

Les analyses de liquide synovial et leur interprétation lors d'arthrite septique

L'analyse de liquide synovial est un examen incontournable lors de l'exploration et de la gestion d'une arthrite septique. Dans l'attente du diagnostic bactériologique définitif, le praticien utilise différents biomarqueurs et paramètres pour choisir le traitement adéquat.

Le liquide synovial (LS), qui occupe l'espace articulaire ainsi que les gaines tendineuses et les bourses, est un lubrifiant biologique majeur. Les deux fonctions principales du LS sont de permettre un apport en éléments nutritifs au cartilage articulaire et d'assurer sa lubrification en diminuant la friction entre les surfaces articulaires. De multiples états pathologiques peuvent cependant être responsables d'une altération dans sa composition et, ainsi, d'une perturbation de ses fonctions. Lors de suspicion d'un trouble ostéoarticulaire, l'analyse du LS fait partie intégrante de l'examen locomoteur, avec les examens clinique, radiographique, échographique et les autres méthodes d'imagerie médicale. L'objectif le plus fréquent et d'importance majeure lors de l'investigation du LS chez le cheval est la discrimination entre synovites/arthrites septique et non septique. En effet, l'arthrite septique est une affection potentiellement mortelle chez les équidés, nécessitant une intervention en urgence du vétérinaire afin de préserver la santé et/ou la carrière athlétique du cheval affecté. L'infection se produit généralement lorsqu'une bactérie (voire plusieurs) colonise l'articulation à la suite d'une plaie pénétrante, d'une contamination iatrogène par injection ou chirurgie, ou par diffusion hématogène [39, 54]. Cet article de synthèse vise à résumer les différentes caractéristiques du

❖ Éléments à retenir

- > Un comptage cellulaire total augmenté dans un liquide articulaire et une forte proportion de neutrophiles sont des éléments en faveur d'un processus septique.
- > L'examen cytologique d'un liquide articulaire peut aider le praticien à distinguer une hémarthrose d'une contamination iatrogène.
- > Différents biomarqueurs sanguins et articulaires sont disponibles en pratique afin de mieux préciser le diagnostic d'arthrite (non) septique.
- > Pour l'examen bactériologique, le prélèvement de membrane synoviale et/ou le recours à des milieux enrichis (hémoculture) augmentent considérablement la sensibilité diagnostique.

❖ Mots-clés

Liquide articulaire, arthrite septique, cytologie, bactériologie, biomarqueur, cheval.

❖ Auteurs

*Éric Richard**,
*Pierre-Hugues Pitel**,
*Philippe Galera***,
*Magali Demoor***,
*Karine Maillard** et
*Guillaume Fortier**

* Laboratoire Frank-Duncombe,
1 route de Rosel, 14053 Caen Cedex 4.
IFR 146, ICORE –

Université de Caen Basse-Normandie

** Laboratoire matrice extracellulaire et

pathologie (EA 3214). IFR 146 ICORE –

Université de Caen Basse-Normandie,

UFR de médecine, CHU niveau 3,

avenue de Côte-de-Nacre, 14032 Caen Cedex

Article accepté le 23 août 2011

liquide synovial normal et infecté, ainsi que les éléments nécessaires au praticien pour préciser au mieux le diagnostic d'arthrite (non) septique.

Description du liquide synovial en situation physiologique

La collecte de LS est d'une importance capitale pour l'établissement d'un diagnostic et l'éventuelle mise en place d'un traitement ultérieur. Le LS est classiquement décrit comme un ultra-filtrat de plasma dans lequel plusieurs macromolécules sont sécrétées. Ainsi glucose et électrolytes se retrouvent à des concentrations similaires à celles du plasma, alors que le taux de protéines dans le LS représente environ 25 à 35 % des concentrations plasmatiques chez le même cheval. Différentes molécules telles que des protéoglycanes, de l'acide hyaluro-

nique ou des phospholipides tensioactifs sont notamment produites par les chondrocytes et la membrane synoviale, et se retrouvent ainsi dans le LS [42]. D'autres glycoprotéines présentes en faible quantité, comme la lubricine, jouent un rôle important dans le pouvoir lubrifiant du liquide synovial [24]. L'acide hyaluronique représente le constituant majeur du liquide synovial. Polysaccharide linéaire, il est formé de 10 000 à 12 000 unités disaccharidiques d'acide glucuronique et de N-acétyl-glucosamine. Il est fortement hydraté et replié en amas déformables. Lorsque les contraintes qui s'exercent sur le cartilage sont faibles (comme c'est le cas lors de la marche), le frottement des molécules d'acide hyaluronique entre elles rend le liquide visqueux. Leur mouvement diminue alors les forces de friction à la surface du cartilage. Lorsque les contraintes sont plus élevées (comme c'est le cas lors de la course), elles subissent une déformation élastique. Elles emmagasinent ainsi de

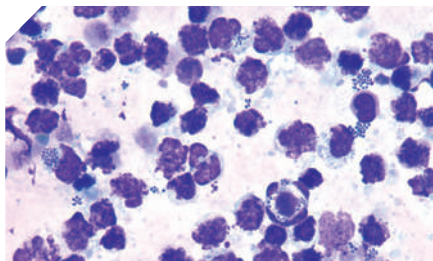


Photo 1.

Arthrite septique : bactéries libres en amas (coques à Gram positif) et nombreuses cellules (neutrophiles dégénérés et autres) peu différenciables à l'examen cytologique d'un liquide articulaire (coloration au May-Grünwald-Giemsa, $\times 500$). Cliché : LFD.

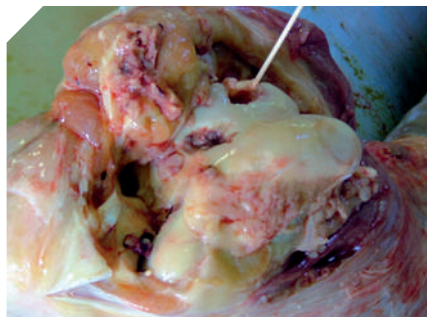


Photo 2.

Vue macroscopique d'un grasset avec une arthrite septique, présentant une abondante collection de fibrine et des foyers de lyse articulaire. Cliché : Anses Dozulé.

l'énergie, ce qui diminue les forces appliquées au cartilage. Les molécules d'acide hyaluronique sont hautement concentrées à proximité de la surface du cartilage. Outre le rôle protecteur de cette couche, elles pourraient constituer une matrice de maintien de composés glycoprotéiques ou lipidiques ayant leur propre action lubrificatrice.

Aspect général et évaluation biochimique

Le LS normal est un liquide clair, jaune pâle, visqueux, et ne coagulant pas mais devenant gélatineux (thixotropie). Sa viscosité est directement liée à la quantité et au degré de polymérisation de l'acide hyaluronique présent [37]. Celle-ci peut subjectivement s'évaluer en pratique en plaçant une goutte de LS entre le pouce et l'index, puis en séparant les doigts. Le liquide produit ainsi généralement un filament qui s'étire sur 2,5 à 5 cm de long avant de se briser [47]. Les valeurs de référence proposées pour la concentration en protéines totales dans le LS sont de 18 ± 3 g/l, des valeurs inférieures à 20 g/l étant classiquement considérées comme physiologiques [51]. Le pH normal du LS reflète celui du sérum à $7,30 \pm 0,06$ dans une articulation saine, alors que la concentration normale en lactates est légèrement supérieure à celle du plasma, variant entre 1,2 et 2,8 mmol/l [48].

Comptage cellulaire et évaluation cytologique

Le LS ne contient physiologiquement pas d'érythrocytes (sauf contamination iatrogène au moment de la ponction) et pos-

sède une faible quantité de cellules nucléées (inférieure à 1×10^9 /l), dont une majorité de cellules mononucléées (macrophages, lymphocytes et synovio-cytes) [42]. La plupart des échantillons révèle un comptage cellulaire total inférieur à $0,2 \times 10^9$ /l, et les neutrophiles représentent généralement moins de 10 % des cellules nucléées [31, 37, 51]. Un niveau d'expérience suffisant est requis pour interpréter un examen cytologique de LS, notamment lorsque la viscosité est proche de la normale. En effet, la segmentation des neutrophiles est parfois peu apparente, rendant difficile la différenciation entre cellules poly- et mononucléaires [13] (photo 1). Ainsi une étude a précédemment été effectuée en médecine humaine, lors de laquelle le même prélèvement de LS a été analysé par 26 laboratoires hospitaliers différents, avec des valeurs de comptage cellulaire total variant de 2,5 à 12×10^9 /l [19].

Description du liquide synovial en situation septique

La collecte de LS est généralement simple, son volume étant fréquemment augmenté lors d'arthrite septique. La manipulation peut cependant être rendue difficile lors de plaie impliquant un drainage de LS ou, à l'inverse, lorsque de la fibrine empêche l'aspiration dans une articulation infectée (photo 2). Du sérum physiologique (NaCl 0,9 %), voire du Ringer lactate peut être injecté dans la structure synoviale et ensuite aspiré. Dans ce cas, le LS est dilué et l'interprétation des analyses est affectée (sous-estimation de la cellularité et de la concentration en

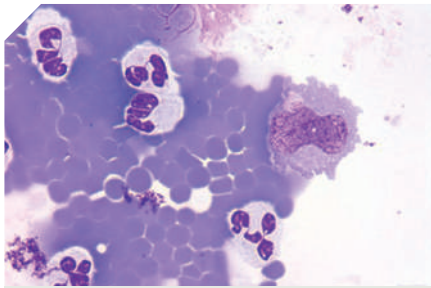
protéines). L'évaluation simultanée de la concentration en urée dans le sérum et dans le LS permet d'estimer facilement le degré de dilution de ce dernier, l'urée mesurée dans le LS reflétant fidèlement la concentration sérique [18].

Aspect général et évaluation biochimique

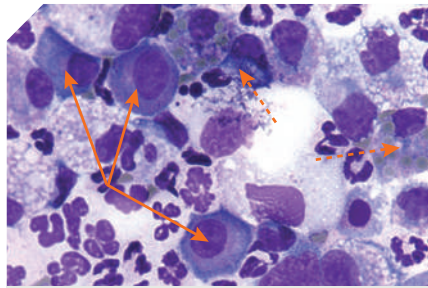
Lors d'arthrite septique, l'aspect du LS peut être de couleur blanchâtre à orangée et de trouble à opaque [34]. La présence de matériel floconneux de même qu'une turbidité empêchant toute lecture à travers l'échantillon sont aussi des éléments fortement suggestifs d'un processus infectieux [1]. Lorsque le LS est sanguinolent, la distinction entre hémorragie iatrogène et hémarthrose peut s'effectuer au moment du prélèvement, le LS n'étant uniformément coloré que dans cette dernière situation pathologique. Une baisse de la viscosité du LS est également observable lors de synovite, impliquant la présence d'une inflammation mais pas nécessairement d'une infection en cours [42]. Différents troubles inflammatoires sont associés à une augmentation de la concentration en protéines totales dans le LS, des valeurs supérieures à 40 g/l étant fréquemment rencontrées lors de processus septiques [3]. Ces concentrations peuvent varier selon la durée et la sévérité des troubles. Des valeurs inférieures à 25 g/l ont ainsi été précédemment reportées dans des LS avec un examen bactériologique (culture) "positif" [30]. Dans un modèle expérimental d'arthrite septique associée à *Staphylococcus aureus*, le pH du LS avait significativement diminué 12 heures après l'infection articulaire et variait entre 6,2 et 6,9 jusque 9 jours après inoculation. Parallèlement, la concentration en lactates avait considérablement augmenté dans les 24 heures après l'infection (6,9 à 11,9 mmol/l) et restait significativement élevée pendant 8 jours [48].

Comptage cellulaire et évaluation cytologique

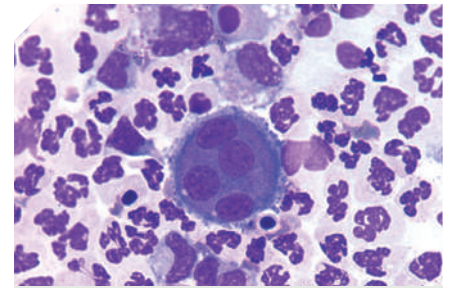
Lors de la réalisation du prélèvement, il convient de transférer une partie du LS dans un tube EDTA pour une analyse ultérieure. En effet, lors de contamination sanguine iatrogène ou d'hémarthrose

**Photo 3.**

Examen cytologique d'un liquide articulaire présentant quelques neutrophiles (noter l'apparence lobée), une cellule macrophagique et de nombreux érythrocytes libres. Cette image est suggestive d'une contamination iatrogène au moment de la ponction (coloration au May-Grünwald-Giemsa, $\times 1\ 000$). Cliché : LFD.

**Photo 4.**

Examen cytologique d'un liquide articulaire présentant plusieurs neutrophiles, quelques ostéoblastes (flèches pleines) et quelques hémossidérophages (flèches en pointillé). Cette image est suggestive d'une hémarthrose (coloration au May-Grünwald-Giemsa, $\times 500$). Cliché : LFD.

**Photo 5.**

Examen cytologique d'un liquide articulaire présentant un ostéoclaste (grande cellule multinucléée) et de très nombreux neutrophiles (coloration au May-Grünwald-Giemsa, $\times 500$). Cliché : LFD.

notamment, une possible coagulation n'est pas à exclure (photos 3 et 4) [42]. Un tube sec et éventuellement un flacon d'hémoculture sont également à prévoir pour réaliser un examen bactériologique. Lors d'arthrite septique, le comptage cellulaire total est souvent (largement) supérieur à $12 \times 10^9/l$ [43, 54]. Des valeurs supérieures à $30 \times 10^9/l$ ont ainsi été proposées comme suggestives d'infections alors que des comptages supérieurs à $100 \times 10^9/l$ seraient virtuellement pathognomoniques [31, 51]. En conditions expérimentales, l'augmentation du comptage cellulaire total apparaissait dans les 8 heures après l'induction de l'arthrite septique et devenait significative dans les 12 à 24 heures après l'inoculation [48]. Le comptage différentiel est majoritairement composé de neutrophiles, représentant généralement plus de 80 % de la population leucocytaire (photo 5) [29, 39]. Des changements toxiques (neutrophiles dégénérés, jeunes neutrophiles peu lobés) peuvent également être observés lors d'infection bactérienne [1]. Le comptage cellulaire total dans le LS est généralement dans les valeurs usuelles de référence lors d'ostéochondrite disséquante (OCD) alors qu'il peut être modérément augmenté lors d'ostéoarthrose (généralement inférieur à $5 \times 10^9/l$) ou de synovite traumatique (généralement inférieur à $10 \times 10^9/l$) [47]. Une synovite "chimique" peut aussi être observée en réponse à une injection de différentes molécules (corticostéroïdes, anesthésiques locaux, antibiotiques, acide hyaluronique, glycosaminoglycanes, etc.), impliquant des comptages hors des valeurs usuelles de

référence et proches de celles observées lors de sepsis [5, 28, 44]. L'apparition précoce des signes, un comptage cellulaire total inférieur à $30 \times 10^9/l$ et une résolution sous 1 à 3 jours ont été précédemment suggérés pour différencier une synovite chimique d'une arthrite septique [2].

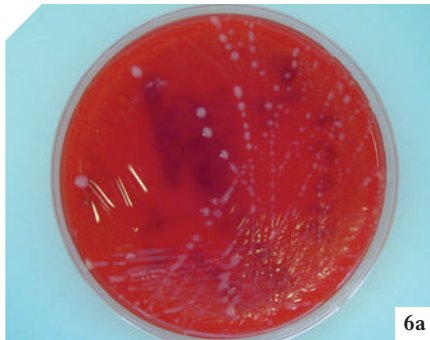
Limites de l'interprétation

Il convient d'interpréter avec prudence les différentes observations et résultats d'analyses pouvant être obtenus à partir du LS. En effet, une injection articulaire de corticoïdes, par exemple, peut retarder la réponse inflammatoire de l'articulation infectée et ainsi présenter temporairement un comptage leucocytaire et des protéines totales apparemment physiologiques [29, 49]. D'autres paramètres tels que le comptage différentiel (neutrophiles supérieurs à 90 %) ou le pH du LS (inférieur à 6,9) semblent cependant être pertinents pour l'établissement du diagnostic [49]. Un comptage cellulaire inférieur à $10 \times 10^9/l$ a aussi été rapporté lors de plusieurs cas d'arthrite septique impliquant un drainage du LS vers l'extérieur [30]. Dans une autre étude, 25 % des échantillons de LS contaminés ou infectés présentaient un taux de neutrophiles inférieur à 80 % lors du comptage différentiel [54].

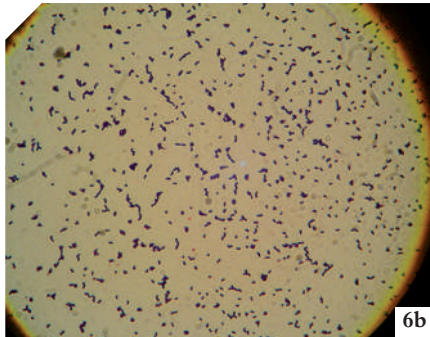
Investigation microbiologique

L'examen de référence (*gold standard*) dans le diagnostic de synovite septique est une culture bactérienne positive. Un

simple examen microscopique du LS à la suite d'une coloration de Gram peut cependant, en attendant les résultats de l'examen bactériologique, apporter des indications préliminaires dans 25 à 58 % des cas et ainsi guider le choix de l'antibiothérapie à appliquer [1, 30, 34]. Selon les études, les cultures bactériennes issues d'articulations infectées sont positives dans 23 et 55 % (très faible sensibilité diagnostique) lorsqu'un milieu d'enrichissement n'est pas utilisé [10, 30, 35, 36]. En effet, la concentration en micro-organismes viables dans le LS est souvent faible, et lorsqu'elles sont phagocytées, les bactéries ne peuvent être retrouvées par culture. Celle-ci peut également être affectée par des inhibiteurs intrinsèques présents dans le LS ainsi que par l'éventuelle précédente administration d'antibiotiques [20]. L'administration d'antibiotiques avant l'aspiration de LS diminuerait la probabilité d'obtenir une culture bactérienne positive [21]. Il convient donc d'attendre au moins 48 heures après l'administration d'antibiotiques avant de procéder à une recherche microbiologique. Dans une autre étude chez l'homme, une thérapie antibiotique préopératoire n'a pas interféré avec l'isolement de bactéries à partir du LS [17]. De plus, les bactéries peuvent également être séquestrées dans la membrane synoviale [43]. L'examen bactériologique sur cette dernière, simultanément au LS, est susceptible d'augmenter le nombre de cultures positives à 70 % des articulations infectées [3]. Le prélèvement idéal pour l'examen bactériologique est probablement un



6a



6b

Photos 6a et 6b.

Rhodococcus equi : colonies gris rosâtre sur gélose Columbia au sang de mouton (6a) et coloration de Gram ($\times 1\ 000$) présentant des coccobacilles à Gram positif (6b).
Clichés : LFD.

fragment de membrane synoviale, qui serait écrasé puis ensemencé sur des milieux adéquats. Parmi les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans le LS lors d'arthrite septique se retrouvent notamment *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus equi zooepidemicus* et autres *Streptococcus spp.* et *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* et autres *Enterobacteriaceæ*, *Actinobacillus equuli*, *Acitenobacter spp.*, *Rhodococcus equi*, *Enterococcus spp.* (photos 6a et 6b) [10, 11, 33, 45, 54]. Au-delà de cette liste non exhaustive, des cultures mixtes avec isolement de deux ou trois germes différents dans le LS sont fréquentes lors d'arthrite septique chez le cheval, contrairement aux infections d'origine hématogène chez le poulain [45].

Milieux enrichis

Afin de maximiser les chances d'obtenir une croissance bactérienne, il est recommandé de transférer une partie du LS dans un milieu pour hémoculture, notamment lorsqu'un traitement antibiotique a été mis en place avant le prélèvement et l'envoi de LS au laboratoire



Photo 7.

Matériel de conditionnement idéal (tube sec, tube EDTA et flacon d'hémoculture) pour un prélèvement de liquide articulaire lors de suspicion d'arthrite septique. Cliché : LFD.

[30, 39] (photo 7). Les flacons d'hémoculture contiennent en effet un milieu idéal pour la croissance de la majorité des micro-organismes, permettent l'utilisation de grands volumes de LS, et diluent les inhibiteurs de croissance et les antibiotiques potentiellement présents [52]. L'utilisation de telles méthodes d'enrichissement permettrait, selon les études, d'atteindre un taux de détection de micro-organismes (= sensibilité diagnostique) entre 55 et 79 % [10, 30, 36, 39]. Une étude très récente a évalué l'intérêt d'un système automatisé d'hémoculture pour la détection d'agents pathogènes dans le LS équin. Cette méthodologie a présenté un temps moyen de détection de 14 heures, ainsi qu'une précision de 95 %, une valeur prédictive positive de 92,3 % et une valeur prédictive négative de 98 % [11]. De plus, lorsque l'hémoculture automatisée a été comparée à la culture bactérienne "traditionnelle" (gélose) chez des chevaux traités avec des antibiotiques dans les 24 heures avant le prélèvement de LS, le nombre d'échantillons positifs était respectivement de 83 et de 21,3 % [10]. Bien que cette technique, fort coûteuse, puisse sembler prometteuse au premier abord, les flacons d'hémoculture ne peuvent pas être utilisés comme unique milieu de transport pour les examens microbiologiques car ils ne permettent pas la croissance de bactéries anaérobies strictes.

Biologie moléculaire

L'usage de la *polymerase chain reaction* (PCR) pour la détection d'ADN bactérien dans un LS, décrit pour la première fois chez le cheval dès 1996, constitue un test rapide permettant de détecter plusieurs bactéries, même en présence d'antibiotiques [7]. Depuis, plusieurs études visant à comparer différentes techniques de PCR entre elles ou par rapport aux techniques usuelles ont été réalisées chez l'homme et le cheval [4, 36]. Ainsi, la sensibilité globale de la PCR, utilisée comme seule méthode diagnostique sur un prélèvement de LS, a atteint 89,5 %, et son association avec l'hémoculture a permis d'augmenter significativement la sensibilité globale (91,8 %) par rapport à l'usage exclusif de cette dernière (77,6 %). Toutes ces techniques et leurs combinaisons ont été significativement plus sensibles que la culture sur gélose (37,8 %) [36]. À l'heure actuelle, le diagnostic par PCR ne permet pas de préciser la viabilité ou non des germes détectés, ni leur éventuelle sensibilité aux différents antibiotiques [25]. De plus, le risque d'obtenir des résultats faussement positifs, résultant d'une contamination lors du prélèvement, de l'analyse ou même de contaminants microbiens non infectieux dans le LS, reste élevé en raison de la stratégie utilisée (amorces universelles visant l'ARN 16S bactérien) [36].

Biomarqueurs disponibles

- Le dosage de plusieurs marqueurs biochimiques dans le sérum en vue de détecter divers troubles ostéoarticulaires est régulièrement étudié et discuté dans les publications [16, 32]. À ce jour, peu de biomarqueurs sériques sont disponibles dans le cadre d'une suspicion d'arthrite septique, contrairement à leur dosage dans le LS. Ainsi, l'intérêt du dosage du sérum amyloïde A (SAA, protéine majeure de l'inflammation chez le cheval) dans le LS en parallèle du sérum a récemment été mis en avant, une synthèse locale dans l'articulation enflammée ayant notamment été démontrée [22, 23]. La concentration de SAA augmentait dès 4 à 8 heures après l'induction expérimentale de l'arthrite septique, la réponse synoviale étant aussi dépendante de la quantité d'agent infectieux injectée localement [22]. Des arthrocentèses répétées (cinq prélèvements toutes les 4 heures puis trois prélèvements à 24 heures d'intervalle) chez des chevaux "contrôles" n'ont pas induit de modification de la concentration synoviale en SAA, alors qu'un échantillonnage réitéré peut en lui-même être responsable d'une augmentation du comptage cellulaire total dans le LS [12, 23]. De plus, il a été très récemment démontré chez des foals qu'une arthrite septique était significativement associée à une augmentation marquée de la concentration synoviale en D-dimère (marqueur d'activité fibrinolytique) dans l'articulation infectée [38]. Le dosage des formes latentes ou bioactives des MMP (*matrix metalloproteinase*) -2 et -9 dans le LS, bien que nécessitant une méthodologie actuellement encore peu utilisée (zymographie), semble pertinent pour discriminer des arthrites septique et non septique chez le cheval [14, 26]. De même, les concentrations en caséinase sont également augmentées dans le LS de chevaux atteints d'arthrite septique et pourraient ainsi aider à la mise en place du diagnostic [41].
- D'autres marqueurs biochimiques, investigués en routine de laboratoire sur différentes matrices, ont également fait l'objet d'études préliminaires dans le LS.

Ainsi l'activité de la myéloperoxydase (MPO) et la concentration en élastase (ELT) dans le LS ont été significativement plus élevées lors d'arthrite septique qu'en cas d'ostéoartrrose ou chez des chevaux contrôles, faisant de ces deux protéines des biomarqueurs potentiels en faveur d'un processus infectieux [8, 15]. À ce jour, la myéloperoxydase et l'élastase n'ont cependant pas encore été mesurées simultanément dans le LS du cheval afin d'en déterminer la valeur prédictive individuelle ou combinée.

- Un certain nombre d'autres biomarqueurs pourraient se révéler pertinents pour discriminer la présence d'une arthrite septique. Ainsi, Coté et coll. ont pu montrer que les taux d' α 2-macroglobuline (α 2-M, protéine intermédiaire de l'inflammation chez le cheval) native dans le liquide synovial de chevaux atteints d'arthrite septique étaient beaucoup plus élevés que dans le LS d'animaux arthrosiques, qui ont eux-mêmes des concentrations plus élevées par comparaison avec le LS de chevaux sains [6]. Dans la mesure où le TGF- β 1 (cytokine fortement impliquée dans le processus inflammatoire) est capable d'interagir avec l' α 2-M, l'étude de la liaison de cette cytokine montre que celle-ci est accrue de manière proportionnelle à la quantité d' α 2-M présente dans le LS.

De même, la concentration d'un petit protéoglycane, le kératane-sulfate, semble être un bon indicateur pour différencier les affections ostéoarticulaires dans le modèle équin. Ainsi, Todhunter et coll. ont évalué les concentrations de kératane-sulfate dans le LS de chevaux atteints d'arthrose, de fractures diverses, de synovite, d'ostéochondrose et d'arthrite septique [46]. Les auteurs démontrent que les taux de kératane-sulfate sont toujours plus élevés par rapport à des chevaux contrôles dans les différentes maladies citées, à l'exception des chevaux atteints d'arthrose. Donc, l'évaluation des concentrations de ce protéoglycane, bien que ne permettant pas de discriminer l'arthrite septique par rapport aux autres atteintes du système ostéoarticulaire, pourrait, semble-t-il, être prise en compte aux côtés d'autres marqueurs, comme la MPO ou l'ELT.

- En ce qui concerne l'acide hyaluronique de haute masse moléculaire appa-

rente, qui fait partie intégrante des constituants principaux du LS, il pourrait également se révéler être un marqueur pertinent avec pour objectif d'établir le diagnostic dans l'arthrite septique. Il a en effet été constaté que la taille moyenne de l'acide hyaluronique dans le LS chez des chevaux sains était de l'ordre de $2,5 \times 10^6$ Da et cette masse moléculaire apparente n'est pas significativement différente par rapport à celle de chevaux présentant une arthrite traumatique aiguë ou chronique. Cependant, de l'acide hyaluronique de masse moléculaire apparente plus faible (environ 1 à $1,5 \times 10^6$ Da) est détecté dans le LS d'articulations infectées, et ce degré de polymérisation intermédiaire est statistiquement plus faible par rapport au LS des contrôles [50].

Aspect prospectif dans l'utilisation des biomarqueurs

L'inflammation locale est l'une des caractéristiques de l'arthrite septique, qui peut avoir des conséquences sur la présence de biomarqueurs cartilagineux libérés dans le LS. Ainsi, De Grauw et coll. ont provoqué une inflammation localisée chez des chevaux par injection de lipopolysaccharide (LPS) et le liquide synovial a été collecté 8, 24 et 168 heures après injection [9]. Ces auteurs démontrent que le LPS provoque une libération de médiateurs de l'inflammation telle la prostaglandine E₂ (PGE₂) après 8 heures, alors que la substance P, la bradykinine et l'activité des MMP (MMP-1, MMP-8, MMP-13) montrent une augmentation très soutenue entre 8 et 24 heures après l'injection. Le dosage de l'épitope CS846, qui permet d'évaluer la synthèse de l'agrécan, révèle une augmentation du relargage dans le LS dès 8 heures et maximale à 24 heures avec un retour à des taux normaux 168 heures après l'injection. Parallèlement, les auteurs observent que la synthèse (évaluée dans le LS par le dosage Elisa du CPII ; propeptide C-terminal du procollagène II) et la dégradation du collagène de type II (évaluée par le dosage Elisa du peptide C2C ; site de clivage du collagène de type II par la collagénase) sont maximales 24 heures après l'injection de LPS, avec des taux qui demeurent tout

aussi élevés après 168 heures. Il semblerait donc tout à fait opportun d'envisager l'évaluation des concentrations articulaires des biomarqueurs cartilagineux dans le cadre de l'arthrite septique afin de confirmer ou d'infirmer l'utilisation potentielle de ceux-ci dans la démarche diagnostique.

Enfin, des études réalisées chez l'homme ont tenté de corréliser les niveaux d'expression de biomarqueurs anaboliques et cataboliques dans le liquide synovial de patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde ou d'arthrose. Les auteurs se sont fondés sur le principe qu'il pouvait exister un profil d'expression de biomarqueurs (anaboliques, cataboliques, inflammatoires, métabolisme de la matrice extracellulaire du cartilage) du liquide synovial différentiel dans ces deux maladies. Les conclusions de ces travaux indiquent qu'un "cluster" de biomarqueurs tels l'interleukine-11 (IL-11), le "leukemia inhibitory factor" (LIF) et l'"osteogenic protein-1" (OP-1) (également connue sous le nom de "bone morphogenetic protein-7") serait pertinent pour définir l'arthrose, alors que le suivi du profil d'expression du "cluster" IL-1, IL-6, IL-8, LIF et OP-1 serait plus caractéristique de la polyarthrite rhumatoïde [27]. D'un point de vue prospectif, il semble donc envisageable à moyen

terme de définir un algorithme dédié aux biomarqueurs (cytokines, chimiokines) permettant une utilisation pronostique dans le modèle équin, et qui puisse discriminer l'arthrite septique et l'arthrite non septique.

Éléments pronostiques et issue clinique possible

Selon les études, la survie à court terme (sortie d'hospitalisation) lors d'arthrite septique était de 45 à 84 % chez les poulains et de 84 à 90 % chez les chevaux adultes [39, 40, 43, 45, 53, 54]. Les chevaux présentant une culture bactériologique positive (sans enrichissement) dans le LS seraient davantage susceptibles (*odds ratio* = 18,9) d'être euthanasiés que ceux dont la culture était négative [45]. De même, le comptage cellulaire total ainsi que le ratio proMMP-9/proMMP-2 dans le LS au moment de l'admission étaient directement corrélés à la survie des chevaux atteints d'arthrite septique [26]. Un pourcentage de neutrophiles supérieur à 95 % dans un LS était également proposé comme facteur pronostic défavorable [43].

Parmi les poulains présentant une arthrite septique, 48,3 % ont ultérieurement participé à au moins une course, alors que 69,5 à 81 % des adultes ont retrouvé au moins leur niveau sportif initial [40, 45, 54]. Cependant, bien qu'une culture positive dans le LS n'a pas semblé être un élément déterminant pour la prédiction des performances futures, l'isolement de *Staphylococcus aureus* dans le LS a diminué significativement la probabilité (*odds ratio* = 6,4) des chevaux infectés à atteindre leur précédent niveau sportif [45].

Conclusion

L'application la plus importante lors d'une analyse de LS chez le cheval est la distinction entre synovites septique et non septique. Le diagnostic définitif (isolement bactérien) n'étant souvent établi que tardivement, le praticien doit généralement s'appuyer sur une association de paramètres et de biomarqueurs pour orienter le traitement à effectuer. Les différents axes de recherche, en cours tant chez l'homme que chez le cheval, vont permettre à l'avenir d'affiner plus rapidement le diagnostic d'arthrite septique, d'affiner le pronostic et de mieux évaluer la réponse aux traitements effectués. ▀

Références

- Bertone AL.** Update on infectious arthritis in horses. *Equine Vet. Educ.* 1999;11:143-152.
- Bertone AL.** Non-infectious arthritis In: Ross MW, Dyson SJ, eds. *Diagnosis and management of lameness in the horse.* WB Saunders, Philadelphia. 2003;606-610.
- Bertone AL, McIlwraith CW, Jones RL et coll.** Comparison of various treatments for experimentally induced equine infectious arthritis. *Am. J. Vet. Res.* 1987;48:519-529.
- Bonilla H, Kepley R, Pawlak J et coll.** Rapid diagnosis of septic arthritis using 16S rDNA PCR: a comparison of 3 methods. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011;69:390-395.
- Caron JP.** Intra-articular injections for joint disease in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2005;21:559-573.
- Coté N, Trout DR, Hayes MA.** Interaction of transforming growth factor-beta-1 with alpha-2-macroglobulin from normal and inflamed equine joints. *Can. J. Vet. Res.* 1998;62:279-286.
- Crabill MR, Cohen ND, Martin LJ et coll.** Detection of bacteria in equine synovial fluid by use of the polymerase chain reaction. *Vet. Surg.* 1996;25:195-198.
- Dagleish MP, Wakeman KD, McDiarmid AM.** A preliminary evaluation of the use of equine neutrophil elastase 2A concentration in synovial fluid as a marker for joint inflammation in horses. *Equine Vet. J.* 2003;35:623-626.
- De Grauw JC, van de Lest CH, Van Weeren PR.** Inflammatory mediators and cartilage biomarkers in synovial fluid after a single inflammatory insult: a longitudinal experimental study. *Arthritis Res. Ther.* 2009;11:R35.
- Dumoulin M, Pille F, Van Den Abeele AM et coll.** Use of blood culture medium enrichment for synovial fluid culture in horses: A comparison of different culture methods. *Equine Vet. J.* 2010;42:541-546.
- Dumoulin M, Pille F, Van Den Abeele AM et coll.** Evaluation of an automated blood culture system for the isolation of bacteria from equine synovial fluid. *Vet. J.* 2010;184:83-87.
- Dykgraaf S, Dechant JE, Johns JL et coll.** Effect of intrathecal amikacin administration and repeated centesis on digital flexor tendon sheath synovial fluid in horses. *Vet. Surg.* 2007;36:57-63.
- Ekman A, Rigdal ML, Gröndahl G.** Automated counting of nucleated cells in equine synovial fluid without and with hyaluronidase pretreatment. *Vet. Clin. Pathol.* 2010;39:83-89.
- Fietz S, Einspanier R, Hoppner S et coll.** Determination of MMP-2 and -9 activities in synovial fluid of horses with osteoarthritic and arthritic joint diseases using gelatin zymography and immunocapture activities assays. *Equine Vet. J.* 2008;40:266-271.
- Fietz S, Bondzio A, Moschos A et coll.** Measurement of equine myeloperoxidase (MPO) activity in synovial fluid by a modified MPO assay and evaluation of joint diseases - An initial case study. *Res. Vet. Sci.* 2008;84:347-353.
- Frisbie DD, McIlwraith CW, Arthur RM et coll.** Serum biomarker levels for musculoskeletal disease in two- and three-year-old racing Thoroughbred horses: A prospective study of 130 horses. *Equine Vet. J.* 2010;42:643-651.
- Ghanem E, Parvizi J, Clohisy J et coll.** Perioperative antibiotics should not be withheld in proven cases of periprosthetic infection. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2007;461:44-47.
- Gough MR, Munroe GA, Mayhew IG.** Urea as a measure of dilution of equine synovial fluid. *Equine Vet. J.* 2002;34:76-79.
- Hasselbacher P.** Variation in synovial fluid analyses by hospital laboratories. *Arthritis Rheum.* 1987;30:637-642.

- 20. Hughes JG, Vetter EA, Patel R et coll.** Culture with BACTEC Peds Plus F Bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. *J. Clin. Microbiol.* 2001;39:4468-4471.
- 21. Ince A, Rupp J, Frommelt L et coll.** Is 'aseptic' loosening of the prosthetic cup after total hip replacement due to nonculturable bacterial pathogens in patients with low-grade infection? *Clin. Infect. Dis.* 2004;39:1599-1603.
- 22. Jacobsen S, Niewold TA, Halling-Thomsen M et coll.** Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006;110:325-330.
- 23. Jacobsen S, Halling-Thomsen M, Nanni S.** Concentrations of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease. *Am. J. Vet. Res.* 2006;67:1738-1742.
- 24. Jay GD.** Characterization of a bovine synovial fluid lubricating factor. I. Chemical, surface activity and lubricating properties. *Connect. Tissue Res.* 1992;28:71-88.
- 25. Keer JT, Birch L.** Molecular methods for the assessment of bacterial viability. *J. Microbiol. Methods.* 2003;53:175-183.
- 26. Kidd JA, Barr ARS, Tarlton JF.** Use of matrix metalloproteinases 2 and 9 and white blood cell counts in monitoring the treatment and predicting the survival of horses with septic arthritis. *Vet. Rec.* 2007;161:329-334.
- 27. Kokebie R, Aggarwal R, Lidder S et coll.** The role of synovial fluid markers of catabolism and anabolism in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and asymptomatic organ donors. *Arthritis Res. Ther.* 2011;13:R50.
- 28. Kuemmerle JM, Uhlig H, Kofler J.** Severe acute inflammatory reaction (SAIR) of the fetlock joint after intraarticular hyaluronate injection in a horse. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 2006;19:236-238.
- 29. Lapointe JM, Laverty S, Lavoie JP.** Septic arthritis in 15 Standardbred race horses after intra-articular injection. *Equine Vet. J.* 1992;24:430-434.
- 30. Madison J, Sommer M, Spencer P.** Relations among synovial membrane histopathologic findings, synovial fluid cytologic findings, and bacterial culture results in horses with suspected infectious arthritis: 64 cases (1979-1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1991;198:1655-1661.
- 31. McIlwraith CW.** Synovial fluid analysis in the diagnosis of equine joint disease. *Equine Pract.* 1980;2:44-48.
- 32. McIlwraith CW.** Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. *Equine Vet. J.* 2005;37:473-482.
- 33. Meijer MC, Van Weeren PR, Rijkenhuizen AB.** Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2000;47:351-365.
- 34. Morton AJ.** Diagnosis and treatment of septic arthritis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2005;21:627-629.
- 35. Payne R, Greet T, Cash R et coll.** Surgical treatment of septic synovitis in the horse. Proceedings of the 46th British Equine Veterinary Association Congress 2007:143.
- 36. Pille F, Martens A, Schouls LM et coll.** Broad range 16S rRNA gene PCR compared to bacterial culture to confirm presumed synovial infection in horses. *Vet. J.* 2007;173:73-78.
- 37. Persson L.** On the synovia in the horse. *Acta Vet. Scand. Suppl.* 1971;13:22-29.
- 38. Ribera T, Monreal L, Armengou L et coll.** Synovial fluid D-dimer concentration in foals with septic joint disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2011; in press.
- 39. Schneider RK, Bramlage LR, Moore RM et coll.** A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. *Equine Vet. J.* 1992;24:436-442.
- 40. Smith LJ, Marr CM, Payne RJ et coll.** What is the likelihood that Thoroughbred foals treated for septic arthritis will race? *Equine Vet. J.* 2004;36:452-456.
- 41. Spiers S, May SA, Harrison LJ et coll.** Proteolytic enzymes in equine joints with infectious arthritis. *Equine Vet. J.* 1994;26:48-50.
- 42. Steel CM.** Equine synovial fluid analysis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2008;24:437-454.
- 43. Steel CM, Hunt AR, Adams PLE et coll.** Factors associated with prognosis for survival and athletic use in foals with septic arthritis: 93 cases (1987-1994). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1999;215:973-977.
- 44. Taintor J, Schumacher J, DeGraves F.** Comparison of amikacin concentrations in normal and inflamed joints following intra articular administration. *Equine Vet. J.* 2006;38:189-191.
- 45. Taylor AH, Mair TS, Smith LJ et coll.** Bacterial culture of septic synovial structures of horses: Does a positive bacterial culture influence prognosis? *Equine Vet. J.* 2010;42:213-218.
- 46. Todhunter RJ, Fubini SL, Freeman KP et coll.** Concentrations of keratan sulfate in plasma and synovial fluid from clinically normal horses and horses with joint disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997;210:369-374.
- 47. Trotter GW, McIlwraith CW.** Clinical features and diagnosis of equine joint disease In: McIlwraith CW, Trotter GW, eds. Joint disease in the horse. WB Saunders, Philadelphia. 1996;120-145.
- 48. Tulamo RM, Bramlage LR, Gabel AA.** Sequential clinical and synovial fluid changes associated with acute infectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.* 1989;21:325-331.
- 49. Tulamo RM, Bramlage LR, Gabel AA.** The influence of corticosteroids on sequential clinical and synovial fluid parameters in joints with acute infectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.* 1989;21:332-337.
- 50. Tulamo RM, Heiskanen T, Salonen M.** Concentration and molecular weight distribution of hyaluronate in synovial fluid from clinically normal horses and horses with diseased joints. *Am. J. Vet. Res.* 1994;55:710-715.
- 51. Van Pelt RW.** Interpretation of synovial fluid findings in the horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1974;165:91-95.
- 52. Von Essen R, Hölttä A.** Improved method of isolating bacteria from joints by use of blood culture bottles. *Ann. Rheum. Dis.* 1986;45:454-457.
- 53. Walmsley E, Anderson G, Muurlink M et coll.** Retrospective investigation of prognostic indicators for adult horses with infection of a synovial structure. *Aust. Vet. J.* 2011;89:226-231.
- 54. Wright IM, Smith MR, Humphrey DJ et coll.** Endoscopic surgery in the treatment of contaminated and infected synovial cavities. *Equine Vet. J.* 2003;35:613-619.

❖ Résumé

L'objectif le plus fréquent et d'importance majeure lors de l'investigation du liquide synovial chez le cheval est la discrimination entre synovites/artrites septique et non septique. Le diagnostic définitif (isolement bactérien) est souvent établi tardivement. En plus de l'investigation microbiologique, le praticien doit généralement s'appuyer sur une combinaison de critères pour orienter le traitement à effectuer. Parmi ceux-ci se retrouvent notamment l'aspect macroscopique du liquide articulaire, le comptage cellulaire total et différentiel, des paramètres biochimiques (taux de protéines ou de lactates), de même que le dosage dans le sérum et/ou le liquide synovial de différents biomarqueurs comme le sérum amyloïde A (SAA), la myéloperoxydase (MPO) ou l'élastase (ELT).

❖ Summary

Discriminating septic and non-septic arthritis when investigating an equine synovial fluid is the most frequent and relevant objective. Definitive diagnosis (bacteria isolation) is often established lately when effectively achieved. In adjunction to the microbiological investigation, the practitioner should then regularly rely on a combination of other criteria in order to determine the treatment to be performed. Among these criteria are notably the macroscopic aspect of the synovial fluid, total and differential cellular count, biochemical parameters (total proteins or de lactates), as well as serum and/or synovial dosage of different biomarkers such as serum amyloid A (SAA), myeloperoxidase (MPO) or elastase (ELT).