



Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2024

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE
(décret du 25 novembre 2016)

présentée et soutenue publiquement
le 10 Juin 2024 à Poitiers
par Madame Aude PERALEZ

Comparaison de la réponse inflammatoire plasmatique et cérébrale lors de sepsis cérébro-méningés ou extra-cérébraux, chez des patients cérébrolésés

Composition du Jury

Président : Monsieur le Professeur Denis FRASCA

Membres : Monsieur le Professeur Jean-Claude LECRON
Madame le Docteur Alexia CHAUZY
Monsieur le Docteur Jean-François JEGOU

Directeur de thèse : Madame le Professeur Claire DAHYOT-FIZELIER

LISTE DES ENSEIGNANTS

Année universitaire 2023 – 2024

SECTION MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY Marion, santé publique – **Référente égalité-diversité**
- BINET Aurélien, chirurgie infantile
- BOISSON Matthieu, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- BOULETI Claire, cardiologie
- BOURMEYSTER Nicolas, biochimie et biologie moléculaire
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUCOA Christophe, bactériologie-virologie
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- COUDROY Rémi, médecine intensive-réanimation – **Assesseur 2nd cycle**
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- DONATINI Gianluca, chirurgie viscérale et digestive
- DROUOT Xavier, physiologie – **Assesseur recherche**
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie – **Assesseur 2nd cycle, stages hospitaliers**
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRASCA Denis, anesthésiologie-réanimation
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GARCIA Rodrigue, cardiologie
- GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HAUT Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- ISAMBERT Nicolas, cancérologie
- JAFAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation (*en disponibilité*)
- LECLERE Franck, chirurgie plastique, reconstructrice
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie – **Assesseur 1^{er} cycle**
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- MACCHI Laurent, hématologie
- MCHEIK Jiad, chirurgie infantile
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, médecine d'urgence
- NASR Nathalie, neurologie
- NEAU Jean-Philippe, neurologie – **Assesseur pédagogique médecine**
- ORIOU Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie – **Doyen, Directeur de la section médecine**
- PELLERIN Luc, biologie cellulaire
- PERAULT-POCHAT Marie-Christine, pharmacologie clinique

- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire – **Assesseur L.AS et 1^{er} cycle**
- PERRAUD CATEAU Estelle, parasitologie et mycologie
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- PUYADE Mathieu, médecine interne
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOUARD Philippe, neurochirurgie
- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- SAULNIER Pierre-Jean, thérapeutique
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- SILVAIN Christine, gastro-entérologie, hépatologie – **Assesseur 3^e cycle**
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie – **Assesseur 1^{er} cycle**
- THILLE Arnaud, médecine intensive-réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- WAGER Michel, neurochirurgie
- XAVIER Jean, pédopsychiatrie

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALLAIN Géraldine, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (*en mission 1 an à/c 01/11/2022*)
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail (**en détachement**)
- BILAN Frédéric, génétique
- BRUNET Kevin, parasitologie et mycologie
- CAYSSIALS Emilie, hématologie
- CREMNITER Julie, bactériologie-virologie
- DIAZ Véronique, physiologie – **Référente relations internationales**
- EGLOFF Matthieu, histologie, embryologie et cytogénétique
- EVRARD Camille, cancérologie
- GACHON Bertrand, gynécologie-obstétrique (*en dispo 2 ans à/c du 31/07/2022*)
- GARCIA Magali, bactériologie-virologie (*absente jusqu'au 29/12/2023*)
- GUENEZAN Jérémy, médecine d'urgence
- HARIKA-GERMANEAU Ghina, psychiatrie d'adultes
- JAVAUGUE Vincent, néphrologie
- JUTANT Etienne-Marie, pneumologie
- KERFORNE Thomas, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire (*en mission 1 an à/c 01/11/2022*)
- LAFAY-CHEBASSIER Claire, pharmacologie clinique
- LIUU Evelyne, gériatrie
- MARTIN Mickaël, médecine interne – **Assesseur 2nd cycle**
- MASSON REGNAULT Marie, dermato-vénéréologie
- PALAZZO Paola, neurologie (*en dispo 5 ans à/c du 01/07/2020*)
- PICHON Maxime, bactériologie-virologie
- PIZZOFERRATO Anne-Cécile, gynécologie-obstétrique
- RANDRIAN Violaine, gastro-entérologie, hépatologie
- SAPANET Michel, médecine légale

- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire
- VALLEE Maxime, urologie

Maître de Conférences des universités de médecine générale

- MIGNOT Stéphanie

Professeur associé des universités des disciplines médicales

- FRAT Jean-Pierre, médecine intensive-réanimation

Professeur associé des universités des disciplines odontologiques

- FLORENTIN Franck, réhabilitation orale

Professeurs associés de médecine générale

- ARCHAMBAULT Pierrick
- AUDIER Pascal
- BIRAULT François
- BRABANT Yann
- FRECHE Bernard

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

- AUDIER Régis
- BONNET Christophe
- DU BREUILLAC Jean
- FORGEOT Raphaële
- JEDAT Vincent

Professeurs émérites

- BINDER Philippe, médecine générale (08/2028)
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie (08/2028)
- GIL Roger, neurologie (08/2026)
- GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion (08/2023) – renouvellement 3 ans demandé – en cours
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale (08/2025)
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire (08/2028)
- MARECHAUD Richard, médecine interne (24/11/2023)
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire (08/2024)
- ROBERT René, médecine intensive-réanimation (30/11/2024)
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (08/2026)

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ALLAL Joseph, thérapeutique (ex-émérite)
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOT Catherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CARRETIER Michel, chirurgie viscérale et digestive (ex-émérite)
- CASTEL Olivier, bactériologie-virologie ; hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, cancérologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice

- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- DORE Bertrand, urologie (ex-émérite)
- EUGENE Michel, physiologie (ex-émérite)
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GILBERT-DUSSARDIER Brigitte, génétique
- GOMES DA CUNHA José, médecine générale (ex-émérite)
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- GUILLET Gérard, dermatologie
- HERPIN Daniel, cardiologie (ex-émérite)
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie viscérale et digestive
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (ex-émérite)
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire (ex-émérite)
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (ex-émérite)
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- PAQUEREAU Joël, physiologie
- POINTREAU Philippe, biochimie
- POURRAT Olivier, médecine interne (ex-émérite)
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- TOUCHARD Guy, néphrologie (ex-émérite)
- TOURANI Jean-Marc, cancérologie
- VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

Bât. D1 - 6 rue de la Milétrie – TSA 51115 - 86073 POITIERS CEDEX 9 - France

☎ 05.49.45.43.43 - 📠 05.49.45.43.05

SECTION PHARMACIE

Professeurs des universités-praticiens hospitaliers

- DUPUIS Antoine, pharmacie clinique – **Assesseur pédagogique pharmacie**
- FOUCHER Yohann, biostatistiques
- GREGOIRE Nicolas, pharmacologie et pharmacométrie
- MARCHAND Sandrine, pharmacologie, pharmacocinétique
- RAGOT Stéphanie, santé publique

Professeurs des universités

- BODET Charles, microbiologie
- CARATO Pascal, chimie thérapeutique
- FAUCONNEAU Bernard, toxicologie
- FAVOT-LAFORGE Laure, biologie cellulaire et moléculaire
- GUILLARD Jérôme, pharmacochimie
- IMBERT Christine, parasitologie et mycologie médicale
- OLIVIER Jean-Christophe, pharmacie galénique, biopharmacie et pharmacie industrielle – **réfèrent relations internationales**
- PAGE Guylène, biologie cellulaire, biothérapeutiques
- RABOUAN Sylvie, chimie physique, chimie analytique (**retraite au 01/12/2023**)
- SARROUILHE Denis, physiologie humaine – **Directeur de la section pharmacie**

Maîtres de conférences des universités-praticiens hospitaliers

- BARRA Anne, immuno-hématologie
- BINSON Guillaume, pharmacie clinique
- THEVENOT Sarah, hygiène, hydrologie et environnement

Maîtres de conférences

- BARRIER Laurence, biochimie générale et clinique
- BON Delphine, biophysique
- BRILLAULT Julien, pharmacocinétique, biopharmacie
- BUYCK Julien, microbiologie (HDR)
- CHAUZY Alexia, pharmacologie fondamentale et thérapeutique
- DEBORDE-DELAGE Marie, chimie analytique
- DELAGE Jacques, biomathématiques, biophysique
- GIRARDOT Marion, biologie végétale et pharmacognosie
- INGRAND Sabrina, toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile, pharmacochimie (HDR)
- PAIN Stéphanie, toxicologie (HDR)
- PINET Caroline, physiologie, anatomie humaine
- RIOUX-BILAN Agnès, biochimie – **Référente CNAES – Responsable du dispositif COME'in – référente égalité-diversité**
- TEWES Frédéric, chimie et pharmacotechnie (HDR)
- THOREAU Vincent, biologie cellulaire et moléculaire
- WAHL Anne, phytothérapie, herborisation, aromathérapie

Maîtres de conférences associés - officine

- DELOFFRE Clément, pharmacien
- ELIOT Guillaume, pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, pharmacien

A.T.E.R. (attaché temporaire d'enseignement et de recherche)

- ARANZANA-CLIMENT Vincent, pharmacologie
- KAOUAH Zahyra, bactériologie
- MOLINA PENA Rodolfo, pharmacie galénique

Professeur émérite

- COUET William, pharmacie clinique (08/2028)

CENTRE DE FORMATION UNIVERSITAIRE EN ORTHOPHONIE (C.F.U.O.)

- GICQUEL Ludovic, PU-PH, **directeur du C.F.U.O.**
- VERON-DELOR Lauriane, maître de conférences en psychologie

ENSEIGNEMENT DE L'ANGLAIS

- DEBAIL Didier, professeur certifié

CORRESPONDANTS HANDICAP

- Pr PERDRISOT Rémy, section médecine
- Dr RIOUX-BILAN Agnès, section pharmacie

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

Tout d'abord, je remercie tout particulièrement ma directrice de thèse, Madame le Professeur Claire DAHYOT-FIZELIER pour son encadrement bienveillant et ses conseils avisés. Son expertise et son accompagnement rigoureux ont considérablement enrichi ma réflexion et la qualité de cette étude. Enfin, ses connaissances approfondies dans les domaines de la recherche ou de la clinique ont été une source de motivation et de perfectionnement tout au long de mon parcours. Merci beaucoup de m'avoir accordé votre temps précieux pour ce travail et pour ma formation d'interne en réanimation chirurgicale et neurochirurgicale. Soyez assurée de mon profond respect pour tout ce que vous avez fait.

Je remercie Monsieur le Professeur Denis FRASCA de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Je tiens également à vous remercier pour l'ensemble de ma formation et de mon cursus dans le département d'anesthésie-réanimation du CHU de Poitiers.

Je remercie également Monsieur le Professeur Jean-Claude LECRON dont les commentaires pertinents et les suggestions ont contribué à l'amélioration de ce travail.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance à Madame le Docteur Alexia CHAUZY pour avoir accepté d'évaluer cette thèse.

Je souhaite également remercier Monsieur le Docteur Jean-François JEGOU d'avoir accepté de juger ce travail à la lumière de son expertise en immunologie.

Aux personnes ayant contribué à ce travail,

Merci à Adriana DELWAIL pour son aide précieuse et sa pédagogie lors de la réalisation des dosages.

Merci à Hélène MIRFENDERESKI qui m'a aidé à rassembler tous les échantillons de liquides biologiques.

Je tiens également à remercier mesdames Angela KOSTENCOVSKA et Ombeline REMY pour leur soutien lors du tri des échantillons et pour leur disponibilité à répondre à toutes mes questions concernant les données patients.

A ma famille,

A mes parents Murielle et Laurent qui m'ont toujours soutenu depuis le début malgré mes études prolongées, je vous dédie cette thèse. Merci d'avoir cru en moi, même dans les moments de doute, vous m'avez donné la force de persévérer. Je suis reconnaissante pour tout ce que vous avez fait pour moi, je vous remercie du fond du cœur et je vous aime très fort. En particulier, merci Maman pour les petits plats, les livres, les messages d'encouragement et merci Papa pour les aller-retours en moto, l'accompagnement aux différents concours et les virés shopping quand il fallait...

A ma sœur Julie et mon beau frère Anthony merci à vous deux d'avoir été là dans les périodes de galère que je gère super bien... Vous pouvez être fières de votre petite famille.

A Mimous pour son aide et ses révisions actives de l'oral. Toi qui es tellement à l'aise dans un exercice qui est plus que difficile pour moi. Tu deviens une adulte magnifique ma petite sœur.

A toi mamie qui me soutenait toujours en me racontant l'histoire des deux chemins de vie, celui couvert d'épines et celui couvert de rose. Finalement la vie c'est un mixte des deux.

Merci à vous tonton Stéphane et tata Alex pour votre soutien tout au long de mes études, c'était sympa de visiter le lycée Fabert à Metz à l'occasion du concours véto...

Merci aux cousins et particulièrement à Enzo mon futur collègue dans le monde de la santé et à Marie-Morgane pour les après-midis sur le dos d'Apache !

Merci Isa pour ta relecture de dernière minute, pour tes conseils et pour ton aide à la préparation de la soutenance.

Merci Martine pour votre soutien tout au long de la rédaction de la thèse.

A mes amis et collègues,

A mes amies d'externat Sophie et Maude qui m'auront soutenue et motivée durant cette longue épreuve.

A Marine, c'est grâce à toi et à tes cours que j'ai mis les pieds en P1 puis en P2. Merci pour ton soutien et ton amitié, j'espère qu'on aura plein d'autres moments à partager ensemble malgré la distance.

A Mike avec qui on a préparé ce fichu concours pendant de longues heures à Torcy ou en conférences. Bravo pour ta réussite.

A Sabrina, merci pour avoir repris cette fameuse première garde qui nous a permis de devenir amies. Tes conseils, tes transmissions avec les conduites à tenir et ta capacité à me changer les idées ont été d'une aide précieuse.

Merci Sarah pour cette rencontre un peu fortuite, alors que nous étions simplement voisines de palier aux Boiffiers. Merci pour tes messages d'encouragement tout au long de mon écriture de la thèse. Tu as mis la barre très haute avec la tienne !

Merci Aurélie ma super colocataire de Saintes pour les apéros, les soirées Switch et pour avoir supporté mes entraînements à la guitare pendant tout le semestre.

A mon Valochon qui m'accompagne depuis longtemps maintenant, qui me soutient et me supporte dans les hauts et dans les bas. Merci mon ami d'être là, même à distance.

A mes co-internes du premier semestre Tony, Mélyne, Romane et à ceux des plus vieux semestres comme Léa de Poitiers ou Léa de Limoges.

Merci aux équipes paramédicales et médicales du CH de Saintes où j'ai débuté au bloc, en consultations d'anesthésie et en réanimation, plus particulièrement merci à Corinne, Mirela et Violaine pour leur apprentissage et leur accompagnement bienveillant.

Merci à l'équipe de secrétaires, d'iables, de sage-femmes, d'ibodes et de MAR de l'hôpital mère-enfant de Limoges où j'ai passé un super semestre qui m'a permis de me former à l'anesthésie pédiatrique et à la maternité.

Merci à l'ensemble du CFXM et de la réanimation des grands brûlés du CHU de Bordeaux pour votre accueil à l'occasion de mon inter-CHU, ça aura été une super expérience pour moi dans mon cursus.

Merci aux MAR du CH d'Angoulême pour leur aide et leur compréhension lors de la dernière ligne droite. J'ai hâte d'avoir ton retour Yann sur la qualité de mes remerciements.

Merci à mesdames Alexandra DECOUDU, Christelle GUILLON et Céline EVENO pour leur aide concernant les modalités administratives de ce travail et tout au long de mon parcours.

A Charlotte,

Merci mon cœur d'être là, de supporter mes moments de stress et de fatigue comme tu le fais. Ta force dans les moments les plus difficiles m'impressionne. Je suis tellement chanceuse de t'avoir à mes côtés, ainsi que nos deux petites boules de poils Reef et Tazo. Merci pour ton intelligence, ton humour et ta gentillesse. J'espère te rendre fière et contribuer à te rendre heureuse. Je t'aime plus que tout.

TABLE DES MATIÈRES

ABREVIATIONS	10
I-INTRODUCTION	11
II-MATÉRIEL ET METHODE.....	15
2.1 DESIGN DE L'ETUDE.....	15
2.1.1 TYPE D'ETUDE.....	15
2.1.2 CRITERES DE JUGEMENT	15
2.1.3 CRITERES D'INCLUSION ET DE NON-INCLUSION	16
2.2 RECUEIL DES DONNEES PATIENTS	17
2.3 ECHANTILLONS DE SANG ET DE LIQUIDE-CEREBROSPINAL	18
2.3.1 MODALITE DE PRELEVEMENT	18
2.3.2 MODALITE DE CONSERVATION (TEMPERATURE ET DUREE).....	19
2.4 ANALYSE DES ECHANTILLONS.....	19
2.5 MÉTHODE STATISTIQUE	21
2.6 CADRE REGLEMENTAIRE	22
III-RESULTATS.....	23
3.1 DESCRIPTION DE LA POPULATION	23
3.2 CRITÈRE DE JUGEMENT PRINCIPAL.....	26
3.2.1 COMPARAISON DES TAUX DE CYTOKINES.....	26
3.2.1.1 IL-6	26
3.2.1.2 IL-8	27
3.2.1.3 IL-10	28
3.2.1.4 IL-17	29
3.2.1.5 TNF-ALPHA	30
3.2.2 TABLEAU RÉCAPITULATIF	31
3.2.3 COMPARAISON DES RATIOS LCS/SERUM DE CYTOKINES.....	32
3.2.4 HEATMAP DES CONCENTRATIONS CYTOKINIQUES DANS LE LCS.....	33
3.3 CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES	34
3.3.1 COMPARAISON DES Q _{ALB}	34
3.3.2 ANALYSE EN SOUS GROUPE HSA / AVC HÉMORRAGIQUE.....	34
3.3.3 REIBOGRAMME.....	35
IV-DISCUSSION	36
V-CONCLUSION	42
VI-BIBLIOGRAPHIE	43
SERMENT.....	49

ABREVIATIONS

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

AUC : Area Under the Curve

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

CNIL : Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés

CPP : Comité de Protection des Personnes

DVE : Dérivation Ventriculaire Externe

DVP : Dérivation Ventriculo-Péritonéale

HIC : Hématome Intra-Crânien

HSA : Hémorragie Sous Arachnoïdienne

ICM : Infection Cérébro-Méningée

IMC : Indice de Masse Corporelle

IEC : Infection Extra-Cérébrale

IL : Interleukine

IMC : Indice de Masse Corporelle

IRA : Insuffisance Rénale Aiguë

LCS : Liquide Céphalo-Spinal

PAVM : Pneumopathie Acquisée sous Ventilation Mécanique

PKPD : Pharmacocinétique et Pharmacodynamique

PIC : Pression Intracrânienne

PPC : Pression de Perfusion Cérébrale

Qalb : Quotient d'Albumine

TNF : Facteur de Nécrose Tumorale

SNC : Système Nerveux Central

I-INTRODUCTION

Le système nerveux central (SNC) est protégé par une barrière physiologique en apparence imperméable appelée la barrière hémato-encéphalique (BHE) [1-2]. Cette interface assure le maintien de l'homéostasie au sein du parenchyme cérébral en formant une barrière physique et métabolique entre les tissus périphériques et le SNC [3]. La BHE est composée de trois structures anatomiquement distinctes : 1) la barrière hémato-parenchymateuse constituée par une couche de cellules endothéliales non fenêtrées reliées entre elles par des jonctions serrées et reposant sur une membrane basale entourée par plusieurs cellules (astrocytes, péricytes, neurones et cellules microgliales) formant l'unité neuro-vasculaire. 2) La barrière hémato-liquidienne située entre les vaisseaux leptoméningés et les plexus choroïdiens responsables de la sécrétion de liquide cérébro-spinal (LCS) et 3) les méninges tapissées de cellules arachnoïdiennes formant l'interface parenchyme-LCS [3-4-5-6-7]. Les deux premières structures sont réellement impliquées dans la restriction de la perméabilité aux protéines et jouent le rôle physiologique de BHE. En effet, des études sur la diffusion de traceurs exogènes et endogènes montraient que les barrières hémato-parenchymateuse et hémato-liquidienne empêchaient complètement la diffusion des traceurs. Au niveau de l'endothélium des capillaires cérébraux, les jonctions serrées et la rareté des vésicules plasmalemmes sont les éléments rendus responsables du caractère imperméable de cette barrière. Au niveau des plexus choroïdiens, les capillaires fenestrés des cellules endothéliales laissent diffuser les traceurs dans l'espace conjonctif mais ils sont arrêtés par les jonctions serrées de type zonula occludens entre les cellules épithéliales des plexus. Par ailleurs, il n'existe pas d'argument en faveur d'un transfert transépithélial. L'interface parenchyme-LCS n'est pas à proprement parlé une barrière puisqu'il laisse diffuser librement les traceurs entre le LCS et l'interstitium du parenchyme cérébral de la couche astrocytaire marginale de la surface corticale et de l'épendyme [7].

Le transport d'une molécule à travers la BHE est finement régulé par plusieurs mécanismes selon sa nature hydrophile/lipophile ou son degré de dissociation. Les macromolécules comme l'albumine (68 000 Da) ne traversent pas la BHE à l'état physiologique, tout comme de nombreux médicaments. Les antibiotiques hydrophiles comme les bêta-lactamines, par

exemple, diffusent difficilement à travers la BHE ce qui contribue à diminuer leurs concentrations dans les tissus cibles augmentant ainsi la probabilité d'échec du traitement et la survenue de résistances bactériennes [8]. A l'inverse, les molécules lipophiles diffusent passivement. Certaines molécules comme les cytokines peuvent traverser la BHE uniquement par transcytose (avec ou sans transporteur) [9].

L'agression du SNC génère de la neuroinflammation, un processus complexe permettant la réparation des tissus lésés et la défense contre les infections. Elle est médiée par des cellules (neurones, macrophages, cellules microgliales, lymphocytes T et astrocytes) et des molécules (interleukines (IL), Tumor Necrosis Factor (TNF), Transforming Growth Factor (TGF), interférons (IFN), prostaglandines, espèces réactives de l'oxygène (ROS) et métalloprotéases) [10]. Plusieurs types de cytokines sont décrits, les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-17, l'IL-8 et le TNF- α qui sont généralement associées à l'initiation et à la propagation de la réponse inflammatoire dans le SNC, et les cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 ou le TGF- β qui jouent un rôle de régulation de l'inflammation et de protection du tissu neuronal contre les dommages tissulaires excessifs.

Cette neuro-inflammation s'accompagne d'une augmentation du taux de cytokines produites par des cellules résidentes du SNC telles que les astrocytes et les cellules microgliales ou par transsudation à travers la BHE une fois sécrétées par des cellules immunitaires périphériques infiltrées comme les lymphocytes T et les macrophages [11].

La neuroinflammation peut avoir plusieurs origines : intra-cérébrales (secondairement à une agression directe du SNC) ou extra-cérébrales (encéphalopathie septique). Les biomarqueurs de l'inflammation, comme les cytokines, peuvent être mesurés dans le plasma ou dans le LCS et différents profils cytokiniques sont décrits selon le type d'agression initiale [12]. Les pathologies ischémiques liées à un arrêt de la circulation artérielle comme l'accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique aboutissent à l'augmentation du taux plasmatique d'IL-1 β , TNF- α et d'IL-6 dès la première heure et jusqu'à 10 jours maximum après [13]. Concernant les traumatismes crâniens ou la neurochirurgie, on observe à partir de la 6^{ème} heure post traumatisme/incision et jusqu'à 6 jours plus tard une augmentation des taux plasmatiques de cytokines IL-6 et IL-8 [14]. L'inflammation générée par un AVC hémorragique en phase initiale augmente les taux des cytokines IL-1 β , TNF- α , interféron- γ , IL-6 et IL-8. Dans le cas de

l'hémorragie sous-arachnoïdienne (HSA), les taux observés au cours des 7 premiers jours d'IL-6 et d'IL-8 sont très élevés (supérieurs à 2.5 fois la normale) [15]. Les infections du SNC génèrent elles aussi de l'inflammation. Une étude récente montre des concentrations d'IL-6, d'IL-10 et de TNF- α plus importantes dans le LCS des patients atteints d'une méningite au moment du diagnostic comparativement à des patients sans infection méningée [16]. Le profil cytokinique varie selon le type du pathogène en cause, une méningite bactérienne augmente les taux dans le LCS de cytokines TNF- α , IL-6 et IL-8 de manière plus importante qu'une méningite virale [17].

La neuroinflammation générée par une agression cérébrale est susceptible d'altérer la BHE et donc de modifier sa perméabilité. De surcroît, selon le type de lésion initiale du SNC, le mécanisme par lequel la barrière s'ouvre varie soit par augmentation de la diffusion paracellulaire soit par modulation des transporteurs sur la barrière et/ou par augmentation de la migration cellulaire trans-endothéliale. L'ouverture de la BHE peut être diffuse dans le cas d'une méningite ou d'une maladie neurodégénérative ou focalisée dans le cas d'un traumatisme crânien ou d'un AVC [18-19-20-21-22]. Le quotient d'albumine (le rapport entre les concentrations d'albumine dans le sérum et le LCS, noté Qalb) est un indicateur de l'intégrité de la BHE. En effet, l'albumine est essentiellement synthétisée par le foie et non utilisée par les cellules du SNC, par conséquent des niveaux élevés d'albumine dans le LCS par rapport au sérum peuvent indiquer un dysfonctionnement de la BHE, l'augmentation de sa perméabilité entraînant une diffusion passive des molécules d'albumine du plasma vers le LCS [24]. L'étude de Seyfert en 2004, rapportait que le Qalb (LCS prélevés par ponctions lombaires) de patients atteints de pathologies neurologiques par rapport à des sujets contrôles sains était augmenté. En cas de méningite purulente des Qalb étaient augmentés autour de 75 (10^{-3}), dans le cas de la méningite lymphocytaire autour de 12 (10^{-3}) et dans le cas de l'hydrocéphalie autour de 9 (10^{-3}) par rapport à des sujets contrôles sains autour de 4,2 (10^{-3}) [25].

Ainsi la neuro-inflammation, quelle que soit son origine, a des conséquences sur la perméabilité de la BHE chez les patients cérébrolésés de réanimation, ce qui pourrait influencer la survenue de lésions secondaires et la distribution des médicaments dans le SNC, deux paramètres nécessaires à prendre en compte pour la prise en charge de ces patients.

L'objectif de ce travail était d'étudier la réponse neuroinflammatoire et la perméabilité de la BHE chez des patients cérébrolésés, en comparant les concentrations de cytokines et d'albumine dans le plasma et le LCS des patients atteints d'une infection cérébro-méningée (ICM) à ceux présentant une infection extra-cérébrale (IEC). L'objectif principal était d'analyser les cytokines, les objectifs secondaires étaient d'étudier le quotient d'albumine, le Reibogramme et l'impact du type de lésion cérébrale initiale chez les deux populations de patients.

II-MATÉRIEL ET METHODE

2.1 DESIGN DE L'ETUDE

2.1.1 TYPE D'ETUDE

Ce travail de thèse rapporte les résultats des données relatives à la neuro-inflammation de l'étude PK-pop-LCR (CPP17-016a/2017-002993-37) (NCT03481569), étude prospective multicentrique réalisée dans 21 centres hospitaliers français, du 06/07/2018 au 24/03/2023. L'objectif principal de l'étude PK-pop-LCR était de décrire la pharmacocinétique dans le LCS de 9 antibiotiques à large spectre après leur administration intra-veineuse (Ceftazidime, Céfépime, Méropénème, Vancomycine, Daptomycine, Linézolide, Pipéracilline-Tazobactam, Colistine, Ceftaroline). Plusieurs covariables susceptibles d'influencer la diffusion des antibiotiques dans le LCS étaient également étudiées. Elles correspondaient à des données cliniques du patient comme le sexe ou l'Indice de Masse Corporelle (IMC) et à des données paracliniques comme le dosage de marqueurs inflammatoires.

2.1.2 CRITERES DE JUGEMENT

Le critère de jugement principal était la différence de concentrations de cytokines dans le LCS et dans le sérum, ainsi que la comparaison des différents ratios LCS/sérum.

Les critères de jugement secondaires sont la différence de Qalb entre le groupe ICM et le groupe IEC, une analyse en sous groupe des taux de cytokines selon le type d'agression cérébrale initiale AVC hémorragique ou HSA et le Reibogramme des deux populations de patients.

2.1.3 CRITERES D'INCLUSION ET DE NON-INCLUSION

Critères d'inclusion :

- Patients majeurs
- Patients cérébrolésés admis en réanimation
- Porteurs d'une dérivation ventriculaire externe (DVE)
- Infection du SNC ou d'un autre site nécessitant un traitement par un ou plusieurs des antibiotiques de l'étude,
- Consentement signé du patient ou de la famille après délivrance d'une information claire, loyale et appropriée de l'étude
- Patient libre sans tutelle, curatelle ou sauvegarde de justice
- Patient bénéficiant du système de sécurité sociale ou en bénéficiant par l'intermédiaire d'un tiers

Critères de non-inclusion :

- Femmes enceintes ou allaitantes
- Insuffisance rénale aiguë (IRA) définie par une clairance de la créatinine < 50 ml/min et/ou nécessitant de l'épuration extra-rénale
- Contre-indication à l'antibiotique étudié
- Consentement non signé
- Patient ne bénéficiant pas du système de sécurité sociale ou n'en bénéficiant pas par l'intermédiaire d'un tiers
- Patient sous protection renforcée à savoir les mineurs, les personnes privées de leur liberté par décision de justice ou administrative, les personnes vivant en institution de santé ou social, les adultes sous protection légale

2.2 RECUEIL DES DONNEES PATIENTS

Chaque centre participant colligeait les données recueillies conformément au protocole et de manière anonymisée, dans le Case Report Form (CRF) de l'étude PK-pop-LCR.

Les données suivantes étaient recueillies :

- Age
- Sexe
- Indice de masse corporelle (IMC)
- Motif d'hospitalisation en réanimation (type d'agression cérébrale initiale)
- Indication de l'antibiothérapie (type d'infection)
- Score de GLASGOW à la prise en charge
- Délai en jours entre l'admission du patient en réanimation et l'initiation de l'antibiothérapie (ie l'inclusion dans l'étude)
- Scores de gravité avec l'Index de Gravité Simplifié (IGS II) et le Sequential Organ Failure Assesment (SOFA) à l'admission et à l'inclusion des patients permettant d'estimer la mortalité prédite en réanimation
- Les données neurologiques avec la pression de perfusion cérébrale (PPC) et la pression intra-crânienne (PIC)
- Les données hémodynamiques catégorisées en 5 groupes selon le chiffre de tension artérielle ou la mise sous support vasopresseur
- Les données respiratoires catégorisées en 4 groupes en fonction du rapport PaO₂/FiO₂ (P/F)

Données hémodynamiques
▪ Absence d'hypotension ▪ Pression artérielle moyenne (PAM) < 70 mmHg ▪ Mise sous DOBUTAMINE ▪ Mise sous NORADRENALINE < 0,1 µg/kg/min ▪ Mise sous NORADRENALINE > 0,1 µg/kg/min
Données respiratoires
▪ Absence de défaillance respiratoire (P/F > 300) ▪ Défaillance respiratoire légère (P/F entre 200 et 300) ▪ Défaillance respiratoire modérée (P/F entre 100 et 200) ▪ Défaillance respiratoire sévère (P/F < 100)

Tableau 1 : Données hémodynamiques et respiratoires.

2.3 ECHANTILLONS DE SANG ET DE LIQUIDE-CEREBROSPINAL

2.3.1 MODALITE DE PRELEVEMENT

Les échantillons étaient prélevés selon le protocole de l'étude PK-pop-LCR entre le 3^{ème} et le 5^{ème} jour après l'instauration de l'antibiothérapie.

L'échantillon de sang était prélevé sur tube hépariné. Le prélèvement de 5 ml par patient était immédiatement centrifugé (ie dans l'heure maximum) pendant 10 minutes à 3000g à 4°C ou à défaut à température ambiante. Le surnageant correspondant au plasma était réparti dans 4 aliquots de 1 mL.

Concernant l'échantillon de LCS, il était ponctionné via le site de prélèvement de la DVE dans des conditions d'asepsie strictes et divisé en 4 aliquots également de 1 mL.

Tous les échantillons étaient prélevés à l'aide d'une micropipette pour s'assurer de leur qualité (précision, volume, absence de contamination).

La répartition des échantillons consistait à utiliser 2 aliquots de plasma pour les dosages d'albumine et 2 aliquots de LCS pour les dosages de cytokines IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 et TNF-α. Les aliquots restants étaient destinés aux dosages pharmacocinétiques.

Les patients n'étaient pas exclus de l'analyse en cas d'échantillons manquants.

2.3.2 MODALITE DE CONSERVATION (TEMPERATURE ET DUREE)

Les aliquots de plasma et de LCS étaient ensuite congelés par le centre préleveur, acheminés et conservés dans le centre investigateur de Poitiers (laboratoire INSERM U1070). Afin de garantir la stabilité des échantillons dans le temps, la température de congélation et de transport était maintenue à -80°C en fonction du délai attendu de réception des échantillons. Les échantillons étaient conservés par la suite à une température de -80°C.

2.4 ANALYSE DES ECHANTILLONS

2.4.1 METHODE DE DETECTION DES CYTOKINES

Les concentrations d'IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 et TNF α étaient dosées à l'aide d'un appareil LUMINEX 200 au laboratoire LITEC « Laboratoire Inflammation, Tissus épithéliaux et Cytokines » de Poitiers. L'ensemble des dosages de cytokines a été réalisé sur 3 sessions et à température constante. Les résultats sont exprimés en pg/mL.

La technologie LuminexTM est une technologie récente qui, fondée sur le principe de la cytométrie en flux, allie l'utilisation de microsphères magnétiques fluorescentes et une double lecture après excitation par deux lasers (un laser rouge permettant l'identification de la molécule cible et un laser vert permettant sa quantification). Ces différentes billes sont couplées à leur surface avec des anticorps de captures permettant la détection d'antigènes spécifiques (avec une sensibilité équivalente à un test ELISA) [23], figure 1. Les plaques utilisées pour cette étude provenaient des kits MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (Millipore Corporation, Billerica, USA). Elles sont composées de 96 puits noirs de type ELISA. La majorité des échantillons était dosée en simplette, 16 échantillons étaient analysés en doublon afin de valider les résultats de nos dosages, sur 6 de ces doublons une dilution supplémentaire était réalisée.

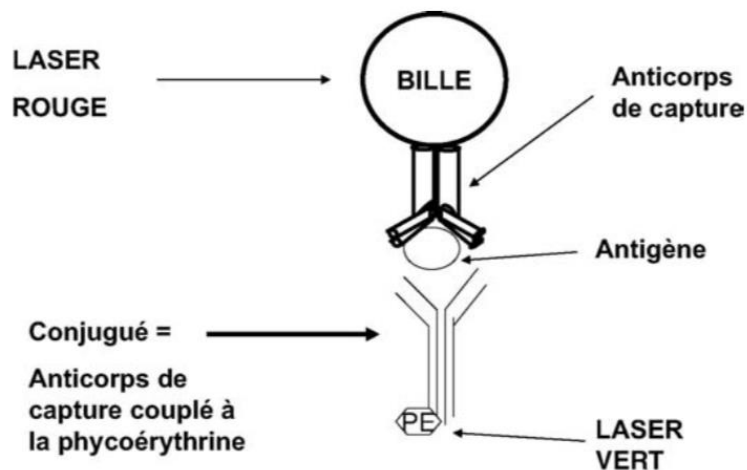


Figure 1 : détection d'antigènes à l'aide de la technologie Luminex.

2.4.2 METHODE DE DETECTION DE L'ALBUMINE ET DES IMMUNOGLOBULINES

Le dosage des concentrations d'albumine et des immunoglobulines était réalisé par immunonéphélémétrie laser via l'analyseur de biochimie automatique Attelica® développé par Siemens. Les résultats sont exprimés en g/L.

2.4.3 RATIO DE CYTOKINES ET QUOTIENT D'ALBUMINE

Les différents ratios de cytokines étaient obtenus par calcul du rapport des concentrations dans le LCS sur celles dans le plasma pour la cytokine d'intérêt.

Le quotient d'albumine (Qalb) permet d'estimer la perméabilité de la BHE, il est obtenu selon la formule donnée dans la figure 2.

$$Qalb = \frac{[Alb]_{LCS}}{[Alb]_{PLASMA}}$$

Figure 2 : Formule du quotient d'albumine.

La valeur normale du Qalb varie selon l'âge et le sexe des patients.

De 15 à 65 ans, ce chiffre varie selon la formule indexée Qalb seuil = (âge en années /15) +4, ce seuil augmentant avec l'âge. Pour les patients de plus de 65 ans le seuil de positivité est de 8. D'après les travaux de Reiber, des valeurs entre 7 et 10 (10^{-3}) signent une dysfonction légère de la BHE, entre 10 et 20 (10^{-3}) une dysfonction modérée et au-dessus de 20 (10^{-3}) une dysfonction sévère [26, 27].

2.5 MÉTHODE STATISTIQUE

La population de patients était divisée en deux groupes, les patients cérébrólésés avec une infection cérébro-méningée formant le groupe ICM et les patients cérébrólésés ayant une infection extra-cérébrale formant le groupe IEC.

Les caractéristiques des patients étaient décrites selon leur nature par médiane et écart interquartile (IQR) ou effectifs et pourcentages, et étaient comparées selon la nature des variables d'intérêt, à l'aide de tests paramétriques et non paramétriques.

Les variables quantitatives étaient comparées à l'aide du test paramétrique de Student et à défaut (si les effectifs sont inférieurs à 30 ou si la distribution des variables ne suit pas une loi normale), par le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (test U). Pour les variables qualitatives, le test paramétrique du χ^2 était effectué et à défaut le test non paramétrique de Fisher.

Le seuil de significativité retenu est $p < 0.05$ et tous les tests sont bilatéraux.

Toutes les analyses et le heatmap des cytokines ont été effectués à l'aide du logiciel de statistique R version 4.3.2.

Le Reibogramme était effectué pour chaque patient de l'étude à partir d'une matrice excel fournie par le laboratoire Inflammation, Tissus Épithéliaux et Cytokines (LITEC) de Poitiers.

2.6 CADRE REGLEMENTAIRE

Cette étude est conforme sur le plan international à la déclaration d'Helsinki et sur le plan national à la loi n° 2012-300 du 5 mars 2012 (dite loi Jardé) relative aux recherches impliquant la personne humaine. Elle est classée en recherche interventionnelle sur des médicaments de catégorie 1 et par conséquent elle a bénéficié d'une autorisation de l'Agence National de Sécurité du Médicament (ANSM) et d'un avis favorable des comités de protection des personnes (CPP) du Sud-Ouest et d'Outre-mer (CPP17-016a/2017-002993-37) (NCT03481569). Le traitement des données numériques est encadré par une méthodologie de référence de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) de type MR-001. Chaque patient, ou sa famille si celui-ci n'était pas en capacité d'exprimer sa volonté, était informé de façon claire, loyale et appropriée des objectifs de l'étude ainsi que des risques encourus et des mesures de sécurité de manière à obtenir un consentement écrit libre et éclairé. Enfin le promoteur de l'étude (CHU de Poitiers) a souscrit à une assurance.

III-RESULTATS

3.1 DESCRIPTION DE LA POPULATION

L'étude PK-pop-LCR incluait au total 175 patients sur 60 mois du 06/07/2018 au 24/03/2023 dans l'ensemble des 21 centres participants. Notre étude analysait les résultats de 133 patients, 65 dans le groupe ICM et 68 dans le groupe IEC. Les patients n'étaient pas inclus en cas de retrait de consentement en cours d'étude, de matériel biologique non analysable ou d'échantillons perdus. Le diagramme de flux de l'étude est représenté dans la figure 3.

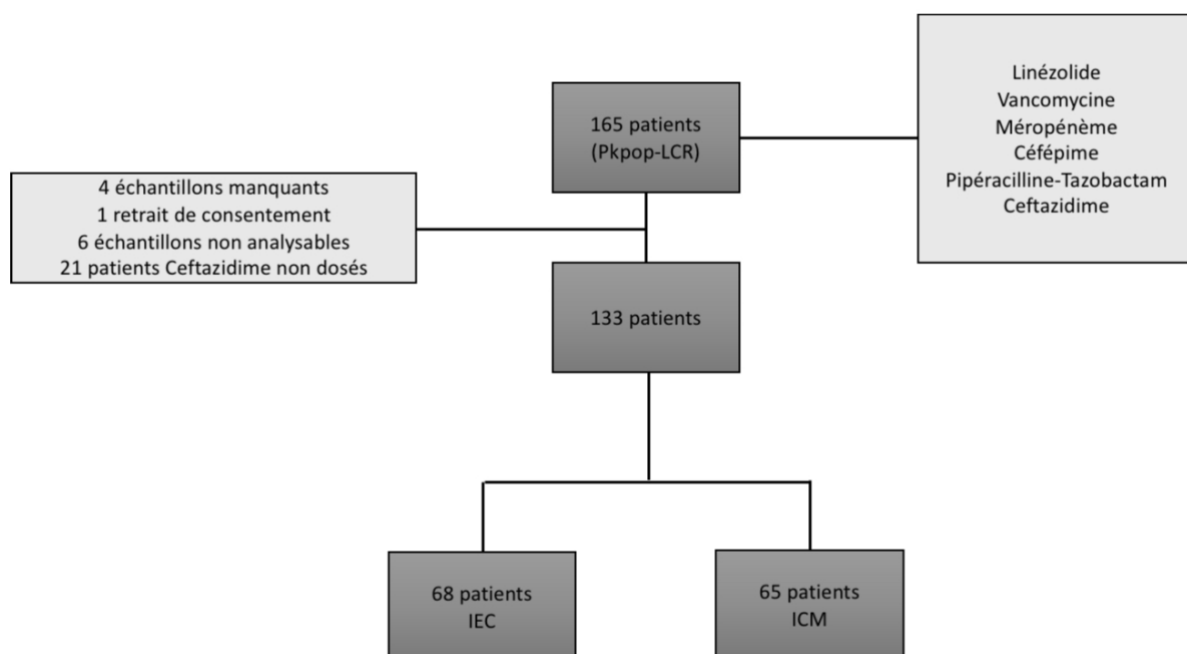


Figure 3 : Diagramme de flux des patients (n=133).

L'âge médian des patients était de 58 ans (48 ; 65). La proportion d'hommes et de femmes était similaire dans les groupes ICM et IEC, avec 45% *versus* 46% de femmes, respectivement. Le délai médian entre l'admission et l'initiation de l'antibiothérapie était de 7 (3 ; 12) jours. Les prélèvements de LCS et de sérum étaient réalisés entre J2 et J5 du début de l'antibiothérapie.

Les deux groupes étaient différents à l'admission sur leur IMC avec des scores à 32,1 (25,1 ; 37,8) dans le groupe ICM et 26,3 (22,9 ; 30,4) dans le groupe IEC $p=0,002$.

Les indications d'admission en réanimation étaient une majorité d'hémorragies sous-arachnoïdiennes (HSA) qui représentaient 45% des patients et d'hématomes intra-cérébraux (HIC) avec 34% des patients.

Le type d'infection était en majorité des méningites dans le groupe ICM représentant 63% des patients du groupe et des pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) dans le groupe IEC avec 81% des patients du groupe.

Les deux groupes étaient comparables à l'admission sur leur gravité initiale avec un score SOFA médian à 5 (3 ; 7) et un score IGS II médian à 40 (30 ; 52) en faveur de patients principalement monodéfaillants neurologiques. Le score de GLASGOW à la prise en charge en réanimation des patients était significativement plus élevé dans le groupe ICM comparativement au groupe IEC, 9 (6 ; 14) *versus* 7 (5 ; 11), respectivement.

A l'inclusion dans l'étude, les patients du groupe IEC étaient globalement plus défaillants sur le plan respiratoire, avec des rapports P/F moins importants dans le groupe IEC par comparaison au groupe ICM. Dans le groupe ICM, 58% des patients avaient un P/F supérieur à 300. Dans le groupe IEC, 58% des patients avaient un P/F altéré en dessous de 300.

Concernant les données hémodynamiques, la population étudiée ne comportait qu'une minorité de chocs septiques correspondant à 14,3% des patients. Les patients IEC avaient besoin de davantage de NORADRENALINE que les patients cérébroinfectés.

L'ensemble des caractéristiques des patients est présenté dans le *tableau 2*.

Caractéristiques	Population générale N = 133	IEC N = 68	ICM N= 65	p-value ³
Âge ¹	58 [48-65]	58 [49-65]	57 [46-64]	0,475
Sexe ² - Femme	60 (45,1)	31 (45,6)	29 (44,6)	0,910
IMC ¹	28,0 [23,8-37,0]	26,3 [22,9-30,4]	32,1 [25,1-37,8]	0,002
Motif d'hospitalisation²				
AVC hémorragique – HSA	59 (44,7)	44 (65,7)	15 (23,1)	
Tumeur cérébrale	2 (1,5)	0 (0,0)	2 (3,1)	
Traumatisme crânien	6 (4,5)	2 (3,0)	4 (6,2)	
AVC hémorragique - HIC	45 (34,1)	20 (29,9)	25 (38,5)	
AVC ischémique	1 (0,8)	0 (0,0)	1 (1,5)	
Hydrocéphalie aigue	5 (3,8)	1 (1,5)	4 (6,2)	
Infection cérébro-méningée	11 (8,3)	0 (0,0)	11 (16,9)	
Infection DVC interne	1 (0,8)	0 (0,0)	1 (1,5)	
Post-opératoire ventriculo-cisternostomie	2 (1,5)	0 (0,0)	2 (3,1)	
Données manquantes	1	1	0	
Score GLASGOW à la prise en charge¹	8,0 [5,0-13,0]	7,0 [4,8-11,0]	9,0 [6,0-14,0]	0,031
Score IGS II à l'admission¹	40,0 [30,0-52,0]	40,0 [31,0-53,3]	39,0 [28,0-52,0]	0,241
Score SOFA à l'admission¹	5 [3-7]	5 [4-9]	5 [2-6]	0,145
Score SOFA à l'inclusion¹	5 [3-7]	6 [4-8]	4 [1-6]	<0,001
Délai entre l'initiation d'antibiotiques et l'admission¹	7 [3-12]	6 [3-10]	8 [5-14]	0,075
Données manquantes	3	3	0	
Données respiratoires²				0,013
Pas de défaillance respiratoire (P/F > 300)	50 (42,4)	18 (28,6)	32 (58,2)	
Défaillance respiratoire légère (P/F entre 200 et 300)	26 (22,0)	17 (27,0)	9 (16,4)	
Défaillance respiratoire modérée (P/F entre 100 et 200)	35 (29,7)	23 (36,5)	12 (21,8)	
Défaillance respiratoire sévère (P/F inférieur à 100)	7 (5,9)	5 (7,9)	2 (3,6)	
Données manquantes	15	5	10	
Données hémodynamiques²				0,006
Absence d'hypotension	107 (80,5)	54 (79,4)	53 (81,5)	
PAM < 70 mmHg	4 (3,0)	2 (2,9)	2 (3,1)	
Mise sous DOBUTAMINE	3 (2,3)	1 (1,5)	2 (3,1)	
Mise sous NORADRENALINE ≤ 0,1 µg/kg/min	8 (6,0)	1 (1,5)	7 (10,8)	
Mise sous NORADRENALINE > 0,1 µg/kg/min	11 (8,3)	10 (14,7)	1 (1,5)	
PIC¹	5,0 [1,0-10,5]	6,0 [2,0-11,8]	4,0 [0,0-8,0]	0,055
Données manquantes	22	10	12	
PPC¹	91,0 [82,0-100,0]	87,0 [78,3-101,8]	93,0 [84,0-100,0]	0,448
Données manquantes	22	10	12	
Indication des antibiotiques²				
Abcès cérébral	2 (2,4)	0 (0,0)	2 (6,7)	
Autre	2 (2,4)	2 (3,8)	0 (0,0)	
Choc septique	1 (1,2)	1 (1,9)	0 (0,0)	
Infection de DVE	6 (7,2)	0 (0,0)	6 (20,0)	
Infection urinaire	3 (3,6)	3 (5,7)	0 (0,0)	
Méningite	19 (22,9)	0 (0,0)	19 (63,3)	
PAVM	43 (51,8)	43 (81,1)	0 (0,0)	
Pneumopathie d'inhalation	1 (1,2)	1 (1,9)	0 (0,0)	
Sepsis	3 (3,6)	3 (5,7)	0 (0,0)	
Ventriculite	3 (3,6)	0 (0,0)	3 (10,0)	
Données manquantes	50	15	35	

¹ Médiane [1^{er} quartile – 3^{ème} quartile] ; ² n (%) ; ³ Test de Wilcoxon, Test du Chi-2 de Pearson, Test de Fisher exact

Tableau 2 : Caractéristiques de la population (n=133).

3.2 CRITÈRE DE JUGEMENT PRINCIPAL

3.2.1 COMPARAISON DES TAUX DE CYTOKINES

3.2.1.1 IL-6

Les taux d'IL-6 étaient significativement augmentés dans le LCS des patients avec une ICM comparativement aux patients IEC, avec des concentrations médianes de 2447.3 pg/ml (773.4; 7947.6) et 620.6 pg/mL (150.7; 3129.9), respectivement. Aucune différence de concentration constatée entre les deux groupes dans le plasma (Figure 4).

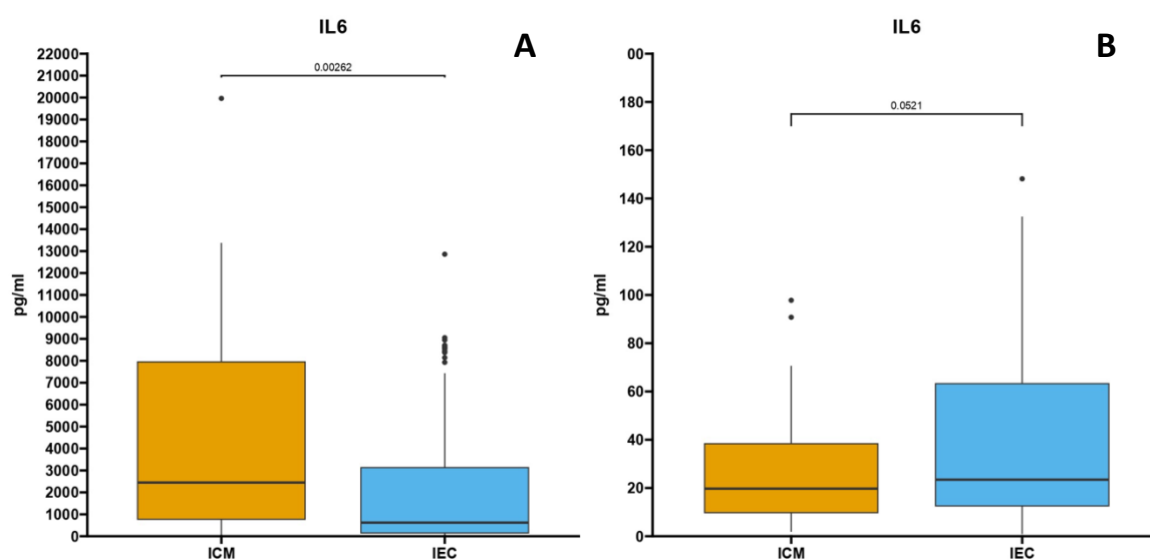


Figure 4 : Boîtes à moustache des concentrations d'IL-6 dans le LCS (A) et dans le sérum (B)

3.2.1.2 IL-8

Pour IL-8, sa concentration médiane était augmentée de manière significative dans le LCS des patients ICM à 831.9 pg/ml (357.9 ; 1417.6) *versus* 574.7 pg/ml (281.9 ; 1024.6) chez les patients IEC.

Dans le sérum une augmentation significative des concentrations médianes était retrouvée dans le groupe IEC à 13.1 pg/ml (9.4 ; 19.8) *versus* 8.9 pg/ml (5.5 ; 15.6) dans le groupe ICM (figure 5).

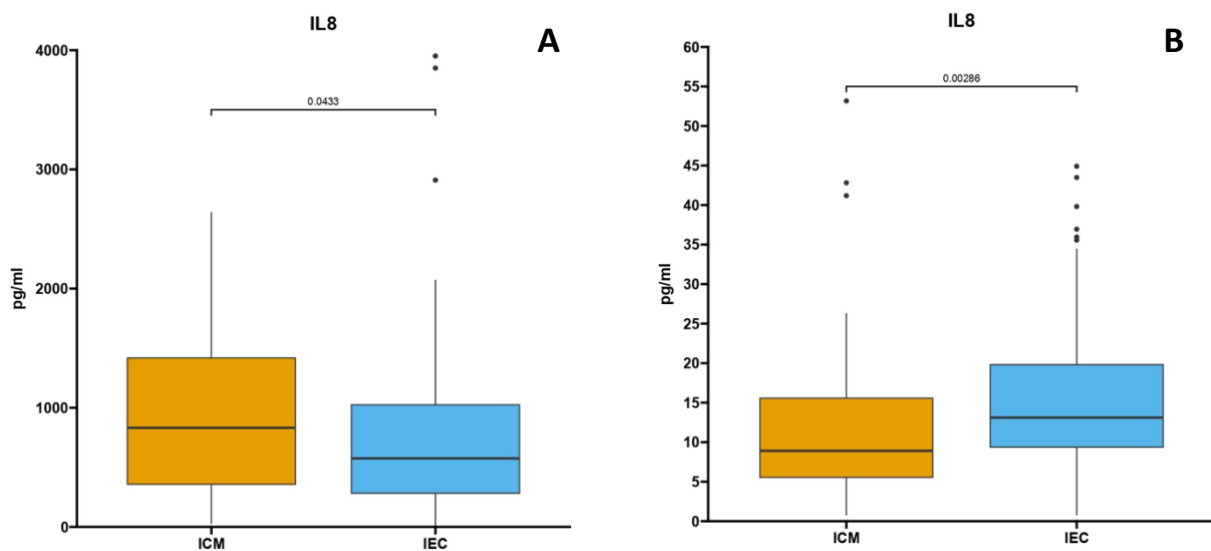


Figure 5 : Boîtes à moustache des concentrations d'IL-8 dans le LCS (A) et dans le sérum (B).

3.2.1.3 IL-10

Dans le groupe ICM la concentration médiane était significativement plus élevée dans le LCS comparativement au groupe IEC. Dans le LCS, la concentration médiane était de 109.8 pg/ml (42.6 ; 272.8) pour les ICM et de 47.4 pg/ml (8.1 ; 95.2) pour les IEC. Aucune différence n'était constatée dans le sérum entre les deux groupes (figure 6).

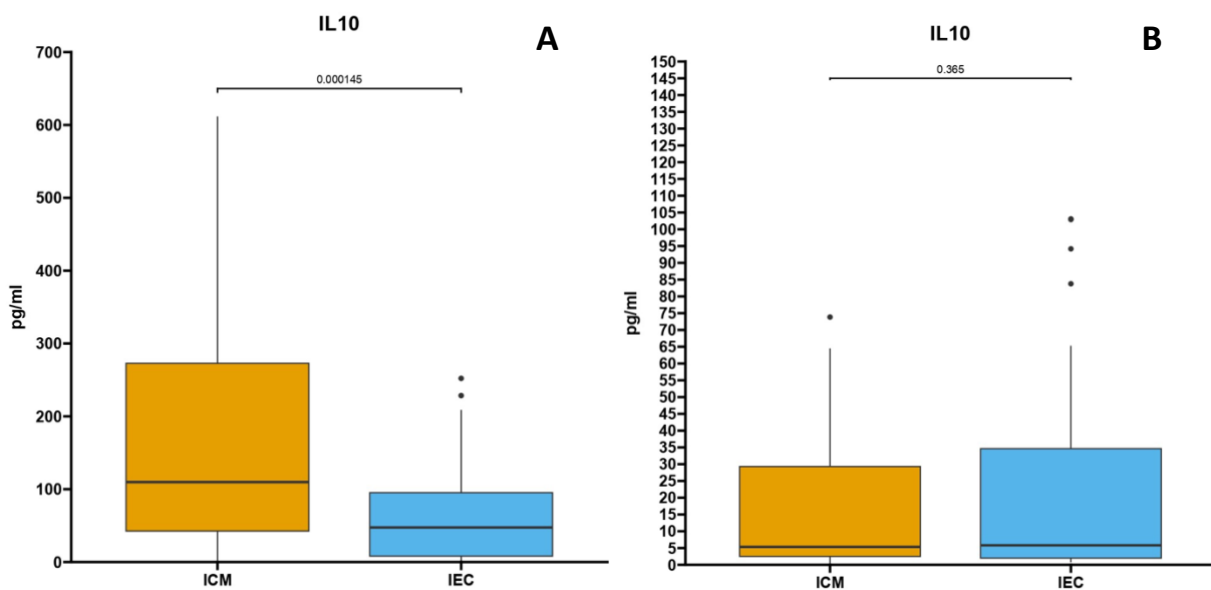


Figure 6 : Boîtes à moustache des concentrations d'IL-10 dans le LCS (A) et dans le sérum (B).

3.2.1.4 IL-17

Dans le LCS, le groupe ICM avait une concentration médiane à 3.5 pg/ml (1.2 ; 21.2) significativement plus élevée que celle du groupe IEC à 1.2 pg/ml (1 ; 1.3).

Dans le sérum, aucune différence significativement n'était retrouvée (figure 7).

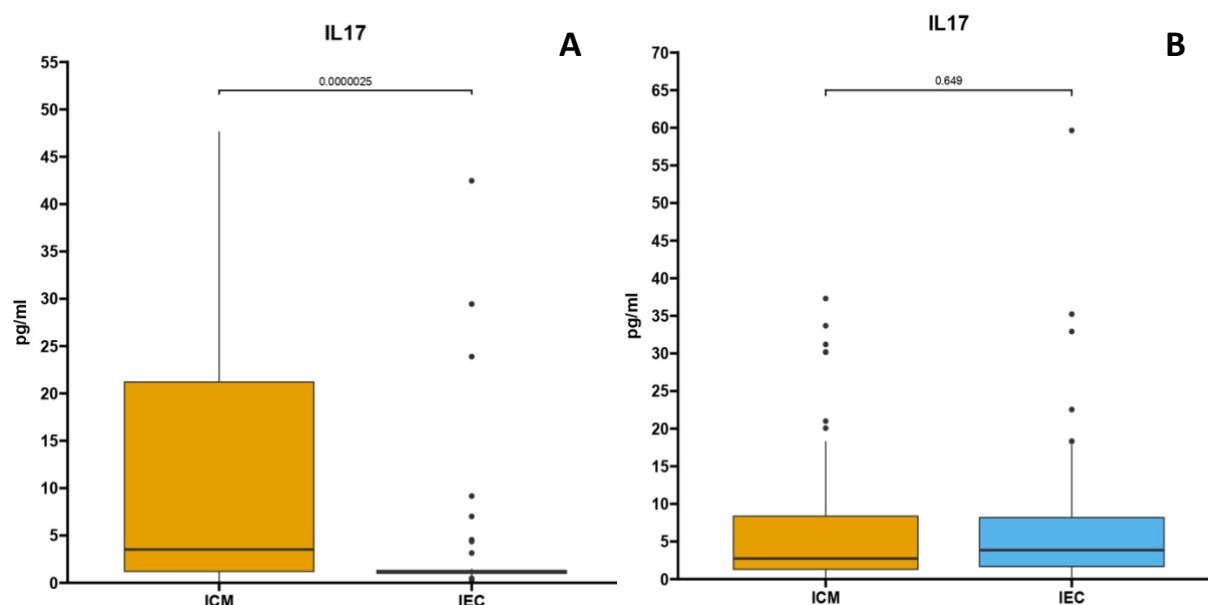


Figure 7 : Boîtes à moustache des concentrations d'IL-17 dans le LCS (A) et dans le sérum (B).

3.2.1.5 TNF- α

Les taux de TNF- α étaient significativement augmentés dans le LCS des patients avec une ICM comparativement aux patients IEC. Avec des concentrations médianes respectivement à 24.8 pg/ml (10.1 ; 53.6) *versus* 13.2 pg/ml (6.3 ; 27.5). Aucune différence de concentration n'était constatée entre les deux groupes dans le plasma (Figure 8).

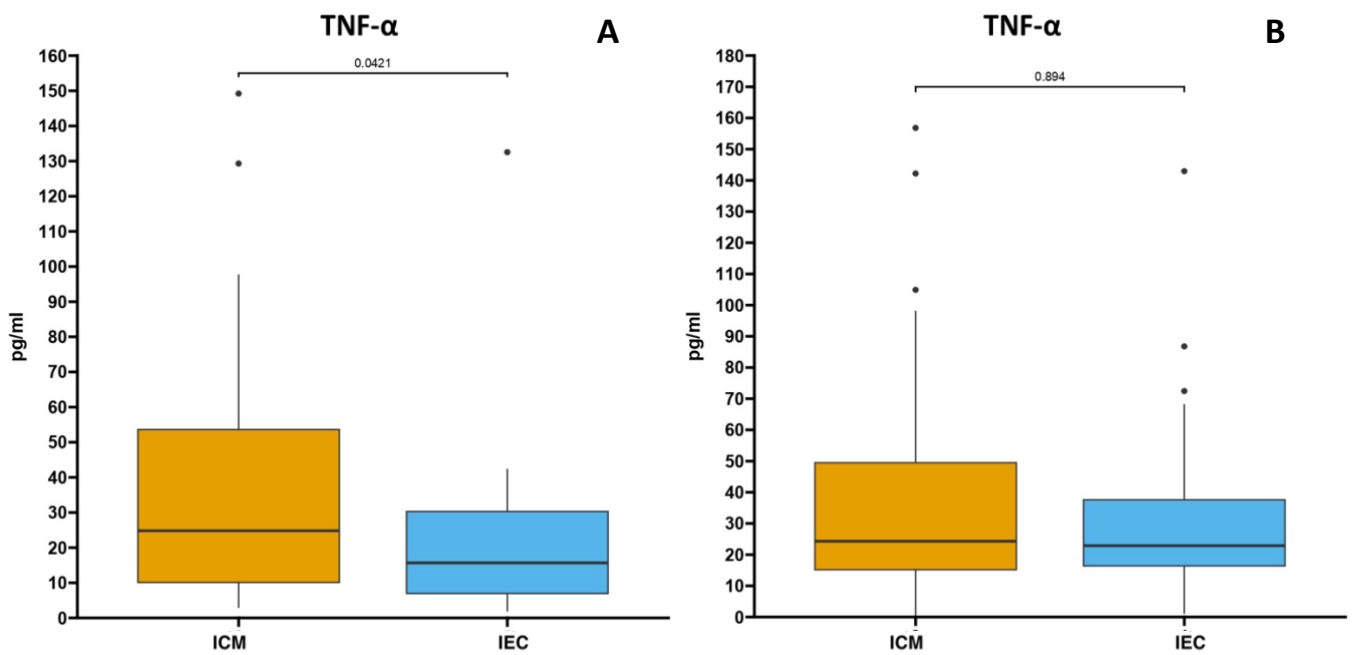


Figure 8 : Boîtes à moustache des concentrations de TNF- α dans le LCS (A) et le sérum (B).

3.2.2 TABLEAU RÉCAPITULATIF

	LCS Médiane (q1;q3)		SERUM Médiane (q1;q3)	
	ICM	IEC	ICM	IEC
* p<0.05				
IL-6	2447.3* (773.4;7947.6)	620.6* (150.7;3129.9)	19.7 (9.8;38.4)	23.4 (12.6;63.3)
IL-8	831.9* (357.9;1417.6)	574.7* (281.9;1024.6)	8.9* (5.5;15.6)	13.1* (9.4;19.8)
IL-10	109.8* (42.6;272.8)	47.4* (8.1;95.2)	5.3 (2.5;29.3)	5.8 (2;34.6)
IL-17	3.5* (1.2;21.2)	1.2* (1;1.3)	2.7 (1.3;8.4)	3.9 (1.7;8.2)
TNF α	24.8* (10.1;53.6)	13.2* (6.3 ;27.5)	23.6 (14.8;48.8)	21.3 (13.6;36)

Tableau 3 : Comparaison des taux médians de cytokines en pg/mL dans le LCS et dans le sérum entre le groupe ICM (colonne jaune) et le groupe IEC (colonne bleue).

3.2.3 COMPARAISON DES RATIOS LCS/SERUM DE CYTOKINES

Les sujets ayant une infection cérébro-méningée avaient un ratio LCS/plasma médian plus élevé que les sujets avec une infection extra-cérébrale. Les ratios médians étaient environ 2 fois supérieurs chez les patients ICM pour les cytokines IL-6, 8, 10 et 17.

Le ratio d'IL-6 des patients était significativement plus élevé dans le groupe ICM comparativement au groupe IEC, 96.3 (16.4 ; 321.3) *versus* 40.8 (6.7 ; 113.4), respectivement. Le ratio d'IL-8 des patients était significativement plus élevé dans le groupe ICM comparativement au groupe IEC, 66.4 (32.3 ; 198.2) *versus* 41.9 (13.3 ; 92.1), respectivement. Aucune différence significative n'était observée concernant la comparaison des ratios des cytokines IL-10, IL-17A et TNF- α .

Ratio LCS/Plasma	Infection cérébro-méningée N = 65	Infection extra-cérébrale N = 68	p-value ²
IL-6¹	96.2 [16.4;321.3]	40.8 [6.7;113.4]	0.018
IL-8¹	66.4 [32.3;198.2]	41.9 [13.3;92.1]	0.021
IL-10¹	11.3 [2.3;33.4]	6.5 [1.4;34.2]	0.064
IL-17¹	0.8 [0.2;3.4]	0.4 [0.1;1.9]	0.134
TNF-Alpha¹	0.8 [0.3;1.8]	0.7 [0.4;1.9]	0.666

¹ Médiane (IQR) ; ² Test de Wilcoxon

Tableau 4 : Comparaison des ratios LCS/plasma médians de cytokines entre les deux groupes.

3.2.4 HEATMAP DES CONCENTRATIONS CYTOKINIQUES DANS LE LCS

Une différence visuelle des concentrations entre les deux groupes était observée. Le groupe ICM était globalement plus rouge alors que le groupe IEC était globalement plus jaune.

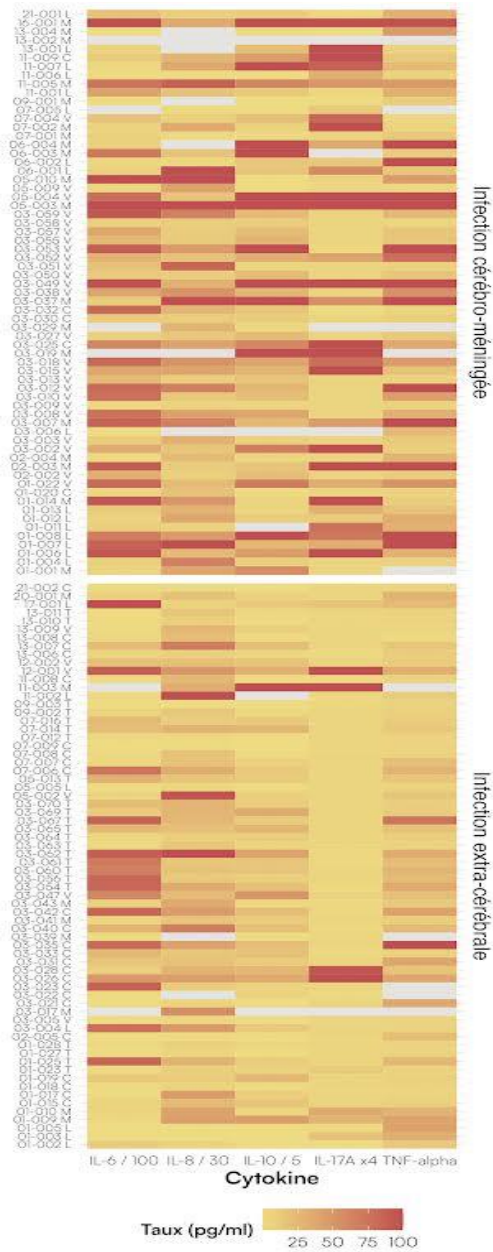


Figure 9 : Heatmap des concentrations médianes cytokiniques dans le LCS en pg/ml. Plus la concentration est intense plus la couleur correspondante est foncée.

3.3 CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES

3.3.1 COMPARAISON DES Qalb

Le ratio d'albumine Qalb était significativement plus élevé dans le groupe ICM comparativement au groupe IEC avec une médiane respectivement à 13.3 (10^{-3}) (6.5 ; 20.4) *versus* 8.5 (10^{-3}) (4.2 ; 12.5) (figure 10). Pour notre population étudiée d'âge médian à 58 ans, le Qalb seuil indiquant une dysfonction de la BHE était à 7,87 (10^{-3}).

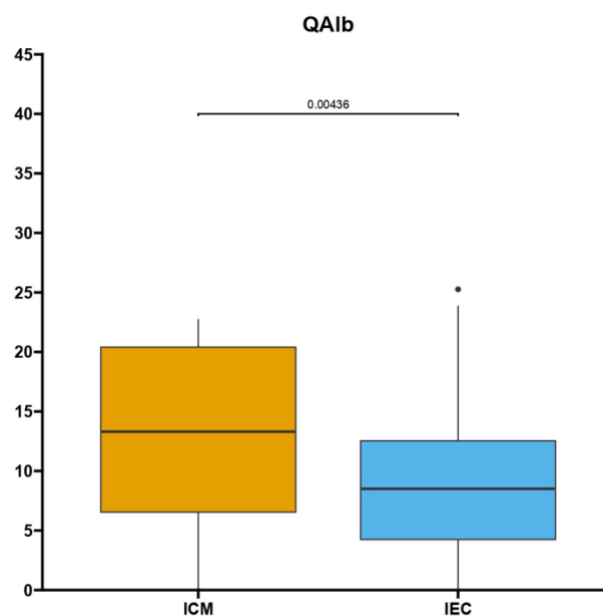


Figure 10 : comparaison du Qalb entre les deux groupes

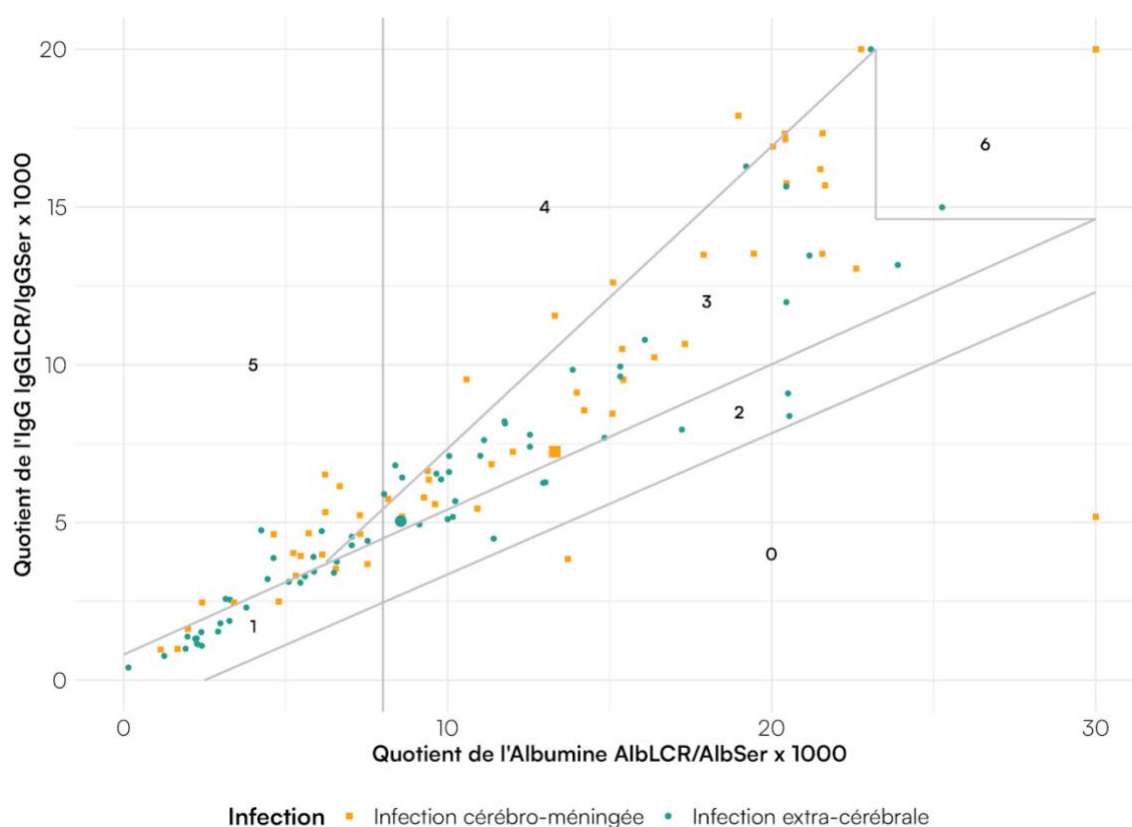
3.3.2 ANALYSE EN SOUS GROUPE HSA / AVC HÉMORRAGIQUE

Une augmentation significative était retrouvée dans le LCS des patients HIC *versus* HSA pour les cytokines IL-8 et IL-10, avec des concentrations médianes pour IL-8 chez les patients HIC à 797.9 pg/ml (540.6 ; 1504.7) *versus* chez les patients HSA à 476.6 pg/ml (288.6 ; 1040.6), et avec des concentrations médianes pour IL-10 chez les patients HIC à 105.1 pg/ml (43.2 ; 144.3) *versus* chez les patients HSA à 54.1 pg/ml (16.7 ; 84.5). Aucune différence n'était retrouvée pour les autres cytokines dans le LCS. Aucune différence n'était également retrouvée pour l'ensemble des cytokines dans le sérum.

3.3.3 REIBOGRAMME

Les Qalb médians des deux groupes étaient situés dans la zone 3 correspondant à une dysfonction de la BHE.

La majorité des patients ICM avait des valeurs de quotient d'immunoglobulines de type G (IgG) au-dessus des courbes de référence du diagramme de Reiber (zones 3-4-5) indiquant une production locale possible de ces protéines dans le SNC. La synthèse intrathécale des IgG était moins franche pour les patients IEC.



<u>N° Interprétation des différentes zones selon REIBER :</u>		
0	Résultats suggérant une barrière hémé-méningée sélective non physiologique donc inconsistants. Il est recommandé de contrôler le dosage.	
1	Absence d'anomalie décelable (ces résultats n'excluent pas avec certitude l'existence d'un processus pathologique intrathécal)	
2	Légère altération de la barrière hémé-méningée de type proportionnel sans synthèse intrathécale concomitante.	
3	Importante altération de la barrière de type non poportionnel, avec synthèse intra thécale possible.	
4	Altération de la barrière associée à une synthèse intrathécale d'IgG.	
5	Synthèse intrathécale d'IgG sans altération de la barrière.	
6	Altération massive de la barrière qui ne peut être définie avec certitude. (Ce domaine se situe en dehors des limites du diagramme).	

Figure 10 : Reibogramme avec nuage de points des patients ICM (en jaune) versus IEC (en bleu). (Grand rond bleu : Qalb médian des IEC. Grand carré jaune : Qalb médian des ICM)

IV-DISCUSSION

Plusieurs études sur la neuroinflammation se sont intéressées aux différents profils cytokiniques, cependant aucune étude dans la littérature ne porte sur la différence de réponse neuroinflammatoire dans le sérum et le LCS chez des patients cérébrolésés infectés au niveau du SNC ou infectés en extra-cérébral.

Notre étude montrait une augmentation significative des concentrations des cytokines IL-6, 8, 10, 17 et de TNF-alpha dans le LCS des patients ICM par rapport au LCS des patients IEC. L'absence de différence significative sur les taux de TNF- α et d'IL-8 dans les travaux préliminaires du Dr Rubin pouvait s'expliquer par un manque de puissance compte tenu du nombre inférieur de patients inclus (67 *versus* 133 patients) [28].

Une étude prospective récente, portant sur le profil cytokinique dans le LCS et dans le sérum de 30 patients atteints d'une méningite aiguë bactérienne, retrouvait des taux médians d'IL-6, 8, 10 et de TNF-alpha significativement plus augmentés donc le LCS comparativement aux taux plasmatiques [29]. Ces résultats sont concordants avec les nôtres à l'exception des valeurs des concentrations mesurées pour chaque cytokine. Dans le LCS, l'étude bulgare retrouvait des taux médians de cytokines IL-6 à 365.60 (231.45 ; 384.05), d'IL-8 à 2155 (435.75 ; 2200), d'IL-10 à 429.10 (27.45 ; 440) et de TNF- α à 30.75 (0 ; 545.65). De nombreuses différences méthodologiques entre les deux études peuvent expliquer ces différences de concentrations, comme le timing des prélèvements (lors du diagnostic de méningite *versus* à J3-J5 de l'instauration de l'antibiothérapie), les modalités de prélèvements (ponction lombaire *versus* DVE) et les modalités de mesures des cytokines (ELISA *versus* MULTIPLEX). Une autre étude prospective de 2020 sur 43 patients [17] portant sur les réponses inflammatoires observées dans le LCS au cours des infections du SNC retrouvait des taux de cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-23, IL-33, IFN- γ , TNF- α augmentés chez des patients atteints de méningite purulente bactérienne ou tuberculeuse comparativement à des patients non infectés. En particulier, les taux respectifs de cytokines étaient dans le groupe des patients cérébro-infectés pour le TNF- α à 23.49 (10.37 ; 40.11), pour l'IL-6 à 1605 (80.58 ; 6683), pour l'IL-10 à 67.39 (20.38 ; 151) et pour l'IL-17 à 33.02 (20.79 ; 58.28). Les concentrations d'IL-6 dans cette étude étaient particulièrement élevées dans le groupe des patients ICM de manière

similaire à notre étude avec des taux médians d'IL-6 dans le LCS à 2447.3 pg/ml (773.4 ; 7947.6).

Concernant l'IL-8, notre étude retrouvait une augmentation significative de son taux dans le LCS des patients du groupe ICM à 831.9 (357 ; 1417.6) par rapport aux patients du groupe IEC. De surcroît, l'IL-8 était la seule cytokine de l'étude pour laquelle une différence significative était mise en évidence dans le sérum avec une augmentation des taux plasmatiques chez les patients du groupe IEC par rapport aux patients du groupe ICM. L'IL-8 induit la migration des polynucléaires neutrophiles vers le site de l'inflammation, cette cytokine est particulièrement synthétisée dans l'inflammation pulmonaire or dans le groupe IEC les PAVM représentaient la majorité des infections avec 81,1% des patients [30]. Par exemple, dans le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) on observe des niveaux élevés d'IL-8 dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire et dans le plasma [31, 32].

Plusieurs études dans la littérature s'attachent à montrer les performances des dosages cytokiniques comme biomarqueurs pour effectuer le diagnostic de méningite bactérienne. Ainsi, un seuil d'IL-8 dans le LCS au-dessus de 554 pg/mL était déterminé afin de discriminer une méningite aseptique et une méningite bactérienne chez des patients adultes en post-opératoire de neurochirurgie avec une sensibilité et une spécificité de 75% [33]. Tandis que pour une valeur seuil à 1 065.96 pg/mL dans le LCS, l'IL-6 avait une sensibilité de 76,2 % et une spécificité de 100 % pour le diagnostic de méningite bactérienne dans une étude comparant des sujets ayant une méningite bactérienne, à des sujets ayant une méningite virale et à des sujets contrôles sains [34]. Les résultats d'une méta-analyse sur du LCS extrait par ponction lombaire avaient révélé que le TNF- α avait une sensibilité de 83 % et une spécificité de 92 % pour différencier la méningite bactérienne de la méningite aseptique [35]. Cette donnée pourrait être intéressante compte tenu de la difficulté de réalisation du diagnostic positif de méningite bactérienne chez le sujet de réanimation. En effet, les patients cérébrolésés de réanimation peuvent présenter des tableaux clinico-biologiques similaires pour des causes de méningites différentes avec nécessité d'instauration ou non d'une antibiothérapie, par exemple des tableaux de méningite bactérienne décapitée ou à l'inverse des méningites réactionnelles à une infection systémique ou à une agression telle qu'une neurochirurgie ou un AVC.

En ce qui concerne l'IL-17, une augmentation de sa concentration était observée dans le LCS des patients ICM de manière significative par comparaison avec les patients IEC, dans notre étude. Cette cytokine est particulièrement étudiée depuis de nombreuses années dans les affections cutanées, comme le psoriasis ou le retard de cicatrisation des plaies [36] et dans les pathologies chroniques du SNC comme la sclérose en plaque [37]. Cependant l'IL-17 semblerait jouer un rôle important dans la neuroinflammation aiguë et particulièrement dans le cas des AVC hémorragiques. En effet, l'étude de Yu et Anyong sur des sujets murins a montré une augmentation des taux cérébraux (extraits d'hippocampes) et plasmatiques d'IL-17 chez les souris ayant un AVC hémorragique comparativement à des souris saines. A 3 jours d'un AVC hémorragique les souris avaient des taux cérébraux significativement augmentés d'IL-17 autour de 160 pg/mL comparativement au groupe de souris contrôles. De surcroît, lorsqu'ils utilisaient un anticorps spécifique anti IL-17 cela diminuait l'activation des cellules microgliales autour de l'hématome et réduisait de manière significative les concentrations cérébrales des cytokines IL-6 à 200 pg/mL *versus* 400 pg/mL, TNF- α à 300 pg/mL *versus* 500 pg/mL et IL-1 β à 400 pg/mL *versus* 700 pg/mL [38]. Ainsi, la neutralisation de l'IL-17 par un anticorps spécifique pourrait offrir une stratégie thérapeutique prometteuse dans le traitement de l'AVC hémorragique en diminuant de l'œdème cérébral.

Compte tenu des augmentations significatives de concentrations cytokiniques constatées dans le LCS par rapport à celles du plasma (plus du double), il est pertinent de se demander si celles-ci sont synthétisées localement ou si elles sont issues d'un transsudat du plasma à travers la BHE rendue plus perméable dans le contexte de neuroinflammation.

Dans notre étude, l'augmentation significative des ratios LCS/plasma d'IL-6 et d'IL-8 dans le groupe ICM *versus* IEC pourrait être en faveur d'une synthèse locale des cytokines au sein du SNC. Une étude récente, *in vivo*, portant sur des cerveaux de souris montrait que 12h après une injection de lipopolysaccharide, un composant majeur de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, il était observé au niveau du site d'injection, une synthèse locale des cytokines IL-6, IL-1 β et du TNF- α . Ces cytokines étaient majoritairement produites par les cellules microgliales et à moindre mesure par les astrocytes [39]. Dans le cas des IgG, l'analyse des échantillons sur un diagramme de Reiber tend à confirmer cette hypothèse de synthèse

intrathécale majoritaire pour les sujets cérébroinfectés comparativement à un phénomène transsudatif pour les sujets ayant une infection extra-cérébrale.

Le ratio d'albumine est un marqueur dans la littérature de la perméabilité de la BHE [24]. Dans notre étude, le Qalb était statistiquement plus élevé dans le groupe ICM avec une valeur médiane à 13,3 (10^{-3}) versus 8.5 (10^{-3}) dans le groupe IEC. La valeur seuil normale du Qalb pour notre échantillon de patients d'âge médian à 58 ans était de 7,87 (10^{-3}). Par conséquent, nos résultats sont en faveur d'une dysfonction modérée de la BHE dans le groupe ICM et d'une dysfonction légère dans le groupe IEC. En effet, un Qalb entre 7 et 10 (10^{-3}) signe une dysfonction légère de la BHE, entre 10 et 20 (10^{-3}) une dysfonction modérée et au-dessus de 20 (10^{-3}) une dysfonction sévère [26, 27]. Les deux groupes de patients cérébrolésés ont une altération de leur BHE mais l'infection surajoutée du SNC semble augmenter celle-ci de manière significativement plus importante qu'une infection extra-cérébrale.

Les valeurs de Qalb médian mesurées dans notre étude dans le groupe ICM étaient plus basses que celles observées dans la littérature dans le cas d'une méningite aiguë bactérienne. En effet, une étude rétrospective sur 79 patients dont 48 avaient un diagnostic certain de méningite purulente (confirmé par des cultures bactériennes positives) retrouvait des valeurs de Qalb médians autour de 25.23 (10^{-3}) (1.94 ; 152.76) [40]. Cette différence peut s'expliquer par les différents lieux de prélèvements (ponction lombaire dans la littérature pour le diagnostic positif de méningite *versus* prélèvement sur DVE dans notre étude) et par le timing plus tardif de prélèvement dans notre étude après le diagnostic de méningite (à J3-J5 de la mise sous antibiotique).

L'analyse du Qalb pourrait en routine participer à effectuer le diagnostic d'infection du SNC. De fait, le diagnostic de méningite, notamment chez le patient cérébrolésé est un diagnostic compliqué qui repose sur l'analyse dans le LCS de paramètres comme le taux de lactates, de cellules et de glucose. Or tous ces paramètres de routine peuvent être modifiés par une contamination sanguine (ponction traumatique, présence contemporaine d'un saignement intra-crânien) et leurs taux varient en fonction du temps. Les travaux de Djukic [41] suggéraient que l'analyse du Qalb et notamment lorsque celui-ci était couplé au quotient des IgG totales et positionné sur un diagramme de Reiber pouvait permettre le diagnostic de méningite même en l'absence d'une élévation des autres paramètres de routine. Dans notre étude, le délai médian entre l'admission et l'introduction d'une antibiothérapie était de 7 jours

pour l'ensemble de la population étudiée par conséquent les prélèvements étaient réalisés à minimum 10 jours de la neuroinflammation consécutive à l'atteinte cérébrale du patient responsable de son hospitalisation en réanimation. Après ce délai, la part de l'agression cérébrale initiale était probablement faible donc l'augmentation du Qalb chez les ICM était possiblement évocateur de méningite.

De surcroît, le suivi du Qalb pourrait être un biomarqueur de l'efficacité d'un traitement anti-infectieux. En effet, une étude rétrospective portant sur 21 patients atteints de méningo-encéphalite cryptococcique sous traitement montrait une diminution au cours du temps du Qalb chez les patients dont l'état clinique s'améliorait et à l'inverse, une augmentation du quotient chez les patients évoluant vers le décès [42].

Chez les patients IEC, notre étude retrouvait un Qalb médian augmenté à $8.5 (10^{-3})$ et des taux de cytokines dans le LCS plus élevés que les taux plasmatiques pour IL-6 à 620.6 pg/mL (150.7 ; 3129.9) *versus* 23.4 pg/mL (12.6 ; 63.3), pour IL-8 à 574.7 pg/mL (281.9 ; 1024.6) et pour IL-10 à 47.4 pg/mL (8.1 ; 95.2) *versus* 5.8 pg/mL (2 ; 34.6). L'augmentation du Qalb chez les patients IEC peut faire évoquer une part d'encéphalopathie septique d'autant plus que ce groupe de patients comportait une proportion significativement augmentée de chocs septiques [43]. Une étude récente réalisée sur 8 patients encéphalopathes atteints d'une pneumopathie à SARSCOV2 observait une augmentation de leur Qalb autour de $20 (10^{-3})$ [44]. Une autre étude comparant une population de patients encéphalopathes infectés par le SARSCOV2 à des patients sains retrouvait des concentrations de cytokines IL-6, IL-8 et IL-10 augmentées dans le sérum et dans le LCS des patients infectés [45]. Hormis pour IL-8, notre étude ne montrait pas d'augmentation des taux plasmatiques de cytokines, ce qui diffère avec les résultats de la littérature. Ces différences peuvent s'expliquer en raison du timing des dosages dans notre travail, retardé par rapport au diagnostic de l'infection.

Enfin, le lien entre la neuroinflammation, la sécrétion de cytokines et l'ouverture de la BHE n'était jusqu'à récemment pas démontré scientifiquement. Plusieurs études récentes, notamment celle de Voirin en 2020 [46], utilisaient des modèles de BHE *in vitro* afin de montrer le lien entre des cytokines pro-inflammatoires TNF-alpha, IL-6 et IL-17 et l'intégrité de la BHE. Dans cette étude, une augmentation de la perméabilité de la BHE, dès les premières 24h du début de la neuroinflammation, était corrélée à une diminution significative de

l'expression des protéines composants les jonctions serrées (ZO-1, claudin5) sur les modèles de BHE. De surcroît, cette étude montrait que l'ouverture de la BHE était plus importante lorsque les cytokines pro-inflammatoires TNF-alpha, IL-6 et IL-17 étaient combinées.

Notre étude présente plusieurs limites. La première limite était en lien direct avec le protocole élaboré pour répondre à des questions de PKPD et non pour analyser la neuroinflammation en réponse à une infection. D'une part, les dosages étaient réalisés à l'état d'équilibre des antibiotiques ce qui entraîne dans notre travail un biais lié aux temps des prélèvements, à distance (J3-J5) du diagnostic d'infection. D'autre part, tous les patients étaient cérébrolésés et infectés sous antibiothérapie, ce qui ne permettait pas de réaliser un groupe contrôle de patients non infectés et non cérébrolésés. De surcroît, les patients de l'étude avaient plusieurs causes de neuroinflammation, rendant difficile de faire la part des choses entre toutes les origines extra ou intra-cérébrales, infectieuses ou non infectieuses, et leur impact sur les cytokines et le Qalb. D'autant plus que l'analyse en sous-groupe des patients ayant un AVC hémorragique (HSA et HIC) ressortait positive sur deux cytokines d'intérêt.

La deuxième limite concernait la temporalité et le fait que notre étude montrait le résultat de dosages à un instant T. Or, les taux de cytokines varient au cours du temps dans le LCS et dans le plasma des patients. Par exemple dans le contexte de l'HSA, l'IL-6 ainsi que l'IL-1 β et le TNF- α sont augmentées dans le LCS des patients, mais leurs taux varient au fil du temps. L'étude de Sarrafzadeh [47] montrait que l'IL-6 augmentait de J0 à J10 de l'HSA dans le LCS et le microdialysat cérébral des patients présentant une complication neurologique à type de vasospasme ou d'infection. Dans cette même étude, l'analyse de la courbe ROC des dosages de l'IL-6 montrait des aires sous la courbe respectivement pour le microdialysat de 0.855 ($p = 0.003$), pour le LCS de 0.88 ($p = 0.001$) et de 0.48 pour le plasma ($p = 0.9$). Il serait intéressant de réaliser un protocole permettant des prélèvements itératifs afin de comparer l'évolution du taux de cytokines et du Qalb au cours du temps.

La troisième limite concernait les modalités de dosages et les liquides biologiques dosés. En effet, il n'existe pas une seule BHE car celle-ci est constituée de plusieurs interfaces comme la barrière hémato-parenchymateuse et la barrière hémato-liquidienne. Il aurait pu être pertinent de confirmer nos résultats avec des dosages de cytokines dans le microdialysat de nos patients en plus du LCS et du plasma.

De surcroît, il aurait pu être intéressant de s'intéresser à d'autres cytokines, décrites dans la littérature sur la neuroinflammation, comme l'IL-1 β qui joue un rôle dans la réponse inflammatoire précoce. Il aurait pu être également pertinent d'analyser les cellules impliquées en modifiant le protocole car celles-ci étaient lysées par la congélation des échantillons. Enfin, un faible nombre d'échantillons de LCS étaient hémolysés ce qui a pu contaminer les prélèvements et fausser les résultats de l'automate.

V-CONCLUSION

Chez les patients cérébrolésés, la réponse neuroinflammatoire cytokinique était significativement plus importante dans le LCS des patients atteints d'une ICM par rapport à ceux avec une IEC, et l'analyse des ratios cytokiniques et du Reibogramme pourrait suggérer une synthèse locale plus importante de cytokines chez les sujets ICM.

La neuroinflammation s'accompagne d'une augmentation plus importante de la perméabilité de la BHE dans le groupe ICM *versus* IEC en se basant sur le Qalb. Le lien entre les cytokines et l'ouverture de la BHE est démontré par plusieurs études *in vitro*, cependant ce résultat reste à démontrer *in vivo*.

Les biomarqueurs de la dysfonction de la BHE pourraient avoir un intérêt thérapeutique dans le diagnostic positif et dans l'optimisation des posologies d'antibiotiques chez les patients cérébrolésés contractant une infection cérébro-méningée. L'étude PK-pop LCR projette d'utiliser les cytokines comme co-variables dans ses modèles pharmacologiques de PKPD.

VI-BIBLIOGRAPHIE

- [1] Ehrlich P. Das sauerstoffbedürfnis des organismus, in Eine Farbenanalytische Studie, Hirschwald, Berlin. 1885.
- [2] Stern, L., and R. Gautier. "Recherches Sur Le Liquide Céphalo-Rachidien : I.–Les Rapports Entre Le Liquide Céphalo-Rachidien et La Circulation Sanguine." *Archives Internationales de Physiologie* 17, no. 2 (January 1921): 138–92. <https://doi.org/10.3109/13813452109146211>.
- [3] Stewart, P.A., and M.J. Wiley. "Developing Nervous Tissue Induces Formation of Blood-Brain Barrier Characteristics in Invading Endothelial Cells: A Study Using Quail-Chick Transplantation Chimeras." *Developmental Biology* 84, no. 1 (May 1981): 183–92. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(81\)90382-1](https://doi.org/10.1016/0012-1606(81)90382-1).
- [4] Serlin, Yonatan, Ilan Shelef, Boris Knyazer, and Alon Friedman. "Anatomy and Physiology of the Blood–Brain Barrier." *Seminars in Cell & Developmental Biology* 38 (February 2015): 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.01.002>.
- [5] Abbott, N. Joan, Lars Rönnbäck, and Elisabeth Hansson. "Astrocyte–Endothelial Interactions at the Blood–Brain Barrier." *Nature Reviews Neuroscience* 7, no. 1 (January 1, 2006): 41–53. <https://doi.org/10.1038/nrn1824>.
- [6] Candelario-Jalil, Eduardo, Rick M. Dijkhuizen, and Tim Magnus. "Neuroinflammation, Stroke, Blood-Brain Barrier Dysfunction, and Imaging Modalities." *Stroke* 53, no. 5 (May 2022): 1473–86. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.122.036946>
- [7] Poirier, J., J. Fleury, and R. Ghérardi. "La barrière hémato-encéphalique. Données morphologiques." *La Revue de Médecine Interne* 4, no. 2 (June 1983): 131–44. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(83\)80005-8](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(83)80005-8).
- [8] Cohorte PKpop-LCR. Pr Dahyot-Fizelier C.
- [9] Abbott, N. Joan, Adjanie A.K. Patabendige, Diana E.M. Dolman, Siti R. Yusof, and David J. Begley. "Structure and Function of the Blood–Brain Barrier." *Neurobiology of Disease* 37, no. 1 (January 2010): 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030>.
- [10] Shabab, Tara, Ramin Khanabdali, Soheil Zorofchian Moghadamtousi, Habsah Abdul Kadir, and Gokula Mohan. "Neuroinflammation Pathways: A General Review." *International Journal of Neuroscience* 127, no. 7 (July 3, 2017): 624–33. <https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1212854>.

- [11] Zhu, Huimin, Zhiqiang Wang, Jixu Yu, Xiuli Yang, Feng He, Zhenchuan Liu, Fengyuan Che, et al. "Role and Mechanisms of Cytokines in the Secondary Brain Injury after Intracerebral Hemorrhage." *Progress in Neurobiology* 178 (July 2019): 101610. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.03.003>.
- [12] Roe, Kevin. "An Inflammation Classification System Using Cytokine Parameters." *Scandinavian Journal of Immunology* 93, no. 2 (February 2021): e12970. <https://doi.org/10.1111/sji.12970>.
- [13] Doll, Danielle. "Cytokines: Their Role in Stroke and Potential Use as Biomarkers and Therapeutic Targets." *Aging and Disease*, 2014. <https://doi.org/10.14336/ad.2014.0500294>.
- [14] Reikeras, Olav, Pål Borgen, Janne Elin Reseland, and Staale Petter Lyngstadaas. "Changes in Serum Cytokines in Response to Musculoskeletal Surgical Trauma." *BMC Research Notes* 7, no. 1 (December 2014): 128. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-128>.
- [15] Sercombe, Richard, Yves R. Tran Dinh, and Philippe Gomis. "Cerebrovascular Inflammation Following Subarachnoid Hemorrhage." *Japanese Journal of Pharmacology* 88, no. 3 (2002): 227–49. <https://doi.org/10.1254/jjp.88.227>.
- [16] Liu, Qianqian, Yan Gao, Bingyan Zhang, Feng Sun, Qingluan Yang, Yuanyuan Liu, Jing Wu, et al. "Cytokine Profiles in Cerebrospinal Fluid of Patients with Meningitis at a Tertiary General Hospital in China." *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 53, no. 2 (April 2020): 216–24. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.08.019>.
- [17] Prasad R, Kapoor R, Srivastava R, Mishra OP, Singh TB. Cerebrospinal fluid TNF- α , IL-6, and IL-8 in children with bacterial meningitis. *Pediatr Neurol*. 2014 Jan;50(1):60-5. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2013.08.016. Epub 2013 Oct 15. PMID: 24138950.
- [18] Czarniak, Natalia, Joanna Kamińska, Joanna Matowicka-Karna, and Olga Koper-Lenkiewicz. "Cerebrospinal Fluid—Basic Concepts Review." *Biomedicines* 11, no. 5 (May 17, 2023): 1461. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051461>.
- [19] Tumani H., Huss A., Bachhuber F. The cerebrospinal fluid and barriers—anatomic and physiologic considerations. *Handb. Clin. Neurol*. 2017;146:3–20. doi: 10.1016/B978-0-12-804279-3.00002-2.
- [20] Profaci C.P., Munji R.N., Pulido R.S., Daneman R. The blood–brain barrier in health and disease: Important unanswered questions. *J. Exp. Med*. 2020;217:e20190062. doi: 10.1084/jem.20190062.

- [21] Hajal, Cynthia, Baptiste Le Roi, Roger D. Kamm, and Ben M. Maoz. "Biology and Models of the Blood–Brain Barrier." *Annual Review of Biomedical Engineering* 23, no. 1 (July 13, 2021): 359–84. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-082120-042814>.
- [22] Weiss, N., F. Miller, S. Cazaubon, and P.-O. Couraud. "Implication de la barrière hématoencéphalique dans la physiopathologie des maladies neurologiques: Partie II." *Revue Neurologique* 165, no.12 (December2009):1010–22.
- [23] De Jager, Wilco, Henk Te Velthuis, Berent J. Prakken, Wietse Kuis, and Ger T. Rijkers. "Simultaneous Detection of 15 Human Cytokines in a Single Sample of Stimulated Peripheral Blood Mononuclear Cells." *Clinical and Vaccine Immunology* 10, no. 1 (January 2003): 133–39. <https://doi.org/10.1128/CDLI.10.1.133-139.2003>.
- [24] Freedman, Mark S., Edward J. Thompson, Florian Deisenhammer, Gavin Giovannoni, Guy Grimsley, Geoffrey Keir, Sten Öhman, et al. "Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis: A Consensus Statement." *Archives of Neurology* 62, no. 6 (June 1, 2005). <https://doi.org/10.1001/archneur.62.6.865>.
- [25] Seyfert, Sepp, Anne Becher, Renate Hring, and Andreas Faulstich. "The Permeability of the Blood-CSF Barrier in Hydrocephalus, Polyradiculitis, and Meningitis." *Journal of Neurology* 251, no. 3 (March 1, 2004): 355–56. <https://doi.org/10.1007/s00415-004-0334-2>.
- [26] Reiber, Hansotto, and Klaus Felgenhauer. "Protein Transfer at the Blood Cerebrospinal Fluid Barrier and the Quantitation of the Humoral Immune Response within the Central Nervous System." *Clinica Chimica Acta* 163, no. 3 (March 1987): 319–28. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(87\)90250-6](https://doi.org/10.1016/0009-8981(87)90250-6).
- [27] Reiber, Hansotto, Markus Otto, Christian Trendelenburg, and Arno Wormek. "Reporting Cerebrospinal Fluid Data: Knowledge Base and Interpretation Software." *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 39, no. 4 (January 25, 2001). <https://doi.org/10.1515/CCLM.2001.051>.
- [28] Rubin A., Dahyot-Fizelier C. « Comparaison de la réponse inflammatoire plasmatique et cérébrale de sepsis cérébro-méningés ou extra cérébraux chez des patients cérébro-lésés ». Thèse d'exercice année 2021.
- [29] Kalchev, Y., P. Argirova, I. Boev, A. Yaneva, N. Vatev, M. Stoycheva, and M. Murdjeva. "Cytokine Profile in Patients with Acute Bacterial Meningitis." *Cytokine* 170 (October 2023): 156315. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156315>.

- [30] Kunkel, Steven L., Theodore Standiford, Keita Kasahara, and Robert M. Strieter. "Interleukin-8 (IL-8): The Major Neutrophil Chemotactic Factor in the Lung." *Experimental Lung Research* 17, no.1 (January 1991): 17–23. <https://doi.org/10.3109/01902149109063278>.
- [31] Han, SeungHye, and Rama K. Mallampalli. "The Acute Respiratory Distress Syndrome: From Mechanism to Translation." *The Journal of Immunology* 194, no. 3 (February 1, 2015): 855–60. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402513>.
- [32] Cepkova M, Brady S, Sapru A, Matthay MA, Church G. Biological markers of lung injury before and after the institution of positive pressure ventilation in patients with acute lung injury. *Crit Care*. 2006;10(5):R126. doi: 10.1186/cc5037.
- [33] Yekani M, Memar MY. Immunologic biomarkers for bacterial meningitis. *Clin Chim Acta*. 2023 Aug 1;548 :117470. doi : 10.1016/j.cca.2023.117470
- [34] Dano, Ibrahim Dan, Hassimi Sadou, Bassira Issaka, and Odile Ouwe Missi Oukem-Boye. "Measurement of Interleukin-6 in Cerebrospinal Fluid for TheDiagnosis of Bacterial Meningitis." *Pakistan Journal of Biological Sciences* 19, no. 4 (May 1, 2016): 185–90. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2016.185.190>
- [35] Lv, S., J. Zhao, J. Zhang, S. Kwon, M. Han, R. Bian, H. Fu, Y. Zhang, and H. Pan. "Tumor Necrosis Factor α Level in Cerebrospinal Fluid for Bacterial and Aseptic Meningitis: A Diagnostic Meta-analysis." *European Journal of Neurology* 21, no. 8 (August 2014): 1115–23. <https://doi.org/10.1111/ene.12441>.
- [36] Lecron JC, Charreau S, Jégou JF, Salhi N, Petit-Paris I, Guignouard E, Burucoa C, Favot-Laforge L, Bodet C, Barra A, Huguier V, Mcheik J, Dumoutier L, Garnier J, Bernard FX, Ryffel B, Morel F. IL-17 and IL-22 are pivotal cytokines to delay wound healing of *S. aureus* and *P. aeruginosa* infected skin. *Front Immunol*. 2022 Oct 7;13:984016. doi: 10.3389/fimmu.2022.984016.
- [37] Milovanovic J, Arsenijevic A, Stojanovic B, Kanjevac T, Arsenijevic D, Radosavljevic G, Milovanovic M, Arsenijevic N. Interleukin-17 in Chronic Inflammatory Neurological Diseases. *Front Immunol*. 2020 Jun 3;11:947. doi: 10.3389/fimmu.2020.00947.
- [38] Yu, Anyong, Haizhen Duan, Tianxi Zhang, Yong Pan, Zhi Kou, Xiaojun Zhang, Yuanlan Lu, Song Wang, and Zhao Yang. "IL-17A Promotes Microglial Activation and Neuroinflammation in Mouse Models of Intracerebral Haemorrhage." *Molecular Immunology* 73 (May 2016): 151–57. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2016.04.003>.

- [39] Ishijima T, Nakajima K. Inflammatory cytokines TNF α , IL-1 β , and IL-6 are induced in endotoxin- stimulated microglia through different signaling cascades. *Sci Prog.* 2021 Oct;104(4):368504211054985. doi: 10.1177/00368504211054985.
- [40] Kazancioglu, Sumeyye, Aliye Bastug, Bahadir Orkun Ozbay, Hatice Tezcan, Cansu Buyuktarakci, Aysenur Akbay, and Hurrem Bodur. "The Usefulness of Hematological Parameters and Cerebrospinal Fluid Indexes in the Differential Diagnosis of Acute Bacterial from Viral Meningitis." *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 107, no. 1 (September 2023): 116005. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.116005>.
- [41] Djukic, Marija, Peter Lange, Frank Erbguth, and Roland Nau. "Spatial and Temporal Variation of Routine Parameters: Pitfalls in the Cerebrospinal Fluid Analysis in Central Nervous System Infections." *Journal of Neuroinflammation* 19, no. 1 (December 2022): 174. <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02538-3>.
- [42] Skripuletz T, Schwenkenbecher P, Pars K, Stoll M, Conzen J, Bolat S, Pul R, Vonberg RP, Sedlacek L, Wurster U, Stangel M, Trebst C. Importance of follow-up cerebrospinal fluid analysis in cryptococcal meningoencephalitis. *Dis Markers.* 2014;2014:162576. doi: 10.1155/2014/162576.
- [43] Barichello, Tatiana, Vijayasree V Giridharan, Carlos Henrique R Catalão, Cristiane Ritter, and Felipe Dal-Pizzol. "Neurochemical Effects of Sepsis on the Brain." *Clinical Science* 137, no. 6 (March 31, 2023): 401–14. <https://doi.org/10.1042/CS20220549>.
- [44] Alexopoulos H, Magira E, Bitzogli K, Kafasi N, Vlachoyiannopoulos P, Tzioufas A, Kotanidou A, Dalakas MC. Anti-SARS-CoV-2 antibodies in the CSF, blood-brain barrier dysfunction, and neurological outcome: Studies in 8 stuporous and comatose patients. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020 Sep 25;7(6):e893. doi: 10.1212/NXI.0000000000000893.
- [45] Guasp M, Muñoz-Sánchez G, Martínez-Hernández E, Santana D, Carbayo Á, Naranjo L, Bolós U, Framil M, Saiz A, Balasa M, Ruiz-García R, Sánchez-Valle R; Barcelona Neuro-COVID Study Group. CSF Biomarkers in COVID-19 Associated Encephalopathy and Encephalitis Predict Long-Term Outcome. *Front Immunol.* 2022 Apr 11;13:866153. doi: 10.3389/fimmu.2022.866153.
- [46] Voirin, Anne-Cloé, Nathalie Perek, and Frédéric Roche. "Inflammatory Stress Induced by a Combination of Cytokines (IL-6, IL-17, TNF- α) Leads to a Loss of Integrity on BEnd.3 Endothelial Cells *in Vitro* BBB Model." *Brain Research* 1730 (March 2020): 146647. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.146647>.

[47] Sarrafzadeh, Asita, Florian Schlenk, Christine Gericke, and Peter Vajkoczy. "Relevance of Cerebral Interleukin-6 After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage." *Neurocritical Care* 13, no. 3 (December 2010): 339–46. <https://doi.org/10.1007/s12028-010-9432-4>.



UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de
Pharmacie



SERMENT



En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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 !



Résumé

Introduction : L'agression du SNC par un traumatisme ou une infection génère de la neuroinflammation engendrant des anomalies de la BHE. Les biomarqueurs de l'inflammation comme les cytokines peuvent moduler l'ouverture de la BHE. L'objectif était de comparer la réponse neuroinflammatoire et la perméabilité de la BHE chez des patients cérébrolésés.

Matériel et méthode : La population étudiée était issue de la cohorte PK-pop-LCR (N°2017-002993-37). Les prélèvements plasmatiques et de LCS de 133 patients cérébrolésés, porteurs d'une DVE et sous antibiothérapie pour une infection étaient analysés. Les concentrations de cytokines IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 et TNF- α étaient quantifiées par cytométrie en flux tandis que les concentrations d'albumine étaient mesurées par immuno-néphélométrie laser. Deux groupes de patients étaient comparés : les patients cérébro-infectés (ICM) et les patients ayant une infection extra-cérébrale (IEC).

Résultats : Les deux groupes étaient comparables à l'admission sur leur gravité initiale. Le motif d'admission principal en réanimation était pour les deux groupes l'AVC hémorragique (HSA et HIC). Il y avait une majorité de méningites dans le groupe ICM, une majorité de PAVM dans le groupe IEC et des rapports P/F moyens plus élevés dans le groupe ICM.

Dans le LCS, les concentrations des cytokines IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 et TNF α étaient significativement augmentées dans le groupe ICM. Dans le plasma, aucune différence n'était mise en évidence entre les différentes concentrations de cytokines hormis pour IL-8 significativement augmentée dans le groupe IEC. Le Qalb était significativement augmenté dans le groupe ICM par rapport au groupe IEC. L'analyse du Reibogramme retrouvait une synthèse locale majoritaire des biomarqueurs inflammatoires chez les ICM.

Conclusion : Chez les patients cérébrolésés, la réponse neuroinflammatoire est plus importante dans le LCS des patients atteints d'une ICM par rapport à ceux avec une IEC. Cela s'accompagne d'une augmentation de la perméabilité de la BHE dans le groupe ICM *versus* IEC en se basant sur le Qalb. Il s'agit de la première étude mettant en évidence cette différence chez l'homme, celle-ci pourrait faire évoquer une synthèse locale de cytokines dans le SNC. Le lien entre les cytokines et l'ouverture de la BHE reste à explorer *in vivo*.

Mots clés : cérébrolésés, infection cérébro-méningée, neuroinflammation, cytokines, Qalb.