

Sepsis : études expérimentales (2)

Sepsis: experimental studies (2)

© SRLF et Springer-Verlag France 2013

EP021

Le taux sanguin d'EPCR soluble et sa cinétique précoce sont associés à un pronostic péjoratif au cours de la prise en charge du choc septique lié à une pneumopathie à pneumocoque

A. Debout¹, N. Gérard², Y. Foucher³, C. Rousseau⁴, O. Zambon¹, C. Bretonnière¹, D. Villers¹, J.-P. Mira⁵, B. Charreau², C. Guitton¹

¹Service de réanimation médicale polyvalente,

CHU de Nantes-Hôtel-Dieu, Nantes, France

²Inserm UMR 1064, université de Nantes, Nantes, France

³EA 4275 Sphère, université de Nantes, Nantes, France

⁴Institut Cochin, université Paris-Descartes, Paris, France

⁵Service de réanimation médicale,

CHU Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, site Cochin, Paris, France

Introduction : Le Récepteur endothélial de la protéine C (EPCR), cofacteur d'activation de la Protéine C, est une protéine endothéliale transmembranaire qui libère une forme soluble dans la circulation sanguine (EPCRs) par clivage métalloprotéasique. Cette protéine joue un rôle majeur dans les voies de la coagulation mais aussi au cours de l'inflammation, et du sepsis. Un premier travail avait montré que la cinétique des taux sanguins d'EPCRs était associée à un pronostic péjoratif sur une cohorte restreinte de patients en choc septique et sans information sur le génotypage [1]. L'objectif de ce travail est de confirmer le lien entre l'EPCRs et la mortalité des patients sur une cohorte d'envergure, de patients en choc septique, dont l'étiologie est homogène (pneumopathie) et le germe unique (pneumocoque).

Patients et méthodes : Sur une cohorte initiale multicentrique (50 centres), observationnelle, de 623 patients atteints d'une pneumonie à pneumocoque sans facteur de risque préalable (étude « STREPTOGENE »), 278 patients compliqués d'un tableau de choc septique ont été inclus. Les caractéristiques de cette cohorte étaient (moy ± SD ou %) : âge 64 ± 15 ans, 61 % d'Hommes, SAPS II 53 ± 18, Score Fine 144 ± 42, SOFA à J1 9,8 ± 3,7, 42 % avec septicémie, durée séjour en réa 18,5 ± 19,2 jours, mortalité en réa 28 %, mortalité en hospitalisation 30 %. Sur la bio collection, ont été analysés les taux d'EPCRs plasmatique par méthode ELISA au premier (J1) et au second jour (J2) de la prise en charge en Réanimation. Un génotypage du polymorphisme de l'EPCR a été réalisé par discrimination allélique en PCR quantitative (recherche haplotype A3).

Résultats : Les taux d'EPCRs étaient significativement plus élevés à la prise en charge chez les patients ayant évolué vers le décès en hospitalisation : 102,5 ± 58,0 ng/ml contre 87,5 ± 53,1 ng/ml chez les survivants (p = 0,0447). Une augmentation précoce de l'EPCRs (de J1 à J2) de 4,5 ± 26,9 ng/ml était retrouvée chez les patients décédés contre une diminution de 3,5 ± 23,1 ng/ml (p = 0,0268) chez les survivants. Le polymorphisme génétique de l'EPCR (haplotype A3) n'était pas associé à la mortalité. En analyse multivariée à coté de l'âge, du sexe, du score de Mac Cabe, du score de Fine, du SOFA et du SAPS 2, le taux d'EPCRs à l'admission était associé à un sur-risque de mortalité avec

un OR = 1,95 (p = 0,0407). Une élévation précoce de la cinétique de l'EPCRs (J1-J2) s'associait également à une surmortalité (OR : 1,01 ; p = 0,0322). Un modèle statistique a permis de construire un score composite de prédiction de la mortalité recrutant les facteurs ayant un poids significatif dans cette prédiction. La cinétique précoce de l'EPCRs et son taux basal apparaissent de manière significative dans ce score composite. La courbe ROC évaluait la capacité à prédire la mortalité hospitalière de ce score composite avec une AUC de 0,75 alors qu'elle était isolément de 0,57 pour le delta d'EPCRs J1-J2 et de 0,59 pour le taux d'EPCRs à J1.

Conclusion : Dans cette cohorte, nous avons confirmé que l'EPCR était une protéine d'intérêt au cours du sepsis. Un taux élevé d'EPCRs basal et surtout une augmentation précoce entre J1 et J2 semblent être des marqueurs associés à un pronostic péjoratif de mortalité hospitalière au cours du choc septique (chez des patients ayant une pneumopathie à pneumocoque).

Référence

1. Guitton C, Gérard N, Sébille V, et al (2011) Early rise in circulating endothelial protein C receptor correlates with poor outcome in severe sepsis. *Intensive Care Med* 37:950-6

EP022

Hétérogénéité des cellules myéloïdes suppressives au cours du choc septique

F. Uhel¹, J.-M. Tadié¹, A. Gacouin¹, M. Rousset², E. Sauvadet¹, K. Tarte³, Y. Le Tulzo¹

¹Service de réanimation médicale et maladies infectieuses,

CHU de Rennes, hôpital Pontchaillou, Rennes, France

²Inserm U917, CHU de Rennes, hôpital Pontchaillou, Rennes, France

³Inserm U917, université de Rennes-I, Rennes, France

Objectif : Les cellules suppressives d'origine myéloïde (MDSC) productrices d'arginase sont des médiateurs de la tolérance lymphocytaire T décrits initialement dans les modèles de cancer chez la souris. Chez l'homme, leurs phénotypes, fonction et rôle dans les déficits immunitaire associés à certaines pathologies sont sujets à controverses. La mortalité toujours élevée des infections bactériennes graves est liée en grande partie à une dysfonction immunitaire associée à une altération de la clairance bactérienne. Des phénomènes d'anergie lymphocytaire T et de reprogrammation monocytaire ont été décrits, mais les mécanismes qui sous-tendent cet environnement immunosuppresseur s'avèrent complexes et demeurent mal connus. L'objectif de ce travail est donc d'étudier plus précisément le rôle des cellules suppressives d'origine myéloïde au cours du sepsis.

Patients et méthodes : Dans une cohorte prospective de patients atteints de choc septique et de volontaires sains, les cellules myéloïdes circulantes ont été quantifiées par cytométrie en flux multicolores. L'activité IDO et la concentration en arginase-1 dans le plasma ont

été mesurées par spectrométrie de masse et ELISA respectivement. In vitro, des cellules mononucléées du sang périphériques marquées au CFSE ont été déplétées ou non en cellules CD14^{pos} et/ou CD15^{pos} et stimulées par anticorps anti-CD3/CD28 ; la prolifération lymphocytaire T a été mesurée par dilution du CFSE. Enfin, l'expression de 45 gènes myéloïdes a été étudiée par Q-PCR sur ARN de sang total de patients atteints d'infections bactériennes graves et chez des volontaires sains.

Résultats : L'expression d'un panel de gènes impliqué dans la biologie des MDSC, incluant *S100A8*, *S100A9*, *MMP8* et *ARG1*, est significativement augmentée dans le sang de patients atteints de choc septique (n = 15) comparé aux volontaires sains (n = 15). De plus, la concentration en arginase-1 circulante est augmentée chez environ 60 % des patients septiques, sans corrélation avec l'activité IDO. Outre les polynucléaires matures et immatures, les sous-populations monocytaires CD14^{pos}CD16^{pos} et CD14^{pos}HLA-DR^{lo/neg} sont significativement et spécifiquement augmentées chez les patients septiques (n = 40). Dans ce sens, alors que la prolifération des lymphocytes T in vitro est profondément altérée chez les patients septiques comparé aux volontaires sains, la déplétion des cellules myéloïdes CD14^{pos} et CD15^{pos} restaure la prolifération des lymphocytes T CD4^{pos} et CD8^{pos}, révélant un mécanisme d'anergie plus induit par les cellules myéloïdes qu'intrinsèque aux lymphocytes T. Par ailleurs, les granulocytes de faible densité CD15^{pos}, mais pas les cellules CD14^{pos}, exercent une activité arginase-1 in vitro.

Conclusion : Chez les patients présentant une infection bactérienne grave, les monocytes CD14^{pos}HLA-DR^{lo/neg} et les granulocytes CD14^{lo/neg}CD15^{pos} inhibent la prolifération lymphocytaire T. Parallèlement à IDO, l'arginase-1 se révèle être un mécanisme important de la dysfonction immunitaire du sepsis. Ces phénomènes se révèlent multiples et complexes, et leur meilleure compréhension devrait permettre d'apporter des réponses thérapeutiques au pronostic toujours sévère du choc septique.

Bibliographie

- Gabrilovich DI, Nagaraj S (2009) Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol* 9:162–74
- Tattevin P, Monnier D, Tribut O, et al (2010) Enhanced Indoleamine 2,3-dioxygenase activity in patients with severe sepsis and septic shock. *J Infect Dis* 201:956–66

EP023

Monitorer la microcirculation intestinale en temps réel dans le choc septique. Validation d'un nouvel outil dans un modèle porcine

M. Jacquet-Lagrange¹, B. Allaouchiche¹, O. Vassal², J.-M. Bonnet-Garrin³, C. Paquet³, J.-Y. Ayoub³, J. Etienne⁴, O. Daulwader⁴, S. Junot³

¹Anesthésie-réanimation, CHU de Lyon, hôpital Édouard-Herriot, Lyon, France

²Département d'anesthésie et réanimation, CHU de Lyon, CH Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France

³EA 4174 Sepsis inflammation hémostasie, Vetagro Sup, campus vétérinaire de Lyon, Marcy-l'Étoile, France
⁴Bactériologie-hygiène, groupe hospitalier Est, hospices civils de Lyon, Lyon, France

Introduction : L'atteinte microcirculatoire intestinale est considérée comme le moteur des défaillances multiviscérales dans le sepsis [1] et de la mortalité associée [2]. Nous évaluons ici un dispositif permettant de la mesurer en continue et en temps réel : une sonde d'alimentation entérale munie d'un ballonnet qui met en contact un capteur de photopléthysmographie avec la muqueuse duodénale. L'objectif de notre étude est de montrer que l'aire sous la courbe de la partie pulsée du signal (la PAC) permet de monitorer la microcirculation duodénale dans un modèle porcine de choc septique.

Matériels et méthodes : Quinze porcelets anesthésiés et ventilés mécaniquement ont été randomisés en deux groupes : un groupe témoin T (n = 8) recevant une perfusion de Ringer lactate (RL) seule, un groupe sepsis S (n = 7) ou été associée une suspension de *Pseudomonas aeruginosa* vivants (5×10^8 UFC/ml administrée à 0,3 ml/20 kg/min). Les paramètres suivants ont été mesurés : fréquence cardiaque (FC), oxymétrie pulsée (SpO₂), pression artérielle moyenne (PAM), débit cardiaque (DC) par thermodilution, lactate artériel. La PAC a été mesurée par la sonde de pléthysmographie, placée après laparotomie médiane et gastrotomie dans le duodénum. Le débit artériel régional (DAR) et le débit microcirculatoire (IPM) étaient mesurés respectivement par une sonde de doppler ultrasonique autour de l'artère gastroduodénale et par une sonde de laser doppler fixée sur la séreuse duodénale. Après une période témoin de 30 minutes, les bactéries ont été injectées puis les paramètres enregistrés sur 150 minutes. Les porcs étaient réanimés selon un algorithme prédéfini (remplissage vasculaire, perfusion de noradrénaline et/ou de dobutamine). L'analyse statistique était faite par corrélations de Spearman et Pearson comparé par un test approprié (TCC), ainsi que des tests de Wilcoxon sur les moyennes appariées dans le temps.

Résultats : Le modèle de sepsis est validé : le groupe S a reçu plus d'amines (test exact de Fisher p = 0,047). La corrélation (Spearman) PAC/lactates est forte ($r_{\text{PAC-Lactate/septic}} = -0,823$; p < 0,001). L'analyse entre 2 périodes : 5 minutes avant la perfusion des bactéries (t0) et 5 minutes avant la défaillance hémodynamique macro circulatoire, PAM < 50 mmHg (t1), montrait que la PAC détectait l'altération microcirculatoire, à l'inverse de la PAM ou de la FC (Tableau 1). La corrélation (Pearson) PAC-IPM et PAC DAR ($r = 0,516$; p < 0,001, $r = 0,362$; p < 0,001) étaient plus forte que les corrélations PAC-PAM ($r = 0,346$; p < 0,001). On retrouve une dissociation entre la macro et la microcirculation dans le groupe S non retrouvé dans le groupe T. Ainsi le paramètre circulatoire le mieux corrélé aux lactate est la baisse du débit cardiaque dans le groupe T ($r_{\text{CO-Lactate/non-septic}} = -0,649$; p < 0,001 ; $r_{\text{PAC-Lactate/non-septic}} = -0,573$; p < 0,001 ; TCC p < 0,001) et la baisse de la PAC dans le groupe S ($r_{\text{PAC-Lactate/septic}} = -0,823$; p < 0,001, $r_{\text{CO-Lactate/septic}} = -0,420$; p = 0,009 ; TCC : p = 0,099).

	T0	t1	Diminution (%)	p-value
PAC	563	376	49,7	0-0078*
GM	343	287	19,5	0,14
RABF	10,2	8,34	22,3	0,14
MAP	61	56	8,9	0,11
CF	80	86	-7,0	0,07
CO	1,78	1,54	15,6	0,039*

Comparaison t0 et t1 par un test de Wilcoxon, * résultats significatifs.

Discussion : La PAC reflète la microcirculation (corrélation avec l'IPM et le DAR) et détecte plus précocement une altération circulatoire au cours du sepsis que les paramètres macrocirculatoires. La forte corrélation avec les lactates est prometteuse car une réanimation guidée sur la lactatémie permet de réduire la morbidité du choc septique.

Conclusion : Ce nouvel outil pourrait aider le clinicien à fixer des objectifs microcirculatoires dans la réanimation à la phase initiale du choc septique.

Références

1. Pastores SM, Katz DP, Kvetan V (1996) Splanchnic ischemia and gut mucosal injury in sepsis and the multiple organ dysfunction syndrome. *Am J Gastroenterol* 91:1697-710
2. Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, et al (2004) Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med* 32:1825-31

EP024

Hypertonic sodium lactate improves fluid balance and hemodynamics in a porcine model of endotoxic shock

T. Duburcq¹, R. Favory², D. Mathieu², T. Hubert¹, V. Gmyr¹, L. Quintane¹, J. Mangalaboyi², P. Maboudou³, F. Pattou¹, M. Jourdain¹
¹Inserm U859, université Lille-II, CHRU de Lille, Lille, France
²Service de réanimation médicale, CHRU de Lille, hôpital Roger-Salengro, Lille, France
³Service de biochimie, CHRU de Lille, centre de biologie pathologie, Lille, France

Introduction : Malgré les améliorations observées ces dernières années, le choc septique conserve une importante morbidité. Une gestion appropriée des fluides est déterminante dans le devenir des patients. Le but de notre étude était d'évaluer l'impact sur la balance hydrique, l'hémodynamique et la microcirculation d'un remplissage vasculaire par lactate de sodium au cours du choc endotoxique porcine.

Matériels et méthodes : Il s'agissait d'une étude expérimentale, prospective, randomisée et comparative ayant reçu l'accord du comité d'éthique en expérimentation animale. Quinze porcs de race « Large White » recevaient une injection d'endotoxine d'*Escherichia coli* (lipopolysaccharide, 5 µg/kg/min sur 30 minutes). Des paramètres hémodynamiques et d'oxygénation, la diurèse et la balance hydrique ainsi que des dosages biochimiques plasmatiques et urinaires étaient mesurés à l'état de base puis à 30, 60, 90, 150 et 300 minutes. L'évaluation de la perfusion cutanée, de base et au cours d'hyperhémie réactive, était obtenue par technique de fluxmétrie laser Doppler. Nous avons étudié trois groupes de cinq animaux recevant 500 mL de différents solutés de remplissage : NaCl 0,9 % (groupe 1) ; bicarbonate de sodium hypertonique à 8,4 % (groupe 2) ; lactate de sodium hypertonique AP-HP® à 11,2 % (groupe 3). La signification statistique était évaluée par l'analyse des mesures répétées de la variance, un $p < 0,05$ était considéré comme significatif.

Résultats : L'administration d'endotoxine provoquait un état de choc hypokinétique avec dysfonction microcirculatoire chez tous les animaux. A 300 minutes en comparaison aux groupes 1 et 2, la pression artérielle moyenne (105 ± 14 mmHg vs 56 ± 15 dans le groupe 1 vs 77 ± 8 dans le groupe 2), l'index cardiaque ($1,5 \pm 0,15$ L/min/m² vs $0,83 \pm 0,14$ dans le groupe 1 vs $1,31 \pm 0,17$ dans le groupe 2) et de la pression partielle en oxygène (355 ± 29 mmHg vs 158 ± 35 dans le groupe 1 vs 271 ± 59 dans le groupe 2) étaient significativement supérieurs dans le groupe 3. Au même moment, la perfusion cutanée de base, le flux maximal d'hyperhémie et le gradient veino-artériel en CO₂ ($6,5 \pm 1,5$ mmHg vs 21 ± 4 dans le groupe 1 vs $14 \pm 0,7$ dans

le groupe 2) étaient significativement améliorés dans le groupe 3. On observait donc une optimisation macro et microcirculatoire dans le groupe 3, et ce, avec une balance hydrique cumulée significativement inférieure (-337 ± 116 mL) par rapport au groupe 1 (623 ± 166 mL ; $p < 0,01$) et au groupe 2 (299 ± 182 mL ; $p < 0,05$). Les taux d'urée et de créatinémie mesurées dans le groupe 3, à 300 minutes, étaient significativement inférieurs à ceux du groupe 1. Au sein des groupes 2 et 3 s'installaient progressivement une alcalose métabolique sans différence de pH entre les deux groupes (NS). A la fin du protocole, la glycémie était restée stable dans le groupe 3 ($0,8 \pm 0,2$ g/L) alors qu'elle avait significativement diminuée dans le groupe 1 ($0,3 \pm 0,15$ g/L) et le groupe 2 ($0,2 \pm 0,06$ g/L).

Discussion : Les groupes 2 et 3 étaient équivalents en termes de volume de remplissage, d'effet alcalinisant, de charge osmotique et sodée. Ainsi les améliorations observées dans le groupe 3 illustrent probablement l'intérêt du lactate de sodium en tant que substrat énergétique et chloridiurétique.

Conclusion : Dans ce modèle de choc endotoxique porcine, un remplissage vasculaire par lactate de sodium améliorait la stabilité hémodynamique et la réactivité microvasculaire avec une balance hydrique négative. Ces résultats devront être confirmés, par des études complémentaires, en situation clinique.

EP025

Effets de la délétion du gène *ptpn1* (*ptp1b*) dans la cardiopathie septique : étude ex vivo de la contraction et in vitro de la sensibilité des myofilaments au calcium

C. Fourdin¹, R. Neviere², D. Coquerel³, T. Vanderlinden¹, F. Tamion⁴
¹Réanimation polyvalente, CH Saint-Philibert, Lomme, France
²EA 4484 département de physiologie, CHU de Lille, Lille, France
³Inserm 1096, institut de recherche innovation biomédecine, université de Rouen, faculté de médecine, Rouen, France
⁴Service de réanimation médicale, CHU de Rouen, Rouen, France

Introduction : Le sepsis associé à une dysfonction cardiaque est l'une des principales causes de décès en réanimation. La protéine tyrosine phosphatase 1b (PTP1b) régule négativement la voie de signalisation de l'insuline et de l'endothélial nitrite oxyde (eNOS). L'objectif de l'étude est de montrer les effets de la déficience en PTP1b dans la cardiopathie septique induite par le LPS en étudiant la contraction cardiaque et la sensibilité des myofilaments au calcium.

Patients et méthodes : Les souris balb *c/j* (WT) et les souris de même fond génétique Balb *c/j* invalidées pour le gène codant la protéine PTP1B (PTP1b^{-/-}) ont reçu de l'endotoxine (LPS 15 mg/kg) en intrapéritonéal. La fonction contractile du myocarde sur cœur isolé perfusé (Langendorff) et la sensibilité des myofilaments au calcium ont été étudiées 4 heures après l'injection de LPS. La fonction contractile est appréciée par la mesure de la force développée par le ventricule gauche (LVDP) et ses dérivées premières (dLVDP/dt max et min). Une courbe pCa-tension développée par le muscle papillaire a été obtenue en augmentant de façon croissante la concentration en calcium d'une pCa 6,7 à 4,4. Les résultats ont été exprimés en moyenne (\pm SEM), les comparaisons intergroupes réalisées par des tests ANOVA à une entrée. Une valeur de $p < 0,05$ indique une différence statistiquement significative.

Résultats : L'injection de LPS altère la contractilité cardiaque dans le groupe WT : réduction de 55 % de la force développée, de 35 % la contractilité, de 30 % la consommation en oxygène, de 40 % le rendement cardiaque ; cependant la sensibilité des myofilaments au calcium des fibres cardiaques pelées n'est pas diminuée. Dans le groupe

PTP1b^{-/-}, après injection du LPS, l'altération de la fonction cardiaque est moins importante : réduction de la force développée de 15 %, du rendement de 20 % et de la sensibilité des myofibrilles au calcium.

Conclusion : La délétion PTP1b protège en partie de la dysfonction cardiaque induite par le LPS. Ces résultats ouvrent vers de nouvelles voies d'investigation qui permettront d'améliorer la stratégie thérapeutique du choc septique.

Bibliographie

1. Gomez E, Vercauteren M, Kurtz B, et al (2012) Reduction of heart failure by pharmacological inhibition or gene deletion of protein tyrosine phosphatase 1B. *J Mol Cell Cardiol* 52:1257-64
2. Tavernier B, Garrigue D, Boule C, et al (1998) Myofibrillar calcium sensitivity is decreased in skinned cardiac fibres of endotoxin-treated rabbits. *Cardiovasc Res* 38:472-9

EP026

Effets qualitatifs des lipides industriels sur la modulation de l'inflammation aiguë et le remodelage de la membrane cellulaire

J. Boisramé-Helms¹, X. Delabranche¹, A. Berger², D. Schnell¹, C. Kummerlen¹, A. Boivin¹, M. Hasselmann¹, F. Toti³, F. Meziani¹

¹Service de réanimation médicale, CHU de Strasbourg, hôpital civil, Strasbourg, France

²Service de réanimation médicale, CHU de Strasbourg, hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

³Laboratoire de biophotonique et pharmacologie, UMR 7213, faculté de pharmacie, Illkirch-Griffenstaden, France

Introduction : Au cours du choc septique, des apports nutritionnels précoces et adaptés constituent une part importante de la prise en charge des patients de réanimation. Les émulsions lipidiques de nutrition parentérale sont capables d'interférer avec l'immunité et l'inflammation, notamment via l'intégration des acides gras dans les membranes de nombreuses cellules. Ces émulsions pourraient également altérer la composition lipidique des microparticules (MPs) émises par ces cellules et donc moduler leurs effets biologiques. Nous avons étudié l'effet d'émulsions lipidiques de nutrition parentérale sur la production de MPs, afin de déterminer leur place dans les mécanismes d'interférence des lipides avec l'immunité et la modulation de l'inflammation aiguë.

Matériels et méthodes : Nous avons réalisé un modèle de choc septique par péritonite bactérienne chez le rat, par ligature-perforation caecale. Dès la chirurgie, une nutrition parentérale avec différentes émulsions lipidiques (1,5 g/kg/24 h) ou du soluté glucosé à 5 % (G5) est débutée et poursuivie jusqu'à la fin de l'expérimentation. Une fois le choc septique installé (H18), les rats sont ventilés, monitorés (pression artérielle moyenne PAM, fréquence cardiaque, débit carotidien, lactatémie) et réanimés par remplissage (NaCl 0,9 %) et noradrénaline, pour maintenir une PAM > 100 mmHg. Après 4 h de réanimation, les MPs circulantes sont recueillies, quantifiées (capture sur annexe V et test prothrombinase) et phénotypées et le cœur et l'aorte sont prélevés pour analyser le stress oxydant cardiaque et vasculaire en résonance paramagnétique électronique (monoxyde d'azote NO[•] et anions superoxydes O₂^{-•}). Les différents paramètres sont analysés par des tests paramétriques ou non paramétriques adéquats. Une valeur de p < 0,05 est considérée comme significative.

Résultats : Les émulsions lipidiques à base de triglycérides à chaînes moyennes (TCM) ou longues (TCL) permettent de diminuer le remplissage vasculaire des rats, comparées au G5. Comparées aux émulsions lipidiques à base de triglycérides à chaînes longues (TCL) :

1) les émulsions lipidiques à base de triglycérides à chaînes moyennes (TCM) augmentent les besoins en noradrénaline nécessaires pour atteindre les objectifs de PAM ($1,7 \pm 0,7$ versus $0,8 \pm 0,2$ mg/kg/min, p < 0,05) ; 2) les TCM sont responsables d'une modulation quantitative de la vésiculation membranaire (MPs totales : $38,6 \pm 5,8$ versus $19,2 \pm 3,0$ nM Eq PhtdSer, p < 0,05) et qualitative, en augmentant les MPs leucocytaires (MPs CD45 : $17,4 \pm 3,5$ versus $6,0 \pm 1,1$ nM Eq PhtdSer, p < 0,05), plaquettaires (MPs CD61 : $13,9 \pm 2,5$ pour les TCM versus $5,4 \pm 1,3$ nM Eq PhtdSer, p < 0,05) et endothéliales (MPs CD54 : $16,9 \pm 3,6$ versus $5,6 \pm 0,8$ nM Eq PhtdSer, p < 0,05) ; 3) Les TCM majorent significativement le stress oxydant cardiaque et vasculaire, avec une augmentation de la production de NO et O₂^{-•}.

Conclusion : In vivo, les TCM pourraient avoir des effets délétères pro-oxydants au cours du choc septique en majorant la dysfonction hémodynamique. Ces effets pourraient être liés à une activation cellulaire accrue, dont les MPs endothéliales, plaquettaires et leucocytaires sont le témoin. Ce travail a été réalisé grâce à un prix de recherche Nutrition 2010 attribué par Fresenius Kabi sous l'égide de la SFNEP.

Bibliographie

1. Calder PC, Albers R, Antoine JM, et al (2009) Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. *Br J Nutr* 101(Suppl 1):S1-45
2. Wanten GJ, Calder PC (2007) Immune modulation by parenteral lipid emulsions. *Am J Clin Nutr* 85:1171-84

EP027

Effet de la glutamine sur la dysfonction endothéliale mésentérique et sur la perméabilité intestinale au cours d'une circulation extracorporelle chez le rat dénutri

E. Le Saux¹, R. Chati², I. Ghoulali³, S. Renet⁴, P. Dechelotte³, V. Richard⁴, C. Baufreton⁵, M. Coeffier³, F. Tamion⁶, F. Doguet⁷

¹Chirurgie cardiaque, CHU d'Angers, Angers, France

²Chirurgie viscérale, CHU de Rouen, Rouen, France

³U1073, Inserm U1073, Rouen, France

⁴U1096, Inserm U1096, Rouen, France

⁵Chirurgie cardiaque et vasculaire, CHU d'Angers, Angers, France

⁶Service de réanimation médicale, CHU de Rouen, Rouen, France

⁷Chirurgie cardiaque et vasculaire, CHU de Rouen, Rouen, France

Introduction : La chirurgie cardiaque représente une forme unique de stress chirurgical qui associe les effets de la chirurgie et ceux de la circulation extracorporelle (CEC). Les complications observées au décours de la chirurgie cardiaque avec CEC résultent de la conjonction de plusieurs mécanismes : dénutrition préalable, stress oxydant post-ischémie, syndrome de reperfusion, réponse inflammatoire systémique, immunodépression et atteinte de la barrière intestinale. Différents travaux expérimentaux ont mis en évidence des effets protecteurs de la glutamine sur le myocarde et sur le tractus intestinal, qui pourraient passer par l'induction de certaines protéines de stress. Cependant les données sont encore limitées. Nous avons donc étudié les effets de la glutamine en préopératoire sur la dysfonction endothéliale mésentérique et la perméabilité intestinale dans un modèle de circulation extracorporelle chez le rat dénutri.

Patients et méthodes : Cinquante rats mâles Wistar ont été répartis en 5 groupes selon les critères suivants : Groupe Témoin (T), Groupe CEC, Groupe CEC + Glutamine (CEC + Gln), Groupe Dénutris avec CEC (CEC-D), Groupe Dénutris avec CEC et injection de Glutamine (CEC-D + Gln). La dénutrition a été réalisée par régime hypoprotéique à 5 % pendant 6 semaines. La glutamine était injectée par voie intraveineuse 12 h en pré opératoire à la dose de 0,75 g/Kg en

bolus. Tous les animaux ont eu une préparation chirurgicale identique. La procédure consistait à un monitoring cardio-tensionnel puis abord du scarpa avec réalisation d'une CEC de 60 minutes avec surveillance hémodynamique de 30 minutes. Les études fonctionnelles vasculaires in vitro ont été réalisées sur des artères mésentériques selon la technique de Mulvany et Halpern et la perméabilité intestinale évaluée en chambre d'Ussing par le passage de FITC-dextran (4 kDa).

Résultats : Le pourcentage de relaxation de l'artère mésentérique induit par l'acétylcholine (Ach) était fortement diminué dans les groupes CEC et CEC-D par rapport au groupe T ($p < 0,05$) et de façon plus marquée dans le groupe CEC-D ($p < 0,05$ vs CEC). De même, la relaxation induite par le SNP, un donneur de NO, était fortement diminuée chez les rats CEC-D ($p < 0,05$ vs T). La glutamine limitait significativement les troubles de la relaxation engendrés par la CEC chez les rats dénutris ($p < 0,05$) à la fois sur la voie endothélium-dépendante (Ach) et sur la voie endothélium indépendante (SNP). La perméabilité intestinale était fortement augmentée après CEC chez les rats dénutris ($p < 0,05$, CEC-D vs T et CEC) et était restaurée par la glutamine (CEC-D + Gln vs CEC-D, $p < 0,05$).

Conclusion : La glutamine possède donc des propriétés protectrices sur la vasoreactivité endothélium dépendante et endothélium indépendante et sur la perméabilité intestinale après circulation extracorporelle chez le rat dénutri. La glutamine pourrait donc être considérée comme agent thérapeutique préopératoire.

EP028

La profondeur et la durée de la lymphopénie sont associées à la survenue d'infection nosocomiale chez le traumatisé grave

J. Textoris¹, L. Richiardone¹, S. Wiramus², J. Alingrin³, J.-L. Mège³, M. Leone¹

¹Service d'anesthésie et réanimation, CHU de Marseille, hôpital Nord, Marseille, France

²Centre interrégional des grands brûlés, CHU de Marseille, hôpital de la Conception, Marseille, France

³Urmite, CNRS UMR 7278, Inserm U1095, faculté de médecine Timone, Marseille, France

Introduction : Le sepsis est l'une des principales causes de mortalité en réanimation. Chez les patients traumatisés graves, les complications infectieuses sont associées à une augmentation de la mortalité, de la durée de séjour et du coût total de prise en charge. Un état d'immuno-dépression est décrit chez les patients de réanimation depuis plus de 20 ans, mais ce n'est que récemment que son rôle dans la physiopathologie du sepsis a été reconnu. La lymphopénie, une des caractéristiques de cet état d'immuno-dépression, est décrite dans le choc septique et chez les patients traumatisés graves. Nous avons émis l'hypothèse que la profondeur de cette lymphopénie est associée à la survenue d'infections secondaires chez le patient traumatisé.

Matériels et méthodes : Nous avons inclus 431 traumatisés graves (ISS > 15) entre mai 2010 et mai 2012 dans une étude de cohorte rétrospective monocentrique (Réanimation polyvalente de l'hôpital nord, Marseille). Toutes les numérations formules sanguines réalisées lors du séjour en réanimation pour le groupe contrôle, ou entre l'admission et le diagnostic d'infection nosocomiale (groupe sepsis) ont été collectées et analysées, ainsi que des données démographiques, anamnestiques et cliniques.

Résultats : Parmi les 431 patients traumatisés inclus dans notre étude, 80 (18,6 %) ont présenté une infection nosocomiale (groupe sepsis). Les scores de gravité (IGS II, ISS), le pourcentage de patients ventilés ou en choc hémorragique étaient supérieurs dans le groupe sepsis. Alors que les numérations formules sanguines étaient similaires à l'admission, nous avons retrouvé une lymphopénie plus marquée ($0,74 \pm 0,35$ vs $1,05 \pm 0,76$ G/L ; $p < 0,001$) pour les patients du groupe sepsis. Un critère composite — défini par la persistance d'une lymphopénie pendant au moins 3 jours consécutifs — était associé de manière indépendante à la survenue d'infections nosocomiales dans un modèle de régression logistique évaluant l'ensemble des facteurs de risque identifiés (OR = 2,1 [1,2-3,7] ; $p = 0,008$).

Conclusion : Ces résultats démontrent l'association qu'il existe entre la profondeur et la persistance d'une lymphopénie et la survenue d'infection nosocomiale dans les jours qui suivent (en moyenne, 5 jours après). La simplicité de ce critère composite en fait un excellent biomarqueur de stratification thérapeutique. Les patients à risque ainsi identifiés pourraient alors bénéficier d'un éventuel traitement immunomodulateur.