

Université de Montréal

**Évaluation du lavage articulaire avec des salines
hypertoniques dans le traitement de l'arthrite septique
chez le veau**

Par

DAMIEN ACHARD

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)
en sciences vétérinaires
option sciences cliniques

Août 2011

© Damien Achard, 2011

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé :

**Évaluation du lavage articulaire avec des salines
hypertoniques dans le traitement de l'arthrite septique
chez le veau**

Présenté par :
DAMIEN ACHARD

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Yvonne Elce, présidente-rapporteuse
David Francoz, directeur de recherche
André Desrochers, codirecteur
Gilles Fecteau, membre du jury

Résumé

L'arthrite septique chez les bovins est une affection le plus souvent d'origine bactérienne qui est une cause de boiterie fréquente associée à des pertes économiques importantes. Le traitement, qui doit être initié le plus rapidement possible, s'appuie sur l'utilisation combinée d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, d'un ou de plusieurs lavages articulaires ainsi que d'antibiotiques administrés de façon systémique pour un minimum de 3 semaines. Cette durée d'administration constitue une difficulté pour les élevages dits biologiques pour lesquels un cahier des charges strict limite un recours prolongé aux antibiotiques. Ainsi le traitement efficace de diverses conditions infectieuses et celui de l'arthrite septique en particulier dans ces élevages peut être compromis. L'objectif de ce travail est de s'appuyer sur les propriétés antimicrobiennes des solutions de saline hypertonique (SSH) pour limiter l'utilisation des antibiotiques dans les cas d'arthrite septique chez les veaux en intégrant ces solutions pour le lavage des articulations infectées.

Notre première étude a consisté à déterminer la sécurité d'emploi de deux concentrations de SSH (une commerciale à 7.2% et une maison à 15%) dans des articulations supposées saines chez le veau. Une synovite sévère associée à des signes cliniques caractéristiques d'atteintes articulaires a été observé lors de l'utilisation de SSH 15%. Son utilisation clinique comme solution de lavage articulaire est par conséquent déconseillée. Concernant la SSH 7.2%, malgré une synovite d'intensité variable, nous n'avons pas noté des signes cliniques caractéristiques d'atteintes articulaires. Son utilisation dans un contexte expérimental d'infection articulaire nous a paru réaliste.

Notre seconde étude a permis d'évaluer les effets du lavage articulaire avec de la SSH 7.2% dans un modèle expérimental d'infection à *Escherichia coli*. Trois groupes de traitement ont été constitués. Dans le premier groupe (traitement standard), un lavage était effectué avec du lactate de Ringer (LRS) et les veaux recevaient une administration biquotidienne de ceftiofur par voie intraveineuse pour 21 jours. Dans le deuxième groupe (LRS), un lavage était effectué avec du LRS et aucun antibiotique n'était administré. Enfin dans le

troisième groupe (SSH), un lavage était effectué avec de la SSH 7.2% sans qu'aucun antibiotique ne soit administré. Tous les veaux ont reçu du kétoprofen quotidiennement pendant 3 jours. L'inoculation s'est fait au jour 1 et les traitements ont débuté au jour 2. L'efficacité des traitements a été établie sur des critères cliniques, bactériologiques et cytologiques. Dans le modèle que nous avons utilisé, les trois groupes de traitements ont conduit à une guérison clinique et bactériologique satisfaisante (absence de boiterie, de douleur et de croissance bactérienne dans le liquide articulaire en fin d'étude). La guérison cytologique n'a quant à elle pas été jugée satisfaisante avec des moyennes de comptage et de pourcentage en neutrophiles tout groupe confondu bien supérieures aux valeurs normales ($11.39 \times 10^9/l$ de neutrophiles représentant 74.73% des leucocytes en fin d'étude). Le traitement avec la SSH 7.2% s'est révélé être significativement plus traumatique et pas plus efficace dans l'élimination de l'infection comparativement au traitement LRS. D'autre part, le lavage articulaire au LRS s'est révélé être aussi efficace et sécuritaire que le traitement standard de l'arthrite septique qui incluait 21 jours de ceftiofur administré par voie intraveineuse. Ainsi, bien que le lavage avec de la SSH 7.2% n'est pas démontré de résultats satisfaisants qui permettrait de limiter le recours aux antibiotiques dans les filières biologiques, l'association d'un lavage au LRS avec le ketoprofen s'est révélée être une alternative possible. De nouvelles études sont requises pour confirmer ses résultats et pour déterminer le rôle respectif du lavage articulaire et du ketoprofen dans la guérison lors d'arthrite septique.

Mots-clés : Arthrite septique, lavage articulaire, saline hypertonique, antibiotique, bovin, élevage biologique

Abstract

Septic arthritis in cattle is mainly an infectious bacteriological disease that is a frequent cause of lameness and is associated with great economic losses. Treatment must be prompt and includes non steroidal anti-inflammatory drugs with one or several joint lavage along with systemic antibiotics for at least 3 weeks. This long course of administration is unachievable for organic production systems where the use of antibiotics is strictly regulated. Thus the treatment of infectious disease with septic arthritis in particular may be jeopardized in these herds. The objectives of this work is to use antimicrobial properties of hypertonic saline solution (HSS) to limit the use of antibiotics in septic arthritis cases in calves, using HSS for joint lavage.

In our first study, we assessed the safety of two HSS of different concentrations (commercial 7.2% and home-made 15%) in healthy calves joint. A severe synovitis associated with typical clinical signs of joint lesions was observed when HSS 15% was used. Therefore this solution cannot be recommended for joint lavage in calves. A synovitis of variable degree was observed when HSS 7.2% was used. However no clinical signs or joint lesions were noted. Based on these results, we felt that HSS 7.2% could be tested in an experimental setting of joint infection.

In our second study, we evaluate the effects of joint lavage with HSS 7.2% in an experimental infection model with *Escherichia coli*. Three treatment groups were formed. In the first group, the joint lavage was realized with Lactated Ringer's Solution (LRS) and calves also received ceftiofur intravenously two times a day for 21 days. In the second group, the joint lavage was realized with LRS and saline was used instead of ceftiofur. In the last group, the joint lavage was realized with HSS 7.2% and saline was used instead of ceftiofur. All calves in this study received ketoprofen once a day for 3 days intravenously. Inoculation of bacteria took place on day 1 and all treatments started on day 2. Treatment's effectiveness was established upon clinical, bacteriological and cytological criteria. In our model, all treatment groups led to clinical and bacteriological recovery (no lameness, pain

or positive culture in the synovial fluid at the end of the experiment). Whatever the treatment group, cytological recovery was not achieved at the end of the study with mean number and percentage of neutrophils far superior when compared to usual values ($11.39 \times 10^9/l$ of neutrophils representing 74.73% of total leucocytes at the end of the experiment). Joint lavage with HSS 7.2% combined with ketoprofen successfully treated septic arthritis in this model but was significantly more harmful compared to joint lavage with LRS combined with ketoprofen. On the other hand, joint lavage with LRS combined with ketoprofen was found as efficient and safe than the standard treatment of septic arthritis which includes a 21 day administration of intravenous ceftiofur. Therefore, even if HSS 7.2% joint lavage cannot be a good choice to treat septic with the restriction of use of antibiotics in organic herds, the combination of a LRS joint lavage with ketoprofen showed promising results. Further studies are warranted to confirm these latter results and to determine specific effects of the lavage and of ketoprofen.

Keywords: septic arthritis, joint lavage, hypertonic saline solution, antibiotics, cattle, organic production

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	viii
Liste des abréviations.....	x
Dédicaces.....	xi
Remerciements.....	xii
Introduction	13
Recension de la littérature	15
Les articulations.....	15
<i>Anatomie</i>	15
<i>Physiologie</i>	19
L'arthrite septique.....	25
<i>Contexte</i>	25
<i>Généralités</i>	25
<i>Pathophysiologie</i>	26
<i>Diagnostic : signes cliniques et examens complémentaires</i>	29
<i>Traitements</i>	34
<i>Facteurs de risque et facteurs pronostics</i>	45
Les salines hypertoniques.....	47
<i>Généralités</i>	47
<i>Propriétés des salines hypertoniques</i>	47
<i>Usages</i>	49
Publications	51
Synovitis induced by joint lavage with hypertonic saline solutions.....	53
Evaluation of joint lavage with 7.2% hypertonic saline solution.....	62

Discussion générale	94
Contexte de la recherche et de l'agriculture biologique.....	94
A propos de l'innocuité des salines hypertoniques	95
A propos du modèle d'infection expérimental.....	95
A propos des traitements lors d'arthrite septique.....	98
Conclusion	100
Bibliographie	i

Liste des tableaux

Recension de la littérature

Tableau I – <i>Caractéristiques d'un liquide synovial normal</i>	31
Tableau II – <i>Effets de différentes solutions antiseptiques pour le lavage articulaire en comparaison avec une solution balancée</i>	39
Tableau III – <i>Composition des différentes solutions de saline hypertonique disponibles au Canada</i>	47

Article 1

Table I – <i>Joint swelling, joint pain, and lameness grade scale used for clinical assessment of calves</i>	53
Table II – <i>Synovial inflammation grading</i>	54

Article 2

Table I – <i>Joint swelling, joint pain, and lameness grade scale used for clinical assessment of calves</i>	88
Table II – <i>Bacterial analysis of synovial fluids according to group treatment and day of experiment</i>	89
Table III – <i>Means of leucocytes and differential count in synovial fluid according to group treatment and day of experiment</i>	93

Liste des figures

Recension de la littérature

Figure 1 – <i>Tarse gauche de bovin, vue médiale</i>	16
Figure 2 – <i>Section sagittale à travers l'aspect latéral du tarse d'un bovin</i>	18
Figure 3 – <i>Architecture d'une articulation de type synoviale</i>	20
Figure 4 – <i>Schéma représentant les différentes couches du cartilage articulaire et l'os sous-chondral</i>	23
Figure 5 – <i>Réaction inflammatoire suite à l'infection d'une articulation</i>	27
Figure 6 – <i>Relation entre les composantes majeures de l'arthrite septique</i>	29
Figure 7 – <i>Lavage de l'articulation tarsocrurale chez un veau par la technique « through and through » avec trois aiguilles 18-gauge et de la saline isotonique à 37°C</i>	42
Figure 8 – <i>Osmose au niveau d'une membrane cellulaire lorsqu'une solution de chlorure de sodium est présente d'un côté de la membrane et de l'eau est présente de l'autre côté</i>	48

Article 1

Figure 1 – <i>Change in joint swelling during the experiment</i>	54
Figure 2 – <i>Means of cytological parameters in synovial fluid in control joints and joints irrigated with 7.2% or 15% HSS</i>	55
Figure 3 – <i>Synovial inflammation score at the end of the study</i>	58

Article 2

Figure 1 – <i>Schema illustrating chronological events over a twenty four days period according to treatment group</i>	88
Figure 2 – <i>Means of joint swelling, lameness and global pain scores according to group treatment during the experiment</i>	90
Figure 3 – <i>Means of total protein concentration in synovial fluid according to group treatment during the experiment</i>	91
Figure 4 – <i>Means of neutrophils percentage in synovial fluid according to group treatment during the experiment</i>	92

Liste des abréviations

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens

CMI : concentration minimale inhibitrice

DMSO : diméthylsulfoxyde

GAG : glycosaminoglycanes

HA : acide hyaluronique

IL-1 : interleukine 1

kDa : kilodalton

LRS : solution de lactate de Ringer

MMP : matrix metalloproteinase

PGE2 : prostaglandine E2

SSH : solution de saline hypertonique

TNF- α : facteur de nécrose tumorale α

WBC : white blood cell count

Dédicaces

A Marie G. pour son amour et son soutien sans faille.

A mes parents, sans qui tout cela n'aurait pas été possible.

Et enfin à mes ami(e)s de part le monde et que je n'oublie jamais.

Remerciements

Je remercie très sincèrement les professeur(e)s André Desrochers, David Francoz, Gilles Fecteau, Christiane Girard et Yvonne Elce pour leur aide, à différents niveaux, dans la réalisation de cette « laborieuse » maîtrise. Que chacun d'entre eux trouve ici l'expression de mes plus vifs remerciements.

Introduction

L'arthrite septique est une condition myoarthroquelettique fréquente des bovins^{1,2} associée à des pertes économiques qui concernent une diminution de la production (lait), une diminution de la croissance chez les jeunes animaux (veaux de lait ou de boucherie), la mortalité, l'abattage précoce ainsi que les dépenses reliées au traitement de cette condition.

Chez le jeune veau de moins de 6 mois, l'infection articulaire se réalise principalement par voie hématogène à partir d'un foyer infectieux distant (abcès ombilical, abcès hépatique ou pneumonie)³. Les articulations les plus souvent atteintes sont le carpe, le grasset et le jarret⁴. Le traitement de l'arthrite septique requiert un diagnostic précoce et comprend l'utilisation combinée d'antibiotiques, d'anti-inflammatoires non stéroïdiens et d'un ou plusieurs lavages articulaires^{5,6}. Le but du lavage est de favoriser l'élimination des débris cellulaires, des bactéries et également des médiateurs pro-inflammatoires^{7,8}. Il peut être facilement réalisé « à la ferme » sous sédation en respectant de strictes règles d'asepsie. Idéalement, le soluté destiné au lavage doit être neutre, polyionique et balancée⁹. Généralement les solutions choisies sont soit la solution de lactate de Ringer (LRS) soit le chlorure de sodium à 0.9%⁶.

Le récent développement économique des élevages biologiques impose de revisiter les plans de traitements de nombreuses maladies, les maladies infectieuses en particulier. S'appuyant sur un cahier des charges strict pour garantir la qualité de leur produit, ces élevages doivent faire face aux maladies infectieuses en limitant le recours aux antibiotiques : « La gestion biologique des animaux d'élevage doit faire appel à des méthodes d'élevage naturelles, minimiser le stress, prévenir les maladies, éliminer progressivement le recours aux médicaments allopathiques chimiques d'usage vétérinaire (y compris les antibiotiques) et préserver la santé et le bien-être des animaux. »¹⁰. En cas de problèmes, les animaux issus des élevages biologiques sont fréquemment traités avec des

antibiotiques et revendus à des producteurs traditionnels. Dans le cadre des arthrites septiques, il pourrait être intéressant d'utiliser une solution de lavage qui disposerait de propriétés antiseptiques, afin de limiter le recours aux antibiotiques pour les élevages biologiques.

Certains solutés antiseptiques contenant de la chlorexhidine ou de la povidone iodée diluée ont déjà fait l'objet de travaux de recherche^{9,11-13}. Il apparaît qu'il n'y a pas d'avantage à les utiliser par rapport à une solution balancée. Dans certains cas, ces solutés à base d'antiseptique peuvent s'avérer délétère pour l'articulation et sont donc formellement déconseillés. Les salines hypertoniques n'ont par contre pas fait l'objet de recherches approfondies. Solutés hyperosmolaires, ces solutions ont des propriétés antimicrobiennes¹⁴ et peuvent provoquer un choc osmotique dommageable aux bactéries. L'intensité des dommages varie en fonction de la concentration de ces solutions¹⁵. L'innocuité de tels solutés dans les articulations n'est pas documentée à notre connaissance.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'utilisation des salines hypertoniques pour le lavage articulaire dans le traitement de l'arthrite septique chez le veau. Dans un premier temps, nous rappellerons les grandes lignes anatomiques, pathophysiologiques, diagnostiques et thérapeutiques de l'arthrite septique chez les bovins. Dans un deuxième temps, nous évaluerons l'innocuité de deux solutions hypertoniques, l'une faite maison et concentrée à 15% et la seconde commerciale à 7.2%, dans l'articulation du tarse de veaux de 3 semaines en santé. Enfin dans un troisième temps, nous étudierons les effets du lavage à l'aide de saline hypertonique 7.2% dans le traitement de l'arthrite septique induite expérimentalement chez de jeunes veaux de 3 semaines. Nous faisons l'hypothèse, premièrement que l'innocuité des salines hypertoniques dépend de leurs concentrations et donc que les salines hypertoniques à 7.2% sont plus sécuritaires d'emploi et deuxièmement que l'utilisation de saline hypertonique à 7.2% peut contribuer à améliorer le traitement de l'arthrite septique par rapport à un lavage articulaire au lactate de Ringer.

Recension de la littérature

Les articulations

Anatomie

Les articulations sont des lieux de réunions de deux ou plusieurs os. Ces os peuvent être soudés (synarthrose), peu mobiles (amphiarthrose) ou très mobiles (diarthrose)¹⁶. Toutes les articulations diarthrosiques sont des articulations de type synovial et les termes « diarthrosique » et « synoviale » sont considérés comme équivalents par la terminologie anatomique (*Terminologia Anatomica*, TA).

L'articulation choisie dans notre étude est l'articulation du tarse des bovins. Cette articulation unit le tibia et la fibula avec les os du tarse et du métatarse (figure 1). Son maintien est assuré par une disposition complexe de ligaments parmi lesquels les ligaments collatéraux (médial long, médial court, latéral long, latéral court) jouent un rôle central.

Chez les ruminants, on note plusieurs particularités osseuses spécifiques. La fibula est réduite à la présence de la malléole latérale et s'articule à l'extrémité distale du tibia. Les os du tarse sont organisés en trois rangées (proximale, intermédiaire et distale) et sont au nombre de 5 : le talus, le calcaneus, l'os naviculo-cuboïde (soudure entre l'os naviculaire et l'os cuboïde), le grand cunéiforme (os tarsal II et III) et le petit cunéiforme (os tarsal I). Enfin le métatarse est constitué de l'union des métacarpes III et IV.

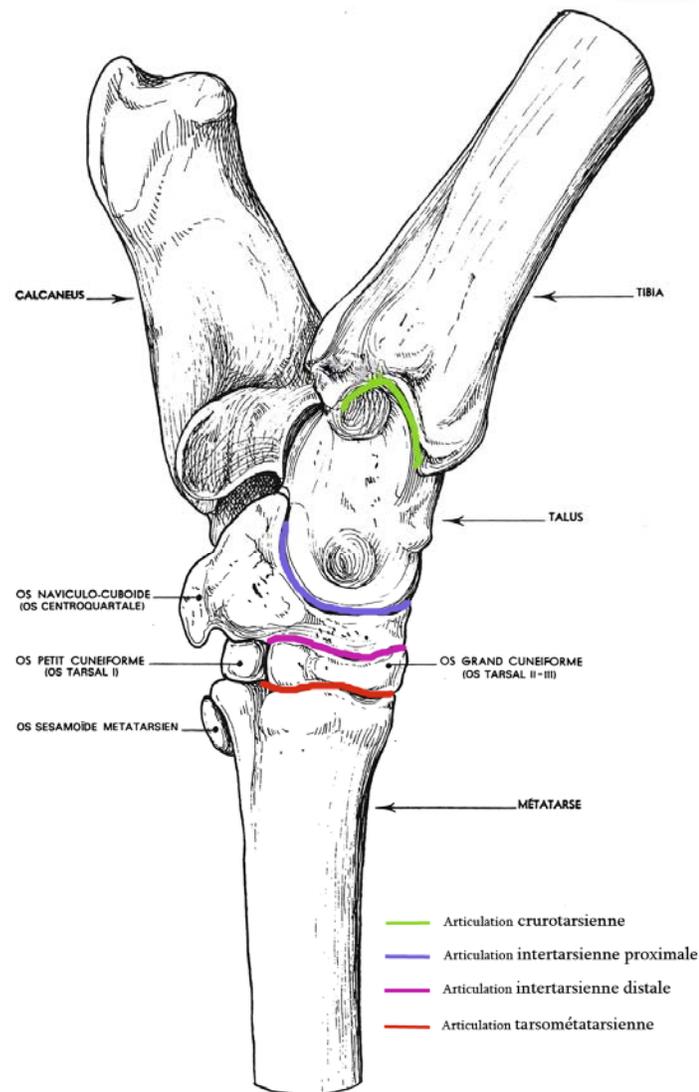


Figure 1 - Tarse gauche de bovin, vue médiale (d'après Barone, 2000)¹⁷

L'articulation du tarse est une articulation multiple de type synoviale. Elle constitue le jarret chez les Mammifères domestiques et se subdivise en 4 parties (figure 1) :

- l'articulation *crurotarsienne* (tarsocrural en anglais) unit la rangée proximale des os du tarse (talus et calcaneus) avec le tibia et la fibula. C'est l'articulation du tarse la plus mobile et la plus volumineuse¹⁸. Elle communique avec l'articulation intertarsienne proximale par son aspect plantaire. Elle comprend trois expansions ou

récessus: deux plantaires et une dorsale. Les deux expansions plantaires sont disposées au voisinage immédiat de la malléole l'un latéralement et l'autre médialement. L'expansion dorsale est disposée sous le tendon médial du muscle tibial cranial. Ces expansions communiquent entre elles et peuvent être ponctionnées facilement (figure 2).

- l'articulation *intertarsienne proximale* unit la rangée proximale des os du tarse (talus et calcanéus) avec l'os naviculo-cuboïde. Chez les bovins le talus s'articule proximale et distalement, rendant l'articulation intertarsienne proximale mobile dans cette espèce alors que ce n'est pas le cas chez les équins. Comme mentionné plus haut, cette articulation communique avec l'articulation crurotarsienne. Elle ne communique pas avec les autres articulations du tarse.
- l'articulation *intertarsienne distale* unit l'os naviculaire avec les os tarsiens I (petit cunéiforme), II et III (grand cunéiforme). Chez les bovins, 31% des articulations intertarsienne distale et tarsométatarsienne communiquent¹⁹.
- l'articulation *tarsométatarsienne* unit la rangée distale des os du tarse avec le métatarse.

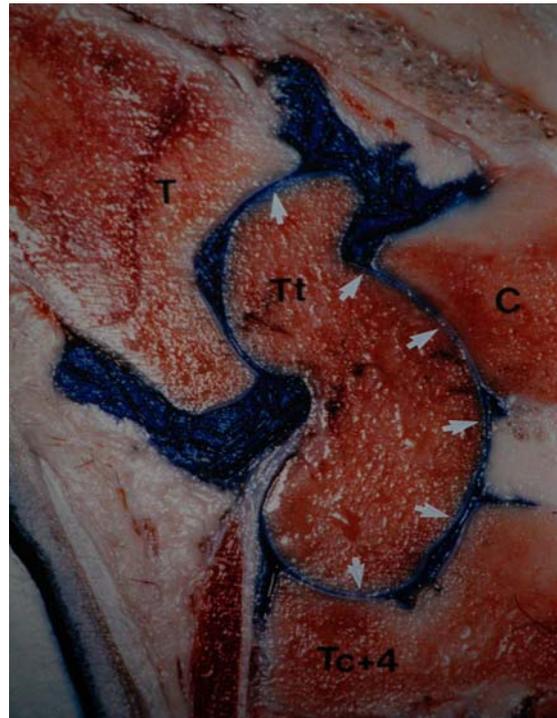


Figure 2 – Section sagittale à travers l’aspect latéral du tarse d’un bovin. L’articulation crurotarsienne communique avec l’articulation intertarsienne proximale entre l’aspect latéral du tibia et la lèvre latérale de la trochlée du talus (flèches). T = tibia distal; Tt = trochlée proximale du talus; C = calcaneum; Tc+4 = os naviculo-cuboïde. (D’après Desrochers, 1995)¹⁹

Physiologie

Toutes les articulations synoviales partagent une même architecture (figure 3). Elles sont maintenues solidement par des ligaments et sont unies par une capsule articulaire qui les entoure et détermine une cavité articulaire contenant le liquide synovial. Cette capsule articulaire comprend une capsule externe fibreuse et une membrane interne synoviale. Enfin, pour éviter l'usure des extrémités osseuses en contact, ces dernières sont recouvertes d'un cartilage hyalin encore appelé cartilage articulaire.

L'apport sanguin de l'articulation synoviale se fait par diffusion à partir d'un réseau artérioveineux environnant. Dans les parties épaissies des capsules articulaires, la vascularisation devient faible¹⁷. Des vaisseaux lymphatiques sont également présents dans la membrane synoviale et permettent une élimination rapide de certaines substances hors de la cavité articulaire. L'innervation des articulations synoviales provient de branches périphériques ou musculaires des nerfs environnants. Cette innervation inclut des fibres proprioceptives, nociceptives et sympathiques couplées à des fonctions vasomotrices²⁰. Elle est complétée par la présence de différents mécanorécepteurs contribuant à la proprioception de l'articulation comme les corpuscules de Ruffini, les corpuscules de Pacini et les organes tendineux de Golgi. Enfin on remarque l'existence de nombreuses terminaisons nerveuses libres au sein de l'articulation synoviale²⁰.

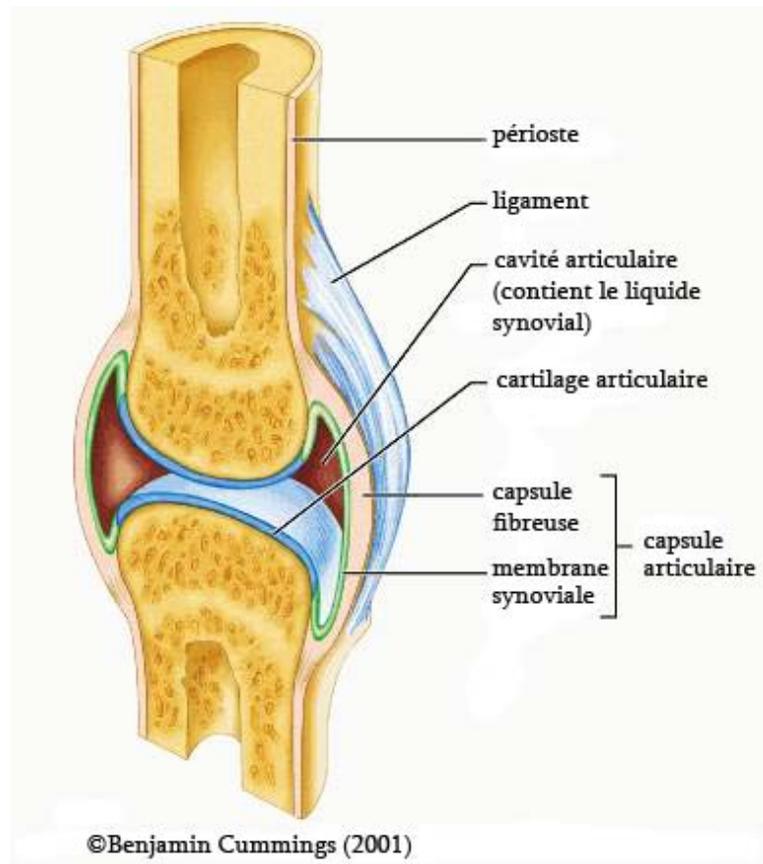


Figure 3 - Architecture d'une articulation de type synoviale

La membrane synoviale est un tissu conjonctif qui tapisse la surface interne de la capsule articulaire. Elle recouvre toutes les structures d'une articulation de type synoviale à l'exception du cartilage articulaire^{17,20}. Elle peut parfois s'étendre au-delà de la membrane fibreuse et former un diverticule extra-articulaire rempli de synovie qui est communément appelé récessus ou cul-de-sac synovial¹⁷. Ces récessus peuvent être en contact avec une gaine synoviale, un tendon ou un ligament dont ils favorisent le glissement. La face interne de la membrane synoviale est irrégulière. La présence de plis et de villosités synoviales permet d'augmenter sa surface et ses échanges avec le liquide synovial¹⁷.

La membrane synoviale se présente histologiquement en deux parties : l'intima et la lamina propria. L'intima est une couche d'une épaisseur inférieure à 100 microns composée de synoviocytes (épaisseur normale de 1 à 4 couches de synoviocytes) et dépourvue de

membrane basale²¹. Elle est en grande partie responsable du contenu du liquide synovial²². La lamina propria est une couche de tissu conjonctif fibreux, adipeux ou auréolaire richement irrigué (vaisseaux sanguins et lymphatiques) et contenant de rares cellules mononuclées²¹. Parmi ces cellules, les plus remarquables sont les mastocytes, surtout présents dans les zones où le revêtement est épais¹⁷. Les vaisseaux sanguins de la lamina propria sont éloignés de 5 à 10 micromètre de la surface de l'intima qui elle est non vascularisée. Cette proximité entre les capillaires et l'espace intrasynovial facilitent les échanges de fluide.

Les synoviocytes de l'intima sont essentiellement de deux types. Ils peuvent être dotés du pouvoir de phagocytose (synoviocyte de type A) et participent ainsi à l'élimination de débris hors de l'articulation. Ces synoviocytes sécrètent également de l'interleukine 1 et des prostaglandines du groupe E²³. Ils peuvent aussi être sécrétoires (synoviocyte de type B) et ils sont alors responsables de la production de différentes substances telles que l'acide hyaluronique, la lubricine (protéoglycane 4), les pro-MMP (matrix metalloproteinase), les interleukines ainsi que les eicosanoïdes²². L'ensemble de ces substances sécrétées par les synoviocytes s'accumule dans le liquide synovial.

La membrane synoviale remplit une autre fonction importante : elle régule la composition du liquide synovial²². Le liquide synovial est un liquide visqueux, incolore voir à peine ambré dont la viscosité et la couleur varient en fonction de l'espèce, l'âge et les conditions physiologiques. Le liquide synovial est peu abondant à l'état normal. A titre d'exemple l'articulation du carpe d'un bœuf peut en fournir 10 ml environ¹⁷. Le liquide synovial est composé d'eau, de sels minéraux (principalement du chlorure de sodium), de protéines (dont la lubricine) ainsi que d'oses, de lipides et d'urée en très petite quantités¹⁷. On trouve également dans ce liquide de 300 à 500 éléments figurés par microlitre qui sont principalement des leucocytes. Parallèlement on note la présence de rares hématies, de gouttelettes lipidiques et d'assez nombreux débris cellulaires¹⁷. Le liquide synovial est souvent présenté comme un ultrafiltrat du plasma²². Le processus de filtration bien que passif est en réalité très dynamique et il est dépendant de nombreux facteurs comme la

composition du liquide synovial, le degré d'inflammation dans l'articulation ou le drainage lymphatique. Tout composant plasmatique qui pèse moins de 10 kDa (glucose, oxygène, dioxyde de carbone, certaines protéines) peut franchir la barrière endothéliale de la lamina propria et ainsi participer à la composition du liquide synoviale²². Le rôle principal du liquide synovial est de lubrifier les surfaces de contact des articulations synoviales. Grâce à la lubriline, le liquide synovial forme un film capillaire visqueux autour du cartilage articulaire. Il a également un rôle dans la nutrition du cartilage articulaire qui est avasculaire.

La plaque osseuse sous-chondral et l'épiphyse assurent le contour et la stabilité du cartilage articulaire²². Associé au liquide synovial, le cartilage articulaire forme une surface de contact où les forces de frottement sont minimales ce qui facilite les mouvements de l'articulation. Ses propriétés d'élasticité et de résistance à la pression permettent d'absorber les chocs et de prévenir les fractures. Ce tissu est dépourvu de vaisseaux et de nerfs et par conséquent il est dépendant du liquide synovial pour sa nutrition et l'élimination des déchets issus de son métabolisme. Dans les grandes espèces, le cartilage peut faire défaut sur des surfaces plus ou moins grandes sans que cela soit considéré comme anormal (par exemple sur le relief intermédiaire de la trochlée ou sur la gorge du talus)¹⁷. L'épaisseur du cartilage articulaire varie en fonction de l'articulation voire au sein même d'une articulation. Plusieurs facteurs comme l'âge, l'espèce ou le poids qui pèse sur l'articulation influencent également l'épaisseur de ce tissu¹⁷. Son épaisseur moyenne est de 1 à 4 mm²². Le cartilage articulaire est composé de chondrocytes évoluant en condition anaérobie au sein d'une matrice extracellulaire dont ils sont à l'origine. Leur nombre ainsi que leur activité métabolique décline avec l'âge²³. Ils peuvent représenter jusqu'à 12% du volume du cartilage²². La matrice extracellulaire représente le reste du volume et se compose de collagènes, de protéoglycanes et d'eau. Le collagène de type II constitue 90 à 95 % du collagène du cartilage articulaire et il est produit par les chondrocytes²⁴. Le cartilage articulaire est organisé en 4 couches contiguës (figure 4). Cette organisation a été établie historiquement sur la base de l'apparence microscopique de l'orientation des fibres de

collagènes ainsi que des chondrocytes²². Elle concoure à donner au cartilage articulaire sa remarquable élasticité et sa grande résistance¹⁷.

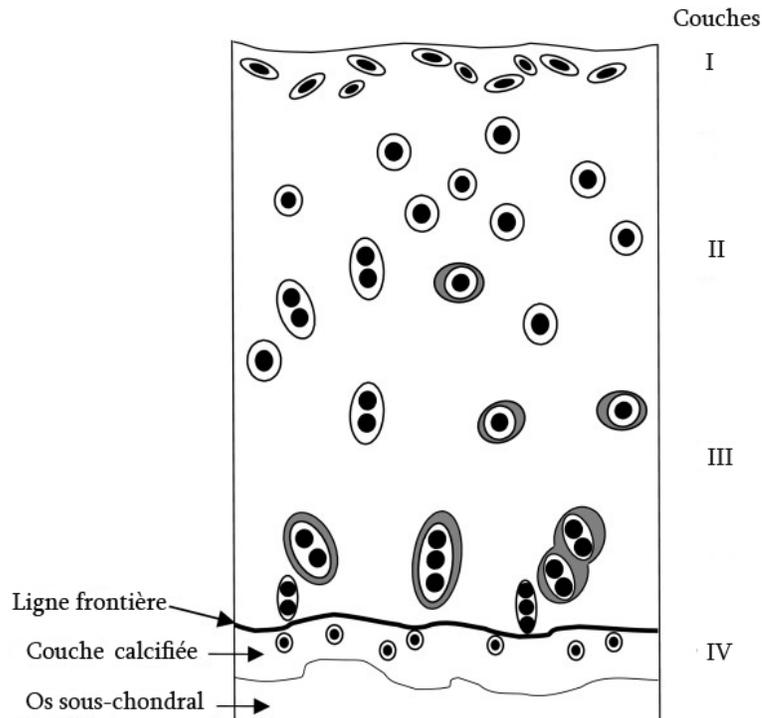


Figure 4 - Schéma représentant les différentes couches du cartilage articulaire et l'os sous-chondral (modifié à partir de Lyons et al.²⁵)

- I.** La couche superficielle ou tangentielle contient une densité élevée de chondrocytes aplatis orientés parallèlement à la surface articulaire. La densité en collagène est supérieure dans cette couche comparativement aux autres couches. Les fibres de collagène présentent également une orientation parallèle à la surface articulaire.
- II.** La couche de transition se caractérise par des chondrocytes plus larges et ovoïdes.
- III.** La couche profonde ou radiée. Les chondrocytes dans cette couche sont de grande taille et leur axe est orienté perpendiculairement à la surface articulaire. Cette couche présente la plus forte concentration en protéoglycanes et la plus faible teneur en eau.

- IV.** La couche calcifiée comprend des cellules minéralisées. Elle fixe le cartilage à la plaque osseuse sous-chondrale sous-jacente. La ligne frontière est une ligne de transition identifiable histologiquement (coloration à l'hématoxyline et l'éosine). Elle départage la partie calcifiée de la partie non calcifiée du cartilage articulaire.

Le volume intra-articulaire varie en fonction de la localisation anatomique de l'articulation, mais aussi en fonction d'autres critères comme l'intensité de l'effort ou l'existence d'une condition pathologique articulaire. La pression qui existe dans une articulation synoviale en position neutre est négative. Le mécanisme qui régule le volume et la pression à l'intérieur d'une articulation est encore mal compris²².

Les ligaments, la membrane externe fibreuse de la capsule articulaire ainsi que les muscles entourant l'articulation assurent sa stabilité²². Les ligaments et la membrane externe de la capsule articulaire sont composés principalement de collagène de type I parfois accompagnés de quelques fibres d'élastine ainsi que de protéoglycane. Cette composition leur confère leur propriété d'inextensibilité qui assure la contention de l'articulation. Ces tissus sont métaboliquement actifs et par conséquent ils s'hypertrophient lors d'activité et s'atrophient lors d'immobilisation²². Dans la plupart des articulations synoviales, les ligaments sont des épaissements de la portion fibreuse externe de la capsule articulaire. Lorsque l'articulation synoviale met en jeu des mouvements dans un seul plan, la membrane fibreuse est généralement fine et détendue sur les surfaces de flexion et d'extension tandis qu'elle est renforcée sur les surfaces osseuses les moins mobiles. Ces renforts sont couramment désignés par le nom de ligaments collatéraux²⁰.

L'arthrite septique

Contexte

Les problèmes locomoteurs sont une cause fréquente de réforme et représentent des pertes économiques considérables pour l'industrie bovine. A titre d'exemple, on estime qu'en 2004 les pertes économiques liées aux problèmes locomoteurs au Royaume-Uni ont dépassé les 180 millions de dollars US²⁶. Ces pertes financières peuvent s'expliquer par une chute de production (lait/viande), une diminution des performances de reproduction, une augmentation des frais vétérinaire ainsi qu'une diminution de la longévité de l'animal atteint. Conjointement à l'aspect économique, ces problèmes locomoteurs soulèvent des interrogations sur le bien-être animal étant donné la douleur engendrée par ces affections²⁷. Les maladies affectant les articulations représentent la deuxième cause de problèmes locomoteurs chez les bovins. Dans une étude britannique de 1977, 6% des atteintes de l'appareil locomoteur chez les vaches laitières (âge > 8mois) concernaient les articulations et les ligaments à la suite d'un trauma ou d'une infection². Chez les veaux de moins de 3 mois, l'arthrite septique est une affection dont le taux d'incidence a été calculé à 0.002 cas par veau-mois à risque dans une récente étude suédoise¹.

Généralités

Les maladies affectant les articulations ou arthropathies sont généralement classées en inflammatoire ou non inflammatoire²³. Parmi les arthropathies inflammatoires, on distingue celles qui sont de nature infectieuse de celles qui sont de nature non infectieuse.

Dans notre étude nous nous intéresserons principalement à l'arthrite septique dans l'espèce bovine. Il s'agit d'une arthropathie inflammatoire infectieuse fréquemment rencontrée par les médecins vétérinaires en pratique bovine et caractérisée par une inoculation pathogène d'une articulation²⁸. Chez les jeunes bovins, la plupart des cas d'arthrite septique sont la conséquence d'une dissémination sanguine d'un micro-organisme à partir d'un foyer

primaire d'infection (arthrite dite tertiaire). Ce foyer primaire comprend les structures ombilicales, les poumons ainsi que le tractus digestif. Cette affection peut se limiter à une articulation mais elle concerne le plus souvent plusieurs articulations. Les articulations du carpe, du tarse et du grasset sont les articulations les plus fréquemment atteintes chez les veaux²⁹. Chez les bovins adultes, l'arthrite septique est fréquemment le résultat soit d'une inoculation directement au niveau de l'articulation (arthrite primaire) soit d'une extension d'une infection périarticulaire (arthrite secondaire). Dans ces cas là, une seule articulation est généralement atteinte et ce sont les régions anatomiques les plus sensibles au traumatisme qui sont impliquées (boulet, carpe, tarse)²⁹.

De nombreux micro-organismes peuvent être à l'origine d'une arthrite septique (bactéries, protozoaires, champignons, virus)²³ mais elle est généralement d'origine bactérienne chez les bovins³⁰. *Arcanobacterium pyogenes* est la bactérie la plus fréquemment isolée avec près de 40% des cultures positives²⁹. On retrouve également des Streptocoques, des Staphylocoques et des Entérobactéries. Enfin on sous-estime probablement l'importance des bactéries anaérobies et des mycoplasmes (*Mycoplasma bovis*) dans les causes émergentes d'arthrite septique chez les bovins³⁰.

Pathophysiologie

L'arthrite septique débute par une réaction inflammatoire de la membrane synoviale (synovite) quelque soit son origine (primaire, secondaire ou tertiaire)³. Cette réaction est immédiate et marquée dans la plupart des cas³¹.

En temps normal, la membrane synoviale est capable de contrôler une population bactérienne et d'empêcher la prolifération et l'inflammation associée. Cependant, les micro-organismes peuvent surmonter cette défense s'ils sont très nombreux, s'ils sont très virulents ou si l'intégrité de la membrane synoviale est compromise³¹.

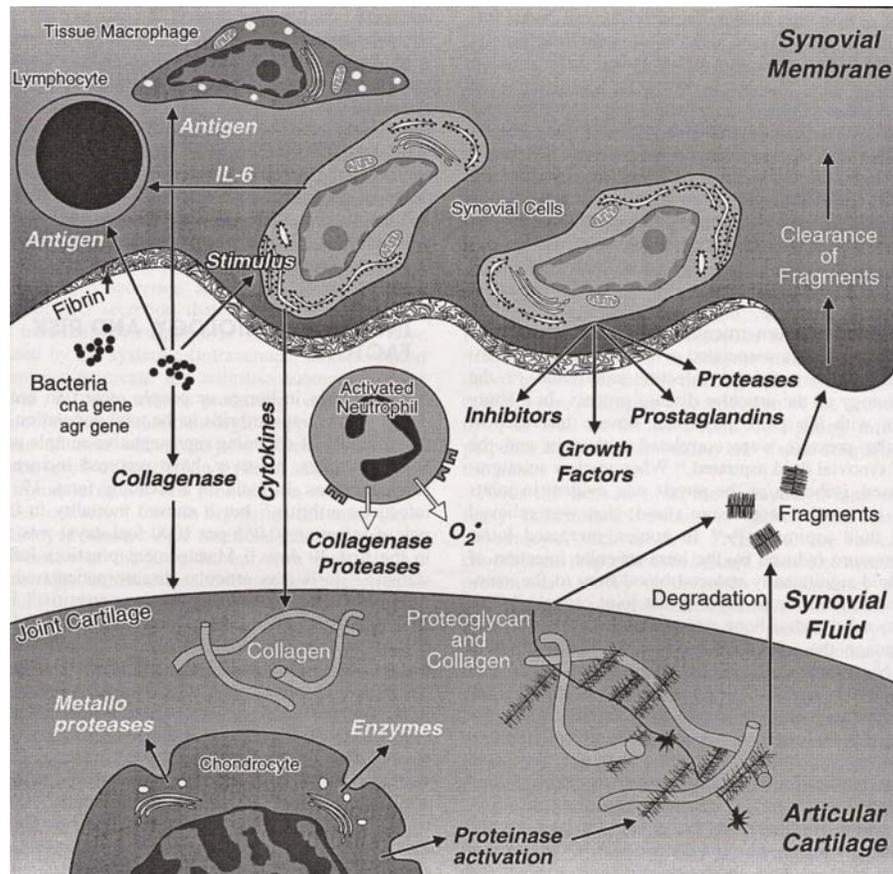


Figure 5 - Réaction inflammatoire suite à l'infection d'une articulation (D'après Bertone, 1996)³¹

Les antigènes des agents pathogènes sont reconnus comme non-soi par l'hôte ce qui déclenche une réponse inflammatoire aigue (figure 5). A la suite de l'augmentation de la perméabilité vasculaire de la membrane synoviale, de nombreux neutrophiles mais également des monocytes sont recrutés et attirés vers l'espace synovial pour tenter d'éliminer l'infection³². Les neutrophiles phagocytent alors les microorganismes mais libèrent également de nombreuses substances délétères telles que des collagénases, des lysozymes, des radicaux libres ainsi que des cytokines comme l'interleukine 1 (IL-1) et le facteur de nécrose tumorale (TNF α). Parallèlement à l'afflux de neutrophiles, de nombreux médiateurs de l'inflammation comme les prostaglandines (PGE2 notamment) pénètrent

dans la cavité synoviale ce qui active les systèmes de la coagulation, de la fibrinolyse, du complément et de la kinine. L'ensemble de ces événements cellulaires et moléculaires amplifie la réponse inflammatoire et provoque l'activation des synoviocytes et des chondrocytes. Cette activation entraîne la réduction de la production de protéoglycanes par les chondrocytes ainsi que la synthèse de MMP par les chondrocytes et les synoviocytes. Les MMPs sont essentielles au renouvellement de la matrice cartilagineuse mais ils jouent un rôle clé dans sa dégradation lors de processus pathologique touchant aux articulations, arthrite septique compris³³. Dans les modèles animaux d'infection articulaire à *Staphylococcus*, la dégradation de la matrice cartilagineuse débute dans les 48 premières heures suivant l'inoculation chez les animaux non traités³⁴.

On sait d'autre part que certains facteurs physiques comme l'effusion synoviale ou la formation de fibrine participent à la pathophysiologie de l'infection articulaire³¹. Ainsi l'accumulation excessive de liquide synoviale provoque une augmentation de la pression intra-articulaire qui a plusieurs conséquences : l'apparition de la douleur, une réduction du flux sanguin vers la capsule articulaire et une ischémie des plaques osseuses voisines. Cette ischémie peut endommager l'articulation et réduire sa capacité à combattre l'infection. Un autre facteur physique important à prendre en compte lors d'infection articulaire est l'amas important de fibrine. Cet amas résulte souvent dans la formation d'un pannus, sorte de conglomérat fibrinocellulaire intrasynovial qui emprisonne bactéries et cellules inflammatoires. Cela en fait un nid d'infection et permet de perpétuer le cycle inflammatoire délétère à l'articulation. De plus, ce pannus agit comme une barrière physique empêchant la diffusion à travers la membrane synoviale et compromettant ainsi la nutrition du cartilage et la circulation des antibiotiques⁷.

Finalement cette série d'évènements conduit à une diminution de la lubrification de l'articulation ainsi qu'à une dégradation du cartilage articulaire³⁰. Cette atteinte du cartilage perpétue la synovite alimentant ainsi le cycle inflammatoire (figure 6). Si ce cycle n'est pas stoppé, il en résulte une altération permanente de l'articulation⁶.

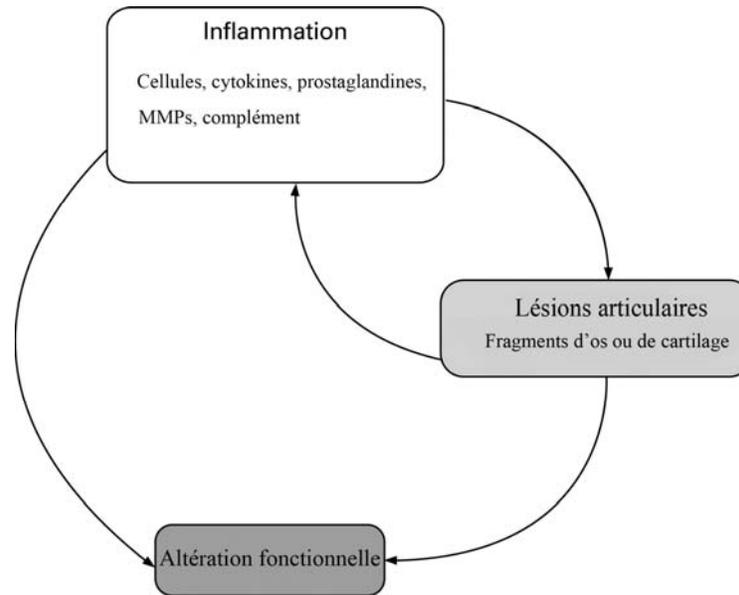


Figure 6 - Relation entre les composantes majeures de l'arthrite septique. D'après Smolen et al, 2009³⁵.

Diagnostic : signes cliniques et examens complémentaires

Lors d'arthrite septique, le diagnostic et le traitement doivent être réalisés rapidement si l'on veut que le pronostic reste favorable^{6,7}. En effet, toute prise en charge retardée ou incomplète peut provoquer des lésions articulaires irréversibles et une incapacité fonctionnelle permanente de l'articulation affectée. Toute prise en charge confondue, environ 40% des patients en médecine humaine présentent une diminution permanente de la fonction articulaire après avoir déclaré une arthrite septique³⁶.

Signes cliniques

Généralement les bovins atteints d'arthrite septique présentent une boiterie sévère⁶. Cette boiterie peut avoir été modérée initialement mais elle évolue très rapidement vers une boiterie avec suppression d'appui. La ou les articulations atteintes sont sévèrement distendues, rouges, chaudes et douloureuses aussi bien lors de la manipulation que de la palpation³⁰. La source de l'infection doit être recherchée. Chez les adultes, on sera particulièrement attentif aux blessures ou traumatismes au voisinage de l'articulation atteinte. Chez les veaux, une gastro-entérite, une infection ombilicale ou une pneumonie peuvent compléter le tableau clinique de l'arthrite septique et être associée à un état fébrile.

Analyse cytologique et bactériologique du liquide articulaire

Lors d'arthrite septique, il y a une augmentation de la perméabilité vasculaire près de la membrane synoviale à l'origine d'un exsudat riche en protéines, neutrophiles et médiateurs de l'inflammation qui contribue à l'effusion synoviale cliniquement observée. Dans ces conditions, le prélèvement et l'évaluation du liquide articulaire peuvent permettre de confirmer la présence d'arthrite septique voire de déterminer l'agent étiologique³⁷. Le prélèvement articulaire peut également être utile à l'évaluation de la réponse au traitement d'un animal.

Le liquide articulaire d'une articulation saine est visqueux et paraît habituellement jaune pâle. C'est un liquide très peu cellulaire composé d'eau, de sels minéraux, de protéines, d'oses, de lipides et d'urée en très petite quantités¹⁷. Les valeurs normales des cellules et des protéines de liquides articulaires normaux ont été décrites chez les bovins dans les années 1960^{3,38,39}. Elles sont résumées dans le tableau I. Peu de facteurs de variations ont été identifiés à l'exception d'un auteur dont l'étude rapporte une concentration plus faible en leucocytes dans le liquide articulaire chez des jeunes bovins mâles de 1 à 2 ans comparativement à des taureaux de 7 ans³⁹. La grande majorité des cellules d'un liquide articulaire normal sont des lymphocytes et des monocytes, les neutrophiles ne représentant

qu'un faible pourcentage de ces cellules (tableau). Le liquide synovial est habituellement dépourvu de basophiles et d'érythrocytes sauf en cas de contamination sanguine.

Références	pH	Protéines (g/L)	Leucocytes (μL)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Neutrophiles (%)
Kersjes ³	N.D.	< 18	< 250	N.D.	N.D.	< 10
Van Pelt ³⁸	N.D.	N.D.	0 – 750	49	38	6
Amrousi ³⁹	7.4	N.D.	200 – 400	48	38	7

Tableau I – Caractéristiques d'un liquide synovial normal (N.D. non déterminé)

Lors d'arthrite septique, une opacification et la présence de matériel floconneux (fibrine) apparaît dans l'échantillon synovial. Le liquide articulaire perd également de sa viscosité³⁰. Il est souvent hémorragique traduisant une synovite marquée⁷. A l'analyse cytologique, la concentration totale en protéines ainsi que le nombre de leucocytes (principalement des neutrophiles) sont augmentés. La concentration en protéine du liquide synovial est souvent en relation avec la sévérité de la synovite et elle est également corrélée aux lésions du cartilage articulaire identifiées par arthroscopie⁴⁰. Chez les bovins, des seuils permettent de différencier les arthrites infectieuses des arthrites non infectieuses⁴¹. Ainsi les bovins présentant un liquide synovial avec une concentration en protéines supérieure à 45 g/L, un nombre total de cellules nucléés supérieur à 25 000 par μ L, un nombre total de neutrophiles supérieur à 20 000 par μ L et un pourcentage de neutrophiles supérieur à 80% sont considérés comme atteint d'arthrite septique⁴¹. Avec une sensibilité de 91.3%, une spécificité de 90% et une valeur prédictive positive de 94.8% le critère basé sur le pourcentage de neutrophile paraît le plus pertinent des critères diagnostiques analysés dans cet article⁴¹.

La confirmation de la présence de bactéries dans le liquide articulaire est immédiatement diagnostique d'une arthrite suppurative⁴². Il est possible de voir des bactéries libres ou

phagocytées dans le liquide articulaire au microscope mais le plus souvent la confirmation vient d'une culture bactériologique. Cette culture permet également de guider le choix de l'antibiotique. Malheureusement la sensibilité de cet examen est faible (environ 60%)³⁰. Des faux négatifs peuvent être obtenus lors d'infection chronique, lorsqu'un traitement antibiotique a été initié avant la culture ou encore lorsque l'analyse bactériologique n'a pas fait l'objet d'une demande spécifique (anaérobies ou mycoplasmes)³⁰. L'utilisation de bouteilles d'hémoculture pour le liquide articulaire semble améliorer la sensibilité des cultures positives, particulièrement pour des micro-organismes dont la culture est difficile⁴³. A contrario, les bouteilles d'hémoculture ne permettent généralement pas la culture de mycoplasmes³⁰. Dans certains cas, il peut se révéler important de réaliser une hémoculture conjointement à la culture de liquide articulaire. En effet, chez 9% des patients en médecine humaine, l'hémoculture est la seule source permettant de déterminer la bactérie en cause⁴².

Examens d'imagerie médicale

La radiographie est utile pour déterminer l'éventualité et la sévérité d'une atteinte osseuse ou cartilagineuse associée à l'arthrite septique. Ces atteintes comprennent l'ostéite, l'ostéomyélite, la physite, l'ostéoarthrite et les fractures qui communiquent directement ou indirectement avec l'articulation atteinte. Malheureusement, ces changements osseux ne sont visibles que tardivement à la radiographie (au moins une à deux semaines). Surtout, ils influencent négativement le pronostic et nécessitent un traitement plus agressif⁷.

L'échographie permet d'évaluer le liquide d'effusion articulaire, l'apparence du cartilage et surtout l'intégrité des tissus périarticulaire (ligaments principalement) qui peut être affectée lors d'arthrite septique. Si de la fibrine est détectée lors de cet examen, l'arthrotomie doit être favorisée par rapport à un lavage articulaire³⁰.

La résonance magnétique est une technique d'imagerie médicale utilisée chez l'homme qui permet de détecter précocement et avec précision les atteintes ostéochondrales ainsi que les dommages des tissus mous associés. Les critères distinctifs de l'arthrite septique par

rapport aux arthrites non septiques ont par ailleurs été établis⁴⁴. Ils fournissent une aide supplémentaire pour le diagnostic. Récemment, une étude publiée chez les chevaux démontre que la résonance magnétique peut aider au diagnostic de l'arthrite septique lorsque l'arthrocentèse est impossible ou qu'elle fournit des résultats ambigus⁴⁵. Elle peut aussi s'avérer utile dans les cas plus chroniques d'arthrite suppurative pour préciser l'étendue des dommages ostéo-articulaires.

Les biomarqueurs

Les biomarqueurs sont des indicateurs directs ou indirects d'un renouvellement inadéquat des tissus squelettiques (tissu osseux et cartilagineux)⁴⁶. Ces biomarqueurs sont souvent des molécules naturellement produites lors de processus métaboliques se déroulant dans les tissus squelettiques et présentes dans le liquide synovial⁴⁷. Lors d'atteinte des tissus squelettiques, la concentration de ces biomarqueurs augmente ou diminue suivant qu'ils sont reliés à une voie anabolique ou catabolique⁴⁸. L'intérêt récent pour les biomarqueurs en médecine vétérinaire repose sur leurs utilisations potentielles lors d'affections ostéo-articulaires telle que l'ostéoarthrite ou l'arthrite septique. Ces biomarqueurs pourraient permettre d'enrichir nos connaissances sur la pathophysiologie de ces affections, de réaliser un diagnostic précoce et de suivre l'évolution de la maladie et la réponse au traitement⁴⁹. Chez les bovins, ce sont les métalloprotéinases de la matrice (MMP) qui ont retenu l'attention des chercheurs et notamment les MMP-2 et MMP-9 (gélatinase A et B, respectivement)^{33,50}. Les MMP sont des enzymes qui jouent un rôle clé dans le renouvellement de la matrice extracellulaire du cartilage articulaire⁵⁰. Ces études montrent que l'expression relative de ces deux biomarqueurs dans le liquide synovial est amplifiée significativement lors d'arthrite septique naturelle ou induite expérimentalement^{33,50}. Dans une de ces études, la surexpression de MMP-2 et MMP-9 dans le liquide synovial a persisté pendant plusieurs jours alors que les cultures synoviales étaient devenues négatives⁵⁰. Bien que l'usage des biomarqueurs soit encore confiné au domaine de la recherche, les progrès

réalisés dans ce domaine permettent d'envisager une future utilisation clinique pour déterminer avec précision le degré d'atteinte des tissus squelettiques lors d'affection ostéo-articulaire.

Traitements

Comme nous l'avons mentionné, le contrôle rapide de l'infection et du processus inflammatoire intra-articulaire est essentiel pour le succès du traitement de l'arthrite septique ainsi que pour la préservation d'une fonction articulaire normale⁵¹. Le contrôle de l'infection passe par le retrait de tout matériel purulent de l'articulation associé à une antibiothérapie adaptée⁴².

Antibiothérapie

Idéalement, le choix des antibiotiques lors d'arthrite septique se fait à partir de l'isolement de bactéries à partir du liquide synovial⁵. Cependant comme la sensibilité de la culture bactérienne du liquide synovial est faible (voir plus haut) et qu'il faut attendre plusieurs jours pour connaître les résultats, l'antibiothérapie est débutée sans avoir une connaissance précise de la bactérie responsable. Le choix des antibiotiques est fait en fonction des bactéries qui sont suspectées à partir des données cliniques et épidémiologiques. Pour cette raison, il est important chez les bovins que des antibiotiques de large spectre soient sélectionnés pour couvrir les bactéries Gram positive telles qu'*Arcanobacterium pyogenes* ou *Staphylococcus aureus*, les bactéries Gram négative telles qu'*Escherichia coli* et éventuellement selon le contexte épidémiologique *Mycoplasma bovis*⁵². Une fois que les résultats de la culture bactérienne et de l'antibiogramme sont disponibles, l'antibiothérapie est réévaluée si nécessaire.

Des études pertinentes concernant la durée d'administration ou le choix des antibiotiques lors d'arthrite septique chez l'homme ou chez les animaux sont rares^{42,53}. Un traitement antibiotique de 4 semaines est généralement recommandé chez l'homme et chez le cheval

pour une résolution complète de l'infection articulaire⁵². Une méta-analyse examinant différents régimes antibiotiques lors d'ostéomyélite et d'arthrite septique chez l'homme a été publiée en 2001⁵⁴. Les auteurs de cette étude soulignent le manque d'études de qualité sur le sujet alors que l'utilisation d'antibiotique lors d'affection ostéo-articulaire est très répandue. Leur étude suggère l'absence de différence significative sur les taux de guérisons entre les différents régimes antibiotiques passés en revue dans leur analyse.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la durée et le choix du traitement antibiotique notamment la bactérie isolée en culture et la réponse au traitement^{8,5}. La persistance de l'agent infectieux au sein de l'articulation peut en effet être variable suivant la bactérie isolée. Dans une étude chez les chevaux comparant différents traitements lors d'infection articulaire expérimentale à *Staphylococcus aureus*, la culture bactérienne est restée positive dans 70% des articulations après 3 semaines d'antibiothérapie⁵⁵. A l'inverse, dans un modèle bovin d'infection articulaire à *Escherichia coli*, le liquide synovial était dépourvu de bactérie dès le 7^{ième} jour d'antibiothérapie⁵⁶. La virulence de l'agent infectieux peut également expliquer certains échecs thérapeutiques. Les bovins atteints d'arthrite septique à *Mycoplasma bovis* présentent une inflammation sévère de type fibrinosuppurative et nécrosante impliquant souvent les tissus péri-articulaires et qui répond généralement mal au traitement antibiotique^{57,58}. In vitro, l'enrofloxacin, le florfenicol et la spectinomycine ont démontrés leur activité inhibitrice contre 223 isolats de *Mycoplasma bovis* provenant de différentes régions des États-Unis et de différents tissus (lait, liquide synovial, liquide de lavage trachéal)⁵⁹. La réponse au traitement peut être suivie à partir de l'évolution des signes cliniques, des paramètres cytologiques et bactériologiques du liquide synovial et également par le biais des examens d'imagerie médicale. L'antibiothérapie systémique de large spectre doit être continuée jusqu'à la résolution des signes cliniques, normalisation des paramètres du liquide articulaire et absence de croissance bactérienne du liquide synovial. Si aucune amélioration n'est visible dans les 72 heures qui suivent la mise en place d'un traitement approprié, le plan thérapeutique doit être ajusté.

La voie systémique est privilégiée pour le traitement antibiotique des arthrites septiques. L'administration parentérale d'antibiotique permet d'atteindre des concentrations thérapeutiques dans le liquide synovial pour la plupart des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire^{3,6,60,61}. Il existe à l'heure actuelle plusieurs techniques disponibles pour augmenter localement la concentration des antibiotiques dans l'articulation infectée. Ces techniques doivent compléter et non remplacer l'administration systémique d'antibiotiques. La plus simple de ces thérapies est l'injection intra-articulaire. L'administration intra-articulaire d'antibiotique est un traitement fréquent lors d'arthrite septique chez les chevaux. Généralement, elle fait suite au lavage articulaire et est répétée quotidiennement jusqu'à la résolution des signes cliniques⁶². L'innocuité de l'administration intra-articulaire d'antibiotiques, comme la gentamicine, l'amikacine ou le ceftiofur, a été rapportée dans la littérature. Bien que des concentrations élevées de certains antibiotiques (enrofloxacin et certaines tétracyclines) puissent nuire à la membrane synoviale ou aux chondrocytes d'articulations normales, les injections intra-articulaires semblent relativement sécuritaires et donc utilisables dans une articulation infectée⁶³. Comparativement à la voie systémique, l'injection intra-articulaire diminue significativement les réactions d'hypersensibilité et de toxicité. De plus, la concentration en antibiotique atteinte suite à une injection intra-articulaire permet de dépasser plus durablement le seuil de sensibilité. Ainsi dans une étude chez les chevaux, les concentrations synoviales après une injection intra-articulaire de 150 mg de ceftiofur restent au dessus de la concentration minimale inhibitrice (CMI90) pendant 24 heures alors que les concentrations synoviales atteintes suite à une injection intraveineuse à la posologie de 2.2 mg/kg de ceftiofur ne restent que 8 heures au dessus de la concentration minimale inhibitrice (CMI90)⁶⁴. Cependant, des arthrocentèses répétées doivent en général être réalisées ce qui augmente significativement le risque d'altération articulaire ainsi que le risque de surinfection. Pour limiter le traumatisme engendré par des injections répétées, plusieurs méthodes ont été développées : l'injection en continue à l'aide d'un cathéter intra-articulaire⁵¹, la mise en place d'implants imprégnés d'antibiotique dans l'articulation⁶⁵ ou

bien l'injection intraveineuse régionale sous garrot³⁰. La plupart de ces méthodes ont montré une certaine efficacité clinique malheureusement elles ne sont pas adaptées aux contraintes particulières des bovins concernant les résidus des médicaments vétérinaires et le choix restreint des antibiotiques. Il reste donc à déterminer une formulation de libération « en continue » adaptée à cette espèce.

Lavage articulaire

Le lavage articulaire est recommandé chez les bovins atteints d'arthrite septique^{3,30,26,31}. Le lavage articulaire vise à favoriser l'élimination des bactéries, des médiateurs de l'inflammation, des tissus dévitalisés et des éventuels débris occupant l'articulation infectée²⁶. A cause de la douleur liée à l'infection articulaire, une analgésie et une anesthésie adéquate sont nécessaires à la réalisation d'un lavage articulaire. Les lavages articulaires sont réalisés sous sédation et l'animal est immobilisé en décubitus latéral. Dans le cas d'un lavage sous arthroscopie, la procédure est généralement exécutée sous anesthésie générale²⁶.

La saline isotonique (0.9% NaCl) et le LRS sont les deux solutions les plus couramment utilisées pour l'irrigation en chirurgie et en arthroscopie humaine⁶⁶. Le lactate de Ringer est rapporté par de nombreux auteurs comme étant une solution plus physiologique comparativement à la saline isotonique⁶⁶⁻⁶⁹, y compris dans l'espèce équine⁷⁰. Cependant, dans un modèle expérimental chez des lapins, aucune différence n'a été observée par rapport au métabolisme des chondrocytes entre la saline isotonique, le lactate de Ringer et l'eau stérile⁷¹. Il a aussi été démontré que l'utilisation de saline isotonique chauffée à température corporelle pouvait diminuer les dégradations du cartilage articulaire par rapport à une solution de saline isotonique à 4 ou 25 °C⁷².

La solution idéale pour le lavage articulaire devrait être bactéricide et non irritante pour la membrane synoviale et le cartilage articulaire. Les solutions couramment utilisées telles que le LRS ou la saline « physiologique » sont très peu toxiques pour les tissus articulaires⁶⁹ mais ne sont pas bactéricides. La povidone iodée (PI) et la chlorhexidine (CH)

sont deux antiseptiques régulièrement employés pour la préparation préopératoire de la peau⁷³ et qui ont des propriétés bactéricides démontrées in vivo et in vitro^{74,75}. Plusieurs études chez les chevaux et les chiens, rapportées dans le tableau II, se sont intéressées à l'utilisation de ces antiseptiques pour le lavage articulaire. De ces études, il ressort que les solutions d'irrigation contenant du diacétate de chlorhexidine (CHD) ou de la povidone iodée sont soit irritante pour les tissus articulaires (PI 0.2%, PI 0.5%, CHD 0.5%, CHD 0.05%) ou sans réel avantage clinique comparativement à une irrigation limitée à une solution électrolytique balancée (PI 0.1%). Il n'existe donc pas à notre connaissance de solution de lavage articulaire qui soit à la fois bactéricide et peu irritante pour les tissus articulaires. Une telle solution, si elle existait, représenterait une réelle avancée dans le traitement des arthrites septiques.

Antibiotiques et anti-inflammatoires sont parfois rajoutés à la solution de lavage. Concernant les antibiotiques, il est préférable de les injecter dans l'articulation après le lavage pour augmenter leur concentration⁷⁶. Chez les chevaux, l'utilisation de diméthylsulfoxyde (DMSO) combiné avec la solution de lavage a été décrite dans des articulations saines⁷⁷. Aucune différence significative n'a été observée entre les articulations lavées au LRS et celles lavées avec deux concentrations différentes de DMSO (10 et 30%) pour les différents paramètres étudiés (clinique, analyse liquide synovial, histologie de la membrane synovial). L'ajout de DMSO a induit les mêmes changements inflammatoires que le LRS utilisé seul, ce qui semble limiter son intérêt en tant qu'anti-inflammatoire.

	<i>Groupe expérimental</i>	<i>Groupe contrôle</i>	<i>Évolution clinique</i>	<i>Liquide synovial</i>	<i>Membrane synoviale</i>	<i>Cartilage articulaire</i>
PI 0.1% CV ⁹	lavage (TAT) avec PI 0.1% dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	lavage (TAT) avec BES dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	légère boiterie et douleur à la palpation de l'articulation jusqu'à 4 jours post-lavage dans les deux groupes	concentration protéines et % de neutrophiles statistiquement similaires dans les deux groupes	synovite légère et transitoire dans les deux groupes	pas d'atteinte du cartilage dans les deux groupes
CV ¹¹	articulation tarsocrurale infectée avec S. aureus (n=4) puis 3 lavages (TAT) avec PI0.1% à J1, J3, J6	articulation tarsocrurale non infectée (n=4) 3 lavages (TAT) avec BES à J1, J3, J6	pas de différences entre les groupes	pas de différences entre les groupes	plus de fibrine dans le groupe contrôle	pas de différences entre les groupes
PI 0.2% CV ⁹	lavage (TAT) avec PI 0.2% dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	lavage (TAT) avec BES dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	légère boiterie et douleur à la palpation de l'articulation jusqu'à 4 jours post-lavage dans les deux groupes	concentration protéines similaires au contrôle BES tout le long de l'étude mais réponse neutrophilique prolongée jusqu'à J4	Synovite modérée dans le groupe expérimental	pas d'atteinte du cartilage dans les deux groupes
PI 0.5% CV ⁹	lavage (TAT) avec PI 0.5% dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	lavage (TAT) avec BES dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	boiterie sévère, douleur marquée à la palpation de l'articulation dans le groupe expérimental	concentration protéines significativement augmentée par rapport au contrôle BES à J4 et J8, réponse neutrophilique prolongée jusqu'à J8	synovite neutrophilique modérée à sévère	pas d'atteinte du cartilage dans les deux groupes

	<i>Groupe expérimental</i>	<i>Groupe contrôle</i>	<i>Évolution clinique</i>	<i>Liquide synovial</i>	<i>Membrane synoviale</i>	<i>Cartilage articulaire</i>
CHD 0.05% CV¹²	lavage (TAT) avec CHD 0.05% dans articulation tarsocrurale saine (n=6)	lavage (TAT) avec LRS dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	boiterie et effusion articulaire plus marquée dans groupe expérimental jusqu'à la fin de l'étude	concentration protéines significativement augmentée par rapport au contrôle LRS, % neutrophiles augmenté pour groupe expérimental (NS)	synovite plus marquée dans le groupe expérimental (ulcération synoviale, fibrine, vasculite, hyperplasie capsule articulaire)	
CN¹³	lavage (OTNC) avec CHD 0.05% dans articulation saine du genou (n=8)	lavage (OTN) avec LRS dans articulation saine du genou (n=8)	pas de différences entre les groupes	pas de différences entre les groupes	synovite plus marquée dans le groupe expérimental (ulcérations, fibrine)	pas d'atteinte du cartilage dans les deux groupes
CHD 0.5% CV⁹	lavage (TAT) avec CHD 0.5% dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	lavage (TAT) avec BES dans articulation tarsocrurale saine (n=3)	boiterie sévère, douleur marquée à la palpation de l'articulation dans le groupe expérimental	concentration protéines significativement augmentée par rapport au contrôle BES à J4 et J8, réponse neutrophilique prolongée jusqu' à J8	synovite neutrophilique modérée à sévère	pas d'atteinte du cartilage dans les deux groupes

Tableau II – Effets de différentes solutions antiseptiques pour le lavage articulaire en comparaison avec une solution balancée (selon 9, 11, 12 et 13)

PI : povidone iodée CHD : chlorhexidine diacétate BES : balanced electrolyte solution NS : non significatif
TAT : through-and-through OTNC : other the needle catheter

De nombreuses techniques de lavages articulaires ont été décrites. Le lavage peut être réalisé avec des aiguilles, sous arthroscopie ou après incision de la capsule articulaire (arthrotomie). Le choix de la technique de lavage est basé sur la cause de l'infection (origine traumatique ou origine hématogène), la durée de la condition et la sévérité des signes cliniques⁸. Il est souvent nécessaire de répéter le lavage articulaire bien qu'aucun consensus ne soit clairement établi à ce sujet. Lors d'infection articulaire aigüe, le lavage peut se faire efficacement par la technique dite « through and through » avec deux à trois aiguilles de 14 à 18 gauge positionnées de part et d'autre de l'articulation infectée (figure 7). Un à deux litres d'une solution stérile et à température physiologique sont introduits sous pression. Les aiguilles peuvent être temporairement obturées pour permettre une rupture des adhérences de fibrine ainsi qu'un lavage plus efficace de l'articulation³⁰. L'arthroscopie présente de nombreux avantages potentiels par rapport aux autres techniques de drainage : meilleure visualisation de l'articulation, identification des zones dévitalisées ou infectées, diminution de la période d'hospitalisation et amélioration de la mobilité articulaire post-infection^{65,78,79}.



Figure 7 - Lavage de l'articulation tarso-crurale chez un veau par la technique « through and through » avec trois aiguilles 18-gauge et de la saline isotonique à 37°C.

Peu d'études ont été publiées chez les bovins mais elles semblent montrer que l'arthroscopie est une alternative de traitement lors d'arthrite septique^{80,81}. Pour des raisons économiques, cette technique n'est envisagée que pour des animaux de grande valeur. Les articulations chroniquement infectées présentent souvent des caillots de fibrine et une membrane synoviale épaissie qui diminuent considérablement l'efficacité du lavage avec les aiguilles ou avec un arthroscope. Dans ces conditions, il peut être préférable d'opter pour l'arthrotomie. Cela permet de retirer les caillots de fibrine et d'éventuellement cureter certaines zones localisées d'ostéite ou d'ostéomyélite. Ainsi le plus souvent la gestion des cas sévères, réfractaires ou chroniques d'arthrite septique passe par l'arthrotomie chez les bovins. L'arthrotomie est réalisée aux sites usuels d'arthrocentèse. Au moins deux incisions de 3 à 5 cm sont effectuées pour permettre un écoulement du liquide synovial infecté, un retrait des caillots de fibrine ainsi que l'élimination la plus complète des tissus nécrotiques (cartilage et os compris). L'arthrotomie est suivie d'un

lavage avec 3 à 5 litre de solution d'irrigation stérile. Les plaies d'arthrotomie sont laissées ouvertes, seulement recouvertes par un bandage stérile changé quotidiennement. Chez les veaux et pour les articulations difficiles à recouvrir, on peut réaliser un « stent bandage » qui est suturé à la plaie d'arthrotomie. Quand l'infection est éliminée, l'effusion synoviale disparaît et le liquide synoviale qui s'écoule du site d'arthrotomie devient clair et visqueux. Les lavages sont alors généralement arrêtés tandis que l'on maintient l'animal sous un régime systémique d'antibiotique jusqu'à ce que les plaies d'arthrotomie cicatrisent. Chez les chevaux, ces plaies sont alors refermées à l'opposé de chez les bovins où ces plaies sont laissées ouvertes jusqu'à leur cicatrisation.

Traitements adjuvants

Comme nous l'avons décrit plus haut, l'invasion bactérienne de la cavité articulaire provoque une réaction inflammatoire intense à l'origine d'un cycle inflammatoire délétère et responsable de dégradations du cartilage articulaire. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peuvent diminuer la réponse inflammatoire, minimiser les atteintes cartilagineuses et procurer une analgésie. Dans un modèle expérimental d'infection articulaire à *Staphylococcus aureus* chez des lapins, l'association d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (le naproxen) administré quotidiennement pendant 3 semaines à un régime antibiotique d'une semaine a permis de réduire significativement l'effusion articulaire ainsi que les dommages cartilagineux par rapport au régime antibiotique seul³⁴. Chez les chevaux, la phénylbutazone (4.4 à 8.8 mg/kg en une dose quotidienne), le ketoprofen (2.2 mg/kg en une dose journalière) et la flunixin méglumine (1.1 mg/kg en deux doses journalières) sont fréquemment employés pour réduire l'inflammation synoviale⁸². Ainsi lors d'arthrite chronique chez les chevaux, la prise d'AINS a été associée à une diminution de la douleur, de la synovite et une réduction des dommages du cartilage articulaire. Le mécanisme d'action des AINS reposerait sur une inhibition de la production en prostaglandines notamment la PGE2. Chez les chevaux, il a en effet été démontré que le ketoprofen diminuait significativement la concentration intra-articulaire en PGE2 dans un modèle d'arthrite/synovite chimiquement induite⁸³. Or cette inhibition de la production en PGE2 est corrélée significativement à une diminution de l'effusion articulaire, à

l'amélioration des comptages leucocytaires dans le liquide synoviale et à la diminution de la boiterie⁸³.

L'acide hyaluronique (HA) et les glycosaminoglycanes (GAG) semblent atténuer les signes d'inflammation synoviale lors de synovite induite chimiquement chez les chevaux et de ce fait ils pourraient avoir des effets bénéfiques lors d'arthrite septique^{84,85}. Une étude chez des chevaux (n=6) atteints d'arthrite septique expérimentalement a en effet démontré qu'une seule injection de 10 mg de HA après un lavage « through and through » diminuait significativement la boiterie, l'effusion articulaire, les comptages leucocytaires du liquide articulaire ainsi que les pertes de protéoglycanes du cartilage articulaire par rapport à un lavage articulaire seul⁸⁶. L'utilisation intra-articulaire de ces composés doit cependant être proscrite en phase aiguë à cause de leur potentiel immunosuppresseur qui peut augmenter le risque de récurrence de l'infection⁸⁷. Ainsi l'administration d'acide hyaluronique et de glycosaminoglycanes ne doit se faire qu'après la résolution de l'infection⁸. Des études cliniques sont nécessaires pour déterminer l'intérêt de ces molécules dans le traitement des arthrites septiques chez les bovins.

Bien que souvent réalisée en pratique, l'administration de corticostéroïdes notamment par voie intra-articulaire est controversée. Des concentrations élevées en corticostéroïdes inhibent la synthèse de protéoglycanes et influencent défavorablement l'organisation des fibres de collagène du cartilage articulaire^{88,89}. Ces concentrations semblent également induire de la fourbure⁹⁰. Cependant, plusieurs études ont montré que des concentrations faibles en corticostéroïdes n'avaient que peu d'effet sur la santé des chondrocytes et qu'elles n'endommageaient pas le cartilage⁹¹⁻⁹³. D'autre part, le bénéfice clinique de l'administration intra-articulaire de corticostéroïdes a été démontré chez l'homme lors d'ostéoarthrite du genou⁹⁴. Chez des enfants (n=123) atteints d'arthrite septique d'origine hémotogène, 0.2 mg/kg de dexaméthasone administré au début de la condition par voie intraveineuse deux fois par jour pendant 4 jours et accompagné d'une antibiothérapie ont permis de réduire significativement la durée des signes cliniques et de limiter la perte de mobilité articulaire comparativement à un traitement antibiotique seule⁹⁵. Dans un modèle murin d'arthrite septique⁹⁶, il a été noté une diminution des lymphocytes T et des macrophages résidents dans la membrane synoviale chez les animaux recevant de la dexaméthasone associée aux antibiotiques. Ceci suggère que l'administration de

corticostéroïdes chez ces animaux soit associée à une diminution de la production de cytokines. D'autre part, la combinaison synergique d'une dose faible de corticostéroïde associée à l'acide hyaluronique par voie intra-articulaire a été rapportée chez les patients humains atteints d'ostéoarthrite⁹⁷ et pourrait être bénéfique chez les grands animaux. Bien que ces résultats soient encourageants, nos connaissances sur l'utilisation des corticostéroïdes lors d'arthrite septique chez les grands animaux restent limitées. De plus, peu de données scientifiques sont disponibles pour guider le clinicien dans le choix du corticostéroïde, de la dose et de la fréquence d'administration.

Comme nous l'avons mentionné, capsulite et dommages articulaires peuvent être la conséquence d'une arthrite septique. Pour prévenir ou limiter ces lésions ainsi que la restriction de mobilité articulaire généralement associée, il est souhaitable de mettre en place une physiothérapie à base de mouvements passifs dès que l'infection est contrôlée. L'exercice physique doit cependant être restreint pour minimiser les dommages du cartilage articulaire⁸. En ce sens, l'arthrodèse est une solution terminale de traitement des arthrites septiques chroniques qui restreint définitivement la mobilité articulaire⁹⁸.

Facteurs de risque et facteurs pronostics

La connaissance des facteurs de risque et des facteurs pronostics associés à l'arthrite septique est limitée dans l'espèce bovine. Les articles scientifiques qui se rapportent à ces facteurs chez les bovins sont pour l'essentiel des rapports de cas qui décrivent un aspect du traitement de l'arthrite septique^{4,98}. La connaissance de ces facteurs est plus étoffée dans l'espèce équine.

Chez le veau nouveau-né, une concentration sérique faible en immunoglobulines ainsi que l'élevage en collectivité plutôt qu'individuel sont des facteurs de risque vis-à-vis des maladies infectieuses¹. L'hypogammaglobulinémie est aussi un facteur pronostic puisque son identification est associée à une plus forte mortalité lors de maladie infectieuse¹. Une concentration sérique faible en immunoglobulines chez un jeune poulain constitue un facteur de risque identifié au même titre que l'injection intra-articulaire^{99,100,101}. Plusieurs facteurs pronostics ont également été caractérisés, comme l'infection de plusieurs articulations, l'âge, le délai entre le début des signes cliniques et le diagnostic ainsi que la

présence d'une infection généralisée chez les poulains. L'infection de plusieurs articulations a été associée à une diminution du taux de survie chez les poulains¹⁰¹⁻¹⁰³. L'âge semble également constituer un facteur affectant le pronostic puisque dans une de ces études, 55% des poulains hospitalisés pour arthrite septique ne survivent pas à leur hospitalisation alors que ce taux de mortalité est de seulement 15% chez les chevaux adultes ($p < 0.05$)⁹⁹. D'autre part, le retard dans l'établissement du diagnostic et du traitement influence défavorablement le taux de survie chez les poulains¹⁰¹. Ce retard est également associé à une morbidité plus importante (douleur plus importante, mobilité articulaire réduite après traitement)¹⁰⁴. Dans une étude portant sur 93 poulains, l'infection généralisée à plusieurs systèmes, incluant pneumonie et entérite a été identifiée comme un important facteur pronostic qui complique le traitement et diminue considérablement les chances de survie chez les poulains atteints d'arthrite septique¹⁰¹. Toujours d'après cette étude, l'isolement de *Salmonella spp.* ainsi que la présence de plus de 95% de neutrophiles dans le liquide articulaire sont des facteurs qui minorent le pronostic des poulains infectés. Il est intéressant de noter que dans cette étude la sévérité des changements radiographiques ainsi que l'existence d'une neutropénie à l'admission n'ont pas eu d'effet significatif sur le pronostic. De même, les auteurs rapportent qu'aucune différence n'a été observée entre les traitements utilisés. Toujours dans cette étude rétrospective portant sur 93 poulains, 71% des poulains dont l'articulation atteinte a été lavée dans les deux jours qui ont suivi la déclaration de l'arthrite septique ont survécu contre seulement 40% pour ceux dont le lavage a été reporté de plus de deux jours. La différence n'est cependant pas statistiquement significative.

Les salines hypertoniques

Généralités

Les solutés de saline hypertonique sont des solutions de chlorure de sodium, de pH variable (4.5 à 7 selon les fabricants) et non pyrogène présentant une osmolarité supérieure à l'osmolarité sanguine. L'osmolarité d'une solution de saline hypertonique 7.2% est d'environ 2 400 mOsm/L soit environ 8 fois l'osmolarité plasmatique (environ 300 mOsm/L). L'hypertonie de ces solutés garantit leur stérilité et leur stabilité dans de larges intervalles de températures¹⁰⁶. Le tableau ci-dessous recense les divers produits commerciaux disponibles au Canada.

Concentration	3%	5%	7.2%
pH	5 (4.5 à 7.0)	5 (4.5 à 7.0)	5
Osmolarité (mmol/L)	1027	1711	2466
Volume (ml)	500	250 ou 500	1 000
Fabricant	Baxter	Baxter	Bioniche

Tableau III - Composition des différentes solutions de saline hypertonique disponibles au Canada.

Propriétés des salines hypertoniques

A cause de leur osmolarité élevée, les salines hypertoniques entraînent une augmentation de la concentration en chlorure de sodium dans le secteur extracellulaire. L'osmose est un

processus de mouvement net d'eau engendré par une différence de concentration entre deux compartiments perméables¹⁰⁷.

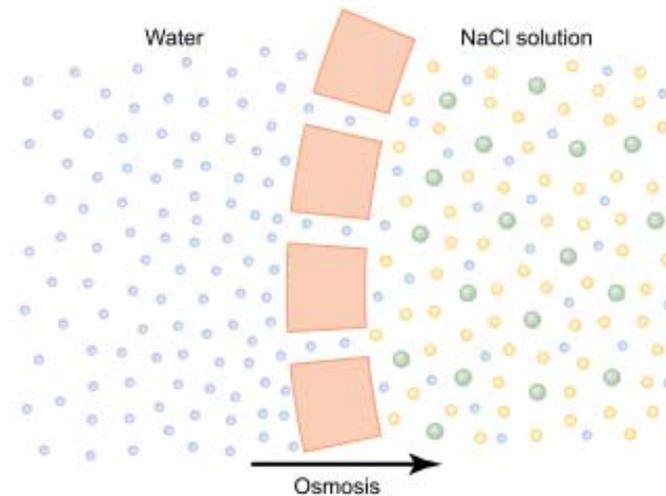


Figure 8 - Osmose au niveau d'une membrane cellulaire lorsqu'une solution de chlorure de sodium est présente d'un côté de la membrane et de l'eau est présente de l'autre côté [d'après 107].

Les membranes cellulaires étant semi-perméable, un mouvement net d'eau est alors réalisé depuis le secteur intracellulaire vers le secteur extracellulaire. Les cellules placées dans un tel environnement voient alors leur volume diminuer. Si le gradient de concentration entre le secteur intracellulaire et le secteur extracellulaire est trop fort, on peut observer un choc osmotique et éventuellement une mort cellulaire par apoptose¹⁰⁸. Différents mécanismes cellulaires existent pour lutter contre le stress osmotique mais ils restent limités lorsque le gradient de concentration est trop élevé.

Confrontés à un environnement hypertonique, les bactéries cessent de croître^{14,109}. Ainsi, le taux de croissance d'*Escherichia coli* diminue à osmolarité croissante et devient nul vers 1 700 – 2 000 mOsm/L quand un milieu minimum est employé¹⁰⁹. La survie des bactéries *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Arcanobacterium pyogenes* dans un milieu hypertonique à 7.2% de chlorure de sodium a été étudiée¹⁴. Aucune de ces bactéries n'est en mesure de croître dans un tel environnement. La survie des bactéries est variable en

fonction de la température et de la souche bactérienne. Pour *Escherichia coli*, la survie est de deux semaines à température pièce.

Usages

1. Traitement des plaies

Historiquement, les solutions de saline hypertonique ont été utilisées dans le traitement des plaies^{110,111}. Plusieurs modes d'administration ont été décrits en fonction de l'accessibilité de la plaie : applications de gazes, bains, irrigations. Plus récemment, le nettoyage de la plaie avec de la saline hypertonique 4.5% (1 500 mOsm/L) poursuivi par l'application de gazes imbibés dans cette même solution a été recommandée pour le traitement d'ulcères de la jambe chez l'homme¹¹². L'usage de compresses à base de gazes mises en contact avec de la saline tiède à 3% représente une option thérapeutique intéressante lors de complications au site de sortie du cathéter de dialyse péritonéale chez des patients intolérants aux antibiotiques ou chez qui l'antibiothérapie a échoué à enrayer l'infection¹¹³. Ces compresses sont laissées en place pour 5 à 10 minutes, trois fois par jour pour 2 à 4 semaines. Le mécanisme d'action implique l'inhibition de la croissance bactérienne par l'hypertonie de ce type de compresse. En chirurgie équine, l'utilisation de pansements similaire mais concentrée à 20% est recommandée dans un contexte de plaies nécrotiques nécessitant un débridement¹¹⁴. Le pouvoir osmotique de ces compresses favorise l'élimination du tissu nécrotique et des bactéries tout en opérant un débridement chimique non sélectif.

2. Solution de remplissage vasculaire

L'utilisation principale des solutés de saline hypertonique concerne le remplissage vasculaire chez des patients hypovolémiques, en médecine humaine¹¹⁵⁻¹¹⁷ comme en médecine vétérinaire^{106,118,119}. Bien que leur utilisation clinique soit toujours l'objet de controverses¹²⁰⁻¹²², de nombreuses études rapportent leur efficacité à rétablir temporairement le volume intravasculaire ainsi que le débit cardiaque¹²³⁻¹²⁵. L'expansion

plasmatique associée à leur administration repose sur leur forte osmolarité à l'origine de la mobilisation d'eau endogène aux dépens du secteur interstitiel et intracellulaire¹²⁶.

3. Autres usages

Dans la littérature, d'autres usages des solutés de saline hypertonique sont décrits. Leur utilisation par irrigation nasale est rapportée lors d'affections des sinus chez l'homme¹²⁷ et plus récemment par nébulisation lors de bronchiolite aiguë chez le nourrisson¹²⁸. Les effets bénéfiques sont associés à l'amélioration de l'élimination mécanique du mucus par réhydratation de la couche de mucus (effet du gradient osmotique)^{127,128}.

4. Utilisation potentielle comme solution de lavage articulaire ?

Comme nous l'avons mentionné précédemment, il n'existe pas à l'heure actuelle de solution de lavage articulaire qui soit à la fois bactéricide et peu irritante pour les tissus articulaires. Les salines hypertoniques pourraient représenter une alternative intéressante aux solutions d'irrigation antiseptiques à condition qu'elles soient sans danger pour les tissus articulaires.

A notre connaissance, il n'y a pas d'articles scientifiques qui décrivent l'innocuité des salines hypertoniques comme solution de lavage articulaire. Il existe cependant quelques articles qui décrivent l'utilisation de solution hypertonique sucrée chez les grands animaux dans un contexte d'endométrite^{129,130}. Ainsi dans l'un de ces articles¹³⁰, il a été démontré que l'infusion intra-utérine d'une solution de 70% de miel chez la jument en dioestrus n'induisait pas de lésions de la muqueuse utérine bien qu'elle provoque un afflux important de liquide dans la muqueuse et la lumière de l'utérus. Une démonstration similaire est nécessaire avant de pouvoir envisager d'utiliser les salines hypertoniques comme solution de lavage articulaire lors d'arthrite septique.

Publications

Article 1: D. Achard, D. Francoz, A. Desrochers, C. Girard, C. Piché (2011).

Synovitis induced by joint lavage with hypertonic saline solutions in healthy dairy calves.
Canadian Journal of Veterinary Research (publié)

Article 2: D. Achard, D. Francoz, A. Desrochers, B. Rannou (2011).

Evaluation of joint lavage with 7.2% hypertonic saline solution in the treatment of experimentally induced septic arthritis in Holstein calves. (à soumettre)

Synovitis induced by joint lavage with hypertonic saline solutions in healthy dairy calves

Damien Achard, David Francoz, André Desrochers, Christiane Girard, Caroline Piché

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of a single joint lavage with 7.2% or 15% hypertonic saline solutions (HSS) on the tarsocrural joints of healthy calves. The tarsi of 10 calves were randomly lavaged with 7.2% HSS, 15% HSS, or isotonic saline. Synovial fluid samples were collected aseptically on days 1 (before joint lavage), 2, 3, 4, and 8 for complete cytological analysis. Lameness, joint swelling, and pain were recorded daily. Calves were euthanized on day 8 for gross and histological analyses of synovial membranes and articular cartilage. Synovitis was evaluated using a scoring system reflecting inflammatory changes in synovial membranes.

Joints irrigated with HSS were more distended and painful compared with isotonic control joints. Swelling decreased consistently in the joints lavaged with 7.2% HSS, whereas it remained unchanged in joints lavaged with 15% HSS. Slight to moderate lameness was observed in the joints lavaged with 15% HSS. In comparison to isotonic saline joints, total protein concentration was significantly increased on day 2 and 3 for the joints lavaged with 7.2% HSS ($P \leq 0.01$) and on days 2, 3, and 4 in the joints lavaged with 15% HSS ($P \leq 0.0006$). Gross and histological findings revealed that synovitis was more severe in the joints lavaged with 15% HSS but variable in the joints lavaged with 7.2% HSS. No significant differences were observed for the articular cartilage.

Fifteen percent HSS is not recommended for joint lavage. Although irrigation with 7.2% HSS may induce a variable synovitis, it was found appropriate for joint lavage. Its effects on septic joints remain undetermined.

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet d'un lavage articulaire à l'aide de solutions salines hypertoniques (SSH) à 7,2 % ou à 15 % sur l'articulation tarsocrurale de veaux sains. Les torses de 10 veaux ont été lavés aléatoirement à l'aide d'une SSH 7,2 %, d'une SSH 15 % ou d'une saline 0,9 %. Le liquide articulaire a été prélevé aseptiquement au jour 1 avant le lavage, puis aux jours 2, 3, 4 et 8 pour analyse cytologique complète. Un suivi quotidien de la boiterie, de la distension et de la douleur articulaire a été réalisé. Tous les veaux ont été euthanasiés au jour 8 pour examen macroscopique et histologique du cartilage articulaire et des membranes synoviales. Un score reflétant les changements inflammatoires des membranes synoviales a été utilisé pour évaluer leur inflammation.

Les articulations lavées avec les SSH étaient plus distendues et plus douloureuses que celles lavées avec la saline. La distension s'est maintenue pour les articulations lavées avec la SSH 15 % tandis qu'elle a régressé régulièrement pour celles lavées avec la SSH 7,2 %. Une boiterie légère à modérée a été observée pour les articulations lavées avec la SSH 15 %. Par rapport aux articulations lavées avec la saline, la concentration totale en protéines était significativement augmentée aux jours 2 et 3 pour les articulations lavées avec la SSH 7,2 % ($P \leq 0,01$) et aux jours 2, 3 et 4 pour la SSH 15 % ($P \leq 0,0006$). Les résultats des examens macroscopiques et des analyses histologiques ont montré que la synovite était plus sévère dans les articulations lavées avec la SSH 15 %, mais variable dans celles lavées avec la SSH 7,2 %. Aucune différence significative n'a été observée pour les cartilages articulaires.

Les SSH 15 % ne sont pas recommandées pour le lavage articulaire. Bien que le lavage avec une SSH 7,2 % induise un degré variable de synovite, elle pourrait être utilisée à cette fin. Son utilisation dans des articulations infectées restent à déterminer.

(Traduit par Docteur Serge Messier)

Introduction

Septic arthritis is reported to be the second most common cause of lameness in cattle and represents the most frequent cause of articular pathology (1). Economic losses may be important and are associated with expenses for treatment, early culling, and a decrease in fertility

and milk production for dairy herds (2). Septic tenosynovitis is also a common cause of lameness in cattle that generally share similar clinical signs, diagnosis, and treatment with septic arthritis (3).

Treatment of septic arthritis must be rapidly initiated once the condition is diagnosed (4). Articular lavage, aggressive antimicrobial therapy, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs are frequently

Département des Sciences Cliniques (Achard, Francoz, Desrochers); Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Saint Hyacinthe, Québec (Girard, Piché).

Address all correspondence to Dr. David Francoz; telephone: (514) 343-6111; [REDACTED]

Received March 23, 2011. Accepted July 22, 2011.

Table 1. Joint swelling, joint pain, and lameness grade scale used for clinical assessment of calves

Grade	Joint swelling	Joint pain	Lameness
0	Normal	Normal	Normal
1	Mild swelling	Head movement during leg manipulation	Mild lameness
2	Easily detectable swelling	Withdrawal of the leg during leg manipulation	Easily detectable lameness without difficulty in ambulation
3	Easily detectable swelling and joint capsule under tension	Head movement during joint palpation	Moderate lameness making ambulation difficult
4	Grade 3 including edema	Withdrawal of the leg during joint palpation	Severe lameness with reluctance to bear weight on the affected limb

used. Joint lavage has been reported by numerous authors as an important part of treatment of bovine and equine septic arthritis (4–6). The objectives of joint lavage are to remove bacteria and their enzymes, infected tissues, debris, and inflammatory mediators in the joint. The ideal irrigation solution would be a warmed sterile neutral balance electrolyte solution (7). Sterile Ringer's solution, balanced physiological solution, and physiological saline are commonly used for joint irrigation (6). The duration of antimicrobial therapy is debatable; however, the general recommendation is to continue administration for 10 to 30 d after clinical improvements (8). The use of antibiotics in organic herds is extremely limited excluding the application of such treatments. Alternative treatment respecting their strict rules of drug usage must be investigated to treat affected animals.

The antimicrobial properties of hypertonic saline solutions have been documented. When inoculated in 7.2% hypertonic saline solution (HSS), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Arcanobacterium pyogenes* do not multiply (9). The topical antibacterial effect of HSS is well-established in wound dressing and lavage of open wounds in humans (10). Hypertonic saline dressing is also commonly used in horses for the initial management of superficial wounds with a large quantity of necrotic tissue or exudates (11). Since 7.2% HSS is also affordable and readily available for practitioners, it may represent an alternative to conventional fluid solution for joint lavage.

However, the innocuousness of hypertonic solutions into a joint is unknown. To our knowledge, the only scientific report published regarding the safety of HSS as an irrigation solution concerns the treatment of chronic rhinosinusitis in humans (12). No evidence of any significant harmful side effects of saline use was found. Minor complaints from the test subjects were nasal burning, irritation, and nausea. On the other hand, several antimicrobial solutions composed of chlorhexidine or povidone-iodine have been evaluated as potential joint lavage solutions in the horse and dog (5,13,14). Synovitis of variable severity is a constant feature associated with these solutions in healthy animals. In horses, 0.5% chlorhexidine has been shown to cause major inflammatory changes in normal joints and is, therefore, not recommended (5). In contrast, the use of 0.1% povidone-iodine in healthy horses has been considered safe based on mild synovitis,

no articular damage and overall joint irritation similar to that produced by a balanced electrolyte solution (5). Therefore, clarifying the safety of HSS is mandatory prior to its use in clinical cases of septic arthritis.

The objective of this study was to describe clinical, cytological, and histological effects of a single joint lavage with 7.2% or 15% HSS on tarsocrural joints of healthy calves in comparison with physiologic saline control solutions. We hypothesized that HSS will induce moderate joint inflammation that will be not detrimental for the animal.

Materials and methods

Experimental animals

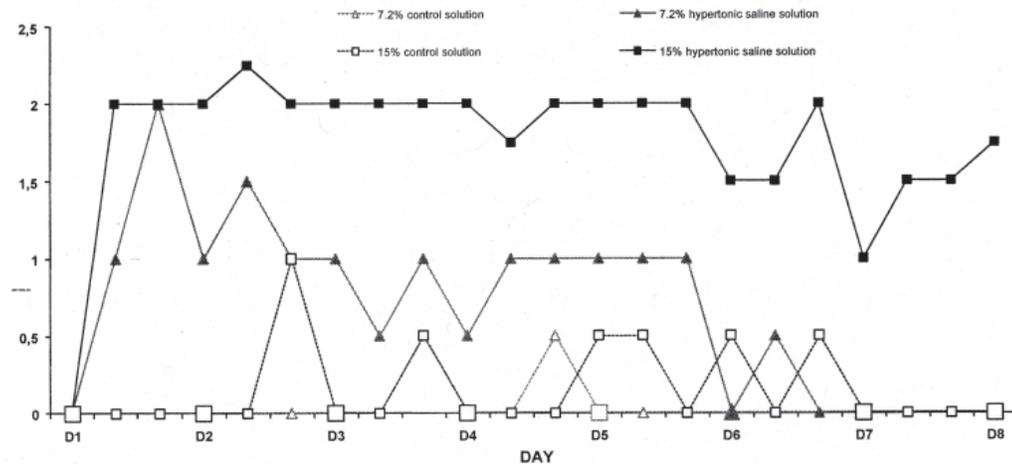
Ten male Holstein calves were selected from different dairy herds near the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV) de l'Université de Montréal. The mean age of calves was 20 d (range: 19 to 21 d) and mean weight was 49 kg (range: 41 to 62 kg). Upon arrival, physical examination, complete blood (cell) count (CBC), and serum biochemistry profile were done for each calf to determine their health status. Bovine viral diarrhoea RNA detection was done by using a reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) technique on pooled heparinized blood using a BVDV reagent kit (AgPath-ID BVDV Reagent Kit; Ambion, Applied Biosystems Business, Austin, Texas, USA) on a real-time PCR (SmartCycler; Cepheid, Sunnyvale, California, USA). All calves were housed individually and fed with a milk replacer twice a day. All experiments were carried out under a protocol that was approved by the animal care committee of the Université de Montréal.

Experimental protocol

Experimental protocol began 1 wk after calves' arrival. All tarsocrural joints were lavaged once on day 1 (first day of the experimental protocol) with one of the following solutions: a commercial 0.9% isotonic solution (control) (0.9% Sodium Chloride Irrigation USP; Baxter Corporation, Toronto, Ontario), a 7.2% commercial HSS (Hypertonic Saline 7.2%; Bioniche Animal Health Canada, Belleville, Ontario), and a 15% non-commercial HSS. The 15% HSS was prepared under sterile condition by the same technician with sterile

Table II. Synovial inflammation grading

Histology	Grade			
	0	1	2	3
Fibrinous exudate	Absent	Slight amount, focal	Multifocal deposits of fibrin	Diffuse deposit of fibrin
Erosion	Absent	Mild	Moderate	Severe
Synoviocyte hyperplasia	1 layer	Up to 2 cells deep	Up to 4 cells deep	Up to more than 4 cells deep
Lymphocytes	Absent	Single/few cells	Some cells, mainly around vessels	Many cells, diffuse infiltration
Neutrophils	Absent	Few cells	Some foci of cells	Diffuse infiltration
Villous hyperplasia	Absent	Present		
Thrombosis	Absent	Present		
Proliferation of fibroblast	Absent	Present		

**Figure 1. Change (median) in joint swelling during the experiment.**

water (Sterile Water for Irrigation USP; Baxter Corporation) and non-sterile salt. Arthrocentesis were done on days 1 (before joint lavage), 2, 3, 4, and 8 (before euthanasia) of the experiment for synovial fluid analyses. Calves were randomly allocated into 2 groups 15% HSS or 7.2% HSS in equal numbers. On each calf, one tarsus was randomly selected to receive the HSS and the controlateral joint was used as control and was lavaged using a commercial isotonic solution. On day 8, all calves were euthanized by an overdose of barbiturates and then submitted for gross necropsy and specimen collection. All procedures were done by individuals unaware of the group allocation.

Arthrocentesis and joint lavage

Prior to the manipulations, all calves were sedated with 0.05 mg/kg bodyweight (BW) of xylazine (Rompun; Bayer Santé Animale, Toronto, Ontario) in the right or left jugular vein. Then, hindlimb analgesia was achieved by a caudal epidural injection of 0.1 mg/kg BW of morphine sulphate (Morphine HP 25; Sabex 2002, Boucherville, Québec) combined with lidocaine 2% (2% Lidocaine Hydrochloride Sterile Injection; Vétoquinol, Lavaltrie, Quebec) for a total volume of 0.15 mL/kg BW of lidocaine. Finally, the calf was placed in dorsal recumbency. Right and left tarsocrural joints were aseptically prepared using standard procedures (15). Arthrocentesis was done in the dorsomedial pouch of the tarsocrural joint with

an 18-gauge needle and 5 mL of synovial fluid was collected for cytological analysis with a 5 mL syringe. A through-and-through joint lavage was done with 1 L of warmed irrigation solution (15% HSS, 7.2% HSS, or control solution), which was pressure-controlled with a hand-pumped-pressure bag to keep a steady flow of fluid into the joint. Three 18-gauge needles were inserted in 3 distant places of the tarsocrural joint to achieve efficient lavage: dorsomedial pouch, dorsolateral pouch, and caudomedial pouch. At the end of the lavage, fluid was expressed manually from the joint and needles were all removed except 1. At this time, 5 mL of the irrigating solution was injected into the joint. The last needle was then removed. The procedure was repeated on the controlateral joint. Tarsi were left unbandaged. These procedures were based on commonly accepted recommendations in cattle regarding joint lavage and arthrocentesis (16).

Bacteriology

On day 1, 2 mL of synovial fluid from tarsocrural joints and 2 mL of each liter of HSS used for lavage were collected in blood culture bottles (Oxoid Signal Blood Culture System; Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, United Kingdom) for routine bacteriological analysis. Blood cultures bottles were incubated at 35°C and culture was done according to the manufacturer's recommendations.

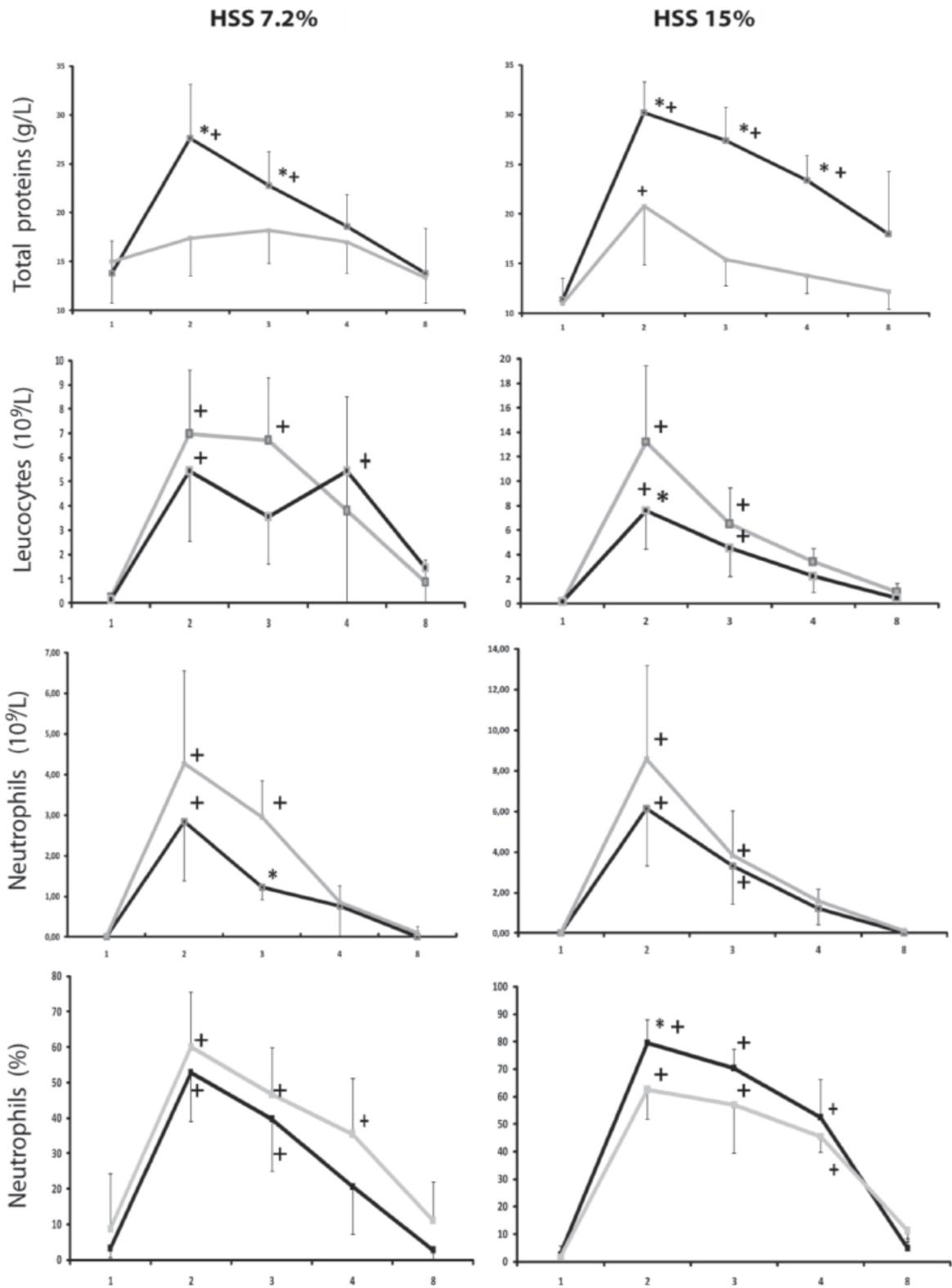


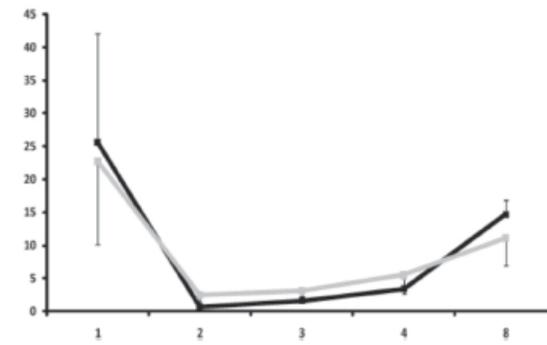
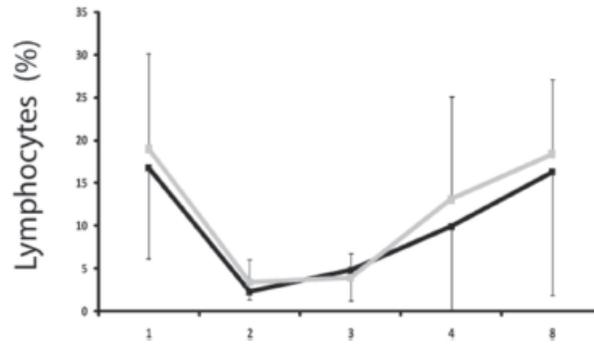
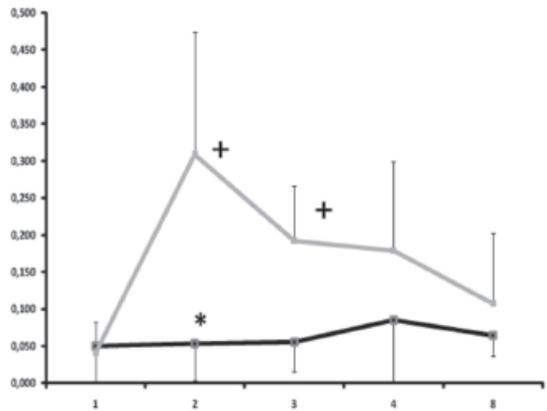
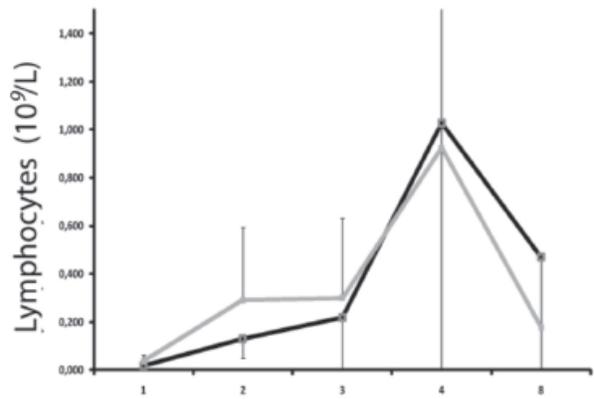
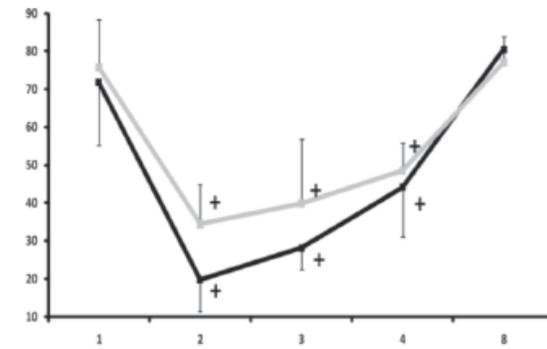
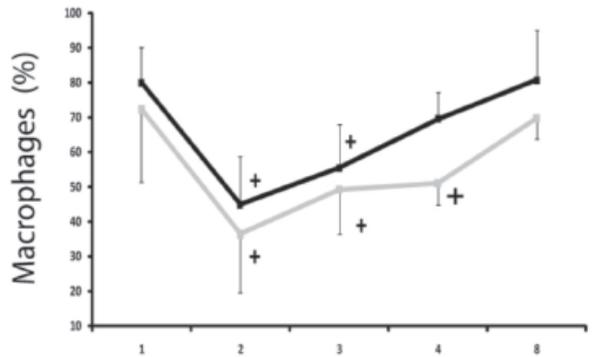
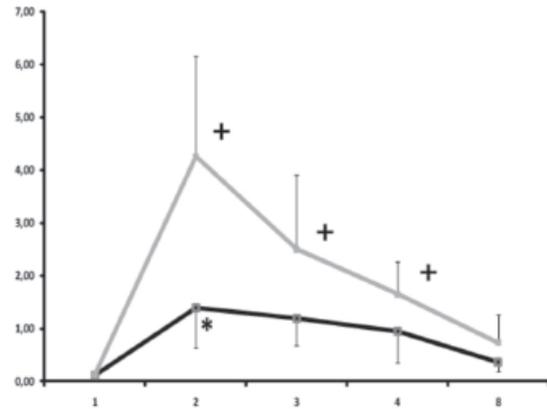
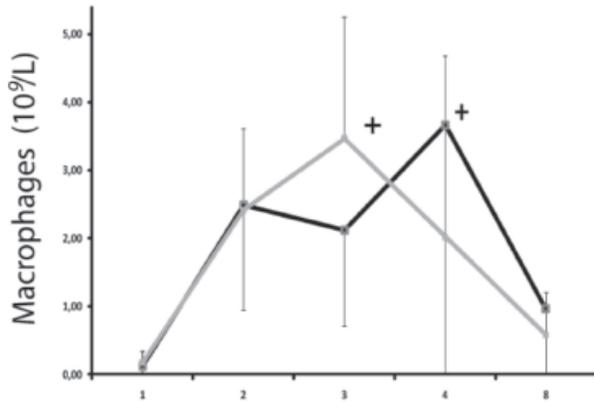
Figure 2. Means \pm standard error of the mean of cytological parameters in synovial fluid in control joints (gray lines, $n = 10$) and joints irrigated with 7.2% or 15% HSS (black lines, $n = 10$). The x-axis indicates day of the study.

*Statistically different from the control solution.

+Statistically different from day 1.

HSS 7.2%

HSS 15%



Clinical assessment

Each calf was evaluated by the same investigator for joint swelling, joint pain, and lameness 3 times a day. A scoring system was used to objectively grade calves (Table I). Heart rate, respiratory rate, and rectal temperature were also monitored 3 times a day.

Global pain was monitored during the experiment using a clinical score adapted from a pain evaluation protocol used for large animals after orthopedic surgery (17). It included evaluation of appetite, modifications in heart and respiratory rates, lameness, and joint pain. Pain score was determined 3 times a day by the same investigator. If calves demonstrated pain behavior, 5 mg of butorphanol (Torbugesic; Wyeth Canada, Saint-Laurent, Québec), IV, was administered every 4 h until pain was judged to be mild according to the pain clinical score discussed.

Synovial fluids analysis

For each arthrocentesis 1 mL of synovial fluid was collected in a 3 mL glass whole blood tube with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (Blood collection tubes; BD, Vacutainer, Franklin Lakes, New Jersey, USA). All samples were analyzed for total protein concentration (refractometer), white blood (cell) count (WBC), and differential. The WBC was determined manually by using Unopette technique (Unopette; Becton-Dickinson, Rutherford, New Jersey, USA) following manufacturer's recommendations. Differential count was determined using a modified Wright-Giemsa stain to be read by a board certified clinical pathologist. All of these procedures were done within 1 h of sampling.

Necropsy and histological analysis

At the end of the study, all of the calves were euthanized. The tarsocrural joints were opened and examined macroscopically. Observations such as peri-articular edema, aspect, and quantity of synovial fluid, fibrin, joint capsule thickness, and cartilage abnormalities, were noted. Synovial membrane specimens were collected from the distal, dorsal reflection of the tarsocrural joint capsule, fixed in 10% neutral buffered formalin and embedded in paraffin. Sections of 4 μm were stained with hematoxylin phloxin and eosin. Using a bandsaw, bone with cartilage was obtained and samples were placed in 10% neutral buffered formalin. The specimens were demineralized with hydrochloride acid, routinely processed, and stained with both safranin O fast green and hematoxylin phloxin and eosin.

Histologic evaluation of synovial membrane and cartilage samples was done by a board certified pathologist. Villous hyperplasia, synoviocyte hyperplasia, fibroblastic proliferation, thrombosis, erosion, amount of fibrin, and amount of lymphocyte and neutrophil infiltrates were analyzed to evaluate inflammation levels in synovial membranes (Table II). Findings for villous hyperplasia, fibroblastic proliferation, and thrombosis were scored as 0 (absent) or 1 (present), whereas other findings were scored from 0 (absence of change) to 3 (most severe change). Scores in each category were summed to produce an index of inflammation that was evaluated statistically.

Statistical analysis

Statistical unit considered in this study is the calf characterized by one tarsus lavaged with either 15% HSS or 7.2% HSS and the

other tarsus lavaged with isotonic saline. Therefore, the data of HSS 15% joints could not be compared with the data of HSS 7.2% joints, but only with the data of isotonic joints of the 15% HSS group. The same rule was applied to 7.2% HSS group. Mean values were calculated for total protein concentration, WBC, neutrophil count, neutrophil percentage, macrophage count, macrophage percentage, lymphocyte count, and lymphocyte percentage for each collection day in every group. The data were exported and statistically analyzed using computer software (SAS version 9.2; SAS Institute, Cary, North Carolina, USA). Cytological mean values for HSS joints were statistically compared with results from their isotonic saline control joints day-by-day using a repeated measures linear model. The same model was used to monitor the evolution of cytological values in every group (15% HSS, 7.2% HSS, HSS 15% control joints and HSS 7.2% control joints) by comparing all day values to day 1 baseline values. Median values were calculated for swelling and joint pain scores for each day. A logistical regression model with repeated measures was used to analyze the influence of observation and joint on swelling and joint pain. This model predicted the odds of having a high rather than a low score for each variable. Synovial inflammation scores were compared among study groups with a non-parametric Mann-Whitney U-test for matching data. *P*-values of ≤ 0.05 were considered to indicate statistical significance for clinical and histological data. This level of statistical significance was lowered for synovial fluid data using a Bonferroni sequential correction because multiple comparisons were made.

Results

Physical examinations and concurrent diseases

Physical examinations and blood work results of all calves were within normal limits upon arrival. The RT-PCR blood tests for BVD were negative. One calf exhibiting moderate pain according to the scoring scale received 2 injections IV of butorphanol at 4 h intervals on day 1. Diarrhea, without loss of appetite nor systemic signs of weakness, affected 3 calves of the 7.2% HSS group and 2 calves of the 15% HSS group during the acclimation phase or the beginning of the experiment. *Cryptosporidium* spp. was found in the feces of 3 calves of the 7.2% HSS group (60%). Diarrheic calves were successfully treated with oral electrolyte solutions only. Five calves (4 of the 7.2% HSS group, 1 of the 15% HSS group) developed pneumonia on days 1 or 2. Three calves (2 of the 7.2% HSS group, 1 of the 15% HSS group) were treated successfully with IM florfenicol. One calf (7.2% HSS group) received a combination of lincomycin and spectinomycin IM q24h for 5 d before resolution of its clinical signs. The last calf (7.2% HSS group) developed neurological signs associated with otitis media after pneumonia treated with florfenicol, IM. Then the calf received a combination of lincomycin and spectinomycin, IM, each day until the completion of this study. This calf was not considered normal at that time. Data collected from this calf were kept for this study.

Bacteriology

All samples of synovial fluid and HSS submitted for bacterial culture were negative except 2. On day 1, one 7.2% HSS yielded some rare gram-negative rod-shaped and gram-positive cocci which

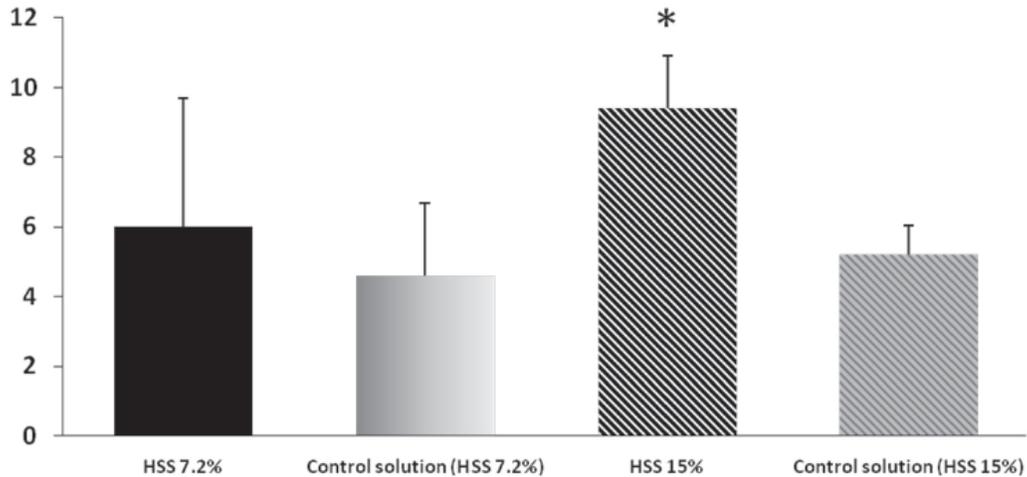


Figure 3. Synovial inflammation score at the end of the study.
*Statistically different from the control solution.

were considered to be contaminants. One sample of synovial fluid from a 7.2% HSS lavaged joint was positive for anaerobic growth on day 1. *Clostridium perfringens* was isolated and also considered a contaminant.

Clinical assessment

Joint pain was moderate to marked during all experimental phases where the joint was lavaged with 15% HSS. Joint pain in the 7.2% HSS joints was initially mild to moderate until day 4. It decreased to a mild level by the end of the study. Joint pain remained absent to mild in both control joints.

The odds of having a higher joint pain score for joints irrigated with 15% HSS compared with the control solution were 325.4 of all combined observations ($P < 0.001$). In comparison, chance of having higher score were only 9.4 times for the 7.2% HSS compared with the control ($P < 0.001$).

Lameness was only observed in the 15% HSS group affecting the tarsus irrigated with 15% HSS and involved 4 out of 5 calves (80%). The lameness was mild to moderate, without reluctance to bear weight and for 24 h following lavage.

Irrigation with HSS induced a moderate swelling within 24 h of articular lavage, whereas irrigation with control solution did not seem to produce any change (Figure 1). The odds of having a high swelling score in the 15% HSS joints and 7.2% HSS joints compared with the controls were 436.6 and 43.8, respectively ($P < 0.001$).

The joints irrigated with 15% HSS were moderately swollen throughout the study. In contrast, the joints irrigated with 7.2% HSS showed a significant decrease in swelling, with a probability to have a high score decreasing by a 0.84 factor every 8 h ($P < 0.001$). At the end of the study, the 7.2% HSS joints appeared grossly identical to their controls.

Synovial fluid analysis

The analyses of synovial components during the study are presented in Figure 2. The mean values of total protein concentration, leucocyte count, and neutrophil percentage were within the normal

range (7) on day 1 for all joints. Total protein concentrations, leucocytes counts, and neutrophils counts and percentages increased significantly 24 h after lavage (day 2) in synovial fluids of all joints except for total protein concentrations in the 7.2% HSS joints, which remained stable. At the end of the study (day 8), no statistically significant differences were observed with day 1 cytological values in all joints. However, total protein concentrations and neutrophil percentages were the only cytological parameters to be back in normal range.

Total protein concentration in the 15% HSS joints was significantly increased on days 2, 3, and 4 compared with day 1 ($P < 0.001$) and compared with controls ($P < 0.001$). By the end of the study, total protein concentration in the 15% HSS group remained elevated, although not statistically relevant ($P = 0.0173$), compared with control joints. The 15% HSS joints reached the high end (18 g/L) of agreed normal values in the synovial fluids of ruminants (7). Neutrophil percentage was significantly higher on day 2 in the 15% HSS joints compared with the controls ($P = 0.007$) with mean percentages reaching low range septic arthritis values (18). Leucocyte and neutrophil counts remained elevated until day 3 in both HSS and control joints compared with day 1. Neutrophils percentage remained elevated until day 4 in both HSS and control joints compared with day 1. Leucocyte, macrophage, and lymphocyte counts were significantly decreased on day 2 in the 15% HSS joints compared with controls ($P \leq 0.003$). Neutrophil counts were also decreased on day 2 compared with controls, but not significantly ($P = 0.047$). Total protein concentrations in the 7.2% HSS joints were significantly increased on days 2 and 3 compared with controls ($P < 0.001$). The 7.2% HSS joints and controls only differed significantly for neutrophil counts on day 3, with significantly lower neutrophil counts in the 7.2% HSS group ($P = 0.01$). Total protein concentration, neutrophil count and percentage, and macrophage percentage on day 4 showed no statistically significant difference with day 1 values in the 7.2% HSS joints, whereas leucocyte and macrophage counts remained elevated ($P \leq 0.006$). At completion of the study, leucocytes counts in both 7.2% HSS joints and controls were above normal values (18).

Necropsy and histological analysis

Macroscopically, all joints irrigated with 15% HSS showed a moderate to marked periarticular edema often accompanied by necrotic and hemorrhagic zones. Synovial fluid in these joints was judged abnormal because of an orange to red color, cloudy, and low viscosity. The articular capsule was often thickened and hyperemic. Fibrin was retrieved in moderate amount. Joints lavaged with 7.2% HSS presented normal or decreased volumes of synovial fluid, none or limited periarticular edema, and absence of gross changes in the articular capsule. The main finding was the presence of a large fibrin clot inside the tarsocrural joints of 3 calves in this group (60%). No changes were observed macroscopically in control joints, except for a mild deposit of fibrin at the inner part of the articular capsule for 2 joints (20%).

Histologically, synovial inflammation was significantly greater in the 15% HSS joints compared with controls (Figure 3, $P = 0.021$). All joints irrigated with 15% HSS showed marked to severe synovitis at the end of the study. The most dramatic features were erosions, the proliferation of fibroblasts, thrombosis, and a greater number of lymphocytes and neutrophils. No significant differences were observed between the 7.2% HSS joints and the controls for synovial inflammation scores. However, 2 joints irrigated with 7.2% HSS showed severe synovitis associated with erosion and neutrophils infiltration. No difference was observed for articular cartilage between joints.

Discussion

Based on our findings, a 15% HSS is not innocuous if injected into a healthy joint contradicting our hypothesis. Calves whose joints were irrigated with 15% HSS exhibited mid-range pain and swelling associated with a transient lameness, which could indicate marked joint alterations. In contrast, calves whose joints were irrigated with 7.2% HSS showed temporary, low-range pain and swelling without any lameness suggesting initial, light joint damage with possible recovery.

It should be noted that the lavage of control joints with isotonic saline may influence chondrocytes metabolism (19), thus cartilage or synovium of the control joints may differ from healthy, untreated joints.

Fifteen percent and 7.2% HSS were chosen because of their antimicrobial properties and potential use in the treatment of septic arthritis. The mechanism of action involves inhibition of bacterial growth by a hypertonic medium associated with cellular changes provoked by a high sodium chloride (NaCl) environment (9,20). The changes include increased DNA strand breaks and elevated reactive oxygen species. Ultimately this leads to the death of the cells.

Lameness and joint swelling associated with pain on palpation are common clinical features of joint diseases, whether of inflammatory or degenerative origin (4). Usually joint disease is fairly well-advanced when lameness is apparent in cattle (4). The exact cause of pain in diseased joints remains uncertain although recent studies reported association of knee pain and stiffness with moderate to large amounts of joint effusion in osteoarthritis patients (21,22). The evolution of pain and swelling scores throughout our study shows similarities with the previously mentioned studies and support this hypothesis.

Analysis of synovial fluid contents is used in many species to evaluate inflammation level in a joint. Total protein values are expected to increase with inflammation and the exudation of plasma protein into the joint (23) and total cell counts elevate quickly after septic challenge of a joint (24). Cut-off values for synovial fluid variables in septic arthritis have been established in cattle (18), as well as normal values for normal bovine synovial fluid constituents (8,25). Based on these studies, our cytological findings in all joints 24 h after joint irrigation are consistent with a non-infectious inflammatory arthritis. Initial cytological response from control joints included a marked rise in leucocytes associated with a small elevation of total protein. This is in accordance with recently published cytological levels observed in calves after repeated arthrocentesis and single joint lavage with lactated Ringer's solution (15). A study conducted in horses also showed a synovial inflammation response characterized by increased leucocyte counts and total protein concentrations after joint lavage with a balanced electrolyte solution (5). Consequently, moderate synovitis seems to be a frequent feature of joint lavage with isotonic solutions. A low leucocyte response was observed in both HSS joints in comparison with controls early in the course of the study, which seems to be in disagreement with elevated total protein levels. There can be several possible explanations for this apparent discrepancy. In shock resuscitation, hypertonic saline infusion was shown to increase the osmotic gradient and moves fluid from the interstitial space to the intravascular space (26). In our study, an increase of the osmotic gradient in the joint space could only be assumed. However, it could have contributed to the joint effusion noticed after HSS lavage and favoured the dilution of the cellular constituent of synovial fluid. As mentioned earlier, high NaCl concentration is also recognized to be stressful to cells, altering their function or even killing them by apoptosis (27). Such effects could have interfered in our study and may be partially responsible for both leucocyte and synovial cell deaths. Fibrin sequestration of leucocytes is also a possible cause of low leucocyte counts in infected joints (28). Finally, several studies on hypertonic saline used in resuscitation showed immunomodulatory effects (29–31). Hypertonic saline therapy has especially been shown to decrease leukocyte adherence and migration (32). As the data gathered in our study are not sufficient to precisely identify the main factor that led to the low leucocyte response in our HSS joints, it should be assumed of a multifactorial origin.

The presence of a large clot of fibrin observed in the joint space of 3 joints lavaged with 7.2% HSS does not seem to be correlated with the inflammation score, although no statistical analysis was undertaken to confirm this. Fibrin clot leads to leucocytes and bacteria sequestrations, which, in return, can prevent adequate lavage of a joint and may extend joint disease (33,34).

At completion of the study, the histological analysis showed that higher degrees of synovitis were associated with irrigation with HSS. This result was not entirely anticipated with regard to the cytological analyses. This suggests that histological analysis is more sensitive than cytological analysis to evaluate joint damage. These observations had already been made by Anderson et al (14) when they studied the effects of intra-articular lavage on the stifle in healthy dogs with 0.05% chlorhexidine diacetate. On day 8, however, all cytological parameters returned to base levels except for total protein in the 15% HSS joints. This latter result confirms the benefit

of using total protein rather than total WBC to document acute synovitis (5).

Increased frequency of synovitis observed in joints treated with HSS could be the result of several parameters known to increase inflammation in nonseptic joints. These include temperature and pressure of the irrigation solution, solution pH, and osmolality. Temperature, pressure of application, and pH of the irrigation solutions were fairly constant in our study, except for pH of the 15% HSS. Respective osmolality of 7.2% and 15% HSS are 2400 and 4800 mOsmol/kg. Hyperosmotic conditions were favored in our study by retention of a small volume of hypertonic solution into the joint after the lavage, although we cannot precisely determine the extent. Elevation of osmolality greater than 300 mOsmol/kg has been reported to cause apoptosis in different cells *in vitro* (35). Thus, it is possible that hyperosmotic conditions have led to the shrinkage and apoptosis of synovial cells and contributed to the higher synovitis observed with hypertonic solutions.

The number of calves ($n = 10$) was certainly a limiting factor. Small concentration differences between the 15% HSS could have led to variable effects on synovial tissues even if it was realized with sterile water in appropriate proportion. Response of tarsocrural joints in the face of inflammation may vary with age. Thus, extrapolation of the results of this study to adult cattle is subject to caution. Concurrent diseases during the study, affecting mainly the calves whose joints were lavaged with 7.2% HSS may have also altered some of the results. *Mycoplasma* could have been involved in 2 calves with respiratory infection. A decrease in the defensive capacity of the immune system associated with systemic effects of antimicrobial drugs could have had an impact on the tarsocrural joints' reactions toward the irrigation solutions. In addition, we cannot specify the consequences of the higher morbidity in the 7.2% HSS group.

To our knowledge, only one antimicrobial solution was evaluated to be safe for joint lavage in animals (5). In an experimental study conducted on healthy horses identical to our protocol, Bertone et al (5) recommended 0.1% povidone-iodine based on a mild synovitis, absence of articular cartilage damage, and overall joint irritation, similar to that produced by a balanced electrolyte solution. In our study, the only tarsocrural joints that are available for comparison were irrigated with isotonic saline. Severe synovitis associated with clinical signs of joint disease in 15% HSS joints prevents safe usage of this solution in joint lavage in calves. Results from the 7.2% HSS joints are more ambiguous. Because of higher synovitis compared with the isotonic saline, this solution should be excluded until further studies evaluate its efficacy in controlling infection. Nevertheless, we feel that the absence of clinical repercussions on mobility and general state in all calves in this group make clinical use of 7.2% HSS for treatment in ill-joint calves possible and deserving of further investigation in septic joints. Therefore, a clinical trial is warranted to determine antimicrobial properties of this hypertonic solution in experimentally induced septic arthritis.

Acknowledgments

This work was supported by Le Fonds Pfizer pour la Recherche Clinique. The authors acknowledge Mr. Guy Beauchamp for his assistance with statistical analysis.

References

1. Russell AM, Rowlands GJ, Shaw SR, Weaver AD. Survey of lameness in British dairy cattle. *Vet Rec* 1982;111:155-160.
2. Green LE, Hedges VJ, Schukken YH, Blowey RW, Packington AJ. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *J Dairy Sci* 2002;85:2250-2256.
3. Bailey JV. Bovine arthritides. Classification, diagnosis, prognosis, and treatment. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1985;1:39-51.
4. Joyce J. Injury to Synovial Structures. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 2007;23:103-116.
5. Bertone AL, McIlwraith C, Powers BE, Judith Radin M. Effect of four antimicrobial lavage solutions on the tarsocrural joint of horses. *Veterinary Surgery* 1986;15:305-315.
6. Fubini SL, Ducharme NG. Surgery of the bovine musculoskeletal system. In: *Farm Animal Surgery*. St. Louis, Missouri: WB Saunders; 2004:283-350.
7. Bertone A. Infectious arthritis. In: *Joint Disease in the Horse*. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders, 1996:397-409.
8. Weaver AD. Joint conditions. In: *Lameness in Cattle*. 3rd ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders, 1997:162-170.
9. St. Jean G, Chengappa MM, Staats J. Survival of selected bacteria and fungi in hypertonic (7.2%) saline. *Aust Vet J* 1997;75:137-138.
10. Mangete ED, West KS, Blankson CD. Hypertonic saline solution: An effective wound dressing solution. *East Afr Med J* 1993;70:104-106.
11. Auer J, Stick J, eds. Management of superficial wounds. In: *Equine Surgery*. 3rd ed. Saunders, 2006:295.
12. Harvey R, Hannan SA, Badia L, Scadding G. Nasal saline irrigations for the symptoms of chronic rhinosinusitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;3:CD006394.
13. Wilson DG, Cooley AJ, MacWilliams PS, Markel MD. Effects of 0.05% chlorhexidine lavage on the tarsocrural joints of horses. *Vet Surg* 1994;23:442-447.
14. Anderson MA, Payne JT, Kreeger JM, et al. Effects of intra-articular chlorhexidine diacetate lavage on the stifle in healthy dogs. *Am J Vet Res* 1993;54:1784-1789.
15. Bédard S, Desrochers A, Fecteau G, Higgins R. Comparison of four protocols for preoperative preparation in cattle. *Can Vet J* 2001;42:199-203.
16. Francoz D, Desrochers A, Latouche J. Effect of repeated arthrocentesis and single joint lavage on cytologic evaluation of synovial fluid in 5 young calves. *Can J Vet Res* 2007;71:129-134.
17. Stasiak KL, Maul D, French E, Hellyer PW, VandeWoude S. Species-specific assessment of pain in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2003;42:13-20.
18. Rohde C, Anderson DE, Desrochers A, et al. Synovial fluid analysis in cattle: A review of 130 cases. *Vet Surg* 2000;29:341-346.
19. Reagan BF, McInerney VK, Treadwell BV, Zarins B, Mankin HJ. Irrigating solutions for arthroscopy. A metabolic study. *J Bone Joint Surg Am* 1983;65:629-631.
20. Strauss FG, Holmes DL, Nortman DF, Friedman S. Hypertonic saline compresses: Therapy for complicated exit-site infections. *Adv Perit Dial* 1993;9:248-250.

21. Kornaat PR, Bloem JL, Ceulemans RYT, et al. Osteoarthritis of the knee: Association between clinical features and MR imaging findings. *Radiology* 2006;239:811–817.
22. Kraus VB, Stabler TV, Kong SY, Varju G, McDaniel G. Measurement of synovial fluid volume using urea. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:1217–1220.
23. MacWilliams PS, Friedrichs KR. Laboratory evaluation and interpretation of synovial fluid. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2003;33:153–178.
24. Francoz D, Desrochers A, Fecteau G, et al. Synovial fluid changes in induced infectious arthritis in calves. *J Vet Intern Med* 2005;19:336–343.
25. Van Pelt RW, Conner GH. Synovial fluid from the normal bovine tarsus. I. Cellular constituents, volume, and gross appearance. *Am J Vet Res* 1963;24:112–121.
26. Battistella FD, Wisner DH. Combined hemorrhagic shock and head injury: Effects of hypertonic saline (7.5%) resuscitation. *J Trauma* 1991;31:182–188.
27. Burg MB, Ferraris JD, Dmitrieva NI. Cellular response to hyperosmotic stresses. *Physiol Rev* 2007;87:1441–1474.
28. Schneider RK. Synovial and osseous infections. In: *Equine Surgery*. 3rd ed. Saunders, 2006:1122.
29. Junger WG, Coimbra R, Liu FC, et al. Hypertonic saline resuscitation: A tool to modulate immune function in trauma patients? *Shock* 1997;8:235–241.
30. Rizoli SB, Kapus A, Parodo J, Fan J, Rotstein OD. Hypertonic immunomodulation is reversible and accompanied by changes in CD11b expression. *J Surg Res* 1999;83:130–135.
31. Junger WG, Liu FC, Loomis WH, Hoyt DB. Hypertonic saline enhances cellular immune function. *Circ Shock* 1994;42:190–196.
32. Härtl R, Medary MB, Ruge M, et al. Hypertonic/hyperoncotic saline attenuates microcirculatory disturbances after traumatic brain injury. *J Trauma* 1997;42:541–47.
33. Meijer MC, van Weeren PR, Rijkenhuizen AB. Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage: A series of 39 cases. *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;21:627–649.
35. Michea L, Ferguson DR, Peters EM, et al. Cell cycle delay and apoptosis are induced by high salt and urea in renal medullary cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278:F209–218.

Evaluation of joint lavage with 7.2% hypertonic saline solution in the treatment of experimentally induced septic arthritis in Holstein calves

Damien Achard¹, David Francoz¹, André Desrochers¹, Benoît Rannou²

(1)Département des Sciences Cliniques

(2)Département de Pathologie et Microbiologie

Short title: Joint lavage in septic arthritis

Key words: Hypertonic saline solution, joint lavage, septic arthritis, cattle

Abbreviations: HSS: Hypertonic Saline Solution WBC: White Blood Cell count

Corresponding author : David Francoz, DMV, MSc, Diplomate ACVIM, Département des Sciences Cliniques, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, CP 5000, Saint Hyacinthe, Québec, J2S 7C6, Canada.  ;
telephone 514-343-6111

Acknowledgments

This work was supported by Le Fond du Centenaire de l'Université de Montréal and by Le Fonds Pfizer pour la Recherche Clinique. We acknowledge Mr. Guy Beauchamp for his assistance with statistical analysis.

The objective of this study was to evaluate the efficacy of a joint lavage with 7.2% hypertonic saline solution (HSS) in the treatment of experimentally induced septic arthritis in Holstein calves.

Right tarsocrural joint of 15 calves were inoculated with a viable strain of *Escherichia coli* on day 1. Calves were randomly and equally affected to one of the three following treatment group. In group 1, calves received a 21-day course of intravenous ceftiofur (1mg/kg q 12h) along with a single joint lavage with Lactate Ringer Solution (LRS). In group 2, calves received single joint lavage with LRS. In group 3, calves joints were lavaged with HSS 7.2%. All treatments started on day 2 and all calves were administered daily 3mg/kg of intravenous ketoprofen for 3 days. Lameness, joint swelling and pain were recorded daily. Synovial fluid samples were collected aseptically on day 1 (before inoculation), 2 (before joint lavage), 3, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 for complete cytological analysis and bacteriological culture. Calves were euthanized on day 24.

All calves showed typical clinical signs of septic arthritis 16 hours after bacteria inoculation. At day 24, clinical signs of septic arthritis were absent in all calves and bacteriological cultures were negative as soon as day 12. Moderate joint swelling and moderate to marked synovial inflammation was nevertheless present in all calves at day 24. No differences were observed for clinical, cytological or bacteriological parameters between group 1 and 2 during the experiment. Calves in group 3 exhibited higher lameness compared to calves in groups 1 and 2 on day 2, 3, 5, 6, 7, 8 and 9 ($p<0.04$). Calves in group 3 demonstrated more pain compared to calves in groups 1 and 2 on day 3, 5, 6, 7 and 8 ($p<0.03$) and compared to calves in group 2 on day 9, 12, 19, 20 and 22 ($p<0.04$). Total protein concentration were found significantly elevated in group 3 compared to both other

group on day 8 and 12 ($p < 0.02$) and compared to group 1 only on day 16 and 20 ($p < 0.02$). No differences were observed for leucocytes count, leucocytes differential or bacteriological culture between treatment groups.

Although joint lavage with 7.2% HSS successfully treat septic arthritis in this study, this treatment was found more harmful than LRS joint lavage and therefore cannot be recommended based on our results. Addition of a longue course of ceftiofur to a single LRS lavage did not result in any clinical, bacteriological or cytological advantage over LRS lavage alone.

Introduction

Septic arthritis is a frequent joint disease in cattle that is responsible for significant economic losses for both dairy and beef industries¹⁻³. *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococci*, *Staphylococci*, *Enterobacteriaceae* and *Mycoplasma* are the main pathogens encountered in septic arthritis in cattle⁴. Distension of the joint capsule associated with a marked swelling and pain develops as the acute inflammation of the soft tissue evolves^{5,6}. Mobility of the affected joint is severely compromised and makes the animal lame.

Elevation of total protein concentration and leucocytes count associated with a shift to more than 80% to 90% neutrophils in the synovial fluid is typical of a septic joint^{7,8}. These changes come with a variable degree of synovitis and cartilage defects. If inflammation is not rapidly controlled, joint function can be partially or totally impaired⁵.

Treatment of septic arthritis must be promptly initiated^{1,9-11}. The goal of treatment is to restore joint's mobility by eliminating the infection and controlling the inflammation deleterious to the joint¹². Treatment regimens in cattle usually include a variable course of

systemic antibiotics, non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and repeated joint lavage^{1,6}. Antibiotics are used to control the infection. Even if high quality data are scarce to demonstrate the best duration of antibiotics for septic arthritis¹³, administration for two to three weeks after clinical improvements has been recommended^{1,5,6}. NSAID are used to control the detrimental effects of joint inflammation¹⁴. NSAID administration combined with an antibiotic regimen in rabbits experimentally infected with *Staphylococcus aureus* was significantly associated with a diminution of joint effusion and cartilage injury in comparison to antibiotic regiment alone¹⁵. Joint lavage should aim at removing bacteria, inflammatory residues and debris from the affected joint⁶. Isotonic saline and Lactate Ringer's solution (LRS) are commonly used for irrigation in human surgery and arthroscopy¹⁶.

In organic production systems, the use of antibiotics is strictly regulated¹⁷⁻¹⁹. When health problems occurred, animals are often sold. Thus, a realistic treatment regimen in the organic production system should imply a limited use of antibiotics to ensure that the animals treated could stay on farm. This is a challenging situation in regards to septic arthritis treatment. The use of commercial 7.2% hypertonic saline solutions (HSS 7.2%) for joint irrigation could be a part of an answer. HSS 7.2% is a hyperosmotic solution with antimicrobial properties and was found appropriate for joint lavage in healthy calves in a recent study²⁰. Inoculated in hypertonic 7.2% saline, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Arcanobacterium pyogenes* do not multiply²¹. The topical antibacterial effect of hypertonic saline solution is well established in wound dressing and lavage of open wounds in both humans and horses²²⁻²⁵.

The objective of our study is to evaluate clinical and bacteriological effectiveness of joint lavage with 7.2% hypertonic saline solution in septic arthritis induced experimentally in calves. We hypothesized that the irrigation with HSS 7.2% was more efficient to treat septic arthritis than the irrigation with LRS and could be an alternative for the usual treatment of septic arthritis.

Materials and methods

Experimental animals

Fourteen male and one female Holstein calves apparently healthy were selected from different dairy herds near the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV) de l'Université de Montréal. Mean age of calves was 16 days (range from 14 to 21 days) and their mean body weight was 44 kg (range from 36 to 53 kg). Upon arrival, physical examination, complete blood count and serum biochemistry profile were performed on each calf to evaluate their health status. Bovine viral diarrhoea RNA detection was done by using a reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) technique on pooled heparinized blood using the AgPath-ID BVDV Reagent Kit (Ambion, a Applied Biosystems Business) on a SmartCycler real-time PCR (Cepheid). All calves were housed individually and fed with a milk replacer twice a day. All experiments were carried out under a protocol that was approved by the animal care committee of the Université de Montréal.

Infectious arthritis model

Infection of the right tarsocrural joint of each calf was realized as previously described in a study on synovial fluid changes during induced septic arthritis in calves²⁶. Infection was obtained via inoculation of 4×10^8 colony-forming units (CFU) of a viable *Escherichia coli* ECL 1018 strain suspended in 1 mL of phosphate-buffered saline solution. Inocula were prepared just before inoculation by dilution of aliquots of 10^{10} CFU. The following virulence factors were identified in *E.coli* ECL 1018: P (fimbrial adhesion), AFA

(afimbrial adhesion), EAST1 (enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1) and aerobactin (siderophore).

The strain used in the inoculums was collected from a septicemic calf with septic arthritis. The inoculum was prepared by harvesting bacteria after an overnight stay at 37°C with agitation in tryptic soy broth. The bacteria were suspended in tryptic soy broth with 30% glycerol. The inoculum was divided into 1 milliliter aliquots of 10^{10} colony-forming units (CFU) and stored at a temperature of minus 80°C until needed for inoculation. Organisms were susceptible to ceftiofur, with a minimal inhibitory concentration (MIC) value of 0.25 mg/mL.

Experimental protocol

Experimental protocol began one week after calves' arrival (figure 1). The right tarsocrural joint of each calf was inoculated on day 1 (first day of the experiment) with 4×10^8 CFU of the viable *Escherichia coli* strain described above. Arthrocentesis of the right tarsus of each calf was performed on day 1 (before inoculation), day 2 (before joint lavage), 3, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 (before euthanasia) of the experiment. The synovial fluid collected was assessed for bacteriological and cytological analysis. On day 24, all calves were euthanized by using barbiturates. All procedures and treatments were performed by individuals unaware of the group allocation.

Treatment groups

Calves were randomly drawn in equal number ($n=5$) to one of the three treatment regimens (figure 1). Darken syringes and sunglasses were used to ensure that treatments were

administrated blindly by the main investigator. All calves received 3 mg/kg IV of non steroidal anti-inflammatory drug ketoprofen once a day from day 2 to day 4. In treatment group 1, joints were lavaged on day 2 with a commercial Lactate Ringer Solution ^b. Calves were administrated ceftiofur intravenously at the regimen of 1 mg/kg twice a day from day 2 to 21. In treatment group 2, joints were lavaged on day 2 with LRS. In treatment group 3, joints were lavaged on day 2 with a commercial HSS 7.2% ^c. In both treatment groups 2 and 3, the calves received sterile physiologic saline intravenously from day 2 to 21 instead of antibiotics.

Arthrocentesis and joint lavage

Prior to the manipulations, all calves were sedated with 0.05 mg/kg of xylazine (Rompun, Bayer Santé Animale, Toronto, Ontario, Canada) in the right jugular vein. Then, hindlimb analgesia was achieved by performing a caudal epidural injection of 0.1 mg/kg of morphine sulphate (Morphine HP 25, Sabex 2002 Inc, Boucherville, Québec, Canada) combined with lidocaine 2% (2% Lidocaine Hydrochloride Sterile Injection, Vétoquinol Inc., Lavaltrie, QC, Canada) for a total volume of 0.15 ml/kg of lidocaïne. Finally, the calf was placed in left lateral recumbency. Right tarsocrural joints were aseptically prepared using standard procedures. Arthrocentesis was performed in the dorsomedial pouch of the tarsocrural joint with an 18-gauge needle and 5 ml of synovial fluid was collected for cytological analysis with a 5 ml syringe. A long-term catheter was placed into the left jugular vein after aseptic preparation of the area just before the joint lavage. A through-and-through joint lavage was performed with 1 L of warmed irrigation solution (HSS 7.2% or LRS) which was pressure-controlled at 400 mmHg with a hand-pumped-pressure bag to

keep a steady flow of fluid into the joint. Three 18-gauge needles were inserted in three distant places of the tarsocrural joint to achieve efficient lavage: dorsomedial pouch, dorsolateral pouch and caudomedial pouch. At the end of the lavage, fluid was expressed manually from the joint and needles were all removed except in the HSS 7.2% group. In this group, 5 ml of the irrigating solution was injected into the joint after the end of the lavage. Tarsi were left unbandaged. These procedures were based on commonly accepted recommendations in cattle regarding joint lavage and arthrocentesis.²⁷ All joint lavage were done by the main investigator except for the end of the lavage realized by an assistant.

Bacteriology

For each arthrocentesis two milliliters of synovial fluid were collected in blood culture bottles (Oxoid Signal Blood Culture System, Oxoid Limited, Basing-stoke, Hampshire, UK) for routine bacteriological analysis. Blood cultures bottles were incubated at 35°C and culture was performed according to the manufacturer's recommendations.

Clinical assessment

Each calf was evaluated by the main investigator for joint swelling, joint pain and lameness three times a day for the first six days, then once daily until day 24. A scoring system was used to objectively grade calves (Table I). Heart rate, respiratory rate and rectal temperature were also monitored three times a day. The main investigator was unaware of the treatment group that calves belonged to.

In order to monitor global pain during the experiment, a clinical score adapted from pain evaluation protocol used for large animals after orthopaedic surgery was used.²⁸ It included appetite, modifications in heart and respiratory rates, as well as joint pain. Pain score was determined by the same investigator three times a day for the first six days, then once daily until day 24. If calves demonstrated pain behaviour, five milligrams of butorphanol (Torbugesic, Wyeth Canada, Saint-Laurent, Québec, Canada) IV was administered every 4 hours until pain was judged to be mild according to the pain clinical score discussed above.

Synovial fluids analysis

For each arthrocentesis one milliliter of synovial fluid was collected in a 3 ml glass whole blood tube with ethylenediaminetetraacetic acid (Blood collection tubes, BD, Vacutainer, Franklin Lakes, NJ). All samples were analysed for total protein concentration (refractometer), white blood cell count (WBC) and differential. WBC was determined manually by using a Unopette (Unopette, Becton-Dickinson, Rutherford, NJ) technique following manufacturer's recommendations. Differential count was determined using a modified Wright-Giemsa stain to be read by a board certified clinical pathologist. All these procedures were performed within 1 hour of sampling.

Statistical analysis

Mean values were calculated for total protein concentration, WBC count, neutrophil count and percentage, macrophage count and lymphocyte count for each treatment group and each observation. The data were exported to SAS 9.2 (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) for statistical analysis. A repeated measures linear model was used to evaluate the

influence of the observation and the treatment group on cytological mean values. For statistical analysis, neutrophil percentages were transformed by the square root of arcsine. Values obtained after inoculation (day 2 and more) were compared to day 1 by using the same repeated measures linear model. Mean values were also calculated for swelling, lameness and global pain scores for each treatment group and each observation. A Cochran-Mantel-Haenszel test was used to compare the distribution of swelling, lameness and global pain scores for each observation. Scores obtained at completion of the study (day 24) were compared to day 1 by using the same Cochran-Mantel-Haenszel test. P values of ≤ 0.05 were considered to indicate statistical significance for clinical data. This level of statistical significance was lowered for synovial fluid data using a Bonferroni sequential correction because multiple comparisons were made.

Results

Physical exams and concurrent diseases

Upon arrival, two calves showed clinical signs of pneumonia (tachypnea, fever, abnormal lung sounds) and were immediately administered florfenicol (40 mg/kg SC). These calves were normal on day 1 of the experiment. Physical examinations and blood work results of all the other calves were within normal limits. RT-PCR blood tests for BVD were negative. Diarrhea, pneumonia and otitis media were the main concurrent diseases that affected calves during the experiment. Diarrhea without loss of appetite nor systemic signs of weakness was mainly observed during the first week of the experiment. *Cryptosporidium spp.* was found in the feces of 7 calves (77%) with diarrhea. Diarrheic calves were successfully treated with oral electrolyte solutions.

Bronchopneumonia affected calves at different times of the experiment. Two calves, one from group 2 and the other from group 3, were treated on days 6 and 9 respectively with one dose IM of long-acting oxytetracycline (Liquamycin LA-200, Pfizer Animal Health, Pfizer Canada Inc., Kirkland QC H9J 2M5). Oxytetracycline was chosen because of the bacterial strain used to induce septic arthritis was resistant to tetracycline. The calves treated responded successfully to their treatments. The other calves did not necessitate antimicrobial administration.

Otitis media was observed on the last week of the experiment (day 14 to 24). The calves affected showed moderate to marked fever with head tilt and ear dropped. *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida* and *Arcanobacterium pyogenes* were the principal pathogens retrieved in tympanic bullae by myringotomy post-mortem. Two calves (belonging to group 2 and 3) were treated on days 14 and 22 respectively. They both received a single dose IM

of a long-acting oxytetracycline. They responded well to the treatment but continued to show chronic signs of their disease until the end of the study. The other calves did not necessitate antimicrobial administration. Data collected from all calves were kept for the study.

Bacteriology

All results are compiled in table II. On the first day of experiment, no bacterial growth was observed before inoculation except for one culture in the treatment group 2 where *Staphylococcus spp.* was found and considered a contaminant. A positive *E coli* growth was observed on day 2 and 3 in all treatment groups. All bacterial cultures were negative on day 12. In the treatment group 1, all cultures were positive for *E coli* on day 4 and one was positive on day 8. In the treatment groups 2 and 3, 8 cultures (80%) were positive for *E coli* on day 4 and none on day 8. *Enterobacter*, *Pantoea spp.* and *Enterococcus spp.* isolated in this study were considered contaminants.

Clinical assessment

Before inoculation (day 1), joint swelling, lameness and pain were absent in all calves (figure 2). Eight hours after inoculation, swelling, lameness and pain were evident in all calves and reached a peak 16 hours after inoculation. At that time, calves demonstrated marked pain, hot and severely distended joints with oedema. They were unable to bear weight on their right hind limbs and were unable to stand without assistance. Joint swelling, lameness and pain decreased gradually in the course of the experiment. At completion of the study, calves showed a mild joint swelling statistically different from

day 1 in all treatment groups ($p < 0.02$). Calves did not demonstrate any lameness or pain at the end of the experiment. There were no statistical differences for lameness and pain scores between day 1 and day 24.

No differences were observed between treatment groups for joint swelling during the experiment.

Treatment groups 1 and 2 shared similar lameness score evolution during the study and no statistical differences were found between these two groups. Sixteen hours after inoculation, calves in these groups were severely lame. Lameness score decreased then rapidly and was absent as early as day 4. From day 8 to 20, lameness scores seemed to have increased but no statistical differences were found between day 10 and day 1 (before inoculation). At completion of the study, all calves in treatment group 1 and 2 were found sound. Lameness scores in the treatment group 3 were significantly higher on day 2, 3, 5, 6, 7, 8 and 9 ($p < 0.04$) compared to both treatment group 1 and 2. After a peak at the end of the first day of experiment, the decrease in lameness scores for calves in the treatment group 3 was consistent until day 5 where it reached a plateau. A recurrence of lameness was also noted in this group but the differences were not statistically significant ($p=0.06$) between day 10 and day 1 (before inoculation). At completion of the study, all calves in treatment group 3 were found sound.

Global pain score evolved in a similar fashion in both treatment groups 1 and 2 during the study and no statistical differences were found between these two groups. Sixteen hours after inoculation, calves in these groups were experiencing a marked pain. Pain decreased then rapidly and was considered absent at day 3 (global pain score below 3). From day 6 to 20, lameness scores seemed to have increased. A statistical difference ($p=0.005$) was found

between day 10 and day 1 (before inoculation) for calves in the treatment group 1 only. At completion of the study, pain was absent in treatment group 1 and 2. Several statistical differences in global pain scores were found at various times between the treatment group 3 and the two other groups. Pain was significantly higher in this group on days 3, 5, 6, 7 and 8 compared to both other groups ($p < 0.03$) and higher on days 9, 12, 19, 20 and 22 compared to the treatment group 2 only ($p < 0.04$). After a peak at the end of the first day of experiment, the decrease in global pain scores for calves in the treatment group 3 was consistent until day 5 where it stabilized. Pain was considered tolerable at day 4 (global pain score below 3). A recurrence of lameness was also noted in this group with a statistical difference found ($p=0.008$) between day 10 and day 1 (before inoculation). At completion of the study, all calves in treatment group 3 were found without pain.

Synovial fluid analysis

The analyses of synovial fluid components during the study are presented in figures 3, 4 and table III. On the first day of experiment and before inoculation, total protein concentrations were found within normal range in all treatment groups with a mean concentration of 16.3 g/L. Leucocytes count was above the normal range in treatment group 1 and 3 ($4.90 \times 10^9/L$ and $1.28 \times 10^9/L$ respectively) and neutrophils percentage was found elevated in all groups (mean neutrophils percentage of 23.7%). Two calves had marked elevated leucocytes count and neutrophils percentage, one in the group 1 (leucocytes count of $24.10 \times 10^9/L$ with 90% of neutrophils) and the other in the group 3 (leucocytes count of $5.45 \times 10^9/L$ with 71% of neutrophils). The clinical examinations of

the joint of these calves were normal and bacteriological cultures of their synovial fluids were negative. Data of these two calves were kept in the study.

24 hours after inoculation, mean values of WBC count, neutrophil count, neutrophil percentage, and total protein concentration increased significantly in all groups ($p \leq 0.0170$).

On that day, total protein concentration reached 46.9 g/L, leucocytes count was $52.96 \times 10^9/L$ and neutrophils percentage was 96.27%.

After day 2 peak, total protein concentrations decreased progressively but failed to reach normalcy at the end of the experiment. Total protein concentrations were found above normal values in all treatment groups at day 24. In comparison to day 1, total protein concentrations on day 24 were significantly elevated in treatment group 2 ($p = 0.0183$) and 3 ($p = 0.0002$). Total protein concentrations for treatment group 1 were not statistically different from day 1 as early as day 20 ($p = 0.4256$). Compared to day 2 peaks, leucocytes and neutrophils counts seemed to decrease at day 3 in all groups although the results were not statistically significant ($p \geq 0.2999$). Neutrophils percentage remained elevated in all groups until the last days of the experiment. From day 3 to day 8, leucocytes and neutrophils counts remained unchanged in treatment groups 1 and 2 whereas these parameters increased significantly in treatment group 3 ($p = 0.0401$) to reach another peak on day 8. After day 8, leucocytes and neutrophils counts decreased progressively in all groups but also failed to reach normalcy at the end of the experiment. Although leucocytes and neutrophils counts were not statistically different from day 1, these parameters were above normal values at that time. Neutrophils percentage was significantly elevated for all groups in comparison with day 1 and above normal values. Thus on day 24, total protein

concentration reached 21.8 g/L, leucocytes count was $12.47 \times 10^9/L$ and neutrophils percentage was 74.73% , all calves included.

Two calves (one from group 1, the other from group 3) had leucocytes counts above $25 \times 10^9/L$ and neutrophils percentage above 80% at the end of the experiment. Although their clinical scores were normal and the bacteriological cultures were negative, their joints were not considered healthy by cytological evaluation.

No statistical differences were observed between treatment group 1 and 2 during the experiment. Total protein concentrations were significantly elevated in group 3 compared to groups 1 and 2 at days 8 ($p \leq 0.0041$) and 12 ($p \leq 0.0201$). Total protein concentrations were significantly elevated in group 3 compared to group 1 at days 16 ($p \leq 0.0128$) and 20 ($p \leq 0.0232$). No statistical differences were observed for leucocytes count, neutrophils count and percentage and lymphocytes count between all groups during the study. Macrophages count was significantly elevated in group 2 at day 8 compared to group 1 and 3 ($p \leq 0.0264$).

Discussion

Joint lavage with LRS combined with a 3-day course of ketoprofen was found as effective as the standard treatment combining LRS joint lavage, ketoprofen and a 21-day course of systemic ceftiofur. The results of our study also demonstrate that joint lavage with 7.2% hypertonic saline solution was less efficient than the irrigation with LRS to treat septic arthritis in this experimental model. Therefore we cannot recommend the use of hypertonic saline for joint lavage.

Septic arthritis seemed to have been successfully induced in our study. Twenty four hours after intra-articular administration, *E coli* bacteria were recovered from all inoculated joints with calves exhibiting severe lameness with joint distension, and pain. The marked elevation of both protein concentration and white blood cells number in the synovial fluid observed at that time is also highly suggestive of infectious arthritis⁷. Tarsocrural joint was chosen because it is a common joint infected in calves^{1,5}, it is easy to collect synovial fluid and there is no variation in joint communication compared to carpus and stifle²⁹.

By the end of the study, all bacteriological samples from infected joints returned negative. Calves did not exhibit lameness or joint pain at that time. Consequently, all treatments instituted in this study appear effective in eliminating joint infection and restoring joint functions. Nevertheless, all calves demonstrated a variable level of synovial inflammation with mild joint distension at the end of the study. This residual inflammation despite absence of a viable bacteria has been noticed in other studies and sometimes referred to as post-infectious inflammatory synovitis^{26,30}. A long-term study is warranted to understand the evolution and outcome of this residual synovial inflammation.

Compared to LRS, lavage with 7.2% HSS was overall associated with more lameness and pain with significantly higher synovial inflammation. In a recent study in calves, 7.2% HSS lavage induced a variable synovitis with post-mortem synovial erosions and neutrophils infiltration in some calves²⁰. Elevation of osmolality after a joint lavage with HSS was identified as a possible factor that led to this variable synovitis²⁰. Hyperosmotic conditions could also have contributed to the higher joint inflammation observed in our study.

Compared to LRS, joint lavage with 7.2% hypertonic saline solution did not result in significant improvement of the elimination of *E coli*, according to bacteriological cultures. Two possible factors can explained this result. First, *E coli* has been reported to grow in media of high osmolarity produced by high concentrations of NaCl, adjusting a wide range of cytoplasmic solution variables to adapt to hyperosmotic conditions³¹⁻³³. Nevertheless, growth rate of *E coli* decreases with increasing osmolarity and approaches zero at 1 700 – 2 000 mOsm/L when a minimal growth medium is used³⁴. Second, contact time is an important parameter to consider. In the study of Saint Jean et al, *E coli* bacteria were able to survive for 2 weeks in 7.2% NaCl solution at room temperature²¹. Osmolarity of inoculated joints was not recorded in our study but it is possible that the bacteriostatic/bactericide properties of 7.2% hypertonic saline solution could not be observed because high osmolarity could not be maintained for a sufficient time.

Combining LRS joint irrigation with a 21-day course of systemically administrated ceftiofur was not associated with any significant clinical, bacteriological or cytological improvement compared to LRS joint irrigation alone in our study. This is an unexpected result. Antibiotic treatment in septic arthritis is warranted by several studies and aimed to

control infection^{1,35-37}. Antimicrobial regimen used in this study may be questioned. In our study, microorganisms were susceptible to ceftiofur, with a minimal inhibitory concentration (MIC) value of 0.25 µg/mL. In 1-month calves, plasma concentration of ceftiofur 12 hours after a single intravenous injection of ceftiofur at a dose of 2.2 mg/kg was 3.39 µg/mL³⁸. Based on these data, antibiotic effectiveness in our study was found appropriate. Contrary to *A pyogenes* or *M bovis* which are commonly found in septic arthritis in calves⁴, *E coli* only has a low tropism for synovium³⁹. *E coli* is also not able to survive intracellularly contrary to *S aureus*. This may explained why *E coli* joint infection are more easy to control compared to *S aureus* or *M bovis*. It is also possible that the strain used in our study was weak or that the infectious dose chosen was too low. All these factors may explain why in our experimental model antimicrobial treatment may not have been necessary.

Our study suffers from other limitations. The number of 5 calves per treatment group was certainly a limiting factor. Behaviour of tarsocrural joints in the face of inflammation may vary with age. Thus, extrapolation of results of this study to adult cattle may be hazardous. Concurrent diseases during the study may have altered some of its results also even if morbidity was considered even among treatment groups. *Mycoplasma media* developed in 7 calves with respiratory infection. A decrease in the defensive capacity of the immune system secondary to *Mycoplasma* infection could have an impact on the tarsocrural joints' reactions in face of infection. In addition, due to the severe complications that result from septic arthritis, a control population of untreated calves does not exist. Such population could have helped us distinguish effects of treatments from the natural course of the disease in this particular model.

Combined effects of a single LRS joint lavage with a 3-day course of ketoprofen proved to be efficient to treat septic arthritis in our study. Because of the design of treatment groups, it is not possible to assess the effect of the joint lavage and the effect of ketoprofen administration separately. However it is possible to evaluate the effects of ketoprofen based on the results of a previous study that used the same experimental material and design²⁶. In this study led by Francoz et al, it was observed that clinical signs of septic arthritis appeared on day 2 and persisted until day 9 for all calves²⁶. Treatment in that study included a single joint lavage on day 2 with LRS and a 21-day course of ceftiofur at 1 mg/kg every 12 hours. In our study, calves treated with LRS joint irrigation, ceftiofur and ketoprofen exhibited clinical signs of septic arthritis on day 2 and persisted until day 5. Synovial protein concentrations in our study seem lowered at all time compared to synovial protein levels obtained by Francoz et al. Thus it is probable that ketoprofen contributed to the faster clinical improvement observed in the calves that received this medication. This finding warrants further clinical investigations. In horses, ketoprofen and phenylbutazone have shown significant clinical improvement associated with a decrease in PGF- α 2 concentration in synovial fluids of horses with induced synovitis⁴⁰.

In this study, joint lavage is thought to be of great importance in the elimination of *E coli* from infected joints. Joint lavage aimed to remove bacteria, cellular debris and deleterious inflammatory products from the infected joint and has been advocated by numerous authors for the treatment of septic arthritis^{37,41-44}. In one study, 80% of calves that were not responding to initial parenteral antibiotic therapy alone responded to joint lavage treatment, the majority of the calves requiring two or more flushes⁴³. There is still a lack of scientific evidences to determine the number of flush required to achieve the best prognosis for our

patients. Some authors rely on the evolution of the leucocytes count in synovial fluids^{5,42}. For others, the decision takes into account synovial fluid analysis with clinical improvement^{12,41}.

In this specific experimental model, combination of ketoprofen with a single joint lavage with LRS appeared to be efficient and safe to treat *E coli* septic arthritis. Based on our findings, joint lavage with 7.2% hypertonic saline cannot be recommended as part of the treatment. Finally, administration of a long course of ceftiofur in this study is debatable.

References

1. Francoz D. Septic arthritis in cattle. In: *Current Veterinary Therapy*. 5th ed. Saunders; 2009:259-261.
2. Svensson C, Lundborg K, Emanuelson U, Olsson S-O. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Preventive Veterinary Medicine*. 2003;58(3-4):179-197.
3. Russell AM, Rowlands GJ, Shaw SR, Weaver AD. Survey of lameness in British dairy cattle. *Veterinary Record*. 1982;111(8):155-60.
4. Francoz D, Desrochers A, Fecteau G, et al. A retrospective study of joint bacterial culture in 172 cases of septic arthritis in cattle (abstr). In: *20th Annual ACVIM Forum Proceeding* ; 2002:774.
5. Bailey JV. Bovine arthritides. Classification, diagnosis, prognosis, and treatment. *Vet Clin North America Food Animal Practice*. 1985;1(1):39-51.
6. Weaver A.D. Joint conditions. In: *Lameness in cattle*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1997:162-170.
7. Rohde C, Anderson DE, Desrochers A, et al. Synovial fluid analysis in cattle: a review of 130 cases. *Veterinary Surgery*. 29(4):341-6.
8. Schneider RK. Synovial and osseous infections. In: Auer JA, Stick JA, éd. *Equine surgery*. 3d éd. Saunders; 2006:1122.
9. Marsh RH, Brown DFM, Nadel ES. Septic arthritis. *Journal of Emergency Medicine*. 2006;31(4):417-420.
10. Mathews CJ, Weston VC, Jones A, Field M, Coakley G. Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet*. 2010;375(9717):846-855.
11. Carpenter CR, Schuur JD, Everett WW, Pines JM. Evidence-based Diagnostics: Adult Septic Arthritis. *Acad Emerg Med*. 2011;18(8):781-796.
12. Lugo J, Gaughan EM. Septic arthritis, tenosynovitis, and infections of hoof structures. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2006;22(2):363-88, viii.

13. Mathews CJ, Kingsley G, Field M, et al. Management of septic arthritis: a systematic review. *Ann. Rheum. Dis.* 2007;66(4):440-445.
14. Moses VS, Bertone AL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2002;18(1):21-37, v.
15. Smith RL, Kajiyama G, Schurman DJ. Staphylococcal septic arthritis: antibiotic and nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment in a rabbit model. *Journal of Orthopedic Research.* 1997;15(6):919-26.
16. Shinjo H, Nakata K, Shino K, et al. Effect of irrigation solutions for arthroscopic surgery on intraarticular tissue: comparison in human meniscus-derived primary cell culture between lactate Ringer's solution and saline solution. *Journal of Orthopedic Research.* 2002;20(6):1305-1310.
17. Rotz CA, Kamphuis GH, Karsten HD, Weaver RD. Organic Dairy Production Systems in Pennsylvania: A Case Study Evaluation. *Journal of Dairy Science.* 2007;90(8):3961-3979.
18. Zwald AG, Ruegg PL, Kaneene JB, et al. Management Practices and Reported Antimicrobial Usage on Conventional and Organic Dairy Farms. *Journal of Dairy Science.* 2004;87(1):191-201.
19. Anon. OTA (Organic Trade Association). 2006. Organic Trade Association's 2006 Manufacturer Survey.
20. Achard D, Francoz D, Desrochers A, Girard C, Piché C. Synovitis induced by joint lavage with hypertonic saline solutions in healthy dairy calves. *Canadian Journal of Veterinary Research.* 2012;76(2):81-90.
21. St Jean G, Chengappa MM, Staats J. Survival of selected bacteria and fungi in hypertonic (7.2%) saline. *Australian Veterinary Journal.* 1997;75(2):137-138.
22. Lowthian P, Oke S. Hypertonic saline solution as disinfectant. *Lancet.* 1993;341(8838):182.
23. Mangete ED, West KS, Blankson CD. Hypertonic saline solution: an effective wound dressing solution. *East African Med Journal.* 1993;70(2):104-106.
24. Strauss FG, Holmes DL, Nortman DF, Friedman S. Hypertonic saline compresses: therapy for complicated exit-site infections. *Advances in Peritoneal Dial.* 1993;9:248-50.
25. Auer JA, Stick JA éd. Management of superficial wounds. In: *Equine surgery.* 3d éd. Saunders; 2006:295.

26. Francoz D, Desrochers A, Fecteau G, et al. Synovial fluid changes in induced infectious arthritis in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2005;19(3):336-43.
27. Francoz D, Desrochers A, Latouche J-S. Effect of repeated arthrocentesis and single joint lavage on cytologic evaluation of synovial fluid in 5 young calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2007;71(2):129-34.
28. Stasiak KL, Maul D, French E, Hellyer PW, VandeWoude S. Species-specific assessment of pain in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci*. 2003;42(4):13-20.
29. Desrochers A. *Characterization of anatomic communications of the carpus, fetlock, stifle, and tarsus in cattle using intra-articular latex and positive contrast arthrography*. Kansas State University; 1995.
30. Schurman DJ, Mirra J, Ding A, Nagel DA. Experimental *E. coli* arthritis in the rabbit. A model of infectious and post-infectious inflammatory synovitis. *Journal of Rheumatology*. 1977;4(2):118-128.
31. Kawarai T, Furukawa S, Narisawa N, et al. Biofilm formation by *Escherichia coli* in hypertonic sucrose media. *J. Biosci. Bioeng*. 2009;107(6):630-635.
32. Lucht JM, Bremer E. Adaptation of *Escherichia coli* to high osmolarity environments: osmoregulation of the high-affinity glycine betaine transport system proU. *FEMS Microbiol. Rev*. 1994;14(1):3-20.
33. Zahran HH. Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments. *Biology and Fertility of Soils*. 1997;25(3):211-223.
34. Trchounian A, Kobayashi H. Fermenting *Escherichia coli* is able to grow in media of high osmolarity, but is sensitive to the presence of sodium ion. *Current Microbiology*. 1999;39(2):109-114.
35. Mathews CJ, Coakley G. Septic arthritis: current diagnostic and therapeutic algorithm. *Current Opinion Rheumatology*. 2008;20(4):457-462.
36. Coakley G, Mathews C, Field M, et al. BSR & BHPR, BOA, RCGP and BSAC guidelines for management of the hot swollen joint in adults. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(8):1039-1041.
37. Morton AJ. Diagnosis and treatment of septic arthritis. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice*. 2005;21(3):627-49, vi.

38. Brown SA, Chester ST, Robb EJ. Effects of age on the pharmacokinetics of single dose ceftiofur sodium administered intramuscularly or intravenously to cattle. *Journal of Veterinary Pharmacological Therapy*. 1996;19(1):32-38.
39. Shirtliff ME, Mader JT. Acute Septic Arthritis. *Clinical Microbiological Review*. 2002;15(4):527-544.
40. Owens JG, Kamerling SG, Stanton SR, Keowen ML, Prescott-Mathews JS. Effects of pretreatment with ketoprofen and phenylbutazone on experimentally induced synovitis in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 1996;57(6):866-74.
41. Desrochers A, Anderson DE, St-Jean G. Surgical treatment of lameness. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 2001;17(1):143-58, vii.
42. Meijer MC, van Weeren PR, Rijkenhuizen AB. Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage: a series of 39 cases. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2000;47(6):351-65.
43. Jackson P.G.G., Strachan W.D., Tucker A.W., et al. . Treatment of septic arthritis in calves by joint lavage- A study of 20 cases. *Cattle Practice*. 1998;47(6):335-339.
44. Bertone AL, McIlwraith C. Wayne, Powers Barbara E, Radin Judith M. Effect of Four Antimicrobial Lavage Solutions on the Tarsocrural Joint of Horses. *Veterinary Surgery*. 1986;15(4):305-315.

Tables and illustrations

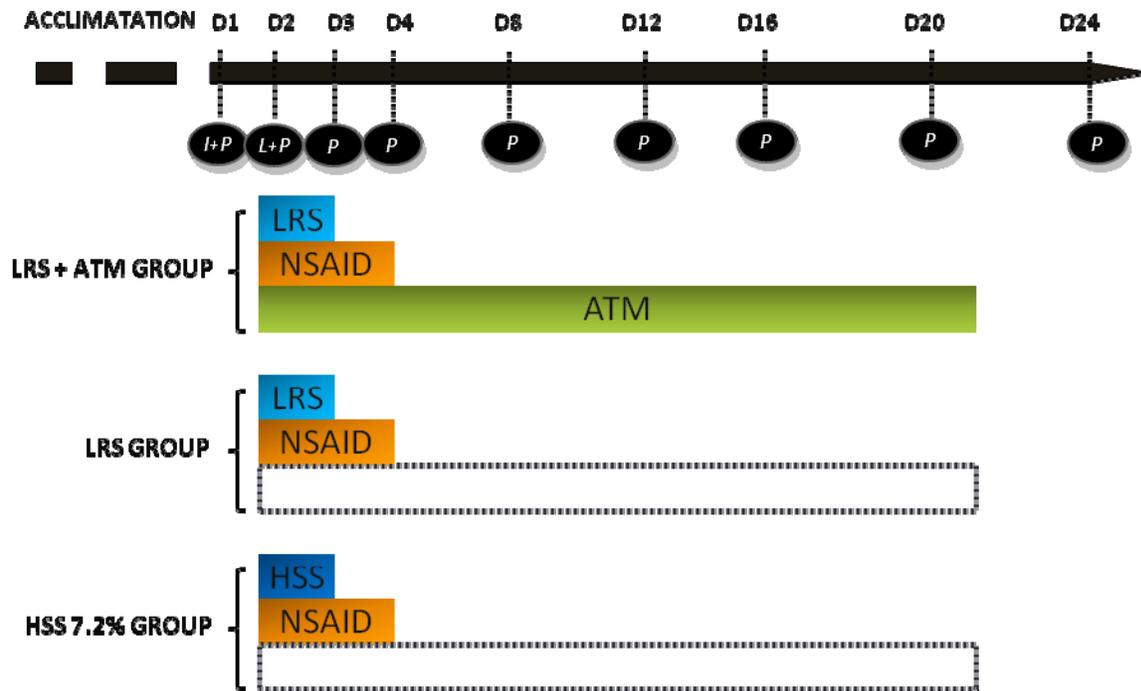


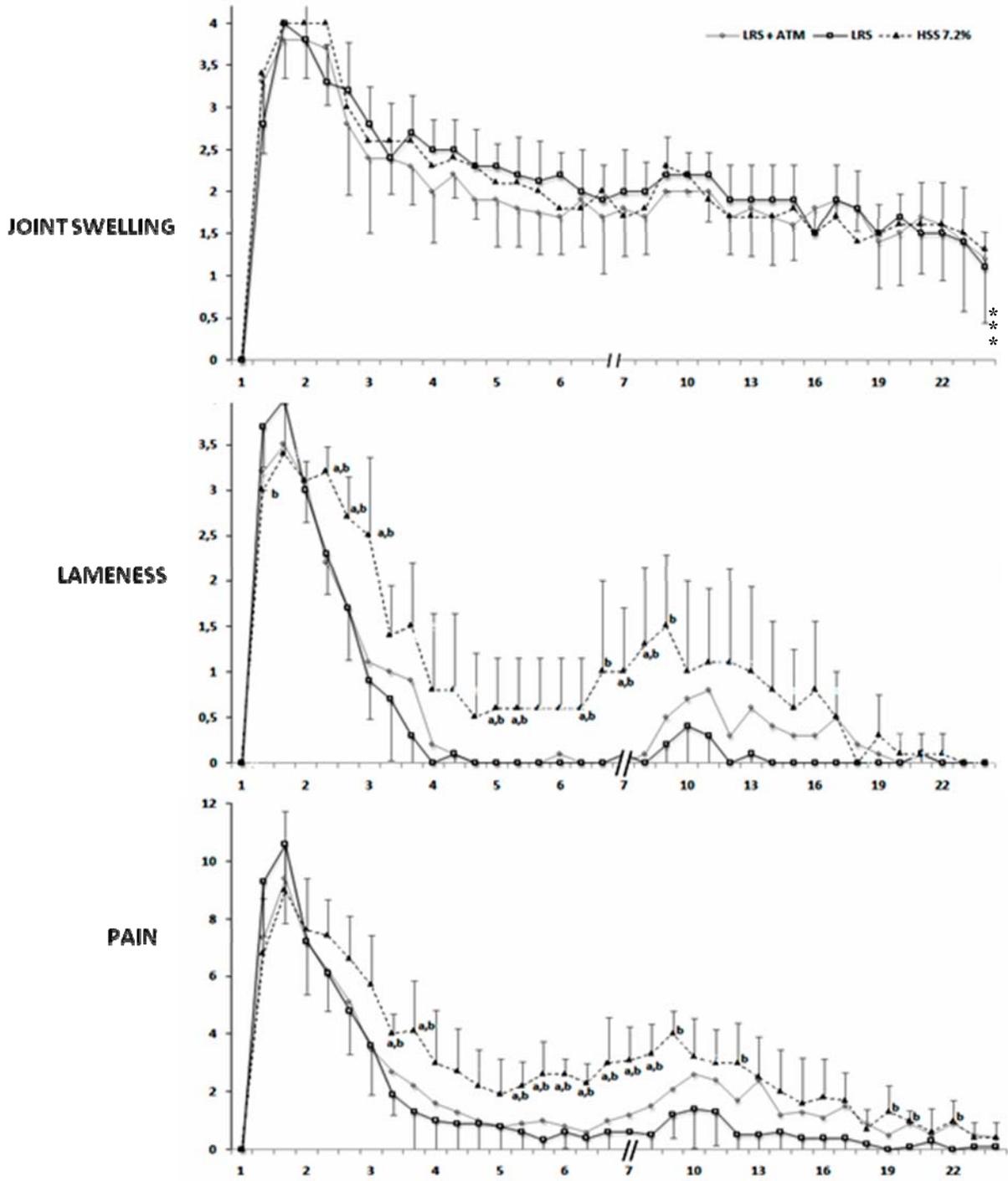
Figure 1 - Schema illustrating chronological events over a twenty four days period according to treatment group. I stand for inoculation, P for ponction and L for lavage.

Grade	Joint swelling	Joint Pain	Lameness
0	Normal	Normal	Normal
1	Mild swelling	Head movement during leg manipulation	Mild lameness
2	Easily detectable swelling	Withdrawal of the leg during leg manipulation	Easily detectable lameness without difficulty in ambulation
3	Easily detectable swelling and joint capsule under tension	Head movement during joint palpation	Moderate lameness making ambulation difficult
4	Grade 3 including edema	Withdrawal of the leg during joint palpation	Severe lameness with reluctance to bear weight on the affected limb

Table I - Joint swelling, joint pain and lameness grade scale used for clinical assessment of calves.

Group	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 8	Day 12	Day 16	Day 20	Day 24
LRS + ATM	-	EC	EC	EC	EC	-	-	-	-
LRS + ATM	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
LRS + ATM	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
LRS + ATM	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
LRS + ATM	-	EC	EC	EC	<i>Enterobacter</i>	-	-	-	-
LRS	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
LRS	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
LRS	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
LRS	<i>Staphylococcus spp.</i>	EC	EC	EC	<i>Pantoea spp</i>	-	-	-	-
LRS	-	EC	EC	-	-	-	-	-	-
HSS 7.2%	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
HSS 7.2%	-	EC	EC	-	-	-	-	-	-
HSS 7.2%	-	EC	EC	EC	-	-	<i>Enterococcus spp</i>	-	-
HSS 7.2%	-	EC	EC	EC	-	-	-	-	-
HSS 7.2%	-	EC (+ CP)	EC	EC	-	-	-	-	-

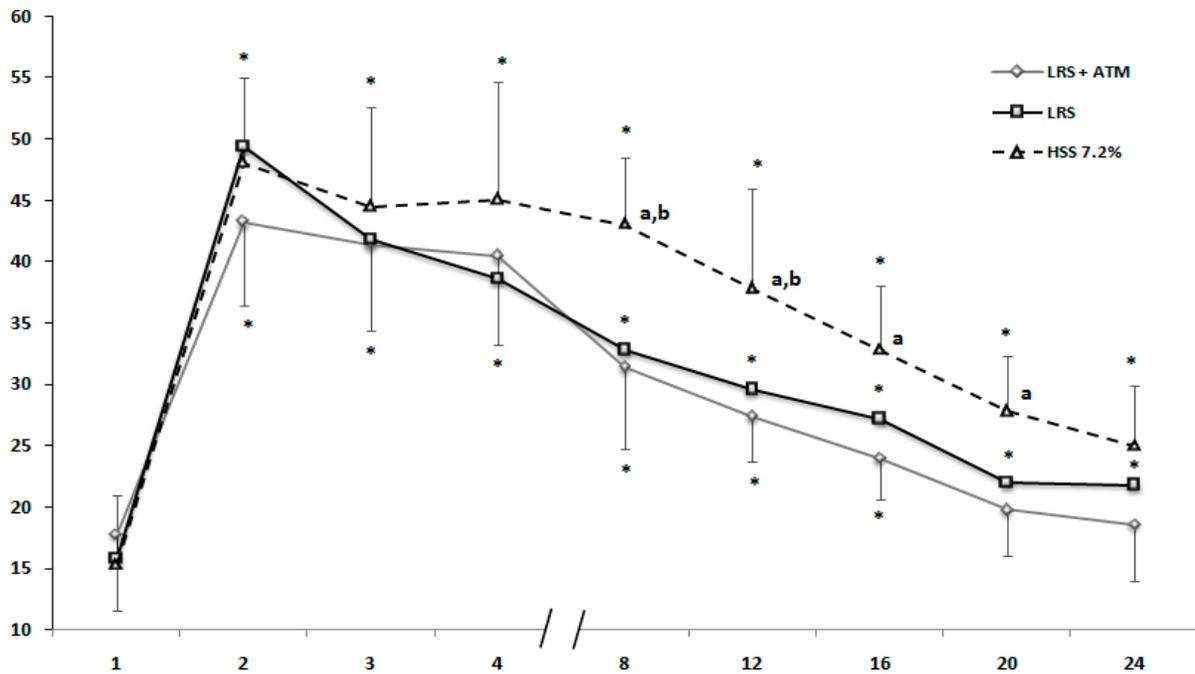
Table II - Bacterial analysis of synovial fluids according to group and day of the experiment. (ATM = antimicrobial therapy, EC = *Escherichia coli*, CP = *Clostridium perfringens*, - = no bacterial growth)



^a Significantly different from the mean of LRS + ATM group for the same observation time

^b Significantly different from the mean of LRS group for the same observation time

Figure 2 - Means (\pm SEM) of joint swelling, lameness and global pain scores according to group treatment during the experiment. The X-axis represents the day of the study. A star (*) indicates a result that is statistically different from day 1.



^a Significantly different from the mean of LRS + ATM group for the same observation time

^b Significantly different from the mean of LRS group for the same observation time

Figure 3 - Means (\pm SEM) of total protein concentration (g/L) in synovial fluid according to group treatment during the experiment. The X-axis represents the day of the study. A star (*) indicates a result that is statistically different from day 1.

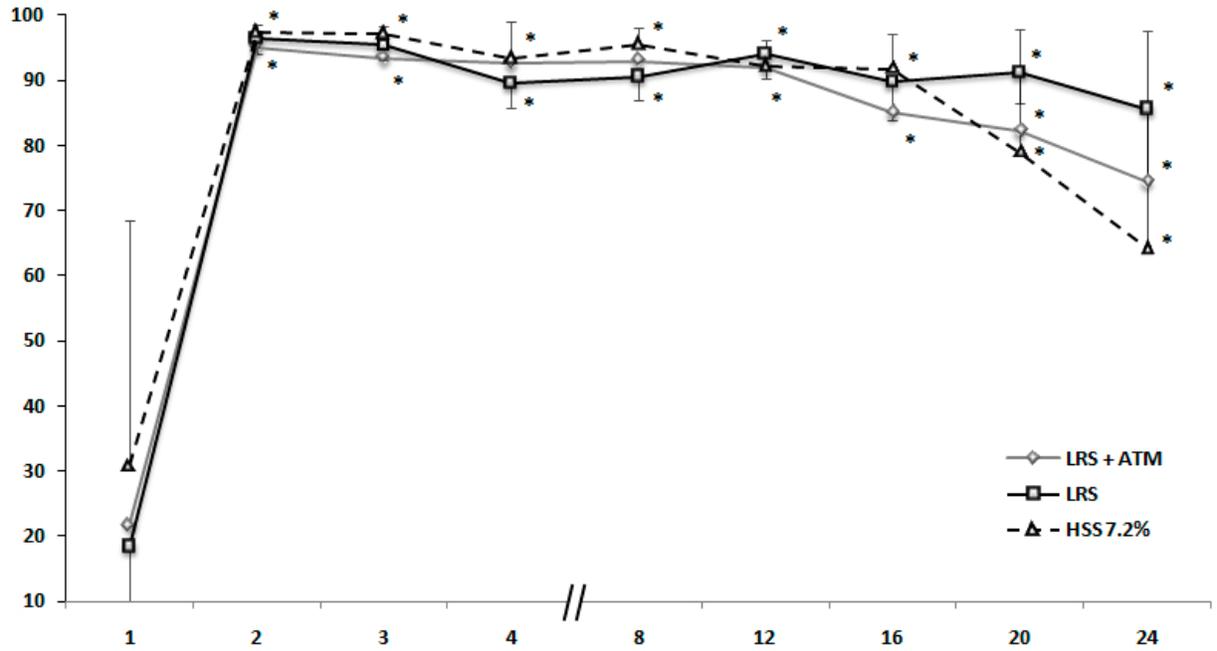


Figure 4 - Means (\pm SEM) of neutrophils percentage in synovial fluid according to group treatment during the experiment. The X-axis represents the day of the study. A star (*) indicates a result that is statistically different from day 1.

Day	LEUCOCYTES			NEUTROPHILS			MONOCYTES		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	4,90 (10,73)	0,13 (0,08)	1,28 (2,34)	4,34 (9,70)	0,02 (0,04)	0,84 (1,70)	0,50 (0,93)	0,11 (0,09)	0,41 (0,63)
2	64,02 (59,67)	51,40 (23,78)	43,47 (39,45)	61,24 (57,06)	49,52 (22,73)	42,41 (38,64)	2,73 (2,97)	1,83 (1,60)	0,90 (0,87)
3	45,90 (49,35)	38,03 (15,42)	30,58 (40,74)	42,97 (45,88)	36,32 (14,86)	29,66 (39,51)	2,91 (3,53)	1,54 (0,76)	0,90 (1,24)
4	46,51 (14,54)	42,61 (8,26)	51,16 (42,37)	42,85 (12,5)	38,09 (7,31)	46,71 (37,74)	3,43 (1,83)	4,37 (1,90)	4,02 (5,69)
8	45,13 (27,94)	51,09 (25,26)	66,74 (44,02)	42,60 (26,81)	45,76 (21,10)	64,27 (43,29)	2,31 ^b (1,53)	5,21^{ac} (4,43)	2,28 ^b (1,25)
12	41,22 (25,62)	41,24 (21,00)	49,53 (52,28)	38,07 (23,96)	38,85 (20,28)	47,16 (52,01)	2,98 (2,87)	2,26 (1,79)	2,23 (0,75)
16	29,26 (23,17)	31,94 (18,61)	24,64 (14,38)	26,70 (21,59)	29,33 (17,78)	23,11 (14,38)	2,46 (1,78)	2,45 (1,16)	1,29 (0,27)
20	12,70 (13,20)	11,02 (10,78)	15,23 (14,60)	11,62 (12,45)	9,96 (9,39)	13,48 (14,15)	0,90 (0,84)	0,978 (1,30)	1,52 (0,90)
24	14,72 (28,01)	10,53 (8,44)	12,16 (15,33)	13,70 (27,13)	9,71 (8,11)	10,77 (15,00)	0,93 (0,96)	0,71 (0,42)	1,18 (0,44)

^a Significantly different from the mean of LRS + ATM group for the same observation time

^b Significantly different from the mean of LRS group for the same observation time

^c Significantly different from the mean of HSS 7.2% group for the same observation time

Table III - Means (+/- SEM) of leucocytes and differential count ($\times 10^9/L$) in synovial fluid according to group treatment during the experiment. Bolded numbers indicate a result that is statistically different from day 1.

Discussion générale

Contexte de la recherche et de l'agriculture biologique

L'arthrite septique chez les grands animaux est un champ actif d'investigation scientifique. Ces 5 dernières années, les recherches se sont concentrées sur l'évaluation de nouvelles modalités d'administration d'antibiotiques complétant l'administration systémique.
51,63,90,149

Parmi les autres axes de recherche, on note l'intérêt pour de nouvelles techniques d'imagerie médicale telle que la résonance magnétique dans le diagnostic de l'arthrite septique⁴⁵. La recherche s'intéresse également aux mycoplasmes chez les bovins comme agent infectieux responsable d'arthrite septique¹²¹⁻¹²⁵ et dont on pense que l'importance est actuellement sous-évaluée.

Parallèlement, l'agriculture biologique est une industrie en pleine croissance économique. Dans les années 2 000, on estimait par exemple que le marché de production de lait biologique aux États-Unis prenait une expansion de l'ordre de 15 % par an¹³⁴. Le succès de cette filière repose en partie sur un cahier des charges stricts qui implique également de limiter l'usage des antibiotiques. En pratique, on observe effectivement que les systèmes de production biologique sont moins consommateurs d'antibiotiques que les systèmes dits traditionnels^{132,133}. Cette logique peut s'avérer problématique en cas de maladie infectieuse comme l'arthrite septique. En effet, un animal issu de la filière biologique ayant reçu des antibiotiques ne peut plus être vendu dans cette filière. C'est dans ce contexte que notre travail de maîtrise a eu lieu. A partir d'un modèle expérimental d'infection articulaire, nous avons évalué les effets du lavage articulaire avec des salines hypertoniques pour pouvoir éventuellement limiter l'administration d'antibiotique dans ces infections.

A propos de l'innocuité des salines hypertoniques

La première étude démontre que l'utilisation de solution de saline hypertonique pour le lavage articulaire provoque une synovite d'intensité proportionnelle à la concentration de ces solutions. L'arthrocentèse ainsi que le processus de lavage articulaire sont deux paramètres qui induisent un certain degré de synovite. Dans notre étude, il est peu probable que l'addition de ces deux effets soit à l'origine de la synovite observée. L'augmentation de l'osmolarité dans l'articulation après le lavage avec les SSH est une des hypothèses que nous avons avancées pour expliquer la synovite. A ce sujet, il aurait été intéressant de suivre l'osmolarité dans l'articulation une fois le lavage effectué avec les SSH. Concernant les répercussions sur le cartilage articulaire, notre étude n'a pas permis de montrer de différences entre la saline isotonique et les salines hypertoniques. Il faut cependant être prudent car la durée d'étude de 8 jours est un peu courte pour le développement des lésions cartilagineuses. Il faut également noter qu'aucune mesure du métabolisme des chondrocytes (mesure du taux de synthèse en protéoglycane) n'a été établie dans cette étude et que nous n'avons pas utilisé de microscopie électronique à balayage.

A propos du modèle d'infection expérimental

Nous avons choisi d'infecter l'articulation tarsocrurale avec *E coli*. Ce choix est critiquable en plusieurs points. D'abord les arthrites septiques à *E coli* ne sont pas les plus fréquentes chez le veau. Comme nous l'avons abordé dans la revue de littérature, *A pyogenes* et *M bovis* sont isolés plus fréquemment qu'*E coli*. Cependant, *A pyogenes* n'est probablement pas le pathogène primaire lors d'infection articulaire. D'autre part, il est plus aisé de manipuler des souches d'*E coli* que des souches de *M bovis*. Ces deux remarques font qu'un modèle expérimental à *E coli* est un bon compromis qui peut être utile à la recherche. Un autre point de discussion concerne l'induction de l'arthrite septique par notre modèle

expérimental. On peut en effet se demander si les changements cliniques et paracliniques observés dans notre seconde étude sont le fait d'une infection ou si elle relève plus d'une inflammation. L'absence de bactérie dans les cultures synoviales dès le 8^{ème} jour d'expérimentation ainsi que l'absence d'amélioration notable dans le groupe de traitement recevant des antibiotiques systémiques par rapport au groupe ne recevant aucun antibiotique paraît conforter l'idée que notre modèle expérimentale est plus un modèle d'arthrite inflammatoire qu'un modèle d'arthrite infectieuse. Cependant, les données cliniques (enflure articulaire, boiterie, douleur) et les données paracliniques (comptages cellulaires et protéiques élevés compatible avec une arthrite suppurative, cultures bactériennes positives de J1 à J4 inclusivement) sont en faveur d'un phénomène infectieux. Il est probable qu'une phase secondaire d'arthrite inflammatoire post-infectieuse ait suivi une première phase d'arthrite infectieuse ainsi que le suggère une étude portant sur un modèle expérimental d'arthrite à *E coli* chez 28 lapins¹⁴⁰. Dans cette étude, l'infection articulaire des genoux des lapins s'est résolue mais elle a été suivie d'une arthrite inflammatoire post-infectieuse qui a détruit jusqu'à 80% de la surface du cartilage articulaire. Dans notre modèle, on ignore si la phase secondaire d'arthrite inflammatoire a entraîné des dommages au cartilage articulaire. Il est possible qu'il y ait eu une différence entre les groupes de traitement concernant les dommages cartilagineux.

A propos du diagnostic d'arthrite septique

La cytologie du liquide synoviale s'est révélée être un outil performant de suivi de l'inflammation synoviale bien que moins sensible que l'histologie. La cytologie a cependant des limites. Premièrement, les ponctions et les lavages articulaires engendrent de l'inflammation qui se traduit par une élévation des comptages cellulaires et du taux de protéine du liquide synovial. Dans une étude réalisée chez des veaux¹³⁸, les auteurs ont montré que même si une ponction articulaire induit une réponse inflammatoire modérée, les articulations semblaient s'adapter rapidement. Basé sur les résultats de cette étude, un

intervalle de 4 jours entre les ponctions articulaires est recommandé. Deuxièmement, la marge d'erreur concernant les méthodes manuelles de dénombrement des leucocytes est importante : il peut en effet atteindre 21% pour 7 000 leucocytes par microlitre¹⁵⁰. Un dénombrement automatique peut être réalisé pour augmenter la précision de cette mesure¹³¹. Troisièmement, la sensibilité et la spécificité des comptages leucocytaires synoviaux est imparfaite¹⁵¹. En fonction du seuil que l'on fixe, on va augmenter l'une au détriment de l'autre. A notre connaissance, il n'existe qu'une seule étude rapportée chez les bovins qui ait déterminé la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative des leucocytes synoviaux⁴¹. Or on sait par plusieurs études rétrospectives en médecine humaine qu'il existe une hétérogénéité significative pour ces paramètres¹³¹. En conclusion, les comptages leucocytaires dans les liquides articulaires ne doivent pas être utilisés seuls pour diagnostiquer ou écarter une arthrite septique. L'interprétation des résultats obtenus doit se faire en association avec l'historique du patient et les signes cliniques.

Quelques études en médecine humaine et chez les grands animaux ont évalué des biomarqueurs synoviaux pour aider au diagnostic d'arthrite septique. En médecine humaine, la mesure des lactates dans le liquide synovial est associée significativement au diagnostic d'arthrite septique en utilisant un seuil supérieur à 10 mmol/L¹⁵²⁻¹⁵⁴. Chez les chevaux, la mesure du ratio entre les métalloprotéinases 9 et 2 paraît être un marqueur précis de l'arthrite septique et utile pour le suivi du traitement¹⁵⁵. Il serait intéressant de documenter ces nouveaux biomarqueurs dans un contexte d'arthrite septique acquis naturellement chez les bovins.

A propos des traitements lors d'arthrite septique

La deuxième étude ne permet pas d'envisager le lavage avec de la SSH 7.2% dans les articulations infectées car même si ce traitement s'est révélé efficace, il a induit plus de boiterie et de douleur que le lavage avec le LRS. De plus, le lavage avec de la SSH 7.2% n'a pas amélioré l'élimination de l'infection comme attendu. Il est donc probable que l'effet bactériostatique/bactéricide recherché n'ait pas eu lieu. Le suivi de l'osmolarité intra-articulaire aurait peut-être permis de comprendre les raisons de cet échec apparent.

Étonnamment, l'association entre le lavage au LRS et le ketoprofen s'est révélée être aussi efficace que le traitement standard qui lui inclus un traitement antibiotique de 21 jours. D'autre part, l'élimination de l'infection a été réalisée dans tous les groupes de traitement de notre étude dès le 8^{ième} jour post-inoculation voire le 12^{ième} jour pour le groupe qui recevait du ceftiofur. Ce sont des résultats extrêmement intéressants parce qu'ils questionnent l'utilisation des antibiotiques lors d'arthrite septique à l'heure où beaucoup de recherches sont effectuées chez les grands animaux sur le sujet (cf. plus haut). Les études relatives au choix et à la durée d'administration des antibiotiques lors d'arthrites septiques sont parcellaires⁴². En effet, il n'existe pas d'étude clinique randomisée sur le sujet à notre connaissance. Une méta-analyse concernant les antibiotiques en cas d'arthrite septique est cependant disponible⁵⁴. Cette étude n'a pas réussi à montrer l'efficacité thérapeutique d'un régime antibiotique en particulier. Ainsi, en l'absence d'études cliniques, le consensus établi pour le traitement de l'arthrite septique suggère une élimination rapide de l'infection et une antibiothérapie appropriée¹⁴⁴. Chez les grands animaux, on considère généralement que l'administration d'antibiotiques doit se poursuivre pour au moins 3 semaines après l'amélioration des signes cliniques³. Basé sur les résultats de notre étude et sur le manque de données pertinentes sur le sujet, des études cliniques visant à déterminer le choix et la durée des antibiotiques lors d'arthrites septiques semblent nécessaires.

Notre étude souffre de plusieurs limites : faible nombre d'animaux, maladies concomitantes pouvant avoir modifiées la réaction immunitaire face à l'infection articulaire, absence de

veaux contrôle ne recevant aucun traitement, infection expérimentale dont l'évolution est différente par rapport à une infection naturelle (différences de pathogènes, délai entre les signes cliniques et le diagnostic). Pour toutes ces raisons, il serait hasardeux d'extrapoler les conclusions de cette étude à la population générale des veaux de moins de 1 mois.

Si elle questionne l'utilisation des antibiotiques lors d'arthrite septique, notre étude souligne également l'importance du lavage articulaire et de l'administration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens dans le traitement de l'arthrite septique chez les grands animaux. Il existe plusieurs études portant sur les effets des AINS dans les arthrites chez les grands animaux^{83,156}. L'utilisation des AINS permet de diminuer la gravité des signes cliniques lors d'inflammation articulaire chronique et d'améliorer le confort des animaux. Leur utilisation est associée à une diminution de l'inflammation intrasynoviale comme démontré par le suivi des concentrations en PGE₂ dans une étude chez les chevaux⁸³. A notre connaissance, il n'existe aucune étude qui montre les effets combinés des AINS avec un lavage articulaire lors d'arthrite septique. Une étude s'est cependant intéressée au succès thérapeutique du lavage articulaire envisagé sans autre forme de traitement⁴. Réalisée avec des veaux atteints d'arthrite septique n'ayant pas répondu au traitement antibiotique, le lavage articulaire a permis dans cette étude de les traiter avec succès dans 80% des cas. Cette étude souffre cependant de certaines limites car elle s'appuie essentiellement sur les signes cliniques pour établir le diagnostic de certitude. D'autre part, les cultures bactériennes de liquide synovial n'ont pas été réalisées de manière systématique. Enfin, il ne s'agit pas d'un modèle aigue d'infection articulaire.

Ainsi il apparaît que de nouvelles études sont nécessaires pour confirmer nos résultats et élargir nos connaissances. Il serait intéressant de connaître et ce dans différents modèles expérimentaux d'arthrite septique ou lors d'infection naturelle : 1/ les effets du lavage articulaire envisagé comme seule forme de traitement, 2/ les effets du lavage articulaire envisagé avec l'administration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens et 3/ les effets d'une administration par voie systémique de corticostéroïdes lors d'arthrite septique.

Conclusion

A travers deux études, nous avons essayé d'apporter des éléments de réponses sur le traitement de l'arthrite septique en limitant le recours aux antibiotiques.

De la première étude consacrée à l'innocuité de solution de saline hypertonique (SSH) à 7.2% et à 15% pour le lavage articulaire chez des veaux sains, il ressort que l'utilisation d'une solution hypertonique à 15% n'est pas recommandée à cause de la synovite sévère observée dans les articulations lavées. Le lavage articulaire chez des veaux sains à l'aide d'une solution commerciale hypertonique à 7.2% engendre quant à elle une inflammation synoviale modérée. Son utilisation est jugée acceptable étant donné l'absence de répercussion locomotrice et l'absence de lésions cartilagineuses à court terme.

A partir d'un modèle expérimental d'infection articulaire à *Escherichia coli*, nous avons pu évaluer l'utilisation pour le lavage articulaire de saline hypertonique à 7.2% par rapport au LRS chez le jeune veau. De cette deuxième étude, il ressort que le lavage avec une saline hypertonique à 7.2% n'améliore pas significativement l'élimination de l'infection et qu'en outre il est associé à une augmentation de la boiterie, du score de douleur et de l'inflammation synoviale comparativement au LRS. Le LRS reste donc la solution de choix pour le lavage articulaire et offre une meilleure sécurité d'emploi et des meilleures chances de guérison lors d'arthrite septique par rapport à l'hypertonique. De manière inattendue notre deuxième étude montre également que l'utilisation de ceftiofur par voie intraveineuse pour une période de 21 jours conjointement au lavage avec du LRS ne procure aucun avantage clinique ou bactériologique dans le traitement de l'arthrite septique par rapport au lavage articulaire au LRS seul. L'association entre le ketoprofen et le lavage articulaire avec du LRS s'est effectivement révélée être tout aussi efficace que la même association comprenant en plus le ceftiofur. Cette trouvaille permet de souligner l'importance du lavage articulaire et de l'administration d'AINS dans le traitement de l'arthrite septique chez les grands animaux. Elle permet également d'ouvrir la voie à de nouvelles études pour confirmer ces données et déterminer les rôles respectifs du lavage et de l'administration d'AINS dans le traitement des arthrites septiques.

Bibliographie

1. Svensson C, Lundborg K, Emanuelson U, Olsson S-O. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Preventive Veterinary Medicine*. 2003;58(3-4):179-197.
2. Russell AM, Rowlands GJ, Shaw SR, Weaver AD. Survey of lameness in British dairy cattle. *Veterinary Record*. 1982;111(8):155-160.
3. Weaver A.D. Joint conditions. In: *Lameness in cattle*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1997:162-170.
4. Jackson P.G.G., Strachan W.D., Tucker A.W., et al. Treatment of septic arthritis in calves by joint lavage - A study of 20 cases. *Cattle Practice*. 1998;47(6):335-339.
5. Francoz D. Septic arthritis in cattle. In: *Current Veterinary Therapy*. 5th éd. Saunders; 2009:259-261.
6. Bailey JV. Bovine arthritides. Classification, diagnosis, prognosis, and treatment. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 1985;1(1):39-51.
7. Morton AJ. Diagnosis and treatment of septic arthritis. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2005;21(3):627-649.
8. Lugo J, Gaughan EM. Septic arthritis, tenosynovitis, and infections of hoof structures. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2006;22(2):363-88.
9. Bertone AL, McIlwraith C. Wayne, Powers Barbara E, Radin Judith M. Effect of Four Antimicrobial Lavage Solutions on the Tarsocrural Joint of Horses. *Veterinary Surgery*. 1986;15(4):305-315.
10. CAN/CGSB 32.310-2006, Systèmes de production biologique, Office des normes générales du Canada. at : <http://www.tpsgc-pwgsc.gc.ca/ongc-cgsb/programme-program/norms-standards/internet/bio-org/index-fra.html>.
11. Bertone AL, McIlwraith CW, Jones RL, Norrdin RW, Radin MJ. Povidone-iodine lavage treatment of experimentally induced equine infectious arthritis. *American Journal of Veterinary Research*. 1987;48(4):712-715.

12. Wilson DG, Cooley AJ, MacWilliams PS, Markel MD. Effects of 0.05% chlorhexidine lavage on the tarsocrural joints of horses. *Veterinary Surgery*. 23(6):442-447.
13. Anderson MA, Payne JT, Kreeger JM, et al. Effects of intra-articular chlorhexidine diacetate lavage on the stifle in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 1993;54(10):1784-1789.
14. St Jean G, Chengappa MM, Staats J. Survival of selected bacteria and fungi in hypertonic (7.2%) saline. *Aust. Vet. J.* 1997;75(2):137-138.
15. Record MT Jr, Courtenay ES, Cayley DS, Guttman HJ. Responses of *E. coli* to osmotic stress: large changes in amounts of cytoplasmic solutes and water. *Trends Biochem. Sci.* 1998;23(4):143-148.
16. Delamare J, Delamare F, Gélis-Malville E, Delamare L. *Dictionnaire illustré des termes de médecine Garnier-Delamare*. 30e éd. Maloine; 2009.
17. Barone R. *Anatomie comparée mammifères domestiques t.2 arthrologie et myologie 4e ed.* Vigot; 2000.
18. König HE, Liebich H-G. *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals*. 3rd Edition. Manson Publishing Ltd; 2006.
19. Desrochers A. *Characterization of anatomic communications of the carpus, fetlock, stifle, and tarsus in cattle using intra-articular latex and positive contrast arthrography*. Kansas State University; 1995.
20. Evans HE. *Miller's Anatomy of the Dog*. 3^e éd. A Saunders Title; 1993.
21. Smolen JS, Steiner G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Drug Discov*. 2003;2(6):473-488.
22. Frisbie DD. Synovial Joint Biology and Pathobiology. In: *Equine Surgery (Third Edition)*. WB Saunders; 2005:1036-54.
23. Fossum TW. *Small Animal Surgery Textbook*. 3^e éd. A Mosby Title; 2007.
24. Vachon AM, Keeley FW, McIlwraith CW, Chapman P. Biochemical analysis of normal articular cartilage in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 1990;51(12):1905-1911.

25. Lyons T, McClure S, Stoddart R, McClure J. The normal human chondro-osseous junctional region: evidence for contact of uncalcified cartilage with subchondral bone and marrow spaces. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2006;7(1):52.
26. Weaver AD. *Bovine Surgery and Lameness*. 2nd ed. Oxford, UK: Blackwell Pub; 2005.
27. Van Amstel SR. *Manual for Treatment and Control of Lameness in Cattle*. 1st ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub; 2006.
28. Mathews CJ, Coakley G. Septic arthritis: current diagnostic and therapeutic algorithm. *Curr Opin Rheumatol*. 2008;20(4):457-462.
29. Francoz D, Desrochers A, Fecteau G, et al. A retrospective study of joint bacterial culture in 172 cases of septic arthritis in cattle (abstr). In: ACVIM Proceedings; 2002:774.
30. Anderson D.E, Rings M. *Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice*. 5^e éd. Saunders; 2008.
31. Bertone A. Infectious arthritis. In: *Joint Disease in the Horse*. Philadelphia: Saunders; 1996:397-409.
32. Joyce J. Injury to Synovial Structures. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 2007;23(1):103-116.
33. Arican M, Coughlan AR, Clegg PD, Carter SD. Matrix metalloproteinases 2 and 9 activity in bovine synovial fluids. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2000;47(8):449-456.
34. Smith RL, Kajiyama G, Schurman DJ. Staphylococcal septic arthritis: antibiotic and nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment in a rabbit model. *J Orthop Res*. 1997;15(6):919-926.
35. Smolen JS, Aletaha D, Steiner G. Does damage cause inflammation? Revisiting the link between joint damage and inflammation. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2009;68(2):159 -162.
36. Marsh RH, Brown DFM, Nadel ES. Septic arthritis. *Journal of Emergency Medicine*. 2006;31(4):417-420.
37. MacWilliams PS, Friedrichs KR. Laboratory evaluation and interpretation of synovial fluid. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2003;33(1):153-178.

38. Van Pelt R.W, Conner G.H. Synovial fluid from the normal bovine tarsus. I. Cellular constituents, volume, and gross appearance. *American Journal of Veterinary Research*. 1963;24:112-121.
39. Amrousi SE, Soliman MK, Youssef LB. Studies on the physiological chemistry of the tibio-tarsal synovial fluid of healthy bovines. *Can J Comp Med Vet Sci*. 1966;30(9):251-255.
40. Frisbie DD, Ray CS, Ionescu M, et al. Measurement of synovial fluid and serum concentrations of the 846 epitope of chondroitin sulfate and of carboxy propeptides of type II procollagen for diagnosis of osteochondral fragmentation in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 1999;60(3):306-309.
41. Rohde C, Anderson DE, Desrochers A, et al. Synovial fluid analysis in cattle: a review of 130 cases. *Veterinary Surgery*. 29(4):341-346.
42. Mathews CJ, Weston VC, Jones A, Field M, Coakley G. Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet*. 2010;375(9717):846-855.
43. Mathews CJ, Kingsley G, Field M, et al. Management of septic arthritis: a systematic review. *Ann. Rheum. Dis*. 2007;66(4):440-445.
44. Graif M, Schweitzer ME, Deely D, Matteucci T. The septic versus nonseptic inflamed joint: MRI characteristics. *Skeletal Radiol*. 1999;28(11):616-620.
45. Easley JT, Brokken MT, Zubrod CJ, et al. Magnetic resonance imaging findings in horses with septic arthritis. *Vet Radiol Ultrasound*. 2011;52(4):402-408.
46. Billingham RC. Biomarkers of joint disease. In: *Current Therapy in Equine Medicine*. 5^e éd. Saunders; 2002:513-520.
47. Van Weeren PR, Firth EC. Future tools for early diagnosis and monitoring of musculoskeletal injury: biomarkers and CT. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract*. 2008;24(1):153-175.
48. McIlwraith CW. Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. *Equine Veterinary Journal*. 2005;37(5):473-482.
49. McIlwraith CW. Equine musculoskeletal biomarkers. In: *Havemeyer Foundation Monograph Series No.22*. 2005.

50. Francoz D, Desrochers A, Simard N, et al. Relative expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in synovial fluid from healthy calves and calves with experimentally induced septic arthritis. *American Journal of Veterinary Research*. 2008;69(8):1022-1028.
51. Lescun TB, Adams SB, Wu CC, Bill RP, Van Sickle DC. Effects of continuous intra-articular infusion of gentamicin on synovial membrane and articular cartilage in the tarsocrural joint of horses. *American Journal of Veterinary Research*. 2002;63(5):683-687.
52. Constable, P. D., Pyörälä, S. and Smith, G. W. Guidelines for Antimicrobial Use in Cattle, in : *Guide to Antimicrobial Use in Animals*. Blackwell Publishing, Ltd, Oxford, UK. 2009:143-160.
53. Trent AM, Plumb D. Treatment of infectious arthritis and osteomyelitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract*. 1991;7(3):747-778.
54. Stengel D, Bauwens K, Sehouli J, Ekkernkamp A, Porzsolt F. Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections. *The Lancet Infectious Diseases*. 2001;1(3):175-188.
55. Bertone AL, McIlwraith CW, Jones RL, et al. Comparison of various treatments for experimentally induced equine infectious arthritis. *American Journal of Veterinary Research*. 1987;48(3):519-529.
56. Francoz D, Desrochers A, Fecteau G, et al. Synovial fluid changes in induced infectious arthritis in calves. *J Vet Intern Med*. 2005;19(3):336-343.
57. Adegboye, D.S., Halbur, P.G., Nutsch, R.G., Kadlec, R.G., Rosenbusch, R.F. Mycoplasma bovis-associated pneumonia and arthritis complicated with pyogranulomatous tenosynovitis in calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1996;209(3):647.
58. Maunsell FP, Woolums AR, Francoz D, et al. Mycoplasma bovis infections in cattle. *J Vet Intern Med*. 2011;25: 772–783.
59. Rosenbusch R.F, Kinyon J.M, Apley M., Funk N.D et al. In vitro antimicrobial inhibition profiles of Mycoplasma bovis isolates recovered from various regions of the United States from 2002 to 2003. *Journal of veterinary diagnostic investigation* □ 2005;17(5):436.

60. Meyer S, Giguère S, Rodriguez R, et al. Pharmacokinetics of intravenous ceftiofur sodium and concentration in body fluids of foals. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2009;32(4):309-316.
61. Brown MP, Mayo MB, Gronwall RR. Serum and synovial fluid concentrations of ampicillin trihydrate in calves with suppurative arthritis. *Cornell Vet.* 1991;81(2):137-143.
62. Schneider RK. Synovial and osseous infections. In: Auer JA, Stick JA, éd. *Equine surgery*. 3d éd. Saunders; 2006:1122.
63. Haerdi-Landerer MC, Habermacher J, Wenger B, Suter MM, Steiner A. Slow release antibiotics for treatment of septic arthritis in large animals. *The Veterinary Journal.* 2010;184(1):14-20.
64. Mills ML, Rush BR, St Jean G, et al. Determination of synovial fluid and serum concentrations, and morphologic effects of intraarticular ceftiofur sodium in horses. *Veterinary Surgery.* 2000;29(5):398-406.
65. Hirsbrunner G, Steiner A. Treatment of infectious arthritis of the radiocarpal joint of cattle with gentamicin-impregnated collagen sponges. *Veterinary Record.* 1998;142(15):399-402.
66. Shinjo H, Nakata K, Shino K, et al. Effect of irrigation solutions for arthroscopic surgery on intraarticular tissue: comparison in human meniscus-derived primary cell culture between lactate Ringer's solution and saline solution. *J. Orthop. Res.* 2002;20(6):1305-1310.
67. Bulstra SK, Kuijer R, Eerdmans P, van der Linden AJ. The effect in vitro of irrigating solutions on intact rat articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br.* 1994;76(3):468-470.
68. Johnson RG, Herbert MA, Wright S, et al. The response of articular cartilage to the in vivo replacement of synovial fluid with saline. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1983;(174):285-292.
69. Reagan BF, McNerny VK, Treadwell BV, Zarins B, Mankin HJ. Irrigating solutions for arthroscopy. A metabolic study. *J Bone Joint Surg Am.* 1983;65(5):629-631.
70. Anon. Evaluation of lavage solutions for arthroscopic surgery. *Veterinary Surgery.* 1986;15(1):111-138.

71. Arciero RA, Little JS, Liebenberg SP, Parr TJ. Irrigating solutions used in arthroscopy and their effect on articular cartilage. An in vivo study. *Orthopedics*. 1986;9(11):1511-1515.
72. Cheng S-C, Jou I-M, Chern T-C, Wang P-H, Chen W-C. The effect of normal saline irrigation at different temperatures on the surface of articular cartilage: an experimental study in the rat. *Arthroscopy*. 2004;20(1):55-61.
73. Bédard S, Desrochers A, Fecteau G, Higgins R. Comparison of four protocols for preoperative preparation in cattle. *Can. Vet. J.* 2001;42(3):199-203.
74. Sanchez IR, Swaim SF, Nusbaum KE, et al. Effects of chlorhexidine diacetate and povidone-iodine on wound healing in dogs. *Veterinary Surgery*. 2008;17(6):291-295.
75. Sanchez IR, Nusbaum KE, Swaim SF, et al. Chlorhexidine diacetate and povidone-iodine cytotoxicity to canine embryonic fibroblasts and staphylococcus aureus. *Veterinary Surgery*. 2008;17(4):182-185.
76. Lloyd KC, Stover SM, Pascoe JR, Adams P. Synovial fluid pH, cytologic characteristics, and gentamicin concentration after intra-articular administration of the drug in an experimental model of infectious arthritis in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 1990;51(9):1363-1369.
77. Adair HS, Goble DO, Vanhooser S, Blackford JT, Rohrbach BW. Evaluation of use of dimethyl sulfoxide for intra-articular lavage in clinically normal horses. *American Journal of Veterinary Research*. 1991;52(2):333-336.
78. Stutz G, Kuster MS, Kleinstück F, Gächter A. Arthroscopic management of septic arthritis: stages of infection and results. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2000;8(5):270-274.
79. Wright IM, Smith MRW, Humphrey DJ, Eaton-Evans TCJ, Hillyer MH. Endoscopic surgery in the treatment of contaminated and infected synovial cavities. *Equine Vet. J.* 2003;35(6):613-619.
80. Gaughan EM. Arthroscopy in food animal practice. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 1996;12(1):233-247.
81. Munroe GA, Cauvin ER. The use of arthroscopy in the treatment of septic arthritis in two Highland calves. *Br. Vet. J.* 1994;150(5):439-449.

82. Moses VS, Bertone AL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2002;18(1):21-37.
83. Owens JG, Kamerling SG, Stanton SR, Keowen ML, Prescott-Mathews JS. Effects of pretreatment with ketoprofen and phenylbutazone on experimentally induced synovitis in horses. *American Journal of Veterinary Research.* 1996;57(6):866-874.
84. Frisbie DD, Kawcak CE, McIlwraith CW, Werpy NM. Evaluation of polysulfated glycosaminoglycan or sodium hyaluronan administered intra-articularly for treatment of horses with experimentally induced osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research.* 2009;70(2):203-209.
85. Kawcak CE, Frisbie DD, Trotter GW, et al. Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation. *American Journal of Veterinary Research.* 1997;58(10):1132-1140.
86. Brusie RW, Sullins KE, White NA, et al. Evaluation of sodium hyaluronate therapy in induced septic arthritis in the horse. *Equine Vet J Suppl.* 1992;(11):18-23.
87. Gustafson SB, McIlwraith CW, Jones RL. Comparison of the effect of polysulfated glycosaminoglycan, corticosteroids, and sodium hyaluronate in the potentiation of a subinfective dose of *Staphylococcus aureus* in the midcarpal joint of horses. *American Journal of Veterinary Research.* 1989;50(12):2014-2017.
88. Chunekamrai S, Krook LP, Lust G, Maylin GA. Changes in articular cartilage after intra-articular injections of methylprednisolone acetate in horses. *American Journal of Veterinary Research.* 1989;50(10):1733-1741.
89. Todhunter RJ, Fubini SL, Wootton JA, Lust G. Effect of methylprednisolone acetate on proteoglycan and collagen metabolism of articular cartilage explants. *J. Rheumatol.* 1996;23(7):1207-1213.
90. Caron JP. Intra-articular injections for joint disease in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2005;21(3):559-573.
91. Williams JM, Brandt KD. Triamcinolone hexacetonide protects against fibrillation and osteophyte formation following chemically induced articular cartilage damage. *Arthritis Rheum.* 1985;28(11):1267-1274.

92. Pelletier JP, Martel-Pelletier J. Protective effects of corticosteroids on cartilage lesions and osteophyte formation in the Pond-Nuki dog model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 1989;32(2):181-193.
93. Pelletier JP, DiBattista JA, Raynauld JP, Wilhelm S, Martel-Pelletier J. The in vivo effects of intraarticular corticosteroid injections on cartilage lesions, stromelysin, interleukin-1, and oncogene protein synthesis in experimental osteoarthritis. *Lab. Invest.* 1995;72(5):578-586.
94. Bellamy N, Campbell J, Robinson V, et al. Intraarticular corticosteroid for treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(2):CD005328.
95. Odio CM, Ramirez T, Arias G, et al. Double blind, randomized, placebo-controlled study of dexamethasone therapy for hematogenous septic arthritis in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2003;22(10):883-888.
96. Sakiniene E, Bremell T, Tarkowski A. Addition of corticosteroids to antibiotic treatment ameliorates the course of experimental *Staphylococcus aureus* arthritis. *Arthritis Rheum.* 1996;39(9):1596-1605.
97. Leardini G, Mattara L, Franceschini M, Perbellini A. Intra-articular treatment of knee osteoarthritis. A comparative study between hyaluronic acid and 6-methyl prednisolone acetate. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1991;9(4):375-381.
98. Van Huffel X, Steenhaut M, Imschoot J, et al. Carpal joint arthrodesis as a treatment for chronic septic carpalitis in calves and cattle. *Veterinary Surgery.* 1989;18(4):304-311.
99. Schneider RK, Bramlage LR, Moore RM, et al. A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. *Equine Vet. J.* 1992;24(6):436-442.
100. Lapointe JM, Laverty S, Lavoie JP. Septic arthritis in 15 standardbred racehorses after intra-articular injection. *Equine Vet. J.* 1992;24(6):430-434.
101. Steel CM, Hunt AR, Adams PL, et al. 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(7):973-977.
102. Cohen ND. Causes of and farm management factors associated with disease and death in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1994;204(10):1644-1651.

103. Firth EC. Current concepts of infectious polyarthritis in foals. *Equine Vet. J.* 1983;15(1):5-9.
104. Gibson KT, McIlwraith CW, Turner AS, et al. Open joint injuries in horses: 58 cases (1980-1986). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1989;194(3):398-404.
105. Martens RJ, Auer JA, Carter GK. Equine pediatrics: septic arthritis and osteomyelitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986;188(6):582-585.
106. Constable PD. Hypertonic saline. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 1999;15(3):559-585.
107. Guyton AC, Hall JE. Osmotic pressure. In : *Textbook of Medical Physiology*. 12^e éd. A Saunders; 2011:51-52.
108. Burg MB, Ferraris JD, Dmitrieva NI. Cellular response to hyperosmotic stresses. *Physiol. Rev.* 2007;87(4):1441-1474.
109. Trchounian A, Kobayashi H. Fermenting *Escherichia coli* is able to grow in media of high osmolarity, but is sensitive to the presence of sodium ion. *Curr. Microbiol.* 1999;39(2):109-114.
110. Wright AE. Memorandum on the treatment of infected wounds by physiological methods. *Br Med J.* 1916;1(2892):793-797.
111. Cellan-Jones C. Compound Hypertonic Salt in the Treatment of Septic Wounds. *Br Med J.* 1940 Aug 3;2(4152):152.
112. Mangete ED, West D, Blankson CD. Hypertonic saline solution for wound dressing. *Lancet.* 1992;340(8831):1351.
113. Strauss FG, Holmes DL, Nortman DF, Friedman S. Hypertonic saline compresses: therapy for complicated exit-site infections. *Adv Perit Dial.* 1993;9:248-50.
114. Auer JA, Stick JA éd. Management of superficial wounds. In: *Equine surgery*. 3d éd. Saunders; 2006:295.
115. Battistella FD, Wisner DH. Combined hemorrhagic shock and head injury: effects of hypertonic saline (7.5%) resuscitation. *J Trauma.* 1991;31(2):182-188.
116. Rocha e Silva M, Velasco IT, Nogueira da Silva RI, et al. Hyperosmotic sodium salts reverse severe hemorrhagic shock: other solutes do not. *Am. J. Physiol.* 1987;253(4 Pt 2):H751-762.

117. Rocha e Silva M. Hypertonic saline resuscitation. *Medicina (B Aires)*. 1998;58(4):393-402.
118. Pantaleon L. Fluid therapy in equine patients: small-volume fluid resuscitation. *Compend Contin Educ Vet*. 2010;32(10):E1-7.
119. Walker PG, Constable PD, Morin DE, et al. Comparison of hypertonic saline-dextran solution and lactated Ringer's solution for resuscitating severely dehydrated calves with diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1998;213(1):113-121.
120. Krausz MM. Controversies in shock research: hypertonic resuscitation. Pros and cons. *Shock*. 1995;3(1):69-72.
121. Libert N, de Rudnicki S, Cirodde A, Thépenier C, Mion G. Il y a-t-il une place pour le sérum salé hypertonique dans les états septiques graves? *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 2010;29(1):25-35.
122. Bulger EM, May S, Kerby JD, et al. Out-of-hospital hypertonic resuscitation after traumatic hypovolemic shock: a randomized, placebo controlled trial. *Ann. Surg.* 2011;253(3):431-441.
123. Nerlich M, Gunther R, Demling RH. Resuscitation from hemorrhagic shock with hypertonic saline or lactated Ringer's (effect on the pulmonary and systemic microcirculations). *Circ. Shock*. 1983;10(2):179-188.
124. Velasco IT, Pontieri V, Rocha e Silva M Jr, Lopes OU. Hyperosmotic NaCl and severe hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol.* 1980;239(5):H664-673.
125. Baue AE, Tragus ET, Parkins WM. A comparison of isotonic and hypertonic solutions and blood on blood flow and oxygen consumption in the initial treatment of hemorrhagic shock. *J Trauma*. 1967;7(5):743-756.
126. Battistella FD, Wisner DH. Combined hemorrhagic shock and head injury: effects of hypertonic saline (7.5%) resuscitation. *J Trauma*. 1991;31(2):182-188.
127. Harvey R, Hannan SA, Badia L, Scadding G. Nasal saline irrigations for the symptoms of chronic rhinosinusitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(3):CD006394.
128. Zhang L, Mendoza-Sassi RA, Wainwright C, Klassen TP. Nebulized hypertonic saline solution for acute bronchiolitis in infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;(4):CD006458.

129. King SS, Young DA, Nequin LG, Carnevale EM. Use of specific sugars to inhibit bacterial adherence to equine endometrium in vitro. *American Journal of Veterinary Research*. 2000;61(4):446-449.
130. Allano M, Doré M, Vaillancourt D. Dynamic of uterine fluid following an intra-uterine infusion of a 70% honey solution and its innocuousness on the endometrium in mare in dioestrus. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 2009;160(11):520-526.
131. Carpenter CR, Schuur JD, Everett WW, Pines JM. Evidence-based Diagnostics: Adult Septic Arthritis. *Acad Emerg Med*. 2011;18(8):781-796.
132. Rotz CA, Kamphuis GH, Karsten HD, Weaver RD. Organic Dairy Production Systems in Pennsylvania: A Case Study Evaluation. *Journal of Dairy Science*. 2007;90(8):3961-3979.
133. Zwald AG, Ruegg PL, Kaneene JB, et al. Management Practices and Reported Antimicrobial Usage on Conventional and Organic Dairy Farms. *Journal of Dairy Science*. 2004;87(1):191-201.
134. Anon. OTA (Organic Trade Association). 2006. Organic Trade Association's 2006 Manufacturer Survey. Organic Trade Association. <http://www.ota.com/pics/documents/short%20overview%20MMS.pdf>.
135. Achard D, Francoz D, Desrochers A, Girard C, Piché C. Synovitis induced by joint lavage with hypertonic saline solutions in healthy dairy calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2012;76(2):81-90.
136. Lowthian P, Oke S. Hypertonic saline solution as disinfectant. *Lancet*. 1993;341(8838):182.
137. Mangete ED, West KS, Blankson CD. Hypertonic saline solution: an effective wound dressing solution. *East Afr Med J*. 1993;70(2):104-106.
138. Francoz D, Desrochers A, Latouche J-S. Effect of repeated arthrocentesis and single joint lavage on cytologic evaluation of synovial fluid in 5 young calves. *Can J Vet Res*. 2007;71(2):129-34.
139. Stasiak KL, Maul D, French E, Hellyer PW, VandeWoude S. Species-specific assessment of pain in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci*. 2003;42(4):13-20.

140. Schurman DJ, Mirra J, Ding A, Nagel DA. Experimental E. coli arthritis in the rabbit. A model of infectious and post-infectious inflammatory synovitis. *J. Rheumatol.* 1977;4(2):118-128.
141. Kawarai T, Furukawa S, Narisawa N, et al. Biofilm formation by Escherichia coli in hypertonic sucrose media. *J. Biosci. Bioeng.* 2009;107(6):630-635.
142. Lucht JM, Bremer E. Adaptation of Escherichia coli to high osmolarity environments: osmoregulation of the high-affinity glycine betaine transport system proU. *FEMS Microbiol. Rev.* 1994;14(1):3-20.
143. Zahran HH. Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments. *Biology and Fertility of Soils.* 1997;25(3):211-223.
144. Coakley G, Mathews C, Field M, et al. BSR & BHPR, BOA, RCGP and BSAC guidelines for management of the hot swollen joint in adults. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(8):1039-1041.
145. Brown SA, Chester ST, Robb EJ. Effects of age on the pharmacokinetics of single dose ceftiofur sodium administered intramuscularly or intravenously to cattle. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1996;19(1):32-38.
146. Shirtliff ME, Mader JT. Acute Septic Arthritis. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(4):527-544.
147. Desrochers A, Anderson DE, St-Jean G. Surgical treatment of lameness. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2001;17(1):143-58.
148. Meijer MC, van Weeren PR, Rijkenhuizen AB. Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage: a series of 39 cases. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2000;47(6):351-65.
149. Haerdi-Landerer MC, Suter MM, Steiner A. Intra-articular administration of doxycycline in calves. *American Journal of Veterinary Research.* 2007;68(12):1324-1331.
150. Weiss DJ, Wardrop KJ. *Schalm's Veterinary Hematology.* 6^e éd. Wiley-Blackwell; 2010.
151. McGillicuddy DC, Shah KH, Friedberg RP, Nathanson LA, Edlow JA. How sensitive is the synovial fluid white blood cell count in diagnosing septic arthritis? *The American Journal of Emergency Medicine.* 2007;25(7):749-752.

152. Brook I, Reza MJ, Bricknell KS, Bluestone R, Finegold SM. Synovial fluid lactic acid. a diagnostic aid in septic arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 1978;21(7):774–779.
153. Mossman SS, Coleman JM, Gow PJ. Synovial fluid lactic acid in septic arthritis. *N. Z. Med. J.* 1981;93(678):115-117.
154. Riordan T, Doyle D, Tabaqchali S. Synovial fluid lactic acid measurement in the diagnosis and management of septic arthritis. *J. Clin. Pathol.* 1982;35(4):390-394.
155. 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. *Veterinary Record*. 2007;161(10):329-334.
156. Owens JG, Kamerling SG, Barker SA. Pharmacokinetics of ketoprofen in healthy horses and horses with acute synovitis. *J Vet Pharmacol Ther.* 1995;18(3):187-195.