

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

THESE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 7 Janvier 2011 à LIMOGES

par

Elodie CANIN

née le 9 novembre 1984 à LIMOGES

INFECTIONS OSSEUSES ET TRAITEMENTS

Fonctionnalisation de substituts osseux

par le chlorhydrate de tétracycline

DIRECTEUR DE THESE:

Madame CHULIA Dominique

Professeur

Président

JURY :

Madame BEAUBRUN-GIRY Karine

Maitre de conférences

Juge

Madame VIANA Marylène

Maitre de conférences

Juge

Madame POMARES-VOISIN Laure

Docteur en Pharmacie

Juge

*Choisissez un travail que vous aimez,
et vous n'aurez pas à travailler un seul jour de votre vie.*

[Confucius]

A mes parents.

REMERCIEMENTS

Sincères remerciements aux membres de mon jury :

En premier lieu ma directrice de thèse, Madame le professeur Dominique CHULIA, pour qui je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance pour avoir dirigé mes travaux, pour ses conseils avisés et sa disponibilité. J'ai toujours été accueillie chaleureusement dans votre laboratoire et j'ai toujours pu compter sur votre aide pour le travail que je réalisais. La grande qualité de vos enseignements de pharmacie galénique durant ces six années d'études, m'a conduit à me diriger dans le secteur du développement galénique. La passion que vous portez à votre discipline m'a été contagieuse. Soyez assurée, Madame, de toute mon estime et de mon respect profond.

A Madame Marylène VIANA, pour la qualité de votre encadrement lors de mes manipulations, votre disponibilité et votre aide. Je tiens à vous témoigner ma reconnaissance pour votre implication dans ce travail.

A Madame Karine BEAUBRUN-GIRY, pour votre soutien et votre aide lors de mes travaux. Je vous exprime ma gratitude pour la sympathie que vous m'avez témoignée au cours de ces mois.

A Madame Laure POMARES, pour m'avoir inspiré le choix de carrière vers le secteur de l'industrie pharmaceutique. Je suis très heureuse que tu fasses partie de ce jury de thèse.

Merci à toutes d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

A Hiva, je la remercie d'avoir procédé à la calcination des grains et de m'en avoir fourni d'autres.

Remerciements également pour leurs conseils et leur aide dans l'utilisation du matériel de laboratoire à Mademoiselle Nathalie PECOUT et Mademoiselle Aurélie GAMOND.

Un grand merci aussi au professeur Albert CHULIA, pour m'avoir mis à disposition son matériel dans le service de pharmacognosie et pour ses conseils lors de l'utilisation de l'évaporateur rotatif.

Merci à Atelier Graphique pour avoir reproduit cette thèse. Un papa imprimeur ça aide dans ces cas là...

REMERCIEMENTS

A Emilie, Philippe, Pauline, Delphine, Alexandra, Hortense et Amandine : pour tous les moments passés ensemble au travail et en dehors, recevez ici le témoignage de ma profonde sympathie. Ces six années d'études à vos côtés ont été un réel bonheur.

A mes amies de toujours : Alice, Laurette, Julie, Maëlle et Sina : pour tous ces grands moments passés ensemble et ceux à venir. Je vous adore, soyez assurées de la place que vous tenez dans mon cœur.

A ma famille et celle partie trop tôt, je dédis aussi ce travail. Merci pour votre amour.

A Cécile et Laurent pour leur intérêt envers mon travail, pour m'avoir toujours encouragée et préparée aux entretiens.

Pierre-Alexandre, je souhaite évidemment te remercier pour ton soutien sans faille (même durant les périodes de révision, pas facile avec ma mauvaise humeur...) et ton amour depuis plus de huit ans. Les six années d'études de pharmacie que tu as suivies à mes côtés se terminent enfin et l'avenir s'ouvre à nous.

Enfin, le plus important à mes yeux, je remercie profondément mes parents sans qui ce travail n'aurait pu être réalisé. Vous m'avez toujours soutenue et crue en moi, me permettant ainsi de faire les études que je voulais, je vous en suis très reconnaissante. Pour vous il est important que l'on fasse un travail qui nous plaît, j'ai suivi vos conseils pour en arriver là. Vous avez été présents pour écarter les doutes, soigner les blessures et partager les joies. Cette thèse est un peu la vôtre aussi. Merci papa, maman et Cécile ma sœur adorée toujours présente pour moi. Je vous aime.

LISTE DU CORPS ENSEIGNANT DE LA FACULTE

DOYEN DE LA FACULTE :

Monsieur le Professeur Jean-Luc DUROUX

1^{er} VICE-DOYEN :

Madame Catherine FAGNERE, Maître de Conférences

2^{ème} VICE-DOYEN :

Monsieur Serge BATTU, Maître de Conférences

PROFESSEURS :

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
BOTINEAU Michel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
DESMOULIERE Alexis	PHYSIOLOGIE
DREYFUSS Gilles	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
LOUDART Nicole	PHARMACOLOGIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE HYDROLOGIE ENVIRONNEMENT
ROGEZ Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE

MAITRES DE CONFERENCES :

BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BEAUBRUN-GIRY Karine	PHARMACOTECHNIE
BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE , BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
CLEDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
COMBY Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
COURTIOUX Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
DELEBASSEE Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
DEMIOT Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
FAGNERE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
JAMBUT Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE

LEGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
LIAGRE Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
LOFTI Hayat	TOXICOLOGIE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MILLOT Marion	PHARMACOGNOSIE
MOREAU Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
POUGET Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
ROUSSEAU Annick	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
SIMON Alain	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
TROUILLAS Patrick	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
VIANA Marylène	PHARMACOTECHNIE
VIGNOLES Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

DREYFUSS Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
--------------------------	-----------------------------------

PROFESSEUR CERTIFIE :

MARBOUTY Jean-Michel	ANGLAIS
----------------------	---------

RESUME :

L'infection osseuse est un problème de santé publique qui nécessite un traitement chirurgical et médical. L'étude de la physiologie osseuse et des facteurs de risque montrent la complexité du phénomène et la difficulté d'un traitement rapide et ciblé. L'origine de l'infection peut être de quatre ordres : hématogène, post-opératoire, post-traumatique ou de contiguïté. Malgré les progrès réalisés dans la lutte contre les infections nosocomiales et les traitements existants, le risque infectieux persiste avec une prévalence toujours forte.

Le but d'un traitement est d'éradiquer le processus infectieux et de rétablir le fonctionnement de l'articulation atteinte. Le principe général est d'associer un traitement chirurgical à une antibiothérapie longue. Cette antibiothérapie est largement dominée par une administration intraveineuse suivie d'un relais par voie orale, mais l'émergence de nouveaux concepts de traitements par voie locale élargissent les possibilités thérapeutiques.

Dans ce contexte, l'implantation de biomatériaux chargés en molécule active anti-infectieuse peut donc être justifiée. Les substituts osseux synthétiques et notamment les céramiques à base de phosphate de calcium, sont très utilisés en chirurgie pour le comblement de défauts osseux. En effet, ces matériaux biocompatibles en raison d'une composition chimique proche de celle de la phase minérale de l'os, peuvent se lier à ce dernier et agir comme support à la repousse osseuse. De plus, ils peuvent être utilisés comme systèmes de délivrance d'une molécule active, afin de cibler la zone de relargage, de limiter les effets secondaires systémiques et d'optimiser la biodisponibilité. Parmi les différentes formes disponibles, les sphéroïdes permettent le comblement de cavités à géométrie complexe tout en garantissant une macroporosité, dont la taille est gérée par le diamètre des agglomérats et qui est favorable à la repousse osseuse, et une microporosité qui favorise la fonctionnalisation. Les sphéroïdes phosphocalciques sont formés par granulation humide dans un appareil à haut cisaillement Mi-Pro et l'imprégnation se fait dans un évaporateur rotatif sous vide. Des essais de dissolution ont permis de quantifier la teneur en chlorhydrate de tétracycline des sphéroïdes et d'évaluer la cinétique de relargage du principe actif dans les conditions expérimentales retenues.

MOTS-CLEFS : Infection osseuse, traitement antibiotique, phosphate de calcium, sphéroïdes, chlorhydrate de tétracycline, matériaux de comblement.

ABSTRACT :

The osseous infection is public health issue which requires surgical and medical treatment. The study of osseous physiology and of risk factors shows the complexity of the phenomenon and the difficulty of a fast and targeted treatment. Infection can be originated from four sources: haematogenous, post-operative, post-traumatic or of proximity. In spite of the progress done in the fight against hospital-borne infections and in the existing treatments, infectious risks persist with always strong prevalence.

The purpose of a treatment is to eradicate the infectious process and to restore the functioning of the affected articulation. The main principle is to associate a surgical treatment with a long antibiotic treatment. This antibiotic treatment is widely dominated by intravenous administration followed by a relay by oral route, but the emergence of new concepts of treatments by local ways widen the therapeutic possibilities.

In this context, the presence of biomaterials loaded in anti-infective active molecule can be thus justified. The synthetic osseous substitutes, in particular ceramics with calcium phosphate, are very used in surgery for the filling of osseous defects. Indeed, these biocompatible materials, because of their chemical composition close to that of the bone mineral phase, can be bound to the latter and act as a support in osseous regrowth. Furthermore, they can be used as systems of delivery of an active molecule, to target the zone of release, to limit the systematic side effects and to optimize bioavailability. Among the various available forms, spheroids allow the filling of complex-geometry cavities while guaranteeing macroporosity, the size of which is managed by the diameter of agglomerates and which favors osseous regrowth, and microporosity which favors its functional use. Phosphocalcic spheroids are formed by wet granulation in a high-shear device Mi-pro and impregnation is made in a vacuum rotary evaporator. Dissolution tests helped to quantify the ratio of tetracycline chlorhydrate of the spheroids and to estimate the kinetics of active principle release in the chosen experimental conditions.

KEYS-WORDS: osseous Infection, antibiotic treatment, calcium phosphate, spheroids, tetracycline chlorhydrate, filling materials.

SOMMAIRE

CHAPITRE 1 : ORIGINE DES INFECTIONS OSSEUSES

1	Généralités.....	16
1.1	Physiologie osseuse.....	16
1.2	Terrain.....	19
2	Classification des infections.....	20
2.1	Infections osseuses d'origine hématogène.....	22
2.2	Infections osseuses d'origine post-opératoire.....	27
2.3	Infections osseuses d'origine post-traumatique.....	32
2.4	Infection de contiguïté.....	33
3	Conclusion - Tableau comparatif.....	34

CHAPITRE 2 : TRAITEMENT DES INFECTIONS OSSEUSES

1	Historique.....	36
2	Prévention.....	37
2.1	Améliorer l'information et l'éducation des intervenants.....	37
2.2	Etablir des procédures.....	37
2.3	Evaluer les pratiques par un contrôle qualité.....	38
2.4	Surveiller les infections du site opératoire et évaluer le risque infectieux.....	38
2.5	L'antibioprophylaxie.....	39
3	Diagnostic.....	40
3.1	Diagnostic médical.....	40
3.2	Diagnostic microbiologique.....	41
4	Traitement chirurgical.....	45
4.1	Dans l'ostéomyélite hématogène.....	45
4.2	Dans l'infection post-traumatique.....	47
4.3	Dans l'infection post-opératoire.....	51
5	Traitement antibiotique.....	54
5.1	Traitement antibiotique par voie générale.....	54
5.2	Traitement antibiotique par voie locale.....	63
6	Conclusion.....	73

CHAPITRE 3 ETUDE EXPERIMENTALE: SPHEROÏDES PHOSPHOCALCIQUES POREUX POUR IMPLANTATION OSSEUSE ET LIBERATION DE CHLORHYDRATE DE TETRACYCLINE

1	Fabrication des sphéroïdes phosphocalciques poreux	75
1.1	Présentation	75
1.2	Matériel et méthodes.....	76
2	Imprégnation des sphéroïdes par le chlorhydrate de tétracycline	81
2.1	Caractéristiques du principe actif : le chlorhydrate de tétracycline	81
2.2	Chargement par la molécule active.....	83
2.3	Evaluation de la teneur des grains en principe actif	86
3	Etude de la cinétique de dissolution.....	92
3.1	Matériel et méthode	92
3.2	Résultats et discussion.....	93
4	Conclusion.....	97

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Germes responsables des ostéomyélites hématogènes.....	23
Tableau II: Germes responsables des infections sur prothèse ostéo-articulaire	25
Tableau III: Germes responsables de l'arthrite septique.....	26
Tableau IV: Classification des ISO par Mangram	28
Tableau V: Problèmes dominants dans les pseudarthroses suppurées	32
Tableau VI: Germes responsables des infections de contiguités	33
Tableau VII: Tableau récapitulatif.....	34
Tableau VIII: Diagnostic médical des infections osseuses	40
Tableau IX: Analyse du liquide articulaire	44
Tableau X: Pénétration osseuse des antibiotiques	55
Tableau XI: Avantages et inconvénients des trois modes d'administration par voie générale des antibiotiques	57
Tableau XII: Propositions thérapeutiques pour infection ostéo-articulaire	59
Tableau XIII: Durée du traitement antibiotique selon le type d'infection	60
Tableau XIV: Recommandations de l'ANAES pour l'antibioprophylaxie de prothèse totale de hanche	62
Tableau XV: Biomatériaux utilisés pour la délivrance locale d'antibiotique.....	65
Tableau XVI: Antibiotiques candidats pour une délivrance locale à partir de biomatériaux	66
Tableau XVII: Absorbance des solutions étalons	87
Tableau XVIII: DC théoriques.....	89
Tableau XIX: DC des grains chargés aux quatre concentrations étudiées.....	89
Tableau XX: Comparaison des DC expérimentaux et théoriques.....	89
Tableau XXI: Comparaison des DC des deux fractions étudiées.....	90
Tableau XXII: Comparaison des deux fractions lors de l'essai de dissolution (en %)......	95
Tableau XXIII: Comparaison des deux fractions lors de l'essai de dissolution (en mg).....	96
Tableau XXIV: Masse de PA libéré au total après le 2 nd essai de dissolution avec les grains broyés....	96

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure externe d'un os long	16
Figure 2: Structure interne d'un os long	17
Figure 3: Classification de Cierny-Mader	21
Figure 4: Critères de définition d'une ISO par Mangram.....	27
Figure 5: Formation d'un biofilm	30
Figure 6: Photo d'une gélose typique lors d'infection ostéoarticulaire chronique	44
Figure 7: Représentation schématique de la saucérisation	46
Figure 8: Représentation schématique de la sculpture des parties molles.....	48
Figure 9: Représentation schématique de la fixation diaphysaire	49
Figure 10: Représentation schématique de la résection diaphysaire.....	49
Figure 11: Représentation schématique d'une reconstruction par greffe spongieuse	50
Figure 12: Conduite à tenir en cas d'infection sur prothèse ostéo-articulaire	53
Figure 13: Interactions entre biomatériau/tissus/antibiotique	64
Figure 14: Processus de réaction chimique formant le ciment acrylique osseux	69
Figure 15: Représentation du relargage de la Gentamicine d'un ciment osseux.....	70
Figure 16: Photo du comblement par gentabilles	71
Figure 17: Billes de Gentamycine Septopal® et leurs cinétiques de relargage in vitro.....	71
Figure 18: Protocole de fabrication des grains.....	77
Figure 19: Photo du granulateur Mi-Pro.....	78
Figure 20: Photo du séchoir en lit fluidisé	79
Figure 21: Photo du tamiseur.....	79
Figure 22: Schéma du protocole de calcination	80
Figure 23: Formule du chlorhydrate de tétracycline	81
Figure 24: Photo de l'évaporateur rotatif sous vide	84
Figure 25: Photo de l'étuve sous vide	84
Figure 26: Etapes de récupération des grains chargés.....	85
Figure 27: Photo du spectrophotomètre utilisé	86
Figure 28: Droite d'étalonnage	87
Figure 29: Schéma du protocole pour la détermination des DC.....	88
Figure 30: Photo du Dissolutest et Figure 31: Photo d'un bol du Dissolutest	88
Figure 32: Graphique DC = f(concentration de la solution d'imprégnation)	90
Figure 33: Photo des grains chargés $500 < d < 710 \mu\text{m}$	91
Figure 34: Photo des grains chargés $710 < d < 1000 \mu\text{m}$	91
Figure 36: Photo de l'appareil de dissolution à flux continu.....	92
Figure 37: Représentation schématique de la cellule de dissolution [8]	93
Figure 38: Cinétique de dissolution-grains $500 < d < 710 \mu\text{m}$	94
Figure 39: Cinétique de dissolution-grains $710 < d < 1000 \mu\text{m}$	95

LISTE DES ABREVIATIONS

ISO : Infection du site opératoire

IV : Intraveineux

CTIN : Comité technique des infections nosocomiales

RAISIN : Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales

NNIS : National Nosocomial Infection Surveillance

ASA : American Society of Anesthesiologists

IRM : Imagerie par résonance magnétique

TDM : Tomodensitométrie

NFS : Numération formule sanguine

CRP : Protéine C-réactive

PCR : Polymerase chain reaction

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

PNN : Polynudéaires neutrophiles

IPOA : Infection de prothèse ostéo-articulaire

AMM : Autorisation de mise sur le marché

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline

SFAR : Société française d'anesthésie et de réanimation

MMA : Méthylmétacrylate

PMMA : Polyméthylmétacrylate

Dmpt : Di-méthyl-para-toluidine

BPO : Di-benzoyle peroxyde

PA : Principe actif

rpm : Rotation par minute

mL : Millilitre

g : Gramme

min : Minute

INTRODUCTION GENERALE

Malgré les efforts faits dans le domaine de la prévention des infections, celles-ci demeurent toujours un réel problème qui peut entraîner de graves conséquences pour le patient atteint. Les infections osseuses qu'elles soient d'origine hématogène, post-opératoire, post-traumatique ou de contiguité requièrent une prise en charge rapide et efficace. En parallèle d'un traitement antibiotique adéquat, un traitement chirurgical est souvent nécessaire. Il est, dans ces situations, de plus en plus fréquent de devoir recourir à des implantations osseuses pour réparer les fractures ou combler les cavités endommagées. Les implantations osseuses peuvent se faire par autogreffe où le donneur du greffon prélevé au niveau de la crête iliaque est aussi le receveur, par allogreffe où le donneur est différent du receveur ou par implant de substituts osseux synthétiques comme la céramique à base de phosphate de calcium. Cette dernière solution est très utilisée en chirurgie orthopédique et en odontologie car ces matériaux biocompatibles peuvent se lier chimiquement à l'os et agir comme un substrat pour la croissance de l'os, ils sont ostéoconducteurs. De plus de nombreuses études en cours cherchent à imprégner cette matière de molécules d'intérêt thérapeutique afin de bénéficier d'un relargage local du principe actif. L'objectif est de cibler la zone de délivrance et de maîtriser les cinétiques de libération. Dans ce but un essai préliminaire de fonctionnalisation par du chlorhydrate de tétracycline va être initié.

Le présent document est organisé en trois chapitres, deux chapitres bibliographiques et un dernier expérimental.

Le premier chapitre classe les infections osseuses selon leur origine.

Le second chapitre présente les traitements possibles qu'ils soient chirurgicaux ou antibiotiques par voie générale et locale, après avoir abordé les possibilités de prévention et les conditions de diagnostic.

Enfin le troisième chapitre expérimental qui décrit le mode de fabrication de sphéroïdes phosphocalciques qui seront imprégnés par des concentrations croissantes de solutions de chlorhydrate de tétracycline. Puis des essais permettront de déterminer la dose de charge de grains et la cinétique de dissolution du principe actif dans un appareil à flux continu.

CHAPITRE 1 :

ORIGINE DES INFECTIONS OSSEUSES

L'infection osseuse est un problème de santé publique qui nécessite un traitement chirurgical et médical. L'étude de la physiologie osseuse et des facteurs de risque montrent la complexité du phénomène et la difficulté d'un traitement rapide et ciblé. Son origine réside en quatre possibilités qui sont l'origine hématogène, post-opératoire, post-traumatique et de contiguïté. Quelle que soit son origine et malgré les progrès réalisés dans la lutte contre les infections nosocomiales et les traitements existants, le risque infectieux persiste avec une toujours aussi forte prévalence.

1 Généralités

Les infections osseuses résultent d'une interaction complexe entre la bactérie, le terrain et les défenses du malade, la connaissance du mécanisme d'infection et des facteurs prédisposant est donc indispensable.

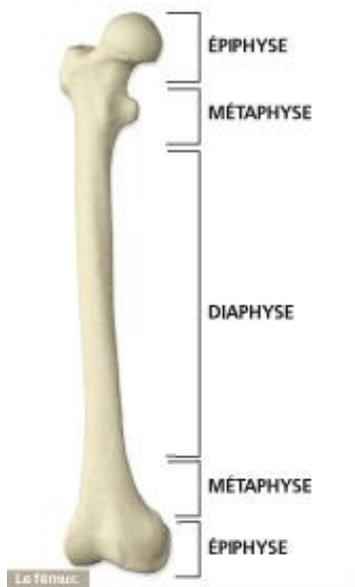
1.1 Physiologie osseuse

Une brève étude anatomique et physiologique de l'os va permettre de mieux comprendre par la suite la physiopathologie des infections osseuses et les différents traitements possibles.

1.1.1 Structure de l'os [1], [19], [29]

L'os est une matière vivante qui grandit et qui tout au long de la vie se renouvelle et au besoin se répare.

1.1.1.1 Structure externe



Dans les os longs :

- **la diaphyse** est un fût d'os compact épais (cortex) dont la cavité centrale contient de la moelle rouge chez l'enfant et de la moelle jaune chez l'adulte. Elle est entourée d'une membrane (périoste) riche en vaisseaux nourriciers qui participent à l'ossification en épaisseur.

- **les épiphyses**, aux extrémités, sont de grosses lames d'os compact entourant de l'os spongieux rempli de moelle rouge (hématopoïétique) ; elles sont recouvertes de cartilage articulaire.

- **les métaphyses** constituent les parties intermédiaires entre épiphyse et diaphyse.

Les os courts sont une masse d'os compact autour d'os spongieux.

Les os plats sont formés de deux lames d'os compact entourant une lame d'os spongieux.

Les os irréguliers associent ces différentes structures.

Figure 1: Structure externe d'un os long [19]

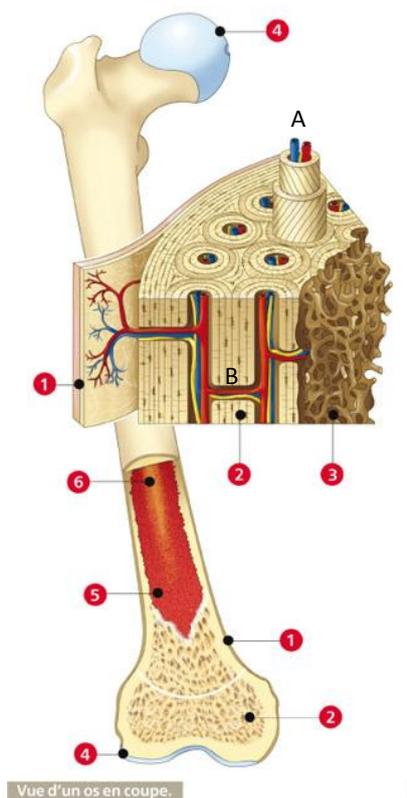
1.1.1.2 Structure interne

Le tissu osseux est un tissu conjonctif spécialisé. Il est donc constitué d'une matrice extracellulaire et de cellules. La matrice extracellulaire se compose de :

- **substance fondamentale** : elle est constituée de glycosaminoglycanes sulfatés comme les chondroïtines sulfates et héparines sulfates (au rôle anticoagulant), d'acide hyaluronique, d'eau, d'ions, de dépôts de sel de calcium. La matrice minérale représente environ 70% du poids de l'os sec. Parmi les sels minéraux se trouve des cristaux d'hydroxyapatite (ou phosphate tricalcique) qui suivent les fibres de collagène, des carbonates de calcium, des phosphates de magnésium. La matrice organique est faite essentiellement de collagène sous

forme de larges fibres agencées en lamelles, de protéoglycanes et de protéines non collagéniques spécifiques du tissu osseux (ostéopontine, ostéonectine et ostéocalcine). On retrouve aussi des protéines enfouies dans la matrice, d'origine non osseuse (fétuine, immunoglobulines...).

- *fibres* : ce sont principalement des fibres de collagène de type I (80 %) et XII. On ne trouve jamais de collagène de type II qui est rencontré uniquement dans le cartilage. Les fibres sont parallèles les unes aux autres et sont organisées en fonction des forces de pressions exercées.
- *cellules différenciées de trois types* : les ostéoblastes responsables de la formation de la substance ostéoïde, les ostéocytes qui assurent l'interface avec le compartiment vasculaire pour les échanges ioniques, les ostéoclastes responsables de la résorption osseuse.



Un os comporte 6 types de tissus :

[1] **Le périoste** est une membrane fibreuse qui recouvre les os, à l'exception des articulations.

[2] **L'os compact**, très dense et uniforme, est organisé en ostéons ou systèmes de Havers (A) fait de 4 à 20 lamelles osseuses disposées concentriquement autour du canal de Havers. Ce dernier contient des capillaires sanguins et des fibres nerveuses amyéliniques enrobées d'un peu de tissu conjonctif lâche. Les canaux de Havers sont reliés entre eux à la surface de l'os par les canaux de Wolkmann (B).

[3] **L'os spongieux** ressemble à une éponge avec ses lamelles osseuses délimitant d'innombrables cavités.

[4] **Le cartilage articulaire** ou hyalin, qui recouvre les extrémités, apparaît au microscope comme une gelée rigide mais encore élastique.

[5] **La moelle osseuse ou moelle rouge** occupe toutes les cavités de l'os spongieux, produisant chaque jour 100 à 150 milliards de globules rouges et 1 à 30 milliards de globules blancs.

[6] **La moelle jaune**, masse grasseuse qui occupe le centre de la diaphyse des os longs chez l'adulte.

Figure 2: Structure interne d'un os long [19]

La riche vascularisation des os se fait donc par :

- les canaux de Havers qui sont les canaux centraux des ostéons,
- les canaux de Wolkmann ou canaux perforants qui sont les voies de passage horizontales des vaisseaux sanguins, lymphatiques et des nerfs qui rejoignent ensuite les canaux centraux puis la cavité médullaire.

L'irrigation s'effectue par l'artère nourricière près du centre de la diaphyse qui par le foramen nourricier traverse le tissu osseux compact pour se diviser en branches longitudinales dans la cavité médullaire. Les extrémités des os longs sont irriguées par les artères métaphysaires, épiphysaires et périostées. Toutes ces artères sont accompagnées des veines correspondantes.

1.1.1.3 Ostéogenèse [1]

L'homéostasie du tissu osseux dépend d'un équilibre dynamique entre les phénomènes de résorption et d'accrétion, sous la dépendance de facteurs métaboliques et hormonaux (vitamine D, thyrocalcitonine, parathormone). Le remodelage physiologique du tissu osseux comprend différentes phases qui se succèdent pour produire de l'os nouveau :

- la phase de quiescence pour commencer, donnant lieu à un regroupement d'ostéoblastes inactifs en regard de la surface osseuse ;
- puis la phase d'activation avec le recrutement par chimiotactisme des ostéodastes qui viennent se placer au niveau de la surface osseuse ;
- suit la phase de résorption avec sécrétion à ce niveau de vésicules d'exocytose contenant des phosphatases acides, capables d'entraîner la déminéralisation des cristaux d'hydroxyapatite. Des collagénases permettront la dégradation des fibres de collagène de la matrice extracellulaire.
- la phase d'inversion correspond au moment où les ostéodastes vont s'activer pour être fonctionnels. On observe, en regard de la surface osseuse, l'apparition d'une jeune matrice minéralisée dite « ligne cémentante » qui caractérise le début d'activation des ostéoblastes.
- pour finir la phase de formation permet aux ostéoblastes recrutés d'achever la synthèse de la matrice organique.

1.1.2 Réparation osseuse [1]

Suite à un traumatisme mécanique, la cicatrisation du tissu osseux lésé se fait grâce à l'action combinée des ostéodastes et ostéoblastes. *In vivo*, la microvascularisation a un rôle important dans les phénomènes de réparation osseuse. Autour du déficit osseux apparaît une zone de nécrose périphérique dont la largeur dépendra de la vascularisation de l'os. On connaît trois types de réponse osseuse à cette nécrose :

- la formation d'un tissu fibreux inerte,
- la création d'un séquestre osseux aseptique,
- une ostéogenèse réactionnelle formant un nouvel os marquant la cicatrisation.

1.2 Terrain

Il est aussi important de remarquer que les spécificités de l'hôte jouent un rôle dans le développement d'une infection osseuse. A cet égard, une attention particulière doit être accordée à certaines situations [1].

1.2.1 Les diabétiques

Le pied diabétique est une des plus fréquentes et des plus sévères complications du diabète. Il commence par une ostéite affectant la corticale osseuse, puis l'ostéomyélite n'est effective qu'après l'atteinte de la médullaire, dont les petits os du pied sont peu pourvus. La neuropathie diabétique joue un rôle prépondérant en commençant par la neuropathie sensitive qui entraîne une hypoesthésie du pied facilitant les blessures et traumatismes locaux. Ensuite la neuropathie motrice modifie les réparations musculaires du pied avec des déformations anatomiques. Les zones d'appui soumises à des pressions excessives vont s'ulcérer. Enfin, l'hypersudation de la neuropathie sera source de macération et donc une cause supplémentaire d'ulcérations et de colonisation fongique cutanée.

1.2.2 La polyarthrite rhumatoïde

Il est prouvé un sur-risque de développer une infection sur matériel prothétique ostéo-articulaire chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Ce risque est, selon les études de 1,8 à 2,5 fois plus élevé si on les compare à l'incidence d'une infection sur prothèse chez les patients atteints d'arthrose dégénérative [1].

1.2.3 L'existence d'un foyer infectieux [22]

L'infection à distance majeure aussi ce risque par exemple par la présence d'escarre, ulcère de jambe, ongle incarné, infection urinaire – dentaire – génitale – digestive ou pulmonaire.

L'infection antérieure au niveau du site opératoire est quant à elle un risque accru d'infection postopératoire.

1.2.4 Autres [22]

Certains facteurs de risques sont aussi cités tels que la dénutrition chronique sévère, le remplacement d'une prothèse totale articulaire descellée, un cancer sous-jacent (tumeurs digestives responsables de bactériémie), des cicatrices multiples mal vascularisées adhérentes à l'os ou un problème cicatriciel ainsi que l'insuffisance artérielle (elle réduit la capacité à prévenir ou éradiquer l'infection).

Pour chaque type d'infection il sera détaillé, dans le paragraphe correspondant, les facteurs de risques majeurs les plus souvent retrouvés.

2 Classification des infections

La physiopathologie des infections osseuses implique une greffe bactérienne dans la structure minéraloconjonctive de l'os. Cette greffe peut être d'origine hématogène ou exogène dans le cadre d'un traumatisme ouvert ou d'une chirurgie orthopédique.

Le plus souvent le terme d'ostéomyélite est associé aux infections du tissu osseux quelle qu'en soit l'origine. Les différentes ostéomyélites peuvent être classées selon plusieurs critères [1]:

- Classification physiopathologique :
 - hématogènes
 - post-opératoire
 - post-traumatique
 - secondaires à une infection de contiguïté (avec présence ou non d'insuffisance vasculaire)

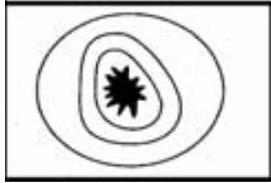
- Classification en fonction du temps :
 - aiguës : < 4 semaines
 - chroniques : > 4 semaines

- Classification en fonction de la présence de matériel :
 - non prothétique
 - prothétique ostéoarticulaire

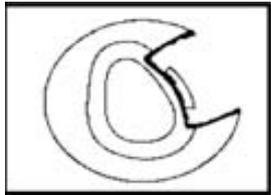
- Classification de Cierny-Mader : prenant en considération le terrain sous-jacent, le type d'atteinte osseuse et les cofacteurs associés (cf. Figure 3).

Durant cette étude nous suivrons la classification physiopathologique.

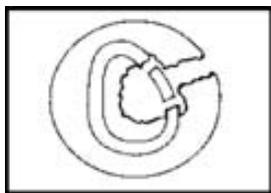
STADES ANATOMIQUES



Stade 1 : ostéomyélite intramédullaire, nécrose limitée à la médullaire.
Etiologie : hémato-gène.

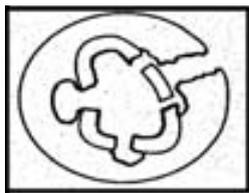


Stade 2 : ostéomyélite superficielle, nécrose à la surface exposée.
Etiologie : infection de contiguïté.



Stade 3 : ostéomyélite localisée (séquestre cortical), nécrose bien individualisable. Atteinte localisée de la corticale, instabilité osseuse avant ou après débridement.

Etiologie : traumatisme, évolution de stade 1 ou 2, iatrogène (vis, plaque).



Stade 4 : ostéomyélite diffuse, atteinte circonférentielle de la corticale, instabilité osseuse avant ou après débridement.

Etiologie : traumatisme, évolution de stade 1-2 ou 3, iatrogène (clou)

ETAT PHYSIOPATHOLOGIQUE

A : absence d'anomalie

B : anomalies :

Bs = généralisées :

- Dénutrition
- Insuffisance hépatique et/ou rénale
- Diabète
- Hypoxémie chronique
- Maladie auto-immune
- Néoplasie
- Immunodéprimé ou immunosuppresseurs
- Extrémité des âges de la vie
- tabagisme

B1 = localisées :

- Lymphoedème chronique
- Insuffisance veineuse
- Insuffisance artérielle
- Fibrose post-radique
- Escarre
- Neuropathie

C : état général précaire

Figure 3: Classification de Cierny-Mader [1]

2.1 Infections osseuses d'origine hémotogène

Lors d'une infection osseuse par voie hémotogène il y a bactériémie. Cette contamination doit faire rechercher une porte d'entrée et d'autres métastases septiques.

2.1.1 Ostéomyélite hémotogène

Elle se divise en deux groupes selon le mode d'apparition [27]:

- Ostéomyélite aiguë : (< 4 semaines) elle apparaît de manière brutale avec une douleur violente, une tuméfaction et une fièvre élevée. Il s'agit d'un tableau infectieux typique de l'enfant prépubère qui est alors une urgence à diagnostiquer pour limiter les dégâts morphologiques.
- Ostéomyélite chronique : (≥ 4 semaines) elle apparaît de façon insidieuse et progressive avec des signes locaux moins marqués et un syndrome fébrile plus discret.

2.1.1.1 Physiopathologie [1], [14], [27]

La physiopathologie se caractérise par une porte d'entrée le plus souvent cutanée. Le germe est capté par les zones métaphysaires (par l'intermédiaire des vaisseaux des canaux de Wolkman) des os longs et massifs (fémur distal, tibia proximal et humérus proximal). La grande richesse vasculaire, la finesse des ramifications de l'artère nourricière et la formation de boucles veineuses, où la circulation est très ralentie, favorisent la formation de thromboses métaphysaires constituant une ostéophlébite septique d'évolution centrifuge. L'infection et l'œdème intra-osseux secondaire se propagent vers la surface, rompant la corticale et clivant le périoste, induisant ainsi un abcès sous-périosté. Le périoste décollé ne remplit plus sa fonction d'irrigation vasculaire impliquant la constitution de zones de nécrose et de séquestre osseux corticaux qui sont la première étape du passage à la chronicité. L'abcès s'étend par contiguïté vers la diaphyse, réalisant une pandiaphysite, ou vers l'épiphyse. Lorsque l'infection atteint l'articulation voisine, le tableau de l'ostéoarthrite est réalisé. Les articulations le plus souvent atteintes secondairement sont la hanche, le coude et l'épaule car les métaphyses sont soit intra-articulaires soit au voisinage direct de la synoviale. Enfin, l'extension aux parties molles est classique avec constitution de trajets fistuleux (fistule bordée d'un épithélium malpighien qui s'étend plus ou moins profondément dans l'os sous-jacent).

2.1.1.2 Germes en cause [9], [10], [13], [27]

Sur le tableau suivant la signification des * est :

* Les streptocoques les plus courants sont les β-hémolytiques des groupes A, B, C et G. Il est aussi parfois rencontré *Streptococcus pneumoniae* surtout chez l'enfant entre 3 et 5 ans.

** Les germes anaérobies fréquemment rencontrés sont *Clostridium*, *Actinomyces*, *Campylobacter*, *Peptostreptococcus spp* et *Propionibacterium acnes* (ces deux derniers ont une croissance très lente et sont donc difficiles à identifier).

Tableau I: Germes responsables des ostéomyélites hématogènes

Micro-organismes	Ostéomyélites aiguës	Ostéomyélites chroniques	Ostéomyélites diabétiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	++	++
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	+	+++
Gram négatifs (Entérobactéries)	++	++	-
<i>Streptococcus spp</i> *	+	+	+
Germes anaérobies**	+	+	+
<i>Candida species</i>	+	-	-
Autres	<i>Listeri, Kingella kingae</i> (entre 6 mois et 4 ans)		

2.1.1.3 Formes inhabituelles d'ostéomyélite [14]

Il existe d'autres formes d'ostéomyélites moins rencontrées :

- Ostéomyélite à plasmocytes : forme particulière d'ostéomyélite primitive chronique hématogène parfois confondue avec une tumeur. Ici l'os est infiltré par une importante nappe de plasmocytes.
- Ostéomyélite xanthomateuse : présence importante de macrophages spumeux associés à de nombreux neutrophiles, plasmocytes, amas de fibrine, nécrose, hémorragies et sclérose périphérique.
- La malakoplakie : réponse histiocytaire anormale.
- L'abcès de Brodie : petite lésion excentrée lytique avec sclérose réactionnelle. Lacune centrale d'un os long associé à une réaction périostée lamellaire.
- Ostéomyélite récurrente multifocale : elle touche différents os, à différents temps avec une évolution clinique pouvant s'étendre sur plusieurs années. C'est un processus inflammatoire aigu réalisant parfois des abcès et à des stades plus tardifs, un infiltrat lymphocytaire et une néogénèse osseuse réactionnelle.
- Ostéomyélite vertébrale chronique : elle implique surtout les corps vertébraux au niveau thoracique bas ou au niveau lombaire.

2.1.2 Spondylodiscite [27], [30]

2.1.2.1 Physiopathologie

Il s'agit d'une infection du disque vertébral et des plateaux des vertèbres adjacentes. Elle est le plus souvent d'origine hématogène mais peut parfois être due à une inoculation directe suite à une ponction lombaire ou un geste chirurgical, ou être un effet secondaire de la vaccination BCG. L'origine peut être génito-urinaire chez le sujet âgé.

L'évolution se fait classiquement en trois phases :

- la phase initiale d'invasion, strictement osseuse avec formation d'un abcès au niveau de la partie supérieure ou inférieure d'un plateau vertébral,

- la phase secondaire de destruction discale et d'atteinte de la vertèbre adjacente (entraînant souvent des complications) ;
- la phase de réparation, marquée par une fusion osseuse qui peut être incomplète avec apparition de séquestres, sources de rechutes.

Ce type d'infection reste relativement rare : 2 à 4% des infections ostéoarticulaires [27].

2.1.2.2 Germes en cause

Dans plus de 50% des cas, le germe responsable sera un staphylocoque :

- *Staphylococcus aureus* : surtout en cas de contamination par voie hématogène
- *Staphylococcus epidermidis* : en cas d'inoculation directe
- Bacilles à Gram négatif : pour 15% des cas
- Bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) exceptionnellement chez les malades présentant une tuberculose évoluée (mal de Pott)
- rarement des levures chez les toxicomanes ou immunodéprimés.

2.1.3 Infection aiguë hématogène sur prothèse ostéo-articulaire

2.1.3.1 Physiopathologie [1], [4]

Il s'agit du stade III de Coventry (voir 2.2.1.1). Ce sont des infections d'apparition tardive (> 1an postimplantation d'une prothèse). L'origine est hématogène à partir d'un foyer infectieux distant expliquant l'expression symptomatique frustrée. La greffe bactérienne aiguë est favorisée par l'altération de la reconstruction ostéoblastique périprothétique, en raison d'une réaction inflammatoire chronique locale néfaste causant le descellement aseptique de la prothèse. En effet la réaction inflammatoire empêche l'intégration tissulaire prothétique au sein de l'os. Les conditions seraient alors réunies pour permettre une colonisation bactérienne, d'autant plus rapide que le germe en cause est virulent et que les défenses cellulaires sont saturées. Il faut cependant nuancer cette notion de descellement dit « aseptique », qui serait en réalité septique, en raison des problèmes d'isolement bactériologique.

2.1.3.2 Germes en cause [4], [27]

Certaines bactéries ont un haut pouvoir d'adhésion et peuvent rester quiescentes sur le matériel.

Bien que les chiffres varient selon les études, il est possible de proposer un ordre de prédominance, soit du plus fréquent au moins fréquent :

- *Staphylococcus epidermidis* : adhérence préférentielle sur les biomatériaux polymériques
- *Staphylococcus aureus* : adhérence préférentielle sur les métaux et tissus nécrotiques
- Streptocoques : le plus souvent d'origine cutanée ou maxillofaciale
- Bacilles Gram négatif : le plus souvent d'origine urodigestive
- *Propionibacterium*,

ce qui donne semi-quantitativement dans le tableau II :

Tableau II: Germes responsables des infections sur prothèse ostéo-articulaire [27]

Micro-organismes	Infection sur implant orthopédique
<i>Staphylococcus aureus</i>	++
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+++
Bactéries Gram négatifs	-
Streptococci spp	+
Germes anaérobies	+
<i>Candida species</i>	-

Il faut remarquer cependant que le risque d'infection a fortement diminué grâce aux mesures rigoureuses d'asepsie, de l'utilisation de flux laminaires et l'antibioprophylaxie.

2.1.3.3 Facteurs de risque [4]

Pour certains auteurs, l'existence d'une infection évolutive à distance (infections urinaires ou pulmonaires, foyer dentaire, escarres) et les dispositifs intraveineux augmentent le risque d'infection hématogène retardée.

2.1.4 L'arthrite septique

2.1.4.1 Physiopathologie [27]

Les arthrites septiques sont des infections ostéo-articulaires aiguës qui touchent les grosses articulations, le genou le plus souvent puis la hanche. Les enfants de moins de 3 ans sont les plus atteints. La contamination bactérienne intra-articulaire va induire un épanchement purulent, les enzymes protéolytiques s'attaquent au cartilage articulaire puis le processus infectieux s'étend aux cartilages épiphysaires et aux métaphyses osseuses voisines. La destruction osseuse peut être massive et provoquer des luxations de hanche.

Chez l'adulte, l'incidence est de 5 cas pour 100 000 dans la population générale [27], mais augmente fortement en cas d'arthropathie prédisposante (polyarthrite rhumatoïde). Le genou est l'articulation la plus touchée. L'interrogatoire recherche une éventuelle porte d'entrée infectieuse :

- morsure : pasteurellose, borreliose
- inoculation potentielle : infiltration, gestes invasifs, toxicomanie
- facteurs de risques particuliers : polyarthrite rhumatoïde, diabète, éthyliste, immunosuppression,...

2.1.4.2 Germes en cause [2], [7], [13], [24], [27]

Tableau III: Germes responsables de l'arthrite septique

Bactéries	Nouveau-né	Enfant	Adulte
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	+++	+++ (60%)
Streptocoque groupe B	+++		+++
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		++	+++ (13%)
Entérobactéries	+++		+/- (E.Coli : 5%)
<i>Haemophilus spp</i>		+	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		++	
<i>Kingella kingae</i>		+++	
<i>Neisseria meningitidis</i>		+	+++
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	+/-	++ (7%)

Le germe le plus fréquent est le Staphylocoque doré mais plus l'enfant est petit, plus il est fragile immunologiquement et le spectre bactériologique peut être très large (le gonocoque ne se trouve que chez l'adolescent).

2.1.4.3 Formes particulières [2], [27]

Quelques formes d'arthrites septiques moins courantes et plus difficiles à diagnostiquer existent :

- L'arthrite septique de la hanche du nourrisson : manifestation classique passant souvent inaperçue. Le passage des germes à travers le cartilage épiphysaire est rapide. C'est la diminution spontanée des mouvements qui fait craindre l'atteinte septique.
- L'arthrite septique sacro-iliaque : aussi difficile à diagnostiquer. L'inoculation des corps vertébraux par voie veineuse rétrograde ou artérielle peut être due à une septicémie, une endocardite ou à une bactériémie transitoire. Ce sont le plus souvent les vertèbres lombaires qui sont infectées suivies des vertèbres dorsales puis cervicales.

2.2 Infections osseuses d'origine post-opératoire

Avant que Joseph Lister n'introduise les principes de l'antiseptie vers 1860, les patients opérés développaient « des fièvres irritatives » postopératoires, suivies de drainage purulent au niveau de l'incision avant de se transformer en sepsis qui menaient le plus souvent au décès. Il a donc ainsi permis de réduire la morbidité postopératoire infectieuse de façon conséquente. Tout patient opéré est exposé à un risque d'infection du site opératoire, qui varie d'un patient à l'autre, car il est lié à l'état du patient et à la qualité de sa prise en charge.

Le *National Research Council* a classé les interventions chirurgicales en cinq catégories dont les poses de prothèse de hanche sont de classe I hyperpropre [3].

2.2.1 Classification

2.2.1.1 Selon le délai d'apparition (par COVENTRY [1])

L'infection de prothèse articulaire survient selon COVENTRY à trois phases différentes :

- Infection de type I : aiguë et précoce, survenant en période postopératoire immédiate (<1 mois).
- Infection de type II : infection chronique survenant plus tardivement, le plus souvent sur une prothèse douloureuse.
- Infection de type III : infection aiguë survenant tardivement par voie hématogène sur une prothèse.

2.2.1.2 Selon la gravité (par MANGRAM [3])

Les infections du site opératoire (ISO) peuvent être classées en fonction du tissu atteint (cf. Figure 4), de leur temps de latence et de leur gravité (cf. Tableau IV).

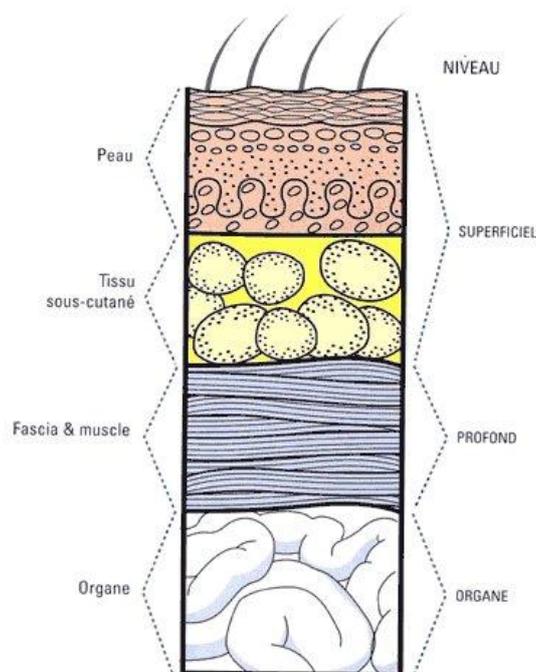


Figure 4: Critères de définition d'une ISO par Mangram [3]

Tableau IV: Classification des ISO par Mangram

ISO	Superficielle de l'incision	Profonde de l'incision	De l'organe
Délai d'apparition après l'intervention	Dans les 30 jours	- Dans les 30 jours si la prothèse n'est pas laissée en place ou - dans l'année qui suit si la prothèse est laissée en place	- Dans les 30 jours si la prothèse n'est pas laissée en place ou - dans l'année qui suit si la prothèse est laissée en place
Site de l'infection	Peau et tissus sous-cutanés incisés	Tissus profonds incisés	Organes ou espaces ouverts ou manipulés pendant l'opération
Présence d'au moins un des items suivants	- drainage purulent de l'incision superficielle - isolement du germe - au moins un des symptômes : douleur, gonflement localisé, rougeur, chaleur	- drainage purulent de l'incision superficielle - isolement du germe - au moins un des symptômes : douleur, gonflement localisé, rougeur, chaleur, fièvre, abcès	- drainage purulent de l'incision superficielle - isolement du germe - abcès

2.2.2 Physiopathologie

L'origine de l'infection de type I selon COVENTRY réside soit dans la contamination directe du foyer, soit par la colonisation de l'hématome opératoire par :

- des pathogènes commensaux et/ou résidents de la flore cutanée du patient
- des bactéries en suspension dans le bloc opératoire
- des bactéries transmises par le personnel médical et paramédical.

L'incidence de ce mécanisme a chuté depuis l'utilisation d'une antibioprofylaxie pré-opératoire (5 à 10% des patients opérés en chirurgie hyperpropre sans antibioprofylaxie développent une ISO) [3], d'air filtré dans les blocs opératoires et les mesures d'hygiène hospitalière. En France, environ 100 000 prothèses ostéoarticulaires sont implantées par an et le risque infectieux est globalement estimé à environ 2% [1].

A noter que les infections après allogreffes osseuses massives, suite à des tumeurs osseuses malignes, avoisinent les 15 % [27].

Les éléments physiopathologiques de l'infection sur matériel reposent aussi sur les phénomènes de persistance bactérienne.

2.2.3 Germes en cause [1], [4], [27]

Les germes concernés par ce type d'infection sont les mêmes que ceux décrits en **2.1.3.2**.

Une particularité des infections osseuses en présence de matériel étranger est constituée par la grande difficulté à obtenir l'éradication bactérienne. En effet les bactéries mettent en place des stratégies de survie reposant sur des méthodes d'exclusion environnementale permettant « une mise à l'abri » du système immunitaire et des modifications adaptatives de l'activité métabolique bactérienne. Pour cela plusieurs phénomènes apparaissent.

2.2.3.1 L'adhérence des bactéries sur matériel métallique

Le premier contact bactérie/matériel obéit dans un premier temps aux lois physiques d'adsorption réversible (forces attractives gravitationnelles et répulsives électrostatiques). Dans un second temps, un certain nombre de phénomènes biologiques consolident durablement cette liaison. L'interaction est médiée par des adhésines bactériennes spécifiques (*Fibronectin-binding protein*) de haute affinité pour des domaines réceptifs de la protéine de l'hôte tapissant le matériel. En post-opératoire, une réaction inflammatoire chronique péri-prothétique peut encourager les mécanismes d'adhérence, dans la mesure où il y a accumulation protéique sans intégration tissulaire de la prothèse.

2.2.3.2 L'existence de slime

C'est une substance polysaccharidique extracellulaire chez certaines souches bactériennes. Cette substance permet une adhésion plus forte, probablement une virulence particulière et une moindre sensibilité aux antibiotiques des germes responsables de l'infection. Ce composé fait partie intégrante des premières étapes de la constitution du biofilm bactérien, qui est l'ensemble des processus aboutissant à l'organisation et la régulation d'une communauté bactérienne. Le slime constitue une armature d'exopolymères stabilisant définitivement l'adhérence. Il peut se développer ainsi des réseaux de communication interbactériens et des systèmes de médiation et de protection vis-à-vis de l'extérieur. Cette organisation permet aux bactéries d'opérer des mutations adaptatives fonctionnelles, critiques pour leur survie.

2.2.3.3 La formation de biofilms bactériens adhérents sur l'implant prothétique

Un certain nombre de travaux, en partie controversés, suggèrent l'existence d'une diffusion variable et suboptimale de certains antibiotiques au travers du biofilm. Le biofilm se conçoit désormais comme une entité dynamique constituée d'une cascade d'évènements visant à implanter, promouvoir, structurer et réguler la survie des populations bactériennes dans un environnement hostile. Son rôle commence avec les mécanismes d'adhésion auxquels il participe par le biais du slime. Le développement des microcolonies engluées dans le slime constitue la deuxième étape. Cette structure est en suspension dans une matrice extra-cellulaire, riche en eau, en exopolysaccharides, en ADN, en protéines et en molécules de signalisation. On estime que la proportion de bactéries dans une unité de volume de biofilm représente environ 15% et que la matrice semi-rigide occupe le reste de la place [1]. Dès lors se mettent en place les réseaux de communication inter-cellulaires (*quorum sensing*) et les signaux de passage transitionnel en phase stationnaire donnant les variants microcolonies. Les communautés cellulaires bactériennes sont la plupart du temps asynchrones entre elles avec une alternance de phase de quiescence et de croissance. Enfin, quand les conditions environnementales deviennent défavorables, des cellules se détachent de la structure et partent dans le flux circulatoire pour trouver de nouvelles surfaces

d'attache propices au développement d'un nouveau biofilm. Ce sont les cellules planctoniques, dont la sensibilité aux antibiotiques bactéricides reste intacte.

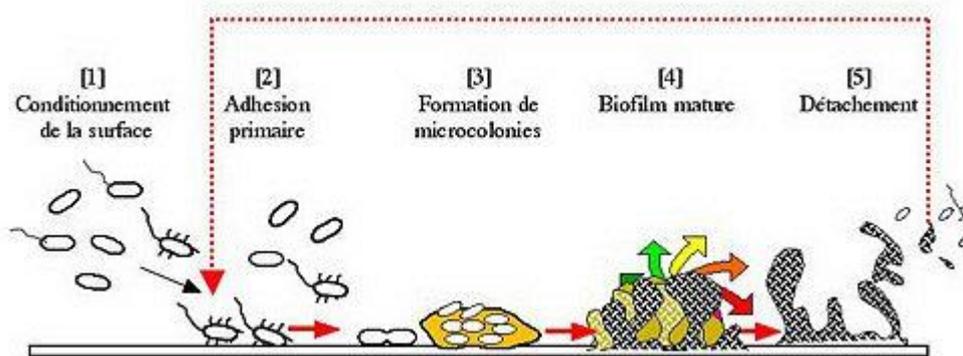


Figure 5: Formation d'un biofilm [16]

2.2.3.4 Les modifications comportementales des bactéries

En effet les bactéries au sein des microcolonies réduisent leur cinétique de multiplication et se trouvent en phase stationnaire ou réduite. Pour cela il y a modifications de leurs comportements :

- phénotypiques : induction d'un ralentissement de croissance et d'une hypopigmentation ;
- métaboliques : lenteur de croissance et persistance intracellulaire (par un défaut d'expression de l'exotoxine hémolytique). De plus *S.Aureus* diminue sa pathogénicité et sa virulence ;
- biochimiques : peu d'expression de la coagulase, diminution de la fermentation des sucres et de faibles besoins nutritionnels.

Cet état de différenciation phénotypique réversible est à l'origine de l'émergence de sous-populations appelées « variants microcolonies » (*small colony variant*) responsables de la survie de l'espèce bactérienne pathogène en dépit de la présence d'antibiotiques bactéricides dans le milieu.

2.2.3.5 Les altérations du système macrophagique anti-infectieux

Les colonies bactériennes arrivent à échapper à l'effet bactéricide du système immunitaire. Durant les mois suivant la pose d'une prothèse ostéo-articulaire, il existe une hypervascularisation osseuse et tissulaire périprothétique. Ce phénomène est lié à la libération de radicaux libres oxygénés et de médiateurs (Interleukine-1, Tumor Necrosis Factor- α et Interféron- γ). En cas d'évolution favorable, la réaction inflammatoire doit laisser place à l'apparition d'un tissu scléreux avasculaire peu perméable, c'est le phénomène « d'intégration tissulaire ». Cependant cette réaction inflammatoire semble prolongée en cas de libération d'éléments par la prothèse articulaire qui pourraient altérer le pouvoir macrophagique des cellules phagocytaires et inhiberaient la reconstruction osseuse ostéoblastique. Toute inflammation persistante autour de la prothèse impliquant l'afflux de substrats protéiques, est propice à l'adhésion bactérienne sur matériel. A l'inverse toute bactériémie survenant après l'intégration tissulaire expose au risque de greffe dans une zone inerte immunodéficente. En effet, l'étude de la pathogenèse des infections sur corps étranger a prouvé une inhibition fonctionnelle des cellules phagocytaires et en particulier des macrophages et des PNN.

2.2.4 Facteurs de risque [4], [22], [27]

Les facteurs de risque d'infection sur prothèse sont maintenant bien connus grâce à l'étude épidémiologique réalisée par l'équipe de Mayo Clinic [4]. Les facteurs dominants sont les suivants:

- infection du site opératoire
- patient à haut risque d'infection nosocomiale
- antécédent de pathologie tumorale dans les 5 ans précédant l'arthroplastie
- arthroplastie préalable sur l'articulation opérée.

Dans la période pré-opératoire, les facteurs de risque liés au terrain sont dominés par :

- le diabète
- les maladies inflammatoires chroniques (polyarthrite rhumatoïde, lupus)
- les traitements immunosuppresseurs
- une pathologie néoplasique
- des facteurs de risque locaux du site opératoire : rasages traumatiques intempestifs, dermatoses inflammatoires ou infectieuses, escarre cutanée.

Dans la période per-opératoire il est rapporté :

- une durée d'intervention supérieure à 3h
- la qualité de l'hémostase et de la fermeture cutanée
- un environnement peu fiable : perforation des gants des opérateurs, utilisation de matériel ou solutés considérés à tort comme stériles, une contamination bactérienne de l'air importante.

Dans la période post-opératoire, les hématomes et la souffrance cutanée au niveau de la cicatrice constituent des facteurs de risque d'infection directe précoce, tout comme les conditions de pansement secondaire.

Des facteurs incertains subsistent comme l'obésité, l'insuffisance rénale ou encore la cirrhose...

2.3 Infections osseuses d'origine post-traumatique

L'origine post-traumatique d'une infection osseuse correspond à la fracture ouverte.

2.3.1 Classification

Deux classifications existent pour différencier les types de fractures ouvertes [21] :

- Classification de Cauchoix :
 - type I : ouverture punctiforme
 - type II : ouverture franche linéaire refermable
 - type III : avulsion avancée
- Classification de Gustilo et Anderson (anglo-saxonne) :
 - type I : ouverture punctiforme
 - type II : ouverture linéaire > 1 cm sans lésions étendues des parties molles
 - type III : lésion associée des parties molles
 - a) couverture focale possible
 - b) perte de substance étendue avec dégâts périostés
 - c) lésions artérielles associées

2.3.2 Physiopathologie [1], [27]

Le traumatisme ouvert est un facteur de risque important de complications septiques, survenant dans 20 à 50% des cas. Le foyer fracturaire implique une dévascularisation segmentaire brutale sidérant l'afflux d'effecteurs de l'immunité. L'hématome périlésionnel rapidement constitué est l'objet d'une colonisation bactérienne précoce.

Lorsqu'elle est provoquée par le traumatisme, l'infection peut être due au contact du foyer de fracture avec les vêtements du blessé, le sol, ou l'agent vulnérant lui-même.

L'infection résiduelle après consolidation de la fracture est une situation relativement fréquente provoquant alors soit :

- une ostéite visible par l'écoulement purulent sortant de la fistule,
- une pseudarthrose infectée.

La gravité est différente selon que l'infection siège à la cuisse ou à la jambe. En effet à la jambe, les parties molles sont moins complaisantes qu'à la cuisse. La peau est très proche de l'os et la fistule va rapidement se compliquer de rétractions cutanées. A l'inverse de ce qui se passe à la cuisse, la nécrose cutanée post-traumatique y est fréquente impliquant l'exposition du foyer et l'infection secondaire.

Tableau V: Problèmes dominants dans les pseudarthroses suppurées [21]

	Peau	Infection	Solidité osseuse
Cuisse	-	+++	+++
Jambe	+++	+/-	+

2.3.3 Germes en cause

Les bactéries qui colonisent l'hématome ont pour origine [1]:

- la flore cutanée : staphylocoques, streptocoques pyogènes
- la flore muqueuse saprophyte : entérocoques, bacilles Gram négatif
- les germes nosocomiaux opportunistes dès lors qu'il y a hospitalisation.

2.4 Infection de contiguïté

2.4.1 Physiopathologie

La greffe bactérienne dans la structure minéraloconjonctive de l'os peut aussi provenir d'un ensemencement à partir d'un foyer infectieux contigu. Une infection des structures anatomiques adjacentes peut être à l'origine d'une ostéomyélite dès lors qu'il y a captation de la bactérie par la corticale osseuse et effraction par voie rétrograde dans les canaux d'Havers et de Wolkman, responsable d'une infection d'allure centripète épargnant au début la zone centrale médullaire. Le plus souvent ces infections ont pour origine les parties molles avec une perte de substance mettant le foyer à ciel ouvert autorisant une suppuration chronique (escarres). Parfois, il s'agit d'un abcès piégé apposé à la surface de l'os et la chirurgie sera indispensable pour évincer l'inoculum bactérien [1].

L'extension de l'infection localisée aux parties molles peut avoir pour origine :

- une infection dermo-hypodermique : fasciite nécrosante ou gangrène gazeuse.
- une bursite infectieuse
- le panaris ou phlegmons
- le tétanos

Toutes ces infections s'étendent à l'os dans le cadre de complications ou de traitements trop tardifs [27].

2.4.2 Germes en cause [27]

Les principaux germes mis en causes dans les infections de contiguïtés sont énumérés dans le tableau VI :

Tableau VI: Germes responsables des infections de contiguïtés

Infection	Bactérie
Fasciite nécrosante	<i>Streptococcus pyogenes</i> (et parfois autres Streptocoques ou <i>Staphylococcus aureus</i>)
Gangrène gazeuse	<i>Clostridium perfringens</i>
Bursite infectieuse	<i>Staphylococcus aureus</i>
Panaris et phlegmons	<i>Staphylococcus aureus</i> (70%), Streptocoque (10%), rarement Entérobactéries
Tétanos	<i>Clostridium tetani</i>

3 Conclusion - Tableau comparatif

Pour résumer ce premier chapitre concernant l'origine des infections osseuses, un tableau récapitulatif des infections osseuses existantes avec les germes incriminés pour chacune est donné :

Tableau VII: Tableau récapitulatif

Infection	Germes principaux en cause
Ostéomyélite hématogène	<i>Staphylococcus aureus</i> ; bactéries gram -
Spondylodiscite	<i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Infection aiguë hématogène sur prothèse ostéoarticulaire	<i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Arthrite septique	<i>Staphylococcus aureus</i> ; Streptocoques
Post-opératoire	<i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Post-traumatique	Staphylocoques, Streptocoques pyogènes, Entérocoques, Bacilles gram -
De contiguïté	<i>Staphylococcus aureus</i> , Streptocoques pyogènes

Il est donc remarquable que les germes les plus fréquemment rencontrés dans les infections osseuses sont le *Staphylococcus aureus* et le *Staphylococcus epidermidis*.

La connaissance des modes de contamination est indispensable pour décider de mesures préventives, mais aussi pour rechercher une porte d'entrée et donc un traitement adéquat pour être le plus efficace possible.

CHAPITRE 2 :

TRAITEMENT DES INFECTIONS OSSEUSES

Le but d'un traitement est d'éradiquer le processus infectieux et de rétablir le fonctionnement de l'articulation atteinte. Le principe général est d'associer un traitement chirurgical à une antibiothérapie longue. Cette antibiothérapie est largement dominée par un traitement en intraveineux suivi d'un traitement oral, mais l'émergence de nouveaux concepts de traitements par voie locale élargissent les possibilités thérapeutiques.

1 Historique [15]

Les concepts thérapeutiques du traitement des infections ostéo-articulaires ont beaucoup évolué en 40 ans.

Des années 1960 à 1980 on est sur le concept séquentiel parentéral-oral. A cette époque les profils de sensibilité aux antibiotiques tels que les bêta-lactamines étaient excellents et les choix thérapeutiques étaient simples, focalisés sur les deux molécules : Pénicilline M et les céphalosporines de seconde génération. Dès cette époque, et devant le succès des différents protocoles de traitement intraveineux, le principe du traitement séquentiel, IV puis oral, a pu être établi, étayé par quelques études cliniques corrélant l'efficacité clinique à la bonne diffusion osseuse de ces antibiotiques. Ce traitement séquentiel permettait en outre de réduire les complications secondaires dues aux traitements IV prolongés.

Dans les années 1990, le traitement devient oral et ambulatoire. En effet la possibilité de raccourcir le traitement parentéral permettait de simplifier la surveillance de la phase orale ouvrant ainsi la porte au traitement ambulatoire.

Les années 2000 amènent à un allègement du traitement. Une modification importante de la sensibilité des principaux germes aux antibiotiques et l'apparition de souches clonales bactériennes multi-résistantes, a fait évoluer les traitements. Une attention toute particulière est donc donnée à la prévention grâce à l'antibioprophylaxie notamment par voie locale.

2 Prévention [22]

La prévention du risque infectieux concerne principalement les sites opératoires en chirurgie orthopédique et traumatologique. Elle comporte plusieurs niveaux et reste complexe en raison des nombreux facteurs de risque.

2.1 Améliorer l'information et l'éducation des intervenants

Il est primordial que l'ensemble des intervenants (patient, équipe soignante, personnel chargé de la stérilisation, de l'entretien des locaux et du matériel, techniciens et direction), soient informés et concernés par ce problème afin de participer activement à la diminution des facteurs de risque.

2.2 Etablir des procédures

Les procédures à mettre en place ont pour objectif de minimiser (voir corriger) les facteurs prédisposant à l'infection, et surtout réduire la contamination du site opératoire avant, pendant et après l'opération. Elles interviennent à quatre niveaux :

2.2.1 Chez le patient

- Préparation cutanée générale préopératoire : une douche antiseptique la veille et le matin de l'intervention chirurgicale est nécessaire pour réduire les germes et augmenter l'efficacité des antiseptiques qui agissent uniquement sur des surfaces propres. Un lavage savonneux permettra alors d'éliminer mécaniquement squames, croûtes et diverses souillures.
- Dépilation du site opératoire : si nécessaire juste avant l'intervention.
- Désinfection du site opératoire : elle se fait avec une solution alcoolique de polyvidone iodée ou de chlorhexidine.
- Antibio prophylaxie : elle permet d'améliorer ou suppléer les mécanismes de défense du patient. Elle est à adapter en fonction du type d'infection et des germes en cause.

2.2.2 Pour l'équipe soignante

- Lavage chirurgical des mains et avant-bras.
- Port de vêtements adaptés : blouse, coiffes et masques.
- Double gantage.
- Respect des règles de la chirurgie traumatique, de l'hygiène personnelle et d'asepsie des soins postopératoires.

2.2.3 Pour les installations

- Contrôle du traitement de l'air avec une surpression des salles d'intervention : vérification à l'aide de nanomètres.
- Contrôle bactériologiques.

2.2.4 Pour le matériel

Stérilisation des dispositifs médicaux avec contrôle systématique pour une meilleure traçabilité.

2.3 Evaluer les pratiques par un contrôle qualité

Des fiches de contrôle doivent être établies pour chaque patient, pour l'hygiène des locaux et les installations. Cette surveillance systématique permet de repérer et quantifier les écarts lors d'audits, grâce aux référentiels tels que les bonnes pratiques de fabrication (BPF). Ainsi l'analyse des causes des écarts permet d'élaborer des plans d'actions correctives pour diminuer les infections nosocomiales. Cette politique d'amélioration continue de la qualité fait partie de la démarche d'accréditation des établissements de santé.

2.4 Surveiller les infections du site opératoire et évaluer le risque infectieux

En chirurgie ostéoarticulaire, la surveillance des ISO doit s'effectuer à long terme puisque l'infection peut se révéler tardivement. Le Comité technique des infections nosocomiales (CTIN) recommande la surveillance des ISO dans tous les services de chirurgie, au minimum trois mois par an, en utilisant la méthodologie mise en place par le Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (RAISIN). Cette surveillance doit s'accompagner d'une évaluation du risque infectieux pour un même type d'intervention après identification des facteurs de risque. Le NNIS (National Nosocomial Infection Surveillance) a mis en place un indice de risque prenant en compte le score ASA (American Society of Anesthesiologists), la durée d'intervention et une chirurgie contaminée ou sale. Cet indice de risque va de 0 à 3 et permet de classer les patients dans les enquêtes épidémiologiques. En chirurgie orthopédique, l'index NNIS stratifie mal le risque infectieux, car 90% des patients opérés sont classés en NNIS 0 et 1. Les indicateurs de risque infectieux adaptés à la chirurgie osseuse restent donc à trouver.

L'incidence de l'ISO est un marqueur direct de la qualité des soins et de la sécurité sanitaire. La lutte contre les infections nosocomiales est devenue une priorité en santé publique, preuve en est la loi du 2 mars 2002 sur la notion de faute [18]. Les établissements dans lesquels sont réalisés des actes individuels de prévention, de diagnostic ou de soins, sont tenus pour responsables des dommages résultant d'infections nosocomiales, sauf s'ils apportent la preuve d'une cause étrangère (irréversible, imprévisible et extérieure).

2.5 L'antibioprophylaxie

Elle permet de diminuer fortement le risque d'infection ostéo-articulaire en intervenant avant l'acte chirurgical par administration d'antibiotiques. L'infection est un risque permanent en chirurgie car les bactéries trouvent dans la plaie opératoire un environnement favorable et l'acte chirurgical induit des anomalies des défenses immunitaires. C'est donc une action préventive qui a pour objectif de s'opposer à la prolifération bactérienne afin de diminuer le risque d'infections post-opératoires.

Cf. 5.2.7.

3 Diagnostic

3.1 Diagnostic médical [21], [27]

Le pathologiste a un rôle important pour confirmer une infection osseuse dont les symptômes cliniques et radiologiques sont caractéristiques. Une étroite collaboration entre clinicien et radiologue s'établit afin d'obtenir un traitement de qualité.

Le diagnostic médical commence par un bilan général où sont notés les signes généraux d'infection et la douleur. Des examens de laboratoire sont demandés (NFS peut montrer une leucocytose, une augmentation des globulines de l'infection, de la CRP). D'autre part le bilan local va rassembler l'état infectieux (purulence de la fistule, aspect du liquide...), l'état cutané (rétractions cutanées...), et l'état osseux par différents examens (radiographie, examen tomo-densitométrique, la fistulographie, l'artériographie et la résonance magnétique nucléaire).

Tableau VIII: Diagnostic médical des infections osseuses

Type d'infection	Symptomatologie clinique	Symptomatologie radiologique
Arthrite septique	Fièvre. Douleur. Signes inflammatoires au niveau de l'articulation atteinte : raideur douloureuse à la mobilisation, boiterie, impotence fonctionnelle.	Radiographie standard : interligne normal au début qui peut s'élargir sous la tension du pus.
Ostéomyélite	Syndrome infectieux : fièvre, frissons, céphalées, altération de l'état général. Douleur pulsatile. Signes inflammatoires localisés au niveau de l'os atteint. Symptomatologie parfois suraiguë mimant une douleur de fracture.	Radiographie : aucun signe au début puis tardivement aspect pommelé de l'os et réaction périostée. Parfois abcès de Brodie avec une image en cocarde d'une lacune osseuse contenant du pus. IRM précoce : présence de pus. TDM : séquestres. Scintigraphie : hyperfixation précoce.
Spondylodiscite	Contexte infectieux : fièvre, frissons, asthénie. Douleur rachidienne de rythme inflammatoire et d'intensité croissante. Rigidité rachidienne segmentaire associée à une douleur localisée à la palpation/percussion d'une épineuse. Signes de gravité : signes radiculaires ou médullaires (épidurite).	Radiographie : signes retardés avec un pincement discal puis érosion des plateaux et abcès périvertébral. IRM : très sensible et spécifique dès le début de l'infection. Scintigraphie osseuse : pour trouver d'autres foyers.
Infection de prothèse ostéo-articulaire	Contexte infectieux : fièvre, frissons, asthénie (voir syndrome dépressif). Douleur aiguë. Cicatrice opératoire inflammatoire voire bombante. Douleur à la mobilisation de l'articulation et nocturne. Fistule, rougeur localisée, asymétrie de chaleur, adénopathie.	Anomalies radiologiques inconstantes : aspect de descellement, apposition périostée, ostéolyse localisée. Echographie : présence anormale de liquide articulaire. Fistulographie avec arthrographie : permet de suivre la fistule et voir le descellement.

3.2 Diagnostic microbiologique [9], [13], [14], [27]

Le diagnostic d'une infection osseuse est toujours confirmé par un diagnostic microbiologique révélant la présence de germes et permettant ainsi de porter un diagnostic de certitude conduisant à une thérapie antibiotique plus ciblée. Pour cela différents types de prélèvements sont réalisés puis analysés pour rendre un résultat précis sur la bactériologie de l'infection étudiée.

3.2.1 Prélèvements

L'optimisation des prélèvements bactériologiques se fait en six points :

- le laboratoire de bactériologie doit être averti pour obtenir un examen direct rapidement ;
- il faut éviter d'instaurer une antibiothérapie avant les prélèvements (sauf en cas d'urgence infectieuse) : arrêt de l'antibiothérapie 15 jours auparavant ;
- l'ensemencement direct du liquide synovial dans des milieux de culture enrichis augmente les chances d'isolement et d'identification bactérienne ;
- les prélèvements doivent être profonds et multiples (pour confronter les résultats) après décontamination cutanée soignée ;
- la culture doit être prolongée ;
- en cas d'isolats de germes peu pathogènes, plusieurs isolats doivent être positifs pour le même germe.

La fiabilité de ce diagnostic va dépendre de la qualité des prélèvements, des modalités de leur transport jusqu'au laboratoire et des techniques utilisées dans ce laboratoire.

3.2.1.1 Prélèvements profonds

Les prélèvements superficiels avec écouvillonnage d'une fistule ou d'une cicatrice désunie, permettent d'isoler des bactéries cutanées dont l'intérêt pathologique n'a de valeur décisionnelle pertinente. Seuls les prélèvements profonds ont une valeur indiscutable.

Les prélèvements profonds sont des prélèvements de liquides de ponction articulaire ou de lavage articulaire, d'abcès, de biopsies synoviales, disco-vertébrales, de fragments tissulaires pathologiques (os, capsule, tissus nécrotiques), parfois de matériel (vis) prélevés lors de l'intervention.

Ces prélèvements doivent être manipulés à l'abri de toute contamination (cutanée ou salivaire) car des bactéries commensales peuvent être responsables d'une infection osseuse surtout lorsque du matériel étranger a été mis en place. La valeur des bactéries isolées sera alors authentifiée par leur présence dans plusieurs prélèvements profonds successifs.

3.2.1.2 Modalités de transport

Pour obtenir un résultat convenable certaines règles concernant le transport des prélèvements sont à respecter. Tout d'abord ils doivent arriver au laboratoire à température ambiante le plus rapidement possible, soit moins de deux heures après avoir été prélevés. Si ce délai ne peut être respecté, les prélèvements doivent être placés dans des milieux de transport permettant la survie de bactéries fragiles ou anaérobies. L'étiquetage doit être soigneux avec une fiche de renseignements comportant la localisation précise des échantillons, l'heure de prélèvement, les antécédents du site d'infection et l'existence d'une antibiothérapie.

Deux protocoles de conservation sont à suivre suivant le type de prélèvement.

3.2.1.2.1 Prélèvements liquides

Le plus souvent, les ponctions articulaires doivent être injectées dans des tubes contenant de l'héparine sèche fermés hermétiquement (type Vacutainer®) pour éviter la coagulation et ainsi faciliter la numération des cellules. Cependant il est plutôt conseillé de les inoculer dans un tube stérile contenant de l'EDTA préféré à l'héparine qui est un inhibiteur de PCR. De plus il est recommandé d'inoculer une partie des liquides articulaires dans deux flacons d'hémoculture, aérobies et anaérobies, et de les placer à l'étuve à 37°C durant 10 jours.

3.2.1.2.2 Prélèvements tissulaires

Les prélèvements solides sont déposés dans des pots stériles secs, sous emballage stérile, ou dans des milieux de transport.

3.2.1.3 Examen des prélèvements

Plusieurs types d'examens sont réalisables sur les prélèvements après préparation.

3.2.1.3.1 Préparation des prélèvements

Les prélèvements solides doivent être broyés etensemencés sous une hotte protectrice par un manipulateur portant des gants stériles. Le broyage se fait dans un mortier stérile avant une sonication brève du prélèvement (50Hz pendant 5 minutes) pour détruire le biofilm adhérent avant mise en culture. Plusieurs frottis sont ensuite préparés sur des lames pour coloration. Les prélèvements liquides sont eux directement analysables.

3.2.1.3.2 Les différents types d'examens

- Ensemencement sur milieux riches : les milieux liquides et solides doivent êtreensemencés sur des milieux riches utilisés habituellement au laboratoire :
 - gélose au sang incubée en aérobie à 37°C,
 - gélose chocolat supplémentée en polyvitamines, incubée sous 5% de CO₂ à 37°C,
 - gélose au sang en anaérobiose à 37°C,
 - milieux liquides enrichis, type bouillons d'hémoculture aérobie et anaérobie traditionnels.

L'incubation des milieux de culture est prolongée (minimum 7 jours) pour permettre la croissance de bactéries exigeantes, de croissance lente. Les cultures en aérobie et sous CO₂ sont à observer tous les jours, les cultures anaérobies toutes les 48 heures, les bouillons d'enrichissement sont repiqués dès qu'un trouble ou qu'une culture est observée ; ils sont systématiquement repiqués après au moins 7 jours d'incubation sur les milieux de culture gélosés et incubés à nouveau 48 heures supplémentaires.

- Dosage de l'acide lactique : le dosage des protéines, du glucose, des lactates et de la procalcitonine dans le liquide articulaire sont effectués en laboratoire. Ils apportent quelques indications mais n'ont pas de valeur dans le diagnostic d'une infection. Seule une concentration élevée d'acide lactique est hautement suggestive d'une infection bactérienne.
- Examen cytologique direct : il est indispensable à l'interprétation des résultats. Cet examen comporte :
 - l'aspect macroscopique du prélèvement : citrin, clair, trouble, puriforme, visqueux...

- une numération des éléments sur cellule de Malassez à usage unique. La quantité de leucocytes est un élément du diagnostic différentiel car un nombre > 5104 leucocytes/ml avec une prédominance de polynucléaires neutrophiles est en faveur d'une infection bactérienne ;
- une formule des éléments après coloration de May-Grünwald-Giemsa d'un frottis pour identifier les polynucléaires neutrophiles et les autres cellules ;
- la recherche immédiate de cristaux (urate de sodium, pyrophosphate de calcium) dans une goutte de liquide synovial ou d'un culot de centrifugation entre lame et lamelle et en contraste de phase ;
- une coloration de Gram pour rechercher des bactéries sur un frottis ou sur une lame après cyto-centrifugation, pour permettre une orientation thérapeutique en urgence ;
- des colorations spéciales telles que Ziehl ou l'auramine, pour la recherche des mycobactéries ;
- l'antibiogramme est réalisé selon les recommandations du CASFM, en prenant soin de tester, en fonction du germe en cause, les antibiotiques à bonne diffusion osseuse (fosfomycine, clindamycine, acide fucidique, linézolide, rifampicine, ciprofloxacine, triméthoprime-sulfaméthoxazole) ;
- PCR : une partie du matériel biopsique est congelée dans des tubes adaptés à -80°C pour permettre une étude de biologie moléculaire ultérieure. La PCR sera réalisée uniquement sur des prélèvements négatifs en culture ou pour lesquels un germe supposé contaminant a été isolé dans les flacons d'enrichissement (un résultat négatif en PCR pourra être un argument évocateur d'une contamination au moment de l'inoculation du liquide dans le flacon).

En pratique, il arrive que ces techniques ne puissent pas être toutes réalisées, faute d'une quantité suffisante de prélèvement. Il est alors recommandé dans ce cas d'effectuer en première intention un enrichissement et une PCR, sans examen direct ni culture standard, afin d'augmenter les chances de documenter l'infection.

3.2.1.4 Résultats des cultures [9]

3.2.1.4.1 Dans les infections aiguës

La coloration de Gram sur un frottis de pus révèle la présence de nombreux PNN et permet très souvent d'identifier la bactérie responsable de l'infection après quelques minutes de recherche.

Les cultures sont positives généralement en 24 heures et révèlent les pathogènes répertoriés dans la partie I sur l'origine des infections osseuses.

L'antibiogramme est obtenu 24 à 48 heures plus tard.

Dans les infections aiguës, l'interprétation des résultats bactériologiques ne pose donc aucun problème.

3.2.1.4.2 Dans les infections chroniques

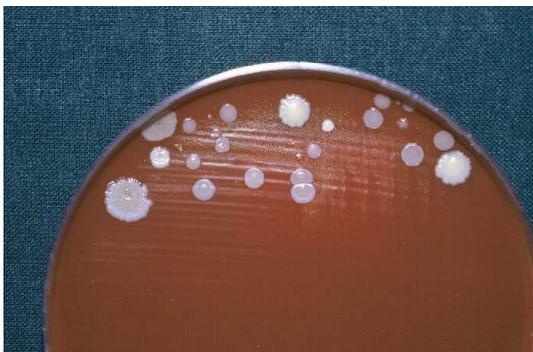
Le liquide articulaire prélevé autour d'une prothèse contient un nombre très variable de leucocytes mais le pourcentage de PNN est généralement élevé en cas d'infection (cf. Tableau IX).

Tableau IX: Analyse du liquide articulaire [9]

Liquide articulaire	Globules blancs/mm ³	Cellules prédominantes
Normal	200 – 600	mononucléées
Inflammatoire	3000 – 10000	mononucléées
Infection à pyogène	10000 – 100000	> 90% de PNN
Infection tuberculeuse	10000 – 20000	50 – 70% de PNN
Infection mycosique	3000 – 30000	70% de PNN
Infection sur prothèse articulaire	100 – 380000	90% de PNN
Descellement aseptique de prothèse articulaire	45 - 5500	20% de PNN

Dans les infections aiguës, les cultures se caractérisent par :

- un faible nombre de colonies dans les prélèvements profonds apparaissant rarement avant 48 h de culture (cf. Figure 6),
- des cultures positives parfois uniquement en milieux liquides enrichis, n'apparaissant qu'après 4 à 5 jours minimum,
- des colonies ayant des aspects différents sur un même milieu gélosé et pouvant avoir des antibiogrammes différents (cf. Figure 6),
- des microcolonies de culture lente et d'aspect atypique,
- des associations bactériennes (dans 10 à 20% des cas).



Aspect classique d'un milieu de culture gélosé après ensemencement de prélèvements osseux profonds lors d'une infection chronique autour d'une prothèse articulaire, montrant plusieurs aspects de quelques colonies de Staphylocoques à coagulase négative. L'aspect polymorphe des colonies peut faire penser à un prélèvement contaminé.

Figure 6: Photo d'une gélose typique lors d'infection ostéoarticulaire chronique [9]

Pour les infections chroniques l'interprétation des résultats est plus délicate et repose donc sur la comparaison de plusieurs prélèvements profonds. Il s'agit alors :

- d'une véritable infection si plusieurs prélèvements sont positifs avec les mêmes bactéries ayant les mêmes phénotypes de résistance aux antibiotiques,
- d'une infection probable si un ou deux prélèvements sont positifs,
- d'une probable contamination lorsqu'un seul prélèvement est positif dans un seul milieu de culture,
- d'un résultat ininterprétable lorsqu'un seul milieu de culture est positif pour l'unique prélèvement effectué.

4 Traitement chirurgical

Les antibiotiques classiques ou modernes n'empêchent pas l'évolution histologique de l'infection osseuse. En effet après l'inflammation apparaît la nécrose associant lyse osseuse, construction et séquestres. La chirurgie n'a le pouvoir de guérir l'infection qu'au prix de sacrifices osseux plus ou moins importants réalisés par l'excision. Or si les indications opératoires dans les infections post-traumatiques sont larges étant donné que l'infection est localisée, elles sont rares dans les infections hématogènes qui sont plus étendues et mal limitées [20].

4.1 Dans l'ostéomyélite hématogène [20], [22]

Ici l'intervention chirurgicale n'a pas la prétention de guérir l'infection mais amène une amélioration relativement durable.

4.1.1 Le nettoyage focal

Il est d'autant plus indiqué lors de la présence de séquestres osseux. Dans ce cas la séquestrectomie a beaucoup de chances d'améliorer de façon durable la situation infectieuse. Elle consiste à exciser prudemment les zones manifestement infectées et purulentes. Il faut cependant faire attention notamment lors de la trépanation car l'os est cassant et donc l'intervention peut le fragiliser. La trépanation est donc agrandie de proche en proche en veillant à ne pas fragiliser la zone. De plus la séquestrectomie est souvent difficile à limiter quand il s'agit d'un séquestre dans la continuité osseuse et le nettoyage entraîne une cavité osseuse, source de récurrence. Il est dangereux d'enlever plus du quart de la circonférence d'une diaphyse au membre inférieur. Par ailleurs, le risque de fragilisation doit être pesé en fonction de la qualité de l'os sous-jacent. Un os d'ostéomyélite chronique peut être volumineux, mais fragile par son manque d'élasticité. L'étendue de la trépanation doit être guidée par des examens préopératoires (tomodensitométrie).

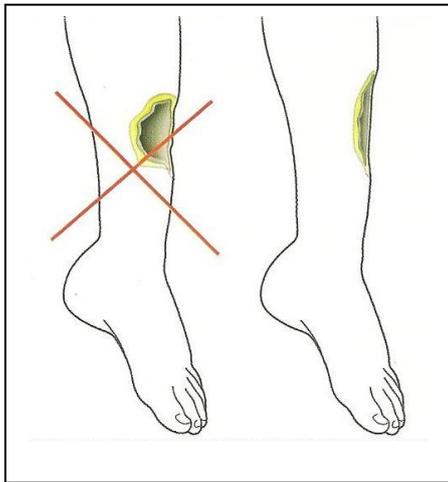
4.1.2 Le comblement de la cavité de résection

De taille variable mais de forme souvent allongée, le drainage seul reste insuffisant car il provoque à long terme des fongosités septiques et donc un réservoir de tissus infectés. Quatre méthodes existent dans ce cas.

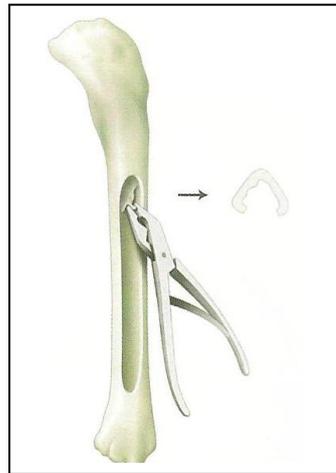
4.1.2.1 La non fermeture cutanée

Cette technique est autrement nommée « la saucérisation » (cf. Figure 7). Sachant que le bourgeonnement et la cicatrisation se produisent par le fond, laisser ouvert apporte une sécurité en ce qui concerne l'infection. Le principe de cette intervention est de transformer une cavité de drainage difficile en une perte de substance évasée et plate. Elle concerne le plus souvent la face interne du tibia. L'excision osseuse enlève la quasi-totalité des tissus osseux nécrosés ou infectés et l'intervention est terminée par un pansement gras fortement appliqué dans le fond de la cavité de saucérisation. Ce pansement douloureux doit être fait tous les deux jours après nettoyage. Il y a tout de même des limites notamment avec le fémur où la cicatrisation se fait souvent plus vite en surface qu'en profondeur. Par ailleurs, certaines localisations profondes et antérieures ne peuvent pas cicatriser après avoir été laissées ouvertes (exemple de la hanche).

Pour finir il faut noter que la cicatrisation dirigée ne met pas plus à l'abri de récurrences tardives que les autres techniques. Ces raisons font que la saucérisation ne doit être qu'une thérapeutique d'exception.



Une saucérisation arrondie doit être évitée sous peine de rencontrer de grosses difficultés de cicatrisation cutanée.



La saucérisation doit être elliptique, ovale et très allongée.

Figure 7: Représentation schématique de la saucérisation [22]

4.1.2.2 L'irrigation lavage

Elle consiste à assurer un flux liquidien permanent pendant la durée du comblement de la cavité par du tissu fibreux. Ce flux a pour but de laver au fur et à mesure que se comble spontanément la cavité. Cette technique est encore très utilisée mais sa réalisation pratique est difficile. En effet les tuyaux peuvent s'obstruer et du fait que les drains restent longtemps en place le risque de contamination infectieuse persiste. Deux types de drainage existent :

- drainage aspiratif : il permet l'évacuation de liquide épais voir purulent. Il faut attendre l'assèchement complet pour l'arrêter ;
- drainage non aspiratif : il permet d'assurer l'évacuation mécanique des sérosités et former un trajet qui, ses parois étant saines et la production profonde diminuant, se tarira spontanément. Peuvent être utilisés des mèches iodoformées (peu efficace car fait souvent bouchon), des lames ondulées de caoutchouc (souple et peu irritant), ou encore des drains (véritables canaux de drainage). Cette méthode a pour inconvénient de mettre en contact la cavité osseuse avec l'extérieur et donc de risquer de contaminer un foyer osseux.

4.1.2.3 La greffe spongieuse

Il a été démontré que le spongieux était susceptible de résister à l'infection, d'où une utilisation potentielle comme matériau de remplissage. Cependant le spongieux ne s'incorpore que par l'intermédiaire du bourgeon charnu. Environné de parties molles il est un bon inducteur d'ostéogenèse, mais dans une cavité osseuse il forme un corps étranger et s'intègre mal. Il ne doit donc pas être préconisé dans l'infection d'un os solide, mais son utilisation se conçoit dans un réceptacle de parties molles vivantes susceptibles de bourgeonner.

4.1.2.4 Les lambeaux musculaires

L'implantation d'un muscle dans une cavité ostéitique permet de la combler et de lui apporter un tissu vivant par sa vascularisation. Ceci rend efficace l'antibiothérapie générale en augmentant considérablement les taux locaux. Ce comblement peut se pratiquer en détournant l'insertion distale d'un muscle de voisinage.

4.2 Dans l'infection post-traumatique [20], [21], [22]

Contrairement à l'ostéomyélite hématogène où l'infection siège sur tout un segment diaphysaire, il est ici facile d'envisager la « stérilisation » osseuse complète en étant plus agressif sur les fistules post-traumatiques. Dans les ostéites sur os solide, la technique chirurgicale se déroule en trois temps.

4.2.1 L'excision

Seuls doivent être excisés les éléments mous manifestement nécrosés. Les zones simplement scléreuses doivent être respectées car l'environnement péri-osseux a un rôle fondamental dans la guérison de l'infection et une excision outrancière de parties molles risque de rendre impossible la fermeture cutanée sans pour autant avoir un grand bénéfice anti-infectieux puisque les parties molles sont très accessibles aux antibiotiques. Enfin lorsque cela est anatomiquement possible, l'excision de la fistule est préférable, sinon le trajet fistuleux sera prudemment cureté. Cette excision est une étape similaire au nettoyage focal décrit en **4.1.1**.

4.2.2 Le comblement

Plusieurs techniques de comblement sont utilisables.

4.2.2.1 Le comblement par des matériaux inertes

Depuis très longtemps le comblement des cavités ostéitiques a été tenté. L'utilisation de matériaux inertes n'a été un succès que lorsque ceux-ci secrètent des antibiotiques afin de ne pas être reconnu comme corps étrangers. Le comblement peut se faire par :

- des gentabilles : **cf. 5.3.1**
- du ciment acrylique : **cf. 5.3.2**

4.2.2.2 Le comblement par des lambeaux musculaires

Cette méthode a déjà été décrite au paragraphe **4.1.2.4**.

4.2.3 La couverture

L'opérateur a le choix de laisser ouverte la plaie ou d'effectuer une fermeture cutanée. Sachant que la saucérisation n'est pas une bonne solution pour les cavités très profondes, il faut donc mieux faire appel à des fermetures très larges prenant à distance des parties molles vivantes. Pour cela deux méthodes sont possibles :

- la sculpture des parties molles : il faut décoller les parties molles en bloc, sans disséquer la peau, afin que celles-ci viennent recouvrir la zone d'excision ostéitique. Le point chirurgical à utiliser est le « loin/près-près/loin » pour reporter à distance les tractions tout en invaginant la berge suturée en direction de la profondeur (cf. Figure 8) ;

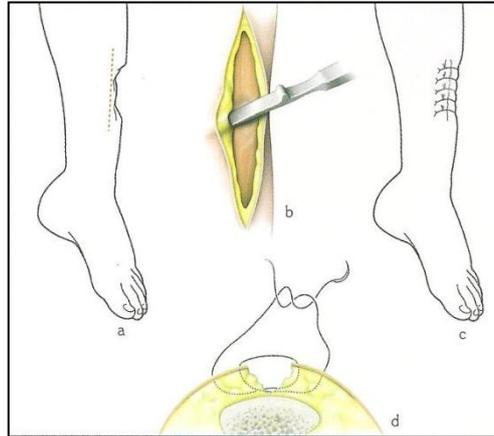


Figure 8: Représentation schématique de la sculpture des parties molles [22]

- l'utilisation de lambeaux cutanés ou fasciocutanés : cette technique s'utilise surtout à la jambe où la méthode de sculpture des parties molles n'est pas appréciable car ce n'est pas une zone dite « charnue ».

4.2.4 Pratiques complémentaires

Il ne faut pas hésiter à recourir au fixateur externe préventif (on parle de stabilisation) et à la greffe osseuse de renforcement complémentaire (souvent greffe de spongieux) afin d'éviter les fractures iatrogènes.

4.2.4.1 Stabilisation par fixateur externe

La consolidation impose une stabilisation parfaite dans un premier temps en utilisant une fixation unilatérale. Dans le cas d'une fixation externe diaphysaire (cf. Figure 9) les fiches doivent avoir au moins 5mm de diamètre. Les prises doivent être très étendues sur les diaphyses, une fiche étant mise le plus près possible du foyer sans toutefois être dans la zone infectée, une autre étant le plus loin possible du foyer dans la mesure du matériel possible.

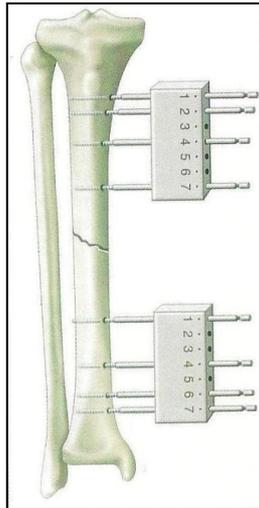
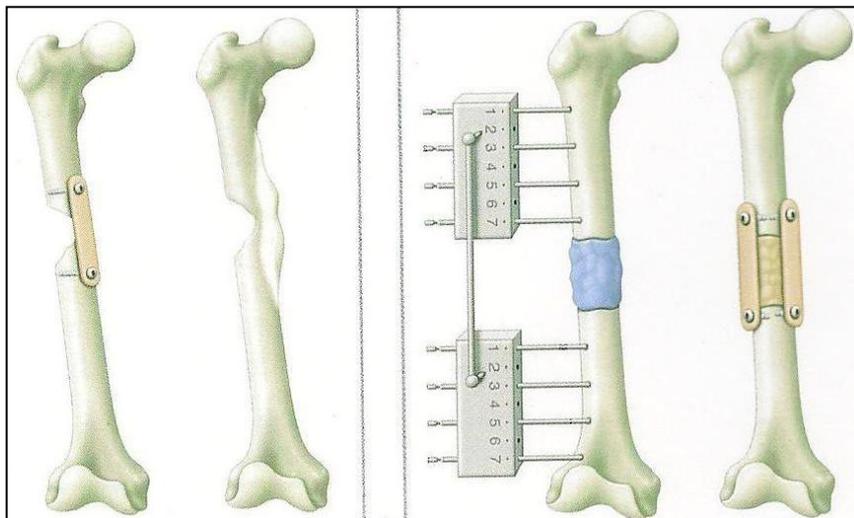


Figure 9: Représentation schématique de la fixation diaphysaire [22]

4.2.4.2 Reconstruction

Elle est assurée par des greffes osseuses. Deux possibilités se présentent : reconstruction avec fermeture cutanée par greffe cortico-spongieuse (car l'os cortical supporte mal l'exposition à l'air et se nécrose) et la greffe spongieuse à ciel ouvert (colonisation par le bourgeon charnu assurant la cicatrisation de deuxième intention).

- Greffe cortico-spongieuse : cette greffe nécessite une fermeture cutanée et un assèchement parfait du foyer. Elle n'est pas pratiquée avant la sixième semaine. Ce type de greffe nécessite une voie d'abord vierge (cf. Figure 10). Elle est malheureusement soumise à deux complications : la récurrence septique et la fracture itérative.

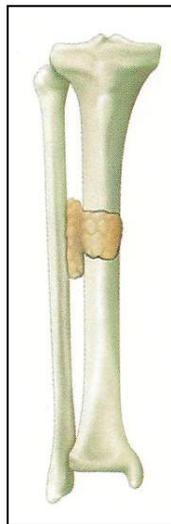


Résection diaphysaire greffée par voie d'abord vierge.

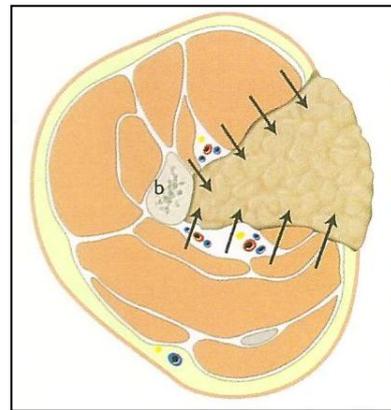
Résection diaphysaire traitée par greffe cortico-spongieuse mise en place par la voie d'abord qui est initiale, en 2 temps. Le 1^{er} temps d'exsion a comporté la mise en place d'une entretoise de ciment acrylique.

Figure 10: Représentation schématique de la résection diaphysaire [22]

- Grefe spongieuse : cette méthode est très intéressante à condition que le spongieux soit posé en grande quantité et dans un réceptacle de parties molles vivantes de bonne qualité. À la jambe, l'appui de la greffe spongieuse sur le péroné donne une stabilité supplémentaire (cf. Figure 11).



Grefe spongieuse à ciel ouvert appuyé sur le péroné. Le spongieux est mis en place entre les extrémités tibiales et va d'emblée prendre appui sur le péroné a vivé.



Grefe spongieuse à ciel ouvert appuyé sur le péroné. Le spongieux est mis en place dans une cavité dont les parois sont essentiellement musculaires, permettant un envahissement rapide du spongieux par le bourgeon.

Figure 11: Représentation schématique d'une reconstruction par greffe spongieuse [22]

4.3 Dans l'infection post-opératoire [4], [20]

L'apparition d'une infection précoce après une opération chirurgicale orthopédique est devenue rare depuis la généralisation de l'antibioprophylaxie. Au début de l'infection, en post-opératoire immédiat, les germes sont seulement apposés à l'os et au matériel, ce qui est donc facilement guérissable par un grand lavage. En effet, l'os est lent à réagir à l'infection, la réaction inflammatoire y est infiniment plus lente à survenir qu'au niveau des tissus mous. Par contre si l'infection dure le matériel voit progressivement disparaître son intérêt mécanique car l'ostéolyse infectieuse lui fait perdre ses appuis dans l'os. Dans ce dernier cas l'ablation du matériel peut être envisagée. Il existe quatre possibilités de traitement.

Dans les infections post-opératoires nous retrouvons trois étapes du traitement chirurgical des infections post-traumatiques qui sont : excision/nettoyage focal + stabilisation + reconstruction. Sans répéter ces étapes, sera exposé ici le cas des infections de prothèse articulaire.

4.3.1 Lavage de l'articulation avec prothèse laissée en place

Un débridement de tous les tissus infectés et un lavage de l'articulation sont effectués le plus souvent à ciel ouvert. Cette méthode est habituellement réservée aux infections post-opératoires précoces (<1 mois) et/ou à germes peu virulents et/ou aux personnes présentant des contre-indications à la reprise chirurgicale. Cette technique est d'autant plus efficace qu'elle est réalisée très précocement par rapport au début des signes infectieux (<2 jours).

4.3.2 Remplacement de prothèse en un temps

La prothèse infectée est réséquée (en totalité ou en partie), avec un lavage articulaire et un curetage extensif des tissus suspects. Puis dans le même temps opératoire, une nouvelle prothèse est réimplantée avec le plus souvent un scellement par un ciment imprégné d'antibiotique. Cette technique permet d'éviter l'alitement prolongé mais reste peu utilisée (moins répandue aux Etats-Unis qu'en Europe).

4.3.3 Remplacement en deux temps

Il s'agit de l'ablation de tous les composants prothétiques, d'un nettoyage et curetage, associé à une résection de la tête et du col et une mise en place d'un *spacer* (= espaceur) contenant des antibiotiques. Après plusieurs semaines d'antibiothérapie, une nouvelle intervention est réalisée avec implantation d'une nouvelle prothèse. Les résultats à long terme de cette méthode en font le traitement le plus efficace des infections de prothèse et reste une méthode de choix aux Etats-Unis. Cependant des cas la contre-indiquent : perte de substance osseuse compromettant une réimplantation en cas de résection temporaire, patients fragiles susceptibles de ne pas tolérer l'immobilisation. De plus, des raisons techniques peuvent rendre l'ablation totale du matériel impossible.

4.3.4 Résection tête et col (hanche) ou arthrodèse (genou)

Cette technique n'est plus utilisée que dans les situations désespérées (après échec de la reprise) et chez les patients au pronostic fonctionnel déjà compromis. Elle demeure la seule solution en cas de perte de substance osseuse interdisant une nouvelle prothèse ou d'infection à germes difficiles à éradiquer.

La Figure 7 résume la conduite à tenir en cas d'infection sur prothèse ostéo-articulaire :

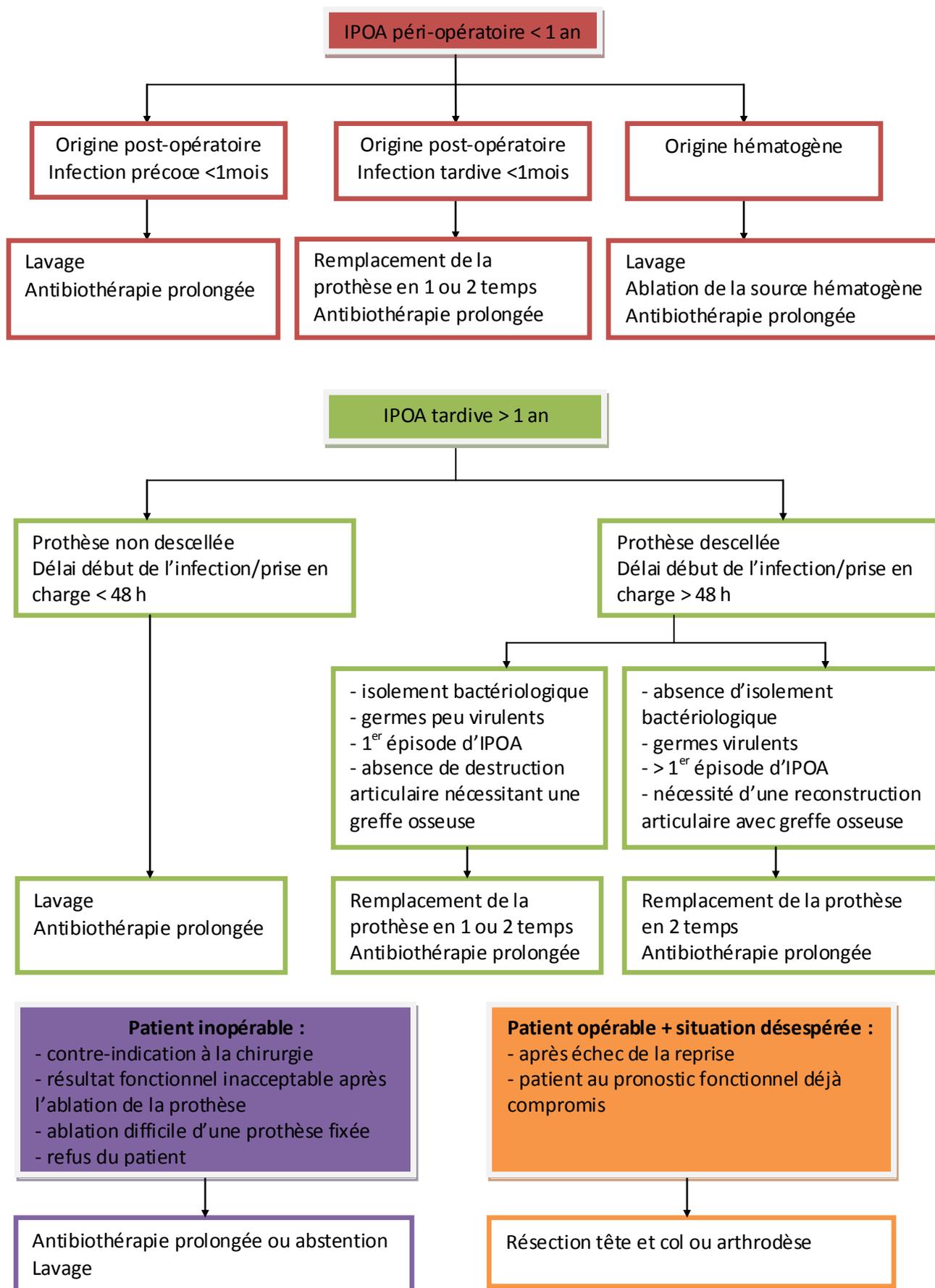


Figure 12: Conduite à tenir en cas d'infection sur prothèse ostéo-articulaire [4]

5 Traitement antibiotique

Le traitement par antibiotiques doit prendre en compte plusieurs paramètres [15], [31] :

- l'épidémiologie bactérienne actualisée des infections osseuses selon leur origine, avec identification précise du ou des germes responsables
- les profils de sensibilité des germes circulants,
- les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des différents antibiotiques sur le marché,
- la qualité du geste chirurgical lorsque celui-ci est indiqué,
- la diffusion des antibiotiques dans le site articulaire et/ou osseux,
- l'état local et immunitaire du patient, ainsi que sa tolérance aux antibiotiques.

Tous ces éléments vont avoir une influence sur l'efficacité thérapeutique.

L'identification du germe responsable de l'infection est primordiale avant toute antibiothérapie. Elle se fait sur des prélèvements profonds analysés en laboratoire selon les techniques vues en **3.2**. Le résultat permettra d'instaurer le traitement antibiotique le plus ciblé possible.

5.1 Traitement antibiotique par voie générale

Le choix des molécules, leur association, leurs modalités d'administration et la durée du traitement reposent sur la connaissance des caractéristiques pharmacodynamiques des antibiotiques in vitro, sur des données expérimentales chez l'animal, sur des données physiopathologiques et sur l'expérience clinique. Les essais thérapeutiques concernant le traitement antibiotique des infections ostéo-articulaires chez l'homme sont souvent méthodologiquement imparfaits, et ne permettent toujours pas de dégager des recommandations thérapeutiques indiscutables. Malgré cela, certains principes concernant le choix des molécules, la posologie, la voie et le mode d'administration, s'appliquent à l'ensemble de ces infections. Celles-ci restent potentiellement graves, mettant toujours en jeu le pronostic fonctionnel, et parfois le pronostic vital. Leurs traitements doivent être initiés en milieu hospitalier. Il est cependant important de bien distinguer certaines infections qui nécessitent en plus du traitement antibiotique, un traitement chirurgical comme vu précédemment en **4**. [31].

5.1.1 Diffusion osseuse des antibiotiques [2], [22], [31]

La pharmacocinétique et la pénétration des antibiotiques dans l'os, la synoviale ou le liquide articulaire infectés, sont mal connues chez l'homme en raison des difficultés pratiques et techniques que posent l'obtention des tissus et l'extraction des antibiotiques de ces prélèvements.

Des travaux indiquent que les concentrations d'antibiotiques dans un os infecté ne sont pas homogènes et dépendent de la localisation du prélèvement et de l'état de l'os prélevé. Elles sont proportionnelles aux concentrations sériques et donc à la posologie et à la fréquence d'administration des doses (intérêt des perfusions continues). Elles dépendent de chaque molécule y compris dans une même famille d'antibiotiques.

Les concentrations d'antibiotiques dans la synoviale sont équivalentes au tiers des concentrations sériques. En général, dans l'os les concentrations atteignent 20 à 40 % des concentrations sériques,

sauf pour certaines molécules privilégiées dont les concentrations osseuses sont équivalentes aux taux sériques (clindamycine, rifampicine, péfloxacine) ou lorsqu'on administre les antibiotiques en perfusion continue (vancomycine, certaines β -lactamines). Dans l'os nécrosé dépourvu de vascularisation, les concentrations d'antibiotiques ne sont pas détectables.

Plus les concentrations sériques d'un antibiotique à demi-vie longue sont élevées, plus les concentrations osseuses sont importantes permettant d'espérer une plus grande efficacité, à condition que celui-ci ne soit pas toxique et soit actif sur le germe en cause.

Tableau X: Pénétration osseuse des antibiotiques [31]

Famille	Molécules (IV)	Concentration antibiotique os/sérum (%)
β -lactamines	Pénicillines	10 à 30
	Céphalosporines	10 à 30
	Imipenème	Non précisé mais faible
	Aztréonam	20
Glycopeptides	Vancomycine	10 à 30
	Teicoplanine	10 ou plus
Cyclines		30 à 100
Clindamycine		30 à 50
Rifampicine		40
Acide fusidique		50
Fosfomycine		15 à 20
Aminosides		30
Trimethoprime		20 à 50
Quinolones	Péfloxacine	30 à 250
	Ciprofloxacine	30 à 50
	Ofloxacine	30 à 50
	Levofloxacine	25 à 100

 Antibiotiques à bonne pénétration osseuse.

5.1.2 Voie et modalités d'administration de l'antibiothérapie[2], [22], [31]

En règle générale, les formulations orale et intraveineuse d'un antibiotique ne donnent pas pour une posologie identique des concentrations sériques identiques, elles ne sont pas bioéquivalentes. La voie intraveineuse donne des concentrations sériques supérieures à celles obtenues par prise orale à la même posologie. De rares molécules (péfloxacine, clindamycine, acide fusidique et linézolide) donnent les mêmes concentrations à condition qu'il n'y ait pas d'interférences médicamenteuses chez le patient pouvant perturber l'absorption digestive de ces antibiotiques (pansement gastrique, fer, vitamines, benzodiazépines,...). Les trois modes d'administration les plus utilisés sont donc la voie orale, intraveineuse et la perfusion continue. Ils possèdent chacun des avantages et des inconvénients.

5.1.2.1 Antibiothérapie orale

Elle est facile à prescrire et facile à prendre pour le patient. En effet, elle lui permet de quitter l'hôpital rapidement mais implique des explications précises quant à la régularité de prise et le respect des intervalles (toutes les douze ou huit heures). Il est aussi nécessaire de veiller à ce que

l'absorption digestive ne soit pas perturbée par d'autres médicaments qui peuvent interférer sur des voies métaboliques. Ainsi le contrôle des concentrations sériques des antibiotiques est indispensable pour surveiller l'observance et optimiser l'efficacité. Les posologies recommandées dans les index thérapeutiques sont généralement inadaptées pour traiter une infection osseuse. Les dosages sériques des antibiotiques révèlent très souvent des concentrations sériques insuffisantes pour espérer obtenir des concentrations osseuses satisfaisantes. La tolérance digestive de fortes doses d'antibiotiques prises par voie orale de façon prolongée est très médiocre, en particulier chez les personnes âgées, souvent polymédicamentées. La prise orale prolongée de deux antibiotiques est rarement bien tolérée. De plus, la plupart des antibiotiques ont une biodisponibilité moyenne (pénicilline) voire mauvaise (céphalosporine). L'antibiothérapie orale est donc beaucoup trop aléatoire pour être recommandée initialement dans le traitement des infections ostéo-articulaires qui nécessite alors une voie injectable.

5.1.2.2 Antibiothérapie intraveineuse

Pour être plus efficace, l'administration intraveineuse de l'antibiothérapie est incontournable dans le traitement de ces infections sévères s'accompagnant de chirurgie lourde et bien souvent de réanimation. Il s'agit d'une bithérapie voire d'une trithérapie utilisant au moins un antibiotique intraveineux associé si possible à un aminoside pendant une partie du traitement. L'antibiothérapie IV est généralement administrée en discontinu. Une voie veineuse centrale est nécessaire pour permettre confortablement l'administration prolongée du traitement. La pose d'une chambre implantable peut être justifiée si le traitement IV est poursuivi plusieurs mois en ambulatoire. L'utilisation d'une voie veineuse centrale implique la surveillance de son fonctionnement (retour veineux) et de la position de l'extrémité du cathéter (radiologie). Des complications inhérentes à sa présence prolongée peuvent survenir : thrombose ou encore infection sur cathéter. Cette pose nécessite donc des soins aseptiques rigoureux effectués par des infirmières habituées à ces dispositifs.

5.1.2.3 Administration des antibiotiques en perfusion continue

Certains antibiotiques peuvent être administrés en perfusion continue, assurant des concentrations sanguines permanentes et des concentrations osseuses proportionnelles. Ce mode d'administration en perfusion continue, à la seringue électrique ou par diffuseur, semble très intéressant pour atteindre des concentrations osseuses plus élevées. Il peut être utilisé dans les infections osseuses et dans les infections sur prothèses, pour les molécules ayant une bactéricidie temps dépendante (β -lactamines, vancomycine, clindamycine et fosfomycine) et une stabilité pendant 12 à 24 heures. Il est important de souligner que seules la vancomycine et la ceftazidime (β -lactamine) ont une autorisation de mise sur le marché pour ce mode d'administration. La perfusion continue permet d'obtenir des concentrations stables et plus élevées que la perfusion discontinu. La tolérance est bonne et la toxicité faible, à condition d'adapter la posologie à l'âge, au poids et à la fonction rénale avec une surveillance régulière.

5.1.2.4 Synthèse

Le tableau IV récapitule les avantages et inconvénients de ces trois méthodes :

Tableau XI: Avantages et inconvénients des trois modes d'administration par voie générale des antibiotiques

Mode d'administration de l'antibiothérapie	Avantages	Inconvénients
Voie orale	<ul style="list-style-type: none"> -Facilité de prescription. -Facilité de prise. -Economique (pas d'hospitalisation). 	<ul style="list-style-type: none"> -Nécessité d'une observance rigoureuse du patient. -Contrôle des concentrations sériques. -Mauvaise tolérance digestive. -Biodisponibilité moyenne.
Voie intraveineuse	<ul style="list-style-type: none"> -Meilleure efficacité. -Administration confortable avec pose d'une voie veineuse centrale. -Bonne biodisponibilité. 	<ul style="list-style-type: none"> -Invasif. -Nécessité de l'intervention régulière d'une infirmière. -Complications : thrombose, infections sur cathéter.
Perfusion continue	<ul style="list-style-type: none"> -Bonne tolérance et toxicité faible. -Concentration médicamenteuse constante, stable. -Concentration osseuse plus élevée. 	<ul style="list-style-type: none"> -Seules la vancomycine et la ceftazidime ont l'AMM. -Adaptation permanente de la posologie en fonction de l'âge, du poids et de la fonction rénale. -Surveillance régulière.

5.1.3 Adaptation des posologies à chaque patient [22], [31]

La posologie des antibiotiques doit tenir compte de l'âge et du poids, être adaptée aux fonctions rénale (aminosides, glycopeptides, quinolones), hépatique (quinolones, rifampicine, acide fusidique) et cardiaque (fosfomycine) de chaque patient ainsi qu'aux différents traitements personnels (benzodiazépines, antirétroviraux...). L'antibiothérapie d'une infection osseuse est un traitement sur mesure adapté à chaque patient. Les posologies utilisées sont généralement élevées mais chez les malades les plus graves, les dosages sériques des antibiotiques révèlent trop souvent des concentrations insuffisantes pour espérer obtenir des concentrations osseuses satisfaisantes. Ces dosages sont indispensables pour optimiser l'antibiothérapie.

(cf. Annexe 1: Posologie, voie d'administration et concentrations sériques souhaitées des antibiotiques dans les infections ostéo-articulaires)

5.1.4 Choix des antibiotiques [2], [22], [31]

Le choix de l'antibiothérapie dépend du germe en cause. La mauvaise utilisation des antibiotiques est responsable d'un échec thérapeutique. La rechute infectieuse est due à la persistance de la même bactérie qui a conservé une sensibilité inchangée aux antibiotiques précédemment utilisés, ou qui au contraire est devenue résistante complètement ou partiellement. Rappelons que l'activité in vitro d'un antibiotique sur un antibiogramme n'est pas synonyme d'efficacité clinique. Des propositions thérapeutiques sont faites suivant le type d'infection osseuse et en fonction des bactéries responsables de l'infection.

5.1.4.1 Suivant le type d'infection osseuse

Un traitement antibiotique est recommandé pour plusieurs types d'infections osseuses:

- les arthrites et spondylodiscites aiguës non compliquées. L'association synergique d'antibiotique en début de traitement permet d'augmenter l'intensité et la vitesse de l'activité bactéricide.
- les infections ostéo-articulaires chroniques. Le choix de l'antibiothérapie initiale repose sur l'identification du germe ainsi que l'histoire du patient et associera des antibiotiques bactéricides.
- les infections aiguës (arthrite, spondylodiscite, infection aiguë sur prothèse). La biantibiothérapie bactéricide à large spectre est administrée sans délai, dès que les prélèvements de diagnostic bactériologique ont été effectués.

Dans tous les cas le traitement est ensuite réajusté après obtention des résultats des prélèvements bactériologiques.

5.1.4.2 Suivant les bactéries responsables de l'infection osseuse

Les propositions thérapeutiques sont récapitulées dans le tableau XII .

Tableau XII: Propositions thérapeutiques pour infection ostéo-articulaire [2]

Famille de bactéries	Activité antibiotique sur l'antibiogramme	Antibiothérapie bactéricide IV sur 6 semaines (association)		Relais oral secondaire
Staphylocoques multisénsibles (Gram +)	Oxacilline S	Oxacilline/Clxacilline	Gentamicine	
		Céfazoline	Rifampicine	
		Céfotaxime	Fosfomycine	
	Erythromycine S	Clindamycine	Gentamicine Rifampicine	Clindamycine Rifampicine
Lévofloxacine S Acide fusidique S Rifampicine S	Molécules à protéger en début de traitement : risque de mutants résistants		Lévofloxacine - Rifampicine Acide fusidique - Rifampicine Lévofloxacine - Acide fusidique	
Staphylocoques multirésistants (Gram +)	Genta R	Vancomycine	Acide fusidique Fosfomycine	Acide fusidique
	Genta S, Tobra R	Vancomycine	Gentamicine	Acide fusidique
	Genta R, Acide fusidique R, Fosfomycine R	Vancomycine	Linézolide	Linézolide
Streptocoques β-hémolytiques (Gram +)	Péni S, Amoxi S, Erythro S	Pénicilline G Amoxicilline Céfazoline	Gentamicine	Amoxicilline Défalexine
	Genta S	Clindamycine		Clindamycine
	Allergie	Vancomycine	Gentamicine	Linézolide
Entérocoques (Gram +)	Amoxi S, Genta S	Amoxicilline à fortes doses	Gentamicine Rifampicine	Amoxicilline à fortes doses Rifampicine
	Amoxi I, Genta R	Vancomycine	Rifampicine Linézolide	Linézolide
Anaérobies (Gram +)	Amoxi S	Amoxicilline	Rifampicine	Amoxicilline Rifampicine
	Céfazoline S, Erythro S	Céfazoline Clindamycine		Céfalexine - Rifampicine Clindamycine - Rifampicine
Anaérobies (Gram -)		Tazocilline Métronidazole	Rifampicine	Métronidazole
Entérobactéries multisénsibles (bacilles Gram -)		Céfotaxime	Fosfomycine	Ciprofloxacine
		Céfotaxime	Gentamicine/Amikacine	Ciprofloxacine
		Ceftriaxone	Fosfo/Genta/Amikacine	Ciprofloxacine
		C3g	Ciprofloxacine	Ciprofloxacine
Entérobactéries résistantes ou Ps. Aeruginosa (bacilles Gram -)	Ciprofloxacine S	Tazocilline	Fosfo/Amikacine/Ciprofloxacine	Ciprofloxacine
		Ceftazidime	Fosfo/Amikacine/Ciprofloxacine	Ciprofloxacine
		Céfépime	Fosfo/Amikacine	Ciprofloxacine
		Imipenem	Fosfo/Amikacine	Ciprofloxacine
	Ciprofloxacine R	Céfépime	Fosfo/Amikacine	

S : sensible ; R : résistant ; I : sensibilité intermédiaire

Genta : gentamicine
Tobra : tobramycine
Péni : pénicilline
Amoxi : amoxicilline

Erythro : érythromycine
Fosfo : fosfomycine
C3g : céphalosporine de 3^{ème} génération

5.1.5 Durée du traitement [2], [27], [31]

En ce qui concerne la durée optimale de la phase de traitement parentéral, quelques études publiées montrent une efficacité thérapeutique satisfaisante lorsque la durée de traitement parentéral est réduite à moins d'une semaine, voire quelques jours. Mais ce temps est fonction de la biodisponibilité et de la tolérance digestive des molécules utilisées, et du type d'infection. Certains auteurs recommandent même des traitements plus courts selon le type de germe observé. Les durées de traitement les plus longues sont proposées en cas de réponse clinique lente, de drainage chirurgical retardé ou devant la persistance prolongée du syndrome inflammatoire. Chez les patients inopérables porteurs d'une prothèse infectée, ayant une infection due à une bactérie très sensible à un antibiotique facile à prendre par voie orale, l'utilisation d'une antibiothérapie « suppressive » peut être administrée à vie.

Tableau XIII: Durée du traitement antibiotique selon le type d'infection [31]

Type d'infection	Durée (semaines)
Arthrite évoluant depuis < 10 jours	4 – 6
Arthrite gonococcique	1
Arthrite évoluant depuis > 10 jours	6 – 12
Spondylodiscite	6 – 12
Ostéomyélite aiguë	4 – 12
Ostéite chronique	12 – 24
Infection sur prothèse articulaire aiguë	6 – 12
Infection sur prothèse articulaire chronique	12

Dans les IPOA la durée du traitement dépend de la technique chirurgicale :

- ablation de matériel : 6 semaines
- remplacement prothétique en 1 temps : 6 semaines
- remplacement prothétique en 2 temps : 6 semaines entre T1 (ablation + *spacer*) et T2 (ablation du *spacer* + remplacement) puis bilan local et inflammatoire :
 - si prélèvements à T2 négatifs à 10 jours : arrêt du traitement
 - si prélèvement à T2 positifs : reprendre 6 semaines d'antibiothérapie

Il faut admettre que le relais oral ne repose sur aucune étude clinique prospective et qu'après une antibiothérapie parentérale bien conduite pendant six semaines, son intérêt est peut être limité lorsqu'il s'agit d'infections relativement récentes et peu étendues.

5.1.6 Surveillance [2], [22], [31]

La surveillance est indispensable pendant la totalité du traitement antibiotique pour vérifier l'efficacité ainsi que la tolérance clinique et biologique.

- Surveillance de l'efficacité : régression de fièvre, aspect de l'articulation et de la cicatrice, régression du syndrome inflammatoire, stérilisation des liquides de drainage, dosages antibiotiques, valeurs normales de la CRP.
- Tolérance clinique : troubles digestifs, allergies, vérifier le cathéter central, ...
- Tolérance biologique : NFS, plaquettes, fonction rénale et hépatique.

Cette surveillance permet si besoin d'adapter la posologie des antibiotiques.

Dans les arthrites aiguës et spondylodiscite la guérison peut généralement être affirmée dans les 3 à 6 mois suivant l'infection. En revanche, dans les infections osseuses sur prothèse articulaire, il n'existe aucun paramètre biologique permettant d'affirmer la guérison. Elle est fortement suspectée par l'absence de récurrence à distance de l'arrêt du traitement antibiotique. Il est donc difficile d'assurer à un patient qu'une infection sur prothèse ou une ostéite chronique est définitivement guérie compte tenu des récurrences observées même plusieurs années après une apparente guérison. Par contre lorsque du matériel étranger, reposé dans un site infecté antérieurement, ne provoque aucune reprise de l'infection après au moins 2 ans de recul, on peut admettre que l'infection a été guérie.

5.1.7 Antibioprophylaxie [3], [4], [27]

L'utilisation d'une antibioprophylaxie préopératoire a fortement diminué le taux d'infection osseuse. Elle ne peut être dissociée de l'ensemble des autres mesures d'asepsie (cf. 2). Elle se fait par l'administration d'antibiotiques avant la contamination potentielle liée à l'acte opératoire.

L'antibioprophylaxie est définie par :

- un antibiotique efficace sur les germes potentiellement contaminants (staphylocoque) et à spectre étroit pour éviter l'émergence de mutants résistants.
- un antibiotique possédant une capacité de diffusion osseuse et péri-articulaire élevée avec une demi-vie d'élimination suffisamment longue.
- une administration intraveineuse de courte durée (1 dose, 2 doses si le temps opératoire est > 4h).
- une administration à pleine dose débutée avant le geste à risque (1^{ère} dose à l'induction anesthésique).

Dans la plupart des pays, les antibiotiques recommandés en première intention sont des céphalosporines de première génération (Céfazoline 2g de demi-vie = 0,5h) et deuxième génération (Céfuroxime 1,5g de demi-vie = 1,3h ; Céfamandole 1,5g de demi-vie = 1h). La Vancomycine (15mg/kg) peut être recommandée dans les cas de SARM ou allergie aux β -lactamines.

L'intérêt de prolonger l'antibioprophylaxie n'a été démontré par aucune étude. Une administration unique d'antibiotique à l'induction anesthésique est suffisante. Le traitement conventionnel (durée inférieure à 48h et débutée 1h avant le geste) est aussi indiqué en prophylaxie secondaire en cas de geste pouvant occasionner une bactériémie (geste dentaire, urinaire, digestif,...).

La plupart des pays occidentaux ont rédigé des recommandations de pratique clinique en matière d'antibioprophylaxie dans la chirurgie de la prothèse totale de hanche. Des recommandations nationales s'appuyant sur les résultats d'analyses et de revues littéraires, ont été formulées dès 1994 lors d'une conférence de consensus organisée par la SFAR actualisée courant 1999. Les conclusions de cette conférence ont permis la rédaction d'un guide d'évaluation de l'antibioprophylaxie de la prothèse totale de hanche par l'ANAES en 2000 qui sert de référentiel (cf. Tableau XIV).

Tableau XIV: Recommandations de l'ANAES pour l'antibioprophylaxie de prothèse totale de hanche [3]

	SFAR/ANAES (1999/2000)
Indication	Antibiothérapie préconisée
Choix de l'antibiotique	Céfazoline, céfamandole, Céfuroxime Allergie aux β -lactamines ou SARM = Vancomycine
Durée totale	Au mieux limitée à la durée de l'intervention mais jamais > 48 h
Délai de 1^{ère} injection	Céfazoline, Céfamandole, Céfuroxime = à l'induction anesthésique. Vancomycine = en perfusion de 1h à terminer à l'induction anesthésique
Dose de 1^{ère} injection	Céfazoline = 2 g Céfamandole, Céfuroxime = 1,5 g Vancomycine = 15 mg/kg
Réinjection peropératoire	Céfazoline si ITV > 4 h Céfamandole si ITV > 2 h Céfuroxime si ITV > 2-3 h Vancomycine si ITV > 8 h
Délai de réinjection peropératoire	Céfazoline = 4 h Céfamandole = 2 h Céfuroxime = 2-3 h Vancomycine = 8 h
Délai de réinjection postopératoire	Céfazoline = 8 h Céfamandole, Céfuroxime = 6 h Vancomycine = 8 h
Dose de réinjection peropératoire	Céfazoline = 1 g Céfamandole, Céfuroxime = 0,75 g Vancomycine = 10 mg/kg
Dose de réinjection postopératoire	Céfazoline = 1 g Céfamandole, Céfuroxime = 0,75 g Vancomycine = 10 mg/kg

Il est donc possible de stériliser une infection ostéo-articulaire. Pour parvenir à ce résultat, il est nécessaire que l'antibiothérapie soit adaptée au type d'infection, aux bactéries en cause et au patient. La prescription d'antibiotique est souvent, pour le chirurgien, un exercice difficile.

Un autre type de prophylaxie anti-infectieuse existe par voie locale. La grande diffusion actuelle des protocoles d'antibioprophylaxie par voie générale, dont l'efficacité a été largement prouvée, amène à s'interroger sur l'efficacité relative de ces deux types de traitement.

5.2 Traitement antibiotique par voie locale

Les biomatériaux chargés en antibiotiques font couramment partie des procédures médicales pour le traitement local et la prévention des infections profondes. La définition du mot « biomatériaux » est : tout matériau, naturel ou non, comprenant tout ou partie d'une structure vivante ou d'un appareil biomédical qui exécute ou remplace une fonction naturelle.

Les infections représentent une complication commune des poses de prothèses et implants percutanés, en violant la barrière de défense qu'est la peau et avec de nombreux dispositifs médicaux externes (cathéters...) qui vont endommager la peau et rendre vulnérable les muqueuses. Lorsque l'infection ne se résorbe pas avec les pratiques médicales conventionnelles, le patient court un réel danger pouvant aller jusqu'à l'amputation. Avec les nouvelles pratiques d'asepsie et une bonne utilisation d'une antibioprophylaxie peri-opératoire, la fréquence des infections est en légère diminution. La prévalence des infections osseuses reste considérée, malgré tout, comme haute à cause de la prédisposition des implants, et des tissus qui les entourent, à être infectés par des pathogènes et les bactéries opportunistes qu'héberge habituellement l'organisme humain.

Il existe une grande variété de dispositifs médicaux ayant différentes applications. Le temps de résidence et l'emplacement tissulaire du matériel va avoir un effet sur l'origine, le début et l'étiologie de l'infection. Cela implique donc des stratégies complémentaires de prévention et le besoin de traitements diversifiés. Il est donc obligatoire d'avoir des critères corrects et spécifiques pour le choix des matières implantables. Après avoir exploré ces choix et étudié les avantages et inconvénients de ces formes thérapeutiques, nous étudierons plus précisément les ciments osseux qui sont jusqu'à aujourd'hui les plus courants.

5.2.1 Choix du système de délivrance et de l'antibiotique [6]

Les traitements basés sur une administration locale d'antibiotiques possèdent un réel potentiel dans les stratégies de prévention des infections. Cependant, jusqu'à présent, les systèmes de délivrance les plus actuels échouent souvent à réaliser une cinétique de relargage adéquate qui devrait assurer des concentrations tissulaires performantes, plusieurs fois plus hautes que la concentration minimale inhibitrice in vitro (MIC), durant une période couvrant la fenêtre critique suivant la chirurgie.

La conception d'un système de délivrance idéal doit prendre en considération quatre composants majeurs qui interagissent mutuellement quand un matériau chargé d'antibiotique est implanté : l'emplacement tissulaire et anatomique, le biomatériau agissant comme véhicule, le médicament et la bactérie à l'origine de l'infection. La figure 13 illustre le degré de complexité à différents niveaux des interactions existantes.

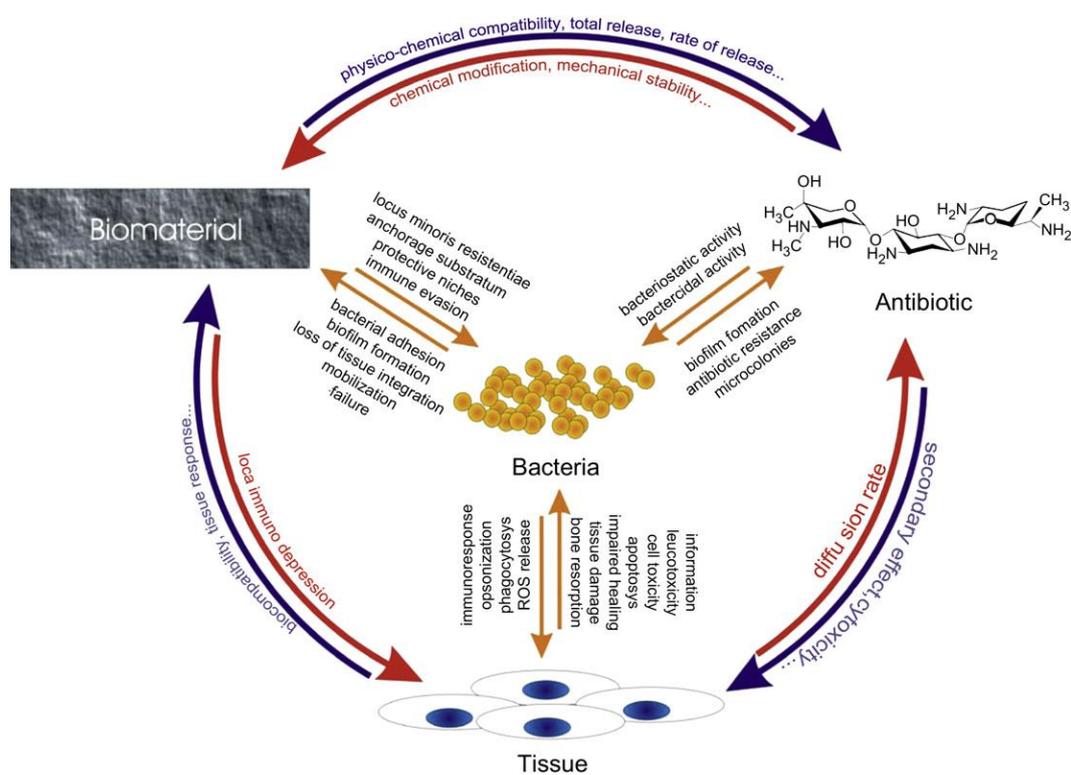


Figure 13: Interactions entre biomatériau/tissus/antibiotique [6]

5.2.1.1 Choix du système de délivrance

Au cours des dernières décennies, une activité de recherche intensive a identifié et produit une richesse de biomatériaux qui pourraient être candidats comme véhicule pour la livraison d'antibiotique localement. Aussi bien en odontologie qu'en orthopédie, deux pionniers des domaines médicaux de thérapie locale, le premier intérêt du biomatériau est d'être mécaniquement performant. Les ciments en PMMA (polyméthylmétacrylate) ont été un point de départ dans le développement de ces systèmes de délivrance innovateurs. Dans la plupart des dernières années l'attention s'est progressivement déplacée aux matériaux résorbables, qui peut être laissé in situ et n'exiger aucun déplacement chirurgical postérieur. Le tableau XV énumère plusieurs exemples de biomatériaux divisés en deux parties : les matériaux synthétiques et les matériaux semi-synthétiques ou naturels.

Pour réaliser ce système de libération, des stratégies différentes ont été étudiées : chargement de l'antibiotique dans le matériau, dégradé ou non, en vrac ou en couches minces ou encore incorporé dans un gel ou une matrice solide contrôlant sa diffusion et sa sortie.

Tableau XV: Biomatériaux utilisés pour la délivrance locale d'antibiotique [6]

Resorbable systems	
Biomaterial	
Synthetic materials	<p>Polyurethane Poly(trimethylene carbonate) Beta-cyclodextrin polymer Poly(α-lactide (PDLLA) implants, microspheres and coatings Poly(α-lactide (PDLLA) and bioactive glass microspheres composite Polycaprolactone (PCL) Poly-L-lactide-co-caprolactone (PLCA) Poly(epsilon-caprolactone) (PCL) and titanium (TiO₂) organic-inorganic hybrid materials Glycerolmonostearate (GMS) implants Poly(sebacic anhydride) (PSA) bis-carboxyphenoxypropane and sebacic acid P polyanhydride copolymers Poly(DL-lactico-co-glycolic acid) (PLGA) beads, electrospun nanofibrous scaffolds, microparticles, nanoparticles, and microspheres Calcium phosphate-PLGA composite bone cement Polyallylamine nanoparticles entrapped in carboxylated polyurethane n-butyl-2-cyanoacrylate Poly-L-lactide (PLLA) and copolymers of PLGA double-walled-composite microspheres Poly-L-lactic acid:polyethylene glycol (PLA/PEG) Copolymer of erucic acid dimer (EAD) and sebacic acid (polyanhydride) implant poly(methyl methacrylate)-poly(epsilon-caprolactone) (PMMA/PCL) Poly(propylene fumarate)-methylmethacrylate (PPF-MMA) Gelled calcium polyphosphate matrix Tricalcium phosphate (TCP) bone implants and delivery capsules Beta-tricalcium phosphate-silicate-xerogel HAP/TCP bone substitute Calcium hydroxyapatite implants, hydroxyapatite cement (HAC) Tricalcium phosphate lysine (TCPL) ceramic capsules Bisphosphonate, loaded on calcium phosphate granules Silica xerogels Nanocrystalline hydroxyapatite and calcium sulphate composite Calcium sulfate pellets, flakes, implants</p>
Natural or semisynthetic materials	<p>Collagen fleeces Collagen and collagen-synthetic polymer composites Fibrinogen-impregnated collagen Fibrin glue (FG) Hyaluronic acid and cross-linked hyaluronic acid gels Tocopherol acetate coating Cross-linked gelatine poly(acrylic acid)-gelatin hydrogel Egg phosphatidylcholine/egg phosphatidylglycerol-sodium liposomes incorporated in Carbopol 974P NF resin gel Dipalmitoylphosphatidylcholine, albumin, and lactose dry powder Chitosan and modified chitosan Composite of hydroxyapatite, plaster of Paris, and chitosan Borate glass/chitosan composite Poly (acrylic acid) chitosan interpolymer complexes Poly-L-lysine-coated alginate beads 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate (PHBV) and 3-hydroxybutyrate and 4-hydroxybutyrate P(3HB-4HB) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and methylcellulose (MC) Bone grafts (autogeneic/allogeneic) Deminerallised cancellous bone Deminerallized bone matrix-calcium sulfate</p>

5.2.1.2 Choix de l'antibiotique incorporé dans le biomatériau

Le choix de l'antibiotique associé au biomatériau dépend en premier lieu du microorganisme à éradiquer, du type de traitement (curatif ou en préventif) et de la compatibilité chimique et physique entre l'antibiotique et le système de libération. La thermosensibilité du principe actif est aussi importante du fait que les biomatériaux, à base de PMMA par exemple, engendrent une réaction exothermique qui risque de dégrader ou inactiver l'antibiotique. Le tableau XVI donne les antibiotiques les plus utilisés avec leur spectre d'activité et leur stabilité à la chaleur.

Tableau XVI: Antibiotiques candidats pour une délivrance locale à partir de biomatériaux [6]

Antibiotique	Spectre d'activité	Bactéries sensibles	Stabilité à la chaleur
β-lactamines	Etroit	Gram+ et quelques Gram-	Faible pour plusieurs céphalosporines : diminution de l'activité après 1 semaine à 37°C
Céfazolines	Etroit	Gram+ et quelques Gram-	Oui
Céfuroxime	Etendu	Gram+ et Gram-	Oui
Aminoglycosides Gentamycine	Large	Gram- et plusieurs Gram+	Oui
Tobramycine	Large	Gram- et plusieurs Gram+	Oui
Tétracycline	Large	Gram+ et Gram-	Oui
Lincosamides Clindamycine	Moyen	Gram+ et Gram- anaérobies	Oui
Lincomycine	Moyen	Gram+	Oui
Macrolides Erythromycine	Moyen	Gram+ et quelques Gram-	Oui
Polymyxine	Etroit	Gram+ et quelques Gram-	Oui
Glycopeptides Vancomycine	Etroit	Gram+	Diminution de 40% de l'activité en 3 semaines à 37°C

Certains systèmes de libération d'antibiotiques requièrent l'incorporation de produits hydrosolubles ou liposolubles tandis que d'autres sont fondés sur l'utilisation de poudres sèches sous forme de microparticules solides. Le type, la forme physique et la quantité du principe actif ont non seulement une incidence sur la cinétique de libération, mais aussi sur les propriétés physico-chimiques et la structure du biomatériau.

Tous ces éléments de variabilité sont donc chacun capables d'influencer la performance finale du traitement, et doivent être pris en considération lors de la conduite des investigations cliniques sur l'efficacité des systèmes de distribution d'antibiotiques.

5.2.2 Avantages et inconvénients [6], [20], [23], [32]

5.2.2.1 Avantages

Au vu des données de la littérature, il apparaît que l'utilisation des biomatériaux comme support aux antibiotiques peut représenter une alternative intéressante en orthopédie par exemple lorsque le chirurgien souhaite implanter une prothèse cimentée :

- le taux d'infection profonde n'est pas supérieur ;
- le taux d'infection superficielle est plus élevé, mais cette complication est de traitement facile, peu coûteux et peu prolongé, avec des conséquences fonctionnelles minimales ;
- les risques ne sont pas plus élevés ;
- le coût est considérablement diminué : car le coût d'une hospitalisation lors d'une complication infectieuse (34 jours) sur laquelle se greffent des traitements lourds, prolongés et coûteux revient nettement plus cher que de se consacrer à la prévention de l'infection ;
- il y a maintien d'une concentration élevée d'antibiotique localement pour une durée prolongée sans entraîner de toxicité.

Tout ceci explique que l'ensemble des chirurgiens orthopédistes est actuellement favorable à une antibiothérapie prophylactique générale et souvent locale par l'intermédiaire d'un ciment aux antibiotiques par exemple. En effet, la chirurgie prothétique en elle-même, simplement par la nature des matériaux utilisés, modifie la réponse immunitaire du patient : il existe une diminution de l'activité de phagocytose et de l'activité bactéricide des polynucléaires au contact des implants métalliques ainsi qu'au contact du ciment. Il existe enfin une adhérence particulière des bactéries à la surface de la plupart des matériaux utilisés. Le tissu osseux lui-même, au décours d'une intervention, peut être susceptible de favoriser une infection. En effet, au contact des implants, l'os peut être nécrosé en postopératoire pour différentes raisons : élévation de la température (simplement par l'action des scies oscillantes lors de la coupe des surfaces osseuses de l'arthroplastie), nécrose osseuse au contact de l'implant ou du ciment (par élévation de température ou par toxicité du monomère utilisé pour sceller la prothèse). Il est donc probable qu'une antibiothérapie généralisée systémique préventive n'est pas suffisante à elle seule comme méthode prophylactique en per et post-opératoire.

Si l'on s'intéresse plus particulièrement aux ciments osseux chargés en antibiotiques, qui sont actuellement les biomatériaux les plus utilisés comme traitement antibiotique local dans les infections osseuses, certaines observations ont été faites. La diffusion locale d'une antibiothérapie, à partir du ciment servant à sceller l'implant, est sans doute le moyen le plus efficace pour atteindre les germes situés à l'interface ciment-os ou ciment-métal. En effet le ciment aux antibiotiques est le mode d'administration de l'antibiotique qui permet d'obtenir dans l'articulation, dans le tissu osseux avoisinant et dans l'interface ciment-prothèse la plus haute concentration d'antibiotique, du moins pendant les 15 jours qui suivent l'intervention chirurgicale.

5.2.2.2 Inconvénients

Des inconvénients et risques sont cependant à souligner :

- la diffusion de l'antibiotique à forte concentration est limitée dans le temps ; elle est suivie d'une diffusion à très faible concentration pouvant favoriser l'émergence de mutants résistants ;
- l'émergence de mutants résistants représente un risque écologique ;
- pour les ciments osseux : le Palacos-Gentamicine® n'est pas toujours actif sur les staphylocoques multirésistants et sur certains bacilles Gram négatif, il est inactif sur les anaérobies ;
- le risque de surdité et d'insuffisance rénale en particulier lorsque une association entre libération locale et antibiothérapie générale utilisant la Gentamicine existe ;
- la survenue de réactions allergiques cliniques ou même anaphylactique, jusqu'à présent, pas bien documenté mais non totalement imprévisible pour les médicaments tels que les céphalosporines et la bacitracine.
- le rôle possible du système de livraison lui-même en mesure de modifier la réaction tissulaire et, par conséquent, la réponse locale des défenses immunitaires de l'hôte. Par exemple, le ciment acrylique a été signalé comme potentiellement capable de modifier le chimiotactisme et les propriétés de phagocytose des polymorphonucleocytes.

Ce sont ses quelques raisons qui parfois ont découragé les chirurgiens pour l'utilisation de biomatériaux chargés d'antibiotiques. Nous allons détailler maintenant plus particulièrement le

ciment acrylique et les gentabilles qui sont les deux principaux modes de traitement antibiotique par voie locale utilisés jusqu'à aujourd'hui.

5.2.3 Les ciments acryliques

Parmi les différentes présentations de médicaments antibiotiques pouvant être administrés localement, les ciments osseux sont les plus répandus et notamment les ciments acryliques tels que les gentabilles ou le ciment acrylique non polymérisé tel quel. Une possibilité thérapeutique chirurgicale existe donc par voie locale, permettant un comblement de la cavité tout en libérant un principe actif antibiotique évitant le développement ou l'extension d'une infection osseuse. Les matériaux inertes sont connus depuis l'antiquité ; ils avaient été abandonnés car ils se transforment vite en corps étrangers générateurs de récidives infectieuses. Ils ont connu un sursaut d'indication avec la découverte de possibilités d'antibiothérapie locale grâce à la diffusion d'antibiotiques à travers certains matériaux. Le ciment acrylique imprégné de gentamicine laisse échapper l'antibiotique pendant très longtemps, les taux locaux pouvant rester supérieurs aux concentrations minimales inhibitrices pendant des mois. Il est à noter que la concentration sérique de Gentamicine est toujours restée très faible ne provoquant aucun risque toxique. A l'heure actuelle, seul le Palacos-Gentamicine® est commercialisé. Il se présente sous deux formes, soit comme ciment à os habituel, non polymérisé (la gentamicine étant induse dans la poudre), soit sous forme de billes présentées en chapelets, chaque bille faisant 1 cm de diamètre (=gentabilles).

5.2.3.1 Composition et mode de fonctionnement [17], [25]

5.2.3.1.1 Composition

Les ciments osseux (gentabille et ciment acrylique non polymérisé) sont composés par le mélange d'une poudre et d'un liquide.

La poudre est composée de billes de polymère de Polyméthylmétacrylate (PMMA) ou de copolymères de Méthylmétacrylate (MMA). Elle contient également un initiateur nécessaire pour débiter la phase de polymérisation : le di-benzoyle peroxyde (BPO), un radio-opacifiant permettant de visualiser le ciment sur les radiographies, et de façon optionnelle un antibiotique ou un colorant, le radio-opacifiant, les antibiotiques et le colorant ne participant pas au processus de polymérisation.

L'ingrédient principal du liquide est le monomère (MMA) nécessaire à la phase de polymérisation en raison d'un terrain réactif appelé double-lien polymérisable. Certains composants liquides des ciments commercialisés contiennent en plus du butyl-méthacrylate. Un activateur nécessaire à la polymérisation, le di-méthyl-para-toluidine (DmpT), est ajouté au liquide. Le liquide est stabilisé par une petite quantité d'hydroquinone dans le but de garantir un produit stable tout au long de sa période de stockage.

Au cours du mélange entre la poudre et le liquide, une réaction chimique entre l'initiateur BPO et l'activateur DmpT produit des radicaux. Ces radicaux permettent d'initier la polymérisation du monomère (MMA) et de compléter le double-lien polymérisable. Le début de cette phase de polymérisation est aussi le début de la phase de durcissement. En raison du nombre important de radicaux générés, il se forme de nombreuses chaînes, rapidement croissantes, de polymères et il se produit une transformation rapide du MMA en PMMA. Quand deux chaînes de polymères se

rencontrent, elles se combinent et résultent en une seule chaîne de polymères (cf. Figure 14 : schéma de la réaction chimique).

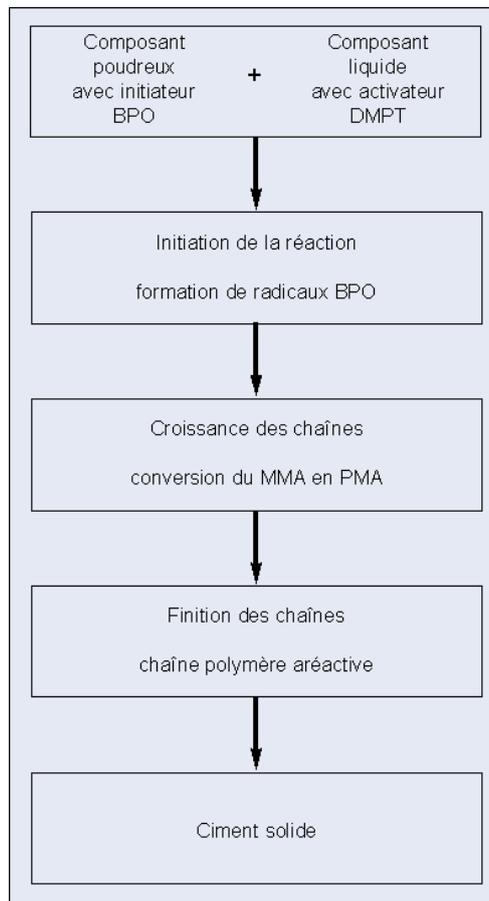


Figure 14: Processus de réaction chimique formant le ciment acrylique osseux [17]

5.2.3.1.2 Mode de fonctionnement

Que ce soit pour les gentabilles ou les ciments acryliques non polymérisés, le relargage répond aux lois de diffusion (cf. Figure 15). Il est à la fois proportionnel au potentiel hydrophile du ciment, et à sa surface. Les différents ciments commercialisés démontrent des taux de relargage différents, principalement en raison des propriétés hydrophiles des composants polymères. Il est important de noter que la libération de l'antibiotique ne se fait qu'à partir d'une épaisseur superficielle du ciment. La plus grande partie des antibiotiques restera confinée dans le ciment pour toute la durée de vie de l'arthroplastie. Il est également important d'obtenir un mélange homogène des antibiotiques dans le ciment, ce qui est le cas avec les ciments aux antibiotiques habituellement disponibles. Les études portant sur la cinétique de relargage démontrent un taux initial relativement élevé, puis une réduction marquée pendant les jours suivants. Cette cinétique est typique de tous les ciments PMMA. Cependant, même après 5 ans un relargage minime reste mesurable, ce qui laisse penser qu'un relargage aussi prolongé dans le temps pourrait favoriser le développement de résistances. A ce jour, après plusieurs décennies d'utilisation, aucune étude clinique n'a validé ce postulat.

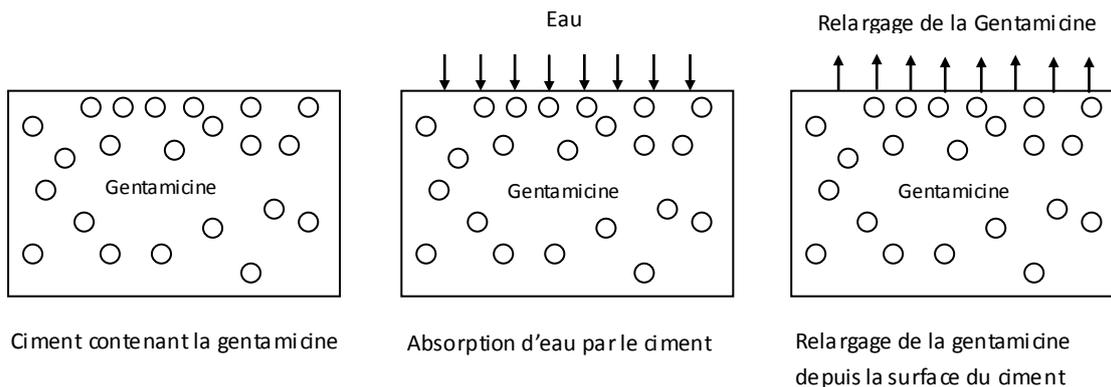


Figure 15: Représentation du relargage de la Gentamicine d'un ciment osseux [17]

5.2.3.2 Les gentabilles

Buchholz et Engelbrecht ont été les premiers à utiliser le ciment PMMA imprégné de gentamicine dans les arthroplasties en prophylaxie d'une infection vers 1970. C'est en 1979 que Klemm va reprendre cette formulation sous forme de billes pour l'utiliser dans le traitement des ostéomyélites chroniques [11].

5.2.3.2.1 Conditions d'utilisation [20]

L'utilisation des chapelets de gentabilles nécessite plusieurs impératifs :

- une fermeture cutanée étanche. En effet, si la plaie n'est pas correctement refermée, l'antibiotique ne sera pas relargué dans la plaie mais dans le pansement ;
- les germes doivent être sensibles à la gentamicine. Parfois lorsque le germe est résistant à l'antibiotique mais qu'il existe un certain diamètre d'inhibition sur la boîte de Pétri, on peut penser que l'utilisation des gentabilles, en ayant des concentrations locales très importantes, peut avoir une certaine efficacité ;
- l'utilisation des gentabilles ne saurait se concevoir qu'en complément d'une excision complète du foyer infectieux. Il ne s'agit que d'un traitement adjuvant. Dès lors, il devient difficile d'affirmer que c'est la présence des gentabilles qui a amené la guérison. Les billes de gentamicine ont eu leur heure de gloire qui semble actuellement un peu passée. Devant un taux d'échec important, cette technique n'est plus utilisée estimant que « l'effet corps étranger » des billes devient très vite supérieur à son « effet médicamenteux ».

5.2.3.2.2 Technique d'utilisation [21], [22]

Après excision du foyer, on comble la cavité à l'aide d'un nombre suffisant de billes pour avoir un remplissage mécanique de la cavité. On peut soit les enfouir, et refermer la peau par-dessus, soit laisser dépasser les chapelets afin de les enlever secondairement au lit du malade. Les billes ne doivent être enfouies que dans deux circonstances : si on a la certitude d'une excision parfaite, les billes seront alors laissées à demeure, et si on a l'intention de ré-intervenir secondairement où dans ce cas elles sont utilisées comme un *spacer* qui permettra soit de faire une greffe secondaire, soit une remise en place de prothèse par exemple. Le plus souvent, on préfère pouvoir enlever ces billes sans ré-intervenir. En effet, au-delà du 21^{ème} jour, l'effet corps étranger des billes dépasse l'effet médicamenteux. Pour ce faire, on les fait sortir soit par une extrémité de la cicatrice, soit par une contre-incision déclive (cf. Figure 16).

Le trajet du chapelet doit être rectiligne pour éviter un blocage des billes dans la plaie. Elles doivent être mobilisées dès le 3^{ème} jour puis chaque jour, on tire le chapelet d'une longueur d'une bille. Pendant tout ce temps, le drainage doit être maintenu dans le foyer car un saignement peut être entraîné. La totalité du chapelet étant enlevée au 12^{ème} jour, le drainage est maintenu pendant les 24h qui suivent.

Ces gentabilles ont donné beaucoup de déceptions. En effet, la nécessité de fermeture cutanée, le blocage fréquent des chapelets, l'extraction des billes mal supportée par le malade et les échecs cliniques observés, ont conduit les médecins à renoncer à cette technique.

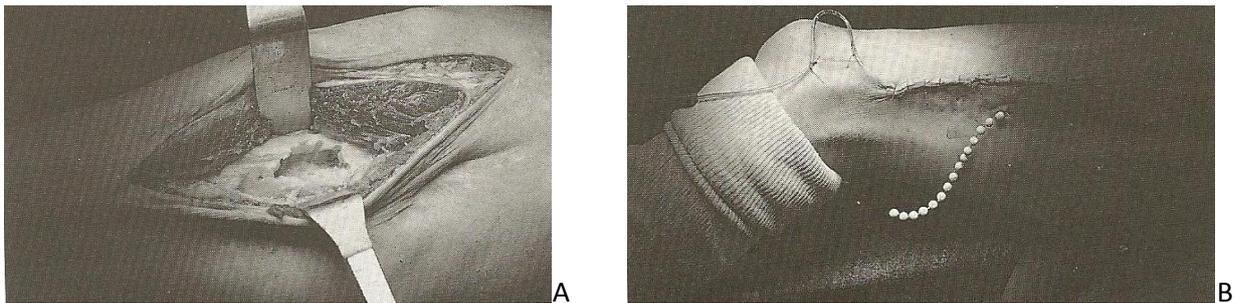


Figure 16: Photo du comblement par gentabilles [21]

Après nettoyage, le comblement de la cavité de résection peut être confié à des gentabilles qui vont relarguer de la Gentamycine localement :

- A) Aspect de nettoyage
- B) Le remplissage est fait par les billes qui sortent de la plaie pour être mobilisées précocement (en effet, au-delà du 12^{ème} jour, elles deviennent inenlevables)

5.2.3.2.3 Pharmacocinétique [11]

La dose de Gentamycine retrouvée dans le sérum n'excède pas $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ chez un groupe de patient ayant reçu 80 à 180 gentabilles implantés. L'étude clinique n'a montré aucune néphrotoxicité ou d'effets indésirables sur la fonction rénale. L'étude pharmacocinétique *in vitro* est représentée Figure 17. Aucune réelle étude clinique randomisée n'a été publiée sur les gentabilles.

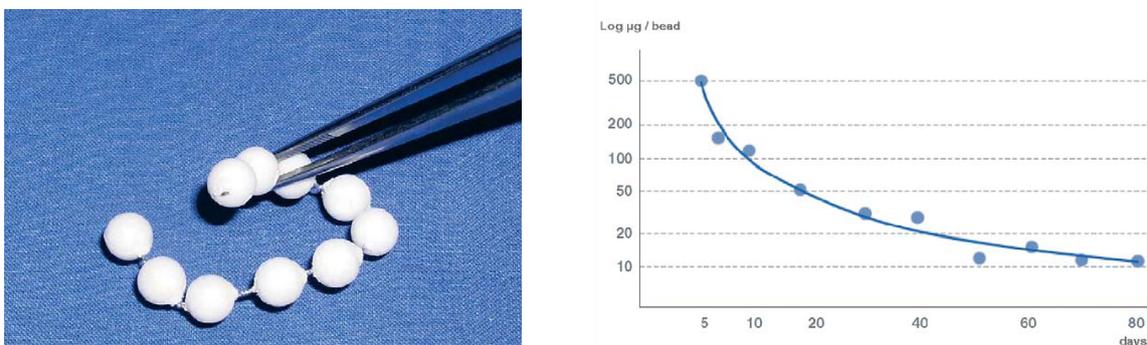


Figure 17: Billes de Gentamycine Septopal® et leurs cinétiques de relarguage *in vitro* [11]

5.2.3.3 Le ciment acrylique non polymérisé [21], [22], [23]

Le ciment acrylique non polymérisé est en fait un ciment à os habituel où la gentamicine a été incluse dans la poudre. Cette présentation en sachets n'est utilisée que pour sceller des arthroplasties. Dans le traitement des prothèses totales de hanche infectées, des auteurs [23] ont obtenu un taux de succès de 71% par changement de la prothèse en un temps et rescellement d'une nouvelle prothèse avec du ciment additionné de Gentamicine, sans recours à une antibiothérapie par voie générale. Ce dernier chiffre peut être augmenté lors d'association à une antibiothérapie générale prolongée. Il faut ajouter ici que cette efficacité repose sur une double action : thérapeutique vis-à-vis de l'infection en cours, mais aussi prophylactique vis-à-vis de l'acquisition d'une nouvelle infection lors de la réintervention. Hormis l'inclusion de gentamicine dans le ciment acrylique, il est important de choisir le bon antibiotique efficace sur le germe identifié et précisé sur l'antibiogramme. Dans ce cas, il est nécessaire de réaliser un mélange extemporané de l'antibiotique avec le ciment lors de l'opération mais certains antibiotiques sont dénaturés par l'élévation thermique du ciment ce qui n'est pas le cas de la Gentamicine qui supporte une température de 100°C.

Le ciment acrylique associé à des principes actifs présente un intérêt indiscutable pour assurer un relargage local d'un antibiotique. Toutefois ce ciment type PMMA présente des inconvénients en particulier l'élévation thermique importante lors de sa polymérisation, qui entraîne des zones de nécroses cellulaires et son vieillissement à long terme. Son utilisation reste intéressante dans la chirurgie de reprise de prothèse totale de hanche du sujet âgé, mais le développement croissant des implants sans ciment rendra caduque cette indication. Par ailleurs, l'apparition depuis moins de 5 ans de ciments ioniques chargés en phosphate de calcium, offre des perspectives séduisantes par leur résorption secondaire et leur substitution par un tissu osseux différencié et leur possibilité d'être mélangé à des principes actifs y compris des facteurs de croissance [23]. Les sphéroïdes phosphocalciques envisagés actuellement pour l'implantation osseuse et la libération de principes actifs seront abordés dans l'étude expérimentale (cf. chapitre 3).

6 Conclusion

Les infections osseuses reposent sur un diagnostic médical pour détecter l'infection et microbiologique pour l'identifier. Le traitement chirurgical parfois inévitable reste toujours accompagné d'un traitement antibiotique. Ce traitement antibiotique est très utilisé par voie générale tant en traitement curatif que préventif (antibioprophylaxie), cependant un traitement par voie locale amène une meilleure efficacité et une meilleure biodisponibilité de l'antibiotique. Ce mode de traitement existe déjà sous forme de ciment osseux ou gentabilles à placer lors de l'intervention chirurgical sur le site de l'infection. Cette alternative thérapeutique étant très prometteuse, une étude expérimentale va consister à fabriquer des supports phosphocalciques osseux chargés en molécule active antibiotiques pour une implantation en tant que matériau de comblement en site osseux. Tous ces efforts thérapeutiques n'excluent évidemment pas les protocoles de prévention des infections nosocomiales car il est important en premier lieu d'éviter l'infection plutôt que de la guérir.

CHAPITRE 3 ETUDE EXPERIMENTALE :

SPHEROÏDES PHOSPHOCALCIQUES POREUX

POUR IMPLANTATION OSSEUSE ET

LIBERATION DE CHLORHYDRATE DE

TETRACYCLINE

Les substituts osseux synthétiques et notamment les céramiques à base de phosphate de calcium, sont très utilisés en chirurgie pour le comblement de défauts osseux. En effet, ces matériaux biocompatibles en raison d'une composition chimique proche de celle de la phase minérale de l'os, peuvent se lier à ce dernier et agir comme support à la repousse osseuse. De plus, ils peuvent être utilisés comme systèmes de délivrance d'une molécule active, afin de cibler la zone de relargage, de limiter les effets secondaires systémiques et d'optimiser la biodisponibilité. Parmi les différentes formes disponibles, les sphéroïdes présentent l'avantage d'assurer le comblement de cavités à géométrie complexe tout en garantissant une macroporosité, dont la taille gérée par le diamètre des agglomérats, est favorable à la repousse osseuse. Dans cette partie expérimentale, mettant à profit la porosité intra-agglomérats, des sphéroïdes phosphocalciques seront chargés en chlorhydrate de tétracycline à différentes concentrations. Des essais de dissolution permettront enfin de quantifier la teneur en principe actif des grains et d'évaluer la cinétique de dissolution du chlorhydrate de tétracycline.

1 Fabrication des sphéroïdes phosphocalciques poreux [8], [26]

1.1 Présentation

Les substituts osseux synthétiques, et notamment les céramiques à base de phosphate de calcium sont de plus en plus utilisés en chirurgie orthopédique comme en odontologie. En effet, ces matériaux sont biocompatibles en raison d'une composition chimique proche de celle de la phase minérale de l'os, et peuvent se lier chimiquement à l'os et agir comme substrat pour la croissance osseuse. Ils sont ostéo-conducteurs c'est-à-dire qu'ils servent de support à la croissance osseuse.

La présentation de ces substituts est multiple : blocs, ciments, grains ou sphéroïdes. Pour pouvoir être utilisées en tant que substituts osseux, ces céramiques doivent présenter certaines caractéristiques en terme de morphologie, d'aspect et de taille. La condition pour permettre la repousse osseuse, quel que soit le type de céramique, est la présence d'une porosité favorable à l'invasion de l'implant par les cellules osseuses et les liquides biologiques. En effet, des travaux [8] ont montré l'influence de la taille des pores ainsi que leur nombre et leur forme sur les processus de recolonisation osseuse. Ainsi, il a été mis en évidence que les pores doivent présenter un diamètre supérieur à 100 μm pour pouvoir accueillir les cellules osseuses et un diamètre supérieur à 200 μm pour être ostéo-conducteurs.

Parmi les différentes présentations d'objets poreux rencontrées dans le domaine des biomatériaux, les blocs sont peu employés pour le remplissage des cavités osseuses de formes complexes. En effet, leur forme prédéfinie et statique, empêche leur implantation dans des défauts osseux de structure irrégulière. A l'inverse, les ciments se révèlent parfaitement adaptés au comblement d'espaces irréguliers mais perdent leur intérêt lorsqu'une macroporosité est recherchée. Dans ce cas, le procédé de fabrication nécessite l'ajout d'un porogène qui doit être éliminé *in situ* pour recréer une porosité nécessaire à l'envahissement cellulaire. Afin de garantir une ostéo-conduction optimale ainsi qu'un comblement adéquat, il apparaît alors intéressant d'envisager l'utilisation de sphéroïdes pour lesquels la macroporosité serait formée par les espaces inter-granulaires créés par l'empilement des objets et qui permettraient un contact intime avec les berges osseuses de la cavité à combler. Le dernier avantage à utiliser des sphéroïdes phosphocalciques, plutôt qu'une autre présentation, outre leur intérêt pour le remplissage des cavités complexes et la création d'une porosité assurant l'ostéoconduction, est que cette forme sphérique va favoriser le dépôt régulier de molécules d'intérêt à la surface. L'utilisation de grains sphériques calibrés (taille comprise entre 710 et 1000 μm) assure une macroporosité régulière (espace inter-granulaire d'environ 180 μm), favorise un dépôt régulier de PA par sa microporosité, et facilite la manipulation lors de l'implantation. Le choix de la taille des sphéroïdes est important car il faut trouver un équilibre entre la taille des pores et la résistance mécanique. Ainsi, la taille des grains conditionne à la fois la déformation des grains pendant l'implantation par le chirurgien qui doit être minimale, mais aussi la résistance mécanique qui doit être suffisante au niveau du site d'implantation pour résister à d'éventuels chocs et enfin la macroporosité qui doit être adéquate pour la repousse osseuse.

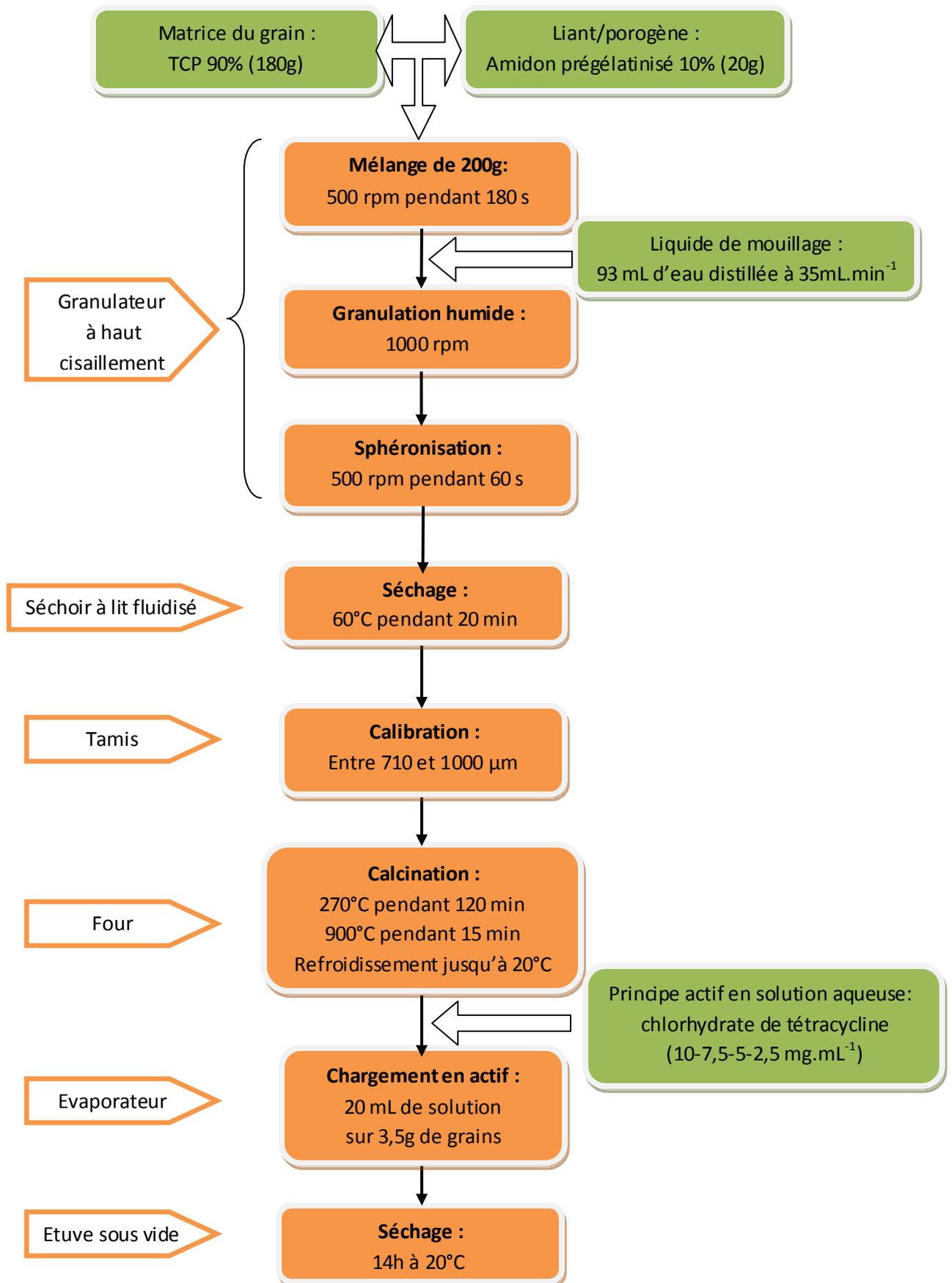


Figure 18: Protocole de fabrication des grains [8]

1.2.1 La granulation

Le processus de granulation retenu est donc celui de la granulation humide à haut cisaillement ; elle est opérée sur une masse de 200 g de mélange de poudre contenant 90% de phosphate de calcium et 10% d'amidon pré-gélatinisé, dans le granulateur à haut cisaillement Mi-Pro (cf. Figure 19). La granulation se déroule en cinq étapes.



Figure 19: Photo du granulateur Mi-Pro

1.2.1.1 Mélange des poudres de TCP et d'amidon

Le mélange est composé de 180 g de phosphate de calcium et 20 g d'amidon pré-gélatinisé. Il s'effectue dans le granulateur à haut cisaillement par la rotation de la pale et de l'émetteur pendant une durée de 180 secondes à une vitesse de 500 rpm.

1.2.1.2 Granulation du mélange

Le liquide de mouillage de l'eau. 93 mL sont utilisés et distribués sur le mélange au moyen d'une pompe dont le débit est fixé à $35 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Pendant la granulation la vitesse de rotation de la pale et de l'émetteur réglée à 1000 rpm.

1.2.1.3 Sphéronisation

Après l'arrêt du mouillage une étape de sphéronisation se fait grâce à la rotation de la pale et de l'émetteur à une vitesse de 500 rpm pendant 60 secondes.

1.2.1.4 Séchage

Les grains sphéronisés sont séchés dans le séchoir en lit fluidisé à 60°C pendant 20 minutes.



Figure 20: Photo du séchoir en lit fluidisé

1.2.2 Tamisage

Le tamisage des sphéroïdes va permettre de retenir la fraction granulométrique d'intérêt (ayant une taille comprise entre 710 et 1000 μm). Les plus gros agglomérats restent sur le tamis supérieur et les autres traversent d'autant plus de tamis qu'elles sont fines. Il se déroule durant 10 minutes à une intensité de 70. Pour une application thérapeutique [8], il a été démontré que la fraction la plus adaptée est celle comprise entre 710 et 1000 μm .

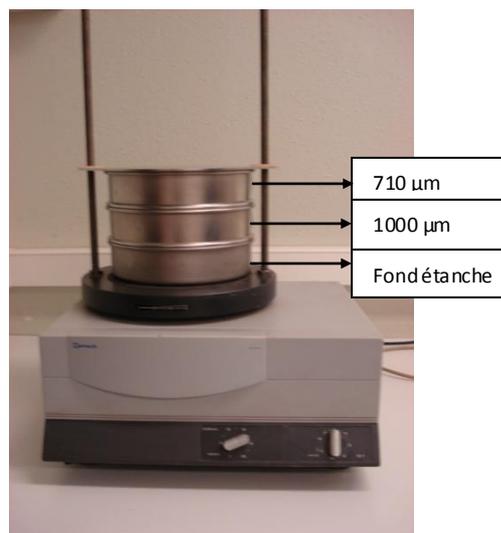


Figure 21: Photo du tamiseur

1.2.3 Le traitement thermique [8]

Les grains sont soumis à un traitement thermique, appelé calcination, dans le four Khantal selon le protocole de la figure 22. Durant cette étape, l'amidon est dégradé et joue ainsi son rôle de porogène. Dans un premier temps, les grains subissent un chauffage à 270°C pendant 2 heures afin de brûler l'amidon pré-gélatinisé. La seconde étape, qui consiste à augmenter la température jusqu'à 900°C durant 15 minutes, permet l'obtention d'un produit monophasé appelé β -TCP.

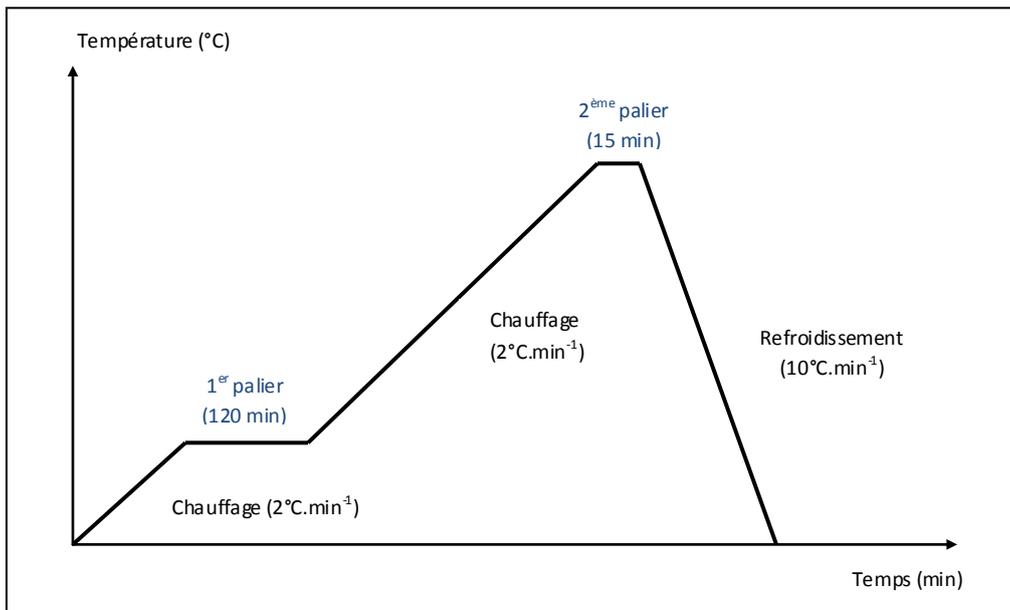


Figure 22: Schéma du protocole de calcination [8]

2 Imprégnation des sphéroïdes par le chlorhydrate de tétracycline

Les biomatériaux de substitution osseuse sont de plus en plus souvent associés à des molécules actives afin de conférer au matériau de comblement une fonction thérapeutique supplémentaire. Ils présentent ainsi un intérêt en tant que forme galénique permettant une libération locale, continue et contrôlée d'un PA sur une longue période. Les travaux de E. Chevalier [8] ont montré que lors du chargement, le PA est déposé à la fois à la surface des grains mais aussi dans les micropores (diamètre d'environ 10 μm) jouant le rôle de réservoir. Cette étape de chargement a par ailleurs renforcé la résistance des grains ce qui est favorable dans le cas d'une implantation osseuse.

2.1 Caractéristiques du principe actif : le chlorhydrate de tétracycline [5], [12]

Le principe actif utilisé dans ce travail est le chlorhydrate de tétracycline (liste I) commercialisé par la société Cooper (numéro de lot : 060903041B).

2.1.1 Formule chimique

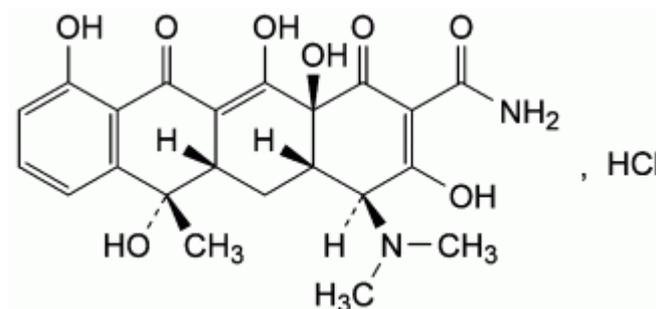


Figure 23: Formule du chlorhydrate de tétracycline

$\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_8$: Chlorhydrate de (4S,4aS,5aS,6S,12aS)-4-(diméthylamino)-3,6,10,12,12a-pentahydroxy-6-méthyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotétracène-2-carboxamide.

2.1.2 Propriétés physico-chimiques

- Poids moléculaire : 480,9 g/mol
- Point de fusion : 214°C
- Aspect : poudre cristalline, jaune.
- Solubilité : soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol à 96%, pratiquement insoluble dans l'acétone. Le chlorhydrate de tétracycline se dissout dans les solutions d'hydroxydes et de carbonates alcalins. Au repos, les solutions aqueuses se troublent par précipitation de la tétracycline.
- Stabilité chimique : sensible à la lumière.
- Matières incompatibles : caustiques, oxydants, agents de réduction.

2.1.3 Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques

Le chlorhydrate de tétracycline est utilisé pour ses propriétés antibiotiques et antibactériennes.

Le spectre antibactérien de la tétracycline est le suivant :

- Espèces habituellement sensibles : brucella, pasteurella, haemophilus influenzae, chlamydiae, mycoplasma pneumoniae, ureaplasma urealyticum, rickettsies, coxiella burnetii, leptospira, treponema pallidum, borrelia burgdorferi, propionibacterium acnes.
- Espèces inconstamment sensibles : le pourcentage de résistance acquise est variable, la sensibilité est donc imprévisible en l'absence d'antibiogramme. Les bactéries concernées sont neisseria gonorrhoeae et vibrio cholerae.

Il a une action bactériostatique.

Il est indiqué dans de nombreuses maladies infectieuses : la brucellose, le cholera, la dysenterie bacillaire, les infections broncho-pulmonaires, les infections cutanées, la rickettsiose, le typhus épidémique, la fièvre boutonneuse...

2.1.4 Effets secondaires et contre-indications

Il peut provoquer :

- Uniquement par voie orale : nausées, vomissements, diarrhées, anorexie, candidoses,...
- Coloration des dents (risque de coloration jaune permanente surtout chez les enfants en croissance) et des os, fièvre, réaction d'hypersensibilité, urticaire, choc anaphylactique, photosensibilisation, douleur épigastrique, anémie aplasique, stomatite, colite pseudomembraneuse,...

Il nécessite des précautions d'emploi à l'exposition au soleil, en cas d'insuffisance rénale et d'insuffisance hépatocellulaire.

Il est contre indiqué chez la femme enceinte, qui allaite et chez les enfants de moins de 8 ans.

Ces propriétés toxicologiques, en tant que poudre, nécessitant la prise de précautions lors des manipulations sont :

- Yeux : peut causer une irritation.
- Peau : peut causer une irritation.
- Inhalation : les poussières de ce produit peuvent entraîner une irritation du nez, de la gorge et des voies respiratoires.
- Ingestion : peut causer un malaise gastro-intestinal, des nausées ou des vomissements.
- Effets chroniques : l'exposition prolongée ou répétée peut endommager le foie.

2.1.5 Pharmacocinétique

L'absorption est incomplète par le tube digestif (75%).

La demi-vie est comprise entre 6 et 8 heures.

La liaison aux protéines plasmatiques est de 32 à 64%. Il y a une bonne diffusion intra et extra-cellulaire surtout dans les tissus tels que les os et les dents.

La tétracycline subit un cycle entéro-hépatique avec une forte concentration biliaire, elle franchit la barrière placentaire et passe dans le lait.

20 à 25% sont métabolisés sous forme inactive.

L'élimination se fait par voie rénale (45% de la dose administrée sont éliminés en 24 heures par filtration glomérulaire ; 75% de l'élimination se fait sous forme active), biliaire et fécale.

Clairance rénale : 70 mL/min

2.2 Chargement par la molécule active [8], [26]

Le principe actif étant sensible à la lumière, toutes les opérations se feront en protégeant tous les contenants par du papier aluminium.

Le chargement des grains par une solution de chlorhydrate de tétracycline constitue la dernière étape du processus de préparation des grains. Notre étude *in vitro*, ne justifie pas de stérilisation, mais il faut noter que pour de futures expérimentations *in vivo* chez l'animal, il sera nécessaire de veiller à limiter les contaminations potentielles [26].

2.2.1 Préparation des solutions de chlorhydrate de tétracycline

Une solution de chlorhydrate de tétracycline à 10 mg.mL^{-1} est réalisée soit : 1 g de poudre de chlorhydrate de tétracycline à dissoudre dans une fiole jaugée de 100 mL avec de l'eau distillée. Cette concentration correspond à la limite de solubilité du chlorhydrate de tétracycline dans l'eau. Ensuite trois imprégnations pour chaque concentration de plus en plus faibles sont faites : $7,5 - 5$ et $2,5 \text{ mg.mL}^{-1}$.

2.2.2 Évaporation / chargement

Cette étape s'effectue à l'aide d'un évaporateur sous vide (Büchi Rotavapor R-114 couplé au bain-marie Waterbath B-480). Dans un ballon de 250 mL, 3,5 g de grains calcinés sont mis en contact avec 20 mL de solution de chlorure de tétracycline. Une fois le ballon fixé sur l'évaporateur rotatif, l'agitation est mise en route (vitesse réglée aux 2/3 de la vitesse maximale) pour mélanger une minute. Ensuite le vide est réalisé et le ballon est descendu dans un bain-marie à 40°C . L'évaporation complète du liquide est obtenue en 30 minutes environ, en maintenant une agitation rapide et le condensateur à 5°C (à l'aide d'un Minichiller).

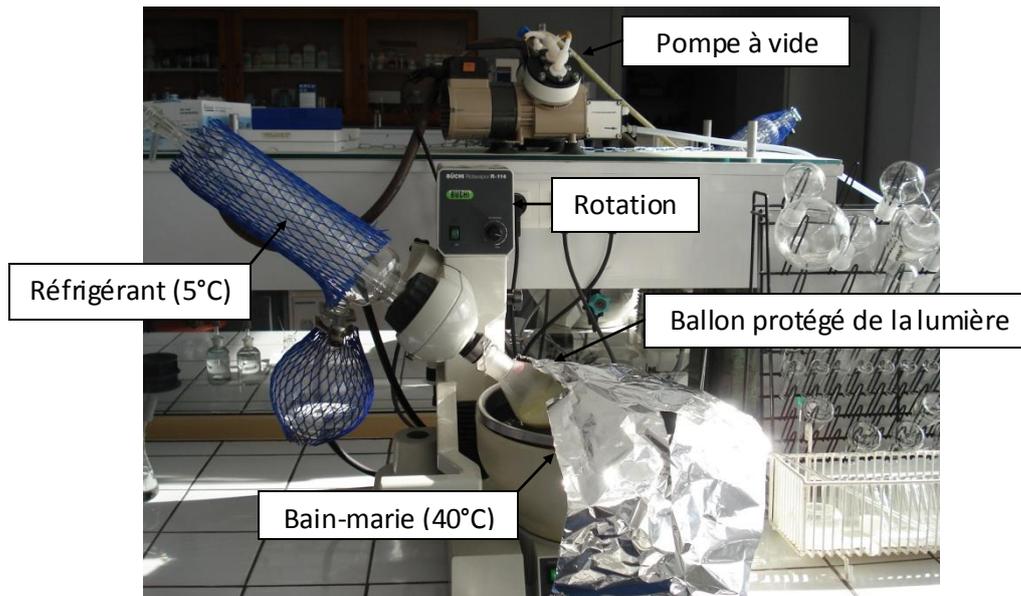


Figure 24: Photo de l'évaporateur rotatif sous vide

2.2.3 Séchage

Le séchage des grains est poursuivi dans une étuve sous vide durant 14h à 20°C (Bioblock Scientific).



Figure 25: Photo de l'étuve sous vide

Cette étape facilite le décollage des grains de la paroi du ballon à l'aide d'une spatule. Les grains sont pesés et leur masse est comparée avec leur masse initiale pour calculer leur teneur en principe actif.

Les masses des grains pesées avant et après imprégnation sont données dans l'Annexe 2.

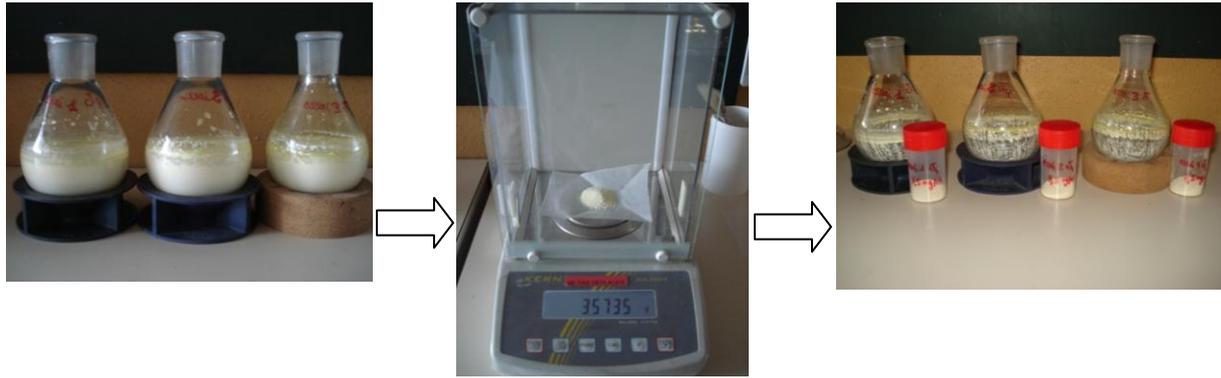


Figure 26: Etapes de récupération des grains chargés

Sur la figure 26 il apparait visiblement sur la dernière photo, qu'après récupération des grains par grattage, il reste sur la paroi du principe actif puisque les parois des ballons sont encore jaunes.

Pour les concentrations 10 – 7,5 et 5 mg.mL⁻¹, la masse des grains chargés est légèrement supérieure à la masse de grains initialement prélevée tout en restant largement inférieure à la masse théorique attendue des grains chargés.

Pour la concentration 2,5 mg.mL⁻¹, la masse de grains chargés obtenue est inférieure à la masse initiale, il y a donc une perte de substance.

A ce niveau une première idée de la charge des sphéroïdes en principe actif peut être appréciée (partie grisée de l'annexe 2), mais nous pouvons voir que ces résultats sont très faibles avec un écart très important par rapport aux valeurs théoriques attendues et donc difficiles à interpréter dans ces conditions. Plusieurs sources d'erreur peuvent en être la cause :

- Solutions faiblement concentrées en raison de la limite de solubilité du PA et donc une petite quantité de PA à déposer qui risque de rester sur le ballon.
- Collage des grains sur la paroi du ballon ce qui entraine une perte de substance.
- Pour la solution à 10 mg.mL⁻¹ il y a une instabilité avec un dépôt de cristaux dans le fond de la fiole engendrant une variabilité de la concentration.

Cette méthode n'est donc pas la plus significativement précise pour déterminer la dose de PA chargée des grains. La quantité de chlorhydrate de tétracycline déposée sur les grains sera alors mesurée par dosage spectrophotométrique.

2.3 Evaluation de la teneur des grains en principe actif

La teneur des grains en chlorhydrate de tétracycline se définit par le *drug content* des sphéroïdes (DC). Ce contrôle s'effectue sur trois imprégnations successives pour une même solution de trois lots de grains afin d'évaluer la reproductibilité de la méthode d'imprégnation.

2.3.1 Droite d'étalonnage

2.3.1.1 Préparation des solutions étalons de chlorhydrate de tétracycline

A partir d'une solution aqueuse de chlorhydrate de tétracycline (solution mère Ci) à 5mg/mL cinq solutions filles sont réalisées dans des fioles jaugées de 100 mL :

C1 = $25 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	:	0,5 mL de Ci dans 99,5 mL d'eau distillée
C2 = $20 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	:	0,4 mL de Ci dans 99,6 mL d'eau distillée
C3 = $15 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	:	0,3 mL de Ci dans 99,7 mL d'eau distillée
C4 = $10 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	:	0,2 mL de Ci dans 99,8 mL d'eau distillée
C5 = $5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	:	0,1 mL de Ci dans 99,9 mL d'eau distillée

2.3.1.2 Lecture des absorbances sur spectrophotomètre

Les solutions étalons sont placées dans des cuves en quartz pour la lecture de leur absorbance à 276 nm sur un spectrophotomètre (Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS spectrometer), afin d'élaborer la droite étalon qui nous servira par la suite pour contrôler la charge des grains.



Figure 27: Photo du spectrophotomètre utilisé

Tableau XVII: Absorbance des solutions étalons

Noms	Concentration (10^{-3} mg/mL)	Absorbance
C1	25	0,86281
C2	20	0,7064
C3	15	0,52177
C4	10	0,34639
C5	5	0,17283

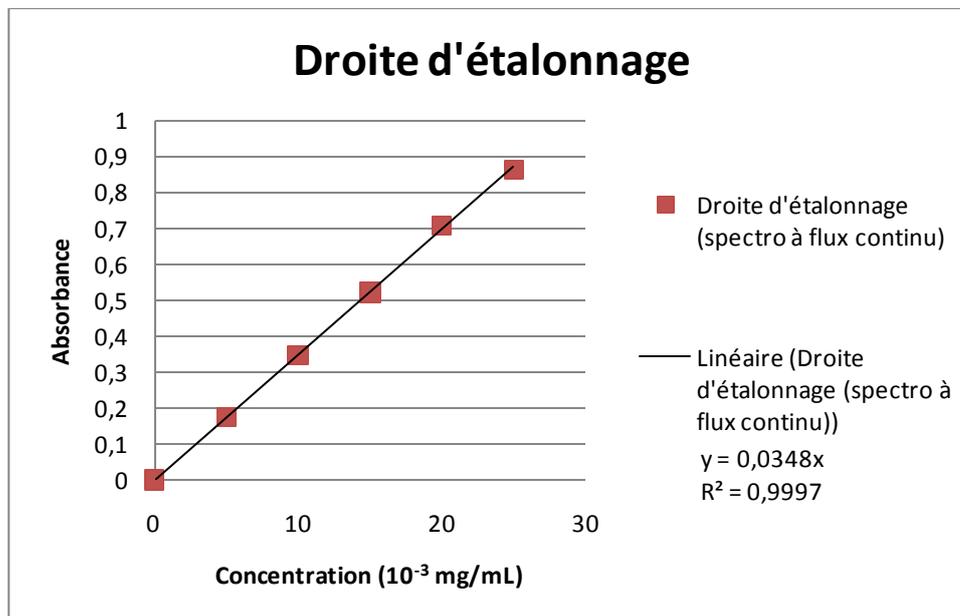


Figure 28: Droite d'étalonnage

La droite d'étalonnage a pour équation : $A = 0,0348 \cdot 10^{-3} \times C$. Cette équation nous permettra ultérieurement de calculer la concentration d'un milieu à partir de son absorbance.

2.3.2 Détermination du DC des grains chargés

2.3.2.1 Matériel et méthode

Le dosage du PA est réalisé par extraction du chlorhydrate de tétracycline à partir de 275 mg de grains chargés, dans 500 mL d'eau distillée à 37°C dans le dissolutest (Prolabo). Après 4 heures d'agitation à 100 tours/minutes, trois prélèvements de 3 mL sont effectués pour lecture de leur absorbance à 276 nm. Cette absorbance permet de trouver la concentration du milieu grâce à l'équation de la droite étalon et ainsi de connaître la teneur en chlorhydrate de tétracycline des grains chargés (DC=drug content). Pour chaque concentration de solution d'imprégnation, trois chargements sur 3,5 g de grains sont effectués dans des ballons nommés A B et C, puis pour chaque ballon, trois échantillons de 375 g de grains chargés sont prélevés. Ensuite chaque bol du dissolutest va avoir trois prélèvements de 3mL. La figure 29 résume le protocole.

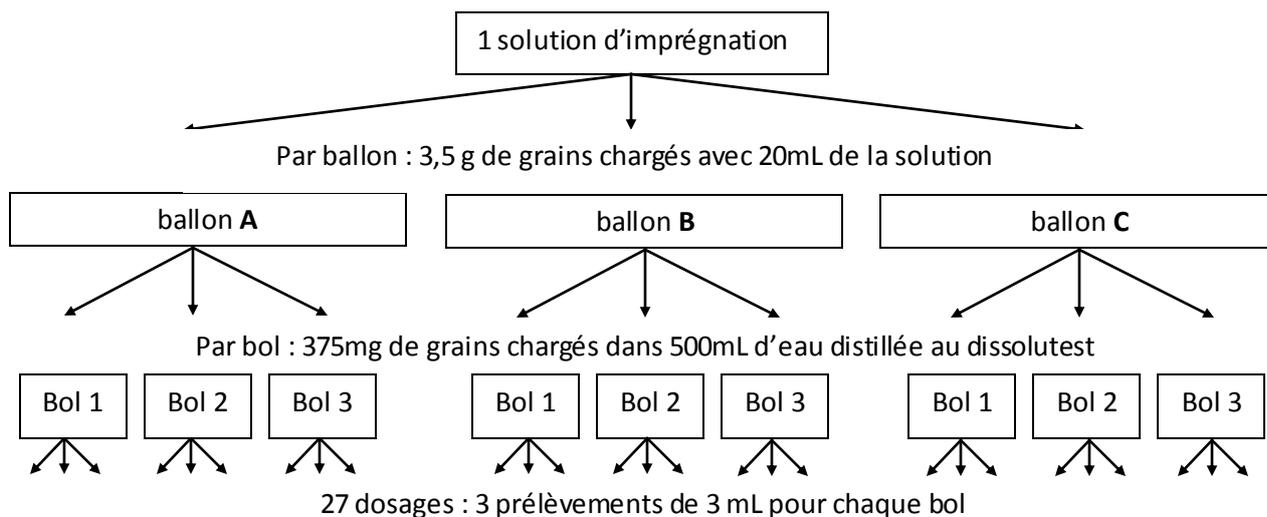


Figure 29: Schéma du protocole pour la détermination des DC



Figure 30: Photo du Dissolutest



Figure 31: Photo d'un bol du Dissolutest

2.3.2.2 Résultats

2.3.2.2.1 Valeurs théoriques

$$DC_{th} = \frac{\text{quantité de PA}}{\text{quantité de PA} + \text{quantité de grains}}$$

Le chargement en principe actif s'effectue avec 20 mL d'une solution à 10 mg.mL⁻¹ sur 3,5 g de grains (pour la plus forte concentration étudiée) :

$$DC_{th} = \frac{0,2}{0,2+3,5} \times 100 = 5,405 \%$$

L'essai se fait sur 275 mg de grains chargés soit : $m = 275 \times 5,4/100 = 14,864$ mg de PA libérés dans 500 mL d'eau distillée. Donc la concentration maximale sera de :

$$[C] = 14,85/500 = 29,7 \cdot 10^{-3} \text{ mg.mL}^{-1}$$

Les DC théoriques si tout le PA est déposé sont donnés dans le tableau XVIII :

Tableau XVIII: DC théoriques

Concentration (mg/mL)	DC théoriques (%)	Masse de PA déposée théorique (mg)
10	5,41	14,86
7,5	4,11	11,30
5	2,78	7,64
2,5	1,41	3,87

2.3.2.2.2 Résultats expérimentaux sur grains de diamètre $500 < d < 710 \mu\text{m}$

Les essais d'imprégnation sont dans un premier temps effectués sur des grains de diamètre $500 < d < 710 \mu\text{m}$. Un essai avec les grains de diamètre supérieur permettra d'évaluer l'effet de la granulométrie sur le chargement.

Les résultats expérimentaux sont reportés dans les tableaux de l'annexe 3.

La moyenne des 27 mesures d'absorbance permet d'obtenir un *drug content* pour chaque concentration de solution d'imprégnation. Ces DC sont récapitulés dans le tableau XIX :

Tableau XIX: DC des grains chargés aux quatre concentrations étudiées

Concentration de la solution d'imprégnation (mg.mL ⁻¹)	DC moyen sur trois essais (%)
10	4,17 ± 0,73
7,5	3,40 ± 0,32
5	2,56 ± 0,18
2,5	1,33 ± 0,07

L'écart-type des DC moyens diminue lorsque la concentration d'imprégnation diminue, sûrement à cause du fait que le chlorhydrate de tétracycline est soluble dans l'eau qu'à de faibles concentrations, donc aux plus fortes concentrations le PA forme plus facilement des cristaux faisant ainsi varier la concentration réelle d'imprégnation. Le tableau XX et la figure 32 indiquent l'écart à la théorie des DC.

Tableau XX: Comparaison des DC expérimentaux et théoriques

Concentration (mg/mL)	DC théoriques (%)	DC moyen expérimentaux (%)	Ecart-relatif (%)
10	5,41	4,17	22,8
7,5	4,11	3,40	17,3
5	2,78	2,56	7,9
2,5	1,41	1,33	5,0

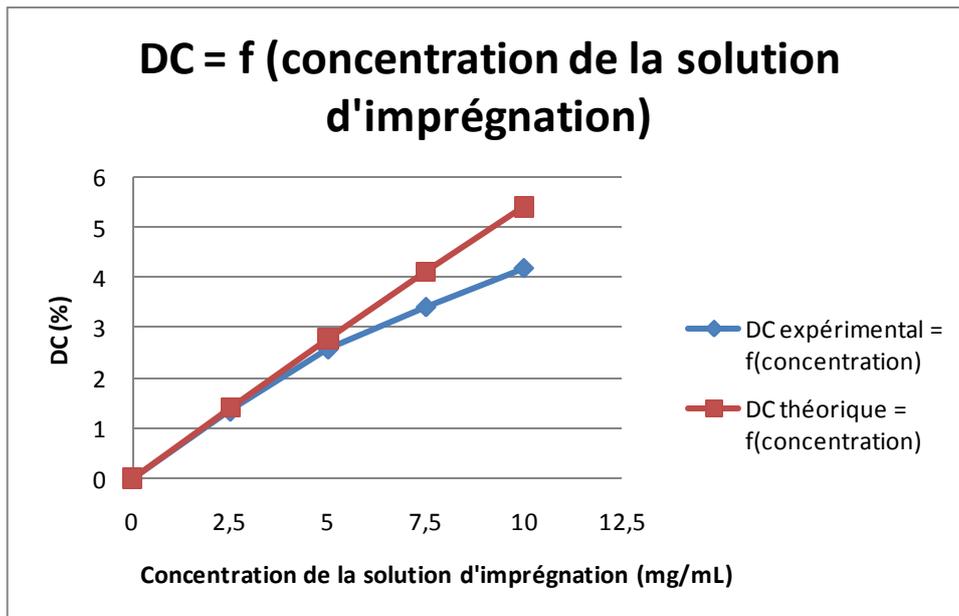


Figure 32: Graphique DC = f (concentration de la solution d'imprégnation)

Plus la solution est concentrée, plus le DC a tendance à diminuer. Ce phénomène est certainement dû au problème de solubilité dans l'eau du chlorhydrate de tétracycline. Au vu des résultats il sera donc préférable de travailler avec la solution à 7,5 mg/mL pour ne pas avoir un écart trop grand avec la théorie tout en ayant une concentration suffisante en PA sur les grains.

2.3.2.2.3 Résultats expérimentaux sur grains de diamètre $710 < d < 1000 \mu\text{m}$

Nous réalisons d'autre part la même étude sur les grains de diamètre supérieur, deux imprégnations des grains $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ avec la solution à $7,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ sont réalisées dans les mêmes conditions que précédemment. En effet Chevalier E. [8] a montré que ce diamètre de grains présente de meilleures propriétés pour l'implantation osseuse.

L'étude au dissolutest donne pour résultats (voir détails des résultats dans l'annexe 4) :

$$\text{DC moyen} = 2,22\% \text{ avec un écart-type de } 0,08\%$$

Comparé à la fraction inférieure pour une même concentration de solution d'imprégnation à $7,5 \text{ mg.mL}^{-1}$:

Tableau XXI: Comparaison des DC des deux fractions étudiées

Diamètre des grains (μm)	DC moyen (%)
500 < d < 710	$3,40 \pm 0,32$
710 < d < 1000	$2,22 \pm 0,08$

La fraction $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ a donc un DC moyen inférieur à celui de la fraction $500 < d < 710 \mu\text{m}$. La méthode n'est donc pas à première vue reproductible sur la fraction granulométrique supérieure, cependant une étude statistique serait nécessaire à ce stade pour dire si la différence est significative ou non.

Plusieurs causes peuvent être à l'origine de cette différence :

- Le fait que nous travaillons sur des solutions d'imprégnation des concentrations beaucoup plus faible que pour les essais avec l'ibuprofène [8]. Ceci est susceptible d'entraîner une précision inférieure dans toutes les étapes et dans les lectures d'absorbance.
- D'autre part il convient de mentionner qu'après récupération des grains chargés, on observe nettement une couche de PA à la surface du ballon qui n'a donc pas diffusé dans les grains. A ce stade il faudrait éventuellement rincer le ballon avec de l'eau afin de doser ce liquide de rinçage pour évaluer la perte de PA.
- Enfin l'observation minutieuse des gains grattés dans le ballon après leur chargement en chlorhydrate de tétracycline, montre que les grains de la fraction $500 < d < 710 \mu\text{m}$ sont effrités et sont en présence d'agglomérats de PA décollés du ballon. La plus petite fraction paraît donc beaucoup moins homogène que la fraction $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ qui par grattage du ballon donne des grains visiblement entiers et de couleur plus homogène. Leur aspect est moins poudreux.



Figure 33: Photo des grains chargés $500 < d < 710 \mu\text{m}$



Figure 34: Photo des grains chargés $710 < d < 1000 \mu\text{m}$

3 Etude de la cinétique de dissolution

Une étude antérieure de la cinétique de dissolution *in vitro* d'ibuprofène, à partir de grains fonctionnalisés, a démontré que la totalité du PA est libérée, par un phénomène de diffusion, ce qui signifie qu'il n'existe pas de liaison irréversible entre la matrice et l'ibuprofène [8]. Cette étude a servira de modèle pour l'étude de la libération du chlorhydrate de tétracycline à partir du même support.

3.1 Matériel et méthode

La cellule à flux continu, appareil normalisé de la Pharmacopée Européenne, est utilisée pour l'étude des cinétiques de libération *in vitro* du chlorhydrate de tétracycline. L'étude se fait sur un système automatisé CE 7 smart (SOTAX, Basel, Switzerland) avec une pompe à pistons CP 7-35 (SOTAX, Basel, Switzerland) et un spectrophotomètre UV-Visible (Lambda 20, Elmer Perkin, United States) pour une analyse directe à 276 nm. 275 mg de grains imprégnés avec la solution à $7,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ sont élués avec un flux continu de 500 mL d'eau distillée à 37°C circulant à un débit de $8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

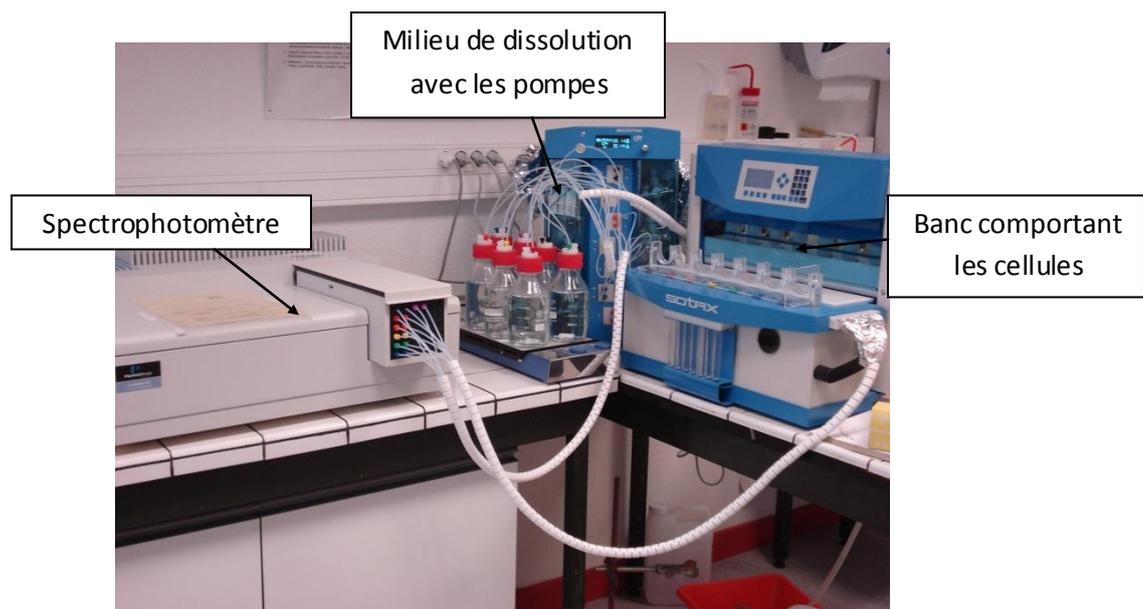


Figure 35: Photo de l'appareil de dissolution à flux continu

La cellule utilisée a un diamètre de 12 mm. Les sphéroïdes phosphocalciques imprégnés sont placés sur une couche de billes de verre de 1 mm de diamètre avec une bille de rubis de 5 mm de diamètre pour assurer le flux laminaire du liquide de dissolution dans la cellule.

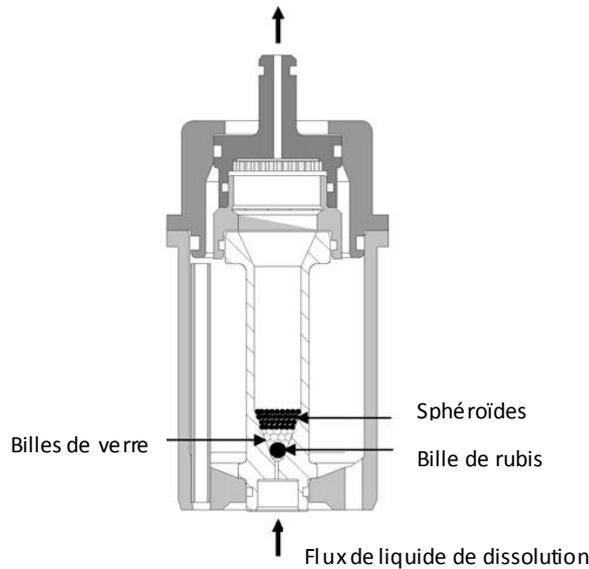


Figure 36: Représentation schématique de la cellule de dissolution [8]

Des dosages sont réalisés à des intervalles définis tels que :

- 30 dosages à 1 minute d'intervalle de t_0 à t_{30}
- 6 dosages à 5 minutes d'intervalle de t_{31} à t_{37}
- 15 dosages à 15 minutes d'intervalle de t_{38} à t_{53}

Cet essai est réalisé deux fois sur chaque fraction $500 < d < 710 \mu\text{m}$ et $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ imprégnée avec la solution à $7,5 \text{ mg.mL}^{-1}$.

En raison de la sensibilité de la tétracycline à la lumière, le dispositif est protégé par du papier aluminium.

3.2 Résultats et discussion

Les taux de PA libéré sont exprimés par rapport à la quantité théorique pouvant être déposée, soit $11,30 \text{ mg}$ pour 275 mg de grains chargés à partir d'une solution à $7,5 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Dans cet essai de dissolution des sphéroïdes phosphocalciques imprégnés de chlorhydrate de tétracycline, les plateaux atteints ne sont pas de 100%. Afin de comprendre pourquoi il est important dans un premier temps de chercher quel pourcentage maximum de PA dissout on peut atteindre en fonction du taux d'imprégnation de départ. Pour les fractions étudiées :

- Fraction $500 < d < 710 \mu\text{m}$ – ballon C : le plateau à atteindre doit être d'environ 87%
- Fraction $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ – ballon A : le plateau à atteindre doit être d'environ 53%

Les calculs sont présentés dans le tableau de l'annexe 5.

3.2.1 Pour la fraction de sphéroïdes $500 < d < 710 \mu\text{m}$

Les valeurs d'absorbance sont reportées dans l'annexe 6. La Figure 38 représente les cinétiques de dissolution du chlorhydrate de tétracycline.

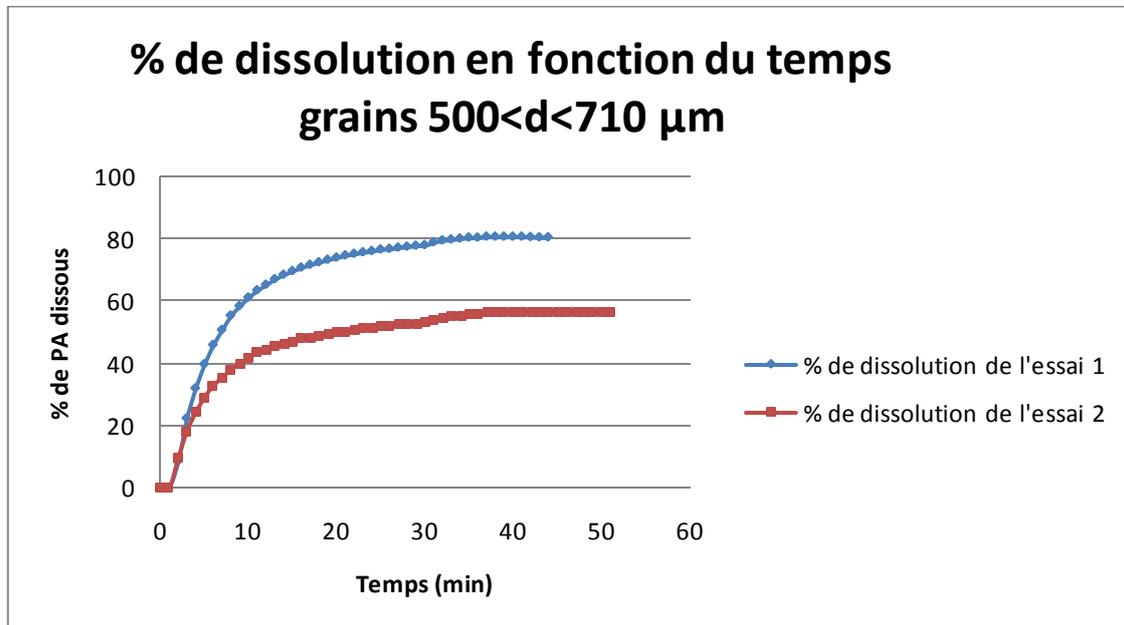


Figure 37: Cinétique de dissolution-grains $500 < d < 710 \mu\text{m}$

La cinétique de dissolution montre que le maximum de PA dissous est :

- pour l'essai 1 : 80,42% soit 9,05 mg libérés dans les 500 mL d'eau.
- pour l'essai 2 : 56,6% soit 6,4 mg libérés dans les 500 mL d'eau.

Les essais ne sont pas reproductibles et sont inférieurs à la valeur attendue de 87%. Les facteurs à mettre en cause sont ceux évoqués en 2.3.2.2.3. Il serait nécessaire de multiplier les essais pour valider les hypothèses et dégager des conclusions fiables. Dans les deux cas, les sphéroïdes ont atteint un plateau en environ 35 minutes.

3.2.2 Pour la fraction de sphéroïdes $710 < d < 1000 \mu\text{m}$

Les valeurs d'absorbance sont reportées dans l'annexe 7.

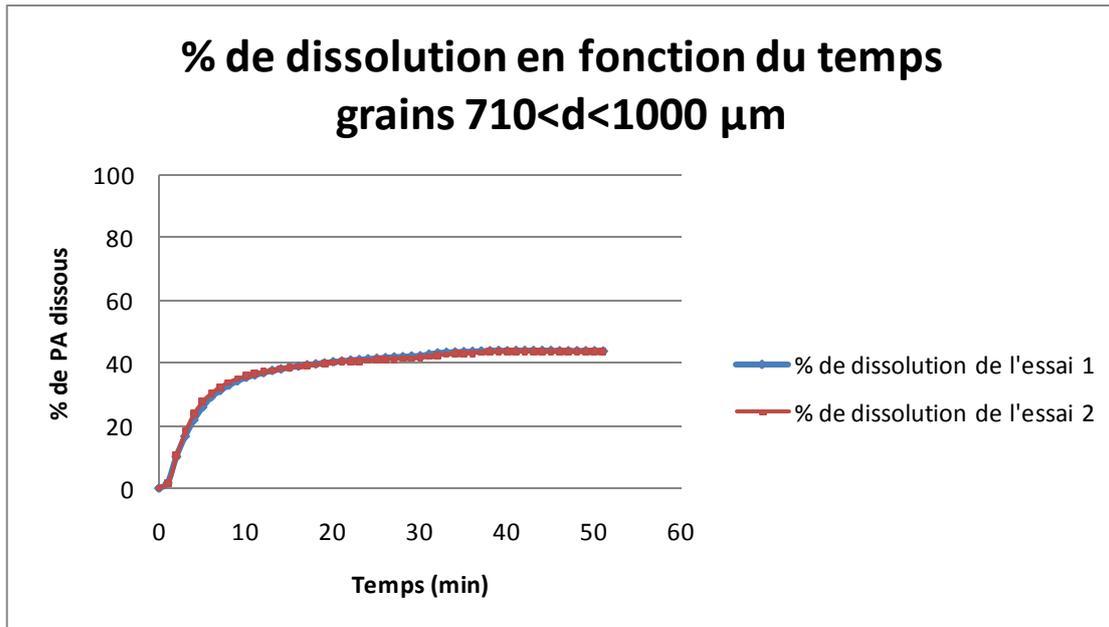


Figure 38: Cinétique de dissolution-grains 710<d<1000μm

La quantité maximale de chlorhydrate de tétracycline dissous dans le milieu est :

- pour l'essai 1 : 43,88% soit 4,95 mg libérés dans les 500 mL d'eau.
- pour l'essai 2 : 43,45% soit 4,90 mg libérés dans les 500 mL d'eau.

Pour cette fraction les essais sont reproductibles même si le plateau atteint est inférieur à la valeur attendue de 53%. Les mêmes remarques que précédemment sont applicables dans ce cas. Ici aussi le plateau est atteint après environ 35 minutes.

3.2.3 Comparaison des deux fractions

Le tableau XXII récapitule les résultats pour les deux fractions testées.

Tableau XXII: Comparaison des deux fractions lors de l'essai de dissolution (en %)

Taille des sphéroïdes (μm)	n° de l'essai	Pourcentage max de PA présent dans les 275mg de grains chargés (%)	Pourcentage expérimental max de PA libéré dans 500mL (%)	Ecart-relatif (%)
500<d<710	1	87,04	80,42	7,61
	2		56,6	34,97
710<d<1000	1	52,79	43,88	16,88
	2		43,45	17,69

La comparaison des plateaux atteints lors des essais de dissolution montre que la fraction la plus proche de la valeur attendue et la plus reproductible est celle des sphéroïdes 710<d<1000 μm. Dans toutes les situations les valeurs expérimentales restent cependant inférieures aux valeurs pouvant être atteintes.

En terme de concentration le tableau XXIII donne la quantité de PA libérée dans les 500 mL de milieu de dissolution :

Tableau XXIII: Comparaison des deux fractions lors de l'essai de dissolution (en mg)

Taille des sphéroïdes (µm)	n° de l'essai	Quantité théorique de PA présente sur 275mg de grains chargés (mg)	Quantité expérimental max de PA libéré dans 500mL (mg)	Ecart-relatif (%)
500<d<710	1	11,3	9,05	19,9
	2		6,4	43,4
710<d<1000	1	11,3	4,95	56,2
	2		4,9	56,6

L'écart entre la quantité de chlorhydrate de tétracycline présente et la quantité libérée expérimentalement est élevée avec un écart de plus de 50% sur la plus grosse fraction étudiée. Pour mieux comprendre cet écart les grains sont récupérés à la fin du test, broyés et dosés.

3.2.4 Second essai de dissolution sur les grains récupérés après le premier essai

Les grains récupérés sont broyés, pesés, puis introduits dans 100 mL d'eau distillée durant 4h à 37°C sous agitation. L'absorbance est ensuite lue à 276 nm pour en déduire la quantité de chlorhydrate de tétracycline libérée après broyage. Cette expérience est réalisée sur une fraction pour chaque taille de sphéroïdes.

Tableau XXIV: Masse de PA libéré au total après le 2nd essai de dissolution avec les grains broyés

Taille des sphéroïdes (µm)	Masse après broyage (mg)	Absorbance à 276nm	Concentration en PA (10 ⁻³ mg/mL) (y=0,0348x)	Masse de PA libérée dans 100 mL du 2 nd test (mg)	Masse de PA libérée dans les 500 mL du 1 ^{er} test(mg)	Masse totale de PA libérée dans les 2 tests (mg)	Masse de PA déposée théorique (mg)	Ecart-relatif (%)
500<d<710	208,5	0,1751	5,03	0,50	6,4	6,90	11,3	38,91
710<d<1000	245,6	0,1405	4,04	0,40	4,95	5,35		52,62

Il apparait qu'après broyage des grains, environ 4% de chlorhydrate de tétracycline sont libérés et s'ajoutent donc à la quantité libérée lors du premier test. Après l'addition des deux masses on obtient malgré tout une quantité de PA encore inférieure aux 11,3 g envisageable. Cela signifie qu'une quantité non négligeable reste emprisonnée dans les sphéroïdes sans pouvoir se libérer du support ce qui peut donc expliquer les faibles valeurs détectées.

4 Conclusion

La fabrication des sphéroïdes phosphocalciques selon le protocole établi par E. Chevalier [8] est facilement reproductible.

La phase d'imprégnation apparait quant à elle plus délicate avec le chlorhydrate de tétracycline qu'avec l'ibuprofène. En effet plusieurs difficultés sont apparues :

- le principe actif se dissout mal dans l'eau et cristallise rapidement pour de fortes concentrations entraînant une hétérogénéité de la solution d'imprégnation ;
- lors du chargement sous évaporateur rotatif, l'ébullition est susceptible de perturber le rendement ;
- la récupération des grains après séchage nécessite un grattage à la spatule des parois du ballon les cassant légèrement. Pour la fraction de grains de diamètre inférieur, l'attrition compromet la pertinence des essais de dissolution. De plus cette opération ne permet pas de récupérer la totalité du PA mis en solution car l'examen à l'œil nu du ballon montre qu'une couche jaune de chlorhydrate de tétracycline reste collée aux parois.

Les sphéroïdes ne contiennent pas la dose attendue de chlorhydrate de tétracycline. En effet on atteint une dose de charge de 3,4% pour les grains $500 < d < 710 \mu\text{m}$ au lieu des 4,11% attendus théoriquement. Le test sur la fraction de diamètre supérieur n'est pas meilleur avec un DC de 2,22%. Il apparait par contre que plus la concentration de la solution d'imprégnation diminue, plus l'écart relatif entre le DC théorique et le DC expérimental diminue.

La cinétique de dissolution dans l'appareil à flux continu (Sotax) des deux fractions chargées avec une solution à $7,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ montre d'une part que le PA est libéré dans le milieu de dissolution après environ 35 minutes et d'autre part que la quantité libérée est nettement inférieure à la quantité totale disponible pour le chargement. Pour la fraction $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ environ 43% est libéré contre les 53% attendus. Pour la fraction $500 < d < 710$ la théorie est de 87% et seul un essai s'en rapproche avec une libération de 80% contre 56% au second essai. Il est donc évident que les essais ne sont pas toujours reproductibles et donnent des résultats constamment inférieurs à ceux attendus malgré un second essai de dissolution après broyage des grains. En cause de ces résultats sûrement les problèmes d'imprégnation cités précédemment. Malgré une libération rapide, le fait que du PA reste accroché au support peut être en faveur d'une libération prolongée ce qui est souhaité au départ. Il faut d'autre part pondérer ces résultats car il manque une étude statistique pour affirmer que la différence entre les résultats expérimentaux et les résultats attendus est significative.

Pour conclure il faut noter que pour améliorer tous ces résultats afin d'avoir des sphéroïdes plus chargés en chlorhydrate de tétracycline et qui libèrent ce PA en totalité dans le milieu de dissolution petit à petit sur long terme, il faut revoir la phase d'imprégnation. Celle-ci faisant apparaître plusieurs difficultés, les conditions seraient à revoir pour les éradiquer et une étude statistique serait nécessaire pour voir si les différences de résultats sont significatives ou non. Ce travail met donc en évidence les limites de la méthode pour déposer de manière reproductible des quantités importantes de chlorhydrate de tétracycline. Il démontre aussi que les conditions de l'essai de dissolution doivent être adaptées (vitesse, durée...) pour permettre la libération complète du PA.

CONCLUSION GENERALE

En conclusion générale nous pouvons indiquer qu'il existe plusieurs types d'infections osseuses. Elles peuvent être d'origine hématogène, post-traumatique, post-opératoire ou de contiguité. Quelque soit son origine la physiopathologie des infections osseuses reste complexe intégrant plusieurs facteurs. Concernant les facteurs de l'hôte on retiendra : une incidence accrue sur certains terrains, que l'os est un tissu dynamique qui infecté engendre des anomalies favorisant la persistance bactérienne, qu'une prothèse ostéo-articulaire est un corps étranger, la capacité du système immunitaire à échapper à la bactéricidie, le développement de mécanismes d'adhérence des agents pathogènes et enfin l'organisation en réseau des bactéries en biofilm. Ces divers mécanismes expliquent la réduction significative de la bactéricidie des antibiotiques sur les colonies bactériennes.

Le traitement des infections ostéo-articulaires repose sur un traitement chirurgical et sur un traitement antibiotique. L'antibiothérapie doit être optimale, c'est-à-dire être active sur les germes isolés dans l'os, diffuser dans le site infecté, et être tolérée par le patient. L'efficacité du traitement repose aussi sur une surveillance étroite et prolongée. La prise en charge de ces infections nécessite la présence d'une équipe pluridisciplinaire comprenant un laboratoire pour l'isolement des germes, des cliniciens formés au diagnostic et au maniement d'antibiothérapies parfois complexes et prolongées, ainsi que des chirurgiens expérimentés dans ce domaine. La voie générale reste la voie la plus utilisée pour l'antibiothérapie mais de nouveaux concepts font leur apparition pour une application locale tel que les ciments osseux les plus anciens biomatériaux permettant à la fois de ressouder l'os et la libération d'antibiotique *in situ*.

C'est dans cet optique que nous avons cherché à développer un biomatériau permettant la repousse osseuse et le traitement local de l'infection. Une ancienne étude ayant réalisée des sphéroïdes phosphocalciques imprégnés d'ibuprofène pour empêcher l'inflammation locale, notre recherche s'est basée sur le même protocole de fabrication. Ainsi nous avons réussi à fabriquer des sphéroïdes phosphocalciques poreux chargés de chlorhydrate de tétracycline. Les essais de dissolution ont cependant montré quelques problèmes qui ont sûrement pour origine la phase d'imprégnation. En effet la dose de charge des grains reste faible (avec un certain pourcentage de perte par rapport à la quantité disponible) et le relargage de cette dose dans un milieu de dissolution à flux continu ne se fait pas complètement et non de manière reproductible. Des améliorations de procédé restent donc à effectuer pour obtenir l'effet recherché, mais l'avancement des études chez l'animal pour les sphéroïdes d'ibuprofène, encourage fortement à continuer les recherches sur ces biomatériaux.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Posologie, voie d'administration et concentrations sériques souhaitées des antibiotiques dans les infections ostéo-articulaires	100
ANNEXE 2 : Masse des sphéroïdes phosphocalciques avant et après imprégnation : évaluation du DC par la différence de masse	101
ANNEXE 3 : Détermination au Dissolutest du taux de charge (DC) des grains $500 < d < 710 \mu\text{m}$ après imprégnation : résultats expérimentaux	102
ANNEXE 4 : Détermination au Dissolutest du taux de charge (DC) des grains $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ après imprégnation : résultats expérimentaux	106
ANNEXE 5 : Plateau maximum à atteindre pour toutes les fractions pour la détermination de la cinétique de dissolution	107
ANNEXE 6 : Données brutes de l'essai de dissolution de la fraction $500 < d < 710 \mu\text{m}$ chargée avec la solution à $7,5 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	108
ANNEXE 7 : Données brutes de l'essai de dissolution de la fraction $710 < d < 1000 \mu\text{m}$ chargée avec la solution à $7,5 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	109

ANNEXE 1

Posologie, voie d'administration et concentrations sériques souhaitées des antibiotiques dans les infections ostéo-articulaires [bb10]

Antibiotique	Nom commercial	Posologie par 24 heures	Rythme et voie d'administration	Concentrations sériques souhaitées (µg/ml)
<i>Amoxicilline</i>	Clamoxyl	100–200 mg/kg		
<i>Oxacilline cloxacilline</i>	Bristopen, Orbénine			
<i>Céfazoline</i>	Céfacidal	100–150 mg/kg	IVSE ^a	50
<i>Cefotaxime</i>	Claforan	100–200 mg/kg		
<i>Ceftazidime</i>	Fortum	100 mg/kg	Ou en quatre à six injections IVL	Cmax. ^b 80 ; Cmin. ^c < 20
<i>Cefepime</i>	Axepime	50–100 mg/kg		
<i>Pipéracilline-tazobactam</i>	Tazocilline	150–200 mg/kg		
<i>Amoxicilline-acide clavulanique</i>	Augmentin	100 mg/kg	Quatre à six injections IVL	Cmax. 80 ; Cmin. < 20
<i>Ceftriaxone</i>	Rocéphine	30–35 mg/kg	En deux injections IVL	
<i>Imipénème</i>	Tienam	50–100 mg/kg	Trois à quatre injections IVL	Cmax. 20–30 ; Cmin. 1–3
<i>Vancomycine</i>	Vancocine	40–60 mg/kg	IVSE	30–40
<i>Teicoplanine</i>	Targocid	12 à 24 mg/kg puis 6 à 12 mg/kg	En deux injections IVL pendant plusieurs jours puis une injection IVL	Cmin. 30–35
<i>Gentamicine</i>	Gentalline	3 mg/kg	Deux injections IV 30 minutes	Cmax. 4–6 ; Cmin. < 0,5
<i>Tobramycine</i>	Nebcine	3 mg/kg		
<i>Amikacine</i>	Amiklin	15 mg/kg		Cmax. 25–30 ; Cmin. < 3
<i>Péfloxacine</i>	Péflacine	800–1200 mg	Deux à trois fois per os ou IV	Cmax. 10 ; Cmin. 6–8
<i>Ofloxacine</i>	Ofloxacine	400–800 mg	Deux à trois fois per os ou IV	Cmax. 5 ; Cmin. 3
<i>Ciprofloxacine</i>	Ciflox	1500–2000 mg	Deux à trois fois per os ou IV	Cmax. 3 ; Cmin. 2
<i>Clindamycine</i>	Dalacine	1800–2400 mg	IVSE Ou en trois à quatre injections IVL ou trois prises	6–8 Cmax. 15 ; Cmin. 5
<i>Rifampicine</i>	Rifadine	20 mg/kg	Deux à trois injections IV 60 minutes ou deux à trois prises	Cmax. 10–15 ; Cmin. 1–5
<i>Acide fusidique</i>	Fucidine	1500 mg	Deux à trois injections IVL Deux à trois prises	Cmax. 80 ; Cmin. 50
<i>Fosfomycine</i>	Fosfocine	150–200 mg/kg	IVSE Trois à quatre injections IV de 120 minutes	70–90
<i>Linézolide</i>	Zyvoxid	1200 mg	Deux prises Deux injections IVL	Cmax. 20 ; Cmin. 6

Le dosage de rifampicine doit être fait entre le 8 et 10^e jour de traitement, le dosage des fluoroquinolones entre le 5^e et le 7^e jour. Les autres dosages peuvent être faits dès la quarante-huitième et la soixante-douzième heure, puis au moins une fois par semaine pour les glycopeptides et les aminosides. Un contrôle à une semaine est souhaitable pour les bêta-lactamines la clindamycine et la fosfomycine administrés en perfusion continue (risque d'accumulation en cas d'insuffisance rénale et chez le sujet âgé).

^a IVSE : perfusion continue à la seringue électrique ; il faut toujours débiter par une dose de charge (un quart de la dose par 24 heures) à passer en 30 à 60 minutes, puis brancher la perfusion continue.

^b Cmax. : concentration au pic, prélevée après l'injection (une heure après le début de perfusion, deux heures après la prise orale).

^c Cmin. : concentration résiduelle de l'antibiotique prélevée juste avant l'injection ou la prise.

Annexe 2

Masse des sphéroïdes phosphocalciques avant et après imprégnation : évaluation du DC* par la différence de masse

Concentration de la solution d'imprégnation (mg/ml)	Ballon	Masse des grains avant imprégnation (g)	Masse des grains après imprégnation (g)	Evaluation du DC* (%)	Moyenne des DC* (%)	Ecart-type des DC* (%)	DC théorique (%)	Ecart relatif entre DC théorique et DC expérimental (%)
10	A	3,5151	3,5195	0,13	1,59	1,35	5,4	70,50
	B	3,5015	3,5984	2,77				
	C	3,5038	3,5699	1,89				
7,5	A	3,5030	3,5594	1,61	2,13	0,49	4,11	48,12
	B	3,4933	3,5835	2,58				
	C	3,4977	3,5748	2,20				
5	A	3,5050	3,5429	1,08	0,91	0,27	2,78	67,39
	B	3,5040	3,5249	0,60				
	C	3,5020	3,5385	1,04				
2,5	A	3,5003	3,4213	-2,26	-2,32	0,30	1,4	265,44
	B	3,5034	3,4110	-2,64				
	C	3,5005	3,4286	-2,05				

DC = drug content = quantité de PA contenue dans les grains mais à ce stade plutôt que de DC il est plus précis de parler de variation pondérale.

Annexe 3

Détermination au Dissolutest du taux de charge (DC) des grains 500<d<710µm après imprégnation : résultats expérimentaux

SOLUTION à 10 mg/ml sur grains 500<d<710µm								
Ballon	Echantillon (bol) n°	Masse de l'échantillon (mg)	Absorbance sur 3 prélèvements par échantillon	Moyenne des 3 DO	Concentration en PA (10-3 mg/ml) (y=0,0348x)	DC (%)	Moyenne des DC par ballon (%)	Moyenne des DC par solution (%)
A	1	275,3	1,0029	0,9961	28,62	5,20	4,84 ± 0,66	4,17 ± 0,73
			0,9639					
			1,0215					
	2	274,5	0,9797	1,0007	28,75	5,24		
			1,0416					
			0,9807					
	3	275,8	0,8028	0,7821	22,47	4,07		
			0,7415					
			0,8020					
B	1	275,7	0,8670	0,8744	25,13	4,56	4,30 ± 0,24	4,17 ± 0,73
			0,8752					
			0,8809					
	2	274,7	0,8180	0,8137	23,38	4,26		
			0,8108					
			0,8124					
	3	275,7	0,7816	0,7839	22,53	4,09		
			0,7852					
			0,7849					
C	1	275,2	0,6599	0,6611	19,00	3,45	3,39 ± 0,32	4,17 ± 0,73
			0,6628					
			0,6606					
	2	274,6	0,5803	0,5821	16,73	3,05		
			0,5833					
			0,5827					
	3	275,3	0,7007	0,7029	20,20	3,67		
			0,7025					
			0,7056					

SOLUTION à 7,5 mg/ml sur grains 500<d<710µm								
Ballon	Echantillon (bol) n°	Masse de l'échantillon (mg)	Absorbance sur 3 prélèvements par échantillon	Moyenne des 3 DO	Concentration en PA (10-3 mg/ml) (y=0,0348x)	DC (%)	Moyenne des DC par ballon (%)	Moyenne des DC par solution (%)
A	1	275	0,5844	0,5891	16,93	3,08	3,02 ± 0,07	
			0,5898					
			0,5931					
	2	275,4	0,5621	0,5656	16,25	2,95		
			0,5685					
			0,5663					
	3	275,9	0,5809	0,5836	16,77	3,04		
			0,5844					
			0,5855					
B	1	275,9	0,7103	0,7122	20,46	3,71	3,60 ± 0,10	3,40 ± 0,32
			0,7121					
			0,7141					
	2	274,9	0,6704	0,6733	19,35	3,52		
			0,6719					
			0,6775					
	3	275,8	0,6847	0,6862	19,72	3,57		
			0,6854					
			0,6884					
C	1	275,9	0,6668	0,6664	19,15	3,47	3,56 ± 0,24	
			0,6698					
			0,6625					
	2	275,7	0,7342	0,7371	21,18	3,84		
			0,7377					
			0,7393					
	3	276	0,6469	0,6499	18,68	3,38		
			0,6527					
			0,6502					

SOLUTION à 5 mg/ml sur grains 500<d<710µm									
Ballon	Echantillon (bol) n°	Masse de l'échantillon (mg)	Absorbance sur 3 prélèvements par échantillon	Moyenne des 3 DO	Concentration en PA (10-3 mg/ml) (y=0,0348x)	DC (%)	Moyenne des DC par ballon (%)	Moyenne des DC par solution (%)	
	1	275,6	0,4543	0,4595	13,20	2,40	2,35 ± 0,04	2,56 ± 0,18	
			0,4622						
			0,4621						
	2	275,5	0,4412	0,4442	12,76	2,32			
			0,4462						
			0,4452						
	3	275,8	0,4429	0,4482	12,88	2,33			
			0,4503						
			0,4513						
B	1	275,7	0,4945	0,4959	14,25	2,58	2,66 ± 0,09	2,56 ± 0,18	
			0,4948						
			0,4983						
	2	275,4	0,5239	0,5294	15,21	2,76			
			0,5360						
			0,5282						
	3	275,5	0,5005	0,5028	14,45	2,62			
			0,5000						
			0,5080						
C	1	275,9	0,5048	0,5028	14,45	2,62	2,68 ± 0,07	2,56 ± 0,18	
			0,5003						
			0,5033						
	2	276	0,5266	0,5298	15,22	2,76			
			0,5322						
			0,5306						
	3	274,9	0,5081	0,5090	14,63	2,66			
			0,5102						
			0,5087						

SOLUTION à 2,5 mg/ml sur grains 500<d<710µm									
Ballon	Echantillon (bol) n°	Masse de l'échantillon (mg)	Absorbance sur 3 prélèvements par échantillon	Moyenne des 3 DO	Concentration en PA (10-3 mg/ml) (y=0,0348x)	DC (%)	Moyenne des DC par ballon (%)	Moyenne des DC par solution (%)	
A	1	275,5	0,2452	0,2470	7,10	1,29	1,32 ± 0,05	1,33 ± 0,07	
			0,2467						
			0,2491						
	2	276	0,2483	0,2481	7,13	1,29			
			0,2492						
			0,2469						
	3	275,8	0,2619	0,2649	7,61	1,38			
			0,2656						
			0,2672						
B	1	274,7	0,2406	0,2427	6,97	1,27			
			0,2419						
			0,2456						
	2	274,9	0,2505	0,2490	7,16	1,30			
			0,2490						
			0,2475						
	3	275,4	0,2312	0,2323	6,68	1,21			
			0,2315						
			0,2343						
C	1	275,9	0,2616	0,2622	7,53	1,37			
			0,2621						
			0,2629						
	2	276,3	0,2723	0,2746	7,89	1,43			
			0,2742						
			0,2773						
	3	274,9	0,2703	0,2686	7,72	1,40			
			0,2672						
			0,2682						

Annexe 4

Détermination au Dissolutest du taux de charge (DC) des grains 710<d<1000µm après imprégnation : résultats expérimentaux

SOLUTION à 7,5 mg/ml sur grains 710<d<1000µm								
Ballon	Echantillon (bol) n°	Masse de l'échantillon (mg)	Absorbance sur 3 prélèvements par échantillon	Moyenne des 3 DO	Concentration en PA (10 ⁻³ mg/ml) (y=0,0348x)	DC (%)	Moyenne des DC par ballon (%)	Moyenne des DC par solution (%)
A	1	275,1	0,3880	0,3896	11,20	2,03	2,17 ± 0,20	2,22 ± 0,08
			0,3904					
			0,3905					
	2	275,9	0,4573	0,4611	13,25	2,40		
			0,4618					
			0,4642					
	3	274,6	0,3966	0,3948	11,34	2,07		
			0,3951					
			0,3926					
B	1	275,2	0,4208	0,4213	12,11	2,20	2,28 ± 0,18	
			0,4215					
			0,4217					
	2	275,4	0,4104	0,4108	11,81	2,14		
			0,4114					
			0,4107					
	3	276,4	0,4763	0,4781	13,74	2,49		
			0,4784					
			0,4797					

Annexe 5

Plateau maximum à atteindre pour toutes les fractions pour la détermination de la cinétique de dissolution

Taille des sphéroïdes (µm)	Concentration de la solution d'imprégnation (mg/ml)	Ballon	DC moyen (%)	Moyenne des 3 concentrations du milieu de dissolution (10-3 mg/ml)	Masse de PA libérée dans 500 ml (mg)	Masse de PA déposée théorique (mg)	Pourcentage max de PA libéré dans 500ml (%)
500<d<710	10	A	4,84	26,62	13,31	14,85	89,63
		B	4,3	23,68	11,84		79,73
		C	3,39	18,64	9,32		62,76
	7,5	A	3,02	16,65	8,33	11,3	73,67
		B	3,6	19,84	9,92		87,79
		C	3,56	19,67	9,84		87,04
	5	A	2,35	12,95	6,48	7,64	84,75
		B	2,66	14,64	7,32		95,81
		C	2,68	14,77	7,39		96,66
	2,5	A	1,32	7,28	3,64	3,85	94,55
		B	1,26	6,94	3,47		90,13
		C	1,4	7,71	3,86		100,13
710<d<1000	7,5	A	2,17	11,93	5,97	11,3	52,79
		B	2,28	12,55	6,28		55,53

Les parties en vert correspondent aux fractions de grains utilisés expérimentalement pour l'essai.

Annexe 6

Données brutes de l'essai de dissolution de la fraction 500<d<710µm chargée avec la solution à 7,5mg.mL⁻¹

Cinétique de dissolution sur grains 500<d<710µm chargés avec solution à 7,5 mg/mL: ESSAI 1			
temps du prélèvement (min)	Absorbance à 276 nm	Concentration (mg/L)	% dissous
0	0	0	0
1	0	0	0
2	0,071	1,9	8,4
3	0,188	5	22,3
4	0,269	7,2	31,9
5	0,333	8,9	39,6
6	0,386	10,3	45,8
7	0,426	11,4	50,6
8	0,465	12,5	55,2
9	0,491	13,2	58,3
10	0,514	13,8	61
11	0,534	14,3	63,3
12	0,549	14,7	65,1
13	0,563	15,1	66,9
14	0,576	15,4	68,3
15	0,585	15,7	69,5
16	0,595	16	70,6
17	0,602	16,1	71,5
18	0,609	16,3	72,3
19	0,616	16,5	73,1
20	0,622	16,7	73,8
21	0,627	16,8	74,5
22	0,632	17	75
23	0,636	17,1	75,5
24	0,639	17,1	75,9
25	0,643	17,3	76,4
26	0,646	17,3	76,6
27	0,649	17,4	77
28	0,651	17,5	77,3
29	0,654	17,5	77,6
30	0,655	17,6	77,8
31	0,663	17,8	78,7
32	0,668	17,9	79,3
33	0,671	18	79,6
34	0,674	18,1	79,9
35	0,675	18,1	80,2
36	0,676	18,1	80,2
37	0,678	18,2	80,5
38	0,678	18,2	80,5
39	0,678	18,2	80,5
40	0,678	18,2	80,5
41	0,678	18,2	80,5
42	0,677	18,2	80,4
43	0,677	18,2	80,3
44	0,676	18,1	80,3

Cinétique de dissolution sur grains 500<d<710µm chargés avec solution à 7,5 mg/mL: ESSAI 2			
temps du prélèvement (min)	Absorbance à 276 nm	Concentration (mg/L)	% dissous
0	0	0	0
1	0	0	0
2	0,081	2,2	9,6
3	0,154	4,1	18,2
4	0,204	5,5	24,2
5	0,245	6,6	29,1
6	0,275	7,4	32,7
7	0,297	8	35,3
8	0,319	8,6	37,9
9	0,336	9	39,9
10	0,35	9,4	41,5
11	0,364	9,8	43,3
12	0,373	10	44,3
13	0,381	10,2	45,3
14	0,389	10,4	46,2
15	0,396	10,6	47
16	0,402	10,8	47,7
17	0,406	10,9	48,2
18	0,411	11	48,8
19	0,415	11,1	49,2
20	0,419	11,2	49,7
21	0,423	11,3	50,2
22	0,427	11,5	50,7
23	0,43	11,5	51,1
24	0,434	11,6	51,5
25	0,436	11,7	51,8
26	0,439	11,8	52,1
27	0,441	11,8	52,3
28	0,443	11,9	52,6
29	0,445	11,9	52,8
30	0,446	12	53
31	0,454	12,2	53,9
32	0,459	12,3	54,5
33	0,463	12,4	54,9
34	0,466	12,5	55,3
35	0,468	12,6	55,6
36	0,47	12,6	55,8
37	0,473	12,7	56,1
38	0,474	12,7	56,2
39	0,475	12,7	56,4
40	0,475	12,8	56,4
41	0,476	12,8	56,5
42	0,476	12,8	56,5
43	0,476	12,8	56,5
44	0,476	12,8	56,5
45	0,477	12,8	56,6
46	0,477	12,8	56,6
47	0,477	12,8	56,6
48	0,477	12,8	56,6
49	0,477	12,8	56,6
50	0,477	12,8	56,6
51	0,477	12,8	56,6

Annexe 7

Données brutes de l'essai de dissolution de la fraction 710<d<1000µm chargée avec la solution à 7,5mg.mL⁻¹

Cinétique de dissolution sur grains 710<d<1000µm chargés avec solution à 7,5 mg/mL: ESSAI 1			
temps du prélèvement (min)	Absorbance à 276 nm	Concentration (mg/L)	% dissous
0	0	0	0
1	0,015	0,4	1,7
2	0,085	2,3	10,1
3	0,14	3,7	16,6
4	0,183	4,9	21,8
5	0,218	5,8	25,9
6	0,246	6,6	29,2
7	0,263	7,1	31,2
8	0,277	7,4	32,9
9	0,289	7,7	34,3
10	0,298	8	35,4
11	0,305	8,2	36,2
12	0,311	8,3	36,9
13	0,317	8,5	37,6
14	0,321	8,6	38,1
15	0,325	8,7	38,6
16	0,329	8,8	39
17	0,332	8,9	39,4
18	0,335	9	39,7
19	0,337	9,1	40
20	0,34	9,1	40,4
21	0,342	9,2	40,6
22	0,344	9,2	40,9
23	0,346	9,3	41,1
24	0,348	9,3	41,3
25	0,35	9,4	41,5
26	0,351	9,4	41,7
27	0,353	9,5	41,9
28	0,354	9,5	42
29	0,355	9,5	42,2
30	0,357	9,6	42,3
31	0,361	9,7	42,8
32	0,364	9,8	43,2
33	0,365	9,8	43,4
34	0,367	9,8	43,5
35	0,368	9,9	43,6
36	0,368	9,9	43,7
37	0,369	9,9	43,8
38	0,37	9,9	43,9
39	0,371	9,9	44
40	0,37	9,9	43,9
41	0,37	9,9	44
42	0,37	9,9	44
43	0,37	9,9	44
44	0,37	9,9	44
45	0,37	9,9	44
46	0,37	9,9	43,9
47	0,37	9,9	43,9
48	0,37	9,9	43,9
49	0,37	9,9	43,9
50	0,37	9,9	43,9
51	0,369	9,9	43,8

Cinétique de dissolution sur grains 710<d<1000µm chargés avec solution à 7,5 mg/mL: ESSAI 2			
temps du prélèvement (min)	Absorbance à 276 nm	Concentration (mg/L)	% dissous
0	0	0	0
1	0,011	0,3	1,4
2	0,089	2,4	10,5
3	0,153	4,1	18,1
4	0,2	5,4	23,8
5	0,234	6,3	27,7
6	0,255	6,9	30,3
7	0,272	7,3	32,3
8	0,285	7,6	33,8
9	0,294	7,9	34,9
10	0,302	8,1	35,8
11	0,308	8,3	36,6
12	0,313	8,4	37,1
13	0,317	8,5	37,6
14	0,321	8,6	38,1
15	0,324	8,7	38,5
16	0,327	8,8	38,8
17	0,33	8,8	39,1
18	0,332	8,9	39,4
19	0,335	9	39,7
20	0,337	9	40
21	0,339	9,1	40,2
22	0,34	9,1	40,4
23	0,342	9,2	40,6
24	0,343	9,2	40,7
25	0,345	9,3	40,9
26	0,346	9,3	41,1
27	0,347	9,3	41,2
28	0,348	9,3	41,3
29	0,349	9,4	41,4
30	0,35	9,4	41,5
31	0,354	9,5	42
32	0,357	9,6	42,4
33	0,359	9,6	42,6
34	0,36	9,7	42,8
35	0,362	9,7	42,9
36	0,363	9,7	43,1
37	0,365	9,8	43,3
38	0,366	9,8	43,4
39	0,366	9,8	43,5
40	0,367	9,8	43,5
41	0,367	9,8	43,5
42	0,367	9,8	43,6
43	0,367	9,8	43,5
44	0,367	9,8	43,5
45	0,367	9,8	43,5
46	0,367	9,8	43,5
47	0,366	9,8	43,5
48	0,366	9,8	43,5
49	0,366	9,8	43,4
50	0,366	9,8	43,4
51	0,366	9,8	43,4

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Ader F, Salomon J, Perrone C. *Origine de l'infection osseuse : endogène ou exogène ?* *Éléments de physiopathologie*. Médecine et maladies infectieuses 34 (2004) : 530-537.
- [2] Bardin T. et Orcel P. *Traité de thérapeutique rhumatologique*. Médecine-Sciences Flammarion. Paris (2007). 760 p.
- [3] Bedouch P. *L'antibioprophylaxie de la chirurgie de la prothèse totale de hanche* [en ligne]. Mémoire de DES Pharmacie Hospitalière (2002). Disponible sur : <http://ispb.univ-lyon1.fr/theses/these_integ/bedouch/antibioprophylaxie.html>. Consulté le : 03/2010.
- [4] Bernard L. *Infections de prothèse articulaire*. Médecine et maladies infectieuses 33 (2003) : 231-239.
- [5] Biam (2000) [en ligne]. Disponible sur <<http://www.biam2.org/www/Sub179.html>>. Consulté le : 10/2010.
- [6] Campoccia D, Montanaro L, Speziale P. *Antibiotic-loaded biomaterials and the risks for the spread of antibiotic resistance following their prophylactic and therapeutic clinical use*. Biomaterials 31 (2010): 6363-6377.
- [7] Canton P, May T. *Infections ostéo-articulaires*. Médecine et maladies infectieuses (1986) 11 bis : 700-706.
- [8] Chevalier E. *Sphéroïdes phosphocalciques poreux pour implantation osseuse et libération d'ibuprofène*. Thèse de doctorat (2008). 245 p.
- [9] Desplaces N. *Bactériologie des infections ostéoarticulaires chez l'adulte*. Revue du Rhumatisme 73 (2006) : 129-135.
- [10] Desplaces N. *Les bactéries anaérobies en pathologie osseuse*. Med mal Infect (2000) ; 30 suppl 2 : 97-101.
- [11] Diefenbeck M, Mückley T, Hofmann G. *Prophylaxis and treatment of implant-related infections by local application of antibiotics*. Injury 37 (2006) : S95-S104.
- [12] Direction de la qualité du médicament. *06 Monographies générales* [en ligne]. Disponible sur <<http://online6.edqm.eu/ep605>>. Consulté le : 10/2010.

- [13] Ferroni A. *Epidémiologie et diagnostic bactériologique des infections ostéoarticulaires aiguës de l'enfant*. Archives de pédiatrie (2007) : S91-S96.
- [14] Gomez-Brouchet A. *Rôle du pathologiste dans la prise en charge et le diagnostic d'une infection osseuse*. Médecine Nucléaire 32 (2008) : 138-141.
- [15] Grimprel E, Lorrot M, Haas H. *Infections ostéo-articulaires : études cliniques*. Archives de Pédiatrie (2008) ; 15 : S68-S73.
- [16] Institut Pasteur. *Génétique des biofilms* [en ligne]. Institut Pasteur (2002). Disponible sur : <www.pasteur.fr/recherche/unites/Ggb/Rapdac.pdf>. consulté le 03/2010.
- [17] Kühn K.D, Specht R. *Le ciment acrylique osseux : historique, caractéristiques et propriétés physiques* [en ligne]. Maîtrise orthopédique n°126 (2003). Disponible sur <<http://www.maitrise-orthop.com>>. Consulté le : 09/2010
- [18] Legifrance. *Loi n°2002-303 du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé* (2010) [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.legifrance.gouv.fr>>. Consulté le : 10/2010.
- [19] Les secrets du corps humain. *Les os. Une structure en constante évolution* [en ligne]. Editions atlas (2008). Disponible sur : <<http://lecorpshumain.fr/corpshumain/1-os.html>>. Consulté le 03/2010.
- [20] Lortat-Jacob A. *Indications opératoires dans l'infection osseuse*. Médecine et maladies infectieuses (1991) ; 21 : 513-524.
- [21] Lortat-Jacob A. *Infection osseuse post-traumatique*. Masson. Paris (1992). 136 p.
- [22] Masquelet A-C. *Chirurgie orthopédique, principes et généralités*. Masson. Paris (2004). 405 p.
- [23] Passuti N, Guoin F. *Les ciments aux antibiotiques dans la chirurgie orthopédique*. Revue du rhumatisme 70 (2003) : 371-378.
- [24] Perrot S. Module 7 – chapitre 22 : Infections ostéo-articulaires et Spondylodiscites. *In Rhumatologie*. Editions Med-Line, 4^{ème} édition. Paris (2002). Pages 185 à 197.
- [25] Randelli P, Evola F, Cabitza P. *Prophylactic use of antibiotic-loaded bone cement in primary total knee replacement*. Knee surg sports traumatol arthrosc (2010) 18: 181-186
- [26] Richard V. *Etude in vivo de la biocompatibilité de shéroides phosphocalciques chargés en ibuprofène et de la libération de la molécule active*. Mémoire de Master (2010). 99 p.

- [27] Rüfenacht M, Hoffmeyer P. *Chirurgie orthopédique et traumatologie ostéo-articulaire de l'adulte et de l'enfant*. Médecine et Hygiène. Genève (2004). 621 p.
- [28] Tamilvanan S, Venkateshan N, Ludwig A. *The potential of lipid- and polymer-based drug delivery carriers for eradicating biofilm consortia on device-related nosocomial infections*. Journal of controlled release 128 (2008) : 2-22.
- [29] Wikipedia. Os [en ligne]. Wikipédia (2010). Disponible sur : <<http://fr.wikipedia.org/wiki/os>>. Consulté le : 03/2010.
- [30] Wikipedia. Spondylodiscite [en ligne]. Wikipédia (2010). Disponible sur : <<http://fr.wikipedia.org/wiki/spndylodiscite>>. Consulté le : 03/2010.
- [31] Zeller V, Desplaces N. *Antibiothérapie des infections ostéoarticulaires à pyogènes chez l'adulte : principes et modalités*. Revue du rhumatisme 73 (2006) : 183-190.
- [32] Zilberman M, Elsner J. *Antibiotic-eluting medical devices for various applications*. Journal of controlled release 130 (2008): 202-215.

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux	11
Liste des figures	12
Liste des abréviations	13
Introduction générale	14
CHAPITRE 1 : ORIGINE DES INFECTIONS OSSEUSES	15
1 Généralités.....	16
1.1 Physiologie osseuse.....	16
1.1.1 Structure de l'os.....	16
1.1.1.1 Structure externe	16
1.1.1.2 Structure interne.....	16
1.1.1.3 Ostéogénèse	18
1.1.2 Réparation osseuse	18
1.2 Terrain.....	19
1.2.1 Les diabétiques.....	19
1.2.2 La polyarthrite rhumatoïde.....	19
1.2.3 L'existence d'un foyer infectieux	19
1.2.4 Autres	19
2 Classification des infections.....	20
2.1 Infections osseuses d'origine hématogène.....	22
2.1.1 Ostéomyélite hématogène	22
2.1.1.1 Physiopathologie.....	22
2.1.1.2 Germes en cause	22
2.1.1.3 Formes inhabituelles d'ostéomyélite	23
2.1.2 Spondylodiscite.....	23
2.1.2.1 Physiopathologie.....	23
2.1.2.2 Germes en cause.....	24
2.1.3 Infection aiguë hématogène sur prothèse ostéo-articulaire.....	24
2.1.3.1 Physiopathologie.....	24
2.1.3.2 Germes en cause.....	24
2.1.3.3 Facteurs de risque	25
2.1.4 L'arthrite septique.....	25

2.1.4.1	Physiopathologie	25
2.1.4.2	Germes en cause.....	26
2.1.4.3	Formes particulières	26
2.2	Infections osseuses d'origine post-opératoire	27
2.2.1	Classification.....	27
2.2.1.1	Selon le délai d'apparition (par COVENTRY).....	27
2.2.1.2	Selon la gravité (par MANGRAM).....	27
2.2.2	Physiopathologie	28
2.2.3	Germes en cause	29
2.2.3.1	L'adhérence des bactéries sur matériel métallique.....	29
2.2.3.2	L'existence de slime.....	29
2.2.3.3	La formation de biofilms bactériens adhérents sur l'implant prothétique	29
2.2.3.4	Les modifications comportementales des bactéries.....	30
2.2.3.5	Les altérations du système macrophagique anti-infectieux	30
2.2.4	Facteurs de risque.....	31
2.3	Infections osseuses d'origine post-traumatique	32
2.3.1	Classification.....	32
2.3.2	Physiopathologie	32
2.3.3	Germes en cause.....	33
2.4	Infection de contiguïté.....	33
2.4.1	Physiopathologie	33
2.4.2	Germes en cause.....	33
3	Conclusion - Tableau comparatif.....	34

CHAPITRE 2 : TRAITEMENT DES INFECTIONS OSSEUSES

35

1	Historique	36
2	Prévention.....	37
2.1	Améliorer l'information et l'éducation des intervenants.....	37
2.2	Etablir des procédures.....	37
2.2.1	Chez le patient.....	37
2.2.2	Pour l'équipe soignante.....	37
2.2.3	Pour les installations	37

2.2.4	Pour le matériel	38
2.3	Evaluer les pratiques par un contrôle qualité	38
2.4	Surveiller les infections du site opératoire et évaluer le risque infectieux.....	38
2.5	L'antibioprophylaxie	39
3	Diagnostic	40
3.1	Diagnostic médical	40
3.2	Diagnostic microbiologique.....	41
3.2.1	Prélèvements.....	41
3.2.1.1	Prélèvements profonds.....	41
3.2.1.2	Modalités de transport	41
3.2.1.2.1	Prélèvements liquides.....	42
3.2.1.2.2	Prélèvements tissulaires.....	42
3.2.1.3	Examen des prélèvements	42
3.2.1.3.1	Préparation des prélèvements.....	42
3.2.1.3.2	Les différents types d'examens.....	42
3.2.1.4	Résultats des cultures.....	43
3.2.1.4.1	Dans les infections aiguës.....	43
3.2.1.4.2	Dans les infections chroniques.....	43
4	Traitement chirurgical.....	45
4.1	Dans l'ostéomyélite hématogène	45
4.1.1	Le nettoyage focal.....	45
4.1.2	Le comblement de la cavité de résection	45
4.1.2.1	La non fermeture cutanée.....	45
4.1.2.2	L'irrigation lavage.....	46
4.1.2.3	La greffe spongieuse.....	46
4.1.2.4	Les lambeaux musculaires.....	47
4.2	Dans l'infection post-traumatique	47
4.2.1	L'excision.....	47
4.2.2	Le comblement	47
4.2.2.1	Le comblement par des matériaux inertes	47
4.2.2.2	Le comblement par des lambeaux musculaires	47
4.2.3	La couverture.....	47
4.2.4	Pratiques complémentaires	48
4.2.4.1	Stabilisation par fixateur externe.....	48

4.2.4.2	Reconstruction.....	49
4.3	Dans l'infection post-opératoire.....	51
4.3.1	Lavage de l'articulation avec prothèse laissée en place.....	51
4.3.2	Remplacement de prothèse en un temps	51
4.3.3	Remplacement en deux temps.....	51
4.3.4	Résection tête et col (hanche) ou arthrodèse (genou)	52
5	Traitement antibiotique	54
5.1	Traitement antibiotique par voie générale.....	54
5.1.1	Diffusion osseuse des antibiotiques.....	54
5.1.2	Voie et modalités d'administration de l'antibiothérapie	55
5.1.2.1	Antibiothérapie orale	55
5.1.2.2	Antibiothérapie intraveineuse.....	56
5.1.2.3	Administration des antibiotiques en perfusion continue	56
5.1.2.4	Synthèse.....	56
5.1.3	Adaptation des posologies à chaque patient.....	57
5.1.4	Choix des antibiotiques	58
5.1.4.1	Suivant le type d'infection osseuse.....	58
5.1.4.2	Suivant les bactéries responsables de l'infection osseuse.....	58
5.1.5	Durée du traitement	60
5.1.6	Surveillance	60
5.1.7	Antibioprophylaxie.....	61
5.2	Traitement antibiotique par voie locale	63
5.2.1	Choix du système de délivrance et de l'antibiotique.....	63
5.2.1.1	Choix du système de délivrance	64
5.2.1.2	Choix de l'antibiotique incorporé dans le biomatériau.....	65
5.2.2	Avantages et inconvénients.....	66
5.2.2.1	Avantages.....	66
5.2.2.2	Inconvénients	67
5.2.3	Les ciments acryliques.....	68
5.2.3.1	Composition et mode de fonctionnement.....	68
5.2.3.1.1	Composition.....	68
5.2.3.1.2	Mode de fonctionnement.....	69
5.2.3.2	Les gentabilles.....	70
5.2.3.2.1	Conditions d'utilisation	70

5.2.3.2.2	Technique d'utilisation.....	70
5.2.3.2.3	Pharmacocinétique.....	71
5.2.3.3	Le ciment acrylique non polymérisé	72
6	Conclusion.....	73

CHAPITRE 3 ETUDE EXPERIMENTALE: SPHEROÏDES PHOSPHOCALCIQUES POREUX POUR IMPLANTATION OSSEUSE ET LIBERATION DE CHLORHYDRATE DE TETRACYCLINE 74

1	Fabrication des sphéroïdes phosphocalciques poreux	75
1.1	Présentation	75
1.2	Matériel et méthodes.....	76
1.2.1	La granulation.....	78
1.2.1.1	Mélange des poudres de TCP et d'amidon	78
1.2.1.2	Granulation du mélange	78
1.2.1.3	Sphéronisation.....	78
1.2.1.4	Séchage.....	79
1.2.2	Tamissage.....	79
1.2.3	Le traitement thermique	80
2	Imprégnation des sphéroïdes par le chlorhydrate de tétracycline	81
2.1	Caractéristiques du principe actif : le chlorhydrate de tétracycline	81
2.1.1	Formule chimique	81
2.1.2	Propriétés physico-chimiques.....	81
2.1.3	Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques.....	82
2.1.4	Effets secondaires et contre-indications.....	82
2.1.5	Pharmacocinétique	82
2.2	Chargement par la molécule active.....	83
2.2.1	Préparation des solutions de chlorhydrate de tétracycline.....	83
2.2.2	Evaporation / chargement.....	83
2.2.3	Séchage.....	84
2.3	Evaluation de la teneur des grains en principe actif	86
2.3.1	Droite d'étalonnage	86
2.3.1.1	Préparation des solutions étalons de chlorhydrate de tétracycline	86
2.3.1.2	Lecture des absorbances sur spectrophotomètre	86
2.3.2	Détermination du DC des grains chargés	87

2.3.2.1	Matériel et méthode	87
2.3.2.2	Résultats.....	88
2.3.2.2.1	Valeurs théoriques.....	88
2.3.2.2.2	Résultats expérimentaux sur grains de diamètre $500 < d < 710 \mu\text{m}$	89
2.3.2.2.3	Résultats expérimentaux sur grains de diamètre $710 < d < 1000 \mu\text{m}$	90
3	Etude de la cinétique de dissolution.....	92
3.1	Matériel et méthode	92
3.2	Résultats et discussion.....	93
3.2.1	Pour la fraction de sphéroïdes $500 < d < 710 \mu\text{m}$	94
3.2.2	Pour la fraction de sphéroïdes $710 < d < 1000 \mu\text{m}$	94
3.2.3	Comparaison des deux fractions	95
3.2.4	Second essai de dissolution sur les grains récupérés après le premier essai	96
4	Conclusion.....	97
	Conclusion générale	98
	Annexes	99
	Bibliographie	110

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

