khadidja de l'USTHB

Avec mes hommages respectueux.

A Docteur Souna Nadjat : Chef de Service anatomie et Cytologie pathologiques et Mademoiselle Bachen Asma de l'EPH- Médea

Avec mes sincères remerciements.

A Docteur Fekkar. M et tout le personnel du Centre d'imagerie Médicale Al farabi- Médea

A tout le personnel de l'hôpital de Berouaghia- Médea

Avec ma profonde gratitude.

A Mesdemoiselles Hemma Rym et Ouahchia Celia pour leur aide et leur soutien

Avec ma profonde admiration

A mes parents

Pour leur soutien et leurs encouragements au fil des ans. Pour eux qui m'ont tant apporté que je ne leur dirai jamais assez comme je les en remercie.



A toute ma famille

Avec toute mon affection.

A mes amis d'hier et d'aujourd'hui.



Dédicaces

*Tous mes
vœux de
bonheur à tout
le monde*



Liste des figures

Figure 1. Schéma d'une articulation mobile.....	5
Figure 2. Membrane synoviale enflammée dans une arthrite.....	6
Figure 3. Destruction osseuse dans une arthrite septique.....	7
Figure 4. Comparaison entre un genou sain et un genou atteint d'une arthrite.....	11
Figure 5. Radiographie standard d'un genou avant et après une atteinte d'une arthrite.....	14
Figure 6. Algorithme de prise en charge d'une Arthrite.....	Annexe IV
Figure 7. Séquençage génomique de <i>Propionibacterium acnes</i>	18
Figure 8. Envahissement des cellules épithéliales par <i>Propionibacterium acnes</i>	19
Figure 9. Développement de <i>Propionibacterium acnes</i> dans le milieu thioglycollate, coloration au crystal violet. G x 100	20
Figure 10. Colonies de PBA sur gélose au sang.....	21
Figure 11. Algorithme de première intention des IOA.....	25
Figure 12. Deux voies distinctes de signalisation de l'IL6.....	35
Figure 13. IL6 contrôle les cellules B et l'immunité humorale.....	36
Figure 14. Effet de l'IL6 sur les activités des cellules T.....	37
Figure 15. Les cibles thérapeutiques de l'IL6 et son récepteur.....	38
Figure 16. Mode d'action du Tocilizumab.....	40
Figure 17. Le lapin néozélandais séparé individuellement dans des cages en Inox.....	41
Figure 18.a. Préparation de l'inoculum de <i>Propionibacterium acnes</i>	45
Figure 18.b. Colonies de <i>Propionibacterium acnes</i> sur gélose au sang.....	45
Figure 19. Induction de l'arthrite septique au niveau des articulations.....	46
Figure 20. Administration de l'antibiotique par une injection intraveineuse.....	47
Figure 21. Préparation du traitement antibiotique.....	48
Figure 22. Administration de l'Actemra® au lapin par perfusion sanguine.....	49
Figure 23. Pesée des animaux.....	49

Figure 24. Etapes du prélèvement sanguin chez le lapin.....	50
Figure 25. T61.....	Annexe III
Figure 26. Fixation au formol 10%	Annexe III
Figure 27. Décalcification à l'acide formique 5%.....	Annexe III
Figure 28. Mesure de la vitesse de sédimentation (VS)	53
Figure 29. Réactifs de recherche de la CRP	55
Figure 30. Incubateur Labco à 35°C.....	Annexe III
Figure 31. Balance analytique de précision METTLER TOLEDO.....	Annexe III
Figure 32. Centrifugeuse	Annexe III
Figure 33. Centrifugeuse pour les tubes Eppendorff MINI SAIN.....	Annexe III
Figure 34. Spectrophotomètre JENWAY 6305.....	Annexe III
Figure 35. PH mètre.....	Annexe III
Figure 36. Lecteur de Plaques DLALAB.....	Annexe III
Figure 37. AUTOMATE (Médonic CA 260).....	Annexe III
Figure 38. Ponction articulaire sur un lapin.....	60
Figure 39. Réaction de Waaler- Rose.....	62
Figure 40. Ensemencement en anaérobiose des différents milieux de culture	65
Figure 41. Evolution pondérale des lapins des lots 1 et 2 jusqu'au 30 ^{ème} Jour.....	72
Figure 42. Evolution pondérale des lapins des lots 3 et 4 jusqu'au 60 ^{ème} Jour.....	73
Figure 43. Evolution pondérale des lapins des lots 5 et 6 jusqu'au 90 ^{ème} Jour.....	73
Figure 44. Prélèvement du liquide articulaire d'un lapin sain et d'un lapin malade.....	74
Figure 45. Détermination de la CRP jusqu'au 30 ^{ème} Jour et comparaison entre les lots 1 et 2.....	78
Figure 46. Détermination de la CRP jusqu'au 59 ^{ème} Jour et comparaison entre les lots 3 et 4.....	79
Figure 47. Détermination de la CRP jusqu'au 59 ^{ème} Jour et comparaison entre les lots 5 et 6.....	79
Figure 48. Détermination de la VS jusqu'au 30 ^{ème} Jour et comparaison entre les lots 1 et 2.....	80

Figure 49. Détermination de la VS jusqu'au 59 ^{ème} Jour et comparaison entre les lots 3 et 4.....	78
Figure 50. Détermination de la VS jusqu'au 90 ^{ème} Jour et comparaison entre les lots 5 et 6	81
Figure 51. Table thermostable	Annexe III
Figure 52. Détermination du taux des globules rouges au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	81
Figure 53. Détermination du taux d'hématocrite au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	82
Figure 54. Détermination du taux d'hémoglobine au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	82
Figure 55. Détermination du taux des plaquettes au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	84
Figure 56. Détermination du taux des leucocytes au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	84
Figure 57. Détermination du taux des lymphocytes au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	85
Figure 58. Détermination du taux des monocytes au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	85
Figure 59. Détermination du taux des granulocytes au 30 ^{ème} Jour des lots 1 et 2.....	86
Figure 60. Détermination du taux des globules rouges au 60 ^{ème} Jour des lots 3 et 4.....	86
Figure 61. Détermination du taux d'hématocrite au 60 ^{ème} Jour des lots 3 et 4.....	87
Figure 62. Détermination du taux d'hémoglobine au 60 ^{ème} Jour des lots 4 et 4.....	87
Figure 63. Détermination du taux des plaquettes au 60 ^{ème} Jour des lots 3 et 4.....	88
Figure 64. Détermination du taux des leucocytes au 60 ^{ème} Jour des lots 3 et 4.....	88
Figure 65. Détermination du taux des lymphocytes au 60 ^{ème} Jour des lots 3 et 4.....	89
Figure 66. Détermination du taux des monocytes au 60 ^{ème} Jour des lots 3 et 4.....	89
Figure 67. Détermination du taux des granulocytes au 60 ^{ème} Jour des lots 3 et 4.....	90
Figure 68. Détermination du taux des globules rouges au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	91
Figure 69. Détermination du taux d'hématocrite au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	91
Figure 70. Détermination du taux d'hémoglobine au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	92
Figure 71. Détermination du taux des plaquettes au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	92
Figure 72. Détermination du taux des leucocytes au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	93
Figure 73. Détermination du taux des lymphocytes au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	93
Figure 74. Détermination du taux des monocytes au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	94

Figure 75. Détermination du taux des granulocytes au 90 ^{ème} Jour des lots 5 et 6.....	97
Figure 76. Détermination de l'activité enzymatique de la Myéloperoxydase dans le sérum des lots 1 et 2.....	97
Figure 77. Détermination de l'activité enzymatique de la Myéloperoxydase dans le sérum des lots 3 et 4.....	98
Figure 78. Détermination de l'activité enzymatique de la Myéloperoxydase dans le sérum des lots 5 et 6.....	98
Figure 79. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile dans le sérum des lots 1 et 2.....	99
Figure 80. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile dans le sérum des lots 3 et 4.....	100
Figure 81. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile dans le sérum des lots 5 et 6.....	101
Figure 82. Détermination du taux du monoxyde d'azote dans le sérum des lots 1et 2.....	101
Figure 83. Détermination du taux du monoxyde d'azote dans le sérum des lots 3et 4.....	102
Figure 84. Détermination du taux du monoxyde d'azote dans le sérum des lots 5et 6.....	102
Figure 85. Coopération entre TLR et récepteurs de la phagocytose.....	Annexe III
Figure 86. TLR et maladies infectieuses.....	Annexe III
Figure 87. Schéma général de la réponse immune antibactérienne.....	Annexe III
Figure 88. Schéma d'une synoviocyte indiquant les cibles thérapeutiques potentielles	Annexe III
Figure 89. Histologie du genou de lapin du lot 1 (contrôle négatif) au 30 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	106
Figure 90. Histologie du genou de lapin du lot 2 (contrôle positif).....	107
Figure 91. Effet de l'induction de l'arthrite sur le lot 3 sans antibiothérapie.....	108
Figure 92. Histologie du genou de lapin du lot 4 avec traitement antibiotique.....	110
Figure 93. Histologie du genou de lapin du lot 5avec antibiothérapie et sans traitement à Tocilizumab.....	111
Figure 94. Histologie du genou de lapin du lot 6 sous antibiothérapie jusqu'au 60 ^{ème} jour puis traité par un anti IL6 (Tocilizumab) jusqu'au 90 ^{ème} jour.....	113

Figure 95. Radiographie montrant les articulations de lapin du lot 1 au 30 ^{ème} jour de l'expérimentation après induction de l'arthrite par <i>Propionibacterium acnes</i> au niveau du genou gauche (le genou droit est sain).....	115
Figure 96. Radiographie montrant les articulations de lapin du lot 4 au 60 ^{ème} jour de l'expérimentation après induction de l'arthrite par <i>Propionibacterium acnes</i> au niveau du genou gauche et traité par antibiothérapie du 30 ^{ème} jour jusqu'au 60 ^{ème} jour (le genou droit est sain).....	116
Figure 97. Radiographie montrant les articulations de lapin du lot 6 au 90 ^{ème} jour de l'expérimentation après induction de l'arthrite par <i>Propionibacterium acnes</i> au niveau du genou gauche et traité par antibiothérapie du 30 ^{ème} jour jusqu'au 60 ^{ème} jour puis traité par Tocilizumab du 60 ^{ème} jusqu'au 90 ^{ème} jour (le genou droit est sain).....	117
Figure 98. Variation pondérale des 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 99. Détermination de la CRP dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 100. Détermination de la VS dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 101. Taux des globules rouges dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 102. Taux d'hématocrite dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 103. Taux d'hémoglobine dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 104. Taux des plaquettes dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 105. Taux des leucocytes dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 106. Taux des lymphocytes dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 107. Taux des monocytes dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 108. Taux des granulocytes dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 109. Détermination de l'activité des protéines myéloperoxydase dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 110. Détermination de l'activité des enzymes peroxydase éosinophile dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI
Figure 111. Détermination de la concentration du Monoxyde d'azote dans les 6 lots de l'expérimentation.....	Annexe VI

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
IOA	Infection Ostéo- Articulaires
AS	Arthrite Septique
AR	Arthrite Rhumatoïde
PBA	<i>Propionibacterium acnes</i>
ATCC	American Type Culture Collection.
AMM	Autorisation de mise sur marché
O.N.A.B	Organisme National des Aliments de Bétail
MTX	Méthoxane
CRP	Protéine Réactive C
VS	Vitesse de Sédimentation
FNS	Formule de Numération sanguine
TCD4+	Cellules lymphocytes T CD4+
µg	microgramme
g	gramme
Kg	Kilogramme
ml	millilitre
L	Litre
µL	Micro litre
EDTA	Ethyldiamine tetra acide acetique
UFC	Unité de forme colonies
IV	Voie intraveineuse
FR	Facteur Rhumatoïde
UI	Unité Internationale
rpm	rotation par minute

J	Jour
GR	Globules rouges
GB	Globules blancs
HGB	Hémoglobine
HT	Hématocrite
LYM	Lymphocytes
GRA	Granulocytes
MON	Monocytes
μM	Micro molaire
UDO	Unité Densité Optique
ΔDO	Variation de la Densité Optique

Liste des tableaux

Tableau 1. Facteurs favorisant des arthrites septiques.....	8
Tableau 2. Diffusion osseuse des Antibiotiques.....	24
Tableau 3. Antibiotiques de première intention selon la porte d'entrée.....	26
Tableau 4. Infections à bactéries à Gram (+) (streptocoques, entérocoques, bacilles).....	27
Tableau 5. Posologie, voie d'administration et concentrations sériques souhaitées des antibiotiques dans les infections ostéo-articulaires	28
Tableau 6. Durée du traitement antibiotique selon le type d'infection.....	30
Tableau 7. Caractéristiques et conditions de l'hébergement des animaux de l'expérimentation.....	42
Tableau 8. Composition de l'alimentation granulée des lapins.....	43
Tableau 9. Matériel non biologique	Annexe I
Tableau 10. Protocole de dosage des solutions réactionnelles (dosage du glucose).....	57
Tableau 11. Résultats de la ponction articulaire des lots 1 et 2 au 30 ^{ème} Jour.....	75
Tableau 12. Résultats de la ponction articulaire des lots 3 et 4 au 30 ^{ème} Jour.....	75
Tableau 13. Résultats de la ponction articulaire des lots 5 et 6 au 30 ^{ème} Jour.....	75
Tableau 14. Résultats de la ponction articulaire des lots 3 et 4 au 60 ^{ème} Jour.....	76
Tableau 15. Résultats de la ponction articulaire des lots 5 et 6 au 60 ^{ème} Jour.....	77
Tableau 16. Résultats de la ponction articulaire des lots 5 et 6 au 90 ^{ème} Jour.....	78
Tableau 17. Hémocultures des lots 1 & 2 du 30 ^{ème} Jour.....	94
Tableau 18. Hémocultures des lots 4 & 5 du 30 ^{ème} Jour.....	95
Tableau 19. Hémocultures des lots 5 & 6 du 30 ^{ème} Jour.....	95
Tableau 20. Hémocultures des lots 3 & 4 du 60 ^{ème} Jour.....	95
Tableau 21. Hémocultures des lots 5 & 6 du 60 ^{ème} Jour.....	95
Tableau 22. Hémocultures des lots 5 & 6 du 90 ^{ème} Jour.....	96

Tableau 23. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 1 et 2 au 30 ^{ème} Jour.....	104
Tableau 24. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 3 et 4 au 30 ^{ème} Jour.....	104
Tableau 25. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 5 et 6 au 30 ^{ème} Jour.....	104
Tableau 26. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 3 et 4 au 60 ^{ème} Jour.....	104
Tableau 27. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 5 et 6 au 60 ^{ème} Jour.....	105
Tableau 28. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 5 et 6 au 90 ^{ème} Jour.....	105
Tableau 29. Identification des protéines immunogènes dans les biofilms et-ou les phases de croissance planktonic de <i>Propionibacterium acnes</i>	Annexe IV
Tableau 30. Résultats de la variation pondérale des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 31. Résultats de la variation pondérale des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 32. Résultats de la variation pondérale des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52, 59, 74, 81 et 89 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 33. Résultats de la détermination de la CRP des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21, 30 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 34. Résultats de la détermination de la VS des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21, 30 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 35. Résultats de la détermination de la CRP des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 36. Résultats de la détermination de la VS des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 37. Résultats de la détermination de la CRP des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59, 67, 74, 81 et 89 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 38. Résultats de la détermination de la VS des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59, 67, 74, 81 et 89 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 39. Détermination des paramètres hématologiques des lots 1 et 2 au 0 et 30 jour.....	Annexe V
Tableau 40. Détermination des paramètres hématologiques des lots 3 et 4 au 0, 30 et 60 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V
Tableau 41. Détermination des paramètres hématologiques des lots 5 et 6 au 0, 30, 60 et 90 ^{ème} jour de l'expérimentation.....	Annexe V

- Tableau 42.** Détermination de l'activité des MPO des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 43.** Détermination de l'activité des MPO des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 60^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 44.** Détermination de l'activité des MPO des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52, 59, 67, 74, 81 et 90^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 45.** Détermination de l'activité des EPO des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 46.** Détermination de l'activité des EPO des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 60^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 47.** Détermination de l'activité des EPO des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52, 59, 67, 74, 81 et 90^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 48.** Détermination de l'activité des NO des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 49.** Détermination de l'activité des NO des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 60^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V
- Tableau 50.** Détermination de l'activité des NO des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52, 59, 67, 74, 81 et 90^{ème} jour de l'expérimentation.....Annexe V

Sommaire

Chapitre I : Etude Bibliographique

I.1. Arthrite septique

I.1.1. Généralités	4
I.1.2. Définition d'une arthrite septique.....	6
I.1.3. Epidémiologie	7
I.1.4. Bactériologie	8
I.1.5. Mécanisme physiopathologique	9
I.1.6. Symptomatologie	10
I.1.7. les signes biologiques et radiologiques.....	11
I.1.7.1. Protéine Réactive C-CRP.....	12
I.1.7.2. Vitesse de sédimentation VS.....	12
I.1.8. Intérêt de la biopsie synoviale.....	14
I.1.9. Conduite thérapeutique devant une arthrite septique.....	14
I.1.10. Evolution.....	15
I.1.11. Critères de guérison.....	16
I.1.12. Séquelles articulaires postinfectieuses.....	16

I.2. L'agent infectieux: *Propionibacterium acnes*

I.2.1. Classification.....	16
I.2.2. Définition.....	16
I.2.3. facteur de virulence.....	16
I.2.4. Caractères bactériologiques.....	19
I.2.4.1. Caractères morphologiques.....	19
I.2.4.2. Caractères culturels.....	20
I.2.4.3. Caractères enzymatiques et biochimiques.....	21

I.2.4.4. Diagnostic différentiel.....	21
I.2.5. Sensibilité aux antibiotiques	21
II.5.1. Résistants.....	21
II.5.2. Sensibles.....	22
I.2.6.Mécanisme de contamination de la plaie opératoire	22
I.2. Identification des protéines immunogènes dans les biofilms et-ou les phases de croissance planctonique de P. acnes.....	22

I.3.Antibiothérapie

I.3.1. les principes de l'antibiothérapie	23
I.3.2. Critères de choix.....	23
I.3.3. Principaux facteurs justifiant une association d'antibiotiques	27
I.3.4. Posologie, voie d'administration et concentrations sériques souhaitées des antibiotiques dans les infections ostéo-articulaires	28
I.3.5. Durée d'administration des antibiotiques	29
I.3.6. Surveillance de l'antibiothérapie	30

I.4. thérapie ciblée

I.4.1. Introduction	31
I.4.2. Thérapies de première ligne pour l'inflammation chronique.....	32
I.4.3. La composition des récepteurs pour les cytokines de signalisation via la sous unité β du gp130.....	33
I.4.4. Les mécanismes de signalisation d'IL-6R.....	33
I.4.5. L'IL6 contrôle les cellules B et l'immunité humorale.....	35
I.4.6. Effets de l'IL6 dans les activités des cellules T.....	36
I.4.7. Les modes de blocage d'IL-6 thérapeutique.....	37
I.4.8. Rôle de la gp130 dans la signalisation de la maladie.....	39

I.4.9. Le tocilizumab (Ro-Actemra®).....	39
--	----

Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1. MATERIEL BIOLOGIQUE.....	41
II.1.1. Notre modèle expérimental : le lapin néozélandais.....	41
II.2. MATERIEL NON BIOLOGIQUE.....	43
II.3. MISE EN ŒUVRE EXPERIMENTALE.....	43
II.3.1. conditionnement des animaux au laboratoire.....	43
II.3.2. Répartition des lots.....	44
II.3.3. Préparation de l'inoculum de PBA à administré.....	44
II.3.4. Induction de l'arthrite septique chez les animaux.....	45
II.3.5. Préparation des doses du traitement antibiotique.....	46
II.3.6. Préparation du traitement de la thérapie ciblée.....	48
II.4. EXPERIMENTATIONS INVITRO.....	49
II.4.1. Techniques opératoires.....	49
II.4.1.1. Contrôle du poids corporel.....	49
II.4.1.2. Prélèvement des échantillons.....	50
II.4.2. Techniques analytiques.....	53
II.4.2.1. Mesure des marqueurs biologiques de l'inflammation.....	53
II.4.2.2. Les examens biologiques.....	56
II.4.2.3. Détermination de l'activité de la Myéloperoxydase (MPO).....	58
II.4.2.4. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile (EPO).....	58

II.4.2.5. Dosage du monoxyde d'azote (NO)	59
II.4.3. La ponction articulaire.....	60
II.4.4. Recherche des facteurs Rhumatoïdes.....	62
II.4.5. Imagerie.....	63
II.4.6. Prélèvement bactériologique de la porte d'entrée.....	65
II.4.7. Technique histologique	66
II.4.7.1. Préparation des coupes histologiques.....	66
II.4.7.2. Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (HE).....	68
II.4.8. Etude statistique	69

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1.Effet de PBA sur les lapins de l'expérimentation.....	71
III.1.1. Symptomatologie après injection de <i>Propionibacterium acnes</i> au niveau des articulations.....	71
III.2.Evolution pondérale.....	72
III.3.Résultats des examens biologiques.....	74
III.1. La ponction articulaire.....	74
III.1.1. Ponctions articulaires au 30 ^{ème} Jour.....	75
III.1.2. Ponctions articulaires au u 60 ^{ème} Jour.....	76
III.1.3. Ponctions articulaires au u 90 ^{ème} Jour.....	77
III.2. Les facteurs inflammatoires : la CRP et la VS.....	78
III.2.1. Détermination de la CRP.....	78
III.2.2. Détermination de la VS.....	79

III.3. Le bilan sanguin(FNS).....	81
III.3.1. Bilan sanguin des lots 1 et 2 au 0 et 30 ^{ème} Jour de l'expérimentationN.....	81
III.3.3.2. Bilan sanguin des lots 3 et 4 au 0, 30 et 60 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	83
III.3.3.3. Bilan sanguin des lots 5 et 6 au 0, 30, 60 et 90 ^{ème} Jour de l'expérimentation ..	89
III.4. Les hémocultures.....	89
III. 3.4.1. Les hémocultures des lots : 1, 2, 3, 4, 5 et 6 au 30 ^{ème} Jour de l'expérimentation	93
III.3.4.2. Les hémocultures des lots: 3, 4, 5 et 6 au 60 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	94
III.3.4.3. Les hémocultures des lots 5 et 6 au 90 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	94
III.5. Détermination de l'activité enzymatique de la Myéloperoxydase.....	95
III.6. Détermination de l'activité enzymatique de la Peroxydase éosinophile.....	97
III.7. Détermination de la concentration du radical libre NO.....	99
III.3.8. Les facteurs rhumatoïdes	
III.3.8.1. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 1, 2, 3, 4, 5 et 6 au 30 ^{ème} Jour de l'expérimentation	102
III. 3.8.2. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 3, 4, 5 et 6 au 60 ^{ème} Jour de l'expérimentation	102
III. 3.8.3. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 1, 2, 3, 4, 5 et 6 au 90 ^{ème} Jour de l'expérimentation	103
III.9. Etude histologique.....	104
III.9.1.Histologie du genou de lapin du lot 1 (contrôle négatif) au 30 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	104
III.9.2.Histologie du genou de lapin du lot 2 (contrôle positif) au 30 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	105
III.9.3. Histologie du genou de lapin du lot 3 non traité au 60 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	106
III.9.4. Histologie du genou de lapin du lot 4 traité par antibiothérapie « amoxicilline associé à l'acide clavulanique» au 60 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	108
III.9.5. Histologie du genou de lapin du lot 5 sous antibiothérapie « amoxicilline associé à l'acide clavulanique» sans traitement à Tocilizumab au 90 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	110

III.9.6. Histologie du genou de lapin du lot 6 sous antibiothérapie « amoxicilline associé à l'acide clavulanique») jusqu'au 60 ^{ème} jour puis traité par un anti IL6 (Tocilizumab) jusqu'au 90 ^{ème} jour.....	110
III.10. Résultats de l'imagerie.....	111
III.10.1. Radiographie de lapin du lot 1 au 30 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	111
III.10.2. Radiographie de lapin du lot 4 traité par antibiothérapie au 60 ^{ème} Jour de l'expérimentation.....	112
III.10.3. Radiographie de lapin du lot 6 traité par antibiothérapie au 60 ^{ème} Jour de l'expérimentation puis traité par Tocilizumab (anti- IL6) jusqu'au 90 ^{ème} jour.....	113

IV. Conclusion

Annexes

Références bibliographiques

L'arthrite septique est une urgence médicale. Le médecin de premier recours doit suspecter cette pathologie dans le contexte d'une clinique parfois frustrée ou d'autres arthropathies inflammatoires concomitantes. L'arthrite septique peut avoir des conséquences sérieuses. Sa prise en charge nécessite en général l'hospitalisation (**Rouiller et al., 2010**).

On parle d'arthrite septique lorsqu'un agent infectieux, qu'il soit bactérien ou fongique, se multiplie dans le liquide synovial articulaire. Les arthrites dites réactives survenant à la suite d'une infection (par exemple à *Campylobacter*) et les arthralgies ou arthrites au décours d'infections virales ne sont pas comprises dans cette définition (**Mathews et al., 2010**).

En chirurgie orthopédique prothétique, les facteurs de risque d'acquisition d'une infection en postopératoire ont été établis par les différents réseaux de surveillance des infections. Ils peuvent être liés au patient, à l'intervention et à l'environnement du bloc opératoire (**Morgan et al., 1996**).

L'émergence de souches de *Propionibacterium acnes* pose un important problème de santé publique. Ces germes sont responsables d'infections cutanées sévères et d'infections ostéo-articulaires sévères, notamment en cas de présence d'implant potentiellement sévères (souvent associées à une présence de matériel étranger: prothèse de hanche, genou, épaule...) (**Levy et al., 2008**). Celles-ci peuvent mettre en jeu le pronostic vital et sont grevées d'un haut taux de complications. Leur prise en charge est souvent difficile, nécessitant une coordination multidisciplinaire et une approche chirurgicale extrêmement agressive (**Sohail MR et al., 2009**).

L'antibiothérapie, doit être débutée après que les prélèvements bactériologiques ont été faits : deux hémocultures au moins et la ponction articulaire. Le choix des antibiotiques est guidé au départ par le contexte de survenue de l'arthrite, puis est adapté aux résultats bactériologiques (**Visser S et al., 2009**) (**Lucht F et al., 2000**).

La nécessité d'un traitement chirurgical de l'arthrite, ou de nouvelles ponctions évacuatrices, devra être quotidiennement réévaluée (**Guggenbuhl P et al., 2006**).

Introduction

Les modèles animaux d'arthrite ont été utilisés pour fournir un aperçu dans le processus sous-jacent de la maladie pour identifier de nouvelles cibles pour le traitement médicamenteux et identifier des nouveaux agents thérapeutiques potentiels pour l'arthrite **(Bendele *et al.*, 2001) (Wooley *et al.*, 2004).**

I.1. Arthrite septique

I.1.1. Généralités

Les infections ostéo-articulaires sont des pathologies graves susceptibles d'entraîner un handicap très lourd et parfois de mettre en jeu le pronostic vital (**Dubost et al., 2000**).

Leur prise en charge requiert une coordination complexe entre différentes spécialités médicales et chirurgicales ainsi qu'un plateau technique adapté (blocs opératoires, laboratoires spécialisés, service d'imagerie...) (**Kaandorp et al., 1997**).

Une infection ostéo-articulaire est une infection qui touche tous les éléments articulaires (os et parties molles). Sa fréquence est rare mais son éradication est difficile. Elle est observée plus fréquemment chez les patients fumeurs, en surpoids, multi-opérés, porteurs de foyers infectieux (infection cutanée, dentaire, urinaire ou digestive, abcès...) ou porteurs de maladies associées (diabète, polyarthrite rhumatoïde, immunodépression...) (**Dubost et al., 2000**).

Elle peut survenir spontanément, par exemple dans le cadre d'une septicémie avec une localisation articulaire (arthrite septique), après une plaie profonde, dans les suites d'une fracture ouverte ou après un geste chirurgical avec ou sans mise en place de matériel (prothèse, clou, plaque, vis...). (**figure 1**) (**Kaandorp et al., 1997**).

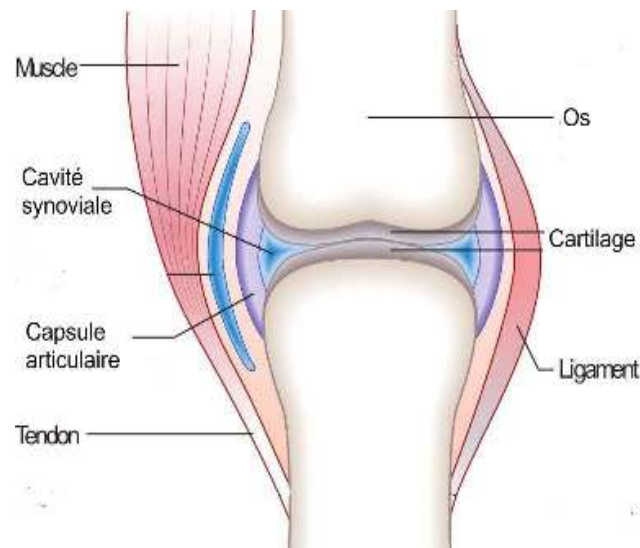


Figure1. Schéma d'une articulation mobile (DeWeber. K et al., 2011)

La prise en charge des arthrites septiques a connu dans les dernières décennies deux grands tournants : l'apparition de l'antibiothérapie et le traitement parfois sous arthroscopie.

Cliniquement, les arthrites infectieuses peuvent être divisées en deux groupes : celles avec présence d'un germe tels le Bacille de Koch (BK), le gonocoque ou le staphylocoque, et celles dues à une réaction lors d'un phénomène infectieux général. Sur le plan étiologique, on distingue trois sortes d'arthrite : les arthrites par inoculation directe (acte invasif, plaie articulaire), les arthrites par contamination hématogène (essentiellement BK et gonocoque) et les arthrites par contiguïté (ostéite ou ostéomyélite de proximité, hypodermite streptococcique). (Graif M et al.,1999) (Karchevsky M et al.,2004).

Le diagnostic repose sur l'association d'un syndrome local (rougeur, douleur et gonflement) et d'un syndrome général (fièvre et frissons) (**figure 2**). La certitude diagnostique est apportée par la ponction et la mise en culture. La Numération Formule Sanguine (FNS) et la Protéine C-Réactive (CRP) montrent l'existence d'un syndrome inflammatoire. La radiographie standard est normale au début, mais le pincement articulaire peut survenir rapidement, parfois même très précocement ; la présence de signes radiologiques signe le stade d'ostéoarthrite. A ce stade très évolué, les géodes progressent de part et d'autre de l'interligne, formant les classiques géodes en miroir. Les autres examens sont d'intérêt limité. L'échographie peut avoir un rôle important, notamment dans les genoux empâtés, en objectivant la présence d'un épanchement liquidien. L'IRM aurait certainement un intérêt pour

visualiser le pannus synovial (Graif *et al.*, 1999) (Karchevsky *et al.*, 2004).

Le diagnostic différentiel se fait essentiellement avec l'arthrite microcristalline qui peut prendre tous les aspects cliniques de l'arthrite septique (Karchevsky *et al.*, 2004).

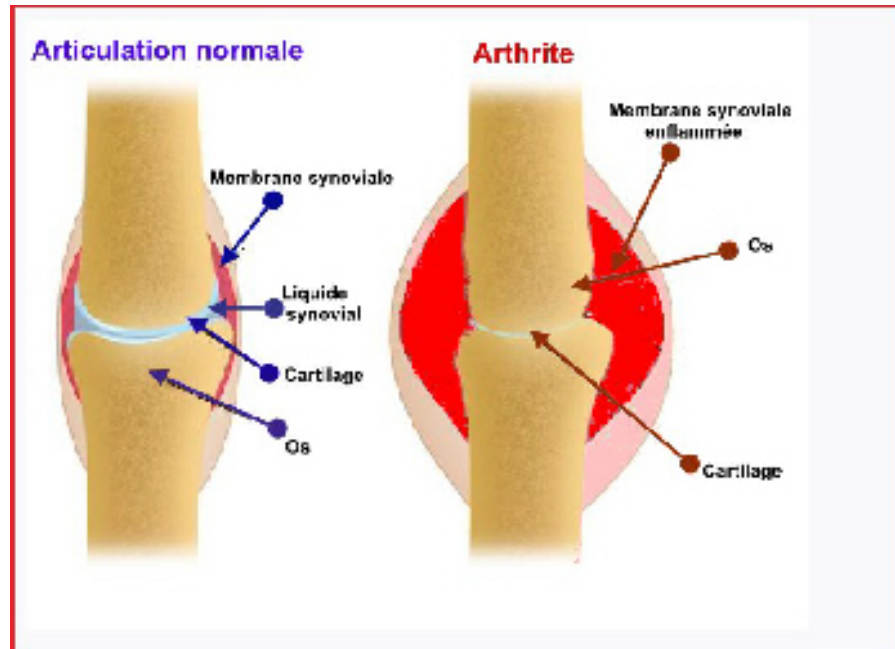


Figure 2. Membrane synoviale enflammée dans une arthrite (Karchevsky *et al.*, 2004)

I.1.2. Définition d'une arthrite septique

L'arthrite septique est la conséquence de l'invasion de la synoviale par les microorganismes vivants. C'est une urgence médicale car elle engage le pronostic fonctionnel articulaire mais parfois également le pronostic vital en cas de bactériémie associée et de choc septique (**figure 3**). Le diagnostic est de difficulté variable et repose sur l'identification du germe qui est cruciale pour le succès du traitement (Schattner A *et al.*, 1998).



Figure 3. Destruction osseuse dans une arthrite septique (Schattner A *et al.*, 1998)

L'arthrite septique demeure une urgence médicale car tout retard diagnostique et thérapeutique grève lourdement l'avenir fonctionnel de l'articulation (Kaandorp *et al.*, 1997).

I.1.3. Epidémiologie

*L'incidence des arthrites septiques est estimée chez l'adulte à environ 57 cas pour 100 000 habitants/an dans une étude prospective réalisée à Amsterdam (Dubost *et al.*, 2000)

* Tous les âges sont concernés et la proportion des sujets de plus de 60 ans semble en augmentation.

* Homme et femme sont également touchés avec une légère prédominance masculine (Kaandorp *et al.*, 1997) (Mandell G *et al.*, 2009) (Mathews CJ *et al.*, 2008).

* Facteurs favorisants : Plusieurs facteurs de risque d'arthrite infectieuse locaux ou généraux ont été identifiés au cours de larges séries de la littérature (tableau 1). L'idée répandue que l'infection survient le plus souvent sur une arthropathie préexistante est inexacte puisque dans la majorité des cas d'arthrites septiques (entre 54 et 65 %) l'articulation infectée est préalablement saine (Dubost *et al.*, 2000) L'arthropathie préexistante semble constituer un facteur de mauvais pronostic (Kaandorp *et al.*, 1997).

Tableau 1. Facteurs favorisant des arthrites septiques.

Facteurs favorisant généraux	Facteurs favorisant locaux
Age 80 ans	Infiltration cortisonique
Diabète	L'existence d'une prothèse
Corticothérapie	Intervention chirurgicale articulaire récente
Rhumatisme inflammatoire chronique (PR)	Antécédents de radiothérapie
Traitement immunosuppresseur	traumatisme
Néoplasies	
Toxicomanie	
Hémodialyse	
Insuffisance rénale sévère	
Insuffisance hépatique	
Grossesse	
Post partum	

(Kaandorp et al., 1997)

I.1.4. Bactériologie

Parmi les microorganismes pathologiques le genre *Staphylococcus aureus* est le plus fréquemment responsable de ces infections (Kaandorp et al., 1997) il représente les 2/3 des germes identifiés. Certains auteurs signalent une augmentation de la fréquence des staphylocoques résistants à la méthicilline (méthi R) elle concerne des populations particulières notamment les infections nosocomiales ou du toxicomane. Les streptocoques

représentent 20 % des germes identifiés. Des bacilles gram négatifs très divers sont en cause dans 15 à 20 % des arthrites septiques. En Europe le gonocoque est devenu exceptionnel. Aux Etats-Unis il représente 18 % des germes isolés. Il reste la cause la plus fréquente d'arthrite septique du sujet jeune. Aucun germe n'est identifié dans 20 % des cas (**Karchevsky et al., 2004**).

I.1.5. Mécanisme physiopathologique

L'entrée des bactéries dans l'articulation via la synoviale richement vascularisée est facilitée par l'absence de membrane basale. L'invasion synoviale relève de trois mécanismes : hématogène par contiguïté ou par inoculation directe. Chez l'homme la majorité des infections articulaires se produisent par voie hématogène à la suite d'une bactériémie. Elles sont beaucoup plus rarement secondaires à une infiltration intra articulaire l'incidence est estimée à 45/100 000 gestes (**Pal B et al., 1999**). Le développement d'une arthrite infectieuse est multifactoriel et dépend de l'interaction entre l'agent invasif et les réactions de défense de l'organisme. Dans un premier temps les bactéries vont se lier à des protéines de la matrice extracellulaire grâce à des récepteurs spécifiques puis se multiplier. Dans les 24 – 48 h qui suivent la pénétration du germe intervient le système immunitaire inné par un afflux de leucocytes et monocytes qui se différencient en macrophages. L'immunité acquise intervient secondairement et est essentiellement médiée par les cellules T. L'activation du système immunitaire inné est déclenchée par des récepteurs (Pattern recognition receptor PPR) qui reconnaissent des antigènes bactériens tels que les lipopolysaccharides et les peptidoglycanes. Certains des PPR sont solubles tels que le système du complément et d'autres sont transmembranaires tels que les Toll-like-receptor (TLR) qui sont des récepteurs de signalisation. Ils déclenchent une réponse inflammatoire immédiate en activant le NF-KB (nuclear factor kappa B) qui va activer la transcription de nombreux gènes de la réponse inflammatoire comme les cytokines (TNF α , IL1, IL6...) pour lutter contre l'infection (**Figures 83, 84 et 85 en Annexe IV**) (**Bowie A et al., 2000**). Le rôle du NO dans l'arthrite septique a été étudié au travers l'inhibition de NO- synthase (NOS). Il existe un effet protecteur du NO au cours des modèles expérimentaux d'arthrite septique induites par *Staphylococcus aureus* et streptocoque B (**Zerkak D et al., 2006**) (**Puliti M et al., 2004**). La destruction cartilagineuse résulte paradoxalement de l'action du système censé éradiquer

l'infection via la production de cytokines métalloprotéases et superoxydes. Salter a démontré chez le lapin que la mobilisation passive de l'articulation infectée avait un effet préventif sur la dégradation cartilagineuse liée aux réactions déjà décrites. Il attribuait ce phénomène à la réduction de cloisonnement de l'articulation qui permettrait la meilleure circulation du liquide synovial et stimulerait les chondrocytes à synthétiser la substance fondamentale (**Salter RB et al., 1981**).

Les synoviocytes activées produisent plusieurs cytokines clés et des médiateurs qui contribuent à l'inflammation et à la destruction de l'articulation (**Figure 86 Annexe IV**) (**Hegen.M et al., 2008**).

Il n'a pas été retrouvé dans la littérature de classification clinique du stade d'évolution de l'arthrite. En revanche, (**Stutz et al., 2000**) ont décrit une classification du stade évolutif en fonction de l'état arthroscopique, connue sous le nom de classification de Gächter

- stade 1 : opacité du liquide, rougeur de la synoviale, pétéchies ;
- stade 2 : inflammation sévère : pus, dépôts fibrineux ;
- stade 3 : cloisonnement articulaire ;
- stade 4 : pannus infiltrant le cartilage ± décollement cartilagineux ; radiologiquement, il existe une ostéolyse sous-chondrale.

On voit que cette classification est arthroscopique et part donc du postulat qu'il y a eu une arthroscopie dans la prise en charge. Cette classification par ailleurs est curieuse car elle passe du stade synovial au stade osseux radiologique sans passer par le stade de pincement articulaire qui pourtant est bien classique.

I.1.6. Symptomatologie

L'arthrite septique se manifeste typiquement par une monoarthrite aiguë avec un syndrome infectieux. Sans qu'on connaisse les raisons précises les articulations les plus fréquemment atteintes sont le genou (**figure 4**) et la hanche (**Dubost et al., 2000**).

* le syndrome articulaire locale : le début est brutal précédé de frissons dans un contexte fébrile. La douleur est rapidement très intense et à l'origine d'une impotence fonctionnelle complète. L'articulation est chaude rouge inflammatoire et gonflée avec présence d'un épanchement intra articulaire qu'il faudra ponctionner. La mobilisation passive et active est

douloureuse voire impossible. L'examen trouve parfois une adénopathie satellite. Une amyotrophie s'installe rapidement à proximité de l'articulation atteinte (**Dubost et al., 2000**).

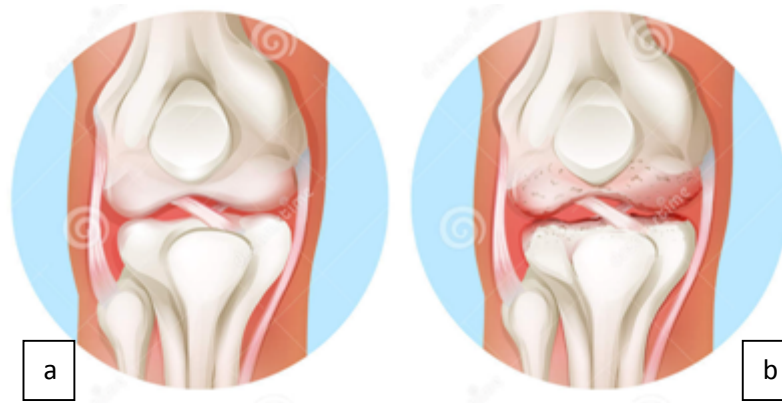


Figure 4. Comparaison entre un genou sain (a) et un genou atteint d'une arthrite (b) (**Dubost et al., 2000**)

N.B : pour les articulations profondes (hanche et sacro-iliaque) la clinique se résume à une douleur parfois une attitude en psoitis.

* le syndrome infectieux général : il est d'intensité variable fièvre frissons pâleur sueurs et asthénie. Un tableau franchement septicémique avec choc et CIVD nécessitant un transfert immédiat en soins intensifs s'observe notamment dans les infections à streptocoque A du sujet jeune (**Schattner A et al., 1998**).

L'arthrite septique est soupçonnée et on recherche une porte d'entrée qui conforte le diagnostic et oriente le germe en cause ainsi qu'une autre localisation infectieuse (**Schattner A et al., 1998**).

I.1.7. les signes biologiques et radiologiques

Selon (**Schattner A et al., 1998**), la clé du diagnostic est l'isolement du germe dans le liquide articulaire.

* La ponction articulaire elle doit être urgente avant toute antibiothérapie. A l'examen macroscopique le liquide articulaire est d'aspect trouble ou franchement purulent. L'analyse cytologique montre plus de 20 000 cellules/mm³ principalement des polynucléaires altérés ce

qui est très évocateur sans être pathognomonique. A l'inverse un liquide peu cellulaire n'exclut pas une arthrite septique surtout chez les toxicomanes ou en cas de néoplasie de traitement immunosuppresseur ou si l'atteinte est récente (**Mc Cutchan et al., 1990**). La mise en culture doit être systématique pour isoler le germe. Le dosage des protéines ou du glucose n'a pas de valeur. L'acide lactique et la lacticodeshydrogénase (LDH) sont élevés dans les arthrites septiques mais le chevauchement des taux limite la valeur diagnostic. La procalcitonine est élevée dans le liquide articulaire mais son dosage n'a pas de valeur diagnostic supérieure à celle du plasma. Le TNF α synovial pourrait être plus performant mais son intérêt est à confirmer.

I.1.7.1. Protéine Réactive C- CRP

-Il s'agit d'une protéine synthétisée par le foie.

-Elle a une demi-vie courte de 8 heures et reflète l'inflammation aiguë. Sa cinétique est rapide avec une élévation précoce et une décroissance rapide. Elle ne traverse pas le placenta.

-Il s'agit d'un examen sensible, rapide mais non spécifique.

-Il n'existe pas de déficit congénital connu de cette molécule.

-C'est une protéine de l'inflammation dont le taux peut être multiplié par 500 à 1000 lors d'inflammations aiguës.

-Sa valeur normale est inférieure à 6 mg/l.

-Elle s'élève dès la 6ème heure de l'inflammation. En moyenne, elle est franchement pathologique 24 heures après le début de l'inflammation, et se normalise rapidement après sa disparition (en 7 à 14 jours) (**Wilwert et al., 2008**).

I.1.7.2. Vitesse de sédimentation VS

-La VS des érythrocytes est la chute libre des éléments sanguins d'une colonne de sang rendu incoagulable.

-Elle évolue parallèlement à la production de protéines inflammatoires, en particulier du fibrinogène, des alphas et des gammaglobulines et diminue en fonction du nombre et du volume des globules rouges (**Wilwert et al., 2008**).

-Valeur normale : < 7 mm (1re heure)

* Les signes biologiques : la vitesse de sédimentation est accélérée la CRP est augmentée mais le syndrome inflammatoire peut manquer dans 10 à 15 % des cas. L'hémogramme montre souvent l'existence d'une hyperleucocytose à polynucléaire neutrophile. Les hémocultures doivent être systématiques. Dans les séries de la littérature elles sont positives dans 30 % des arthrites septiques mais cette fréquence est largement sous-estimée car elles n'ont pas toujours été faites. Les prélèvements sur la porte d'entrée supposée sont davantage sujets à caution et doivent être interprétés (**Karchevsky et al., 2004**).

* Les signes radiologiques apparaissent toujours en retard par rapport aux signes cliniques. Au début la radiographie est normale. Elle est utile comme cliché de référence qui permettra de suivre l'évolution. Plus d'une fois sur deux les radiographies initiales montrent déjà des lésions évocatrices d'arthrite : déminéralisation pincement de l'interligne et érosions témoignant d'un fréquent retard de diagnostic (**figure 5**). L'échographie est devenue indispensable pour les articulations profondes elle permet le repérage pour la ponction articulaire. Les autres examens ont une place limitée et risque de faire perdre le temps. Le scanner montre l'épanchement articulaire le gonflement des parties molles et les abcès para articulaire. Il est plus sensible que la radiographie standard pour visualiser les érosions et les foyers d'ostéite. Il peut aussi guider la ponction. L'IRM montre l'épanchement en hyperT2 et la synovite qui se rehausse après injection de gadolinium. Elle ne permet cependant pas de distinguer une arthrite infectieuse d'une arthrite inflammatoire. La scintigraphie au technétium au gallium aux polynucléaires neutrophiles aux anticorps anti granuleux ou le TEP scan peuvent être utile dans les infections de prothèse mais n'ont pas leur place dans l'exploration des arthrites septiques (**Bowie A et al., 2000**).

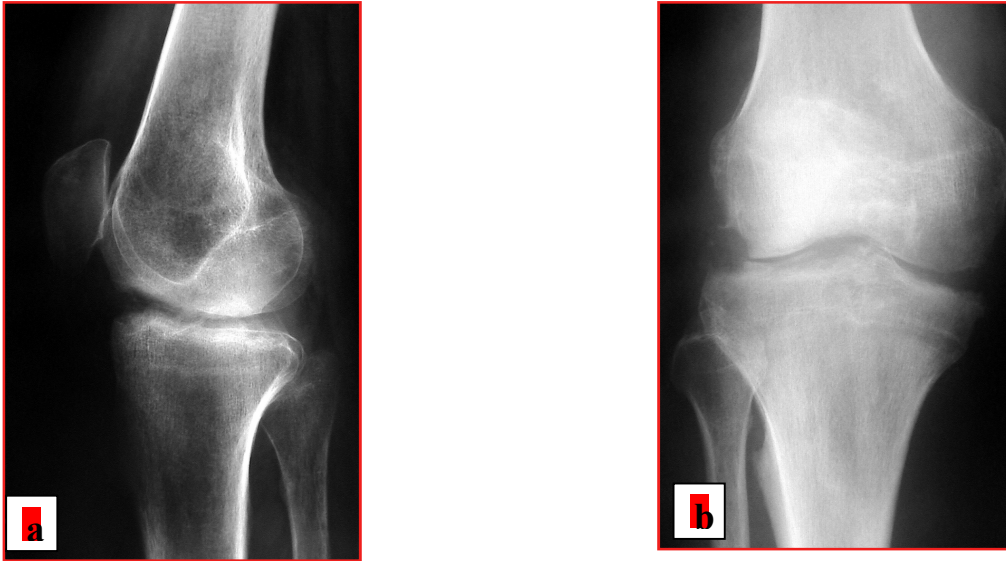


Figure 5. Radiographie standard d'un genou avant et après une atteinte d'une arthrite
(Bowie A *et al.*, 2000).

a : début normale ; **b** : hyperclarté (J8 – 10) ; +/- pincement articulaire ; Erosions et géodes (irréversible)

I.1.8. Intérêt de la biopsie synoviale

L'histologie typique est une synovite aiguë très exsudative avec aspect de bourgeon charnu ulcération de la couche bordant et présence de nombreux polynucléaires neutrophiles altérés. Mais après 2 à 3 semaines les polynucléaires neutrophiles laissent place à des lymphocytes des plasmocytes et des macrophages et le diagnostic est moins évident. L'étude bactériologique de la synoviale est utile pour la tuberculose la brucellose ou les infections mycosiques mais beaucoup moins dans les arthrites purulentes (Amouroux *et al.*, 1981).

I.1.9. Conduite thérapeutique devant une arthrite septique

La survenue d'une arthrite septique est une urgence médicale. La plupart des recommandations reposent sur des attitudes empiriques fondées sur l'expérience des praticiens (Boibieux., 1991) (Bernard. L *et al.*, 2003). Néanmoins le traitement d'une arthrite septique comporte plusieurs volets : (figure 6 en Annexe IV)

1- la prise en charge de la douleur qu'il ne faut pas négliger car elle participe au malaise général et à l'inconfort du patient. Il ne faut pas employer les anti-inflammatoires non stéroïdiens tant que le diagnostic n'est pas établi.

2- l'antibiothérapie est fondamentale le choix des molécules et de la voie d'administration s'effectue en fonction de quatre critères principaux : la bactérie en cause et son profil de résistance les caractéristiques de l'antibiogramme le type de l'infection les caractéristiques du sujet (âge, comorbidité, intolérance ou allergies...). **(Le Dantec et al., 1996) (Boibieux., 1991).**

3- Le drainage articulaire répond à plusieurs impératifs : mettre en évidence le germe en cause lors de la phase du diagnostic soulager le patient en diminuant la pression intra articulaire évacuer le liquide inflammatoire qui participe à la destruction articulaire. Le moyen du drainage reste discuté (ponctions articulaires itératives guidés ou non par scopie ou échographie ponctions chirurgicales le plus souvent sous arthroscopie). Peu d'études permettent de choisir objectivement l'une ou l'autre technique **(Bernard. L et al., 2003).** **(Lortat et al., 2004).**

4- L'immobilisation et la rééducation : l'immobilisation à un effet bénéfique immédiat celle-ci en plus de son action antalgique permet d'accélérer la cicatrisation. Son inconvénient essentiel est l'enraidissement articulaire. La rééducation avec mobilisation passive isométrique est entreprise rapidement dès que la douleur le permet **(Bernard. L et al., 2003).** **(Boibieux., 1991).**

I.1.10. Evolution

La mortalité des arthrites septiques reste élevée de l'ordre de 8 % en moyenne **(Karchevsky et al., 2004).** Les facteurs de mauvais pronostic vital sont : un âge élevé (> 65 ans). Près de la moitié des patients ont des séquelles fonctionnelles **(Guggenbuhl et al., 2006).**

I.1.11. Critères de guérison

Il n'existe pas de critère formel. Les critères de guérison de l'infection ne se conçoivent que par défaut. La guérison est l'absence de preuve de la récurrence... (Piriou et al., 2006).

I.1.12. Séquelles articulaires postinfectieuses

Les principales séquelles des arthrites et ostéoarthrites après guérison, sont la raideur et la douleur. La raideur est liée à la fibrose cicatricielle intra- et périarticulaire, plus ou moins calcifiée, mais peut être aussi en rapport avec une destruction ostéocartilagineuse. Elle peut également être secondaire aux positions vicieuses du membre, secondaires à la destruction articulaire. La douleur, de même, peut être le fait des modifications capsulo-ligamentaires ou des destructions cartilagineuses (Evrard J. 1978).

I.2.L'agent infectieux : *Propionibacterium acnes*

I.2.1. Classification

Règne	Bacteria
Embranchement	Actinobacteria
Ordre	Actinomycetales
Famille	Propionibacteriaceae
Genre	Propionibacterium
Nom binominal : <i>Propionibacterium acnes</i>	

(Gilchrist, 1900), Douglas et Günter, 1946

I.2.2. Définition

Le *Propionibacterium acnes* (PBA) est un bacille gram positif anaérobie, appartenant à la famille des *Propionibacterium* spp. C'est un germe commensal de la peau, notamment

dans les régions riches en follicules sébacés, telles que la face, le thorax et les creux axillaires. Il est également présent sur les muqueuses du système respiratoire, digestif, et oculaire (**Brook et al., 1991**).

Jusqu'à peu de temps, le PBA était considéré comme un germe peu virulent, responsables d'infections bénignes ; mais son rôle pathogène a clairement été démontré et est maintenant reconnu dans de nombreuses infections : endocardites (**Mohsen et al., 2011**), (**Vanagt et al., 2004**), méningites et abcès intracérébraux (**Barazi et al., 2003**), (**Viraraghavan et al., 2004**), endophtalmies et conjonctivites (**El-Asrar et al., 2004**), péritonites (**Dunkle et al., 1976**), infections ORL et pulmonaires (**Finegold et al., 1975**) mais également spondylodiscites (**Bemer et al., 2008**) et ostéo-arthrites (**Chemama., 2009**).

En pathologie ostéo-articulaire, les infections à PBA peuvent survenir aussi bien après ostéosynthèse en pathologie traumatique qu'après chirurgie **prothétique** (**Lutz et al., 2005**). L'épaule après chirurgie de la coiffe ou remplacement prothétique est le siège privilégié d'infection à PBA (**Levy et al., 2008**).

I.2.3. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence permettent à *P.acnes* la dégradation des tissus, déclenchement d'une inflammation et la capacité d'adaptation au milieu.

Séquençage de génomes : **(figure 7)**

-Protéines cytotoxiques

Enzymes permettant la phosphorylation oxydative et la respiration anaérobie, marqueurs responsables de la protection de la cellule contre les effets toxiques de la teneur en oxygène réduite

-hémolysines ou cytotoxines (Camp factor, hémolysine III)

enzymes ou molécules impliquées dans la dégradation des tissus de l'hôte (lipase Geha, lysophospholipase, hyaluronate lyase, endoglycocéramidase, etc.)

-protéines impliquées dans le métabolisme du fer (HtaA) (**Brzuszkiewicz et al., 2011**).

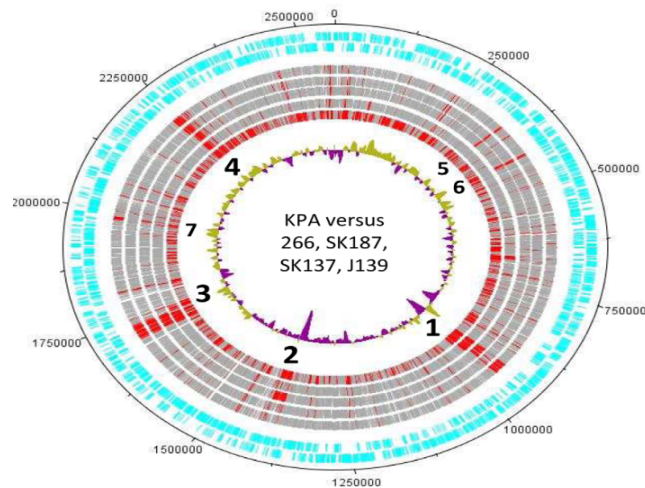


Figure 7. Séquençage génomique de *Propionibacterium acnes* (Brzuszkiewicz *et al.*, 2011)

P. acnes porte des composants sur sa surface agissant comme antigènes, qui peuvent :
Déclencher ou médier un processus inflammatoire :

- activation des récepteurs Toll-like (transcription des facteurs NF-kB et STAT3),
- activation de la sécrétion de cytokines par les cellules infectées, comme l'IL-6 ou IL-8 (études du sécrétome)

- présenter des propriétés de cellules adhérentes (adhésine dermatane-sulfate, type 3 protéines de répétition Thrombospondin) et invasives (PAmce et PAp60).

- Variable selon le sérotype (I>II) (si mutations dans gènes)

- Certaines protéines pourraient donc être :

impliquées dans l'inflammation (cutané, sarcoïdose) en conditions limitées en oxygène essentielles pour l'adhérence aux tissus de la peau ou aux dispositifs médicaux (biofilm)

(Achermann Y *et al.*, 2014).

P. acnes envahissant les cellules épithéliales HEK293T (immunocoloration avec l'anticorps PAC1) **figure 8 (A-F)**.

Un grand nombre de bactéries (**figure 8(A, B, et C)**) et aucune ou quelques-unes (**figure 8(D, E et F)**) bactéries n'a été observée dans les cellules. Ces observations ont indiqué que trois isolats (**A, B, et C**) étaient des souches invasives, et les trois autres isolats non invasifs (**D, E, et F**). Le caractère invasif de ces isolats a été confirmé par microscopie électronique. (**Figure 8 (G, H)**). (Furukawa A *et al.*, 2009).

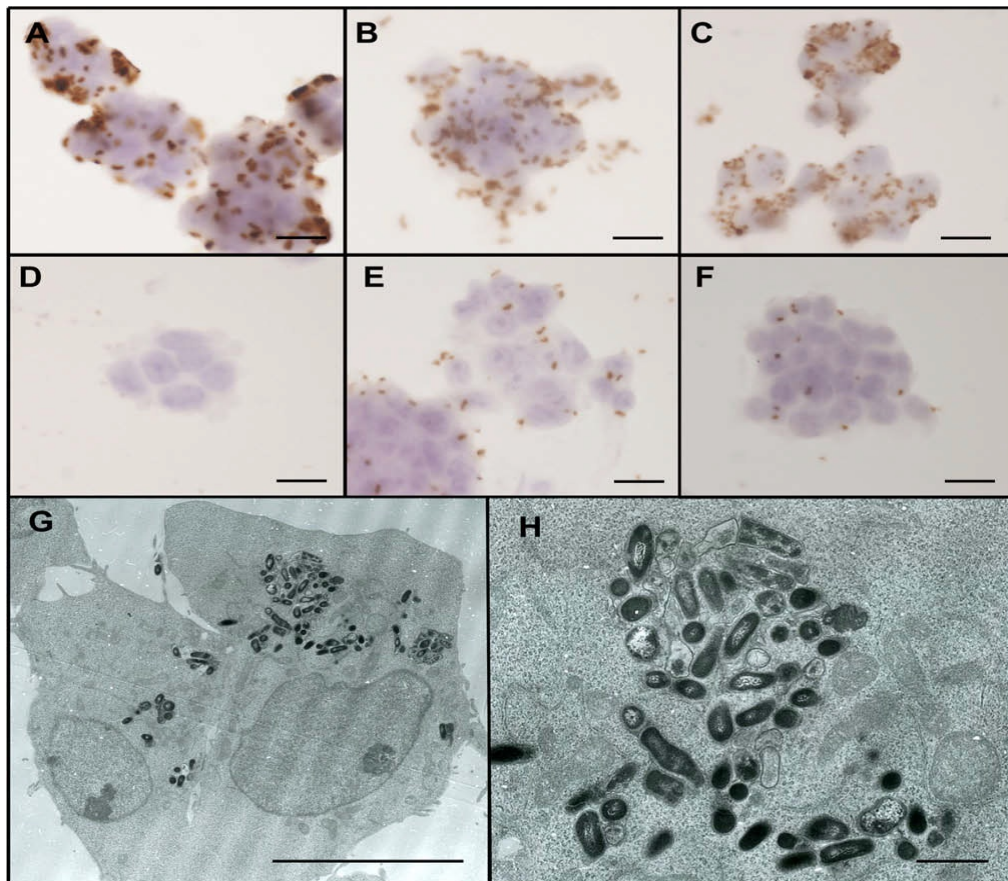


Figure 8. Envahissement des cellules épithéliales par *Propionibacterium acnes* (Furukawa A *et al.*, 2009)

I.2.4. Caractères bactériologiques

I.2.4.1. Caractères morphologiques

Bacilles diphthérimorphes avec parfois des ramifications, immobiles en bouillon et acapsulés. (Figure 9).

Gram + (Archambaud *et al.*, 2008).



Figure 9. Développement de *Propionibacterium acnes* dans le milieu thioglycollate, coloration au crystal violet. G x 100 (Archambaud *et al.*, 2008).

I.2.4.2. Caractères cultureux

Anaérobies, microaérophiles parfois.

Culture lente sur géloses au sang de mouton en 2 à 5 jours pouvant atteindre 15 à 20 jours: colonies fines, quelques souches sont β hémolytiques (**Figure 10**).

Pousse sur milieux sélectifs contenant des antibiotiques (acide nalidixique et colistine) (**Dramis *et al.*, 2008**).



Figure 10. Colonies de PBA sur gélose au sang (**Dramis *et al.*, 2008**).

I.2.4.3. Caractères enzymatiques et biochimiques

Oxydase -, catalase +.

Indole + (facilement mis en évidence par le DMACA).

Glucose +, saccharose -, maltose -.

Réduction des nitrates, esculine – en anaérobiose.

5 biotypes différents et 2 biovars (**Lutz *et al.*, 2005**)

I.2.4.4. Diagnostic différentiel

- Avec les genres de bacilles anaérobies à Gram + catalase + indole + nitratase + :

Eggerthella lenta (ex *Eubacterium lentum*) est sensible au métronidazole en anaérobiose.

Alors que tous les *Propionibacterium* sont résistants au métronidazole.

- Avec les autres *Propionibacterium* : (**Jousimies *et al.*, 2002**)

Dans une infection osseuse à *P. acnes* : Souvent peu ou pas de perturbation biologique :

Leucocytes, CRP, VS... (= faible virulence et/ ou faible inoculum)

- Descellement aseptique de prothèse en l'absence d'arguments cliniques et microbiologiques pourrait être lié à une infection de bas grade.

Nécessité de prolonger l'incubation des cultures > 13j (**Nelson *et al.*, 2005**).

Catalase +

Croissance optimale : anaérobiose

Indole +

Nitratase +

Esculine en anaérobiose -

Saccharose -

Maltose -

B- hémolyse: variable

I.2.5. Sensibilité aux antibiotiques

I.2.5.1. Résistants

- aminosides

- métronidazole (**Archambaud *et al.*, 2008**).

I.2.5.2. Sensibles

- β -lactamines, la pénicilline G ou l'amoxicilline sont les antibiotiques de première intention.

Dans les infections sévères, il est recommandé de vérifier la CMI de la pénicilline et/ou de l'amoxicilline.

- Tétracyclines, macrolides, clindamycine, streptogramines, chloramphénicol, rifampicine.

- Glycopeptides.

- Fluoroquinolones : intéressantes dans les infections osseuses et les abcès cérébraux.

(Archambaud *et al.*, 2008).

I.2.6. Mécanisme de contamination de la plaie opératoire

Les voies de contaminations les plus probables sont :

-Per-opératoire = voie de contamination la plus probable

-Flore cutanée du patient

-Contamination aéroportée (patient ou équipe chirurgicale)

-Persistance sur les surfaces.

-P. acnes retrouvé lors d'une épidémie sur différents supports en salle d'opération

-P. acnes non recherché spécifiquement dans l'air et sur les surfaces au bloc opératoire

-Lors des prélèvements réglementaires.

-Lors d'une épidémie avec utilisation de milieux de culture spécifiques (Berthelot *et al.*, 2006).

I.2.7. Identification des protéines immunogènes dans les biofilms et/ou les phases de croissance planctoniques de P. acnes.

Dans une étude de (Yvonne Achermann *et al.*, 2015) ils ont séparé les protéines de P.acnes dans la paroi cellulaire / membrane et fractions de protéine du cytosol. Pour trouver ces protéines qui serviraient d'un candidat de vaccin diagnostique ou potentiel, ils ont visé la paroi cellulaire / la fraction de la protéine de membrane avec la technique Western blot utilisant le sérum immunisant d'une culture tibiale de l'infection confirmée dans un lapin (post-défi de quatre semaines). Des taches de protéines immunogènes apparaissant sur au moins deux taches ont été retranchées et identifiées par la spectrométrie de masse en tandem

MALDI-TOF (MME/MME). Ils ont trouvé 24 protéines qui étaient immunogènes dans les biofilms, planctonique, ou dans les deux modes de croissance.

Le tableau 30 en Annexe IV, donne une liste des identités des protéines et fournit la masse moléculaire, le point isoélectrique, la fonction de la protéine et le modèle d'expression (biofilm, planctonique, ou les deux modes de croissance) de chaque immunogène.

Pour les facteurs bactériens, au sein du biofilm, des réseaux de communications intercellulaires et des signaux de passage en phase stationnaire de croissance (quiescence) se mettent alors en place conduisant à la formation de « variants colonies » naines. Ces micro-colonies peuvent se maintenir de façon prolongée dans la matrice osseuse, à l'abri des défenses immunitaires et des antibiotiques. Cet échappement peut aboutir à une infection subaiguë et des rechutes infectieuses (**Götz F. 2002**).

I.3. Antibiothérapie

I.3.1. les principes de l'antibiothérapie

Au cours des infections ostéo-articulaires(IOA), l'antibiothérapie doit être précoce et rapidement bactéricide. Elle est d'abord probabiliste dès la réalisation des prélèvements bactériologiques, basée sur la connaissance des bactéries habituellement responsables, puis adaptée au profil de sensibilité du germe isolé et au terrain (**Achermann et al., 2014**).

I.3.2. Critères de choix

Les antibiotiques doivent avoir une bonne activité sur les germes présumés responsables, une diffusion osseuse et articulaire satisfaisante avec une activité conservée et une bonne tolérance. L'activité des antibiotiques au niveau de l'os peut être altérée par un ensemble de facteurs physico-chimiques liés au terrain (troubles de la vascularisation locale au cours d'un diabète ou d'une artérite), à l'infection (acidose locale, anaérobiose) ou à la physiologie bactérienne (croissance lente) dont il faut tenir compte (**Zeller et al., 2006**).

La diffusion osseuse des principaux antibiotiques utilisés dans les IOA figure au **tableau 2**. Quelle que soit la molécule, la diffusion est meilleure dans l'os spongieux et dans

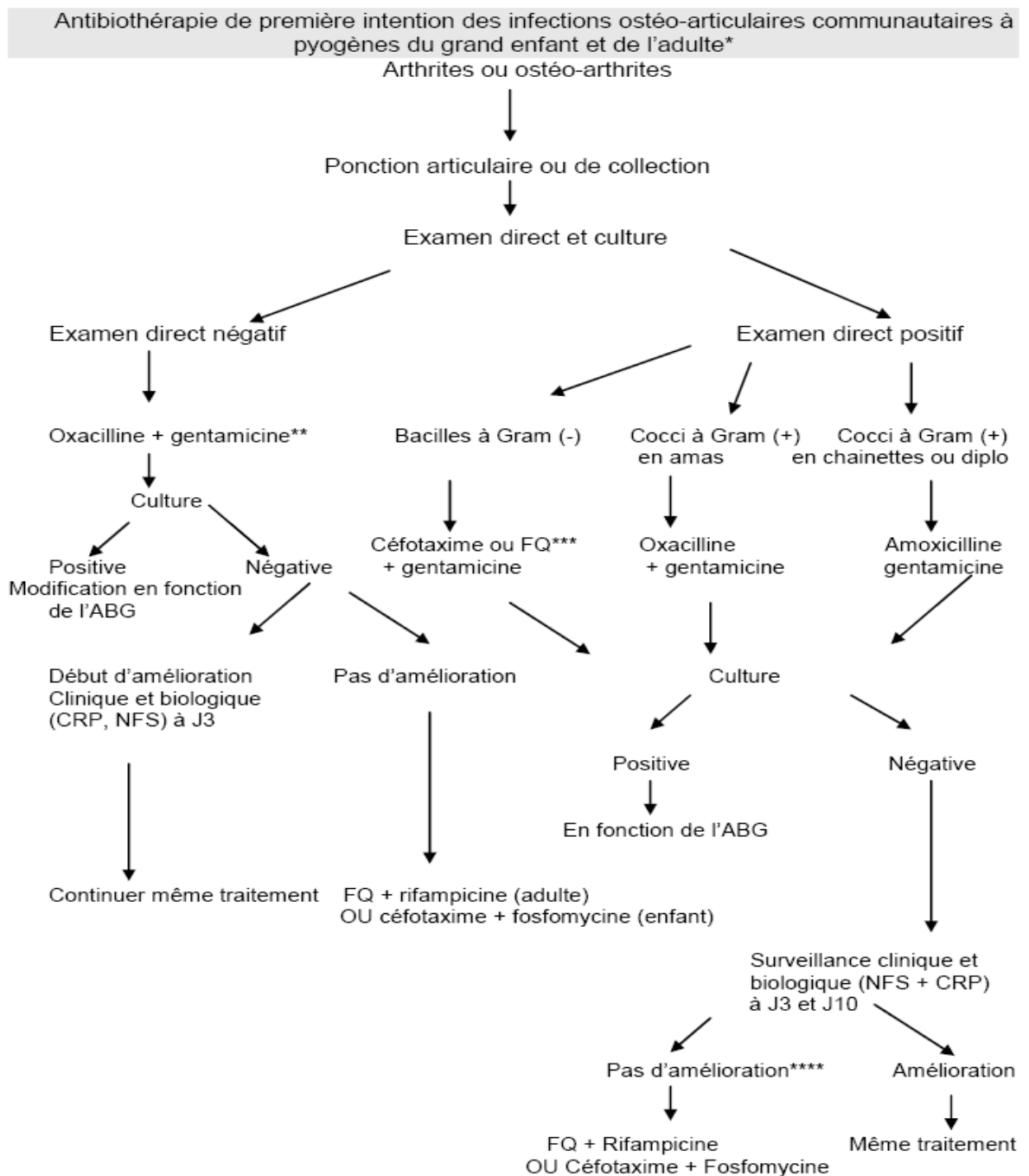
l'os infecté en raison d'une meilleure vascularisation (Schurman et al.,1978) (Eshkenazi et al., 2001).

Tableau 2. Diffusion osseuse des Antibiotiques (Schurman et al.,1978)

Bonne diffusion (>30%)*	Fluoroquinolones, lincosamides, rifampicine, acide fusidique, fosfomycine, teicoplanine, macrolides, pristinaamycine, métronidazole
Diffusion moyenne (15-30%)	Bêtalactamines, vancomycine, cotrimoxazole, phénicolés
Diffusion faible (<15%)	Aminosides, inhibiteurs de β lactamases

* Pourcentage de concentration os/sérum

- L'antibiothérapie de première intention doit être basée sur la nature du ou des germes présumés responsables en fonction du tableau clinique, de l'âge et du terrain. Elle sera orientée par l'examen direct après coloration de Gram du pus prélevé à partir d'une ponction articulaire ou d'un foyer d'ostéite (**Figure 11**).



* Cet algorithme ne tient pas compte des éventuelles indications chirurgicales. Un avis d'orthopédie est indispensable au début du traitement et au besoin au cours de l'évolution
 ** En cas de drépanocytose, il faut préférer l'association céfotaxime + gentamicine
 *** FQ : Fluoroquinolone. **** Penser aux anaérobies

Figure11. Algorithme de première intention des IOA (Eshkenazi et al., 2001).

- L'antibiothérapie initiale doit comporter une association de deux antibiotiques bactéricides, prescrite à fortes doses et administrée par voie parentérale, tenant compte de la fonction rénale (Ben Chaabane et al., 2007).

- La voie orale peut être d'emblée utilisée, en l'absence de signes de gravité, avec des antibiotiques ayant une bonne biodisponibilité orale tels que les fluoroquinolones, l'acide fusidique, la rifampicine ou le métronidazole.

-Une monothérapie par voie orale peut être envisagée après 2 à 3 semaines de traitement d'attaque (**Zeller et al., 2006**).

-L'antibiothérapie de première intention peut être orientée par la nature de la porte d'entrée : **tableau 3** et **tableau 4**

Tableau 3. Antibiotiques de première intention selon la porte d'entrée (**Zeller et al., 2006**).

Porte d'entrée	Antibiothérapie de première intention
cutanée	oxacilline + gentamicine
urinaire	céfotaxime <u>ou</u> ceftriaxone + gentamicine
Absence de porte d'entrée	- Céfazoline <u>ou</u> céfapirine + gentamicine - Fluoroquinolone + rifampicine

La tolérance est bonne et la toxicité faible, à condition d'adapter la posologie à l'âge, au poids et à la fonction rénale et de surveiller les concentrations régulièrement. Les soins infirmiers sont allégés, si la seringue ou le diffuseur n'est changé qu'une ou deux fois par jour. Cette technique implique une stabilité du produit pendant 12 à 24 heures (vancomycine, céfazoline, pipéracilline–tazobactam, céfépime, fosfomycine par exemple). Pour les perfusions continues d'amoxicilline, d'oxacilline et de cloxacilline, la seringue ou le diffuseur doivent être changés toutes les six heures. En ambulatoire, l'administration en perfusion continue s'effectue à l'aide de diffuseurs calibrés ou d'une mini-pompe portable ce qui permet au malade de rentrer chez lui avec une surveillance clinique et biologique rapprochée (**Bernard et al., 2001**).

Tableau 4. Infections à bactéries à Gram (+) (streptocoques, entérocoques, bacilles) (**Ben Chaabane et al., 2007**).

	Antibiothérapie bactéricide initiale par voie IV	Relais oral
Entérocoques Streptocoques	Amoxicilline + gentamicine (maximum trois semaines) ± rifampicine ou Vancomycine + gentamicine maximum trois semaines) ± rifampicine	Amoxicilline ± rifampicine ou clindamycine (si érythro S)
Anaérobies Gram (+)	Clindamycine (si erythro S) ou céfazoline ou amoxicilline + rifampicine	Clindamycine ou cefalexine ou amoxicilline (<i>P. acnes</i> , <i>Peptostreptococcus</i>) ± rifampicine

-Les injections intra-articulaires d'antibiotiques ne sont pas recommandées, compte tenu de la bonne diffusion synoviale de la majorité des antibiotiques. La pénicilline en intra-articulaire peut entraîner une synovite réactionnelle (**Ben Chaabane et al., 2007**).

I.3.3. Principaux facteurs justifiant une association d'antibiotiques

- L'absence de documentation bactériologique dans la majorité des cas
- La gravité initiale du tableau clinique
- Le caractère nosocomial de l'infection
- L'éradication plus rapide de l'infection (donnée expérimentale)
- La diminution du risque de rechute (donnée clinique)

• Le risque de sélection de mutants résistants : risque maximal à la phase initiale de l'infection, lié à l'importance de l'inoculum, à la nature de la bactérie (**Ben Chaabane et al., 2007**).

I.3.4. Posologie, voie d'administration et concentrations sériques souhaitées des antibiotiques dans les infections ostéo-articulaires : tableau 5 (Zeller et al., 2005)

Antibiotique	Nom commercial	Posologie par 24 heures	Rythme et voie d'administration	Concentrations sériques souhaitées (µg/ml)
Amoxicilline Oxacilline cloxacilline Céfazoline Cefotaxime Ceftazidime	Clamoxyl Bristopen, Orbénine Céfacidal Claforan Fortum	100–200 mg/kg 100–150 mg/kg 100–200 mg/kg 100 mg/kg	IVSEa Ou en quatre à six injections IVL	50 µg/ml Cmax.b 80 ; Cmin.c < 20
Cefepime Pipéracilline– tazobactam Amoxicilline– acide clavulanique Ceftriaxone Imipénème	Axepime Tazocilline Augmentin Rocéphine Tienam	50–100 mg/kg 150–200 mg/kg 100 mg/kg 30–35 mg/kg 50–100 mg/kg	Quatre à six injections IVL En deux injections IVL Trois à quatre injections IVL	Cmax. 80 ; Cmin. < 20 Cmax. 20–30 ; Cmin. 1–3
Vancomycine Teicoplanine	Vancocine Targocid	40–60 mg/kg	IVSE En deux injections IVL	30–40 Cmin. 30–35

		12 à 24 mg/kg puis 6 à 12 mg/kg	pendant plusieurs jours puis une injection IVL	
Gentamicine Tobramycine Amikacine	Gentalline Nebcine Amiklin	3 mg/kg 3 mg/kg 15 mg/kg	Deux injections IV 30 minutes	Cmax. 4–6 ; Cmin. < 0,5 Cmax. 25–30 ; Cmin. < 3
Péfloxacin Ofloxacin Ciprofloxacin	Péflacine Ofloxacin Ciflox	800–1200 mg 400–800 mg 1500–2000 mg	Deux à trois fois per os ou IV Deux à trois fois per os ou IV Deux à trois fois per os ou IV	Cmax. 10 ; Cmin. 6–8 Cmax. 5 ; Cmin. 3 Cmax. 3 ; Cmin. 2
Clindamycine	Dalacine	1800–2400 mg	IVSE Ou en trois à quatre injections IVL ou trois prises	6–8 Cmax. 15 ; Cmin. 5
Rifampicine	Rifadine	20 mg/kg	Deux à trois injections IV 60 minutes ou deux à trois prises	Cmax. 10–15 ; Cmin. 1–5
Acide fusidique	Fucidine	1500 mg	Deux à trois injections IVL Deux à trois prises	Cmax. 80 ; Cmin. 50
Fosfomycine	Fosfocine	150–200 mg/kg	IVSE Trois à quatre injections IV de 120 minutes	70–90
Linézolide	Zyvoxid	1200 mg	Deux prises Deux injections IVL	Cmax. 20 ; Cmin. 6

I.3.5. Durée d'administration des antibiotiques

La durée optimale de l'antibiothérapie des infections ostéoarticulaires sévères n'est pas consensuelle. Elle dépend du site, de la qualité de l'excision chirurgicale et de l'évolution sous traitement. Elle peut être très variable d'un centre à un autre. Les durées de traitement recommandées selon le type d'infection figurent dans le **Tableau 7**. Elles sont généralement plus courtes chez l'enfant. La durée du traitement intraveineux initial est fonction de la biodisponibilité et de la tolérance digestive des molécules utilisées, et du type d'infection. Chez les patients inopérables porteurs d'une prothèse infectée, ayant une infection due à une bactérie très sensible à un antibiotique facile à prendre par voie orale, l'utilisation d'une antibiothérapie « suppressive » peut être administrée à vie (**Pioro., 1997**) (**Goldenberg., 1998**).

Tableau 7 : Durée du traitement antibiotique selon le type d'infection (**Pioro., 1997**)

Durée du traitement antibiotique selon le type d'infection [38–45]

Type d'infection	Durée (semaines)
Arthrite évoluant depuis moins de dix jours ^a	4–6
Arthrite gonococcique	7–10 jours
Arthrite évoluant depuis plus de dix jours ^b	6–12
Spondylodiscite	6–12
Ostéomyélite aiguë	4–12
Ostéite chronique	12–24
Infection sur prothèse articulaire aiguë	6–12
Infection sur prothèse articulaire chronique	12

^a Avant l'installation des lésions articulaires irréversibles.

^b Après l'installation des lésions articulaires irréversibles.

I.3.6. Surveillance de l'antibiothérapie

La surveillance pendant la totalité du traitement antibiotique est indispensable. Elle permet de vérifier l'efficacité de celui-ci (régression de la fièvre, aspect de l'articulation et de la cicatrice, fonctionnalité du membre ou de l'articulation, régression du syndrome inflammatoire, stérilisation des liquides de drainage, dosages antibiotiques). La VS peut rester

augmentée pendant plusieurs mois sans qu'elle ait une signification péjorative. En revanche, la CRP doit retrouver des valeurs normales entre quatre à six semaines. La surveillance concerne également la tolérance clinique (troubles digestifs, accidents allergiques...) et biologique des antibiotiques sur les examens de routine (NFS, plaquettes, fonction rénale et hépatique) et sur le dosage de certains antibiotiques. La guérison d'une arthrite aiguë ou d'une spondylodiscite peut généralement être affirmée dans les trois à six mois suivant l'infection. En revanche, dans les infections osseuses et sur prothèses articulaires, il n'existe aucun paramètre biologique qui permet d'affirmer la guérison de l'infection. Elle est fortement suspectée par l'absence de récurrence de l'infection à distance de l'arrêt du traitement antibiotique (**Nade S., 2003**). Il est donc difficile d'assurer à un patient qu'une infection sur prothèse ou une ostéite chronique est définitivement guérie compte tenu des récurrences observées même plusieurs années après une apparente guérison. En revanche, lorsque du matériel étranger reposé dans un site infecté antérieurement ne provoque aucune reprise de l'infection après au moins deux ans de recul, on peut admettre que l'infection a été guérie (**Zeller et al., 2006**).

I.4.La thérapie ciblée

I.4.1. Introduction

L'inflammation n'est pas une maladie, mais une conséquence de la maladie, représentée par la défense du corps (de l'organisme) contre l'infection. La réponse inflammatoire assure la résolution réussie forme une partie du processus de guérison normal. Le règlement de cette réponse est centralement contrôlé par la communication axée des cytokines, qui dirige l'immunité tant innée qu'adaptative (**Feldmann., 2002**). Dans les maladies inflammatoires chroniques plus progressives, le cours naturel d'inflammation est perdu, aboutissant à la progression de la maladie au lieu de la protection. Le traitement réussi des phénomènes inflammatoires chroniques, est les traitements biologiques qui bloquent l'activité des cytokines. A savoir que les réponses de cytokines déséquilibrées proinflammatoires et antiinflammatoires contribuent à l'induction de l'autoimmunité, l'inflammation chronique et la destruction du tissu associé. Ces médicaments aient fourni un avantage clinique considérable (**Simon et al., 2011**).

Le traitement réussi de certaines conditions auto-immunes avec l'anticorps anti-IL-6 (tocilizumab) humanisé (IL-6R) a souligné l'importance clinique des cytokines qui déclenchent le signal par la sous-unité β -récepteur de la glycoprotéine de 130 (gp130) (**McInnes et al., 2007**).

Des modèles précliniques ont souligné la participation de nombreuses cytokines dans la pathologie de maladies inflammatoires diverses et des cancers (**Hermann et al., 1998**) (**Esashi et al., 2009**). En conséquence, les cytokines sont devenues des cibles thérapeutiques majeures pour l'intervention clinique. Par exemple, les MAbs qui ciblent le TNF- α est maintenant le traitement standard pour des patients avec l'arthrite inflammatoire chronique et des thérapies alternatives, qui ciblent d'autres cytokines, apparaissent aussi dans la pratique clinique ordinaire. Ces agents travaillent par ciblage de la cytokine directement ou en inhibant l'attachement des cytokines à leurs récepteurs spécifiques sur la surface de cellules. À cet égard, ils sont conçus pour empêcher la signalisation des cytokines dans des cellules (**Walmsley et al., 1998**), (**Moreland et al., 2001**). (**Sims et al., 2009**).

Ce mode fondamental d'action a aussi donné la possibilité de bloquer certaines cytokines intracellulaires des voies de signalisation avec des petites molécules inhibitrices. Le défi est d'identifier qu'elle est la cytokine ou la molécule de signalisation qui représente la cible la plus appropriée d'intervention pour un groupe de patient particulier. À cet égard, un candidat pharmaceutique a besoin de bloquer un nombre suffisamment large de processus pathologiques associés à la maladie mais devrait aussi conférer un impact minimal sur des mesures de sécurité, comme l'incidence d'infection, le risque cardiovasculaire et la malfaisance (**Simon et al., 2011**).

I.4.2. Thérapies de première ligne pour l'inflammation chronique

Les médicaments biologiques, y compris les agents anti-TNF- α (par exemple, la neutralisation par des anticorps anti-TNF- α infliximab, adalimumab, golimumab et certolizumab ou la protéine soluble de fusion Fc TNF-R2 etanercept), sont largement utilisées, qui réduisent l'inflammation. Le succès clinique de ces agents a mené à un intérêt de recherche significatif dans le contrôle du traitement et de la signalisation de TNF- α (**Kishimoto., 2010**). On a donné moins d'attention aux cytokines que le signal par la voie JAK/STAT. Cependant, les cytokines dont le signal via cette voie (par exemple, IFN- γ , GM-CSF, IL-6) sont devenues de plus en plus liées avec la pathogénie des maladies inflammatoires

chroniques et le cancer. Les médicaments biologiques actuels ciblent ces cytokines (par exemple, l'IL-6R bloqué par le tocilizumab) et les petites molécules sélectives inhibitrices de la voie JAK (par exemple, tofacitinib, ruxolitinib) montrent aussi une phase favorable efficace sur des patients avec la polyarthrite rhumatoïde (**Melton et al., 2008**).

Avec cette augmentation du nombre d'interventions biologiques entrant les aspects cliniques, il est devenu de plus en plus important de comprendre comment les voies des cytokines spécifiques interfèrent avec le processus inflammatoire pour avoir des effets sur la maladie (**Simon et al., 2011**).

I.4.3. La composition des récepteurs pour les cytokines de signalisation via la sous unité β du gp130

La gp130 (aussi connu comme CD130) est exprimée dans presque tous les organes, y compris le cœur, le rein, la rate, le foie, le poumon, le placenta et le cerveau (**Yoshida K et al., 1996**). Bien qu'initialement identifiée comme La sous-unité du complexe IL-6R, la gp130 transmet aussi des signaux pour IL-11, IL-27, l'oncostatin-m (OSM), le facteur neurotrophique ciliaire (CNTF), cardiotrophin-1 (CT-1), le facteur inhibiteur de la leucémie (LIF) et la cytokine cardiotrophinlike (CLC) (**Pflanz et al., 2004**) (**Baumann et al., 1991**).

L'IL-6R fonctionne comme une protéine membranaire attachée, qui est exprimée par les hépatocytes et par certaines cellules inflammatoires, et une forme soluble (sIL-6R), qui est aisément détectée dans la circulation et aux sites d'inflammation (**Rose-John et al., 1994**) (**Rose-John et al., 2006**).

I.4.4. Les mécanismes de signalisation d'IL-6R

La première étape du processus de transduction de l'IL-6 débute par la liaison de la cytokine à sa sous-unité réceptrice spécifique (IL-6R) qui peut être soit fixée à la surface des cellules soit sous forme soluble. Ces deux molécules s'associent ensuite à la sous-unité membranaire gp130 pour former un complexe de haute affinité. Des études biochimiques suggèrent la formation subséquente d'un super-complexe hexamérique composé de deux molécules d'IL-6, d'IL-6R et de la gp130. Ce complexe ne possède pas de propriété

catalytique et la gp130 recrute au préalable des enzymes tyrosine-kinases dont le rôle est de transmettre l'information fournie par l'IL6 à l'intérieur de la cellule en phosphorylant des protéines effectrices. En effet, trois membres de la famille des Janus kinases, JAK1, JAK2 et TYK2, sont étroitement liés à la gp130 et sont rapidement activés en présence d'IL-6. Les JAK ajoutent des phosphates aux résidus tyrosine de la portion cytoplasmique de la gp130, ce qui permet le recrutement et la phosphorylation d'au moins deux facteurs de transcription (STAT1, STAT3) et d'une protéine tyrosine-phosphatase (SHP-2). Ainsi activées, les STAT se combinent via leur domaine SH2 pour former des homodimères qui sont transportés dans le noyau pour moduler l'activité transcriptionnelle de différents gènes. Par ailleurs, la protéine SHP-2 déclenche une cascade d'évènements qui stimule la protéine membranaire Ras, ce qui mène à l'activation des MAP kinases ERK-1 et ERK-2. Il existe au moins deux voies possibles reliant SHP-2 et Ras, l'une utilisant la protéine adaptatrice Gab1, qui est associée à la phosphatidylinositol-3 kinase, et l'autre le complexe Grb2-Sos. Les MAP-kinases ainsi activées induisent à leur tour l'activation de protéines nucléaires, dont le facteur de transcription NF-IL-6. Il existe au moins deux mécanismes moléculaires qui permettent de restreindre l'action de l'IL-6. Le premier implique l'internalisation du complexe formé par l'IL-6 et ses sous-unités réceptrices, et sa dégradation subséquente par des enzymes protéolytiques. Ce processus ne requiert pas l'activation des JAK et se traduit par une diminution du nombre de récepteurs à la surface des cellules. Au contraire, le deuxième mécanisme nécessite l'activation des voies de signalisation et la production de nouvelle famille de protéines inhibitrices. Leur rôle consiste à empêcher la phosphorylation des facteurs de transcription STAT et l'activation de la voie des MAP-kinases en s'associant au domaine catalytique des JAK. Quatre de ces protéines de rétroaction négative ont été identifiées dans le cytoplasme de différentes cellules traitées avec l'IL-6 : SOCS-1, SOCS-2, SOCS-3 et CIS. Quatre protéines (SOCS-4 à 7) ont par ailleurs été clonées récemment et font partie de cette nouvelle famille de facteurs de réponse précoce induits par les cytokines, dont le rôle est de réprimer leurs voies de signalisation (**Jürgen *et al.*, 2011**) (**Hunter C *et al.*, 2015**).

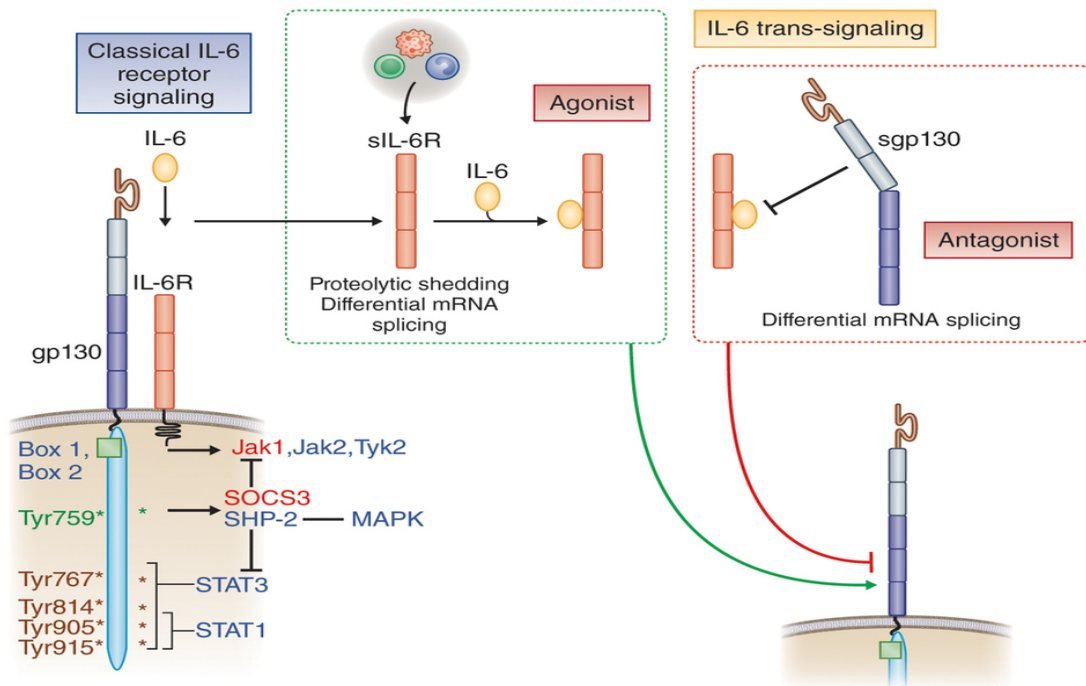


Figure 12. Deux voies distinctes de signalisation de l'IL6

I.4.5. L'IL6 contrôle les cellules B et l'immunité humorale

L'IL6 contrôle la survie, l'expansion de la population et la maturation des cellules B et des plasmablastes. Par exemple, la régulation du facteur de la transcription Blimp-1 par STAT3 est attachée à la sécrétion des anticorps et associée avec les cellules plasmatiques à grande longévité qui produisent des quantités importantes d'immunoglobulines. L'IL6 contrôle aussi l'expression de l'IL21 dans les cellules T, et l'activation de STAT3 par l'IL6 et l'IL21 améliore l'expression de Bcl-6 et la génération des cellules T_{FH}. Les activités de Blimp-1 et de Bcl-6 neutralisent l'une à l'autre, et cette relation réciproque affecte la différenciation et la fonction des lymphocytes. L'activation innée des cellules B par des récepteurs Toll-like contrôlent aussi la production d'IL6 par des cellules B, et l'IL6 en association avec IL-1 β fournit les signaux d'engagement nécessaires pour la génération de la régulation des cellules B sécrétrices d'IL10, cellules régulatrices B, IgG1, immunoglobine G1 (Hunter C et al., 2015).

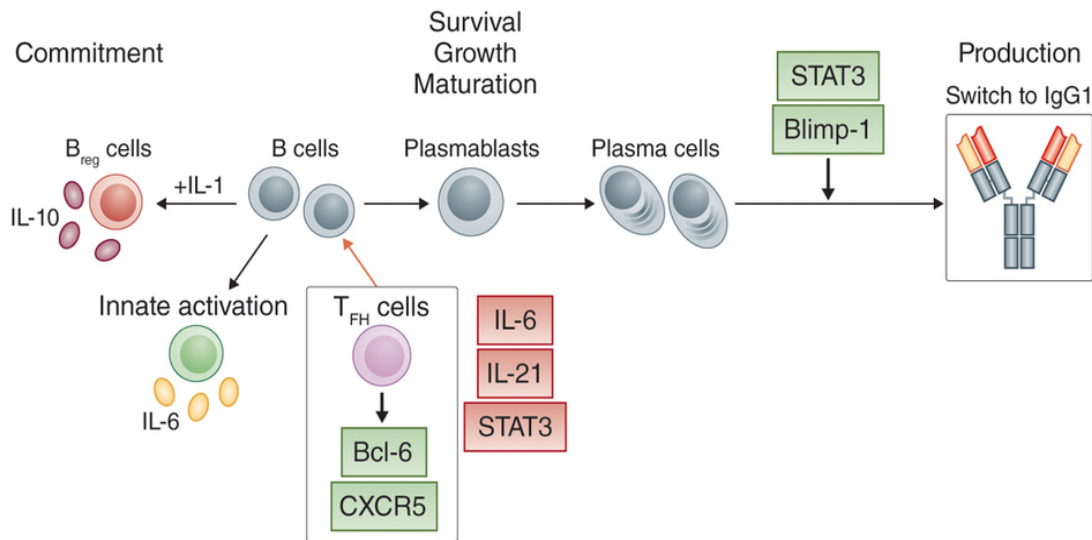


Figure 13. IL6 contrôle les cellules B et l'immunité humorale

I.4.6. Effets de l'IL6 dans les activités des cellules T

L'IL-6 dirige la prolifération, la survie et l'engagement de cellules T et module leur production de cytokine effectrice. Le second rôle d'IL-6 est dans le maintien de réponses cellulaires T (par exemple, la direction de la prolifération et de la survie de TH1 ou des cellules TH2).

Le rôle critique de l'IL-6 est critique dans le développement de populations d'effecteurs définies (par exemple, le TH17, TH22 et les sous-ensembles TFH des cellules T helper) ou leur inhibition (par exemple, des cellules Treg). L'IL-6 règle aussi l'infiltration cellulaire T en contrôlant l'expression de récepteurs chemokine, et l'IL-6 trans- signal agissant sur des tissus stromals règle plusieurs chemokines inflammatoires responsables du recrutement des cellules T. L'expression d'IL-6R apparentée est associée principalement avec les cellules T mémoires naïves ou les cellules T centrales qui expriment CCR7 et CD62L. L'activation du récepteur de l'antigène des cellules T promeut la perte du récepteur d'IL6 et sera accompagner par la perte de l'activité STAT1 mediée par l'IL6.

La présence d'IL2 empêche la présentation d'IL-6R sur la surface des cellules T. Ce ci suggère que l'activation des cellules T mène à une altération dans la responsivité des cellules T à l'IL6 et un switch depuis le signal classique au signal trans. L'IL6 modifie aussi les caractéristiques d'effecteurs des populations cellulaires T définies. Par exemple, signalant

l'interaction entre IL-27 et IL-6 (impliquant l'activation de STAT1 et STAT3) promeut la sécrétion d'IL-10 par l'effecteur défini des sous-ensembles cellulaires T. De même l'IL-6 contribue aussi à l'acquisition de l'expression de T-bet or ROR γ t par les populations cellulaires inductibles Treg. Fas, Les récepteurs de surface cellulaire (CD95), Bcl-xL, anti apoptotique facteur; TNF, facteur de nécrose de tumeur; anti-CD3, anticorps à la protéine de signalisation invariable CD3; anti-CD28, anticorps au corécepteur CD28. DP renvoie à des cellules T CD4 + exprimant IFN et IL-10, IL-4 et IL-10, ou de l'IL-17 et IL-10.

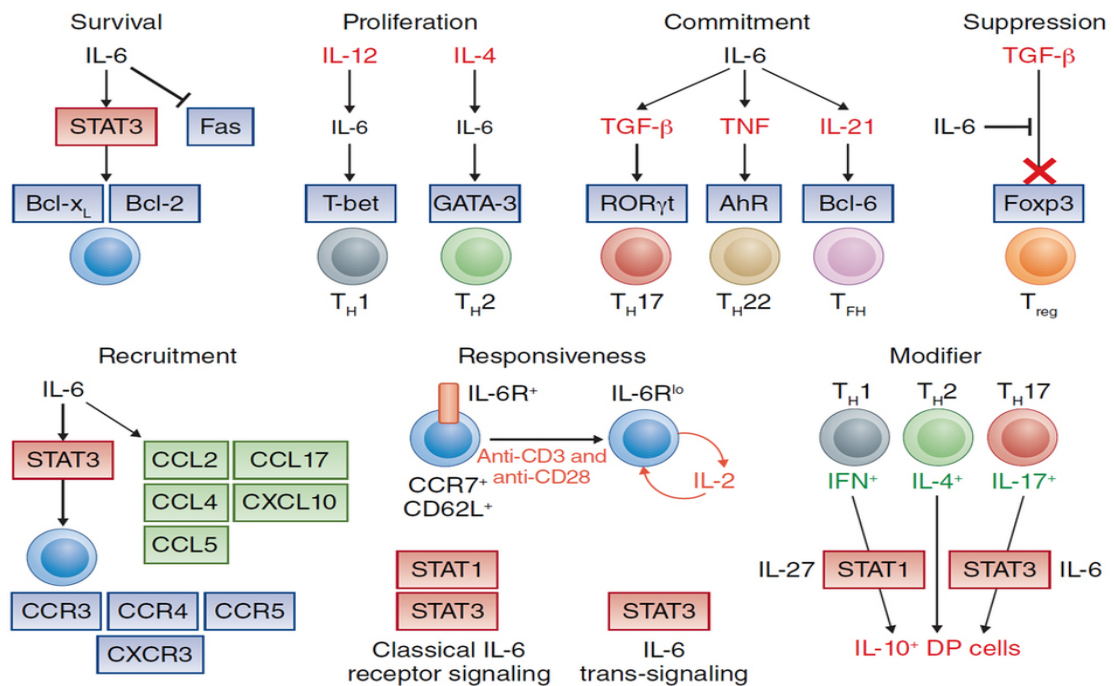


Figure 14. Effet de l'IL6 sur les activités des cellules T

I.4.7. Les modes de blocage d'IL-6 thérapeutique

L'IL-6 est considérée traditionnellement comme un régulateur de réponses inflammatoires des phases aiguës et un facteur stimulateur des lymphocytes (Heinrich et al., 2003). Cependant, cette cytokine contrôle aussi des fonctions homéostatiques, y compris le règlement de métabolisme du glucose (Wunderlich et al., 2010), (Matthews et al., 2010) et l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalien (Chesnokova et al., 2002). Le contrôle de ces activités est devenu une considération importante pour des interventions basées sur l'IL-6.

Durant une phase inflammatoire, l'IL-6 est fortement exprimée et peuvent atteindre 1-5g/ml (Waage *et al.*, 1998) (Simon *et al.*, 2011).

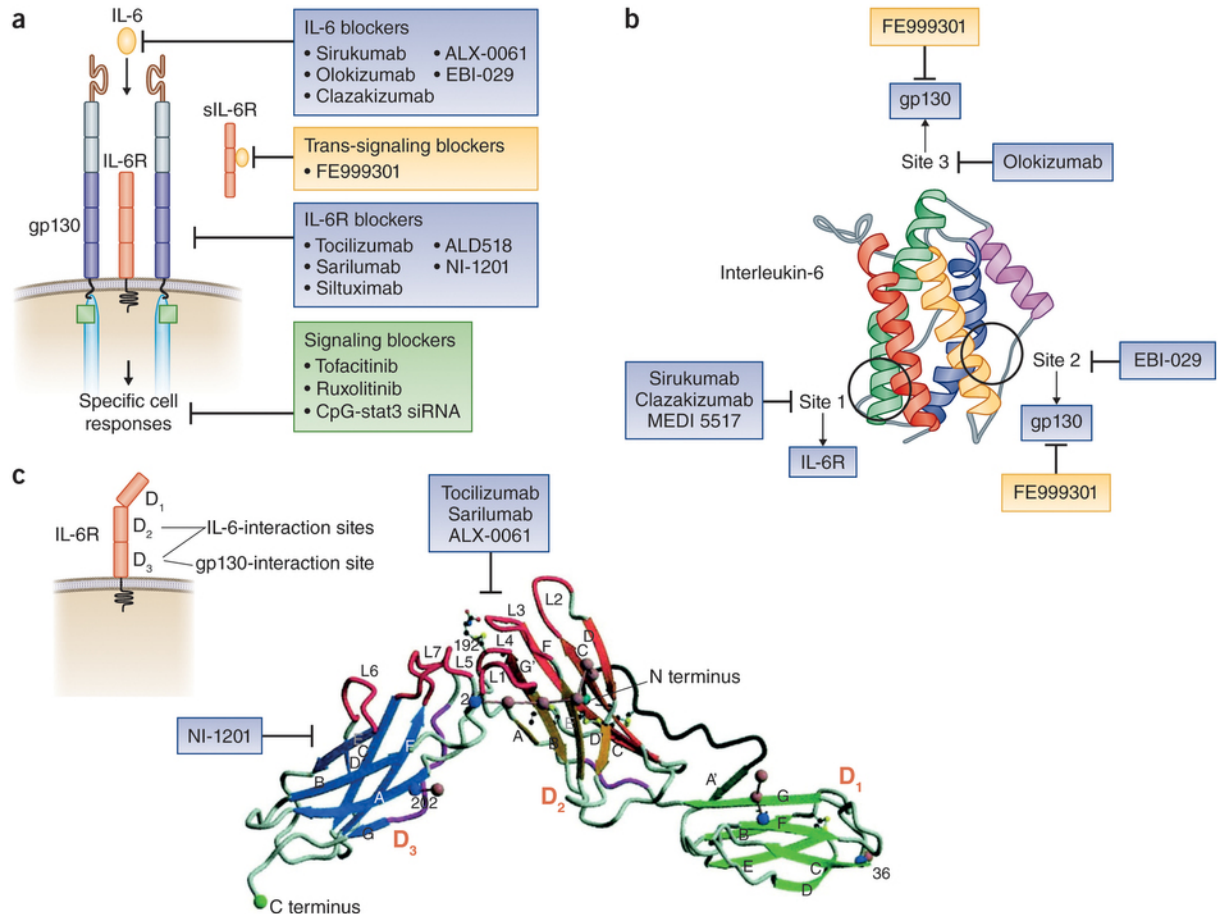


Figure 15. Les cibles thérapeutiques de l'IL6 et son récepteur

(a) Une variété de médicaments qui bloque les voies de l'IL6 sont en tests précliniques, le développement d'essai clinique ou la pratique clinique ordinaire. Les médicaments qui ciblent l'IL6 et l'IL6R durant le signal classique du récepteur IL6 (bleu) ou le signal trans (orange) et une petite molécule agent qui inhibe des molécules du signal intracellulaire sont inscrits le long de la marge. Les anticorps monoclonaux qui lient IL-6 ou son récepteur montrent un haut degré de spécificité pour IL-6, tandis que les inhibiteurs de signalisation intracellulaire affectent aussi d'autres voies servies d'intermédiaire de cytokine d'autres qu'IL-6.

(b) Les anticorps inhibiteurs qui lient IL-6, IL-6R ou la cible de la gp130 ont défini des régions epitope et montrer les modes distincts d'action. Les agents inhibiteurs qui lient IL-6 l'un ou l'autre bloque l'attache d'IL-6 à IL-6R (le site 1) ou interfèrent avec le complexe de récepteur entièrement fonctionnel en bloquant l'interaction avec gp130 (le site 2 ou le site 3).

L'action de ces anticorps rapporte des différences dans l'efficacité et la pharmacocinétique. Les inhibiteurs de site 1 causent des augmentations plus prononcées de montants d'IL-6 systémiques que font les inhibiteurs d'IL-6 qui lient le site 2 ou le site 3. Le Bleu indique les agents de blocage qui empêchent l'attache d'IL-6 au complexe IL-6R membranaire (la signalisation de récepteur IL-6 classique); l'orange indique ceux qui interfèrent avec l'attache de sgp130 au complexe IL-6-IL-6R soluble (IL-6 trans-signalant), tel que la version Fc-linked de sgp130 (FE999301). (c) La structure de l'IL6R, montrant des sites de son interactions avec l'IL6 et la gp 130 ; des agents inhibiteurs bloquent ses interaction sont en listes (droite). (Hunter C et al., 2015).

I.4.8. Rôle de la gp130 dans la signalisation de la maladie

La molécule de signalisation centrale activée par la gp130 est le facteur de transcription latent STAT3, qui est phosphorylée par des protéines JAK constitutivement attachées à la partie cytoplasmique de la gp130 (Akira., 2000). Des études ont démontré que la STAT3 est un composant intégral de développement, de l'inflammation et du cancer (Welte et al., 2003).

L'efficacité clinique de tocilizumab suggère que la signalisation IL-6/ STAT3 contribue activement à la pathologie des troubles auto-immuns, y compris la polyarthrite rhumatoïde (McInnes et al., 2007). La STAT3 activé est détectée à de hauts niveaux dans des tissus malades comme des biopsies synoviales des patients avec la polyarthrite rhumatoïde. Dans les modèles d'arthrite, les niveaux de STAT3 activée est rapidement augmentée après l'induction de la maladie et localisé dans l'alignement de la synovial et les cellules T CD3 +. En effet, la stimulation de la STAT3 via IL-6/SIL-6R déclenche une hyperplasia synoviale, l'érosion osseuse, le recrutement des leucocytes dirigé par les chemokines et le maintien des cellules effectrices dans l'articulation enflammée (Simon et al., 2011).

I.4.9. Le tocilizumab (Ro-Actemra®)

Ce médicament est le premier anticorps monoclonal inhibiteur du récepteur de l'IL-6. Prescrit à la posologie de 4 à 8mg/kg toutes les quatre semaines par voie intraveineuse, il a prouvé son efficacité en terme de réponse clinique et de moindre progression radiographique dans cinq études de phase III en Europe et aux États-Unis réunissant plus de 4200 patients,

aussi bien chez les patients non traités auparavant par des biothérapies, que chez les patients en échec après un ou plusieurs traitements par un anti-TNF α . Son efficacité paraît plus marquée dans les formes récentes de la maladie. Un risque moindre d'infections et de lymphomes (par rapport aux anti-TNF α) observé dans les essais cliniques doit être vérifié par d'autres études et une plus longue durée d'observation. La Commission européenne a accordé l'AMM du tocilizumab en janvier 2009 pour le traitement de la PR active, modérée à sévère, chez les patients adultes qui ont présenté soit une réponse inadéquate, soit une intolérance à un précédent traitement par un ou plusieurs traitements de fond ou par un ou plusieurs anti-TNF α . Chez ces patients, le tocilizumab peut être utilisé en monothérapie en cas d'intolérance au MTX ou lorsque la poursuite du traitement par MTX est inadaptée (Carli *et al.*, 2009).

Le tocilizumab se lie de façon compétitive à sIL-6R α (sous-unité α du récepteur soluble à l'IL-6) et à mIL-6R α (sous-unité α du récepteur membranaire) et empêche ainsi la fixation de l'IL-6 à son récepteur (Moulis. G *et al.*, 2011) (Figure 16).

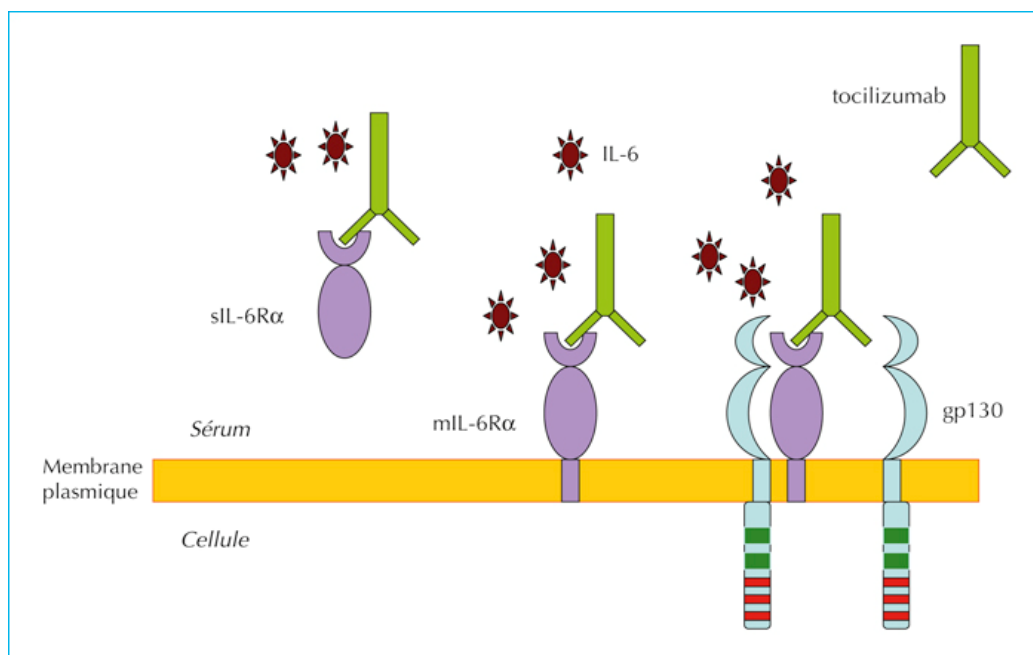


Figure 16. Mode d'action de Tocilizumab (Moulis. G *et al.*, 2011)

II. Matériel et méthodes

II.1. MATERIEL BIOLOGIQUE

II.1.1. Notre modèle expérimental : le lapin néozélandais

Nom scientifique : *Oryctolagus cuniculus* (lapin européen).

Régime : herbivore.

Embranchement : **Vertébrés**

- classe : **Mammifères**
 - super-ordre : **Glires**
 - ordre : **Lagomorphes**
 - famille : **Léporidés**
 - genre : **Oryctolagus**
 - espèce : *Oryctolagus cuniculus*

Pour notre étude, nous avons pris comme modèle le lapin néozélandais, (**Figure 17**).



(Original, 2016)

Figure 17. Les lapins néozélandais séparés individuellement dans des cages en Inox

Il est utilisé comme modèle d'investigation pour les études pharmacologiques parce qu'il possède plusieurs avantages remarquées par la science) :

- prolifique
- petite taille (mais plus grand que les souris et les rats, ce qui est plus pratique pour les manipulations trop délicates)
- pouvoir être élevé dans des conditions maîtrisées (en laboratoire)
- bonne réponse immunologique
- très sensible aux agents tératogènes (ce qui permet d'observer sa réaction qui est très proche de celle de l'être humain).

En effet, ce modèle animal convient relativement bien, car il est phylogénétiquement plus proche de l'homme. Sa manipulation est facile, et sa taille permet d'obtenir facilement des échantillons tissulaires, sanguins et de produire des anti sérums (**lebas et al., 2009**).

Dans notre étude on a utilisé des lapins néozélandais dont les caractéristiques et les conditions d'hébergement sont présentées dans les **tableaux 7 et 8**

Tableau 7. Caractéristiques et conditions de l'hébergement des animaux de l'expérimentation

Animaux	Lapins néozélandais
référence	Lapins Albinos d'origine Swiss importés d'IFFA- CREDO (Lyon)
Effectif	36
Poids	2- 3Kg
Nourriture	Alimentation granulée O.N.A.B
boisson	Eau de robinet (eau potable) sur un système d'abreuvement (circuit fermé)
Température	20 ± 2°C
Humidité	50 ± 10%
éclairage	16 heures
Elevage	Antibiotical- SAIDAL- Médea

(Original, 2016)

Tableau 8. Composition de l'alimentation granulée des lapins

Ingrédients	Quantité en %
Matière végétale	16.7
Glucides	49.80
Protéines	23.50
Lipides	5.00
Compléments minéraux et vitaminiques	5.70

(O.N.A.B, 2016)

II.2. MATERIEL NON BIOLOGIQUE

Appareillage, verrerie, réactifs...etc sont présentés sur le **tableau 9** en **Annexe I**.

II.3. MISE EN ŒUVRE EXPERIMENTALE

II.3.1. conditionnement des animaux au laboratoire

Utiliser des lapins adultes sains, mâles nourris suivant un régime complet, équilibré et exempt d'antibiotiques.

Avant d'entamer l'expérience les lapins doivent avoir séjourné deux semaines d'acclimatation, au niveau du stabularium, afin de s'adapter aux conditions d'habitat et aux manipulateurs (température, hygrométrie, éclairage, nyctémère, absence de stress...etc) pour éviter que ces derniers soient des facteurs de variation dans notre étude.

N.B : Les animaux sont placés dans des cages individuelles en INOX (**Figure17**) équipées de :

- ✓ Une mangeoire en inox
- ✓ Une tétine qui permet à l'animal de prendre l'eau potable depuis le système d'abreuvement.

II.3.2. Répartition des lots

On a administré la PBA à un effectif de 40 lapins mâles dont seulement 30 lapins ont développé la maladie donc :

Un effectif total de 36 lapins mâles est réparti sur 06 lots de 06 lapins comme suit :

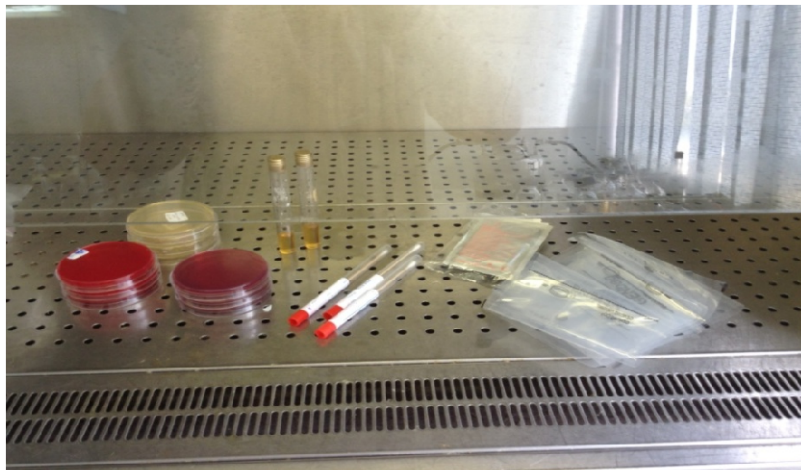
- ☞ **Un lot 1** : témoin qui ne reçoit aucune injection durant 30 jours (contrôle négatif)
- ☞ **Un lot 2** : reçoit une injection de PBA pour induire une AS jusqu'à 30 jours.
- ☞ **Un lot 3** : témoin qui reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps de deux mois sans procéder à un traitement médical.
- ☞ **Un lot 4** : reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps d'un mois et il sera traité par une antibiothérapie de 30 jours.
- ☞ **Un lot 5** : témoin qui reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps d'un mois et il sera traité par une antibiothérapie de 30 jours jusqu'au 60^{ème} jour sans traitement biologique.
- ☞ **Un lot 6** : reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps d'un mois et il sera traité par une antibiothérapie de 30 jours puis traité par un traitement biologique au 60^{ème} jour, d'une durée totale de 90 jours.

II.3.3. Préparation de l'inoculum de PBA à administré

Nous avons utilisé pour l'induction de l'arthrite septique une souche bactérienne de *Propionibacterium acnes* ATCC 11827.

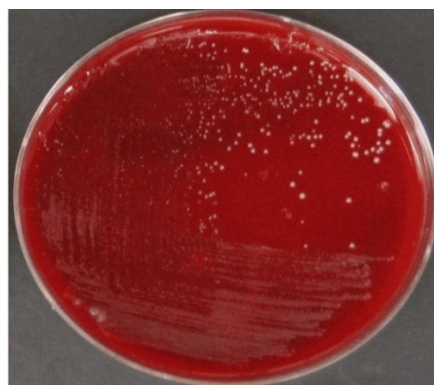
- La manipulation doit être faite sous un poste PCM en respectant les conditions d'asepsie (**Figure 18 a**).
- Le port de gants stériles en latex est obligatoire.
- Une suspension fraîche de *P. acnes* était préparée à partir d'une culture bactérienne stockée à -80°C dans le glycerol à 20% au niveau du laboratoire microbiologie, Antibiotical- SAIDAL- Médéa.
- Les tubes de bouillon TGY sont mis au bain marie à une température de 100°C avant d'êtreensemencés.
- L'inoculum a été préparé en ensemencant des tubes de 10ml de bouillon TGY (Institut Pasteur- Alger).

- Incuber la culture à 37°C pendant 5 jours dans la chambre à gaz anaérobie.
- Un trouble visible se développera au niveau des tubes TGY après la durée d'incubation.
- Répartir l'inoculum dans des petits flacons de 5ml fermés avec des bouchons stériles.
- Encapsuler les flacons pour un bon usage de l'inoculum.
- Ensemencer des boîtes de pétri contenant la gélose au sang frais à partir de la culture bactérienne citée ci-dessus sur le bouillon TGY.
- Mettez les boîtes ensemencées dans des sacs d'anaérobiose GENbag (biomérieux) sous CO₂ et incubez à 37°C pendant 5 jours.
- Il y'aura un développement des colonies fines sur les boîtes ensemencées (**figure 18b**).



(Original, 2016)

Figure 18.a. Préparation de l'inoculum de *Propionibacterium acnes*



(Original, 2016)

Figure 18.b. Colonies de *Propionibacterium acnes* sur gélose au sang

II.3.4. Induction de l'arthrite septique chez les animaux

Deux injections de PBA sont administrées aux lapins par voie intra- articulaire, à raison de 140µg/20µl, dans la même articulation dans le jour 0 et le jour 30 jusqu'à la fin de l'expérimentation où les animaux seront autopsiés et les articulations radiographiées (Trimble et al., 1987), (Olney et al., 1987) (Figure 19).

Les lapins de l'expérimentation ont été anesthésiés avant l'administration de l'inoculum de *P. acnes* au niveau de l'articulation.

Une injection intra- articulaire de l'inoculum de *P. acnes* à 2×10^8 préparée comme décrit dans le paragraphe précédent, à l'aide d'une seringue injectable apyrogène de 5ml, au niveau du genou gauche de chaque lapin du test à raison de 0.1ml/ Kg (Furustrand Tabin et al., 2012), (Furustrand Tabin et al., 2013).

Les animaux ont été rendus à leurs cages respectivement après induction de la maladie.



(Original, 2016)

Figure 19. Induction de l'arthrite septique au niveau des articulations

II.3.5. Préparation des doses du traitement antibiotique

Dans notre étude, nous choisissons, une antibiothérapie par injection de Clamoxypen® 1g/ 200mg (Amoxicilline sodique et Clavulanate de potassium (DCI)), à raison de 0.03g/ Kg, six fois par jour, d'au minimum un mois efficace sur le germe (PBA) responsable de l'infection.

L'injection de Clamoxypen ®1g/ 200 mg (SAIDAL) se fait dans la veine marginale de l'oreille de chaque animal de l'essai préalablement désinfectée à l'alcool chirurgical (**figure 20**).



(Original, 2016)

Figure 20. Administration de l'antibiotique par une injection intraveineuse

Le traitement intraveineux est toujours suivi d'un relais per os pour atteindre une durée totale de minimum 14 à 21 jours (maximum 42 jours) (**Faust et al., 2012**) (**Sanferd et al., 2012**).

Après un traitement intraveineux, de 14 jours, un traitement par voie orale avec Augmentin® 1g/ 125mg (gsk) à raison de sera administré aux lapins traités durant 14jours (**Figure 21**).

La dilution des médicaments en poudre se fait dans des béchers en verre avec de l'eau distillée stérile en quantité appropriée.



(Original, 2016)

Figure 21. Préparation du traitement antibiotique

La mise en route d'un tel traitement justifie d'une surveillance clinique rapprochée (intolérance, allergie) et d'une surveillance biologique (hémogramme, créatininémie, transaminases, VS) hebdomadaire (Boibieux André., 1991).

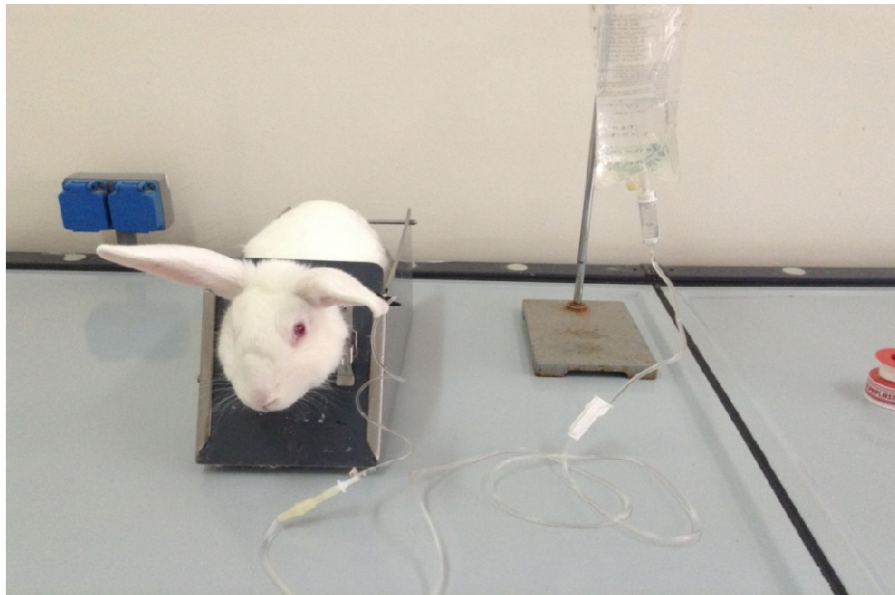
La biologie, VS et CRP ne sont des critères utiles que lorsqu'elles sont anormalement élevées initialement : elles doivent alors impérativement être normalisées avant l'arrêt des antibiotiques (Choutet P., 1995).

II.3.6. Préparation du traitement de la thérapie ciblée

Chaque mL de solution stérile concentrée pour perfusion intraveineuse contient 20 mg de tocilizumab. Ce dernier appartient à la classe des médicaments appelés modificateurs de la réponse biologique ou inhibiteurs du récepteur de l'interleukine.

La dose intraveineuse de tocilizumab® recommandée pour les adultes est basée sur le poids corporel. La dose initiale habituelle est 4 milligrammes (mg) par kilogramme (kg) de poids corporel.

On a administré l'Actemra® aux lapins traités par perfusion intraveineuse (IV) **1 fois** sur une période d'environ 1 heure (Figure 22).



(Original, 2016)

Figure 22. Administration de l'Actemra® au niveau de la veine marginale de l'oreille du lapin par perfusion sanguine

II.4. Expérimentation in vitro

II.4.1. Techniques opératoires

II.4.1.1. Contrôle du poids corporel

Afin de contrôler l'évolution du poids corporel, les animaux sont pesés régulièrement de façon hebdomadaire, durant toute la durée de l'expérimentation, à l'aide d'une balance pour la pesée des animaux (**Figure 23**).



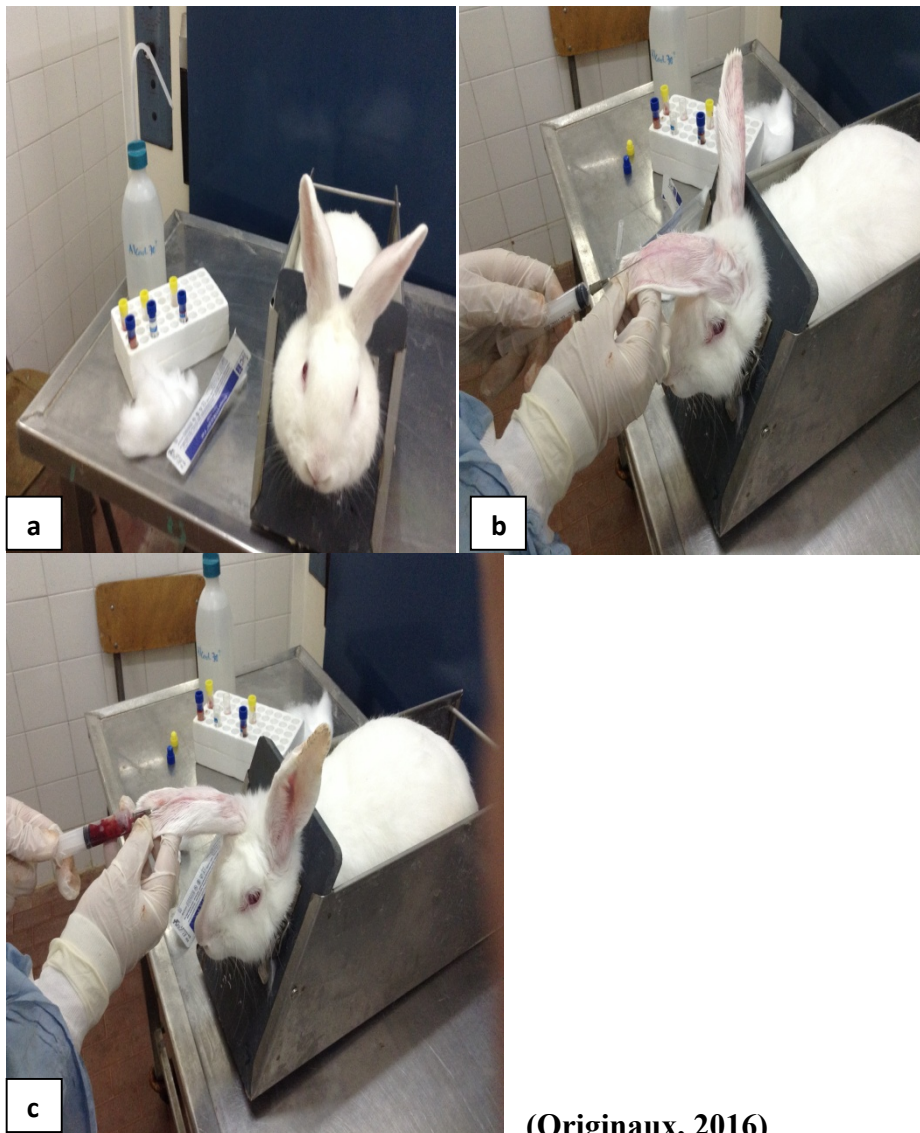
(Original, 2016)

Figure 23. Pesée des animaux

II.4.1.2. Prélèvement des échantillons

☛ Prélèvement sanguin pour les dosages plasmatiques

Pour l'analyse des paramètres biochimiques, des prélèvements sanguins sont effectués mensuellement sur l'animal vigile par des ponctions au niveau de l'artère auriculaire, à l'aide d'une seringue injectable apyrogène de 5ml de volume (**Figure 24**). Le sang est prélevé dans des tubes citraté à 3.2% pour l'évaluation de la VS, des tubes EDTA pour le dosage hématologique, des tubes héparines pour le dosage biochimique et dans des tubes secs pour l'évaluation de la CRP, dosage des NO, EPO...etc. Après centrifugation, les sérums et plasmas sont récupérés et conservés à -80°C afin de doser les différents paramètres.



(Originaux, 2016)

Figure 24. Etapes de prélèvement sanguin chez le lapin

-Afin d'immobiliser les lapins, pour un éventuel prélèvement, ces derniers étaient mises dans des boîtes de contention (**Figure 24.a**).

-Au moment du prélèvement, l'oreille du lapin est désinfectée avec un coton imbibé d'alcool chirurgical en tapotant doucement sur l'artère auriculaire. Cette dernière se gonflera légèrement et deviendra bien visible.

-Insérez doucement une aiguille d'une seringue stérile de 5ml au niveau de l'artère (**Figure 24.b**) et aspirez le sang (**Figure 24.c**).

-Retirez la seringue contenant le sang prélevé et remplissez les tubes de prélèvement.

-Mettez un coton stérile sec en appuyant sur la ponction puis mettez un clapet stérile pour ne pas laisser le sang coulé.

Des prélèvements du liquide synovial au niveau des articulations à été effectué sur des tubes héparinés pour la recherche des paramètres inflammatoires (FNS, CRP et VS) et hémocultures (**Rouiller *et al.*, 2010**).

Transport des échantillons au laboratoire

Les échantillons de sang prélevés sont mis dans une glacière afin de les transportés vers le laboratoire d'analyse médical (laboratoire centrale d'analyse médical CHU Berouagia-Médea).

N.B : la VS et la CRP étaient évalué durant toute la période de l'expérimentation au niveau du département Pharmacotoxicologie- Site de production- Antibiotical- SAIDAL-Médea.

Les articulations prélevés sont mis dans des flacons en verre contenant du formol 10% et transportés au niveau du service anapathologie (laboratoire centrale d'analyse médical hôpital Mohamed Boudiaf- Médéa).

Prélèvement des articulations

Après la durée de l'expérimentation, les animaux sont sacrifiés par une injection du T61 par Voie intraveineuse ou intracardiaque : 0,3 ml de solution par kg de poids corporel. (**Figure 25 en Annexe III**). Pour l'étude histopathologique des articulations, les genoux des lapins sont prélevés puis fixés dans le formol 10%, (**Figures 26, 27 en Annexe III**) pour la réalisation des coupes histologiques.

II.4.2. Techniques analytiques

II.4.2.1. Mesure des marqueurs biologiques de l'inflammation

➤ Vitesse de sédimentation VS

La méthode de référence est la méthode de Westergren.

- Le prélèvement est effectué de préférence le matin à jeun.
- Le sang est recueilli dans un tube avec anticoagulant soit 0,4 ml de solution de citrate + 1,6 ml de sang (en quantité suffisante).

Il est important d'agiter doucement le tube, immédiatement après le prélèvement afin de bien mélanger le citrate et le sang.

- Le sang citraté est ensuite aspiré dans un tube de Westergren, jusqu'à la graduation 0 (si possible à l'aide d'une poire ou d'un tube en caoutchouc pour éviter d'avalier du sang).
- Le tube est ensuite fixé au support, bien verticalement (**Figure 28**).

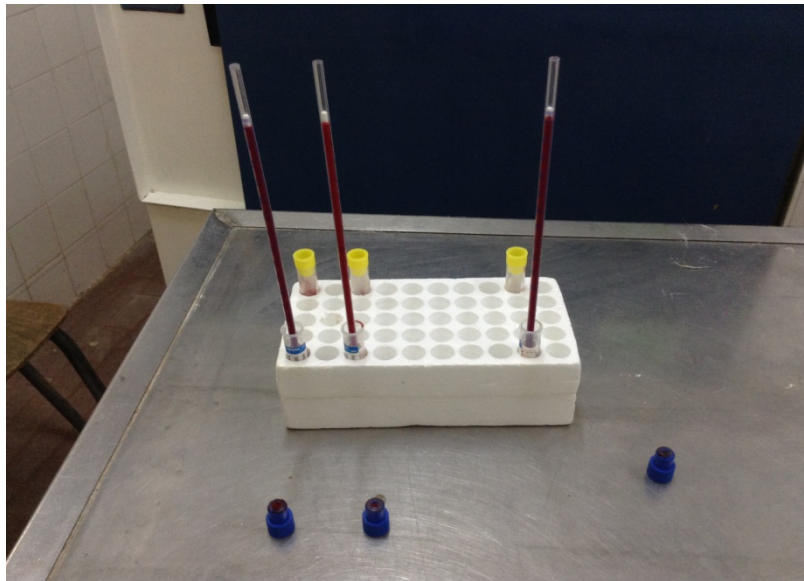
La base du support doit être horizontale et disposée dans un lieu à l'abri de la chaleur.

- Le tube est laissé ainsi pendant une heure.

Pendant le temps de sédimentation, il est important d'éviter les chocs et les vibrations (centrifugeuse de paille...).

- Après une heure, noter en millimètres, la hauteur du plasma surnageant, à partir de la graduation zéro.

La mesure de la VS peut s'effectuer après une heure et deux heures de sédimentation.



(Original, 2016)

Figure 28. Mesure de la vitesse de sédimentation (VS)

N.B : En pratique, la mesure de la première heure est suffisante. La mesure de la deuxième heure peut cependant permettre de rétablir une erreur de lecture de la première heure.

➤ **Protéine Réactive C- CRP**

Principe du test

Les particules de CRP-Latex sont recouvertes d'anticorps anti-CRP humaine. Le réactif CRP-latex est standardisé pour détecter des taux de CRP dans le sérum aux environs de 6 mg/L, taux considéré comme étant la plus petite concentration ayant une signification clinique.

Le mélange du réactif latex avec le sérum contenant la CRP conduit à une réaction antigène-anticorps qui se traduit par une agglutination facilement visible dans les 2 minutes.

La présence ou l'absence d'agglutination visible indique la présence ou l'absence de CRP dans le spécimen.

Le sérum fraîchement prélevé (par centrifugation de sang coagulé).

Le sérum peut être stocké à 2-8°C pendant au maximum 72 heures.

Pour une conservation prolongée, congeler le spécimen à -20°C au maximum 6 mois (une fois seulement).

Ne pas utiliser de sérum hémolysé, lipémique ou contaminé.

Mode opératoire (technique manuelle) Méthode qualitative

1. Ramener chacun des composants à température ambiante.
2. Déposer une goutte de contrôle négatif sur un cercle de la lame.
3. Déposer une goutte de contrôle positif sur un cercle de la lame.
4. A l'aide d'une pipette à usage unique fournie, déposer une goutte de spécimen(s) sur un autre cercle de la lame de test.
5. Remettre en suspension par retournements le Réactif Latex.
6. Ajouter une goutte de Réactif Latex à côté de chacune des gouttes de contrôles et spécimen(s).
7. Mélanger à l'aide d'une pipette à usage unique et répartir le mélange sur la totalité de la surface du cercle de test (**Figure 29**).
8. Balancer doucement la lame pendant 2 minutes et observer l'agglutination dans les cercles de test. Ne pas prolonger l'incubation au delà de 2 minutes pour éviter les phénomènes d'évaporation pouvant conduire à une erreur d'interprétation (faux positifs).
9. A la fin du test, rincer la lame à l'eau déminéralisée et sécher à l'air (**Yamamoto et al., 1993**).

Méthode semi- quantitative

Le test semi-quantitatif peut être effectué selon le même mode opératoire que le test qualitatif en réalisant des dilutions du spécimen dans NaCl 9 g/L comme suit : (**Vaishnavi et al., 2014**)

-Préparer les dilutions dans des tubes à essais:

-Les échantillons avec la présence de fibrine devraient être centrifugés avant le test.



(Original, 2016)

Figure 29. Réactifs de recherche de la CRP : Réactif CRP- Control+ - Control-

II.4.2.2. Les examens biologiques

- Après étiquetage et prélèvement, les échantillons de sang et ceux du liquide synovial, du jour même, prélevés sur EDTA et destinés à l'examen de FNS ou Hémogramme, sont collectés.

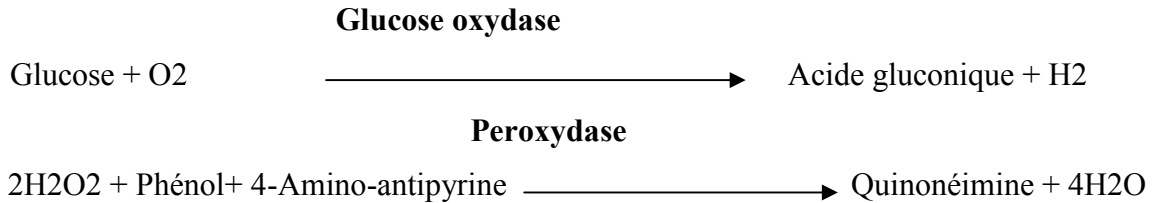
- Puis on passe tous les échantillons à l'automate hématologique.

➤ **les paramètres biochimiques recherchés dans le liquide synovial sont :**

Le taux de glucose (GLY), le taux total des protéines, le nombre des lymphocytes et le nombre des neutrophiles. Ces analyses étaient effectuées au niveau du CHU Frantz Fanon-Blida.

• **Dosage du glucose dans le liquide articulaire**

Le dosage du glucose sanguin est réalisé par une méthode colorimétrique enzymatique à la glucose oxydase selon les réactions suivantes :



Dans des tubes à hémolyse jetable, on applique le protocole de dosage indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 10. Protocole de dosage des solutions réactionnelles (dosage du glucose)

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif	2 ml	2 ml	2 ml
Étalon	-	20 µl	-
Echantillon	-	-	20 µl

- Agitation et incubation des tubes pendant 5 minutes à 37°C au bain-marie.
- La lecture est effectuée au spectrophotomètre, à une longueur d'onde $\lambda = 500 \text{ nm}$:
 - Réglage du zéro de l'appareil avec de l'eau distillée
 - Lire l'absorbance (A) de l'étalon puis de l'échantillon

• **Méthode de calcul**

La concentration C de glucose dans le sérum est obtenue à partir de la relation suivante :

$$\boxed{C \text{ glucose} = (A \text{ Echantillon} / A \text{ Etalon}) \times n}$$

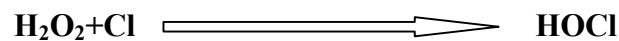
A = absorbance
 n = concentration de l'étalon
 n = 100mg/dl
n = 1 g/l
 n = 5,56 mmol

- **Les paramètres hématologiques: FNS (formule de numération sanguine) recherchés sont :**

La numération globulaire (érythrocytes (GR) et leucocytes (GB) plaquettes (PLA), l'hématocrite (HTE), le taux d'hémoglobine (HGB), l'équilibre leucocytaire (lymphocytes (LYM), monocytes (MON) et granulocytes (GRA)). Ces analyses étaient effectuées sur AUTOMATE (Médonic CA 260) (**Figure 37 en Annexe III**) au niveau de l'hôpital de Berrouaghia- Médea.

II.4.2.3. Détermination de l'activité de la Myéloperoxydase (MPO)

La Myéloperoxydase est une enzyme hémique présente en concentrations importantes (environ 5% du poids) dans les granules primaires des cellules polymorphonucléaires neutrophiles. Outre son activité de peroxydase, elle présente une activité de chélation, utilisant le peroxyde d'hydrogène et les ions chlorures pour former l'acide hypochloreux, un oxydant fort, capable de colorer des molécules. Dans le phagosome, la MPO exerce une forte activité antimicrobienne. Les concentrations anormalement élevées en MPO dans le plasma, dans les liquides biologiques et dans tissus, indiquent une activation importante ou excessive des neutrophiles. (Serteyn *et al.*, 2003).



L'activité enzymatique de la MPO dans le sérum a été mesurée selon la méthode suivante : 20 µL du sérum sont ajoutés à 500 µL du substrat chromogène (O-Dianisidine à 0.167 mM préparé dans du Tris-HCl à 50 mM, pH 6,6 et 100 µL de H₂O₂).

La lecture est effectuée entre 1 et 4 minutes à une longueur d'onde de 460 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II.4.2.4. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile (EPO)

Les éosinophiles ne représentent la plupart du temps qu'une faible proportion de la population leucocytaire sanguine et leur afflux a longtemps été synonyme de réaction allergique ou parasitaire. Lors de ces dernières, une augmentation de la population des

éosinophiles reflète souvent une infestation installée, mais il est possible qu'ils interviennent aussi dans l'initiation ou le contrôle des maladies parasitaires. Par ailleurs, l'intérêt porté à la compréhension du mécanisme des allergies, en particulier de l'asthme, a fait de ces granulocytes un nouveau sujet d'étude pour les scientifiques.

Ils participent en fait à de nombreuses réactions inflammatoires au sein desquelles leurs rôles sont variés. Par ailleurs les éosinophiles possèdent de nombreux récepteurs membranaires, témoignant notamment de leur interactivité avec les autres leucocytes. Leur rôle de CPA et leur participation à l'ADCC sont des illustrations de leurs rôles multiples (Raffi H. 2008).

Les échantillons repartis dans une microplaque à raison de 50 μL /puits de sérum dilué, suivi du dépôt de 500 μl /puits du substrat chromogène composé d'Ortho-Phenylenediamine-Dihydrochloride OPD préparés dans un tampon Tris-HCL (0.05 mM , pH 6.6) et 20 μl H_2O_2 . La lecture est réalisée avant et après une heure d'incubation à 37°C, à une longueur d'onde de 490 nm (La différence entre les deux DO représente l'activité de l'EPO).

II.4.2.5. Dosage du monoxyde d'azote (NO)

L'oxyde nitrique (NO) est une molécule instable. Elle se transforme dans l'organisme en nitrites NO_2 et nitrates NO_3 en présence d'oxygène. Il joue un rôle clé dans les mécanismes physiologiques. Dans un état pathologique, tel qu'une inflammation, la production du NO est augmentée (Navarro-Gonzalvez et al., 1998) . La concentration du NO a été évaluée par le dosage des nitrites dans les sérums et les homogénats par la méthode de Griess modifiée comme suit :

Les échantillons biologiques avec un volume de 75 μL ont été soumis à une déprotéinisation dans une solution d'acétonitrile à un volume égale de 75 μL , puis ils ont été vortexés et ensuite centrifugés à 9500 rpm pendant 10 minutes. Un volume de 25 μL du réactif Griess A a été ajouté à 50 μL de chaque surnageant récupéré et après 10 minutes 25 μL du réactif Griess B a été rajouté. Après incubation à 25°C pendant 30 minutes, les taux de nitrites ont été mesurés à 540 nm et les concentrations ont été déterminées après extrapolation des DO sur une courbe étalon préalablement établie à partir d'une solution mère de NaNO_2 . Le résultat est exprimé en $\mu\text{M}/\text{mL}$.

II.4.3. La ponction articulaire

La ponction articulaire est indispensable pour affirmer le diagnostic. Le traitement sera débuté rapidement après le prélèvement sans attendre le résultat.

- On utilise 1ml de **lidocaïne 1%**. Il est souvent préférable d'utiliser deux seringues différentes pour les infiltrations, l'une avec l'anesthésiant et l'autre avec le corticoïde.

Le corticoïde utilisé est le **Dépo-Médrol®** à raison de 0.28mg/ lapin (**Black DM., Filak AT. 1989**).

- On positionne l'aiguille avec la seringue contenant l'anesthésique et on vérifie que l'injection se fait sans résistance. Si c'est le cas, on peut alors connecter la seringue avec le corticoïde et procéder à l'infiltration.

- L'anesthésique est moins délétère que le stéroïde en cas d'infiltration dans une structure extra-articulaire (**Charalambous CP. 2003**).

- Positionner l'animal afin qu'il soit confortable et puisse maintenir la position sans difficulté, mais l'accès à l'articulation doit rester facile et confortable.

- Vérifier l'absence de contre-indications.

- Le port d'un masque et de gants est recommandé pour le manipulateur en cas de changement de seringue en cours de procédure et en cas d'infection des voies respiratoires.

- A noter toutefois que la mesure la plus utile, en termes d'asepsie, est de parler le moins possible.

- définir et marquer le point de ponction (on peut le marquer par exemple avec le bout d'un stylo sans la pointe ou avec l'extrémité en plastique d'une aiguille).

- bien désinfecter le point de ponction. Ne pas raser, car cela abîme la couche superficielle de l'épiderme et augmente le risque infectieux (**Pfenninger JL., 1991**).

Ponction

- On a placé l'animal anesthésié sur une table thermostable (**Figure 51 en Annexe III**) pour maintenir la température de ce dernier stable.

- Procéder à la ponction, en respectant les points de repère et l'orientation de l'aiguille et en faisant progresser l'aiguille jusqu'à la cavité articulaire.
- Aspirer doucement le maximum de liquide, un changement de seringue peut s'avérer nécessaire en cas d'épanchement important.
- Viser avec l'aiguille le pôle supérieur de la rotule, en formant un angle d'environ 30° avec l'horizontal (**Figure 38**).
- Attention, incliner suffisamment l'aiguille, sinon elle restera dans le tissu sous-cutané.

L'aiguille pénètre alors directement dans le cul-de-sac sous quadricipital. Chez un patient mince, la cavité articulaire se trouve à environ 1 cm sous la peau (**Gachoud David *et al.*, 2008**).



(Original, 2016)

Figure 38. Ponction articulaire sur un lapin

Infiltration

Après une aspiration, il n'est pas nécessaire de reponctionner pour infiltrer. Maintenir l'aiguille en place dans la cavité articulaire, retirer la seringue de ponction et la remplacer par

celle contenant le produit d'infiltration. Après la ponction ou l'infiltration, retirer l'aiguille et comprimer. Un sparadrap suffit (**Charalambous CP. 2003**).

II.4.4. Recherche des facteurs Rhumatoïdes

Les techniques classiques reposent toutes sur des réactions d'agglutinations passives entre des Facteurs Rhumatoïdes de classe IgM et des IgG fixées sur un support (hématies ou particules de latex).

☞ Réaction de Waaler- Rose

Principe :

Des hématies de moutons sont sensibilisées avec du sérum de lapin anti hématies de mouton IgG.

La réaction est basée sur les propriétés hémagglutinantes spécifiques du FR, utilisées dans les réactions type Waaler- Rose.

Mode opératoire :

Sur une lame de verre :

Déposer sur la lame dans chaque case T et R 50µl de sérum à examiner (**Figure 39**).

Agiter soigneusement les suspensions d'hématies témoin et révélateur.



(Original, 2016)

Figure 39. Réaction de Waaler- Rose

Ajouter dans la case T une goutte de réactif témoin « A » et dans la case R une goutte de réactif révélateur « B ».

Mélanger les deux gouttes en utilisant un agitateur à usage unique.

N.B : lire les résultats pendant les deux premières minutes de la manipulation.

Lecture :

Réaction positive :

Case T : absence d'agglutination

Case R : agglutination visible à l'œil nu

Réaction négative

Case T : absence d'agglutination

Case R : absence d'agglutination

N.B : la sensibilité du test diminue à basse température. Les meilleurs résultats sont obtenus à des températures supérieures à 10°C. • une lecture différée peut résulter en une surestimation du titre de FR.

II.4.5. Imagerie

☞ La radiographie standard

Elle permet d'analyser :

- la présence d'un flou des parties molles périarticulaires ;
- un élargissement de l'interligne articulaire ;
- un refoulement des reliefs graisseux péri-capsulaires.

Plus tardivement apparaît :

- des zones d'ostéolyse épiphysaire ;
- un décollement sous-périosté ; des géodes épiphysaires.

(Hauger O *et al.*, 1999).

➤ Précautions à prendre lors de la contention et manipulation du lapin dans le cadre de la radiographie

• La contention : Le mauvais placement de l'animal durant la réalisation d'un cliché est la cause la plus fréquente d'une interprétation erronée ou impossible de la radiographie, surtout pour les praticiens qui ne réalisent pas souvent cet examen sur les lapins. De ce fait, il est important de bien maîtriser les techniques de contention et de manipulation du lapin.

• Pour réaliser des clichés radiographiques sur un lapin dans les meilleures conditions, il est nécessaire d'opérer dans un environnement le plus calme possible car c'est un animal nerveux et sensible avec un faible seuil de tolérance à la douleur.

• Anesthésie de l'animal : Le protocole employé consiste en l'administration d'un agent de prémédication : la xylazine (Rompun ND) à la posologie de 5 mg/kg et de kétamine (Imalgène ND) à 35 mg/kg. Ces produits sont mélangés et administrés en une seule injection intramusculaire dans les muscles lombaires.

• La nourriture est retirée aux lapins 3 à 4 heures avant anesthésie.

• Réalisation des clichés

Pour notre travail, tous les clichés originaux qui vont être présentés, ont été réalisés par le centre d'imagerie du Docteur Fekkar- Al farabi- Médea.

➤ **Positionnement radiographique**

✓ **Projection crânio-caudale**

Le lapin est placé en décubitus dorsal. Les postérieurs sont étendus et placés de façon à ce que la rotule soit au centre de la trochlée fémorale. On maintient le thorax et l'abdomen pour éviter les rotations du corps et garder le lapin dans une position crânio-caudale correcte.

Le grasset regroupe trois articulations, l'articulation fémoro-patellaire et deux articulations fémoro-tibiales.

Le tibia est fortement aplati, à hauteur de sa partie distale, dans le sens crânio-caudal. L'éminence intercondylienne est très basse. Le tibia et la fibula sont fusionnés sur toute la moitié distale de la jambe.

La tête articulaire est relativement petite et de forme sphéroïdale. Elle est portée par un col fémoral très net mais bref. Le grand trochanter est massif et beaucoup plus élevé que la tête (**Winn, 2006**).

Le petit trochanter est également fort et en forme de crête. La tubérosité glutéale est développée en un troisième trochanter large et élevé.

Il existe des os sésamoïdes particuliers: les os sésamoïdes supracondyliques, ou os sésamoïdes du muscle gastrocnémien, qui n'existent que chez le lapin et les Carnivores.

La musculature de la cuisse, très développée, est bien visible sur la radiographie de face.

II.4.6. Prélèvement bactériologique de la porte d'entrée

La mise en culture classique consiste à ensemercer en anaérobiose différents milieux de culture dont une gélose au chocolat, avec ou sans sang ajouté, incubée sous CO₂ pendant 5 jours (**Ferroni et al., 2007**) (**Figure 38**).

Un prélèvement à visée bactériologique a été effectué lors de ces interventions avec un nombre moyen de prélèvement de 3.

Tous les prélèvements ont été acheminés rapidement au laboratoire de Microbiologie (Antibiotical- SAIDAL- Médea) pour être ensemençé sur 3 types de milieux incubé sous CO₂ : un milieu colombia sang mouton (COS), un milieu PVX dit chocolat, un bouillon au

thioglycollate. La totalité des prélèvements a été gardé en culture pendant un minimum de 15 jours.



(Original, 2016)

Figure 40. Ensemencement en anaérobiose des différents milieux de culture

II.4.7. Technique histologique

II.4.7.1. Préparation des coupes histologiques

☞ Fixation

Les articulations prélevées sont rapidement fixés au formol à 10%. Cette étape est importante car le formol permet le maintien de la morphologie tissulaire proche de celle à l'état vivant.

☞ La réception

Dés l'arrivée au laboratoire, chaque prélèvement doit être identifié puis enregistré sous un numéro de référence qui l'accompagne dans les différentes étapes de la technique.

☞ La décalcification

Les articulations sont retirés du formol 10% et mises dans de l'acide formique 5% pour la décalcification des os.

La circulation

Le but de cette technique est de durcir beaucoup plus le tissu, pour pouvoir confectionner des coupes histologiques minces d'environ 2 μ m. Elle consiste à faire séjourner les pièces dans une série de liquides intermédiaires ;

- **Déshydratation** qui consiste à éliminer l'eau qui existe dans le tissu par passage des cassettes d'échantillons dans des bains d'alcool éthylique à des degrés croissants pendant 2h pour chaque bain.
- **Clarification ou éclaircissement** qui consiste à éliminer l'alcool utilisé dans la déshydratation par un solvant organique, le xylène (2 bains/ 2h chacun) préparant ainsi le tissu à l'imprégnation. Le xylène rend le tissu translucide et facilite la pénétration de la paraffine à l'intérieur du fragment déshydraté.
- **Imprégnation** consiste à remplacer l'eau des tissus et ceci pour pouvoir confectionner des coupes très minces; c'est la dernière étape qui aboutit à la substitution du xylène par la paraffine liquide qui remplace l'eau éliminée des tissus (2 bains/ 2h chacun).

L'inclusion et enrobage

Consiste à inclure les fragments dans des blocs de paraffine grâce à un appareil d'inclusion, selon les étapes suivantes :

- Préchauffage des moules et des cassettes dans une console thermique.
- Mise en place centrée du tissu dans le moule à moitié rempli de paraffine, à l'aide d'une pince.
- Refroidissement du bloc sur une plaque réfrigérante.

Démontage et récupération des blocs.

✓ **Confection des coupes**

Les blocs sont débités au microtome en coupes fines d'environ 5 μ m d'épaisseur.

✓ **Etallement des coupes**

Les rubans sont ramollis dans un bain marie à 37°C, puis recueillis sur des lames en verre préalablement numérotées à l'aide d'un crayon. Après séchage sur une plaque

chauffante, les lames sont mises dans une étuve à 37°C, pendant 24 heures afin d'augmenter l'adhérence des coupes.

II.4.7.2. Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (HE)

☞ Principe

La méthode HE est une coloration de routine, utilisée pour tout fragment étudié dans le but d'obtenir une topographie générale de l'échantillon. C'est une combinaison entre deux colorants, l'un basique hématoxyline qui colore le noyau (basophile) en bleu violacé et l'autre acide éosine qui confère une coloration rose au cytoplasme (acidophile).

☞ Mode opératoire

- Déparaffinage par passage de l'échantillon dans 3 bains de xylène d'environ 3 à 5 min chacun.
- Hydratation par passage dans 3 bains d'alcool de concentration décroissante (100°, 95°, 75°), pendant 2 min pour chaque bain. Dans le but de retirer le xylène et de le remplacer par de l'eau.
- Rinçage à l'eau courante.
- Coloration à l'hématoxyline.
- Rinçage à l'eau courante.
- Passage des coupes dans une solution de carbonates de lithium (Li₂CO₃).
- Rinçage à l'eau courante.
- Coloration à l'éosine puis rinçage.
- Déshydratation par passage dans l'éthanol à 95° puis 100° pendant 30 à 60 secondes.
- Eclaircissement par passage dans 2 bains de xylène de 30 à 60 secondes chacun.
- Montage sur lame à l'aide de milieu synthétique Eukitt.

☞ Examen microscopique

Les coupes sont observées et prises en photos. Les photos sont par la suite analysées et discutées afin d'en tirer les conclusions de notre étude.

Calcul du grossissement final :

Le grossissement est calculé en prenant compte du grossissement de l'objectif et de l'indice du microscope selon la formule :

$$Gf = Go \times Im \times Fa$$

Gf = grossissement final ; Go = grossissement de l'objectif ; Im = indice du microscope ; Fa = facteur d'agrandissement de la photo par rapport à la taille du cadrant de la visualisation de l'appareil numérique.

II.4.8. Etude statistique

Le test utilisé dans le cadre de notre travail est le test de Student. Pour chaque série d'analyse, la moyenne et l'écart type sont calculés. Les paramètres statistiques sont donnés par les relations suivantes :

- x_i : désigne la fréquence

- N : effectif

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

La variance S^2 : est la moyenne de la somme des carrés des écarts types entre les valeurs de l'échantillon et la moyenne arithmétique.

$$S^2 = \frac{(N_1 \cdot S_1^2) + (N_2 \cdot S_2^2)}{(N_1 + N_2) - 2}$$

La variance totale :

$$S^2 = \frac{\sum (x - \bar{X})^2}{n - 1}$$

- S^2 : (Ecart-type)²

- N_1 : effectif du lot a

- N_2 : effectif du lot b

Ecart type S:

$$S = \sqrt{S^2}$$

Erreur standard à la moyenne :

$$ES(M) = \frac{s}{\sqrt{n-1}}$$

N-1 : désigne le degré de liberté (ddl)

La valeur t de Student est donnée par la formule suivante:

$$t = \frac{m_A - m_B}{\sqrt{\frac{S^2}{n_A} + \frac{S^2}{n_B}}}$$

Pour savoir si la différence est significative, il faut tout d'abord lire dans la table t, la valeur critique correspondant au risque alpha = 5% pour un degré de liberté :

$$d.d.l = n_A + n_B - 2$$

Si la valeur absolue de t (|t|) est supérieure à la valeur critique, alors la différence est significative. Dans le cas contraire, elle, ne l'est pas.

Le **degré de significativité** ou **p-value** correspond au risque indiqué par la **table de Student** pour la valeur |t|

Pour un ddl de (N_A+N_B)-2 et à 5% d'erreur, la valeur du T de Student nous donne le degré de signification P lu sur la table de Student, la différence entre deux moyenne est :

- Peu significative si P<0,05 (*)
- Significative si P<0,01 (**)
- Très significative si P<0,001 (***)
- Hautement significative si P<0,0001 (****)

Cette analyse statistique a été appliquée aux poids corporels et aux paramètres biologiques et hématologiques.

Tableau 33. Résultats de la détermination de la CRP des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21, 30^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Détermination de la CRP en mg/L		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os
	Lot 1	Lot 2		
J0	0	0	1	N.S
J7	0	0	1	N.S
J15	0	6 ± 0.01	1	N.S
J21	0	18 ± 0.16	5,3102E-05	****
J30	0	56.33 ± 0.16	3,2631E-09	****

Tableau 34. Résultats de la détermination de la VS des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21, 30^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Détermination de la VS en mm		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os
	Lot 1	Lot 2		
J0	1.33 ± 0.04	1.83 ± 0.04	0.60	N.S
J7	1.33 ± 0.03	3.83 ± 0.03	0.006	***
J15	1.83 ± 0.04	22.16 ± 0.11	1,3485E-06	****
J21	1.83 ± 0.04	39.66 ± 0.07	1,2469E-10	****
J30	1.66 ± 0.04	54.66 ± 0.10	4,6389E-11	****

Tableau 35. Résultats de la détermination de la CRP des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de la CRP en mg/L		Test de Student	
	Moyenne ± ESM			
Jours	Lot 3	Lot 4	P- value	Os b
J0	0	0	1	N.S
J7	0	0	1	N.S
J15	6 ± 0.01	6 ± 0.01	1	N.S
J21	16 ± 0.17	18 ± 0.16	0.59	N.S
J30	58 ± 0.17	58 ± 0.15	1	N.S
J37	58 ± 0.17	58 ± 0.25	1	N.S
J45	58 ± 0.17	28 ± 0.07	0,0001	****
J52	58 ± 0.17	14 ± 0.07	5,90973E-08	****
J60	58 ± 0.17	6 ± 0.01	4,88057E-09	****

Tableau 36. Résultats de la détermination de la VS des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de la VS en mm		Test de Student	
	Moyenne ± ESM			
Jours	Lot 3	Lot 4	P- value	Os b
J0	0.83 ± 0.02	0.83± 0.02	1	N.S
J7	0,83 ± 0.02	0.83 ± 0.02	1	N.S
J15	23,5 ± 0.11	23.5 ± 0.10	1	N.S
J21	42,33 ± 0.08	44.66 ± 0.04	0.16	N.S

J30	57,16 ± 0.11	56 ± 0.09	0.63	N.S
J37	58 ± 0.17	58.83 ± 0.13	0.81	N.S
J45	58,33 ± 0,11	17.33 ± 0.04	1,8769E-09	****
J52	59,83 ± 0,11	14.16 ± 0.05	1,61984E-09	****
J60	59,83 ± 0,12	5.33 ± 0,02	1,53165E-10	****

Tableau 37. Résultats de la détermination de la VS des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59, 67, 74, 81 et 89^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Détermination de la CRP en mg/L		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os b
	Lot 5	Lot 6		
J0	0	0	0	N.S
J7	0	0	0	N.S
J15	6	6	0	N.S
J21	18 ± 0.16	16 ± 0.15	0.59	N.S
J30	59.66 ± 0.19	58 ± 0.17	0.69	N.S
J37	59.66 ± 0.19	58 ± 0.17	0.69	N.S
J45	31 ± 0.19	30 ± 0.13	0.76	N.S
J52	14 ± 0.19	15 ± 0.08	0.59	N.S
J59	6	6	1	N.S
J67	6	0	0.0001	*** *
J74	6	0	0.0001	*** *

J81	6	0	0.0001	*** *
J90	6	0	0.0001	*** *

Tableau 38. Détermination de la VS des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59, 67, 74, 81 et 89^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Détermination de la VS en mm		Test de Student	
	Lot 5	Lot 6	P- value	Os
J0	0.66 ± 0.02	0.66 ± 0.02	1	N.S
J7	0.66 ± 0.02	0.66 ± 0.02	1	N.S
J15	21 ± 0.02	21.83 ± 0.05	0.58	N.S
J21	46 ± 0.02	45.16 ± 0.03	0.23	N.S
J30	64 ± 0.11	62.66 ± 0.09	0.57	N.S
J37	63.83 ± 0.09	63.83 ± 0.09	1	N.S
J45	16.83 ± 0.02	16.83 ± 0.02	1	N.S
J52	13.16 ± 0.02	13.16 ± 0.02	1	N.S
J59	5.83 ± 0.02	5.83 ± 0.02	1	N.S
J69	1 ± 0.02	1 ± 0.02	1	N.S
J74	1 ± 0.02	1 ± 0.02	1	N.S
J81	1 ± 0.02	1 ± 0.02	1	N.S
J90	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.01	1	N.S

Tableau 42. Détermination de l'activité des MPO des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de la MPO (UDO/ μ g)		Test de <i>Student</i>	
	Moyenne \pm ESM		<i>P- value</i>	Os
Jours	Lot 1	Lot 2		
J0	7 \pm 0,03	8 \pm 0,03	0,28	N.S
J7	9 \pm 0,03	25 \pm 0,03	3,99E-05	****
J15	9 \pm 0,03	58 \pm 0,03	4,61E-07	****
J21	7 \pm 0,03	92 \pm 0,03	5,104E-08	****
J30	9 \pm 0,03	47 \pm 0,03	1,27E-06	****

Tableau 43. Détermination de l'activité des MPO des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52 et 60^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de la MPO (UDO/ μ g)		Test de <i>Student</i>	
	Moyenne \pm ESM		<i>P- value</i>	Os
Jours	Lot 3	Lot 4		
J0	8 \pm 0,03	6 \pm 0,03	0,07	N.S
J7	4 \pm 0,03	25 \pm 0,03	1,3575E-05	****
J15	59 \pm 0,03	58 \pm 0,03	0,28	N.S
J21	98 \pm 0,03	97 \pm 0,03	0,28	N.S
J30	48 \pm 0,03	43 \pm 0,03	0,003	N.S
J37	51 \pm 0,03	49 \pm 0,03	0,07	N.S
J45	49 \pm 0,03	28 \pm 0,03	1,3575E-05	****

J52	28 ± 0,03	8 ± 0,03	1,6483E-05	****
J60	26 ± 0,03	8 ± 0,03	2,5058E-05	****

Tableau 44. Détermination de l'activité des MPO des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52, 59, 67, 74, 81 et 90^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Détermination de la MPO (UDO/µg)		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os b
	Lot 5	Lot 6		
J0	8 ± 0.03	8 ± 0.03	1	N.S
J7	24 ± 0.03	25 ± 0.03	0.27	N.S
J15	98 ± 0.03	60.33 ± 0.03	0.28	N.S
J21	48 ± 0.03	98 ± 0.03	1	N.S
J30	51 ± 0.03	49 ± 0.03	0,28	N.S
J37	49 ± 0.03	52 ± 0.03	0,28	N.S
J45	31 ± 0.19	50.33 ± 0.03	0.27	N.S
J52	14 ± 0.19	8 ± 0.03	1,6483E-05	****
J59	26 ± 0.03	8 ± 0.03	2,5058E-05	****
J67	24 ± 0.03	8 ± 0.03	2,5058E-05	****
J74	21 ± 0.03	4 ± 0.03	3,1443E-05	****
J81	19 ± 0.03	2 ± 0.03	3,1443E-05	****
J90	19 ± 0.03	2 ± 0.03	3,1443E-05	****

Tableau 45. Détermination de l'activité des EPO des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52 et 60^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de l'EPO (UDO/ μ g)		Test de Student	
	Moyenne \pm ESM		P- value	Osb
Jours	Lot 1	Lot 2		
J0	8 \pm 0,03	8 \pm 0,03	1	N.S
J7	8 \pm 0,03	11 \pm 0,03	0.0001	***
J15	8 \pm 0,03	12 \pm 0,03	0.0003	***
J21	8 \pm 0,03	13 \pm 0,03	0.00002	****
J30	8 \pm 0,03	14 \pm 0,03	0.00001	****

Tableau 46. Détermination de l'activité des EPO des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21 et 30^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de l'EPO (UDO/ μ g)		Test de Student	
	Moyenne \pm ESM		P- value	Osb
Jours	Lot 3	Lot 4		
J0	8 \pm 0,03	8 \pm 0,03	1	N.S
J7	11 \pm 0,03	11 \pm 0,03	1	N.S
J15	12 \pm 0,03	12 \pm 0,03	1	N.S
J21	13 \pm 0,03	13 \pm 0,03	1	N.S
J30	14 \pm 0,03	14 \pm 0,03	1	N.S
J37	14 \pm 0,03	14 \pm 0,03	1	N.S
J45	14 \pm 0,03	13 \pm 0,03	0.0001	***

J52	13 ± 0,03	13 ± 0,03	0.03	*
J60	13 ± 0,03	12 ± 0,03	0.03	*

Tableau 47. Détermination de l'activité des EPO des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52, 59, 67, 74, 81 et 90^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Détermination de l'EPO (UDO/μg)		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os
	Lot 5	Lot 6		
J0	8 ± 0.03	8 ± 0.02	1	N.S
J7	11 ± 0.02	11 ± 0.02	1	N.S
J15	12 ± 0.02	12 ± 0.05	1	N.S
J21	13 ± 0.02	13 ± 0.03	1	N.S
J30	14 ± 0.11	14 ± 0.09	1	N.S
J37	14 ± 0.09	14 ± 0.09	1	N.S
J45	13 ± 0.02	13 ± 0.02	1	N.S
J52	12 ± 0.02	12 ± 0.02	1	N.S
J60	12 ± 0.02	12 ± 0.02	1	N.S
J67	12 ± 0.02	11 ± 0.02	0.02	*
J74	12 ± 0.02	11 ± 0.02	0.03	*
J81	12 ± 0.02	8 ± 0.02	0.000001	****
J90	11 ± 0.01	7 ± 0.01	0.000003	****

Tableau 48. Détermination de l'activité du NO des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de la NO en μM		Test de Student	
	Moyenne \pm ESM			
Jours	Lot 1	Lot 2	P- value	Os b
J0	8 \pm 0,03	8 \pm 0,03	1	N.S
J7	8 \pm 0,03	11 \pm 0,03	0.0005	***
J15	8 \pm 0,03	12 \pm 0,03	0.0003	***
J21	8 \pm 0,03	13 \pm 0,03	0.00002	****
J30	8 \pm 0,03	14 \pm 0,03	0.000003	****

Tableau 49. Détermination de l'activité du NO des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 60^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de NO en μM		Test de Student	
	Moyenne \pm ESM			
Jours	Lot 3	Lot 4	P- value	Os b
J0	6.66 \pm 0,05	6.66 \pm 0,03	1	N.S
J7	8.33 \pm 0,02	8.33 \pm 0,03	1	N.S
J15	9 \pm 0,03	9 \pm 0,03	1	N.S
J21	12 \pm 0,03	12 \pm 0,03	1	N.S
J30	18 \pm 0,03	18 \pm 0,03	1	N.S
J37	20 \pm 0,03	16 \pm 0,03	0.00001	****
J45	20 \pm 0,03	15 \pm 0,03	0.00005	****

J52	20 ± 0,03	14 ± 0,03	0.00003	****
J60	20 ± 0,03	10 ± 0,03	3,1443E-05	****

Tableau 50. Détermination de l'activité du NO des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21 et 30, 37, 45, 52, 59, 67, 74, 81 et 90^{ème} jour de l'expérimentation

	Détermination de NO en µM		Test de Student	
	Moyenne ± ESM			
Jours	Lot 5	Lot 6	P- value	Os
J0	6.66 ± 0.05	6.66 ± 0.05	1	N.S
J7	8.33 ± 0.02	8.33 ± 0.02	1	N.S
J15	9 ± 0.02	9 ± 0.02	1	N.S
J21	12 ± 0.02	12 ± 0.02	1	N.S
J30	18 ± 0.02	18 ± 0.02	1	N.S
J37	16 ± 0.02	16 ± 0.02	1	N.S
J45	15 ± 0.02	15 ± 0.02	1	N.S
J52	14 ± 0.02	14 ± 0.02	1	N.S
J60	10 ± 0.02	10 ± 0.02	1	N.S
J67	10 ± 0.02	9 ± 0.02	0.02	*
J74	10 ± 0.02	8 ± 0.02	0.03	*
J81	10 ± 0.02	7 ± 0.02	0.000001	****
J90	10 ± 0.02	5 ± 0.02	0.000003	****

Tableau 39. Détermination des paramètres hématologiques des lots 1 et 2 au 0 et 30^{ème} jour de l'expérimentation

Jours paramètres	Paramètres hématologiques				Test de Student			
	Moyenne ± ESM							
	Lot 1		Lot 2					
	J0	J30	J0	J30	P- value	Os	P- value	Os
GR 10³mm³	5,5 ± 0.018	5,25 ± 0.012	5.33 ± 0.014	4.83 ± 0.018	0.78	N.S	0.36	N.S
Hématocrite %	42 ± 0.01	41.16 ± 0.019	41.25 ± 0.012	37 ± 0.01	0.02	**	3,5382E-05	****
Hémoglobine mg/100ml	12 ± 0.01	12 ± 0.01	12 ± 0.01	10 ± 0.01	0.30	N.S	0.02	***
Plaquettes/mm³	446.66 ± 0.20	441.66 ± 0.52	411.66 ± 0.34	475 ± 1.07	0.0002	****	3,6426E-05	****
Leucocytes10³mm³	10 ± 0.01	10 ± 0.01	10 ± 0.01	16.25 ± 0.048	0.30	N.S	0.002	****
Lymphocytes10³mm³	41.66 ± 0.06	41.66 ± 0.06	45.83 ± 0.18	65 ± 0.01	0.21	N.S	7,9415E-10	****
Monocytes10³mm³	3.4 ± 0.01	3.6 ± 0.01	3.33 ± 0.01	15.33 ± 0.06	0.20	N.S	0.03	**
Granulocytes10³mm³	35 ± 0.01	34.16 ± 0.05	35.66 ± 0.03	37.5 ± 0.07	0.20	N.S	0.03	**

Tableau 40. Détermination des paramètres hématologiques des lots 3 et 4 au 0, 30 et 60^{ème} jour de l'expérimentation

jours paramètres	Paramètres hématologiques						Test de Student					
	Moyenne ± ESM											
	Lot 3			Lot 4								
	J0	J30	J60	J0	J30	J60	P- value J0	Os	P- value J30	Os	P- value J60	Os
GR 10 ³ mm ³	5.75 ± 0.01	5.33 ± 0.01	3.33 ± 0.01	5.25 ± 0.01	5 ± 0.01	4 ± 0.01	0.20	N.S	0.49	N.S	0.21	N.S
Hématocrite %	41.6± 0.01	37± 0.01	33.33±0.01	41.6± 0.01	37± 0.01	36.33±0.01	1	N.S	1	N.S	0.05	N.S
Hémoglobine mg/100ml	12 ± 0.01	10 ± 0.01	7.66 ± 0.01	12 ± 0.01	10 ± 0.01	9 ± 0.01	1	N.S	1	N.S	0.003	****
Plaquettes /mm ³	416.66±0.66	366.66±1.07	616,66±0.66	416,66±0.66	583,33±0.66	408.33±0.96	1	N.S	6,6652E-07		5,6661E-07	****
Leucocytes10 ³ mm ³	10± 0.02	18.33± 0.02	20± 0.02	10±0.02	18.33± 0.02	13± 0.02	1	N.S	1		0.001	****
Lymphocytes 10 ³ mm ³	43.33 ±0.06	69.16±0.09	71.66±0.06	44.16±0.05	64.16±0.09	35± 0.11	0.5	N.S	0.04		8,37E-09	****
Monocytes10 ³ mm ³	3± 0.01	12 ±0.01	15± 0.02	3 ± 0.01	12± 0.01	7± 0.02	1	N.S	1	N.S	1,77E-07	****
Granulocytes10 ³ m mm ³	32.5± 0.07	62.5± 0.07	64.16±0.05	32.5±0.07	61.66±0.07	46.66±0.05	1	N.S	0.59	N.S	2,81E-06	****

Tableau 41. Détermination des paramètres hématologiques des lots 5 et 6 au 0, 30, 60 et 90^{ème} jour de l'expérimentation

	Paramètres hématologiques Moyenne ± ESM								Test de Student							
	Lot 5				Lot 6				J0		J30		J60		J90	
	J0	J30	J60	J90	J0	J30	J60	J90	P- value	Os	P- value	Os	P- value	Os	P- value	Os
GR 10³ mm³	6±0.01	5±0.01	4±0.01	3.5±0.01	5±0.01	5±0.01	3±0.01	4.33±0.01	0.28	N.S	0.02	***	0.02	***	0.29	N.S
Hématocrite %	42±0.01	42±0.01	36±0.05	30.8±0.02	41±0.01	41.33±0.01	36±0.04	40.25±0.03	0.19	N.S	0.14	N.S	1	N.S	1,16E-05	****
Hémoglobine mg/100ml	12±0.01	11.5±0.02	10±0.01	8±0.01	12±0.01	12±0.01	10±0.01	12±0.01	0.29	N.S	0.43	N.S	0.51	N.S	0.01	***
Plaquettes /mm³	433.33±0.66	398.33±0.65	415±0.50	400±0.01	425±0.7	591.66±1.49	411.66±0.52	458.33±0.01	0.59	N.S	2,262E-05	****	0.77	N.S	0.003	****
Leucocytes 10³ mm³	9±0.01	20±0.01	12.4±0.01	10.4±0.02	10±0.01	20±0.01	12.2±0.01	8.16±0.01	0.29	N.S	0.29	N.S	0.59	N.S	0.001	****
Lymphocytes 10³ mm³	40.83±0.05	73.33±0.13	50.83±0.18	35.83±0.09	41.66±0.06	71.66±0.10	45±0.11	20±0.04	0.54	N.S	0.54	N.S	0.12	N.S	2,7525E-06	****
Monocytes 10³ mm³	3±0.02	12±0.02	7.2±0.02	8.4±0.04	3±0.01	12.33±0.02	7.2±0.01	3±0.01	1	N.S	0.49	N.S	1	N.S	0.0003	****
Granulocytes	32,5±0.07	61,66±0.10	40±0.11	44±0.12	30,83±0.05	61,66±0.06	40±0.11	12,5±0.07	0.25	N.S	1	N.S	1	N.S	2,31E-06	****

Annexe V. Tableau 30. Résultats de la variation pondérale des lots 1 et 2 au 0, 7, 15, 21 et 30^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Variation pondérale /kg		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os b
	Lot 1	Lot 2		
J0	2550 ± 7,375	2600 ± 4,579	0,725	N.S
J7	2621,66 ± 7,071	2698,33 ± 4,967	0,590	N.S
J15	2696,66 ± 5,839	2781,66 ± 5,128	0,508	N.S
J21	2783,33 ± 5,215	2838,33 ± 5,923	0,671	N.S
J30	2906,66 ± 3,823	2905 ± 6,987	0,989	N.S

Tableau 31. Résultats de la variation pondérale des lots 3 et 4 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52 et 59^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Variation pondérale /Kg		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os b
	Lot 3	Lot 4		
J0	2520,83 ± 3,718	2516,66 ± 4,409	0,964	N.S
J7	2565 ± 3,336	2618,33 ± 3,996	0,535	N.S
J15	2623,33 ± 3,456	2705 ± 4,066	0,359	N.S
J21	2726,66 ± 3,448	2738,33 ± 3,522	0,884	N.S
J30	2596,66 ± 4,609	2623,33 ± 3,575	0,780	N.S
J37	2440 ± 3,779	2461,66 ± 4,551	0,823	N.S

J45	2221,66 ± 2,982	2410 ± 4,015	0,039	N.S
J52	1958,33 ± 3,567	2463,33 ± 4,436	0,00023	***
J59	1678,33 ± 4,965	2526,66 ± 4,004	8,1647E-06	****

Tableau 32. Résultats de la variation pondérale des lots 5 et 6 au 0, 7, 15, 21, 30, 37, 45, 52, 59, 74, 81 et 89^{ème} jour de l'expérimentation

Jours	Variation pondérale /Kg		Test de Student	
	Moyenne ± ESM		P- value	Os
	Lot 5	Lot 6		
J0	2616,66 ± 4,409	2745 ± 2,517	0,144	N.S
J7	2763,33 ± 5,696	2928,33 ± 3,970	0,167	N.S
J15	2868,33 ± 5,802	3113,33 ± 5,818	0,0910	N.S
J21	2946,66 ± 6,995	3313,33 ± 7,893	0,0542	N.S
J30	3040 ± 6,935	3398,33 ± 8,071	0,0608	N.S
J37	2916,66 ± 3,575	3206,66 ± 7,942	0,063	N.S
J45	2658,33 ± 3,890	3100 ± 2,704	0,0001	***
J52	2301,66 ± 11,910	3108,33 ± 2,682	0,002	***
J59	2343,33 ± 10,711	3213,33 ± 1,850	0,0005	****
J69	2180 ± 9,992	3078,33 ± 1,646	0,0002	****
J74	1986,66 ± 9,232	2833,33 ± 2,090	0,0002	****
J81	1796,66 ± 7,161	3083,33 ± 2,881	1,0589E-06	****
J89	1704,16 ± 8,533	3193,33 ± 2,058	8,9904E-07	****

Problématique

Devant une arthrite septique trainante l'antibiothérapie seule ne permet pas une guérison complète et souvent associée à un nettoyage de l'articulation ce qui engendre des séquelles orthopédiques lourdes et parfois un handicap moteur.

Pour cela, nous nous sommes posé la question suivante : sera-t-il intéressant d'associer à l'antibiothérapie un traitement biologique à savoir l'utilisation d'un anti- IL6, le plus répandu dans une articulation siège d'une inflammation, afin éviter tout geste chirurgical et épargner l'articulation d'un handicap sure.

Dans le but de répondre à notre problématique nous avons tracés les objectifs suivants :

-À travers un modèle expérimental animal nous induisons une arthrite septique à partir d'une bactérie (*Propionibacterium acnes*) à fin d'y prouver l'efficacité de l'anti- IL6 tout en appliquant différents lots comparatifs.

-Mise en évidence du phénomène inflammatoire et systémique.

-Analyses des paramètres biologiques.

-Recherches des facteurs rhumatoïdes.

-Etude anatomopathologique (désordre histologique).

-Etude radiographique.

Etude bio statistique pour justifier la fiabilité de nos résultats.

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1. Effet de PBA sur les lapins de l'expérimentation

III.1.1. Symptomatologie après injection de *Propionibacterium acnes* au niveau des articulations

Tous les lapins injectés par PBA présentaient les symptômes de l'arthrite septique après 30 jours depuis l'induction.

2×10^8 UFC de *P. acnes* ont été nécessaires pour établir une infection chronique, très probablement en raison de la virulence réduite associée à cette espèce bactérienne et l'infection indolente résultante qu'elle produit. Cette observation est aussi semblable aux découvertes des deux études non hématogènes qui ont exigé un haut inoculum de 10^7 à 10^8 pour induire l'infection chronique dans les études de **(Gahukamble AD *et al.*, 2014) (Shiono Y *et al.*, 2014).**

L'arthrite septique s'est manifestée par une monoarthrite aiguë avec un syndrome infectieux. Les articulations atteintes sont les genoux.

À l'œil nu, les lapins testés présentent des frissons dans un contexte fébrile. La douleur est rapidement très intense et à l'origine d'une impotence fonctionnelle complète.

L'articulation est chaude, rouge, inflammatoire et gonflée avec présence d'un épanchement intra-articulaire qu'il faudra ponctionner comme décrit dans les travaux de **Rios CL *et al.*, (2008).**

L'os sain est un tissu bien vascularisé. En revanche, en cas d'infection et indépendamment du mode de pénétration, les bactéries déclenchent une réaction inflammatoire suppurée qui se développe soit dans la région sous-périostée (formant un abcès sous-périosté précoce qui évolue vers les parties molles), soit dans la cavité médullaire. Ces réactions s'accompagnent rapidement d'une hyperhémie diffuse (artériolaire, capillaire et veinulaire) responsable d'une augmentation du débit sanguin et de la perméabilité capillaire. Il s'ensuit une transsudation plasmatique responsable d'un œdème et d'une hyperpression locale **(Wright JA, *et al.*, 2010).**

N.B : rappel sur la répartition des lots

- ☞ **Un lot 1** : témoin qui ne reçoit aucune injection durant 30 jours (contrôle négatif).
- ☞ **Un lot 2** : reçoit une injection de PBA pour induire une AS jusqu'à 30 jours.
- ☞ **Un lot 3** : témoin qui reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps de deux mois sans procéder à un traitement médical.
- ☞ **Un lot 4** : reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps d'un mois et il sera traité par une antibiothérapie de 30 jours.
- ☞ **Un lot 5** : témoin qui reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps d'un mois et il sera traité par une antibiothérapie de 30 jours jusqu'au 60^{ème} jour sans traitement biologique.
- ☞ **Un lot 6** : reçoit une injection de PBA sur un intervalle de temps d'un mois et il sera traité par une antibiothérapie de 30 jours puis traité par un traitement biologique au 60^{ème} jour, d'une durée totale de 90 jours.

III.2. Evolution pondérale

L'arthrite septique est souvent accompagnée par d'autres perturbations physiologiques qui rentrent dans le profil de cette dernière.

Pour cela nous avons jugé nécessaire de suivre l'évolution pondérale des différents lots traités et non traités en les comparant avec les lots témoins.

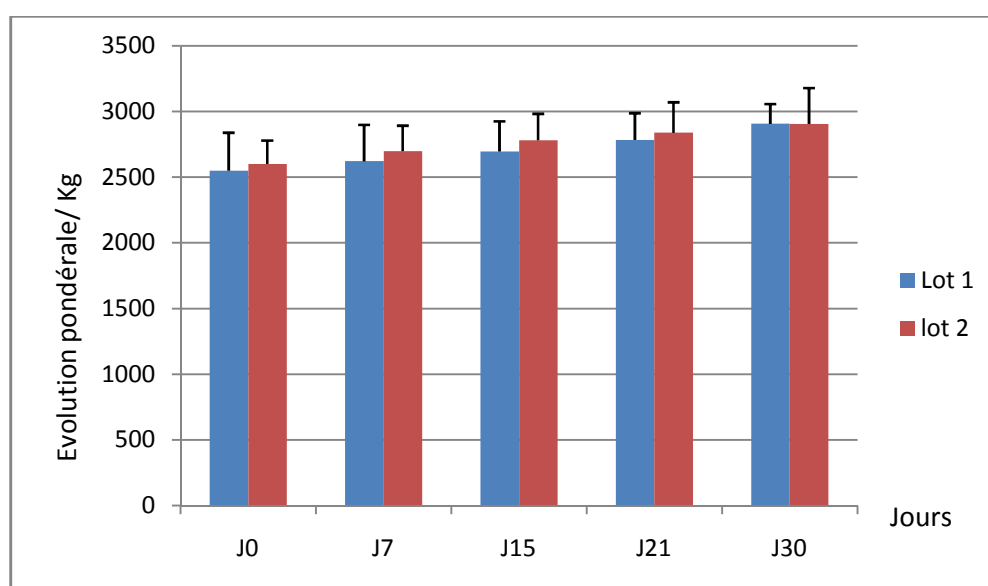


Figure 41. Evolution pondérale des lapins des lots 1 et 2 jusqu'au 30^{ème} Jour

Il n'y a pas de différence significative dans la variation de poids corporel entre les lots 1 et 2 jusqu'au 30^{ème} Jour.

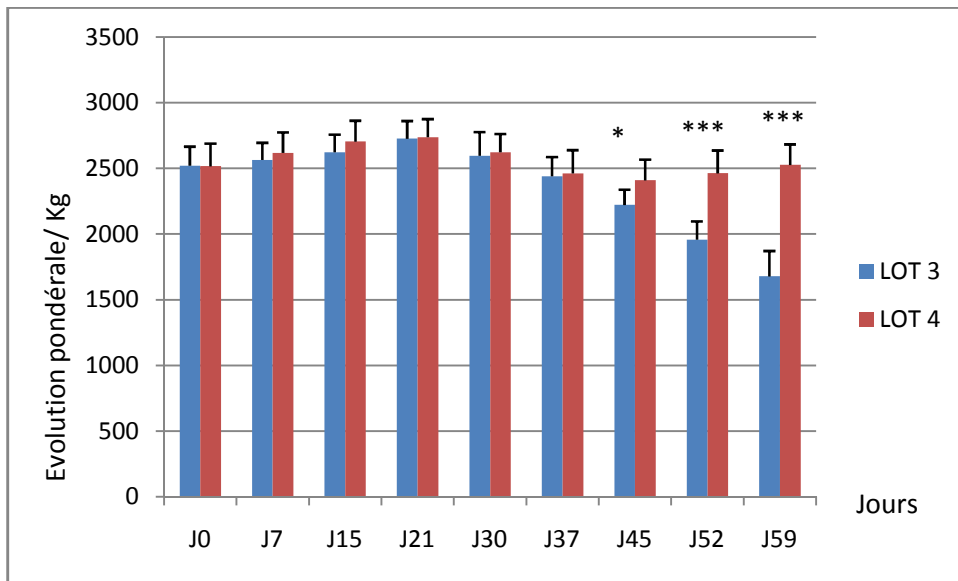


Figure 42. Evolution pondérale des lapins des lots 1 et 2 jusqu'au 60^{ème} Jour

Nous remarquons, qu'au 60^{ème} Jour, il y a une diminution du poids corporel chez les lapins du lot 3, non traités, par antibiothérapie (2526,66 ± 4,004) Kg. Tandis que les lapins traités par antibiothérapie présentaient une augmentation du poids corporel (1678,33 ± 4,965) Kg.

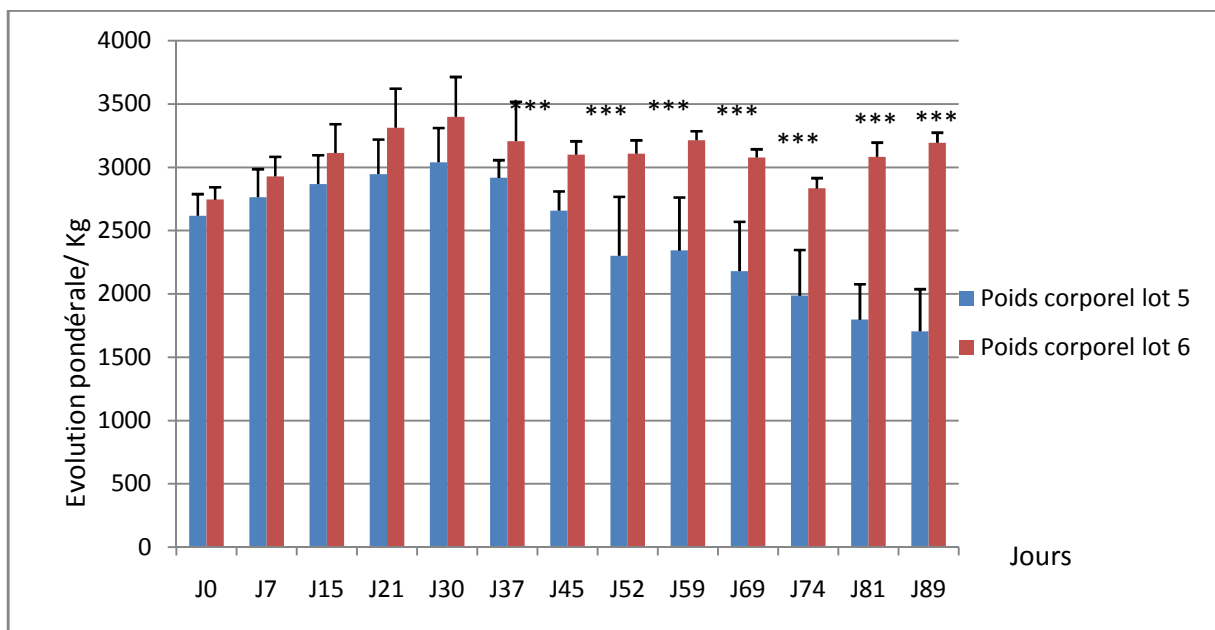


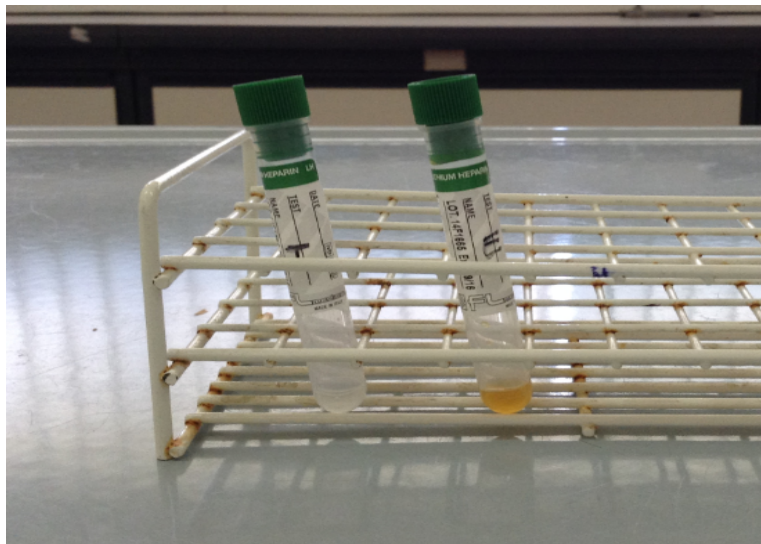
Figure 43. Evolution pondérale des lapins des lots 5 et 6 jusqu'au 90^{ème} Jour

Pour les lots 5 et 6, nous constatons une nette amélioration de leurs poids corporel à partir du 45^{ème} Jour ($2916,66 \pm 3,575$) ($3206,66 \pm 7,942$) Kg respectivement, par contre à partir du 59^{ème} Jour nous avons noté une diminution du poids des lapins du 5^{ème} lot, ($2343,33 \pm 10,711$) Kg, ce qui peut être expliquer par les effets limités de l'antibiothérapie après une certaine durée de la maladie, vu que les lapins du lot 6 traités par anti-IL6 présentait une augmentation de poids considérable à partir du 74^{ème} Jour ($2833,33 \pm 2,090$) Kg, jusqu'à la fin de l'expérimentation ($3193,33 \pm 2,058$) Kg.

III.3. Résultats des examens biologiques

III.3.1. La ponction articulaire

A l'examen macroscopique le liquide articulaire de tous les lapins malades présente un aspect trouble ou purulent (**Figure 44**) tandis que celui des lapins sains est clair et transparent.



(Original, 2016)

Figure 44. Prélèvement du liquide articulaire du lapin sain (à gauche : témoin ou contrôle négatif), et du lapin malade à droite : contrôle positif)

Les résultats obtenus sont résumés dans **les tableaux suivants 11, 12, 13, 14, 15 et 16.**

N.B : toutes les ponctions articulaires étaient appliquées aux jours J30, J60 et J90 depuis l'induction de l'AS.

III.3.1.1. Ponctions articulaires au 30^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau 11. Résultats de la ponction articulaire des lots 1 et 2 au 30^{ème} Jour

	Lot 1 (M ± Ecartype)	Lot2 (M ± Ecartype)
Aspect	Transparent	opaque
Couleur	Claire	Jaune
Viscosité	Haute	Très visqueux
Leucocytes 10³(/mm³)	5.0 ± 1.53	20 ± 2.30
Neutrophiles (%)	35 ± 4.70	95 ± 9.23
Protéines (g/dl)	6.5 ± 0.40	12 ± 1.15
Glucose (g/l)	1.16 ± 0.06	0.70 ± 0.03
Culture sur gélose au sang	négative	positive

Tableau 12. Résultats de la ponction articulaire des lots 3 et 4 au 30^{ème} Jour

	Lot 3 (M ± Ecartype)	Lot 4 (M ± Ecartype)
Aspect	opaque	opaque
Couleur	Jaune	Jaune
Viscosité	Très visqueux	Très visqueux
Leucocytes 10³(/mm³)	22 ± 3.33	21 ± 2.99
Neutrophiles (%)	97 ± 7.48	97.5 ± 5.55
Protéines (g/l)	12 ± 2.13	12 ± 1.14
Glucose (g/l)	0.75 ± 0.06	071 ± 0.10
Culture sur gélose au sang	positive	positive

Tableau 13. Résultats de la ponction articulaire des lots 5 et 6 au 30^{ème} Jour

	Lot 5 (M ± Ecartype)	Lot 6 (M ± Ecartype)
Aspect	opaque	opaque
Couleur	Jaune	Jaune
Viscosité	Très visqueux	Très visqueux
Leucocytes 10³(/mm³)	23 ± 3.45	23 ± 5.34
Neutrophiles (%)	95.8 ± 4.99	97 ± 5.65
Protéines (g/l)	12 ± 4.40	12 ± 1.99
Glucose (g/l)	0.708 ± 0.06	0.713 ± 0.09
Culture sur gélose au sang	positive	positive

Selon les résultats ci-dessous il ya présence d' une hyperleucocytose chez les lots 2, 3, 4, 5 et 6 (20 ± 2.30) (22 ± 3.33) (21 ± 2.99) (23 ± 3.45) (23 ± 5.34) 10³/mm³ respectivement par rapport au lot témoin (lot 1) (5.0 ± 1.53) 10³/mm³ avec une prédominance PNN (95 ± 9.23) (97 ± 7.48) (97.5 ± 5.55) (95.8 ± 4.99)(97 ± 5.65) 10³/mm³ respectivement par rapport

au lot 1 (5.0 ± 1.53) $10^3 / \text{mm}^3$. Le taux du glucose est bas par rapport à celui du témoin (lot 1). Le taux des protéines étant élevé par rapport à celui du témoin (lot1). Quand l'inflammation concerne une articulation, le liquide synovial de nature dite inflammatoire se caractérise par des concentrations élevées d'éléments blancs et de protéines. Ce qui a été élucidé par (Wright JA, *et al.*,2010).

Selon Combe. B (2007), la maladie débute par une infiltration excessive des neutrophiles qui libèrent la MCP1, chimiokines qui attirent et retiennent les leucocytes. Ceci conduit au recrutement des macrophages sur le lieu de l'inflammation puis à une infiltration des lymphocytes B et lymphocytes T et à la prolifération des fibroblastes synoviaux. Toutes ces cellules sont activées et libèrent des facteurs inflammatoires. Les macrophages par exemple dont le rôle est d'amplifier l'inflammation libèrent les cytokines pro inflammatoires IL6, IL1 et TNF α . De même les lymphocytes T activés entretiennent l'inflammation par le biais de la sécrétion d'IL6, IL17 et IFN γ . Globalement l'IL6 est produite en excès dans la synoviale enflammée ce qui entraîne le recrutement et l'activation de davantage de facteurs pro inflammatoires. Un cercle vicieux sous eux entretenant et ainsi créer dans le quel les cellules activées par l'IL6 sont responsables d'encore plus de sécrétion d'IL6 et de récepteurs solubles d'IL6.

-Les cultures sur gélose au sang étaient positives après 5 jours d'incubation.

-Les cultures sur gélose au sang étaient positives après 5 jours d'incubation.

III 3.1.2. Ponctions articulaires au 60^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau14. Résultats de la ponction articulaire des lots 3 et 4 au 60^{ème} Jour

	Lot 3 (M \pm Ecartype)	Lot 4 (M \pm Ecartype)
Aspect	opaque	Transparent
Couleur	Jaune	Claire
Viscosité	Très visqueux	Haute
Leucocytes 10^3 (/mm³)	25 ± 2.56	10 ± 1.30
Neutrophiles (%)	35 ± 7.48	45.7 ± 5.60
Protéines (g/l)	12.8 ± 1.17	6.5 ± 0.95
Glucose	0.708 ± 0.10	0.95 ± 0.06
Culture sur gélose au sang	positive	négative

Tableau15. Résultats de la ponction articulaire des lots 5 et 6 au 60^{ème} Jour

	Lot 5 (M ± Ecartype)	Lot 6 (M ± Ecartype)
Aspect	Transparent	Transparent
Couleur	Claire	Claire
Viscosité	Haute	Haute
Leucocytes 10³(/mm³)	10.3 ± 2.20	10.5 ± 1.50
Neutrophiles (%)	45.6 ± 6.40	45.3 ± 5.30
Protéines (g/l)	6.7 ± 1.80	6.3 ± 1.53
Glucose	0.96 ± 0.09	0.93 ± 0.06
Culture sur gélose au sang	négative	négative

-Après traitement par l'antibiothérapie, l'aspect des lots 4,5 et 6 est devenu transparent par rapport a celui du lot 3 qui restait opaque jusqu'au 60^{ème} jour. Également pour la couleur du liquide synovial qui est devenue clair par rapport à celui du lot 3 (sans antibiothérapie) restant jaune. Ce ci pourrait être dû à l'action de l'antibiotique. Le taux des leucocytes, et des neutrophiles spécialement, à diminué considérablement (10.3 ± 2.20) (10.5 ± 1.50) (45.6 ± 6.40) (45.3 ± 5.30)10³ mm³ respectivement. Le taux des protéines a diminué également. Tandis que le taux du glucose à augmenté. Paradoxalement, les symptômes de la maladie persistaient encore chez le lot 3 non traité.

Ce ci pourrait être dû à l'accumulation de pus dans la cavité articulaire qui a entraîner une distension capsulaire qui interfère avec la nutrition du cartilage, induisant l'apoptose de nombreux chondrocytes. Ce processus enzymatique de destruction chondrocytaire persiste longtemps, même après stérilisation de l'articulation par un traitement antibiotique. Enfin, à partir de ces foyers abcédés, des trajets fistuleux vont se former à travers les parties molles pour tenter d'assurer un drainage qui reste toujours très insuffisant selon **(Guillaume G. A et al., 2015)**.

-Les cultures sur géloses au sang sont négatives sauf pour celle du lot 3.

III.3.1.3. Ponctions articulaires au 90^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau 16. Résultats de la ponction articulaire des lots 5 et 6 au 90^{ème} Jour

	Lot 5 (M ± Ecartype)	Lot 6 (M ± Ecartype)
Aspect	Transparent	Transparent
Couleur	Claire	Claire
Viscosité	Haute	Haute
Leucocytes 10 ³ (/mm ³)	10.9 ± 1.77	4.9 ± 1.80
Neutrophiles (%)	40.4 ± 3.59	30 ± 1.40
Protéines (g/l)	6.55 ± 1.91	5.5 ± 1.78
Glucose	0.97 ± 0.06	0.7 ± 0.03
Culture sur gélose au sang	négative	négative

Concernant l'aspect et la couleur ils sont restés normaux jusqu'au 90^{ème} Jour du traitement chez les deux lots 5 et 6.

Une diminution considérable a été soulevée dans le taux des leucocytes après un traitement avec un anti-IL6 (4.9 ± 1.80) 10^3 mm³ par rapport à (10.9 ± 1.77) 10^3 mm³ trouvé chez le lot 5. De même pour les autres paramètres, avec une normalisation dans le taux des protéines et celui du glucose.

-Sur gélose au sang, les cultures restaient négatives.

III.3.2. Les facteurs inflammatoires : la CRP et la VS

III.3.2.1. Détermination de la CRP

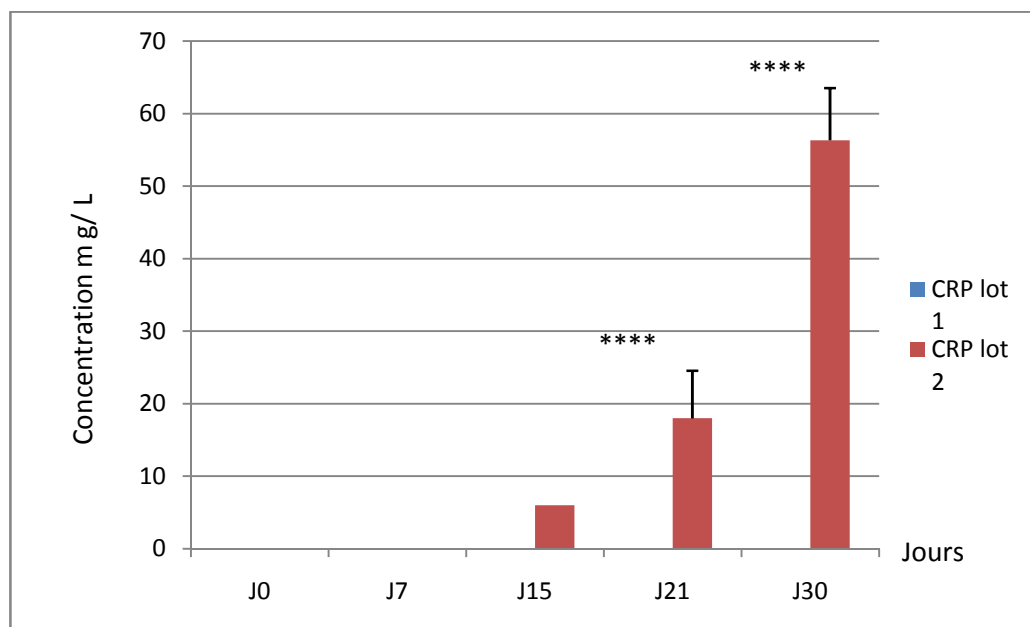


Figure 45. Détermination de la CRP jusqu'au 30^{ème} Jour et comparaison entre les lots 1 et 2

Une augmentation significativement importante est observée dans le taux de la CRP du lot 2, par rapport au lot 1, à partir du 15^{ème} Jour jusqu'à ce qu'elle atteigne (56.33 ± 0.16) mg/L au 30^{ème} Jour.

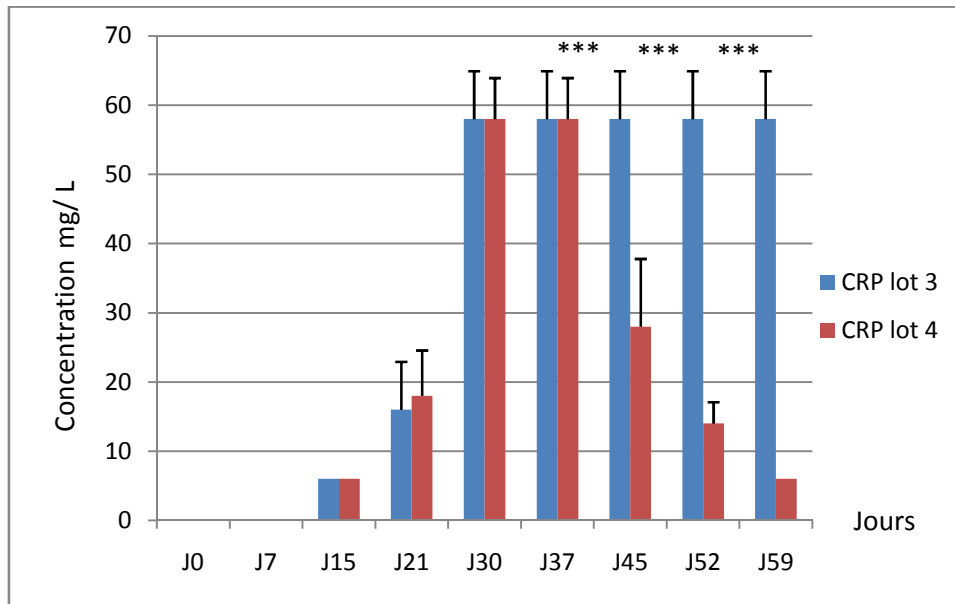


Figure 46. Détermination de la CRP jusqu'au 59^{ème} Jour et comparaison entre les lots 3 et 4

Nous avons dénoté une diminution hautement significative de la CRP du lot 4 traité par antibiothérapie à partir du 45^{ème} Jour (28 ± 0.07) mg/L, par rapport au lot 3 non traité (58 ± 0.17) mg/L.

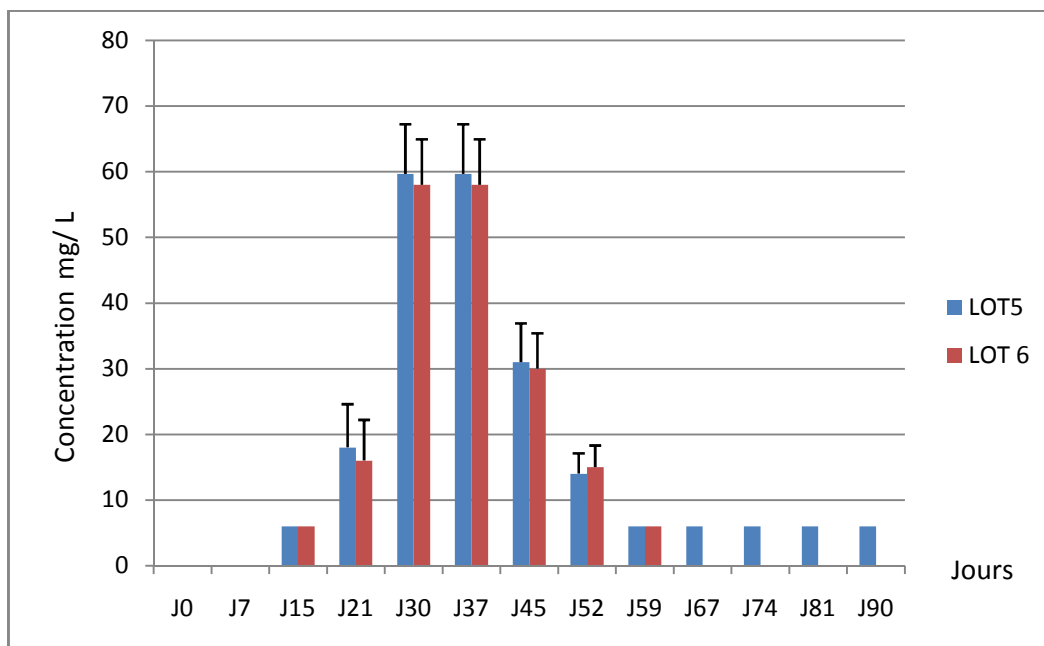


Figure 47. Détermination de la CRP jusqu'au 90^{ème} Jour et comparaison entre les lots 5 et 6

Une nette diminution de la CRP est observée à partir du 67^{ème} jour dans le lot 6 (<6 mg/L) ce qui peut être dû au traitement par l'anti IL6. Avec disparition totale des signes inflammatoires.

III.3.2.2. Détermination de la VS

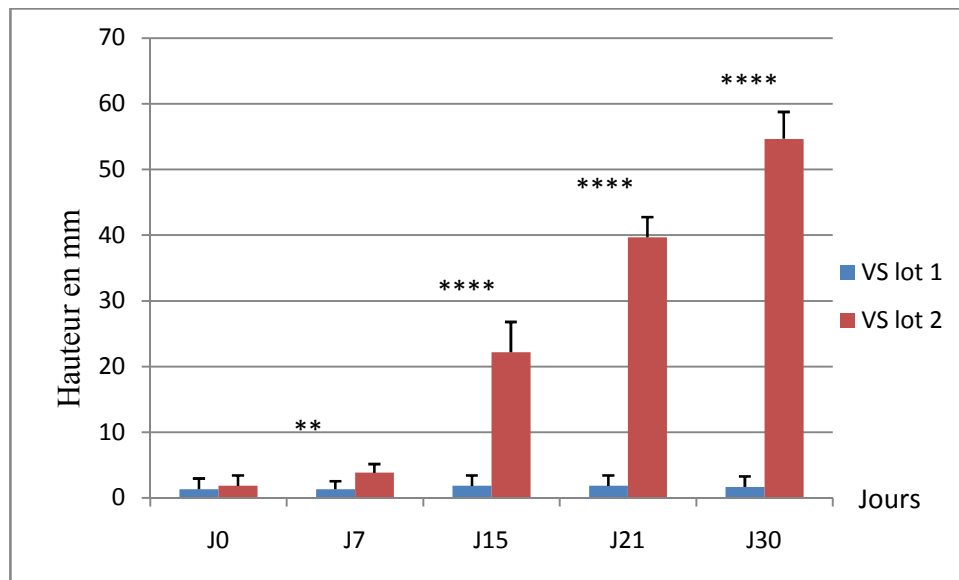


Figure 48. Détermination de la VS jusqu'au 30^{ème} Jour et comparaison entre les lots 1 et 2

Selon la figure ci-dessous une augmentation importante du taux de la VS du lot 2 (54.66 ± 0.10) mm par rapport au témoin (lot 1) (1.66 ± 0.04) mm, donc il s'agit bien d'un phénomène inflammatoire.

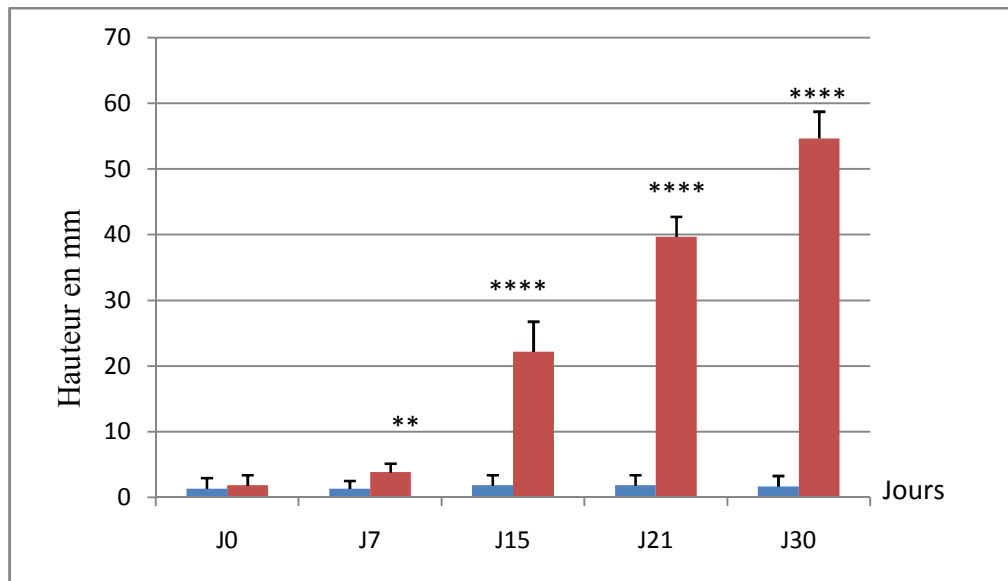


Figure 49. Détermination de la VS jusqu’au 59^{ème} Jour et comparaison entre les lots 3 et 4

Le taux de la VS du lot 4 a significativement diminué au 45^{ème} jour du traitement par antibiothérapie (17.33 ± 0.04) mm par rapport a celui du lot 3 ($58,33 \pm 0,11$) mm jusqu’à atteindre la valeur normale ($5.33 \pm 0,02$) mm au 60^{ème} Jour.

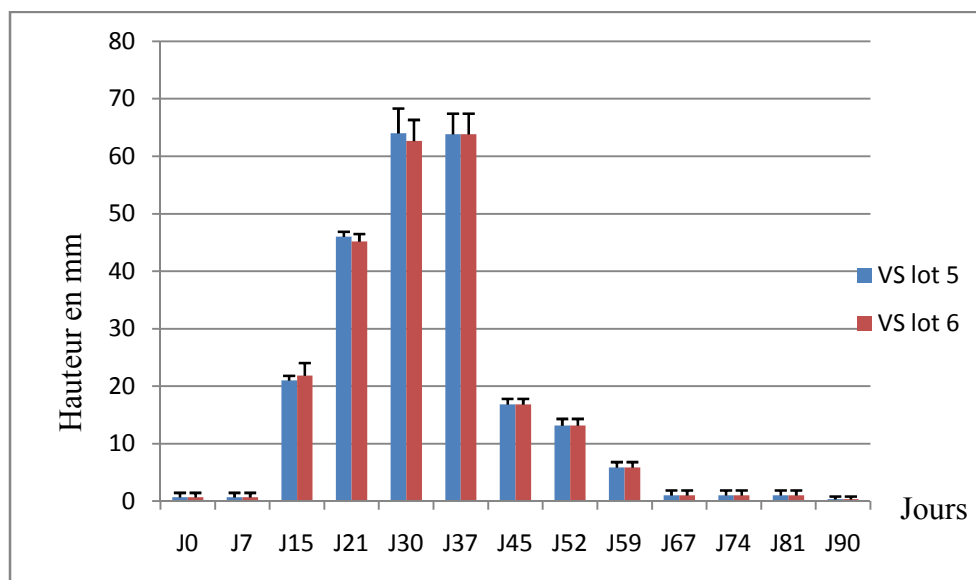


Figure 50. Détermination de la VS jusqu’au 90^{ème} Jour et comparaison entre les lots 5 et 6

La diminution de la VS est hautement significative (0.33 ± 0.01) mm au 90^{ème} jour du traitement par antibiothérapie suivi d'un traitement par un anti-IL6.

III.3.3. Le bilan sanguin (FNS)

III.3.3.1. Bilan sanguin des lots 1 et 2 au 0 et 30^{ème} Jour de l'expérimentation

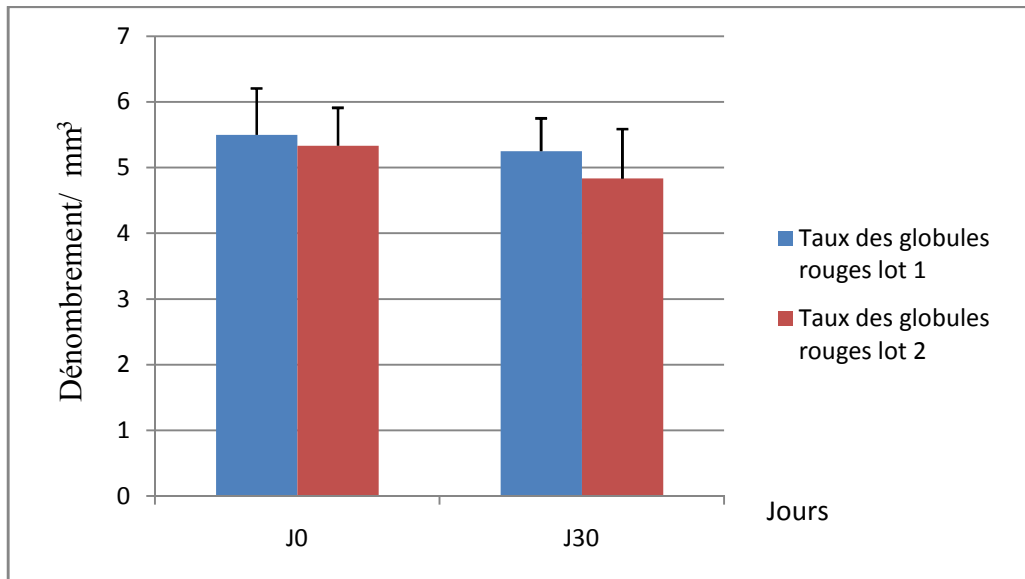


Figure 52. Détermination du taux des globules rouges au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

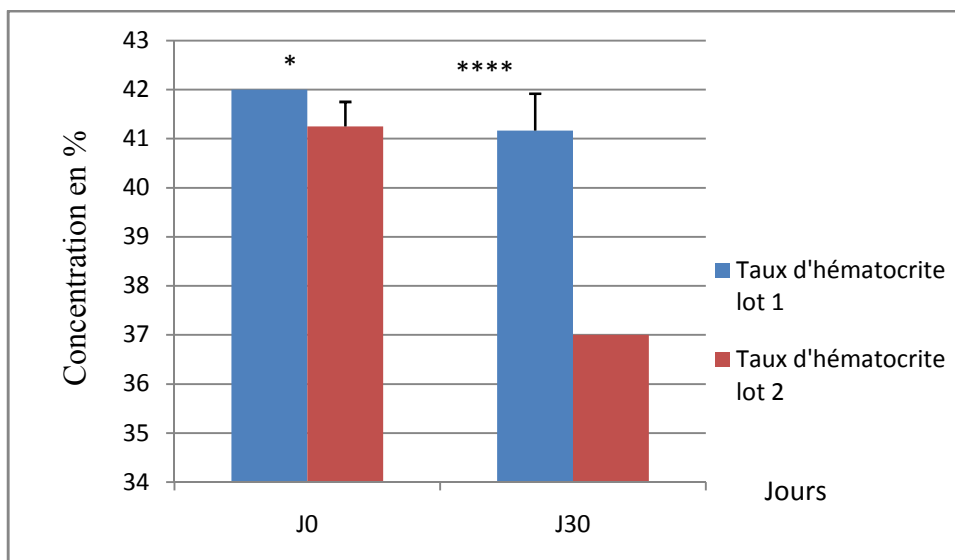


Figure 53. Détermination du taux d'hématocrite au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

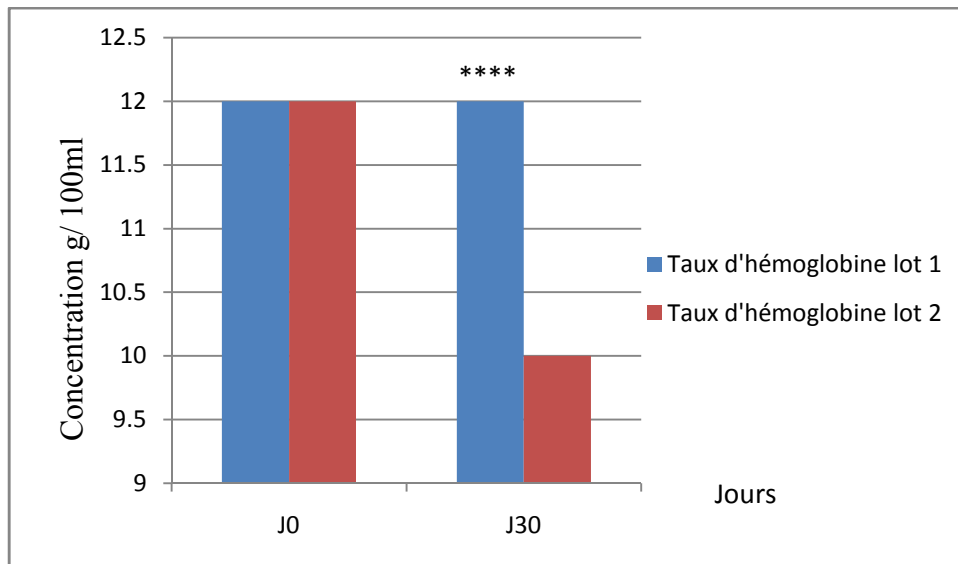


Figure 54. Détermination du taux d'hémoglobine au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

Une légère diminution est notée dans le taux des globules rouges du lot 2 par rapport à celui du témoin. Les taux d'hémoglobine et d'hématocrite ont significativement diminué par rapport à ceux du lot 1. Ces variations sont des critères d'une anémie monochrome, qui peut être lié à la pathologie induite. En effet, selon (**Rouiller N *et al.*, 2010**). L'arthrite septique peut causer une anémie monochrome.

L'activité excessive de l'IL6 au niveau hépatique entraîne la sécrétion des protéines de la phase aigüe de l'inflammation dont un peptide l'hepcidine principalement régulée par l'IL6. Cela signifie que l'activité excessive d'IL6 au niveau systémique peut provoquer une diminution du taux d'hémoglobine par l'action de l'hepcidine qui enferme le fer dans les macrophages et bloque ainsi l'absorption digestif du fer (**P. Cope. A. 2007**).

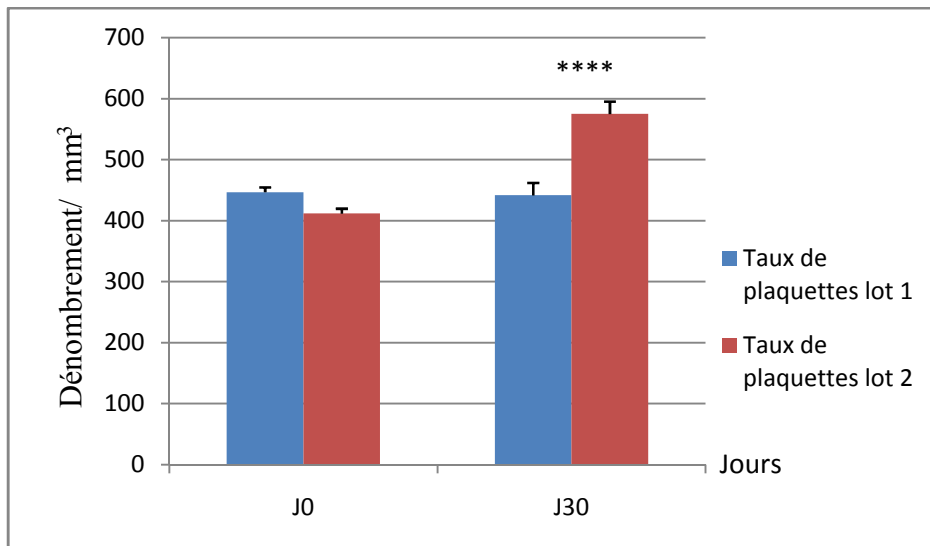


Figure 55. Détermination du taux des plaquettes au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

Selon la figure 55 nous avons noté une hyperplaquetose chez le lot 2 (475 ± 1.07)/mm³ par rapport à celui du témoin (lot 1) (441.66 ± 0.52) mm³. Les interactions plaquettes-cellules endothéliales et leucocytes-cellules endothéliales jouent un rôle déterminant au cours d'une réaction inflammatoire, notamment grâce à l'action des molécules d'adhérence qui existent sous forme soluble dans le plasma. Comparablement à notre étude, les résultats sont en accord avec ce qui ont été présentés dans les travaux de (**Rouiller N *et al.*, 2010**).

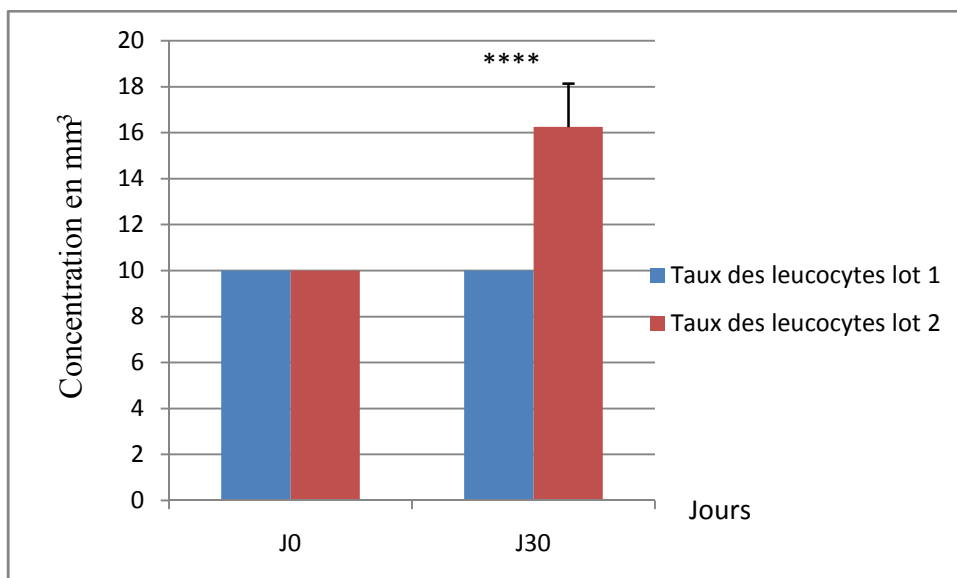


Figure 56. Détermination du taux des leucocytes au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

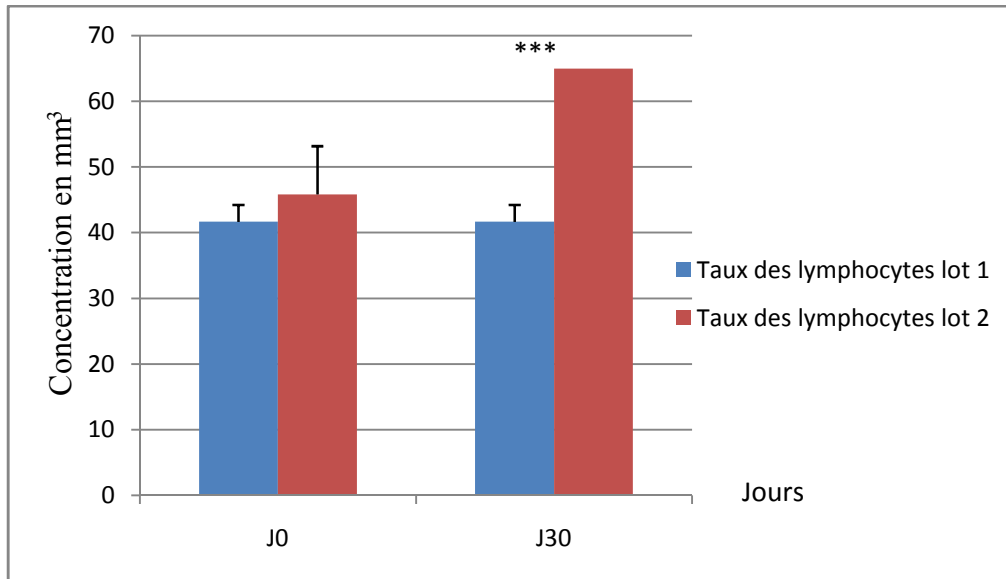


Figure 57 : Détermination du taux des lymphocytes au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

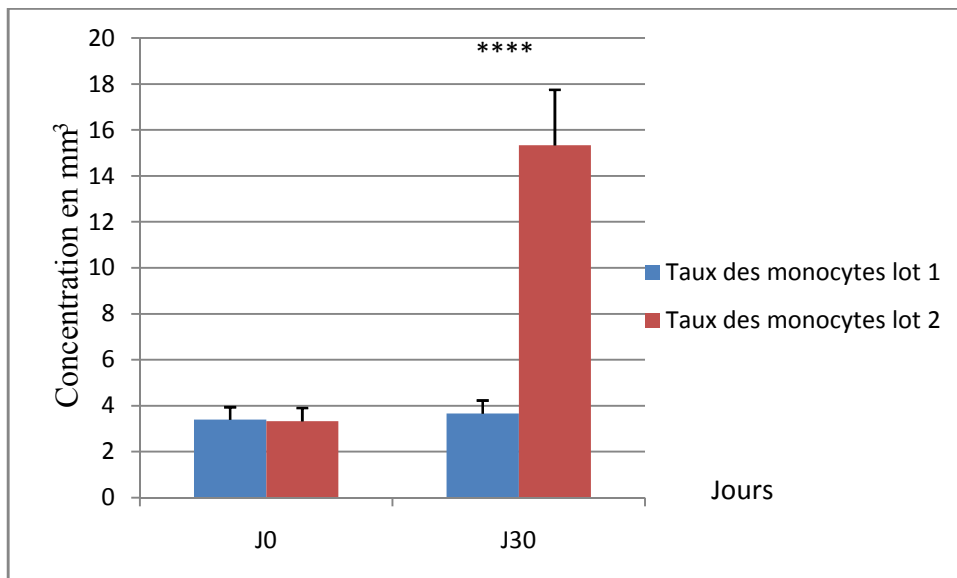


Figure 58. Détermination du taux des monocytes au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

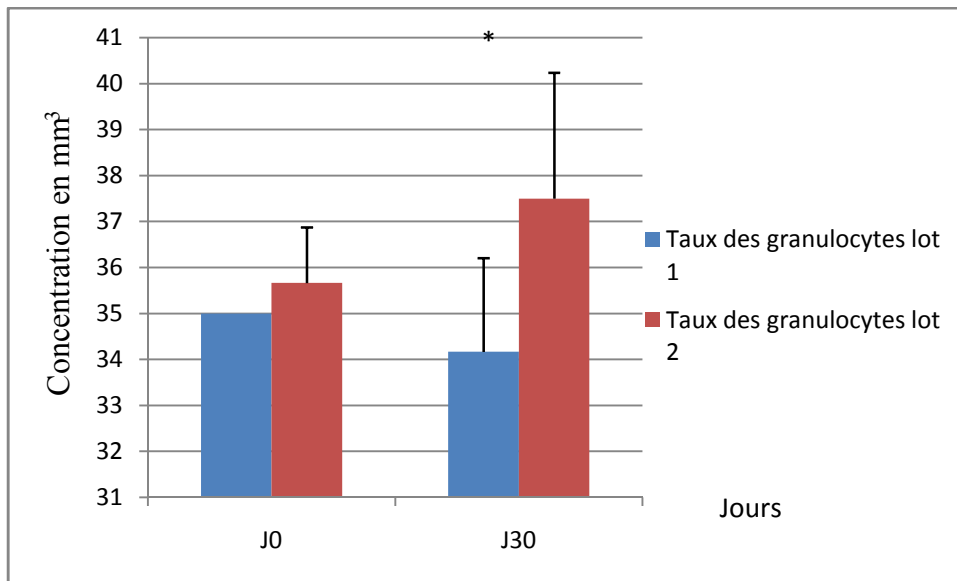


Figure 59. Détermination du taux des granulocytes au 30^{ème} Jour des lots 1 et 2

D'après les **figures 56, 57, 58 et 59**, Une hyperleucocytose peut être liée à l'action des cytokines (facteurs de croissance, dédifférenciation, de chimiotactisme) ou de chémokines. Certaines chémokines exercent un effet ciblé sur certaines lignées de cellules sanguines ; l'IL-8 sur le polynucléaires neutrophile, l'éotaxine sur l'éosinophile, le MCP-1 (Monocyte Chemo-attractant 1) sur les monocytes. Ces résultats sont comparables a ceux démontré par (Asseray.N *et al.*, 2012).

III.3.3.2. Bilan sanguin des lots 3 et 4 au 0, 30 et 60^{ème} Jour de l'expérimentation

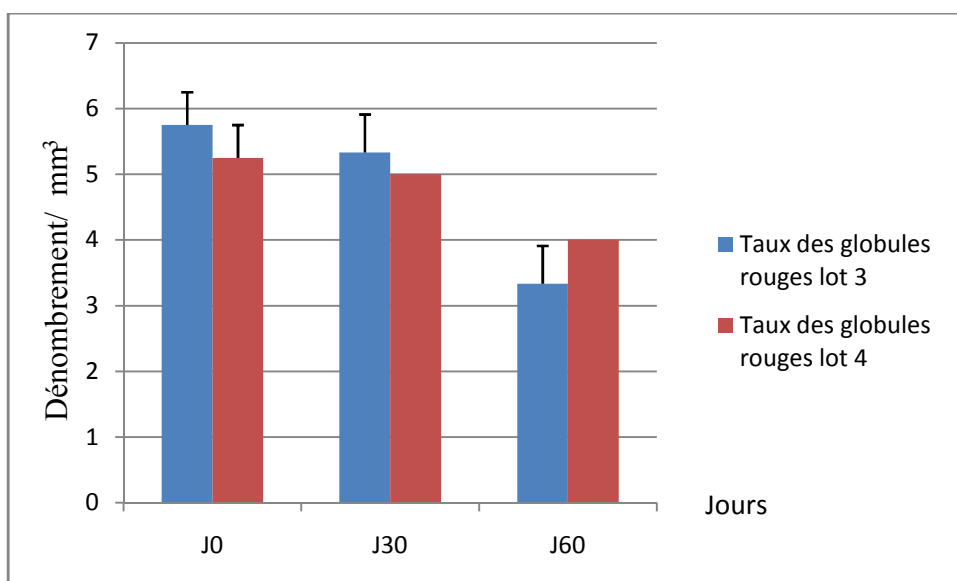


Figure 60. Détermination du taux des globules rouges jusqu'au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

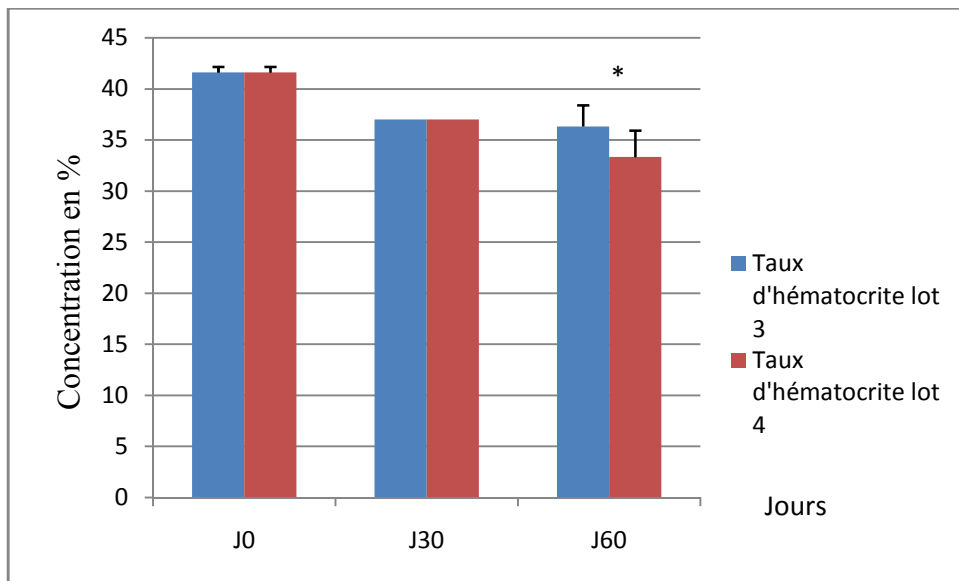


Figure 61. Détermination du taux d'hématocrite jusqu'au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

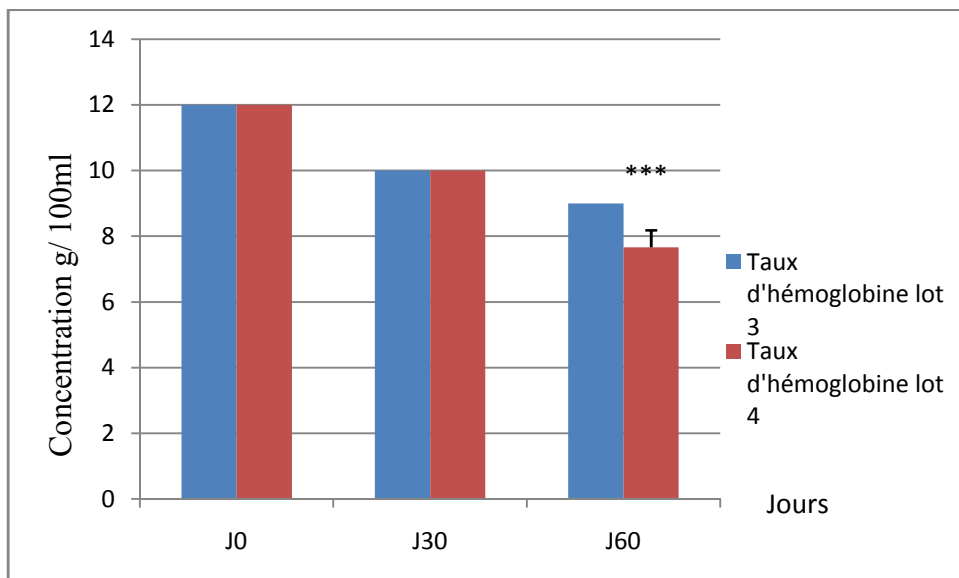


Figure 62. Détermination du taux d'hémoglobine jusqu'au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

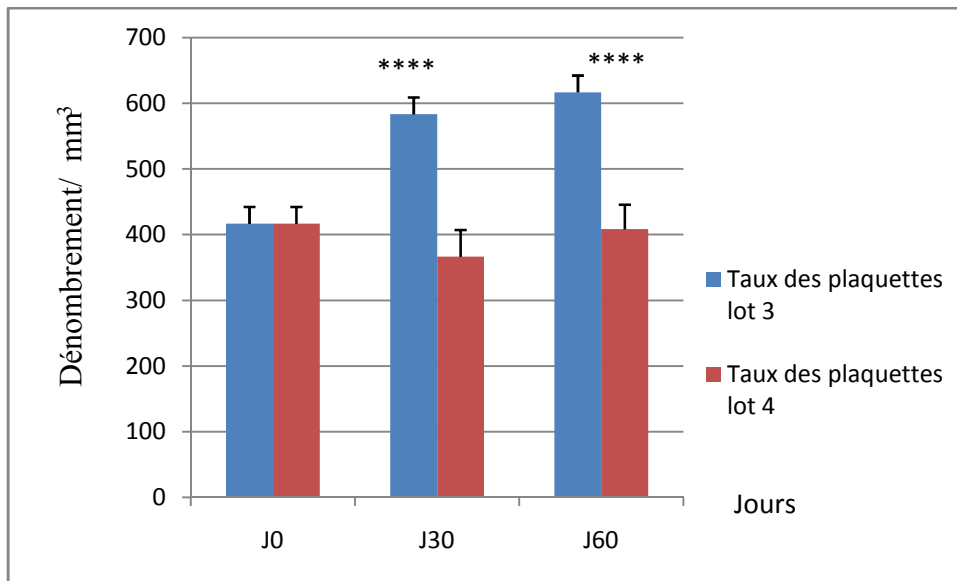


Figure 63. Détermination du taux des plaquettes jusqu'au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

D'après les figures 60, 61, 62 et 63 nous notons une diminution dans les paramètres hématologiques : hémocrite, hémoglobine et plaquettes avec une augmentation significative dans le taux des globules rouges chez le lot 4, traité par antibiothérapie (4 ± 0.01) 10^3 mm^3 (36.33 ± 0.01)% (9 ± 0.01) g/100ml (408.33 ± 0.96) mm^3 , par rapport au lot 3 (5.33 ± 0.01) 10^3 mm^3 (37 ± 0.01) % (10 ± 0.01) g/100ml (366.66 ± 1.07) mm^3 , non traité par antibiothérapie. Ce ci pourrait être dû à l'effet de l'antibiothérapie.

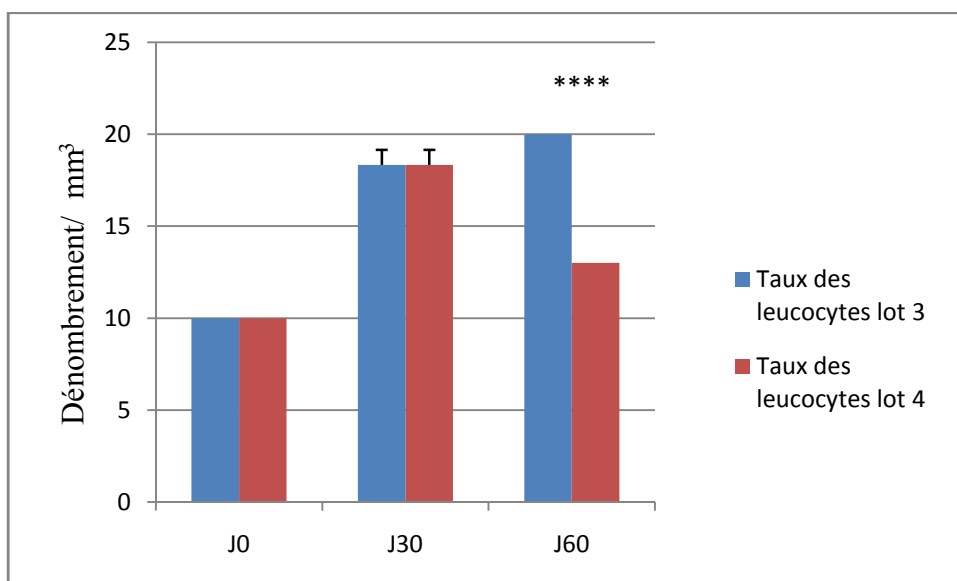


Figure 64. Détermination du taux des leucocytes jusqu'au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

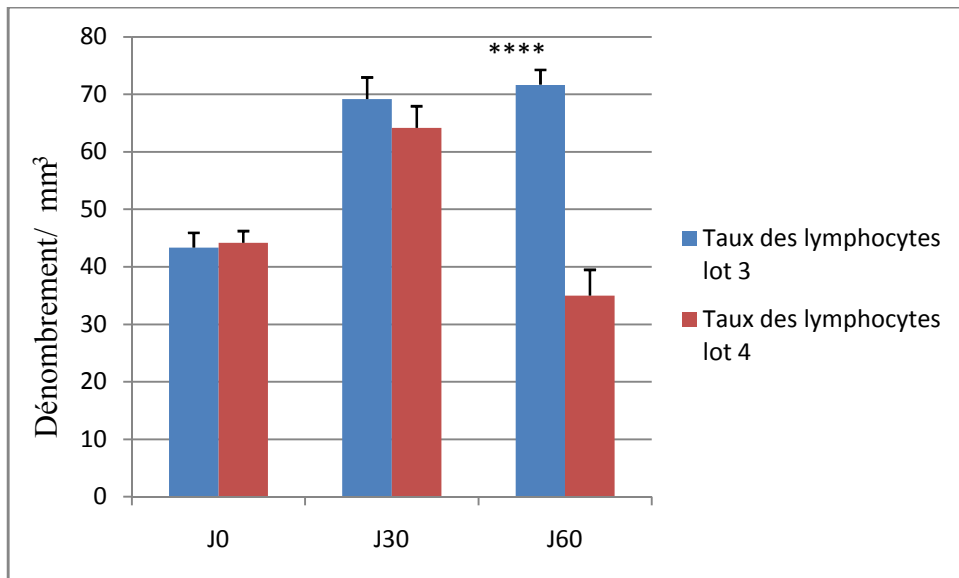


Figure 65. Détermination du taux des lymphocytes jusqu'au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

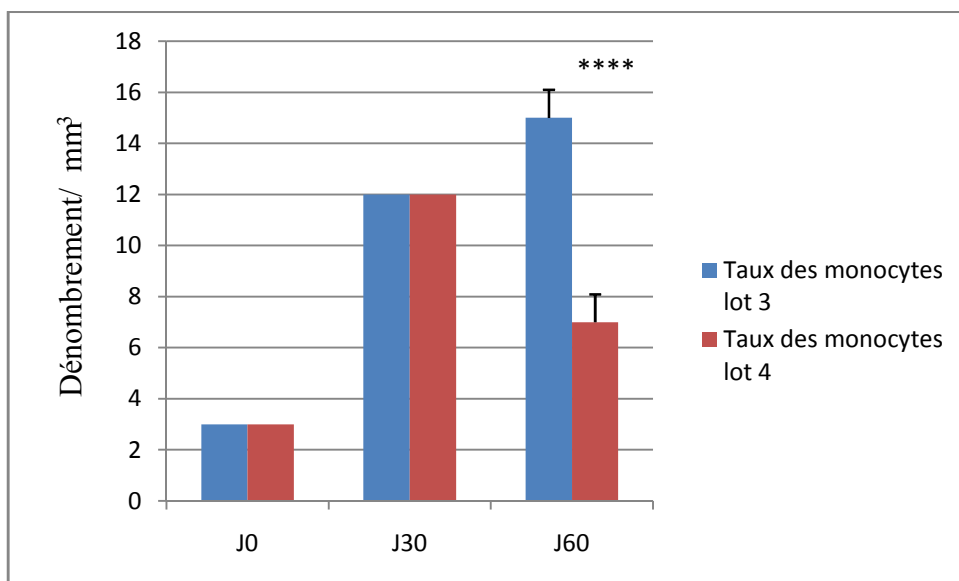


Figure 66. Détermination du taux des monocytes jusqu'au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

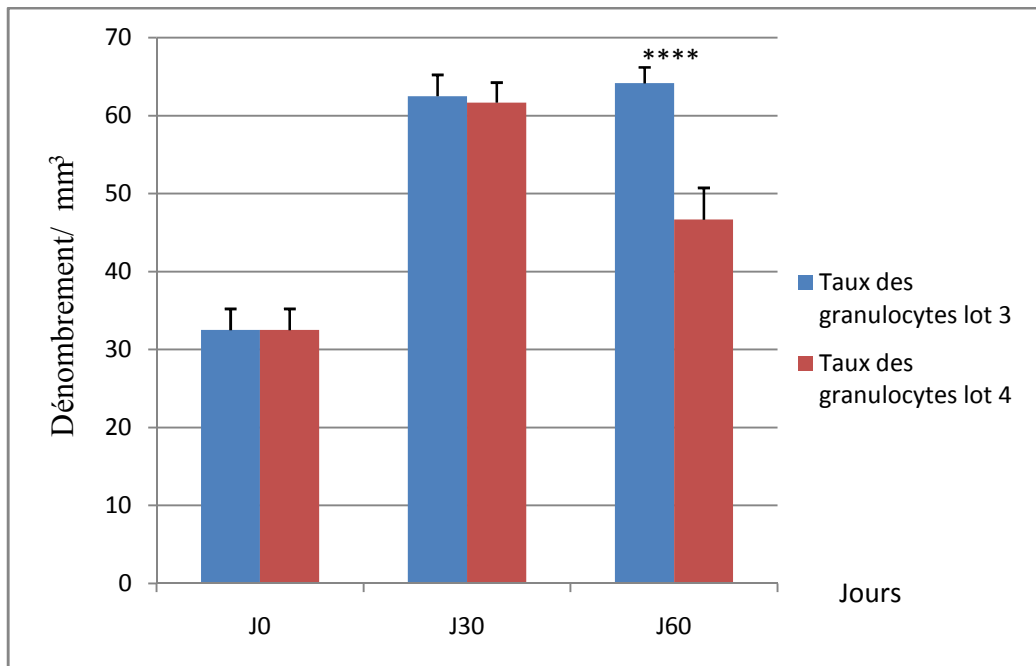


Figure 67. Détermination du taux des granulocytes jusqu’au 60^{ème} Jour des lots 3 et 4

À travers ces résultats nous avons constaté une diminution des paramètres hématologiques par rapport à ceux du témoin non traité ce ci pourrait être due à l’action des antibiotiques administrés aux lapins traités. Ce résultat concorde avec l’études de (Asseray *N.et al.*, 2012).

III.3.3.3. Bilan sanguin des lots 5 et 6 au 0, 30, 60 et 90^{ème} Jour de l’expérimentation

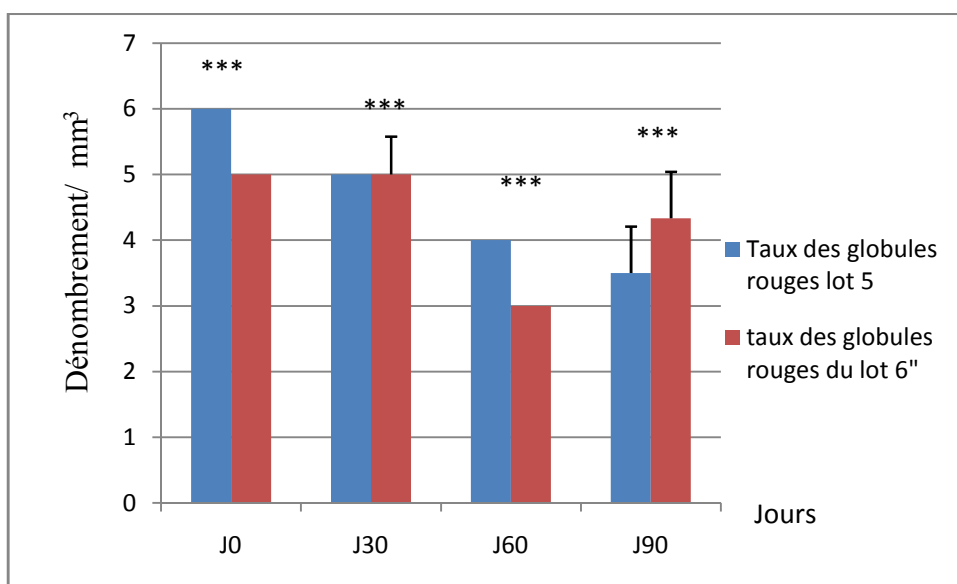


Figure 68. Détermination du taux des globules rouges jusqu’au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

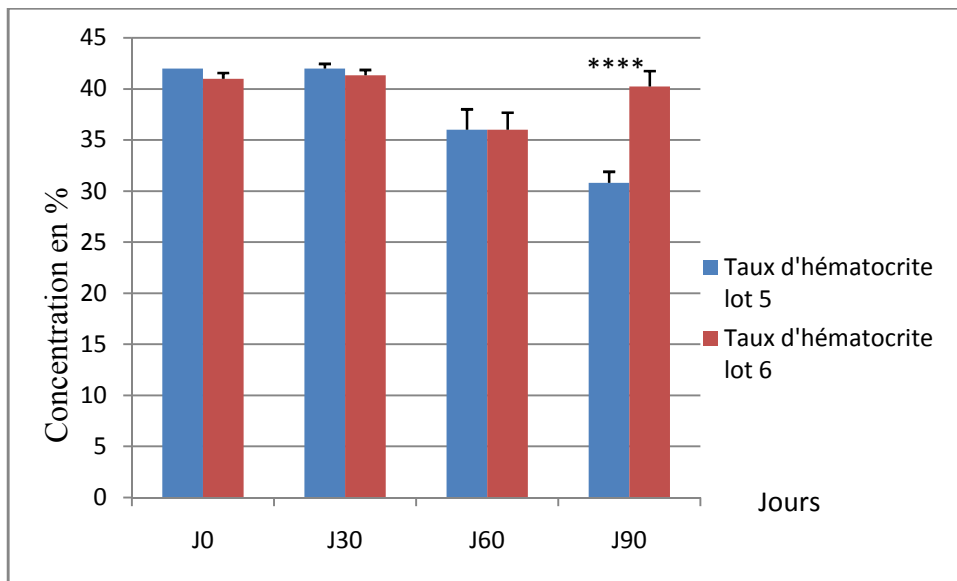


Figure 69. Détermination du taux d'hématocrite jusqu'au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

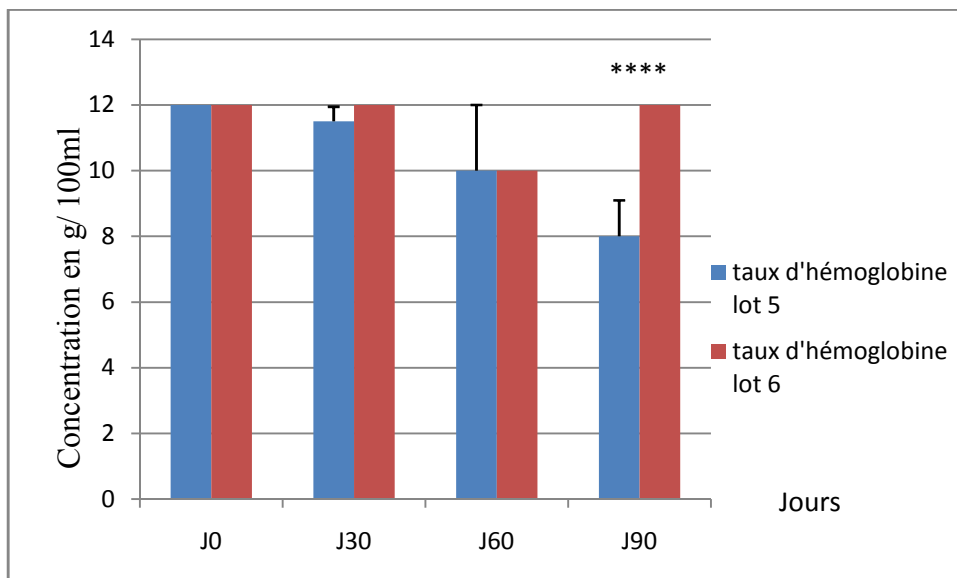


Figure 70. Détermination du taux d'hémoglobine jusqu'au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

Nous notons une augmentation hautement significative dans les taux des globules rouges, l'hémoglobine et l'hématocrite, du lot 6 (4.33 ± 0.01) (40.25 ± 0.03) 10^3 mm^3 en comparaison avec ceux du lot (53.5 ± 0.01) (30.8 ± 0.02) 10^3 mm^3 , ce ci pourra être dû au traitement par Tocilizumab. Il y a eu un retour des paramètres hématologiques vers la norme en les comparant avec ceux du Jour 0 et disparition de l'anémie monochrome.

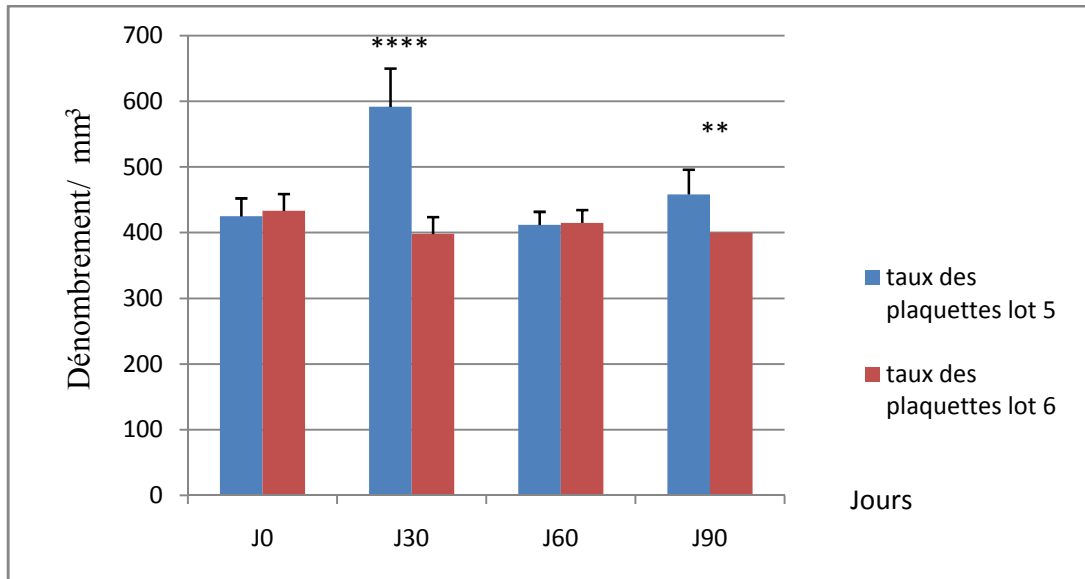


Figure 71. Détermination du taux des plaquettes jusqu'au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

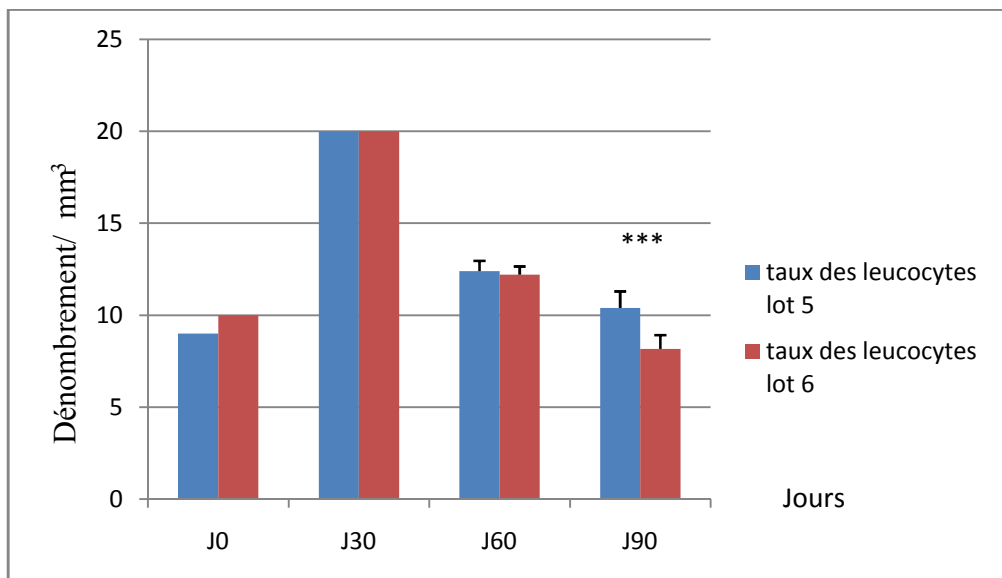


Figure 72. Détermination du taux des leucocytes jusqu'au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

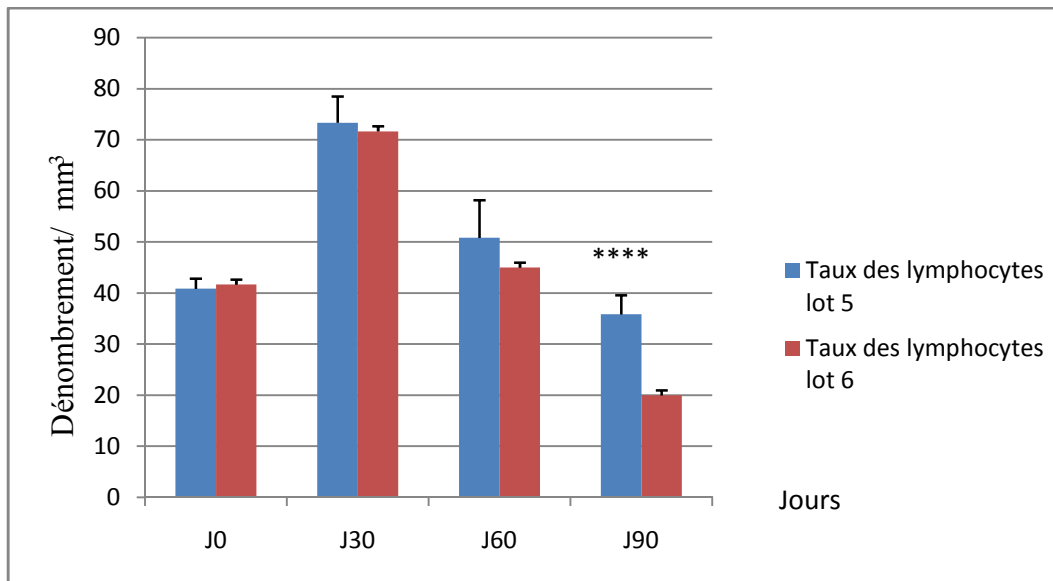


Figure 73. Détermination du taux des lymphocytes jusqu'au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

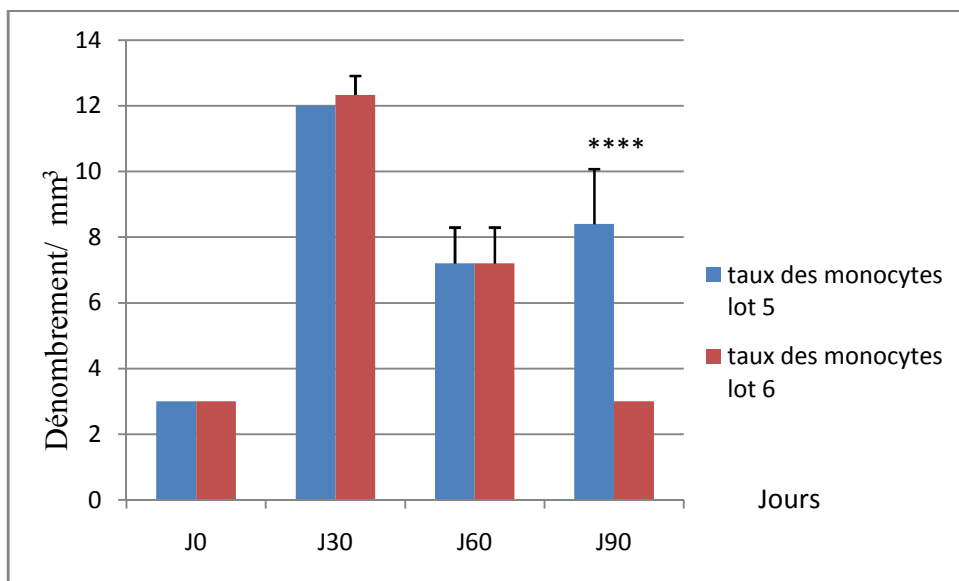


Figure 74. Détermination du taux des monocytes jusqu'au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

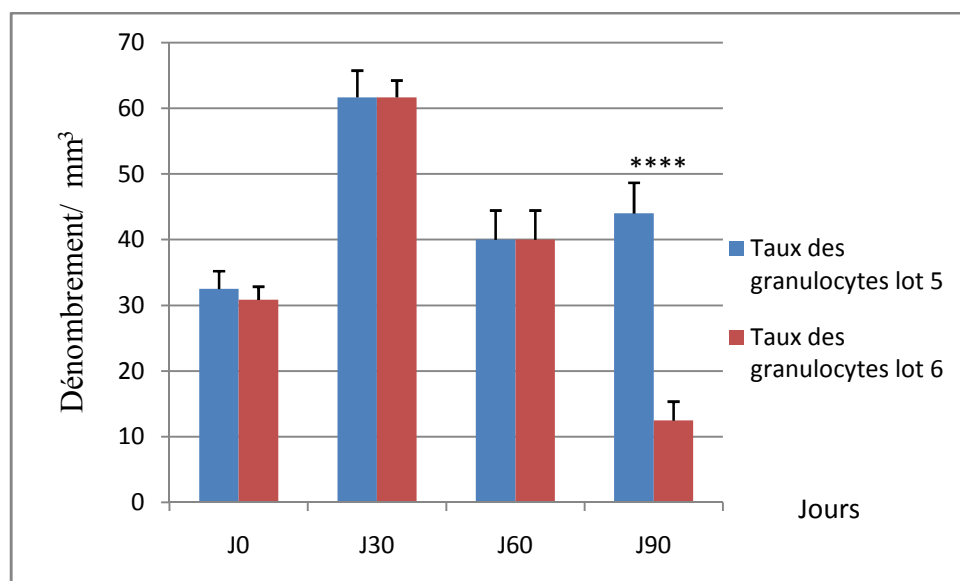


Figure 75. Détermination du taux des granulocytes jusqu'au 90^{ème} Jour des lots 5 et 6

D'après les **figures 72, 73, 74 et 75**, nous avons également remarqué que les taux des globules blancs, Leu, Lym, Mon et Gran ont significativement diminués en les comparants avec ceux du lot 5. Ceci pourra être dû à l'action de l'anti IL6 (8.16 ± 0.01) 10^3 mm^3 (20 ± 0.04) 10^3 mm^3 (3 ± 0.01) 10^3 mm^3 ($12,5 \pm 0.07$) 10^3 mm^3 par rapport à (10.4 ± 0.02) 10^3 mm^3 (35.83 ± 0.09) 10^3 mm^3 (8.4 ± 0.04) 10^3 mm^3 (44 ± 0.12) 10^3 mm^3 respectivement.

III.3.4. Les hémocultures

Les résultats des hémocultures sur les milieux de culture utilisés sont présentés dans les tableaux suivants :

III. 3.4.1. Les hémocultures des lots : 1, 2, 3, 4, 5 et 6 au 30^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau 17. Hémocultures du lot 1 et 2 du 30^{ème} Jour

	Lot 1	Lot 2
Sur gélose au sang (COS)	négative	positive
Sur gélose au chocolat (PVX)	négative	positive
Bouillon au thioglycollate	négative	positive

Tableau 18. Hémocultures des lots 4 et 5 du 30^{ème} Jour

	Lot 3	Lot 4
Sur gélose au sang (COS)	positive	positive
Sur gélose au chocolat (PVX)	positive	positive
Bouillon au thioglycollate	positive	positive

Tableau 19. Hémocultures des lots 5 et 6 du 30^{ème} Jour

	Lot 5	Lot 6
Sur gélose au sang (COS)	positive	positive
Sur gélose au chocolat (PVX)	positive	positive
Bouillon au thioglycollate	positive	positive

Sur tous les milieux de culture utilisés pour les lots 2, 3, 4, 5 et 6 il y a eu une culture de PBA positive, sauf ceux du lot 1 (témoin négatif) qui ne présentaient aucun développement de colonies bactériennes.

III.3.4.2. Les hémocultures des lots: 3, 4, 5 et 6 au 60^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau 20. Hémocultures des lots 3 et 4 du 60^{ème} Jour

	Lot 3	Lot 4
Sur gélose au sang (COS)	positive	négative
Sur gélose au chocolat (PVX)	positive	négative
Bouillon au thioglycollate	positive	négative

Tableau 21. Hémocultures des lots 5 et 6 du 60^{ème} Jour

	Lot 5	Lot 6
Sur gélose au sang (COS)	négative	négative
Sur gélose au chocolat (PVX)	négative	négative
Bouillon au thioglycollate	négative	négative

Sur les milieux de culture utilisés, après une Antibiothérapie, les lots 4, 5 et 6 ne présentaient aucun développement bactérien sauf sur ceux du lot 3, témoin, il y a eu un développement bactérien. Ce ci est pourrait être dû à l'efficacité du traitement.

III.3.4.3. Les hémocultures des lots 5 et 6 au 90^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau 22. Hémocultures des lots 5 et 6 du 90^{ème} Jour

	Lot 5	Lot 6
Sur gélose au sang (COS)	négative	négative
Sur gélose au chocolat (PVX)	négative	négative
Bouillon au thioglycollate	négative	négative

Les milieux de culture utilisés pour les lots 5 et 6 ne présentaient aucun développement bactérien d'où la suggestion qu'il n ya pas eu de récurrence après 1mois du traitement antibiotique.

III.3.5. Détermination de l'activité enzymatique de la Myéloperoxydase

La MPO est une enzyme produite et libérée à partir des granules primaires des PNN. C'est un marqueur de l'invasion tissulaire par les PNN, elle est responsable de la synthèse de nombreuses espèces oxydantes qui participent à la défense de l'hôte telles que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Sertejn *et al.*, 2003). La MPO est considérée comme marqueur inflammatoire dans de nombreuses pathologies liées à l'activation des neutrophiles et à leur infiltration tissulaire telles que les pathologies inflammatoires, cardiovasculaires et infectieuses (Hoya *et al.*, 2002).

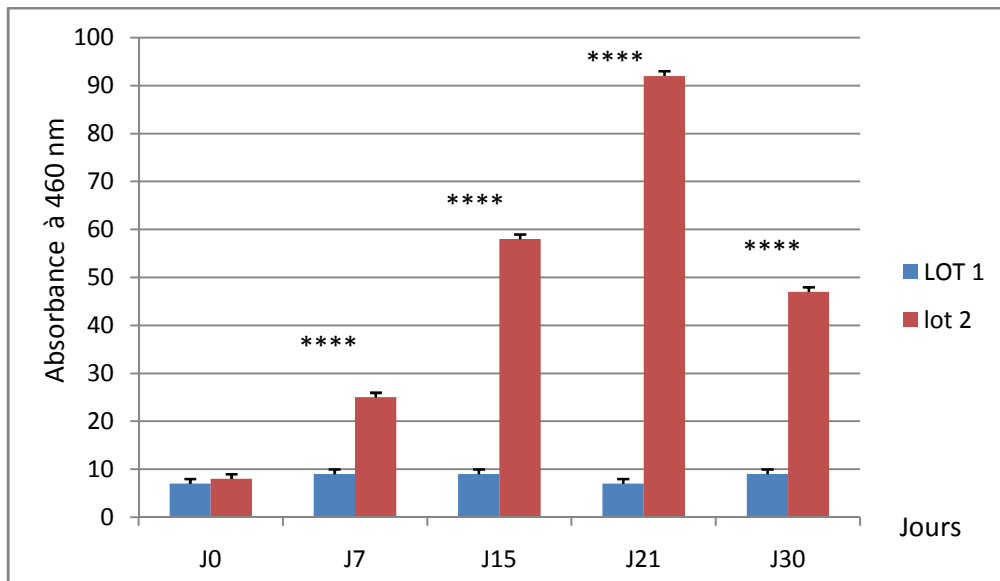


Figure 76. Détermination de l’activité enzymatique de la Myéloperoxydase dans le sérum des lots 1 et 2

En comparant avec le lot témoin, les résultats obtenus montrent une élévation de l’activité enzymatique de la MPO du lot 2, à partir du 7^{ème} Jour ($0.47 \pm 0,03\Delta DO$) ($0.09 \pm 0,03\Delta DO$) respectivement. Ce ci est due à la réaction inflammatoire et l’infiltration des PNN, après induction de la maladie par P.acnes. l’augmentation de cette activité reflète la dégranulation massive des PNNet une libération de la MPO dans le milieu extracellulaire. Ces résultats sont en accord par ce qui est rapporté dans les travaux de (Hoya *et al.*, 2002).

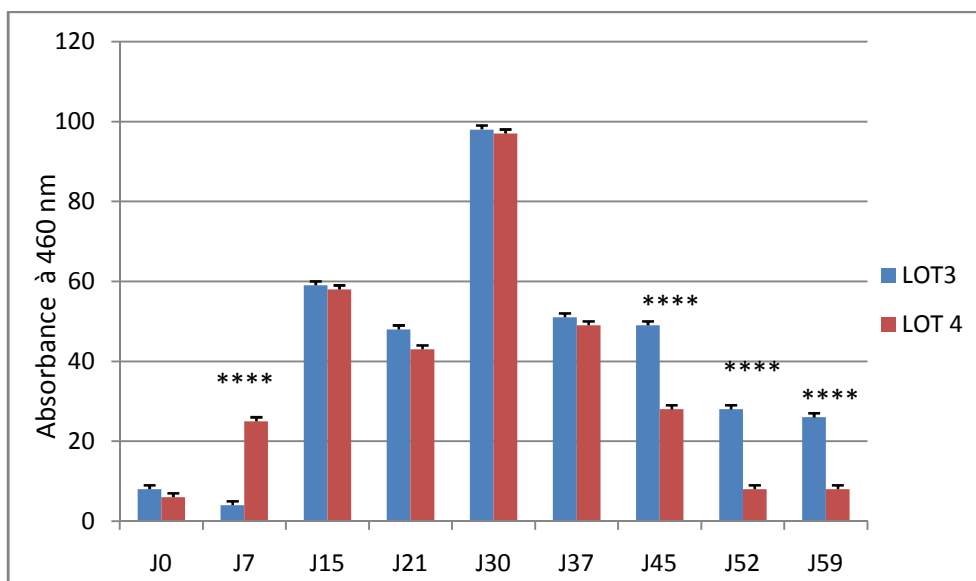


Figure 77. Détermination de l’activité enzymatique de la Myéloperoxydase dans le sérum des lots 3 et 4

On a remarqué une diminution hautement significative du taux de la MPO chez le lot 4 traité par antibiothérapie par rapport au lot 3 non traité à partir du 45^{ème} jour ($28 \pm 0,03\Delta DO$) ($49 \pm 0,03\Delta DO$) respectivement.

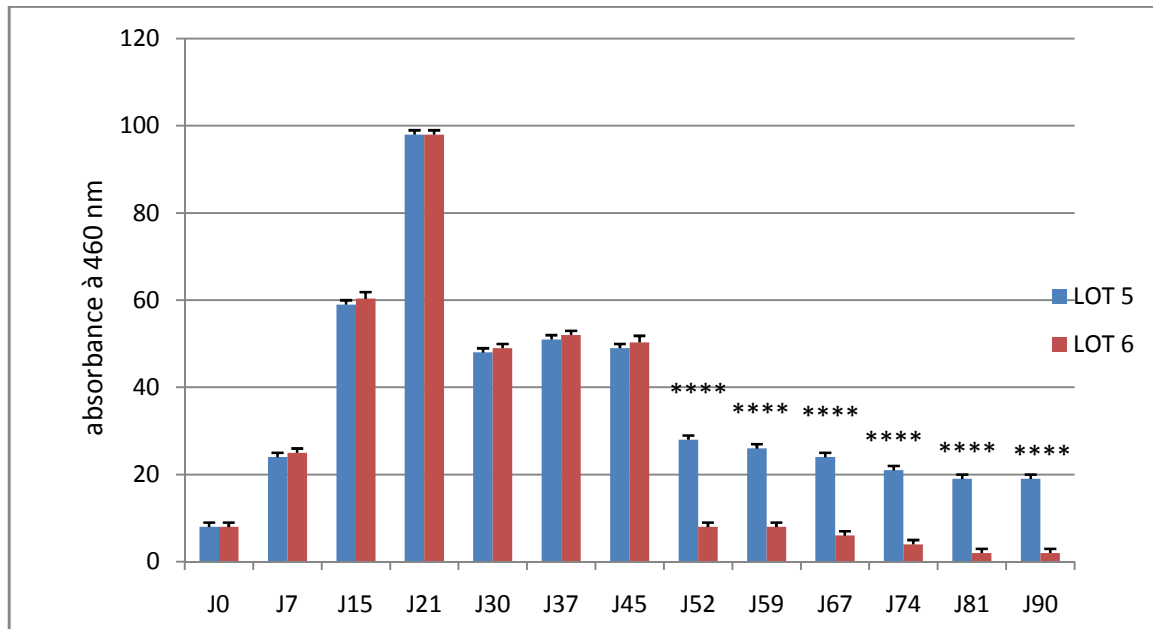


Figure 78. Détermination de l'activité enzymatique de la Myéloperoxydase dans le sérum des lots 5 et 6

Le traitement par Tocilizumab a réduit significativement l'activité de la MPO au niveau du sérum du lot traité (lot 6), comparativement au lot non traité (lot 5) ($2 \pm 0.03\Delta DO$) ($19 \pm 0.03\Delta DO$) respectivement. Le taux des PNN est réduit après épuisement des réserves mastocytaires en médiateurs inflammatoires sous l'effet de l'antiIL6.

III.3.6. Détermination de l'activité enzymatique de la Peroxydase éosinophile

L'EPO fait partie des protéines cationiques localisées dans les granules des éosinophiles, elle est libérée après l'activation de ces cellules par les médiateurs de la réaction inflammatoire. C'est un marqueur de l'infiltration des polynucléaires éosinophiles dans le site inflammatoire. Elle est constituée de deux sous-unités catalysant la formation de radicaux libres d'oxygène ($O^{\cdot -}$) (Wang et al., 2006).

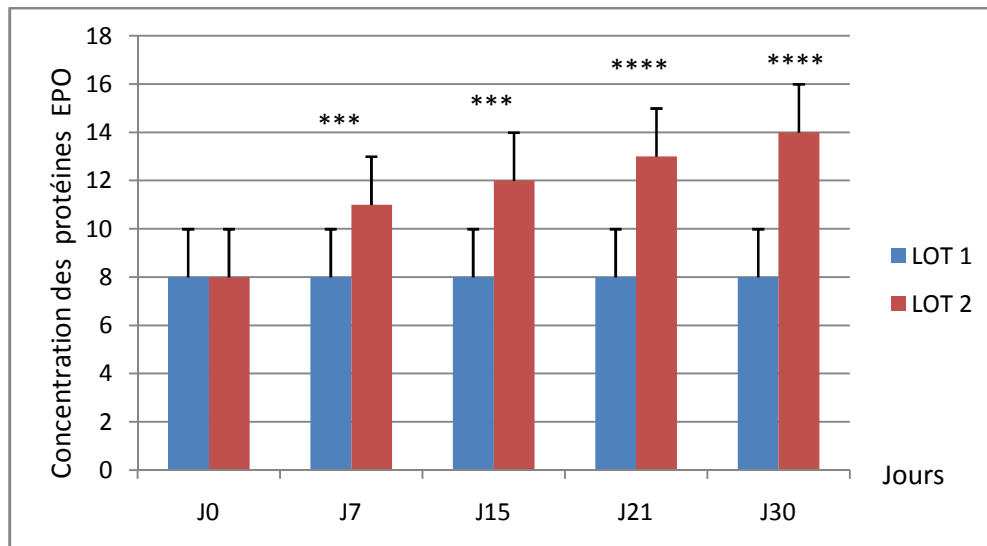


Figure 79. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile dans le sérum des lots 1 et 2

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de l'activité enzymatique de l'EPO chez le lot 2 par rapport au lot 1 (témoin) ($14 \pm 0,03\text{mg/ml}$) ($8 \pm 0,03\text{mg/ml}$) respectivement. Malgré l'activité modérée des éosinophiles dans une infection bactérienne.

Selon **Wang et al., 2006 ; Raffi et al., 2008**, cette augmentation de l'activité enzymatique de l'EPO est due à l'accumulation marquée d'éosinophiles qui sont recrutés par la libération massive des cytokines (IL5).

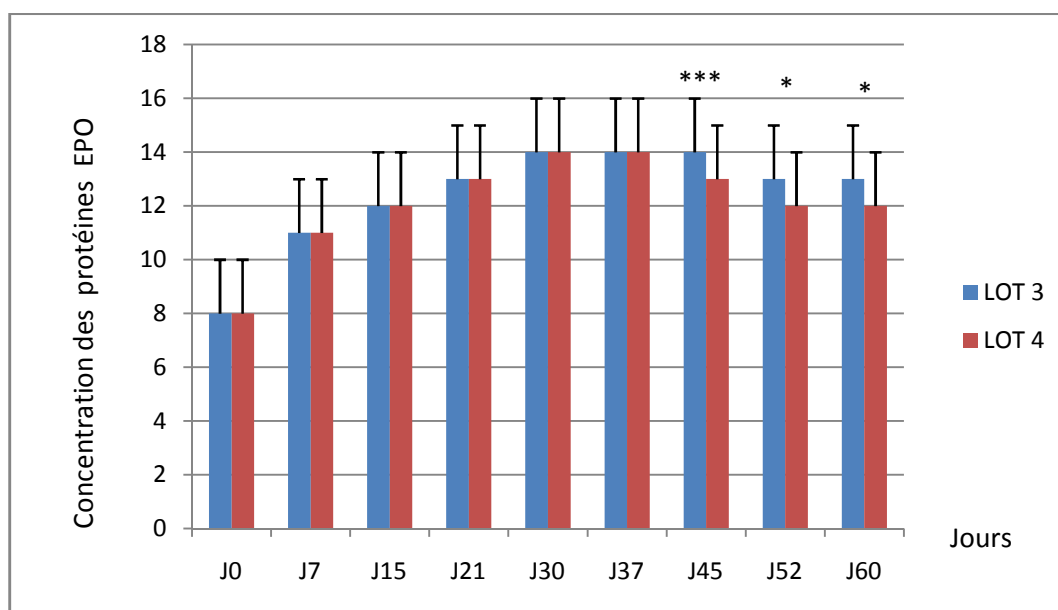


Figure 80. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile dans le sérum des lots 3 et 4

Ces résultats montrent une diminution hautement significative de l'EPO chez le lot traité par un traitement antibiotique en le comparant avec le lot non traité (13 ± 0.03 mg/ml) (14 ± 0.0303 mg/ml) respectivement.

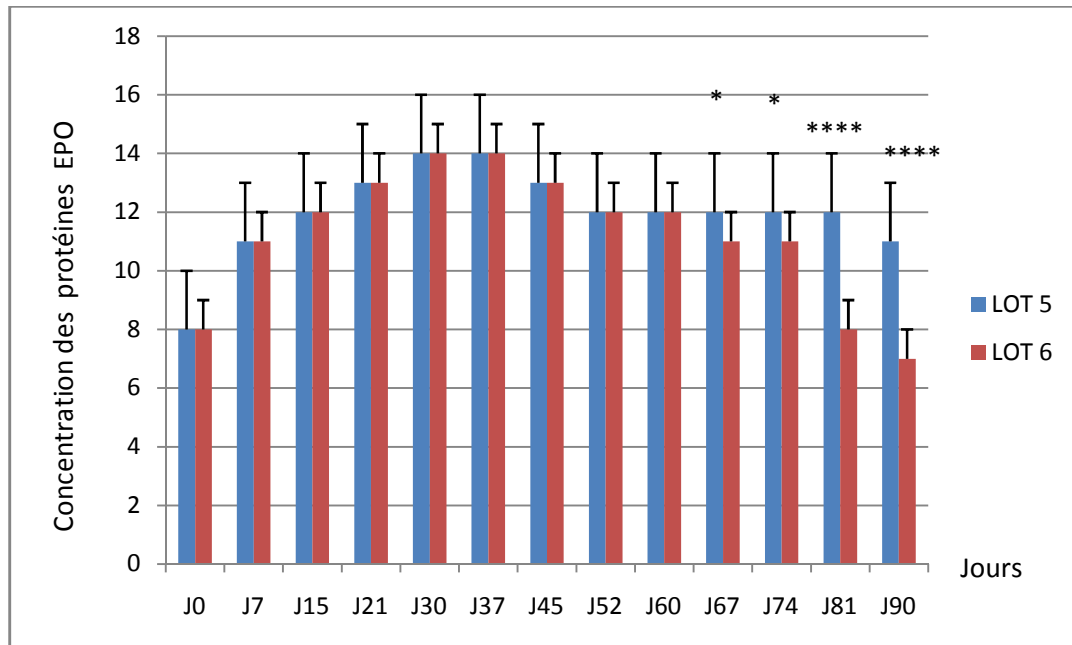


Figure 81. Détermination de l'activité enzymatique de la peroxydase éosinophile dans le sérum des lots 5 et 6

Ces résultats montrent une diminution hautement significative de l'EPO chez le lot traité par un traitement à l'anti-IL6 en le comparant avec le lot non traité à l'IL6 (7 ± 0.0103 mg/ml) (11 ± 0.0103 mg/ml) respectivement.

III.3.7. Détermination de la concentration du radical libre NO

Le Monoxyde d'azote (NO) est un radical libre produit par oxydation de l'arginine sous l'action d'une famille d'enzymes : les NO synthases (NOS). Il est l'un des effecteurs de la cytotoxicité des macrophages possédant des propriétés inflammatoires. Il est produit en grande quantité dans les voies aériennes supérieures. Sa production est accrue en situation d'inflammation, notamment dans la rhinite allergique où il est un marqueur de l'inflammation et de l'installation de l'œdème au niveau des muqueuses (**Granier. 2005 ; Barrios *et al.*, 2012**).

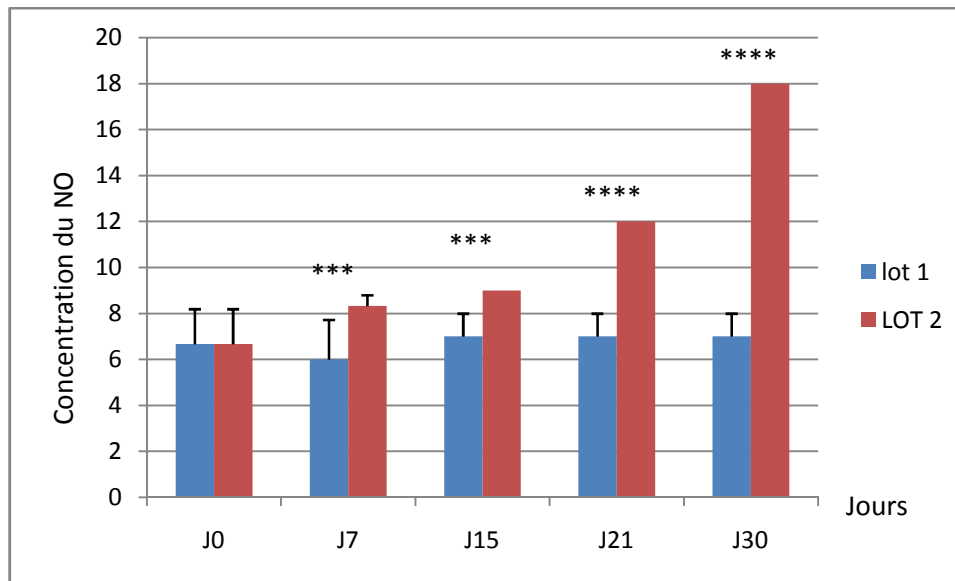


Figure 82. Détermination du taux du monoxyde d'azote dans le sérum des lots 1et 2

Les résultats obtenus montrent une élévation du taux de NO après induction de la maladie chez le lot 2 par rapport au lot 1 témoin ($14 \pm 0,03\mu\text{M}$) ($8 \pm 0,03\mu\text{M}$) respectivement. Ceci est dû à l'activation des cellules inflammatoires et par conséquent la production massive des radicaux libres. Ces derniers sont le résultat de la séquestration des PNN dans les articulations. Ce qui concorde avec les résultats rapportés par **Sennequier.N et al.,1998**.

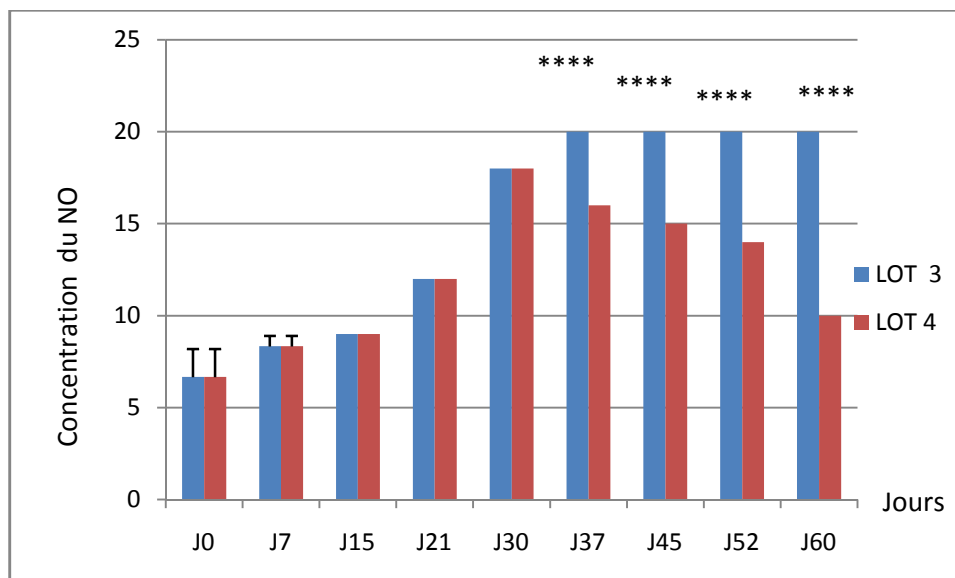


Figure 83. Détermination du taux du monoxyde d'azote dans le sérum des lots 3et 4

On a noté une diminution hautement significative de la concentration du NO du lot 4 à partir du 37^{ème} jour du traitement avec l'antibiotique par rapport au Lot 3 ($16 \pm 0,03\mu\text{M}$) ($20 \pm 0,03\mu\text{M}$) respectivement.

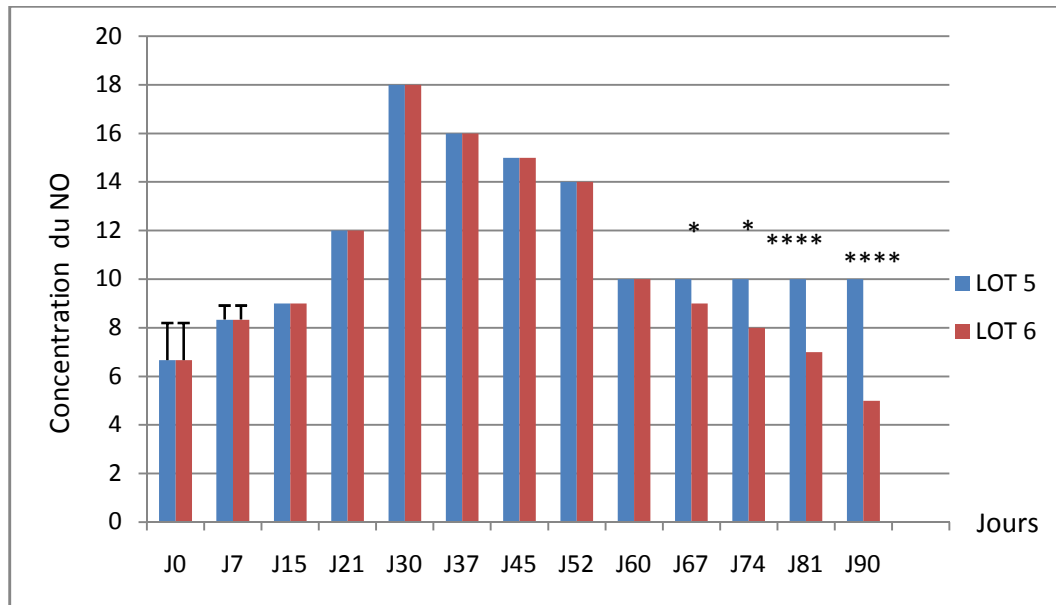


Figure 84. Détermination du taux du monoxyde d'azote dans le sérum des lots 5 et 6

On a noté une diminution hautement significative de la concentration du NO du lot 6 à au 90^{ème} jour du traitement avec Tocilizumab par rapport au Lot 5 ($5 \pm 0.02\mu\text{M}$) ($10 \pm 0.02\mu\text{M}$) respectivement.

D'après **Allais E, 2010** l'atteinte du synovial est généralement responsable d'une arthrite pure, sans infection osseuse. La riche vascularisation des diarthroses, notamment par de nombreuses branches artérielles péri-articulaires qui traversent la capsule fibreuse favorise cette atteinte. La pénétration du microorganisme est suivie d'une réaction inflammatoire avec une hyperhémie locale et une réaction cellulaire riche en polynucléaires. La multiplication bactérienne dans l'articulation engendre un épanchement purulent qui contient des enzymes protéolytiques libérées par les polynucléaires neutrophiles (collagénases et élastases, principalement) et responsables de la destruction articulaire.

Selon **Gahukamble AD et al., 2014** typiquement la réaction immunitaire innée à l'infection bactérienne implique la reconnaissance de bactéries par les récepteurs spécifiques qui activent la phagocytose d'organismes extracellulaires. L'activation de récepteur mène

aussi à la libération des cytokines inflammatoires, des lipases et des protéases. Par contraste avec les infections de la hanche et le genou periprosthetique avec les bactéries, la réponse inflammatoire à *Propionibacterium* est mutée et permet la progression furtive pour endosser l'échec de l'arthroplastie facilité par la capacité apparente des bactéries pour échapper à la reconnaissance par les récepteurs cellulaires de l'hôte.

Certaines études suggèrent que l'activation de la cascade inflammatoire normale dans les infections à *Propionibacterium* est limitée. Le manque de réaction immunitaire peut aussi être lié à la tendance de *Propionibacterium* pour résider dans un biofilm où ils sont relativement isolés du système immunitaire des hôtes (**Shiono Y *et al.*, 2014**).

Le système immunitaire va également participer aux lésions cellulaires par le recrutement de monocytes/ macrophages et de polynucléaires neutrophiles lors de la réaction inflammatoire. En effet, ces cellules ont des effets bénéfiques qui permettent de réduire la mortalité due au sepsis en facilitant la clairance bactérienne.

Néanmoins, elles vont aussi entraîner une intensification de la sévérité des atteintes articulaires, d'une part, en libérant des radicaux libres oxygénés et des protéases lysosomales et, d'autre part, en entretenant la production en cascade de nombreuses cytokines pro inflammatoires. Lorsque des superantigènes sont sécrétés par la bactérie, la réponse inflammatoire de l'hôte se trouve accentuée, avec une proportion accrue de lymphocytes T activés, ce qui a été largement rapporté par **Guillaume G. A *et al.*, 2015**.

III.3.8. Les facteurs rhumatoïdes

III.3.8.1. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 1, 2, 3, 4, 5 et 6 au 30^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau 23. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 1 et 2 au 30^{ème} Jour

	Lot 1	Lot 2
Contrôle positif	positif	positif
Contrôle négatif	négatif	négatif
Echantillons/ 6lapins	négatif	négatif

Tableau 24. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 3 et 4 au 30^{ème} Jour

	Lot 3	Lot 4
Contrôle positif	positif	positif
Contrôle négatif	négatif	négatif
Echantillons/ 6lapins	négatif	négatif

Tableau 25. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 5 et 6 au 30^{ème} Jour

	Lot 5	Lot 6
Contrôle positif	positif	positif
Contrôle négatif	négatif	négatif
Echantillons/ 6lapins	négatif	négatif

Il n y a eu aucune détection du FR dans tous les sérums concernant les lots 1, 2, 3,4, 5 et 6 au 30^{ème} Jour.

III. 3.8.2. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 3, 4, 5 et 6 au 60^{ème} Jour de l'expérimentation

Tableau 26. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 3 et 4 au 60^{ème} Jour

	Lot 3	Lot 4
Contrôle positif	positif	positif
Contrôle négatif	négatif	négatif
Echantillons/ 6lapins	positif	positif
Le titre du sérum	08UI/ ml	08UI/ ml

Tableau 27. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 5 et 6 au 60^{ème} Jour

	Lot 5	Lot 6
Contrôle positif	positif	positif
Contrôle négatif	négatif	négatif
Echantillons/ 6lapins	positif	positif
Le titre du sérum	08UI/ ml	08UI/ ml

Au 60^{ème} Jour de notre expérimentation nous avons détecté la présence des FR dans les sérums des lots 3, 4, 5 et 6 ce qui peut expliquer ce qui a été rapporté par **Dubost J et al., 2000**. Concernant l'arthrite septique peut être à l'origine d'une polyarthrite rhumatoïde.

III. 3.8.3. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 1, 2, 3, 4, 5 et 6 au 90^{ème} Jour de l'expérimentation

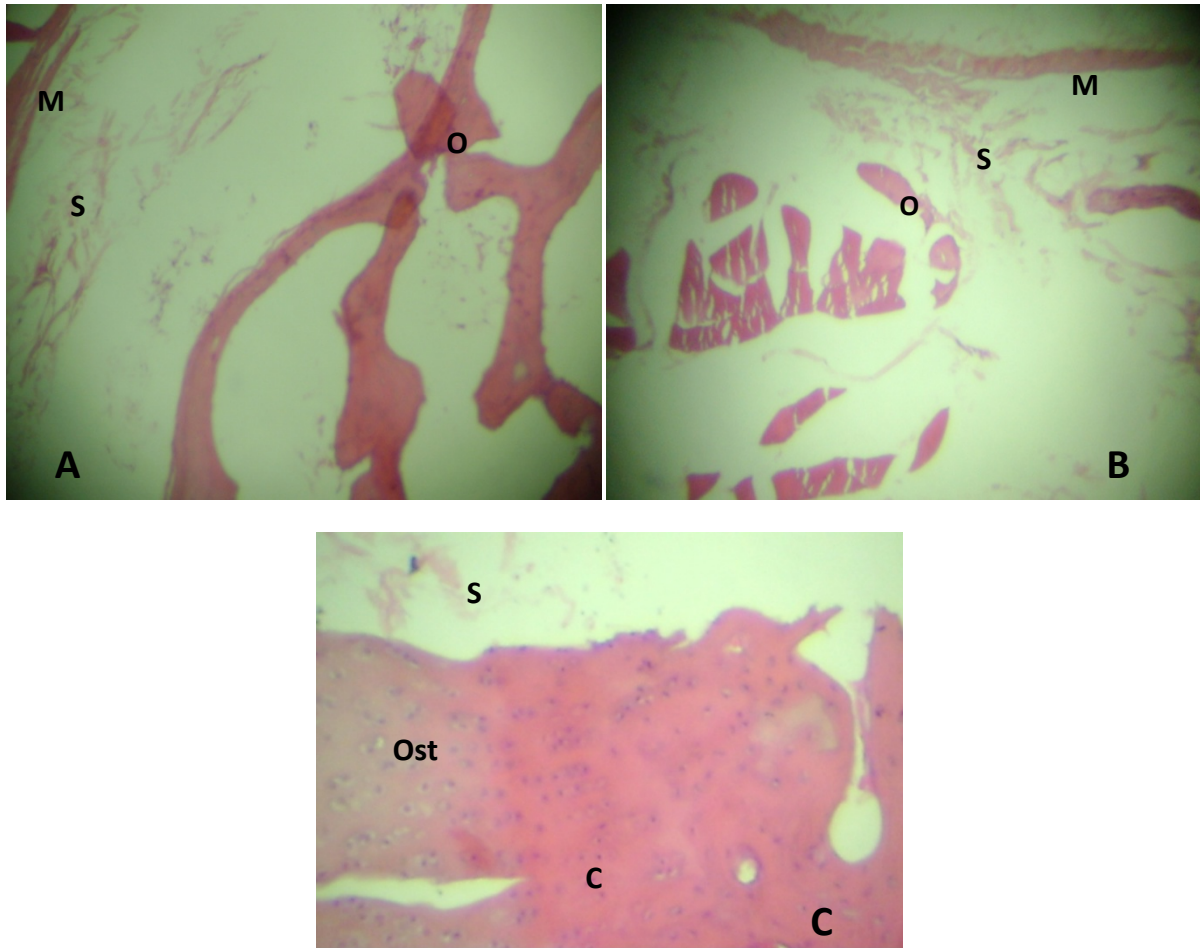
Tableau 28. Résultats de la réaction de Waaler- Rose des lots 5 et 6 au 90^{ème} Jour

	Lot 5	Lot 6
Contrôle positif	positif	positif
Contrôle négatif	négatif	négatif
Echantillons/ 6lapins	positif	négatif
Le titre du sérum	32UI/ ml	< 08UI/ ml

En comparant entre les lots 5 et 6 au 90^{ème} Jour nous avons soulevé une absence de FR dans le lot 6 avec un taux inférieur à 08UI/ ml, ce qui peut être lié à l'effet biologique de Tocilizumab. Tandis que dans le lot 5 (témoin), le FR a été détecté à une concentration de 32UI/ml.

III.9. Etude histologique

III.9.1. Histologie du genou de lapin du lot 1 (contrôle négatif) au 30^{ème} Jour de l'expérimentation

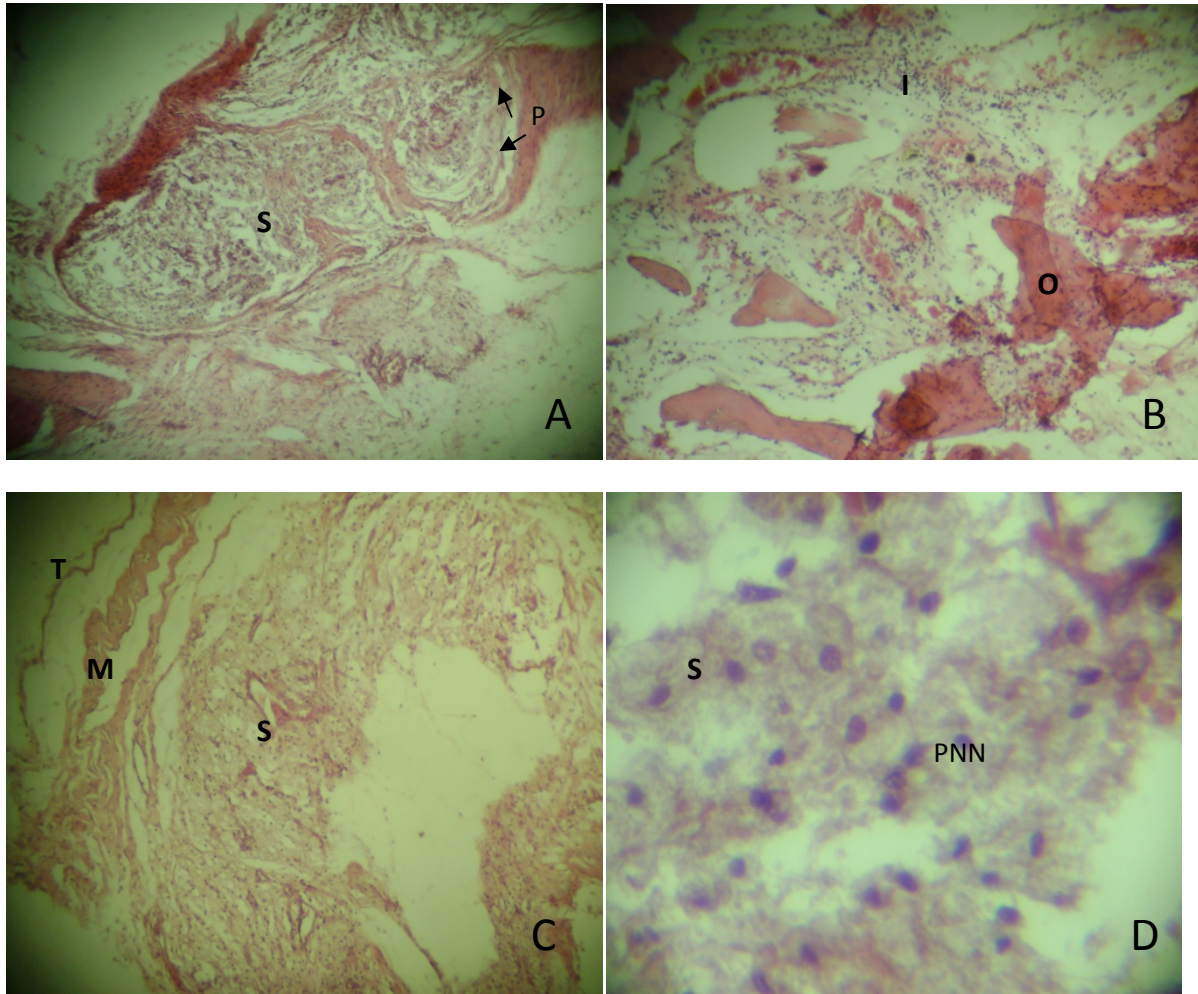


(Originaux, 2016)

Figure 89. Histologie du genou de lapin du lot 1 (contrôle négatif) au 30^{ème} Jour de l'expérimentation **A.** (HE G× 100) Tissu synovial avec l'Os mature lamellaire sain; **B.** (HE G× 20) Lamelles osseuses sans inflammation associées aux muscle et du tissu adipeux ; **C.** (HE G × 20) il n y a pas d'inflammation. O : Os. S : Synovial. M : Muscle. Ost : Ostéocytes.

Sur **la figure 89** le contrôle négatif ne présente aucun signe d'inflammation au 30^{ème} jour depuis l'expérimentation.

III.9.2. Histologie du genou de lapin du lot 2 (contrôle positif) au 30^{ème} Jour de l'expérimentation



(Originaux, 2016)

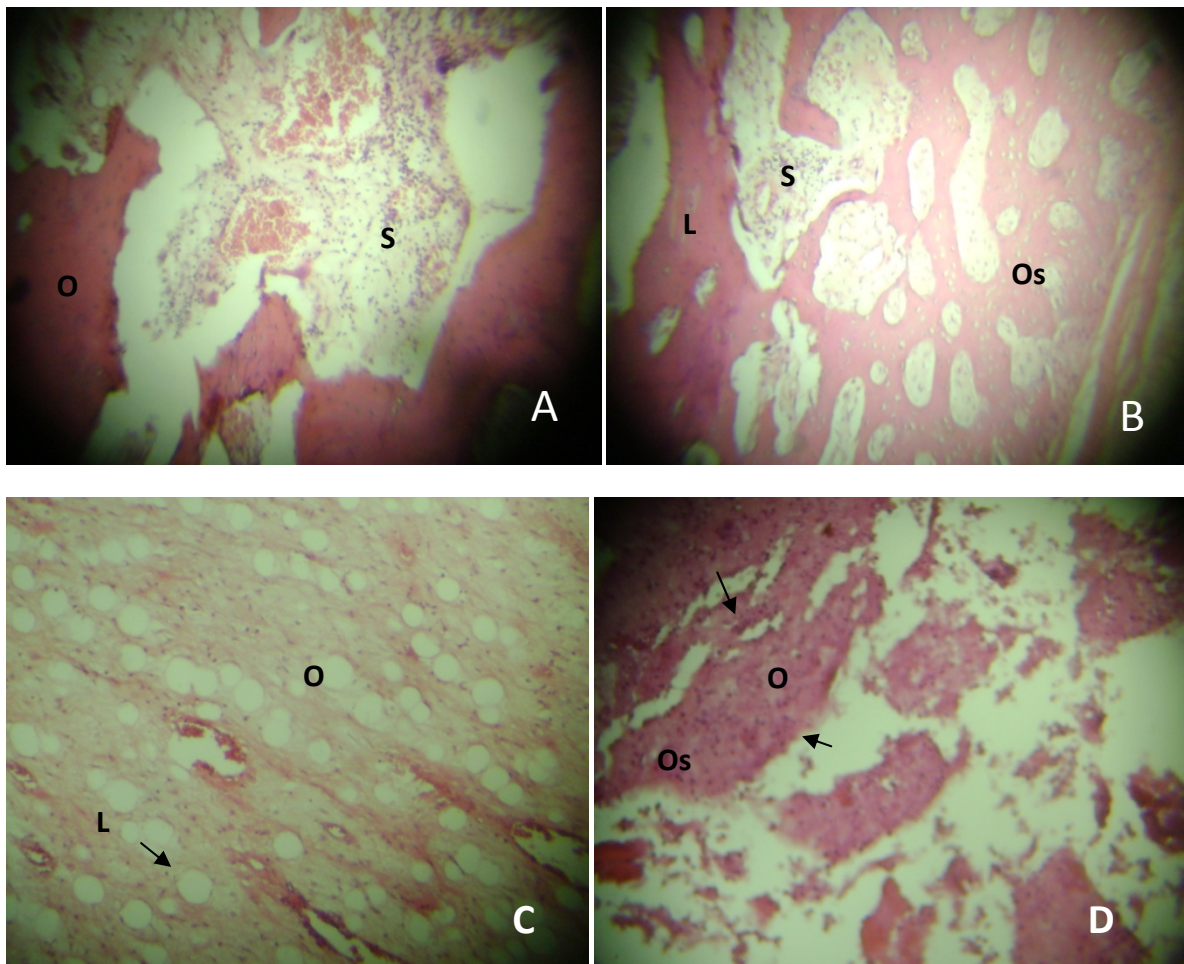
Figure 90. Histologie du genou de lapin du lot 2 (contrôle positif). **A et B.** Phénomène inflammatoire polymorphe avec des amas d'histiocytes dans la synoviale indiquant une synovite inflammatoire nodulaire. **C.** (HE G \times 10) Phénomène inflammatoire s'étend jusqu'à la synoviale. **D.** (HE G \times 40) : phénomène inflammatoire avec des polynucléaires. **O** : Os. **S** : Synovial. **P** : Pannus synoviaux. **M** : Muscle. **T** : Tissu adipeux. **PNN** : polynucléaires neutrophiles. **I** : inflammation.

D'après la **figure 90**, on a remarqué qu'il y a développement d'une synovite au niveau des genoux des lapins du lot 2 (contrôle positif) après 30 jours depuis l'induction de P. acnes. Cette pathologie, se traduit par un épaissement de la membrane synoviale pouvant aller jusqu'à éroder l'os se trouvant en dessous, et entraînant des nodules inflammatoires que l'on

appelle des pannus synoviaux. Ces résultats sont comparables à ceux de (Mathews CJ *et al.*, 2010).

Selon Combe. 2007, la sécrétion d'enzymes de dégradation tels que les Matrix Métalloprotéinases MMP par les fibroblastes est une des conséquences de l'inflammation chronique. Ces enzymes ont pour cible les fibres de collagène qui forme le cartilage et provoque leur dégradation.

III.9.3. Histologie du genou de lapin du lot 3 non traité au 60^{ème} Jour de l'expérimentation



(Originaux, 2016)

Figure 91. Effet de l'induction de l'arthrite sur le lot 3 sans antibiothérapie. **A.** HE (G ×10) Phénomène inflammatoire polymorphe ostéite+ grignotage de l'os (érosion) avec multiples Ostéoclastes. **B.** HE (G ×20) : érosion de l'os avec phénomène d'ostéoclasie laissant un matériel grumeleux dans la matrice cellulaire. **C et D.** HE (G × 40) : un fragment osseux grignoté. **O** : Os. **S** : Synovial. **Os** : Ostéoclastes. **L** : lacune vide.

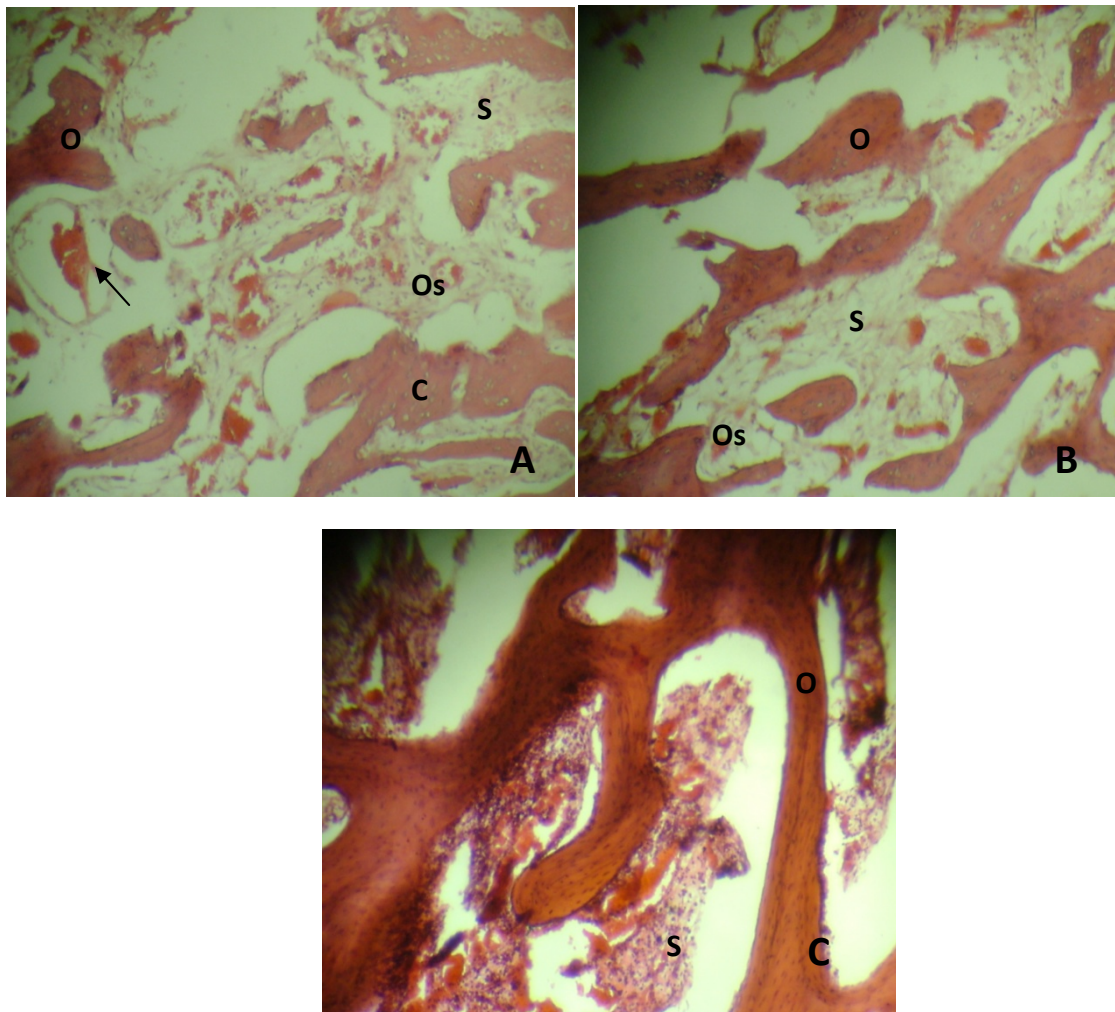
On a noté sur la **figure 91**, une inflammation aiguë nécrosante et suppurée l'os. La nécrose osseuse se traduit par la dégénérescence et la disparition des ostéocytes (lacunes optiquement vides) (**figure 91.C**).

D'après **P. Cope. A. 2007**, Une des effets directe de l'excès de l'IL6 est la suractivation des ostéoclastes qui peut entraîner une perte osseuse. Ce phénomène pourrait expliquer l'érosion osseuse observée.

L'inflammation chronique locale des articulations provoque une augmentation de la quantité d'IL6 circulantes et de son récepteur soluble et fait apparaitre divers effets systémiques.

Selon (**Goldenberg DL. 1985**), le tissu osseux nécrosé conserve sa forme lorsque la nécrose est étendue ou se fragmente. Les petits fragments osseux nécrosés disparaissent progressivement par résorption macrophagique ou ostéoclastique, mais les gros fragments ou séquestres, persistent au sein du foyer infectieux, jouant le rôle de réservoir de germes microbiens inaccessibles aux antibiotiques. Seule l'ablation chirurgicale des séquestres, c'est-à-dire, la détersion du foyer infectieux, peut alors permettre la guérison par un processus de réparation assez comparable à celui qu'on observe au cours d'une fracture. Le pus diffuse rarement vers l'épiphyse dont il est séparé chez le sujet jeune par le cartilage de conjugaison.

III.9.4. Histologie du genou de lapin du lot 4 traité par antibiothérapie « amoxicilline associé à l'acide clavulanique» au 60^{ème} Jour de l'expérimentation

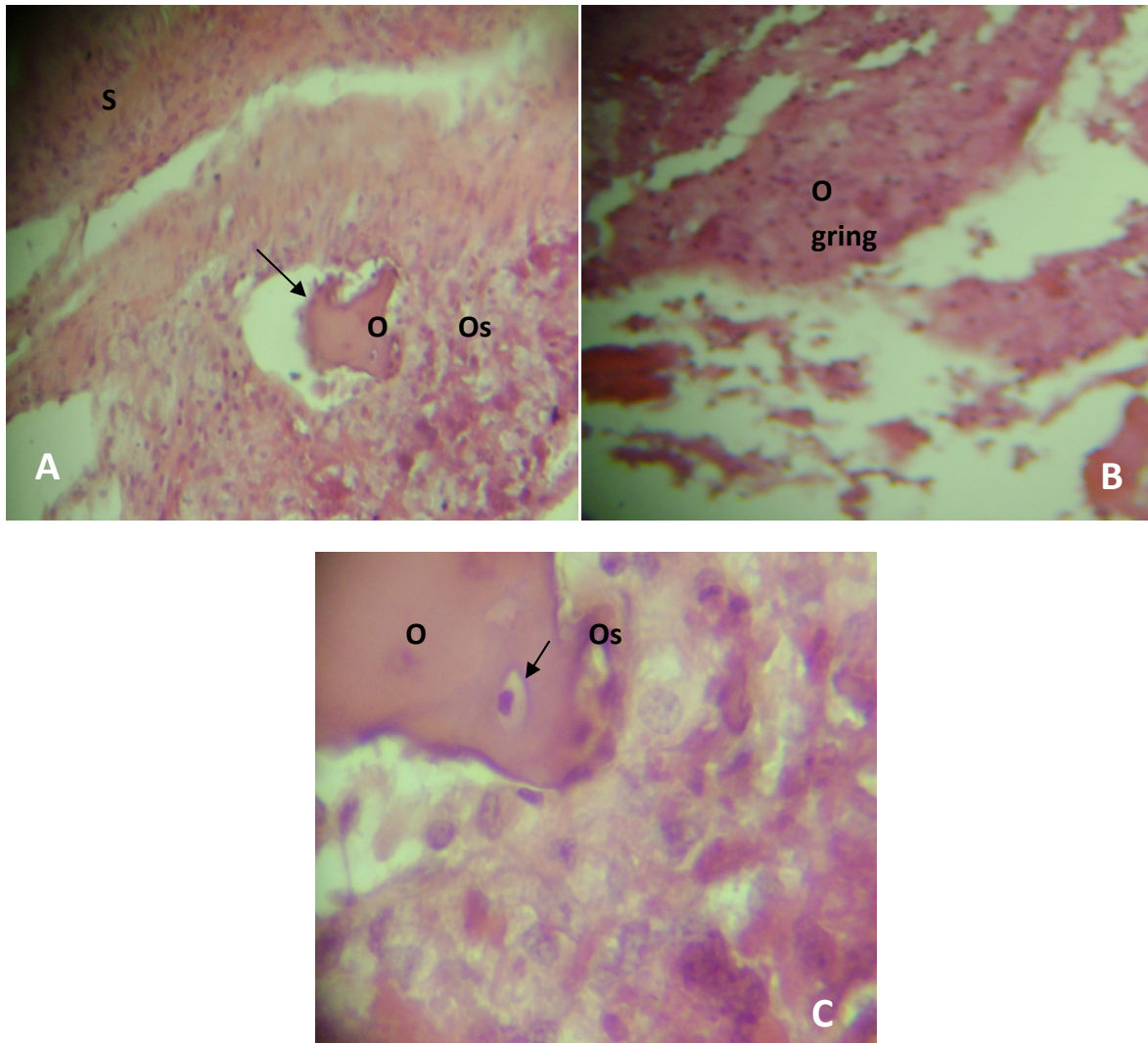


(Originaux, 2016)

Figure 92. Histologie du genou de lapin du lot 4 avec traitement antibiotique. **A.** (HE G \times 10) : un léger phénomène inflammatoire résiduel, plus rare au niveau du tissu synovial. **B.** (HE G \times 20) : érosion osseuse résiduelle expliquant une guérison partielle. **C.** (HE G \times 40) : au fort grossissement. **O** : Os. **S** : Synovial. **C** : Cartilage. **Os** : Ostéoclastes.

Sur la **figure 92**, on a noté un léger phénomène inflammatoire résiduel, avec une érosion osseuse persistante après traitement par antibiothérapie expliquant une guérison partielle.

III.9.5. Histologie du genou de lapin du lot 5 sous antibiothérapie « amoxicilline associé à l'acide clavulanique » sans traitement à Tocilizumab au 90^{ème} Jour de l'expérimentation



(Originaux, 2016)

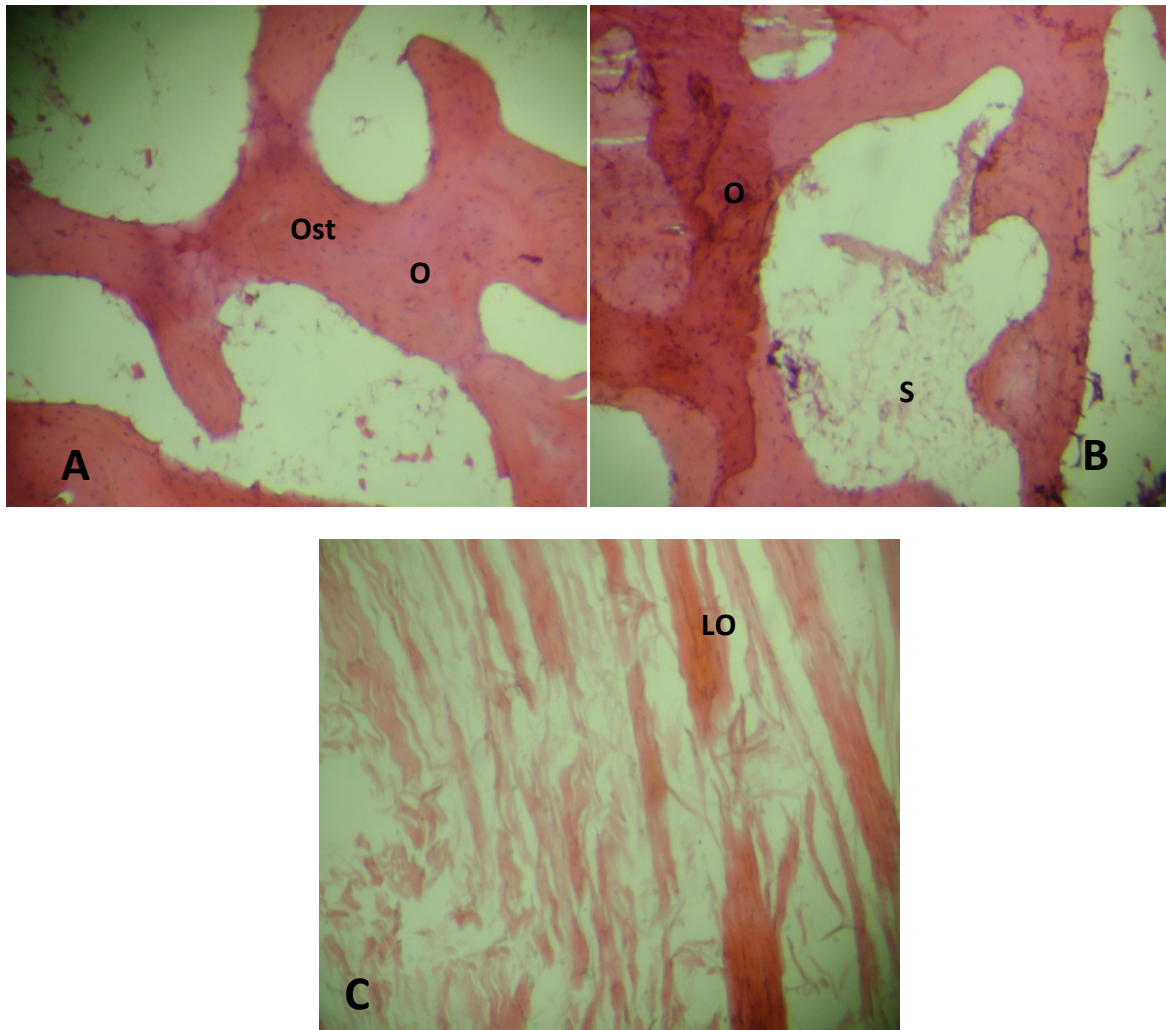
Figure 93. Histologie du genou de lapin du lot 5 avec antibiothérapie et sans traitement à Tocilizumab. **A.** (HE G \times 10) légère diminution du phénomène inflammatoire au niveau synoviale avec érosion massive osseuse à l'origine d'une ostéite. **B.** (HE G \times 20) : un fragment osseux grignoté. **C.** (HE G \times 40) : au fort grossissement, on note un os grignoté avec une présence de nombreux ostéoclastes. **O** : Os. **S** : Synovial. **Os** : Ostéoclastes. **O gring** : Os grignoté.

Sur la **figure 93**, on a remarqué une légère diminution de l'inflammation au niveau de la synovial mais les érosions osseuses sont massives à l'origine d'une ostéite. Donc il y a eu passage d'une synovite à une ostéite caractérisée par la présence de nombreux ostéoclastes.

Selon (**Goldenberg DL. 1985**), dans la cavité médullaire osseuse, ces réactions entraînent une compression des capillaires et des sinusoides, responsable de thromboses veineuses et artériolaires. L'ischémie provoque des zones d'infarctissement de la moelle grasseuse et hématopoïétique qui évolueront secondairement vers la formation d'abcès bordés par une réaction d'ostéoporose. Les thrombus septiques peuvent être à l'origine de métastases, soit à distance, soit dans des territoires osseux de voisinage expliquant la possibilité de pandiaphysite. Plus tardivement, des foyers de nécrose osseuse peuvent se constituer. Les petits foyers, toujours nombreux, peuvent être résorbés par l'action des ostéoclastes. Si le fragment d'os nécrosé est plus volumineux, la résorption est impossible et il se forme un séquestre osseux septique, première étape du passage à la chronicité. Ces réactions se produisent très rapidement.

Au contact des séquestres, le périoste réagit en produisant un os neuf. Cette réaction de néo-ostéogénèse peut atteindre une épaisseur considérable. Dans les ostéomyélites chroniques, cet os néoformé est creusé de multiples cavités comportant de petits séquestres dans lesquels des bactéries vivantes peuvent persistés indéfiniment.

III.9.6. Histologie du genou de lapin du lot 6 sous antibiothérapie « amoxicilline associée à l'acide clavulanique » jusqu'au 60^{ème} jour puis traité par un anti IL6 (Tocilizumab) jusqu'au 90^{ème} jour



(Originaux, 2016)

Figure 94. Histologie du genou de lapin du lot 6 sous antibiothérapie jusqu'au 60^{ème} jour puis traité par un anti IL6 (Tocilizumab) jusqu'au 90^{ème} jour. **A.** (HE G× 10) disparition de l'inflammation dans les différents tissus, Muscle et synoviale ; **B.** (HE G× 20) : disparition d'érosion avec un espace médullaire osseux sans inflammation indiquant une guérison totale ; **C.** (HE G× 40) : lamelles osseuses saines. **O:** Os. **S:** Synovial. **Ost:** Ostéoblastes. **LO:** lamelles osseuses.

On a noté une disparition totale de l'inflammation dans les différents tissus et disparition des érosions osseuses. Ce ci pourrait être expliqué par l'action de Tocilizumab sur la diminution de sécrétion de l'IL6. Cette dernière étant responsable du maintien du phénomène de l'inflammation au niveau de l'articulation.

Selon **Combe. B. (2007)**, La réduction de l'activité de l'IL6 peut avoir des effets cliniques tantôt au niveau articulaire qu'au niveau systémique. Le fait de réduire l'activité d'IL6 pourrait ralentir la dégradation du tissu synovial et réduire l'infiltration cellulaire excessive. Cette approche pourra permettre de soulager l'inflammation, le gonflement et la douleur articulaire. Elle peut également prévenir les lésions articulaires à long terme et possiblement soulager les effets systémiques tels que le taux bas d'hémoglobine et l'activité ostéoclastique.

III.10. Résultats de l'imagerie

III.10.1. Radiographie de lapin du lot 1 au 30^{ème} Jour de l'expérimentation

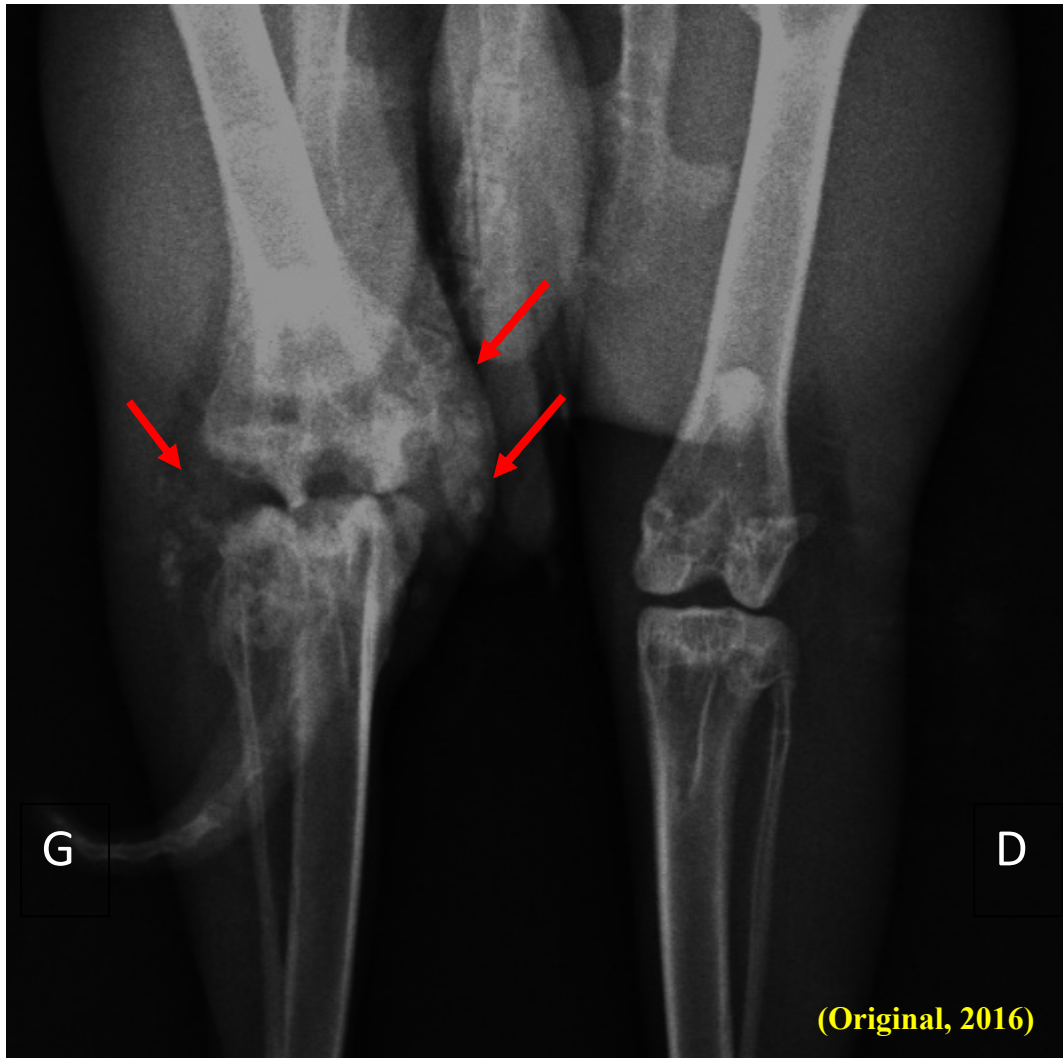


Figure 95. Radiographie montrant les articulations de lapin du lot 1 au 30^{ème} jour de l'expérimentation après induction de l'arthrite par *Propionibacterium acnes* au niveau du genou gauche (le genou droit est sain)

La **figure 95** montre une synovite caractérisée par un épaississement des parties molles du genou gauche avec un épanchement comparais au genou droit. Il y a eu un épaississement synovial avec une raréfaction osseuse péri articulaire. Il y a eu des érosions marginales et une chondrolyse. La membrane synoviale est dense avec une surcharge en hémossidérine.

III.10.2. Radiographie de lapin du lot 4 traité par antibiothérapie au 60^{ème} Jour de l'expérimentation

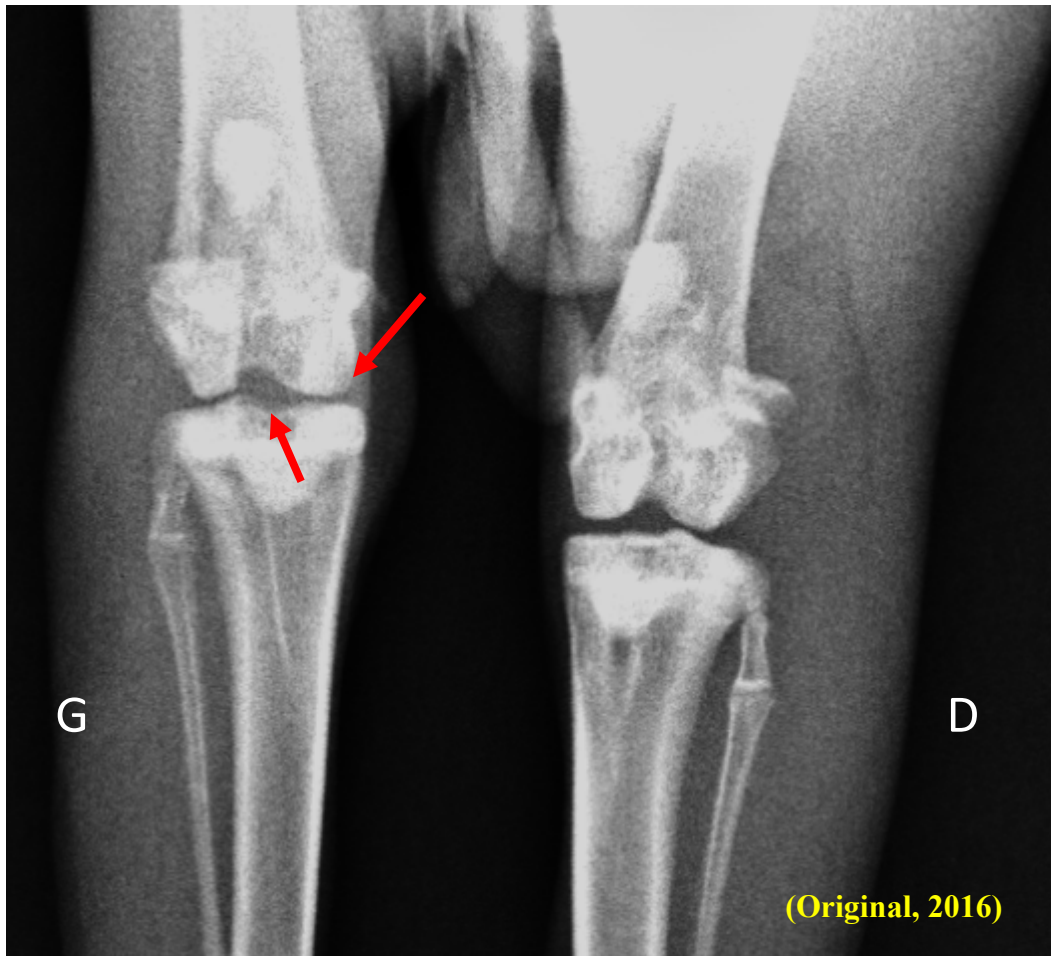


Figure 96. Radiographie montrant un résidu d'épaississement synovial et érosion chondrale de l'articulation du lapin du lot 4 au 60^{ème} jour de l'expérimentation après induction de l'arthrite par *Propionibacterium acnes* au niveau du genou gauche et traité par antibiothérapie du 30^{ème} jour jusqu'au 60^{ème} jour (le genou droit est sain)

On a noté sur la **figure 96**, en comparaison avec le genou droit, sur le genou gauche est le témoin d'une disparition de l'épaississement des parties molles. Aussi, le cartilage s'est aminci et il y a eu début d'une érosion osseuse.

III.10.3. Radiographie de lapin du lot 6 traité par antibiothérapie au 60^{ème} Jour de l'expérimentation puis traité par Tocilizumab (anti- IL6) jusqu'au 90^{ème} jour

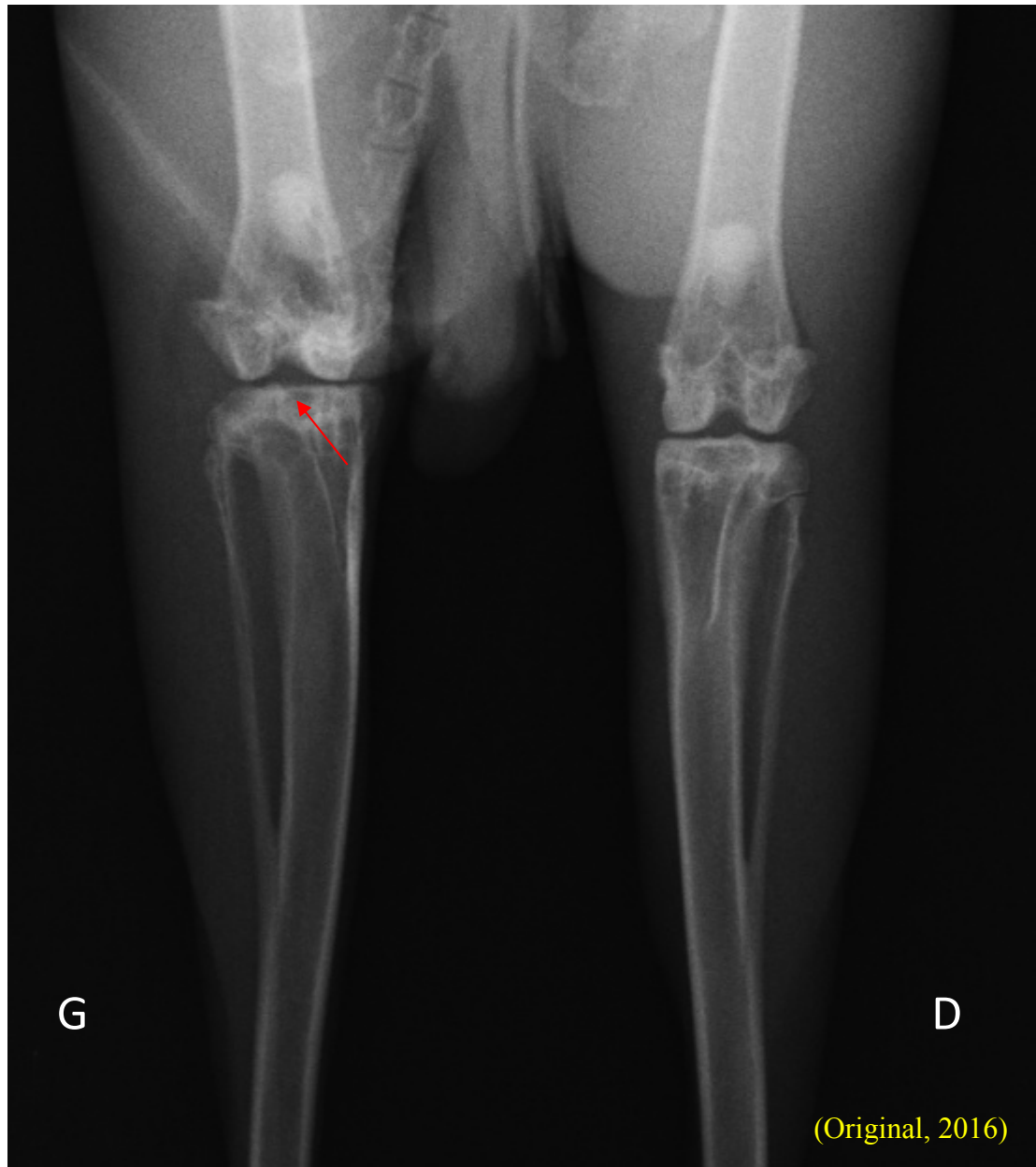


Figure 97. Radiographie montrant les articulations de lapin du lot 6 au 90^{ème} jour de l'expérimentation après induction de l'arthrite par *Propionibacterium acnes* au niveau du genou gauche et traité par antibiothérapie du 30^{ème} jour jusqu'au 60^{ème} jour puis traité par Tocilizumab du 60^{ème} jusqu'au 90^{ème} jour (le genou droit est sain)

Sur la **figure 97**, On a remarqué une régénération du cartilage et disparition des érosions osseuses au niveau du genou gauche comparablement au genou droit.

D'après **Combe. B.2007**, L'inhibition du récepteur de l'IL6 pourrait stopper le processus pathologique de l'arthrite septique et entrainer des améliorations significatives de la maladie tantôt au niveau local que systémique.

L'arthrite septique correspond à l'infection d'une articulation par une bactérie. Elle se distingue ainsi des arthrites post-infectieuses ou réactionnelles qui sont également d'origine infectieuse, mais pour lesquelles le microorganisme se développe à distance de l'articulation. Tous les individus peuvent être atteints mais la prévalence des arthrites septiques est plus importante chez le sexe masculin.

Dans l'arthrite septique, le plus souvent, la bactérie diffuse par voie hématogène à partir d'un foyer infectieux à distance, ce qui explique l'importance de la recherche d'une porte d'entrée, apparente ou non. Elle est donc considérée, à juste titre, comme une urgence diagnostique et thérapeutique, puisqu'en l'absence d'un traitement antibiotique précoce et adapté, le risque d'envahissement septique locorégional voire général est élevé, mettant en jeu le pronostic vital du patient, ainsi que le pronostic fonctionnel de l'articulation touchée. La morbidité revêt surtout la forme de séquelles articulaires fonctionnelles invalidantes consécutives à l'atteinte voire la destruction complète du revêtement cartilagineux (chondrolyse, fibrose).

Cette étude visait donc à mettre en œuvre un modèle expérimental fiable d'arthrite inflammatoire aiguë comme décrit dans la bibliographie, ainsi que l'évolution de différents paramètres associés au cours des différentes phases inflammatoires.

Cependant, cette étude nous a permis d'envisager de nouvelles perspectives thérapeutiques, comme l'association du traitement antibiotique approprié à un traitement biologique par un anti IL6. Ce dernier est un puissant inhibiteur compétitif de l'IL-6, cytokine clé de l'inflammation locale et systémique. L'IL-6 est impliquée dans la physiopathologie de nombreuses maladies immunitaires. Il semble jouer un rôle majeur au cours des lésions inflammatoires articulaires. Pour cette raison, il devrait connaître un intérêt croissant dans les prochaines années. L'anti-IL6 offre un nouveau choix de médicament. Cependant l'apport réel par rapport aux molécules existantes, déjà très actives, reste à préciser faute d'études comparatives directes. Son rapport bénéfice/risque paraît.

Il ressort cependant de cette étude que la perspective d'avenir est d'approfondir les études sur cette cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle déterminant dans les maladies articulaires rhumatismales. Il serait intéressant d'élargir une étude randomisée chez l'être humain pour prouver l'effet structural et régénératif de l'anti-IL6 sur l'os et le cartilage car dans les maladies rhumatismales on assiste à un phénomène destructif qui à l'origine un impact fonctionnel grave sur l'articulation.

Références bibliographiques

-A-

Achermann Y., Goldstein E.J., Coenye T., Shirliff ME. (2014). *Propionibacterium acnes*: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. *Clin Microbiol Rev.* Jul; 27(3): pages 419-40.

Akira S., (2000). Roles of STAT3 defined by tissue-specific gene targeting. *Rev Oncogene.*;19(21): pages 2607–2611.

Allais E. (2010). Diagnostic bactériologique des infections ostéo-articulaires: apport d'une nouvelle technique basée sur la technologie des puces à ADN Thèse d'exercice. Faculté de Pharmacie. Lyon.

Amouroux J Arlet J Durroux R. (1981). Anatomie pathologique des ostéoarthrites infectieuses. *Rev Rhum* 48 : 33-38.

Ang- Fonte GZ., Rozboril MB., Thompson GR. (1985). Changes in non gonococcal septic arthritis: drug abuse and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Arthritis Rheum* 28. Pages:210-3.

Archambaud Maryse, Danielle CLAVE. (2008). Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse. Fiche technique _ Bactériologie 83. Page 1 et 2.

ASSERAY. N, M. DARY, G. POTEL. (2012). Arthrites septiques aiguës de l'adulte Mécanismes physiopathologiques des arthrites septiques, stratégie diagnostique et thérapeutique à mettre en œuvre. *Urgences 2012.* Chapitre 53. Pages: 1- 8.

-B-

Barazi, S. A.; Gnanalingham, K. K.; Chopra, I.; and van Dellen, J. R. (2003). Delayed postoperative intracerebral abscess caused by *Propionibacterium acnes*: case report and review of the literature. *Br J Neurosurg*, 17(4). Pages : 336-9.

Baumann H, Schendel P. (1991). Interleukin-11 regulates the hepatic expression of the same plasma protein genes as interleukin-6. *J Biol Chem* 266 (30). Pages: 20424–20427.

Bemer, P. et al. (2008). Significance of *Propionibacterium acnes*-positive samples in spinal instrumentation. *Spine*, 33(26): E971-6.

Ben Chaabane T., Ben redjeb S. (2007). Antibiothérapie des infections ostéo-articulaires aiguës communautaires à pyogènes antibiotic therapy for pyogenic bone and joint infections. Recommandations thérapeutiques. *Rev Tun Infectiol, Avril 07, Vol 1, N°2, 33 – 42.* Pages 34, 35.

Références Bibliographiques

Bendele AM. (2001). Animal models of rheumatoid arthritis. *J Musculoskel Neuron Interact* ;1. Pages : 377–85.

Berthelot et all.,(2006). Propionibacterium acnes: bactérie émergente des infections du site opératoire ? Difficultés de mise en évidence et mesures de prévention en termes d'hygiène.

Bernard L, El-Hajj L, Pron B, Lotthe A, Gleizes V, Signoret F. (2003). Outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT) for the treatment of osteomyelitis: evaluation of efficacy, tolerance and cost. *J Clin Pharm Ther*;26:445–51.

Black DM., Filak AT. (1989). Hyperglycemia with non-insulin-dependent diabetes following intra-articular steroid injection. *J Fam Pract.* Pages: 28:462.

Bowie A.,O'Neill LA. (2000).The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily : signal generators for pro-inflammatory interleukins and microbial products. *J.Leukoc.Biol.* 67. pages: 508-514.

Boibieux André. (1991).Troisième conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse. Les infections bactériennes ostéo-articulaires en dehors des infections à mycobactéries. *Med Mal Infect* 21. Pages: 431-65.

Brook, I., and Frazier, E. H. (1991). Infections caused by Propionibacterium species. *Rev Infect Dis*, 13(5). Pages: 819-22;

Bromberg J. Stat proteins and oncogenesis. 2002. *J Clin Invest.* 109 (9). Pages: 1139–1142.

Brzuszkiewicz E, Weiner J., Wollherr A., Thürmer A., Hüpeden J., LomholtHB., (2011). Comparative genomics and transcriptomics of *Propionibacteriumacnes*. *PLoS One*;6:e21581.

-C-

Carli P , C. Landais , M. Aletti , J.-M. Cournac , E. Poisnel , J.-F. Paris.(2009). Mouvement thérapeutique Traitement actuel de la polyarthrite rhumatoïde. *Current treatment of rheumatoid arthritis* ; La Revue de médecine interne 30. Pages : 1067–1079.

Combe Bernard., (2007). Progrès dans la polyarthrite rhumatoïde *Revue du Rhumatisme* 74 (2007). Pages: 18-25.

Costerton JW, Lewandowski Z, De Beer D, Caldwell D, Korber D, James G. (1994). « Minireview: biofilms, the customized microniche » *Journal of Bacteriology* 176. Pages: 2137–2142.

Charalambous CP. (2003). Septic arthritis following intra-articular steroid injection of the knee – a survey of current practice regarding antiseptic technique used during intra-articular steroid injection of the knee. *Clin Rheumatol.* 22 Pages:386-90.

Références Bibliographiques

Chemama Bruno. LE *PROPIONIBACTERIUM ACNES* EN PATHOLOGIE OSTEO – ARTICULAIRE. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme d'étude spécialisée complémentaire en chirurgie orthopédique et traumatologique ; Page4.

Chesnokova V., Melmed S. (2002). Neuro-immuno-endocrine modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis by gp130 signaling molecules. *Endocrinology*.143 (5). Pages: 1571–1574.

Choutet P. (1995). Traitement des infections ostéo- articulaires bactériennes non tuberculeuses. Lettre de l'infectiologue.

Choy E. RADIATE. (2009). More treatment options for patients with an inadequate response to tumor necrosis factor antagonists. *Nat Clin Pract Rheumatol* 5 (2). Pages: 66–67.

-D-

DeWeber. K, FAAFP, Mariusz Olszewski, Rebecca Ortolano (2011).« Knuckle Cracking and hand Osteoarthritis », *jabfm*, Vol 24 N°2. Pages: 169-174

Dramis, A.; Aldlyami, E.; Grimer, R. J.; Dunlop, D. J.; O'Connell, N.; and Elliott T., (2008). What is the significance of a positive *Propionibacterium acnes* culture around a joint replacement? *Int Orthop* vol7.

Dubost J-J Fis P Soubrier M Lopitiaux R Soubrier M Ristori JL. (1994). Polyarticular septic arthritis in patients with rheumatoid arthritis. A review of twenty-four cases and of the literature. *Rev; Rhum.* 61. Pages: 153-165.

Dubost J-J Soubrier M Sauvezie B. (2000). Arthrite à pyogènes de l'adulte. *Rev Rhum [Ed Fr]* 67(1). Pages : 17-27.

Dubost J-J Tournadre A. (2006). Stratégie diagnostique des arthrites septiques à pyogènes des membres. *Revue du Rhumatisme* 73 (2). Pages: 144-153.

Dunkle, L. M., Brotherton T. J., Feigin., R. D. (1976). Anaerobic infections in children: a prospective study. *Pediatrics*, 57(3). Pages: 311-20.

-E-

Evrard J., Postel M. (1978). Opérations mobilisatrices du genou dans les raideurs d'origine septique. *Rev Chir Orthop*;64. Pages: 685–90.

El-Asrar A. M., Al-Obeidan S. A., Yeboah E. A. (2004). Late onset posttraumatic *Propionibacterium acnes* endophthalmitis. *Eur J Ophthalmol*, 14(5). Pages: 442-4.

Références Bibliographiques

Esashi E, Ito H, Minehata K, Saito S, Morikawa Y, Miyajima A. (2009). Oncostatin M deficiency leads to thymic hypoplasia, accumulation of apoptotic thymocytes and glomerulonephritis. *Eur J Immunol.* 39 (6). Pages: 1664–1670.

Eshkenazi AV., Garti A., Tamir L., Mendel D. (2001). Serum and synovial vancomycin concentrations following prophylactic administration in knee arthroplasty. *Am J Knee Surg*;14. Pages: 221–3.

-F-

Faust SN., Clark J., Pallett A.(2012). Managing bone and joint infection in children. *Arch Dis* 97. Pages 545- 553.

Fielding CA, et al. (2008). IL-6 regulates neutrophil trafficking during acute inflammation via STAT3. *J Immunol.*181 (3). Pages: 2189–2195.

Finegold, S. M., and Bartlett, J. G. (1975). Anaerobic pleuropulmonary infections. *Clev Clin J Med* 42. Pages: 101-111.

Ferroni A. (2007). Epidémiologie et diagnostic bactériologique des infections ostéoarticulaires aiguës de l'enfant. *Arch Pediatr*, , 14, S91-S96.

Feldmann M. (2002). Development of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol.* 2(5). Pages: 364–371.

Furustrand Tabin U, Corvec S, Betrisey B, Zimmerli W, Trampuz A. 2012. Role of rifampin against *Propionibacterium acnes* biofilm *in vitro* and in an experimental foreign-body infection model. *Antimicrob Agents Chemother* **56**. Pages: 1885–1891.

Furustrand Tabin U, Trampuz A, Corvec S. 2013. *In vitro* emergence of rifampicin resistance in *Propionibacterium acnes* and molecular characterization of mutations in the *rpoB* gene. *J Antimicrob Chemother* **68**. Pages: 523–528.

Furukawa A et al. (2009). Characterization of *Propionibacterium acnes* isolates from sarcoid and non-sarcoid tissues with special reference to cell invasiveness, serotype, and trigger factor gene polymorphism. *Microb Pathog.* Feb;46(2). Pages: 80-7.

-G-

Gachoud David., Guinod- Bourquin Sofia., Monti Matteo., Dudler Jean. (2008). Ponctions et infiltrations Articulaires *Rev Med Suisse.* 4. Pages: 2330-6.

Gahukamble AD, McDowell A, Post V, Salavarieta Varela J, Rochford ET, Richards RG, Patrick S, Moriarty TF. (2014). *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus lugdunensis* cause pyogenic osteomyelitis in an intramedullary nail model in rabbits. *J Clin Microbiol* 52. Pages: 1595–1606.

Références Bibliographiques

Graif M., Schweitzer ME., Deely D., Matteucci T. (1999). The septic versus non septic inflamed joint : MRI characteristics. *Skeletal Radiol* , 28, pages : 616-620.

Goldenberg D. (1998). Septic arthritis. *Lancet*;351. Pages:197–202.

Goldenberg DL. (1985). Bacterial arthritis. *Reed JI. National. English Journal of Medecine.* VOL 312. Pages: 764–771.

Götz F. (2002). Staphylococcus and biofilms. *Sciences direct. Mol. Microbiol.* 43:1367–1378.

Guggenbuhl P., Albert J-D., Tattevin P., Arvieux C. (2006). Conduite à tenir devant une arthrite septique à pyogène de l'adulte: arbre décisionnel. *Revue du Rhumatisme* 73(2). Pages : 199-205.

Guillaume Ghislain Aubin, Stéphane Corvec. (2015). Épidémiologie et physiopathologie générale des infections ostéo-articulaires REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES-MARS 2016 - N°480 //25 Isevier Masson SAS.

-H-

Hams E, et al. (2008). Oncostatin M receptor-beta signaling limits monocytic cell recruitment in acute inflammation. *J Immunol.*181(3). Pages: 2174–2180.

Hauger O., Moinard M., Lasalarie JC., Chauveaux D., Diard F. (1999). Anterolateral compartment of the ankle in the lateral impingement syndrome: appearance on CT arthrography. *AJR Am J Roentgenol.* Sep;173(3):685-90

Heinrich PC., Behrmann I., Haan S., Hermanns HM., Muller-Newen G., Schaper F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J.*; 374. pages: 1–20.

Hermann JA., Hall MA., Maini RN., Feldmann M., Brennan FM. (1998). Important immunoregulatory role of interleukin-11 in the inflammatory process in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*;41(8). Pages: 1388–1397.

Hunter Christopher A, Simon A Jones (2015). IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunology*16. EISSN: 1529-2916, 448–457

-J-

Jones GW, et al. (2010). Loss of CD4+ T cell IL-6R expression during inflammation underlines a role for IL-6 trans signaling in the local maintenance of Th17 cells. *J Immunol.*;184 (4). Pages: 2130–2139.

Jones SA., Horiuchi S., Topley N., Yamamoto N., Fuller GM. (2001). The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J.*;15(1). Pages: 43–58.

Références Bibliographiques

Jones S., Richards PJ., Scheller J., Rose-John S. (2005). IL-6 transsignaling: the in vivo consequences. *J Interferon Cytokine Res.*;25(5). Pages: 241–253.

Jousimies-Somer (2002). In Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual. Start Now Pr; Édition : 6

Jürgen Scheller , Athena Chalaris, Dirk Schmidt-Arras, Stefan Rose-John (2011). The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. ELSEVIER. Pages 678- 890.

-K-

Kaandorp CJE Dinant HHJ Van De Laar MAFJ Bernelot-Moens HJ Prins APA Dijkmans BAC. (1997). Incidences of sources native and prosthetic joint infection: a community based prospective survey. *Ann Rheum Dis* 56. Pages: 470-5.

Karchevsky M., Schweitzer ME., Morrison WB., Parellada JA (2004). MRI findings of septic arthritis and associated osteomyelitis in adults. *Am J Roentgenol*, , 182, 119-122.

Kishimoto T. (2010). IL-6: from its discovery to clinical applications. *Int Immunol.*;22(5). Pages: 347–352.

Kopf M., Bachmann MF., Marsland BJ. (2010). Averting inflammation by targeting the cytokine environment. *Nat Rev Drug Discov.*9(9). Pages: 703–718.

Kotake S, et al. (1996). Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptors in the synovial fluids from rheumatoid arthritis patients are responsible for osteoclast-like cell formation. *J Bone Miner Res.*11(1): Pages: 88–95.

-L-

Le Dantec L., Maury F., Flipo RM., Laskri S., Cortet B., Duquesnoy B . (1996). Peripheral pyogenic arthritis. A study of one hundred seventy-nine cases. *Rev Rhum [Engl Ed]* 63. Pages: 103-10.

Le monde des lapins. <http://www.le-monde-des-lapins.fr/histoire/usages/en-laboratoire/>

Levy, P. Y.; Fenollar, F.; Stein, A.; Borrione, F.; Cohen, E.; Lebail, B.; and Raoult, D.: Propionibacterium acnes postoperative shoulder arthritis: an emerging clinical entity. *Clin Infect Dis*, 46(12): 1884-6, 2008.

Lortat Jacob A .(2004). Traitement de l'infection articulaire. *Encycl Méd Chir. Traité de techniques chirurgicales–orthopédie–traumatologie.* Elsevier. Paris.44- 085.

Lucht F., Collet L. (2000). Arthrites infectieuses suppurées ou septiques. In : Les infections ostéo-articulaires. Paris, John Libbey Eurotext. Pages: 53-9.

Lutz, M. F., Berthelot P., Fresard A., Cazorla C., Carricajo A., Vautrin A.

C Fessy M. H., Lucht F. (2005). Arthroplastic and osteosynthetic infections due to

Références Bibliographiques

Propionibacterium acnes: a retrospective study of 52 cases, 1995-2002. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 24(11): 739-44.

-M-

Mathews CJ., Coakley G. (2008). Septic arthritis : Current diagnostic and therapeutic algorithm. *Curr Opin Rheumatol*;20; Pages: 457-62.

Mathews CJ, Weston VC, Jones A. (2010). Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet*. Pages: 375:846-55

Matthews VB, et al. (2010). Interleukin-6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance. *Diabetologia*.53(11). Pages: 2431–2441.

Mandell G, Bennett J, Dolin R. (2009). Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th edition. Philadelphia : Churchill Livingstone, Pages:1443-56.

Mc Cutchan HJ Fisher RC. (1990). Synovial leukocytosis in infectious arthritis. *Clin. Ortho.Relat.Res.* Pages: 257: 226-230.

McInnes IB., Schett G.,(2007). Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*.7(6). Pages: 429–442.

McKenzie BS., Kastelein RA., Cua DJ. (2006). Understanding the IL-23-IL-17 immune pathway. *Trends Immunol.*;27(1). Pages: 17–23.

Melton L., Coombs A. (2008). Actemra poised to launch IL-6 inhibitors. *Nat Biotechnol.*;26(9). Pages: 957–959.

Modur V, et al. (1997). Oncostatin M is a proinflammatory mediator. In vivo effects correlate with endothelial cell expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules. *J Clin Invest*. 100 (1). Pages:158–168.

Mohsen A. H., Price A., Ridgway E., West, J. N., Green S., McKendrick M. W. (2001). Propionibacterium acnes endocarditis in a native valve complicated by intraventricular abscess: a case report and review. *Scand J Infect Dis*, 33(5). Pages: 379-80,

Moreland L, et al. (2001). Results of a phase-I/II randomized, masked, placebo-controlled trial of recombinant human interleukin-11 (rhIL-11) in the treatment of subjects with active rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.*;3(4). Pages: 247–252.

Morgan DS, Fisher D, Merianos A, Currie B-J. (1996). A 18- yera clinical review of septic arthritis from tropical Australia. *Epidemiol.Infect* 117. Pages: 423-428.

Références Bibliographiques

Moulis Guillaume, Laurent Sailer, Jean-Louis Montastruc (2011). Tocilizumab : le point sur un nouveau médicament. *Revue m/t*, vol. 17, n° 1, jan-fév-mars 2011. Pages : 23- 33.

-N-

Nade S. (2003). Septic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheum.* Pages: 17- 200.

Navarro-González J.A, C. García-Benayas, J. Arenas. (1998) – Semi automated measurement of nitrate in biological fluids. *J Immunol.*;182(1).

Nelson CL., McLaren AC., McLaren SG., Johnson JW., Smeltzer MS. (2005). Isaseptic loosening truly aseptic? *Clin Orthop Relat Res*; (437). Pages: 25–30.

Nowell MA, et al. (2009). Therapeutic targeting of IL-6 trans-signaling counteracts STAT3 control of the inflammatory infiltrate in experimental arthritis. *J Immunol.*;182(1). Pages: 613–622.

Nowell MA, et al. (2003). Soluble IL-6 receptor governs IL-6 activity in experimental arthritis: blockade of arthritis severity by soluble glycoprotein 130. *J Immunol.* 171(6). Pages: 3202–3209.

-O-

Olney BW., Papasian CJ., Jacobs. (1987). *RRJ Pediatr Orthop.* Risk of iatrogenic septic arthritis in the presence of bacteremia: a rabbit study. *Sep-Oct*;7(5). Pages: 524-6.

-P-

Pal B., Morris J. (1999). Perceived risks of joint infection following intra-articular corticosteroids injections : a survey of rheumatologists. *Clin.Rheumatol* 18. Pages: 264-265.

P. Cope Andrew (2007). *Arthritis research. Methods and protocols.* Volume 2 Edition Humana press. Pages: 100- 400.

Pflanz S, et al. (2004). WSX-1 and glycoprotein 130 constitute a signal-transducing receptor for IL-27. *J Immunol.*;172(4); Pages: 2225–2231.

Pfenninger JL. (1991). Injections of joints and soft tissue : Part I. General guidelines. *Am Fam Physician*;44. Pages: 1196-202.

Pioro M., Mandell BF. (1997). Septic arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*; 23. Pages: 239–58.

Piper KE., Jacobson MJ., Cofield RH., Sperling JW., Sanchez-Sotelo J, Osmon DR. (2009). Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. *J Clin Microbiol*;47(6). Pages: 1878–84.

Références Bibliographiques

Pulcini C., Bernard E., Garraffo R., Roger PM., Tempesta S., Dellamonica P. (2004). Utilisation des dosages plasmatiques des fluoroquinolones par les cliniciens. *Presse Med*;33 ; Pages:1502–4.

Puliti M., Hunolstein Von C., Bistoni F., Orefici G., Tissi L. (2004). Inhibition of nitric oxydase synthase exacerbates group streptococcus sepsis and arthritis in mice. *Infect Immun* 72.Pages: 4891-4894.

-R-

RAFFI Hélène. (2008). GRANULOCYTE ÉOSINOPHILE :PHYSIOLOGIE ET IMPLICATION DANS LES RÉACTIONS INFLAMMATOIRES PARASITAIRES. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE. THESE : 03 – TOU 3 – 4020 Pages : 19- 216.

Rios CL, Zehtabchi S. (2008); Evidence-based emergency medicine/rational clinical examination abstract. Septic arthritis in emergency department patients with joint pain : Searching for the optimal diagnostic tool. *Ann Emerg Med*;52:567-9.

Roll P, et al. (2011). In vivo effects of the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab on the B cell compartment. *Arthritis Rheum.*;63(5); Pages: 1255–1264.

Rose-John S., Heinrich PC. (1994). Soluble receptors for cytokines and growth factors: generation and biological function. *Biochem J.*;300(pt 2); Pages: 281–290.

Rose-John S., Scheller J., Elson G., Jones S. (2006). Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *J Leukoc Biol.*80 (2). Pages: 227–236.

Rouiller N., P-A., Petignat F., Bally. (2010). Arthrite septique; *Rev Med Suisse* ; 6. Pages : 1914-7.

-S-

Sanford JP, Gilbert DN., Chambers HF. 2012. The Sanford guide to antimicrobial therapy. Belgium/ Luxembourg Version 2012-2013. Vingt-troisième édition. 2010- 2011, Belgian/Luxembourg edition. JCB Offset, Wavre.

Salter RB., Bell RS., Keely FW. (1981). The prospective effect of continuous passive motion in living articular cartilage in acute septic arthritis: an experimental investigation in the rabbit. *Clin.Orthop.Relat.Res.* Pages: 223-247.

Schattner A., Vosti KL. (1998). Bacterial arthritis due to beta-hemolytic streptococci of serogroups A B C and G. Analysis of 23 cases and review of the literature. *Medicine* 77. Pages: 122-139.

Schurman DJ., Hirshman HP., Kajiyama G., Moser K., Burton DS. (1978). Cefazolin concentrations in bone and synovial fluid. *J Bone Joint Surg*; 60A. Pages: 359–62.

Références Bibliographiques

Shiono Y, Ishii K, Nagai S, Kakinuma H, Sasaki A, Aiawa M, Okada Y, Toyama Z, Matsumoto M. (2014). *Propionibacterium acnes* cause delayed surgical site infection only in the presence of implant. Orthop Res Soc (ORS) Annu Meet, New Orleans.

Sennequier Nicolas, Sandrine Vadon-Le Goff (1998). Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO) : mécanisme, régulation et contrôle. *Medecine et Sciences. m/s* n° 11, vol. 14. Pages : 1186-1190.

Simon A. Jones., Jürgen Scheller., Stefan Rose., John. (2011). Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling; *The Journal of Clinical Investigation* Volume 121 Number: 9. Pages: 3375- 3377.

Sims NA. (2009). gp130 signaling in bone cell biology: multiple roles revealed by analysis of genetically altered mice. *Mol Cell Endocrinol*; 310 (1–2). Pages: 30–39.

Sohail MR.; Gray AL., Baddour LM., Tleyjeh IM., Virk A. (2009). Infective endocarditis due to *Propionibacterium* species. *Clin Microbiol Infect.* Apr.15(4). Pages: 387-94.

Serteyn, S. Grulke, T. Franck, A. Mouithys-Mickalad, G. Deby-Dupont. (2003) - La myéloperoxydase des neutrophiles, une enzyme de défense aux capacités oxydantes.

Stumhofer JS, et al. (2006). Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. *Nat Immunol.*;7(9). Pages: 937–945.

Stumhofer JS, et al. (2007). Interleukins 27 and 6 induce STAT3-mediated T cell production of interleukin 10. *Nat Immunol.*;8(12). Pages: 1363–1371.

Stumhofer JS, et al. A role for IL-27p28 as an antagonist of gp130-mediated signaling. 2010. *Nat Immunol.* 11(12). Pages: 1119–1126.

STUTZ G., KUSTER MS., KLEINSTUCK F., GACHTER A. (2000). Arthroscopic management of septic arthritis : stages of infection and results. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, vol 8. Pages: 270-274.

-T-

Trimble B. S., Evers C. J., Ballaron S. A., Young J. M. 1987 Intraarticular injection of *Propionibacterium acnes* causes an erosive arthritis in rats. *Agents and Actions*, vol. 21, ¾. Pages: 281- 283.

Références Bibliographiques

-V-

Vaishnavi Chetana., Prashant Kapoor., Chitra Behura., Shrawan Kumar Singh., Sudesh Prabhakar (2014). C-reactive protein in patients with Guillain Barré syndrome . Volume : 57 Issue : 1. Indian J Pathol Microbiol. Pages : 51-54

Vanagt, WY., Daenen, W J., and Delhaas T. (2004). Propionibacterium acnes endocarditis on an annuloplasty ring in an adolescent boy. *Heart*, 90(9): edition 56.

Veldhoen M., Hocking RJ., Atkins CJ., Locksley RM., Stockinger B. (2006). TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity*. 24(2) Pages: 179–189.

Viraraghavan R., Jantusch B., and Campos J. (2004). Late-onset central nervous system shunt infections with Propionibacterium acnes: diagnosis and management. *Clin Pediatr (Phila)*, 43(4). Pages: 393-7,

Visser S., Tupper J. (2009). Emergency file: Septic until proven otherwise. Approach to and treatment of septic joint in adult patients. *Can Fam Phys*; 55. Pages: 374-5.

-W-

Waage A., Brandtzaeg P., Halstensen A., Kierulf P., Espevik T. (1989). The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. *J Exp Med*. 169(1). Pages: 333–338.

Walmsley M., Butler DM., Marinova-Mutafchieva L., Feldmann M. (1998). An anti-inflammatory role for interleukin-11 in established murine collagen-induced arthritis. *Immunology*;95(1). pages: 31–37.

Welte T, et al. (2003). STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: A critical role of STAT3 in innate immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A*;100(4):1879–1884.

Wilwert Ernest., Jean-Luc Dourson., Siggy Rausch., Bernard Weber. (2008). Les marqueurs biologiques de l'inflammation. Conseil scientifique. Version 1.1. pages 1- 5.

Winn Florence. 2006. Atlas Radiographique du lapin de compagnie. Ecole national vétérinaire Toulouse Thèse Tou3- 4080. Pages: 65- 67.

Wooley PH. (2004). The usefulness and the limitations of animal models in identifying targets for therapy in arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 18. Pages: 47–58.

Références Bibliographiques

Wright JA, Nair SP. (2010). Interaction of staphylococci with bone. *Int. J. Med. Microbiol.* 300. Pages:193–204.

Wunderlich FT, et al. (2010). Interleukin-6 signaling in liver-parenchymal cells suppresses hepatic inflammation and improves systemic insulin action. *Cell Metab.*;12(3). Pages: 237–249.

-Y-

Yamamoto S., Shida T., Miyaji S., Santsuka H., Fujise H., Mukawa K., Furukawa E., Nagae T., Naiki M. (1993). Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. *Vet Res Commun.*17 (2). Pages: 85-93.

Yoshida K, et al. (1996). Targeted disruption of gp130, a common signal transducer for the interleukin 6 family of cytokines, leads to myocardial and hematological disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 93(1). Pages: 407–411.

Yvonne Achermann., Bao Tran.c., Misun Kang., Janette M., Harro., Mark E., Shirliff (2015). Immunoproteomic Identification of *In Vivo*-Produced *Propionibacterium acnes* Proteins in a Rabbit Biofilm Infection Model. ARTICLE in CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY: CVI · FEBRUARY 2015 · Source: PubMed; Pages: 472.

-Z-

Zeller V., Kitzis MD., Lhotellier I. (2005). Importance of monitoring antibiotic plasma levels in bone and joint infections. 6th European Congress of chemotherapy and infection. Abstract. Pages: 662/96.

Zeller Valérie., Nicole Desplaces. (2006). Antibiotherapy of bone and joint infections. *Revue du Rhumatisme* 73. Pages : 183-190.

Zerkak D., Ziza J-M., Desplace N.(2006). Mécanismes physiopathologiques des arthrites septiques. *Revue du Rhumatisme* 73(2). Pages: 136-143.

Sites Web

<http://store.elsevier.com>

<http://www.ijpmonline.org>

<http://www.larousse.fr/archives/medical/page/1> (Définitions du glossaire)

<http://www.revmed.ch/rms/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

Annexe I. Appareillage, verrerie, accessoires, milieux de culture, réactifs...

Matériel non biologique

I. Appareillage	II. Verrerie et accessoires
<ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> Agitateur magnétique.<input type="checkbox"/> Agitateur Vortex.<input type="checkbox"/> Balance de précision.<input type="checkbox"/> Balance pour pesée animale GIBERTINI.<input type="checkbox"/> Centrifugeuse.<input type="checkbox"/> Etuve<input type="checkbox"/> Hotte à flux laminaire.<input type="checkbox"/> Incubateur à 35°C.<input type="checkbox"/> Microscope ZEISS<input type="checkbox"/> Microtome.<input type="checkbox"/> Plaque chauffante.<input type="checkbox"/> Spectrophotomètre.<input type="checkbox"/> Radiogramme.<input type="checkbox"/> Echographe.<input type="checkbox"/> Agitateur à usage unique<input type="checkbox"/> Agitateur rotatif à 100 rpm	<ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> Bec benzène.<input type="checkbox"/> Béchers.<input type="checkbox"/> Boîtes de Pétri.<input type="checkbox"/> Entonnoirs.<input type="checkbox"/> Erlenmeyer.<input type="checkbox"/> Eprouvette.<input type="checkbox"/> Fioles.<input type="checkbox"/> Flacons.<input type="checkbox"/> Gants en latex.<input type="checkbox"/> Compresses stériles<input type="checkbox"/> Coton hydrophile.<input type="checkbox"/> Micropipettes avec embouts jetables.<input type="checkbox"/> Tubes pour prélèvements sanguins : EDTA, sec, citraté...<input type="checkbox"/> Papiers filtres.<input type="checkbox"/> Pipettes.<input type="checkbox"/> Porte tubes.<input type="checkbox"/> Seringues apyrogène a usage unique de 1ml et 5ml.<input type="checkbox"/> Spatules.<input type="checkbox"/> Tubes à essais. <input type="checkbox"/> cages en INOX pour lapins. <input type="checkbox"/> Compte goutte délivrant 50µl/ gouttes <input type="checkbox"/>Lame de verre quadrillée

III. Réactifs et produits chimiques

- Hématies test
- Hématie contrôle

- Antigène FR- Latex: 2,5 ml, Suspension de particules de latex recouvertes de gamma globulines humaines, azide de sodium 0,95 g/l.

- Contrôle positif: 1ml sérum humain, azide de sodium 0,95 g/l.

- Contrôle négatif: 1 ml sérum animal, azide de sodium 0,95 g/l.

- Alcool 100, 96, 90 et 70.
- Acétone.
- toluène.
- Paraffine.
- Formol 10%
- Acide formique 5%
- Eau distillée stérile H₂O.
- Eau physiologique (Na Cl à 0.9%).
- Ether.

IV. Les milieux de cultures

- Gélose au sang frais
- Gélose au chocolat
- Bouillon thioglycolate
- TGY

Annexe II. Milieux de cultures utilisés, Tampons et réactifs

II.1.i. Milieux de cultures utilisés

II.1.i. Gélose au chocolat

Composition: en grammes par litre d'eau distillée

Peptone tryptique de caséine.....	7,5
Peptone pepsique de viande.....	7,5
Amidon de maïs.....	1
Hydrogénophosphate de potassium.....	4
Dihydrogénophosphate de potassium...	1
NaCl.....	5
Hémoglobine.....	10
Agar.....	15

pH final = 7,2

Préparation

1. Liquéfier une base chocolat (8 mL) au bain-marie bouillant (base chocolat = gélose Columbia)
2. Attendre son refroidissement à 45°C (milieu en surfusion).
3. Y ajouter stérilement les 8 mL de solution stérile d'hémoglobine à 2%.
4. Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains.
5. Couler en grande boîte de Pétri.

II.1. ii. Bouillon thioglycolate

Hydrolysate pancréatique de caséine.....	17,5	g
Hydrolysate papaïnique de farine de soja	2,5	g
Glucose	10	g
NaCl.....	5	g
Thioglycolate de sodium.....	1	g
Phosphate dipotassique	2	g

Bleu de méthylène	0,002	g
Agar	0,5	g
Eau distillée	qsp.....	1 litre

Répartir en tubes de 10 ml et autoclaver 15 min à 121°C.

II.1.iii. Gélose Columbia + 5% de sang de mouton (COS)

Formule théorique en g/l d'eau purifiée.

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés:

Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....	10
Hydrolysate de protéines animales (bovin ou porcin).....	10
Peptone de cœur (bovin ou porcin).....	3
Amidon de maïs.....	1
Chlorure de sodium.....	5
Agar.....	13,5
Sang (mouton).....	50 ml

pH 7,3

II.1.iv. Milieu TGY (trypticase-Glucose-Yeast)

- peptones et extrait de levure
- glucose
- thioglycolate de sodium (réducteur)

II.2. Tampons

II.2.i. Tris-HCl 0,05 ; pH=8,6 :

Solution A (Tris 0.2 M) : dissoudre 21.03 g de Tris (hydroxyméthyl) dans 1000 mL d'eau distillée.

Solution B (HCl 0.1 M) : ajouter 10 ml de HCl (1M) à de l'eau distillée, ajuster jusqu'à 100 mL.

Pour une solution tampon à un pH=8.6 :

50 mL de solution A sont ajoutés à 26 mL de solution B puis on complète avec l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un volume de 200 mL.

II.3. Réactifs

II.3.i. Réactif du dosage de la MPO

Pour la préparation de 20 mL de réactif :

OrthodiansidineDihydrochloride (OD) (0.167 mg/ml)	0.0032 g.
H ₂ O ₂ (0.5 mM)	20 µL.
Brimode de potassium (KBr)	0.0071 g.
Tris-HCL (0.05 mM , pH 6.6)	10 µL.

II.3.ii. Réactif du dosage de l'EPO

Pour la préparation de 20 mL de réactif :

Ortho-Phenylenediamine-Dihydrochloride (OPD)	20 mg.
H ₂ O ₂ (0.5 mM)	10 µL.
Tris-HCL (0.05 mM , pH 8.6)	10 µL.

III.3.iv. Réactif du dosage du NO

Acide sulfanilique(SA, Griess B) (0.2%) : 2g de SA dans 100 mL d'acide orthophosphorique (85%).

N-ethylenediaminehydrochloride (NED, Griess A) (0.1%) : 1g de NED dans 100mL d'eau distillée.

-Déprotéinisation :

-75µL de l'échantillon + 75µL d'Actonitrile =>vortexation pendent 1 minute.

-Centrifugation 10 mins à 9500 rpm.

-Dosage :

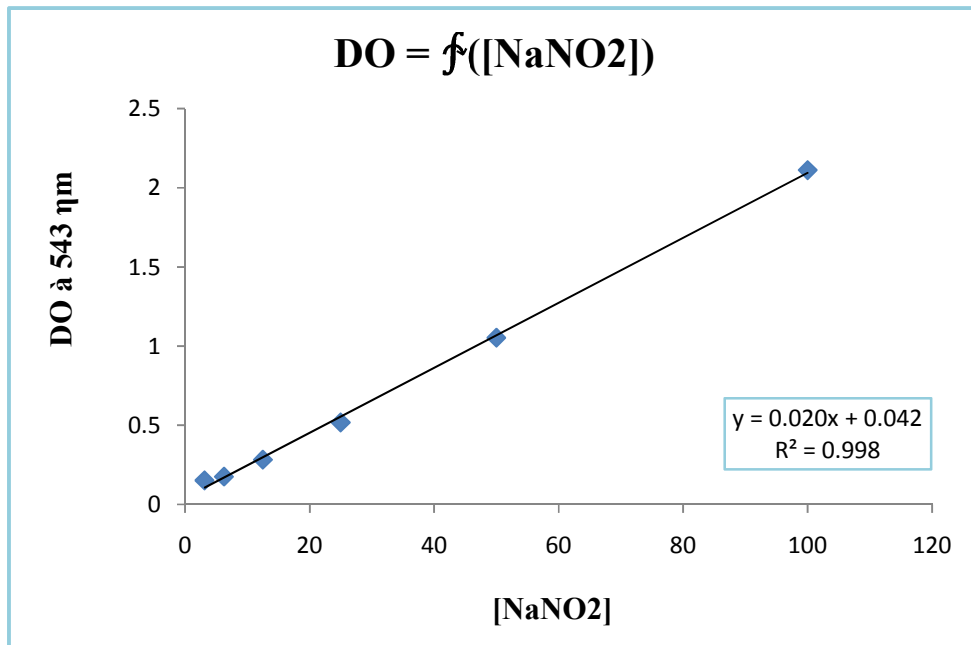
-50µL de l'échantillon + 25µL du SA => incubation 10 mins à T ambiante

-Ajouter 25µL du NED => incubation 10minutes

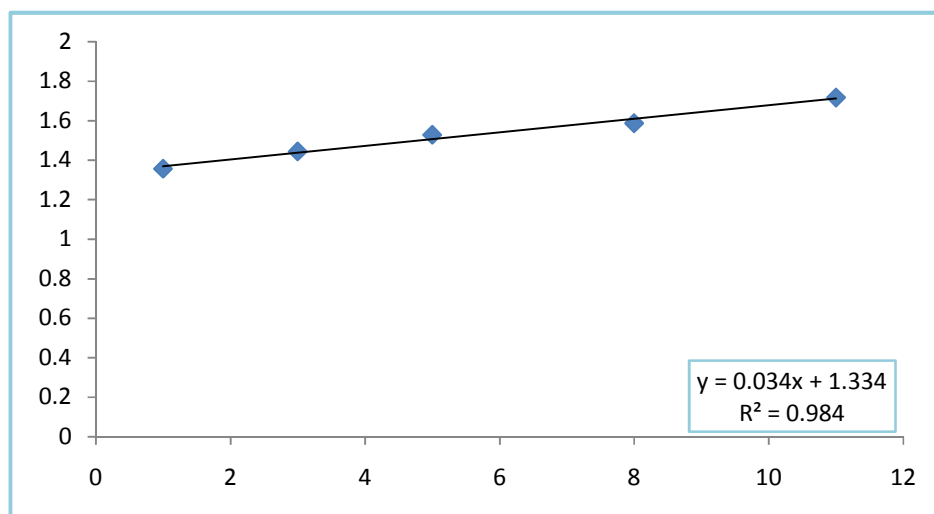
-Lecture à 540nm.

II.4. Courbes étalon

i. Dosage du NO



ii. Bradford



Annexe III



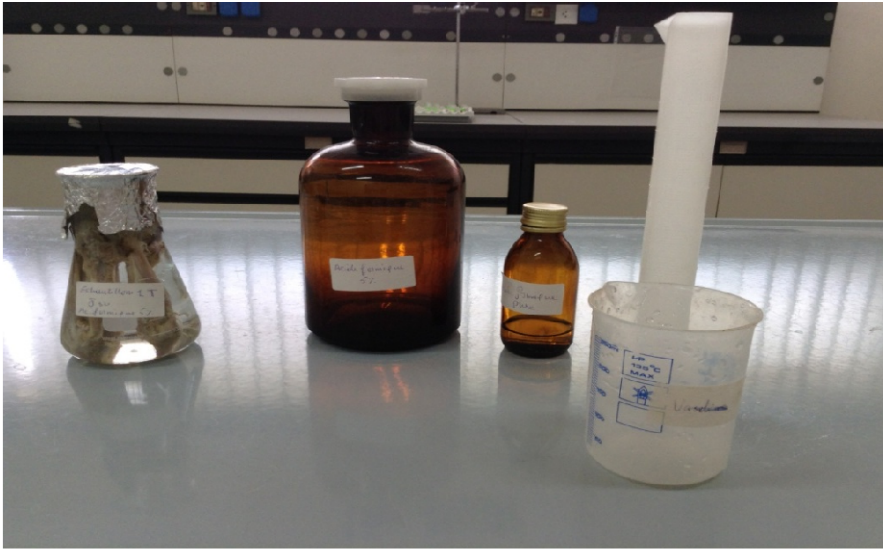
(Original, 2016)

Figure 25. T61



(Original, 2016)

Figure 26. Fixation au formol 10%



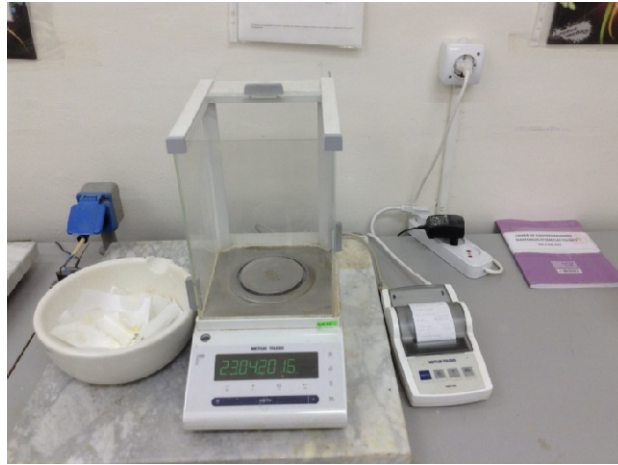
(Original, 2016)

Figure 27. Décalcification à l'acide formique 5%



(Original, 2016)

Figure 30. Incubateur Labco à 35°C



(Original, 2016)

Figure 31. Balance analytique de précision METTLER TOLEDO



(Original, 2016)

Figure 32. Centrifugeuse



(Original, 2016)

Figure 33. Centrifugeuse pour les tubes Eppendorff MINI SAIN



(Original, 2016)

Figure 34. Spectrophotomètre JENWAY 6305



(Original, 2016)

Figure 35. PH mètre



(Original, 2016)

Figure 36. Lecteur de Plaques DLALA



(Original, 2016)

Figure 37. AUTOMATE (Médonic CA 260)

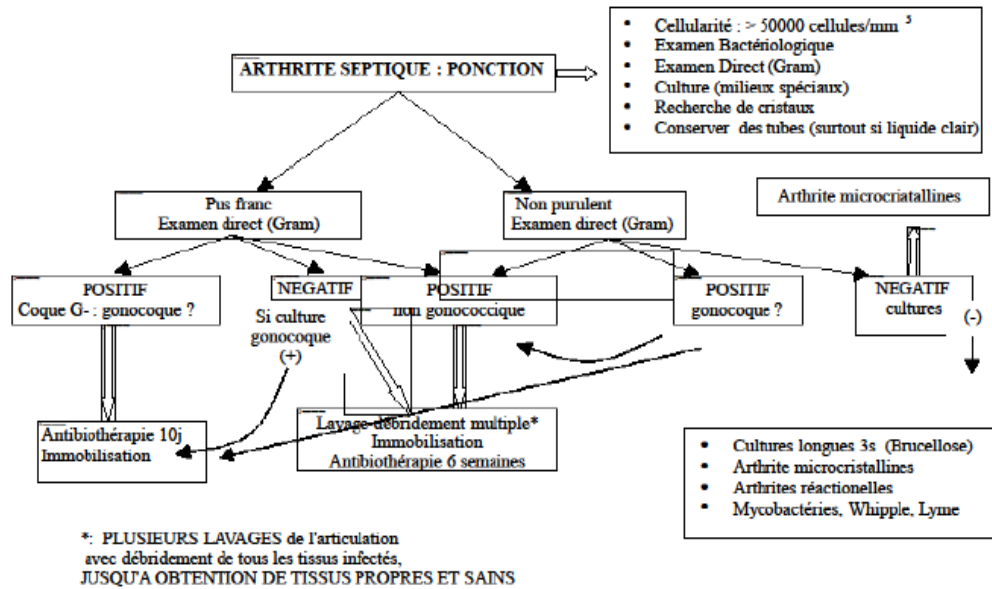


Figure 51. Table thermostable

(Original, 2016)

Annexe IV

Arthrite (algorithme de prise en charge)



Bernard L. DESC de Maladies Infectieuses Paris , 10 octobre 2013

Figure 6. Algorithme de prise en charge d'une Arthrite (Bernard. L *et al.*, 2003).

Tableau 29. Identification des protéines immunogènes dans les biofilms et/ou les phases de croissance planctonique de *Propionibacterium acnes*.

Protein no.	Full name of protein ^a	Protein name ^b	Best protein accession no. ^a	Function ^a	pI ^c	Molecular mass (kDa)	Expression (biofilm, planktonic, or both)
1	Methylmalonyl-CoA mutase	MutA	E4DBY8	Lactate fermentation to propionate and acetate	4.698	69.111	Both
2	Chaperone protein DnaK	DnaK	W4TZS5	Heat shock protein, ATP binding	4.476	59.03	Both
3	60-kDa chaperonin 1	GroL1	P0CY97	Heat shock protein, protein misfolding, ATP binding	4.613	56.840	Both
4	Pyruvate kinase	PykA	G5EZ02	Glycolysis	5.01	51.091	Both
5	Phosphoglycerate kinase	Pgk1	Q6A9J3	Carbohydrate degradation, glycolysis	4.752	42.218	Both
6	DivIVA domain protein	DivIVA	E4D8W2	Cell division	5.016	40,124	Both
7	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	G7U8Y4	Glucose metabolic process	5.485	35.95	Both
8	Malate dehydrogenase	Mdh	Q6A6Z5	TCA cycle	4.831	34.686	Both
9	Carbamate kinase	ArcC	D4HCA4	Arginine metabolism	4.641	31.977	Both
10	Translation elongation factor	Tef	W4TZY5	Protein biosynthesis	4.599	29,648	Both
11	ABC transporter, ATP-binding protein	Abc1	D4HAH2	ATB binding	6.18	26.002	Both
12	2,3-Bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase	BgmA	Q6AAU8	Glycolysis	5.981	27.991	Both
13	Methylmalonyl-CoA epimerase	Mce	D4HDR2	Amino acid metabolism, isomerase	5.593	16.84	Both
14	Translation elongation factor G, partial	FusA	F9NNW3	Protein biosynthesis	4.789	76.605	Biofilm
15	Succinate dehydrogenase or fumarate reductase	SdhA	E4E2R8	Oxidoreductase in carbohydrate metabolism, TCA cycle	5.898	75.667	Biofilm
16	Oxaloacetate decarboxylase	OxdC	G7U7Q6	Glycolysis, oxaloacetate metabolism	5.23	54,690	Biofilm
17	Putative tryptophan 2,3-dioxygenase	Ptd1	E4D811	Aromatic amino acid family metabolic process	5.011	50.782	Biofilm
18	Fumarate hydratase class II	FumC	G7U975	TCA cycle, fumarate metabolic process	5.512	50.689	Biofilm
19	Elongation factor	Tuf	Q6A6L7	Protein biosynthesis	5.214	44.14	Biofilm
20	RecA protein	RecA	Q5IV56	DNA repair	5.258	37.153	Biofilm
21	Fructose-biphosphate aldolase class II	FbaA	E4D532	TCA cycle, fumarate metabolic process	5.037	36,771	Biofilm
22	Succinyl-CoA ligase	SucD	E4D6H5	Ligase (e.g., ATP binding)	5.708	30,566	Biofilm
23	Enolase	Eno	Q6AAB8	Glycolysis (cell attachment)	4.418	45.53	Planktonic
24	Pyridoxal 5'-phosphate lyase	PdxS	G8V9H3	Pyridoxal phosphate biosynthetic process (vitamin B ₆)	4.788	31.530	Planktonic

^a Identification and function of the proteins were obtained from the UniProt database of *P. acnes* complete proteome (ID 1.81) (www.uniprot.org). CoA, coenzyme A; TCA cycle, tricarboxylic acid cycle.

^b The protein names were used for labeling the protein spots

^c Average values derived from isoelectric point calculator

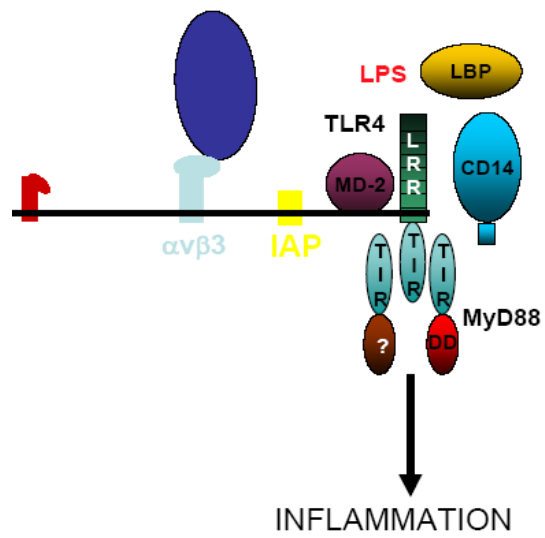


Figure 83. Coopération entre TLR et récepteurs de la phagocytose

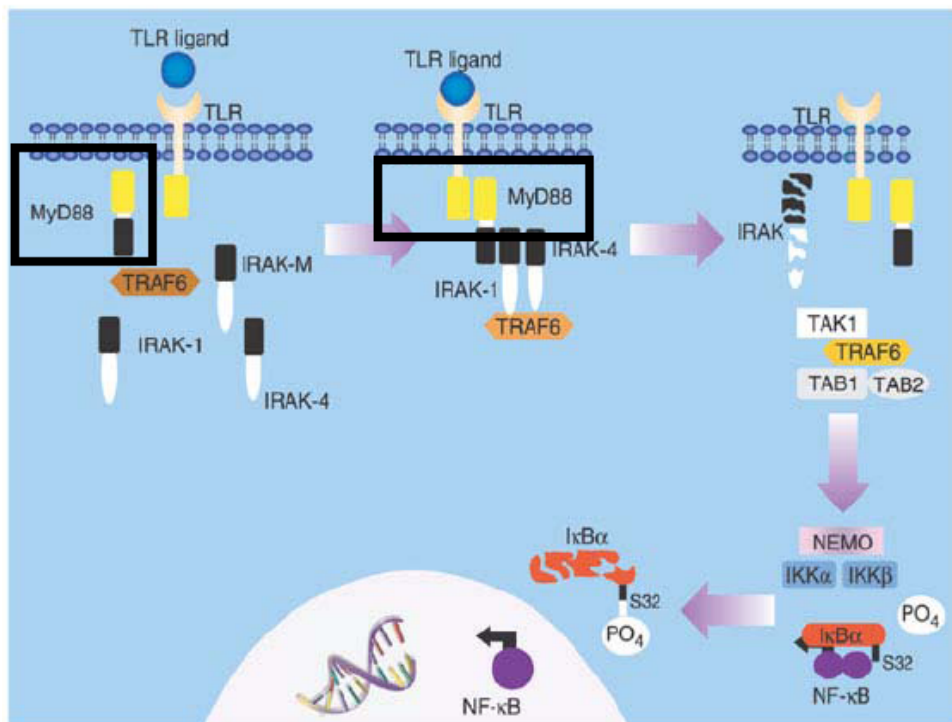


Figure 84. TLR et maladies infectieuses

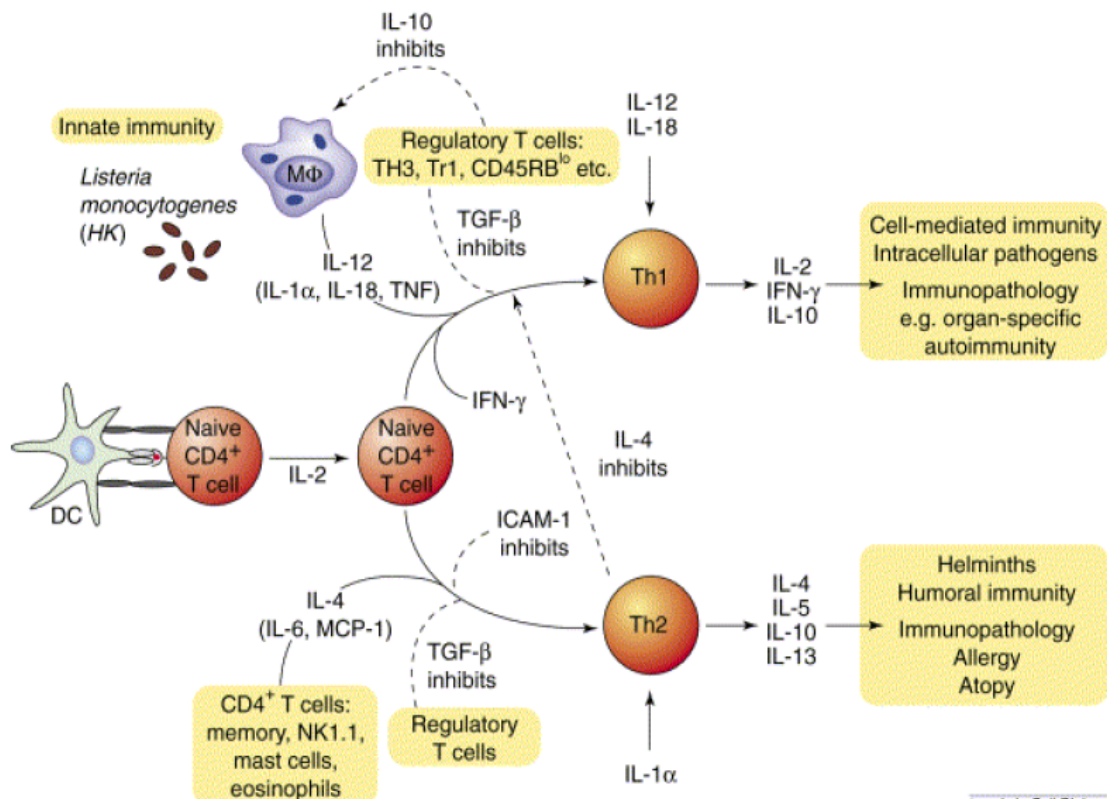


Figure 85. Schéma général de la réponse immune antibactérienne

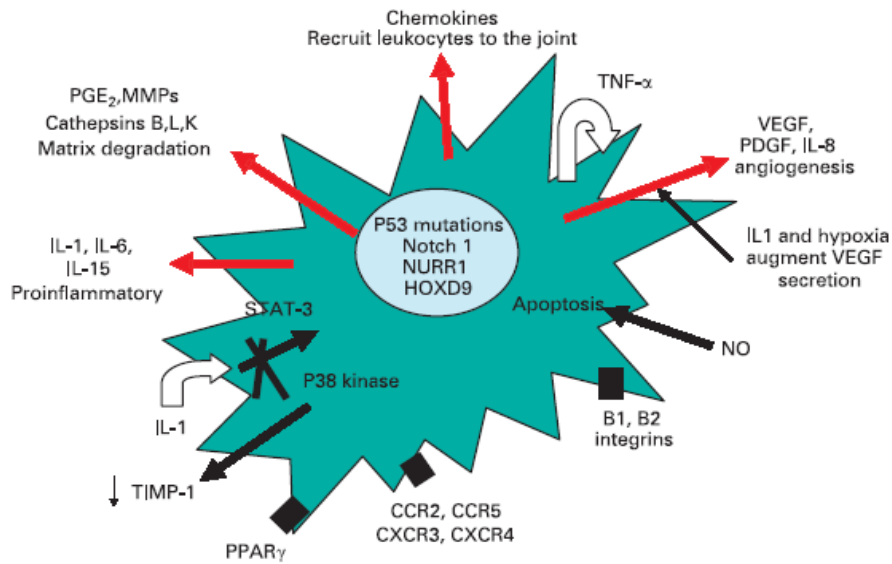


Figure 86. Schéma d'une synoviocyte indiquant les cibles thérapeutiques potentielles

Glossaire

- **Inflammation** : mécanisme de réponse à une lésion tissulaire visant à la circonscrire et à la réparer.
- **Lésion exogène** : agression physique, chimique, microbienne.
- **Lésion endogène** : auto-immunité, tumeur, infarctus.
- **Signes locaux de l'inflammation** : rougeur, chaleur, douleur et oedème.
- **Signes généraux** : asthénie, anorexie, amaigrissement, hyper/hypothermie.
- **Syndrome inflammatoire aigu (SIRS)** : lorsque sont présents deux signes parmi hyper/hypothermie, tachycardie, polypnée, hyper/hypoleucocytose.
- **Sepsis** : SIRS de cause infectieuse.
- **SIRS** : syndrome **de réponse inflammatoire systémique** est défini comme un état d'activation des cascades inflammatoires, qu'il soit ou non d'origine infectieuse.
- **Choc septique** : sepsis, hypotension artérielle et hypoperfusion périphérique. Risque de défaillance polyviscérale.
- **Arthrite** : Toute affection inflammatoire, aiguë ou chronique, qui atteint les articulations.
- **Monoarthrite** : Atteinte inflammatoire qui touche seulement une articulation.
- **Spondylarthrite ankylosante** : Affection chronique caractérisée par la survenue d'une *arthrite* touchant principalement les articulations sacro-iliaques et celles du rachis. Synonyme : pelvispondylite rhumatismale.

• **Arthrose** : Affection articulaire, d'origine mécanique et non inflammatoire, caractérisée par des lésions dégénératives des articulations, associées à une atteinte du tissu osseux sous-jacent.

• **Endocardite** : Inflammation de l'*endocarde*. Tunique interne du cœur, tapissant l'intérieur du myocarde et limitant les cavités cardiaques.

• **Méningite** : Inflammation des méninges et du liquide cébrospinal qu'elles contiennent entre leurs feuillets.

• **Abcès** : Collection de pus constituée sous forme d'une tuméfaction fluctuante aux dépens des tissus sains.

• **Conjonctivite** : Inflammation de la *conjonctive*, d'origine infectieuse, virale, parasitaire ou allergique.

• **Péritonite** : Inflammation du péritoine.

• **Spondylodiscite** : Inflammation simultanée d'un disque intervertébral et des vertèbres adjacentes, le plus souvent d'origine infectieuse.

• **Septicémie** : Terme anciennement utilisé définissant un état infectieux généralisé, dû à la dissémination d'un germe pathogène (c'est-à-dire pouvant provoquer une maladie) dans tout l'organisme, par l'intermédiaire du sang.

• **Ostéite** : Infection d'un os d'origine microbienne, due le plus souvent au staphylocoque doré.

• **Ostéomyélite** : Maladie infectieuse, chronique ou aiguë, du tissu osseux.

• **Adénopathie** : Affection des ganglions lymphatiques, d'origine inflammatoire, infectieuse ou tumorale.

• **Amyotrophie** : Diminution du volume d'un muscle strié par réduction du nombre des fibres contractiles qui le constituent.

• **Psoïtis** : Flexion très douloureuse et irréductible (il est impossible de remettre la cuisse en position normale) de la cuisse sur le bassin.

• **Synovite** : Inflammation de la synoviale (membrane tapissant l'intérieur de la capsule des articulations).

• **CIVD** : coagulation intravasculaire disséminée (ou encore syndrome de défibrination ou coagulopathie de consommation) est une activation pathologique de la coagulation (formation de caillots sanguins).

• **Un biofilm** : est une communauté multicellulaire plus ou moins complexe, souvent symbiotique, de micro-organismes (bactéries, champignons, algues ou protozoaires), adhérant entre eux et à une surface, et marquée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice. Il se forme généralement dans l'eau ou en milieu aqueux.

• Le mode de vie en biofilm est l'un des deux modes de comportement des organismes unicellulaires – l'alternative étant la flottaison libre de type dit « *planctonique* », dans un médium liquide, fluide ou même solide.



introduction



Materiel et Méthodes



Etude Bibliographique



Résultats et Discussion



Conclusion



Références Bibliographiques



Annexes