



HAL
open science

Évolution de l'expression du CD64, CD16, CD32, CD11b et CD18 sur les monocytes et polynucléaires neutrophiles lors du développement d'une EO-VAP chez des patients traumatisés crâniens graves ou atteints d'une hémorragie méningée sévère

Étienne Botquelen

► To cite this version:

Étienne Botquelen. Évolution de l'expression du CD64, CD16, CD32, CD11b et CD18 sur les monocytes et polynucléaires neutrophiles lors du développement d'une EO-VAP chez des patients traumatisés crâniens graves ou atteints d'une hémorragie méningée sévère. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03272866

HAL Id: dumas-03272866

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03272866>

Submitted on 28 Jun 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



THESE DE DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLOME D'ETAT

Année 2021

Thèse présentée par Etienne Botquelen né le 05/03/1991 à Rennes.

Thèse soutenue publiquement le 25 Juin 2021

Evolution de l'expression du CD64, CD16, CD32, CD11b et CD18 sur les monocytes et polynucléaires neutrophiles lors du développement d'une EO-VAP chez des patients traumatisés crâniens graves ou atteints d'une hémorragie méningée sévère.

Président	Mr le Professeur Olivier Huet
Membres du jury	Mr le Professeur Divi Cornec
	Mr le Dr Christophe Jamin
	Mme le Dr Véronique Vermeersch



FACULTÉ
DE MÉDECINE &
SCIENCES DE LA SANTÉ



UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE
**FACULTE DE MEDECINE ET DES SCIENCES DE LA SANTE DE
BREST**

Février 2021

Doyens honoraires

FLOCH Hervé (†)

LE MENN Gabriel
(†)

SENECAIL
Bernard

BOLES Jean-
Michel

BIZAIS Yves (†)

DE BRAEKELEER Marc (†)

Doyen

BERTHOU Christian

Professeurs émérites

BOLES Jean-Michel

Réanimation

BOTBOL Michel

Pédopsychiatrie

CENAC Arnaud

Médecine interne

COLLET Michel

Gynécologie obstétrique

JOUQUAN Jean

Médecine interne

LEFEVRE Christian

Anatomie

LEHN Pierre	Biologie cellulaire
MOTTIER Dominique	Thérapeutique
OZIER Yves	Anesthésiologie-réanimation
YOUINOU Pierre	Immunologie

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers de Classe Exceptionnelle

BERTHOU Christian	Hématologie
BRESSOLLETTE Luc	Médecine vasculaire
COCHENER-LAMARD Béatrice	Ophtalmologie
DEWITTE Jean-Dominique	Médecine et santé au travail
DUBRANA Frédéric	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FEREC Claude	Génétique
FOURNIER Georges	Urologie
GENTRIC Armelle	Gériatrie et biologie du vieillissement
GILARD Martine	Cardiologie
GOUNY Pierre	Chirurgie vasculaire
KERLAN Véronique	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
LE MEUR Yannick	Néphrologie
LE NEN Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologique
LEROYER Christophe	Pneumologie
MANSOURATI Jacques	Cardiologie
MERVIEL Philippe	Gynécologie obstétrique
MISERY Laurent	Dermato-vénérologie
NONENT Michel	Radiologie et imagerie médicale
REMY-NERIS Olivier	Médecine physique et réadaptation
ROBASZKIEWICZ Michel	Gastroentérologie
SALAUN Pierre-Yves	Biophysique et médecine nucléaire
SARAUX Alain	Rhumatologie
TIMSIT Serge	Neurologie
WALTER Michel	Psychiatrie d'adultes

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers de 1^{ère} Classe

AUBRON Cécile	Réanimation
BAIL Jean-Pierre	Chirurgie digestive
BEN SALEM Douraied	Radiologie et imagerie médicale
BERNARD-MARCORELLES Pascale pathologiques	Anatomie et cytologie
BEZON Éric cardiovasculaire	Chirurgie thoracique et
BLONDEL Marc	Biologie cellulaire
CARRE Jean-Luc	Biochimie et biologie moléculaire
COUTURAUD Francis	Pneumologie
DE PARSCAU DU PLESSIX Loïc	Pédiatrie
DELARUE Jacques	Nutrition
DEVAUCHELLE-PENSEC Valérie	Rhumatologie
DUEYMES Maryvonne	Immunologie
GIROUX-METGES Marie-Agnès	Physiologie
HU Weiguo	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
HUET Olivier	Anesthésiologie-réanimation
L'HER Erwan	Réanimation
LACUT Karine	Thérapeutique
MARIANOWSKI Rémi	Oto-rhino-laryngologie
MONTIER Tristan	Biologie cellulaire
NOUSBAUM Jean-Baptiste	Gastroentérologie
NEVEZ Gilles	Parasitologie et mycologie
PAYAN Christopher	Bactériologie-virologie
PRADIER Olivier	Cancérologie
SEIZEUR Romuald	Anatomie
STINDEL Éric	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
VALERI Antoine	Urologie

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers de 2^{ème} Classe

ABGRAL Ronan	Biophysique et médecine nucléaire
---------------------	-----------------------------------

ANSART Séverine	Maladies infectieuses
BROCHARD Sylvain	Médecine physique et réadaptation
BRONSARD Guillaume	Pédopsychiatrie
CORNEC Divi	Rhumatologie
CORNEC-LE GALL Emilie	Néphrologie
GENTRIC Jean-Christophe	Radiologie et imagerie médicale
HERY-ARNAUD Geneviève	Bactériologie-virologie
IANOTTO Jean-Christophe	Hématologie
LE GAC Gérald	Génétique
LE MARECHAL Cédric	Génétique
LE ROUX Pierre-Yves	Biophysique et médecine nucléaire
LE VEN Florent	Cardiologie
LIPPERT Éric	Hématologie
THEREAUX Jérémie	Chirurgie digestive
TROADEC Marie-Bérengère	Génétique

Maîtres de Conférences des Universités – Praticiens Hospitaliers Hors Classe

JAMIN Christophe	Immunologie
MOREL Frédéric	Biologie et médecine du développement et de la reproduction

Maîtres de Conférences des Universités – Praticiens Hospitaliers de 1^{ère} Classe

BERROUIGUET Sofian	Psychiatrie d'adultes
BRENAUT Emilie	Dermato-vénéréologie
DE VRIES Philine	Chirurgie infantile
DOUET-GUILBERT Nathalie	Génétique
GUILLOU Morgane	Addictologie
HILLION Sophie	Immunologie
LE BERRE Rozenn	Maladies infectieuses
LE GAL Solène	Parasitologie et mycologie
LODDE Brice	Médecine et santé au travail
MAGRO Elsa	Neurochirurgie

MIALON Philippe	Physiologie
PERRIN Aurore	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PLEE-GAUTIER Emmanuelle	Biochimie et biologie moléculaire
QUERELLOU Solène	Biophysique et médecine nucléaire
ROBIN Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
SCHICK Ulrike	Cancérologie
TALAGAS Matthieu	Histologie, embryologie et cytogénétique
UGUEN Arnaud	Anatomie et cytologie pathologiques
VALLET Sophie	Bactériologie-virologie

Maîtres de Conférences des Universités – Praticiens Hospitaliers de 2^{ème} Classe

ROUE Jean-Michel	Pédiatrie
SALIOU Philippe	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
TROMEUR Cécile	Pneumologie

Professeurs des Universités de Médecine Générale

LE FLOC'H Bernard
LE RESTE Jean-Yves

Maîtres de Conférences de Médecine Générale

BARAIS Marie
NABBE Patrice

Praticiens Hospitaliers Universitaires

BEAURUELLE Clémence	Bactériologie virologie
BAGACEAN Cristina	Hématologie
KERFANT Nathalie	Chirurgie plastique
ROPARS Juliette	Pédiatrie
THULLIER Philippe	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques

Professeur des Universités Associé

METGES Jean-Philippe

Cancérologie

Maître de Conférences des Universités Associé

GURIEC Nathalie

Nutrition

Professeurs des Universités Associés de Médecine Générale

BARRAINE Pierre

CHIRON Benoît

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

BEURTON-COURAUD Lucas

DERRIENNIC Jérémy

VIALA Jeanlin

Professeur des Universités

BORDRON Anne

Biologie cellulaire

Maîtres de Conférences des Universités

BERNARD Delphine

Biochimie et biologie moléculaire

BOUSSE Alexandre
signal

Génie informatique, automatique et traitement du

DANY Antoine

Epidémiologie et santé publique

LE CORNEC Anne-Hélène

Psychologie

LANCIEN Frédéric

Physiologie

LE CORRE Rozenn

Biologie cellulaire

MIGNEN Olivier

Physiologie

MORIN Vincent

Electronique et informatique

Maîtres de Conférences des Universités Contractuels LRU

GHIS MALFILATRE Marie Sociologie démographie

MERCADIE Lolita Psychologie

Attachée Temporaire d'Enseignement et de Recherche

GHANEM Rosy Biochimie et biologie moléculaire

Professeurs Certifiés / Agrégés du second degré

MONOT Alain Français

RIOU Morgan Anglais

Professeurs Agrégés du Val-de-Grâce (Ministère des Armées)

DULOU Renaud Neurochirurgie

Maîtres de Stages Universitaires - Référents (Ministère des Armées)

LE COAT Anne Médecine Générale / Urgence

SCELLOS Olivia Médecine Générale

REMERCIEMENTS

À mon président du jury et directeur de thèse, Monsieur le Professeur Olivier Huet

Merci pour votre accueil en anesthésie-réanimation et particulièrement en réanimation chirurgicale. Merci votre disponibilité, votre écoute, votre accompagnement et pour l'enseignement que vous m'avez prodigué durant l'internat. Merci d'avoir accepté de m'encadrer tout au long de ce travail de thèse et pour l'intérêt que vous portez à son sujet. Merci également d'avoir accepté de présider ce jury de thèse.

À Monsieur le Professeur Divi Cornec

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. J'espère grandement qu'il sera possible dans l'avenir de poursuivre et de développer la collaboration entre le laboratoire d'immunologie et le service de réanimation chirurgicale.

À Monsieur le Docteur Christophe Jamin

Merci d'avoir accepté de m'encadrer pendant le Master II au laboratoire d'immunologie et particulièrement pour ce travail de thèse qui n'aurait pu être réalisé sans votre aide. J'espère pouvoir continuer à travailler avec vous pour d'autres travaux de recherche.

À Madame le Docteur Véronique Vermeersch

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. J'aurai le plaisir de travailler avec toi prochainement en réanimation.

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans la disponibilité et l'accueil chaleureux que m'a témoigné le personnel du laboratoire d'immunologie et bien sûr le personnel du service de réanimation chirurgicale. Merci à tous les aides-soignants, à tous les infirmiers qui ont réalisé

les prélèvements des patients inclus dans ce travail ainsi qu'à tous les médecins de réanimation chirurgicale pour leur travail non négligeable ayant permis le bon déroulement de ce travail. Merci au Dr Xavier Chapalain de m'avoir orienté pour la réalisation de la partie statistique.

Plus généralement merci à tout le personnel de réanimation chirurgicale pour l'accueil, la sympathie et la bienveillance qu'ils ont toujours témoignée pour moi. C'est un réel plaisir de travailler avec vous tous sans exception. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté, tant sur le plan professionnel que sur le plan humain. Je suis très content de pouvoir poursuivre mon parcours dans ce service dynamique.

Merci aux équipes d'anesthésie de la Cavale Blanche, de Morvan et de Quimper de m'avoir appris cette spécialité.

Merci à l'équipe de réanimation médicale d'Angers avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

Merci également au service de réanimation d'Erasmus de m'avoir accueilli en stage et d'avoir accepté de réaliser la suite de ce travail.

Cette thèse met un terme à mes études de médecine, une étape qui fut importante tant pour mon épanouissement que par l'implication que j'ai dû y mettre. J'aimerai donc en profiter pour remercier celles et ceux qui me sont chers et qui m'ont accompagné jusqu'ici.

À ma famille,

À mes parents, merci pour tous ce que vous faites pour nous, vos enfants. Merci pour toute l'attention que vous nous avez toujours montré. Merci pour votre soutien, votre implication pour nous et votre générosité sans limite. Merci pour tous vos efforts qui ont faits que nous avons grandi dans un environnement joyeux, nous permettant de réaliser tous nos projets.

À mes sœurs Louise et Julie, merci pour votre gentillesse, votre présence et votre aide depuis toujours. Merci pour votre bonne humeur. Merci aussi de partager les mêmes références cinématographiques tant incomprises et dénigrées en dehors de notre famille, merci pour votre façon de partager les langoustines afin d'éviter une guerre en plein repas et surtout pour ne pas me les voler quand j'ai le dos tourné, merci pour notre cohésion pour que les légumes pendant les pique-niques ne deviennent pas une habitude et j'en passe.

À mes oncles et tantes, cousins et cousines bien sûr. Merci pour tous ces moments partagés avec vous. J'ai tellement de chances de vous avoir tous. J'ai aussi une énorme pensée pour mes grands-mères que j'ai eu la chance de connaître et qui nous ont tant donné. Je n'oublierai jamais votre attention et votre générosité.

À toi Iona, merci pour ta bonne humeur et ta gentillesse, ton soutien et ton oreiller. Merci d'avoir patienté que je passe ma thèse pour faire la table de l'appart'. J'ai hâte de vivre la suite à tes côtés. Moi aussi je te dois beaucoup.

Merci aussi à Joce, Ronan, Maïna, Maël et Marielle de m'avoir si gentiment accueillis parmi vous.

Merci à Guillaume, mon pote de toujours, toi avec qui j'ai fait un bon bout de chemin. Merci de m'avoir laissé gagner une ou deux fois à Athènes 2004. Ton retour au pays fait plaisir !
Leur Ar Marc'h !

Merci à tous les autres de Plougastel, on a passé tellement de bons moments ensemble. J'espère ne perdre de vue aucun de vous avec le temps.

Merci aussi aux potes de la fac, j'ai passé de belles années avec vous et ce n'est pas fini !
Vous êtes géniaux (et des animaux aussi un peu) !

Aux personnes avec qui j'ai passé et vécu mon année Erasmus. Quelle année ! J'ai tellement hâte de vous revoir.

Merci à mes co-internes, pour avoir embelli ces supers années d'internat. Merci pour les bons souvenirs que j'ai avec vous.

Enfin, merci à Patrick Balouet pour m'avoir conforté dans l'idée de faire médecine. Je n'oublierai jamais le jour où, collégien, j'ai franchi la porte de ton cabinet pour te demander comment devenir médecin. C'était le début de cette aventure. J'ai toujours pu compter sur ton soutien et tu as su trouver les mots pour m'aider.

Contenu

Introduction.....	13
Définition et diagnostic du sepsis et choc septique	13
Définition et diagnostic de la pneumopathie acquise sous ventilation mécanique.	15
Impact de la PAVM chez le patient neurolésé.	16
Description des cellules phagocytaires	17
La cytométrie en flux.....	20
Pourquoi s'intéresser à ces CD en particulier ?	25
Les FcγR : FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) et FcγRIII (CD16)	25
Les molécules d'adhésion des neutrophiles et monocytes à l'endothélium (CD11b et CD18). ...	26
Pourquoi s'intéresser aux 3 sous-groupes de monocytes dans le sepsis ?	26
Objectifs du travail.	27
Matériel et méthodes.....	27
Mesures en cytométrie en flux.	28
Prise en charge des patients	30
Sélection des données pour l'analyse.	30
Analyse statistique.	31
Résultats.	31
Analyse du polynucléaire neutrophile.....	34
CD64 (nCD64).	35
CD16 (nCD16).	38
Rapport nCD64/nCD16	40
nCD32, nCD11b et nCD18.....	42
Analyse du monocyte.	44
Les 3 sous-groupes.	44
mCD64, mCD32, mCD18 et mCD11b.....	47
La PCT et la CRP	49
Résultats par patient	50
Discussion.....	51
Conclusion	54
Bibliographie.	55

Introduction

Définition et diagnostic du sepsis et choc septique

Le sepsis est la conséquence de la dysrégulation de la réponse inflammatoire de l'organisme à une infection (bactérienne, virale, fongique ou parasitaire).

Le sepsis se présente comme un continuum entre plusieurs degrés de sévérité qui vont de l'infection (invasion des tissus par un organisme) et la bactériémie (présence de bactérie dans le sang) au sepsis et choc septique, pouvant mener au syndrome de défaillance multiviscérale (SDMV) et à la mort.

Un système complexe de cellules, récepteurs, protéines sécrétées, enzymes, et d'éléments de défense structurels comme l'épithélium et les protéines antimicrobiennes associées forment le système immunitaire dont le rôle principal est de protéger l'organisme de l'infection. Cette protection implique quatre tâches : reconnaissance des signaux de danger et du non soi, fonctions effectrices en réponse aux signaux de danger, régulation homéostatique et génération d'une mémoire immunitaire. Le système immunitaire inné et adaptatif fonctionnent en synergie pour remplir cette tâche (1). Parfois la réaction de l'hôte contre l'infection est exagérée et conduit au développement d'une dysfonction d'organes engendrant une augmentation de la morbidité et de la mortalité (2). On parle alors de sepsis. Pour intégrer ces différents éléments, en 2016 la Society of Critical Care Medicine et la European Society of Intensive Care Medicine (SCCM/ESICM) a redéfini le sepsis et le choc septique :

- Le sepsis est maintenant défini comme une dysfonction d'organe menaçant le pronostic vital et causée par une réponse inappropriée de l'hôte à une infection (il n'y a plus de distinguo sepsis/sepsis grave). La dysfonction d'organe est définie par l'augmentation du score SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) d'au moins 2 points, liée à l'infection. La mortalité hospitalière attribuée au sepsis est estimée autour de 10%.

- Le choc septique est défini comme un sous-groupe du sepsis avec des anomalies importantes circulatoires, cellulaires et métaboliques qui sont associées avec une mortalité augmentée, d'environ 40%.

En pratique, il est défini par l'association de :

- Sepsis
- Besoin de drogues vasopressives pour maintenir une PAM \geq 65 mm Hg
- Lactates $>$ 2 mmol/l malgré un remplissage adéquat

Les patients avec un sepsis suspecté ou documenté se présentent typiquement avec une hypotension, une tachycardie, une fièvre et une hyperleucocytose. Quand la sévérité augmente, les signes de choc (pâleur et froideur des extrémités, cyanose et marbrures) et les dysfonctions d'organes se développent (par exemple oligurie, insuffisance rénale aiguë et confusion) (1,2). Ces symptômes sont non spécifiques et peuvent être rencontrés dans le cadre d'une pathologie inflammatoire d'origine non infectieuse ce qui rend le diagnostic de sepsis difficile. De plus, la microbiologie à elle seule ne suffit pas à affirmer le diagnostic de sepsis puisque des germes peuvent être présents dans l'organisme sans provoquer d'infection. On parle alors de colonisation. Un faisceau d'arguments cliniques, biologiques, radiologiques, physiologiques et microbiologiques sont donc requis pour le diagnostic de sepsis et de choc septique.

Le gold standard pour le diagnostic de sepsis d'origine bactérienne reste la culture bactérienne mais cet examen présente l'inconvénient de n'être disponible qu'après plusieurs jours. L'introduction précoce d'un traitement antibiotique améliore le pronostic et est donc faite avant les résultats microbiologiques (3,4). Sans la preuve microbiologique, le diagnostic est fait dans un premier temps de manière probabiliste puis enfin de manière rétrospective une fois les résultats bactériologiques obtenus. Une amélioration de l'état d'un patient après la mise en place d'une antibiothérapie est également un argument fort pour le diagnostic de sepsis. Enfin, l'identification de l'organisme bien que préférée n'est pas tout le temps possible car certains patients ont déjà reçu des antibiotiques avant que les prélèvements microbiologiques soient prélevés.

Devant ces difficultés, un biomarqueur diagnostique d'infection serait donc d'une immense utilité car permettrait un diagnostic plus précoce, donc un traitement précoce et donc une amélioration du pronostic du patient. Les biomarqueurs qui ont été les plus étudiés et les plus

utilisés à ce jour sont la C-reactive proteine (CRP) et la Procalcitonine (PCT). Ce sont des protéines de la phase aiguë de l'inflammation produites par le foie en réponse à une infection. Malheureusement, elles sont aussi produites lors de lésions tissulaires d'origine non infectieuse (traumatisme, post opératoire, ...) ce qui les rend moins spécifiques d'une infection. Leur cinétique présente des différences : la CRP peut être détectée dans le sang 4-6 h après la stimulation, atteint un pic en 36-48 h et a une demi-vie d'environ 19 h ; la PCT est détectée et culmine plus tôt (respectivement, 2 h et 12-24 h après la stimulation) et a une demi-vie un peu plus longue (24 h). La PCT a comme avantage de moins s'élever dans les infections virales et en postopératoire que dans les infections bactériennes alors que la CRP présente une mauvaise spécificité. En plus d'être plus spécifique, la PCT a une meilleure valeur pronostique. Cependant ses valeurs ne sont pas assez bonnes pour en faire un marqueur fiable (5,6).

Définition et diagnostic de la pneumopathie acquise sous ventilation mécanique.

La pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) est un type de pneumonie nosocomiale qui se développe après 48h de ventilation mécanique. Elle est très fréquente en réanimation et est associée à une mortalité accrue. Son diagnostic précoce est important pour que l'initiation d'un traitement antibiotique se fasse le plus tôt possible. Cependant, il faut veiller à éviter une sur prescription d'antibiotiques car génératrice d'antibiorésistance représentant un danger à la fois individuel et collectif en constante augmentation.

Les signes permettant le diagnostic de PAVM sont aussi non spécifiques : apparition ou évolution d'un infiltrat pulmonaire à l'imagerie pulmonaire et de signes cliniques et biologiques : fièvre, sécrétions purulentes, hyperleucocytose, augmentation de la fréquence respiratoire, diminution du volume courant, augmentation de la ventilation minute et aggravation de l'oxygénation (7). Le diagnostic est donc là encore basé sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques, et biologiques le plus souvent incomplet.

Les experts s'accordent sur le fait que chez les patients suspects de PAVM, un prélèvement pulmonaire à visée bactériologique et des hémocultures doivent être envoyés avant que le patient ne reçoive son traitement antibiotique afin d'étayer le diagnostic à posteriori. En revanche, les experts sont en désaccord concernant la stratégie de prélèvement des

échantillons pulmonaires et si oui ou non les cultures devraient être quantitatives. Il existe une stratégie invasive (lavage broncho-alvéolaire (LBA), mini-LBA, prélèvement distal protégé) permettant des cultures quantitatives et une meilleure performance diagnostique et donc une réduction de l'exposition aux antibiotiques. A l'opposé, il existe une stratégie non invasive (aspiration endotrachéale) permettant des cultures semi-quantitatives qui surdiagnostique les PAVMs, et donc potentiellement implique une surutilisation des antibiotiques. Cependant, il n'y a pas de différence en termes de mortalité ou durée de séjour entre les deux approches (8) et les deux stratégies sont donc acceptables.

Devant ces difficultés, un score, le Clinical Pulmonary Infection Score (CPIS) qui combine des résultats radiographiques, physiologiques et microbiologiques a été développé. L'étude de validation initiale a montré qu'un score élevé était corrélé avec la présence de PAVM (9) mais les études ultérieures ne l'ont pas confirmé. Dans une cohorte prospective, le CPIS permettait d'identifier la PAVM avec une sensibilité et une spécificité de seulement 60 et 59% respectivement (10).

La PCT a beaucoup été étudiée dans le cas de la PAVM. Les résultats concernant son rôle dans le diagnostic de PAVM sont contradictoires et elle n'est donc pas utilisée de manière systématique (11,12). En revanche, la PCT peut servir à décider d'arrêter un traitement antibiotique (13) et aurait aussi une valeur pronostique (14–16). Aucun autre biomarqueur n'a de rôle important dans le diagnostic et la prise en charge de la PAVM (17).

In fine, le diagnostic de PAVM est difficile et ne peut donc pas être confirmé ou exclu jusqu'à ce que les résultats des cultures soient disponibles (généralement 2-3 jours). A ce moment, une réévaluation du diagnostic et du traitement doit être faite. Ce délai serait écourté si un biomarqueur diagnostique d'infection fiable était disponible.

Impact de la PAVM chez le patient neurolésé.

La PAVM a un impact majeur sur la morbi-mortalité des patients comateux. Les patients traumatisés crâniens sévères (donc comateux par définition) et les patients présentant une hémorragie méningée avec coma développent souvent une infection dans les premiers jours de leur hospitalisation, particulièrement respiratoire. Ceci est décrit dans la littérature sous le

nom de « early-onset ventilator acquired pneumonia » (EO-VAP) ou PAVM précoce(18). L'EO-VAP a une incidence chez ces patients qui varie de 20 à 60% selon les études (19) et a un impact important sur leur morbi-mortalité (20) notamment en induisant des troubles de l'hématose qui sont nocifs dans ce contexte de souffrance cérébrale. Les raisons de l'incidence élevée sont multiples : inhalation (massive avant la sécurisation des voies aériennes par l'intubation ou minime par fuite des sécrétions subglottiques sous le ballonnet de la sonde d'intubation), et probablement une immunosuppression présente chez le neurolésé (21). Il a été démontré qu'une antibioprophylaxie chez les patients comateux réduit l'incidence d'EO-VAP mais des études de plus grande ampleur sont nécessaires pour que cette pratique soit validée (18).

Description des cellules phagocytaires

Les cellules phagocytaires que nous allons étudier, incluent les polynucléaires neutrophiles et les monocytes/macrophages. Ce sont des cellules pour lesquelles la fonction principale est d'ingérer et de détruire les microbes (phagocytose) et de nettoyer les tissus lésés. Leurs morphologies et fonctions sont résumées dans le Tableau 1 (22).

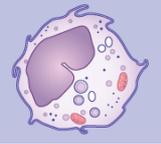
Cellule myéloïde	Localisation tissulaire	Identification	Fonction
Monocyte 	Sang	Noyau en fer à cheval ; Expression de la molécule CD14.	Phagocytose ; Se différencient en macrophages tissulaires
Macrophage 	Tissus	Petits prolongements membranaires ; vacuoles et vésicules cytoplasmique ; Expression de la molécule CD14.	Phagocytose ; Sécrétion de cytokines
PNN 	Sang	Noyau multi lobulé ; petits granules roses-mauves ; Expression de la molécule CD16.	Phagocytose et activation de mécanismes bactéricides

Tableau 1. Morphologies et fonctions des phagocytes.

La réponse des PNNs est plus rapide et la durée de vie de ces cellules est courte alors que les monocytes et les macrophages vivent plus longtemps et leur réponse est plus durable (23). Les autres différences entre ces cellules sont résumées dans le Tableau 2 (24).

	Polynucléaires neutrophiles	Macrophages
Origine	Cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse	Cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse (macrophage des réactions inflammatoires) et cellule-souche du sac vitellin ou du foie fœtal (macrophage résidants dans les tissus)
Durée de vie dans les tissus	1 à 2 jours	Macrophage inflammatoire: Jours ou semaines Macrophage résident dans les tissus: Années
Réponse aux stimuli	Rapide, de courte durée, activité enzymatique.	Plus lente, prolongée, souvent dépendant de nouvelles transcriptions de gènes
Dégranulation	Réponse majeure, induite par réarrangement du cytosquelette	Mineure
Production de cytokines	Faible	Majeure, après transcription génique
Formation NET	Rapidement induite (contenu nucléaire)	Non
Sécrétion d'enzymes lysosomales	Majeure	Mineure

Tableau 2. Différentes caractéristiques des polynucléaires neutrophiles et macrophages.

Les monocytes sont hétérogènes et sont classés en plusieurs catégories. Ils ont une morphologie semblable mais sont différenciables par les marqueurs à la surface de la cellule

(clusters of differentiation - CD) et par leur fonction. Les monocytes les plus nombreux sont appelés les monocytes classiques ou inflammatoires. Ils produisent des médiateurs inflammatoires, phagocytent et sont rapidement recrutés au site de l'infection ou de la lésion tissulaire. Cette catégorie de monocytes exprime fortement CD14 (CD14 high), n'exprime pas CD16 et exprime le récepteur de chimiokines CCR2. La 2^e catégorie comprend les monocytes dits non classiques. Ils sont recrutés au niveau des tissus après l'infection ou la lésion tissulaire et participent à la réparation tissulaire. Ils expriment faiblement CD14 mais expriment fortement CD16 et les récepteurs aux chimiokines CXCR3 et CXCR1. Il existe également des monocytes intermédiaires CD14⁺ et CD16⁺ (25).

Les macrophages ont plusieurs fonctions (26) :

- ils phagocytent les agents infectieux
- ils phagocytent les débris cellulaires après la nécrose et l'apoptose de ces dernières.
- ils sécrètent différentes cytokines qui agissent sur l'endothélium pour favoriser le recrutement des monocytes et autres leucocytes au niveau du site de l'infection.
- ils font partie des cellules présentatrices d'antigène.
- ils favorisent la réparation des lésions tissulaires en stimulant l'angiogenèse et la synthèse de matrice extracellulaire.

Là encore il existe plusieurs catégories de macrophages :

- les M1 : ils tuent les agents pathogènes.
- les M2 : ils sont impliqués dans le remodelage et la réparation tissulaire.

La cytométrie en flux.

Les données que nous allons analyser au cours de cette étude sont issues de l'analyse par cytométrie en flux. Voici une brève description de son fonctionnement (24,27–31).

La lignée tissulaire, le niveau de maturation et le statut (actif/repos) d'une cellule peuvent être déterminés en analysant l'expression de différentes molécules de surface ou intracellulaires par cytométrie en flux. Cela est réalisé en marquant une cellule avec un anticorps monoclonal conjugué à une sonde fluorescente. L'anticorps reconnaît spécifiquement une molécule donnée. Le cytomètre en flux est un instrument qui permet de détecter la fluorescence émise

par le fluorochrome associé à l'anticorps fixé sur la cellule individuelle en suspension et donc permet de déterminer le nombre de cellules exprimant la molécule ciblée et l'intensité de l'expression. La valeur est exprimée en IMF (intensité moyenne de fluorescence) ou MFI en anglais. Généralement, les cellules en suspension sont incubées avec plusieurs anticorps monoclonaux conjugués à des sondes fluorescentes différentes et la quantité de fluorochrome lié à chaque cellule est mesurée grâce au passage des cellules une par une devant un rayon laser. La quantité relative des molécules sur les différentes cellules peut être déterminée en associant chaque population de cellules avec la même sonde et sa fluorescence émise. Alternativement, des molécules intracytoplasmiques peuvent être marquées par des anticorps fluorescents ou tout autre type de sonde. Les appareils de cytométrie en flux modernes peuvent détecter plusieurs sondes en même temps. Cela permet une analyse simultanée de l'expression de plusieurs combinaisons différentes de molécules par cellule. La cytométrie en flux permet également d'analyser la taille et la granularité de chaque cellule (Figure 1).

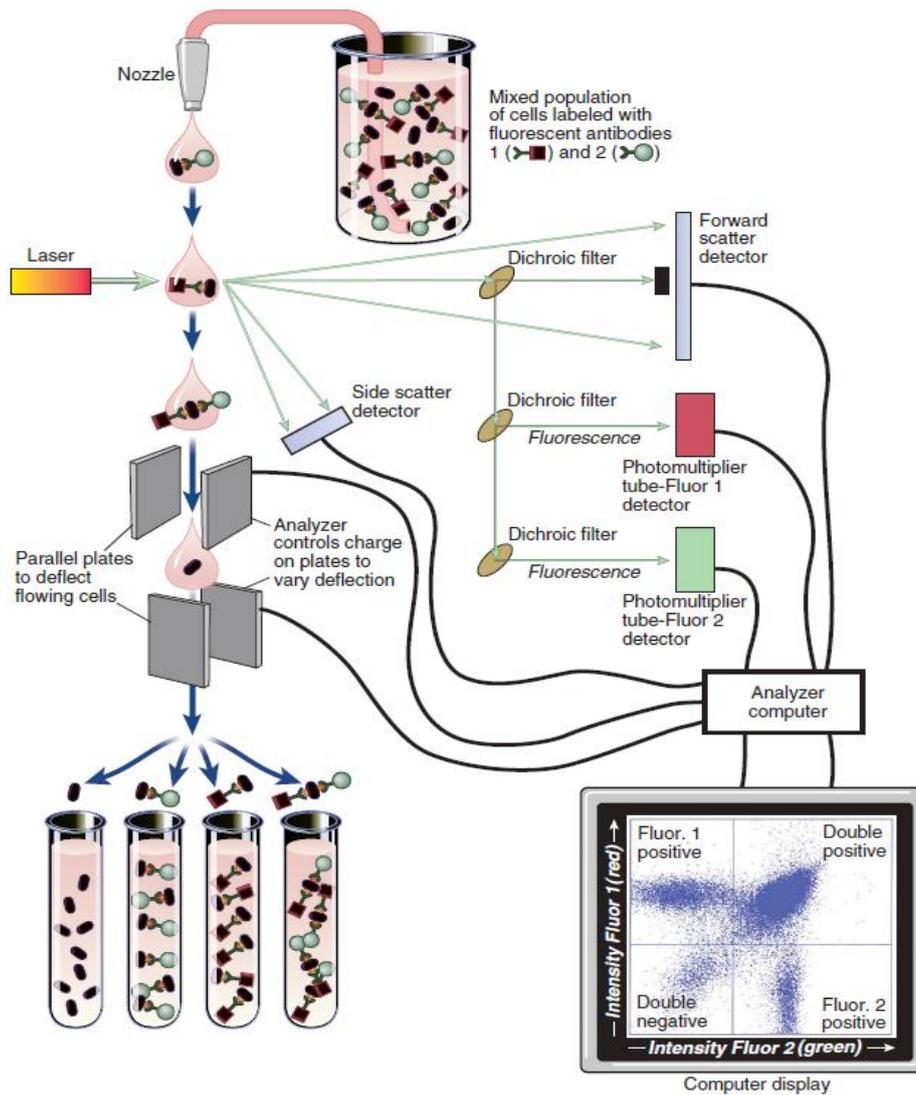


Figure 1. Principe de la cytométrie en flux et du tri cellulaire.

Le rayon laser incident est d'une longueur d'onde choisie et la lumière qui émerge de l'échantillon est analysée par un forward scatter (pour caractériser la taille), un side scatter (pour caractériser la granularité). La lumière fluorescente de deux ou plusieurs longueurs d'ondes (suivant les fluorochromes attachés aux anticorps) est également analysée. Sur l'exemple de la figure 2, la séparation des cellules est basée sur l'expression de 2 marqueurs antigéniques. Certaines cellules n'expriment qu'un seul des deux marqueurs (simple positive), d'autres expriment les deux (double positive), d'autres n'en expriment aucun (double négative).

Pour classer les cellules du système immunitaire, on utilise l'expression des glycoprotéines membranaires classées selon une nomenclature internationale appelée les clusters de différenciation (CD). Cela permet un immunophénotypage des cellules. Le Tableau 3 résume les CD dont l'intensité de l'expression sera étudiée pendant ce travail.

Numéro du CD	Principale(s) cellules exprimant le CD	Fonction connue
CD11b	Granulocytes, monocytes, macrophages, cellules dendritiques, Lymphocytes NK	Phagocytose des particules liées à iC3b ; adhésion des neutrophiles et monocytes à l'endothélium (par CD54) et aux protéines de la matrice extra-cellulaire.
CD14	Cellules dendritiques, monocytes, macrophages et granulocytes.	Lie le LPS et le présente à TLR4 ; nécessaire pour l'activation macrophagique par LPS
CD16	PNN, NK, macrophages	Récepteur de la région Fc des IgG (FcγRIII)
CD18	Leucocytes	Idem CD11
CD32	Lymphocytes B, macrophages, cellules dendritiques et granulocytes	Récepteur de la partie Fc des IgG (FcγRII) ; agit comme récepteur inhibiteur qui bloque le signal d'activation dans les lymphocytes B et autres cellules
CD64	Monocytes, macrophages, neutrophiles activés	Forte de affinité pour le Fc des IgG (FcγRI) ; rôle dans la phagocytose ; activation macrophagique

Tableau 3. Les Clusters de Différenciation (24)

Ainsi, les données de cytométrie en flux permettront d'identifier et de classer les cellules phagocytaires. D'un côté, les trois sous-populations de monocytes : classique CD14⁺ CD16⁻, intermédiaire CD14⁺ CD16⁺ et non classique CD14^{low} CD16⁺ (Figure 3). De l'autre, les PNNs CD16⁺⁺ qui se distinguent des autres cellules par leur taille et structure (Figure 2).

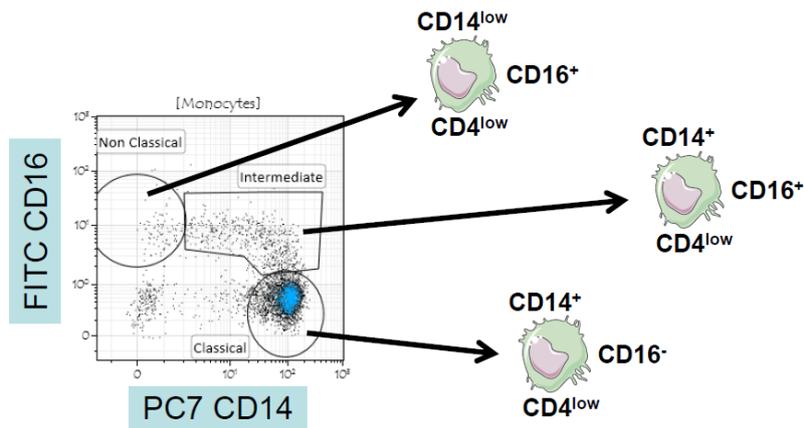


Figure 2 : Analyse par cytométrie en flux des monocytes du sang périphérique.

Au sein de ces monocytes, la combinaison de la fluorescence émise par l'anticorps monoclonal anti-CD16 conjugué au fluorochrome FITC avec la fluorescence émise par l'anticorps monoclonal anti-CD14 conjugué au fluorochrome PC7 permet d'identifier les trois sous-populations de monocytes

Une fois ces cellules classées on peut également quantifier l'intensité de fluorescence de chaque CD pour chaque cellule. Comme dit précédemment, une façon de quantifier l'expression d'un CD sur un type cellulaire est de calculer la moyenne ou la médiane de l'intensité de fluorescence (intensité moyenne de fluorescence (IMF)). Par exemple si un patient 1 a une IMF de CD64 pour le PNN de 3 et un patient 2 de 5, alors le patient 2 exprime en moyenne plus le CD64 à la surface de ses PNN que le patient 1.

Ainsi, dans notre cas les données de cytométrie en flux permettront d'identifier et de classer les monocytes en leurs 3 sous-groupes (classiques, intermédiaires et non classiques) (Figure 3) et d'avoir les IMFs, pour les PNNs et les monocytes, des CD11b, CD18, CD16, CD64 et CD32 (tableau 3).

Pourquoi s'intéresser à ces CD en particulier ?

Les FcγR : FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) et FcγRIII (CD16)

Les FcγR (figure 3) sont les récepteurs présents sur les cellules phagocytaires (entre autres) qui fixent les immunoglobulines par leur partie constante (Fc).

Il en existe 3 types : le FcγRI (CD64) et le FcγRII (CD32) impliqués dans la phagocytose et l'activation cellulaire et le FcγRIII (CD16) qui intervient dans la cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC).

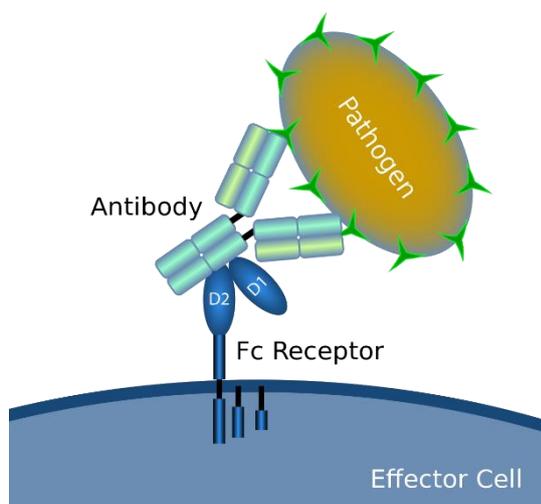


Figure 3 : Les FcγR.

La mesure de l'expression du FcγRI (CD64) sur le PNN (nCD64) a été d'un intérêt particulier car il y a une régulation positive significative de son expression dans les heures qui suivent une infection (32).

Ces dernières années, plusieurs études sur l'expression du nCD64 chez les patients pris en charge en réanimation ont montrées des résultats encourageant mais elles incluent peu de patients et leur design et qualité méthodologique varient (32).

Dans une étude prospective, Dimoula et al. ont mesuré l'expression du nCD64 chez les patients admis en réanimation pour une suspicion de sepsis et ont montré que le nCD64 avait comme biomarqueur diagnostique d'infection une sensibilité de 89% et une spécificité de 87% (33).

Chieh-Liang et al. ont étudiés simultanément les 3 récepteurs chez des patients de réanimation sous ventilation mécanique (34). Le CD64 montrait une régulation positive, le

CD16 une régulation négative et le CD32 avait une expression inchangée. Pour le diagnostic de sepsis, le CD64 avait une sensibilité et une spécificité de 89 et 96% respectivement et le ratio CD64/CD16 de 85 et 81% respectivement. Ces valeurs étaient meilleures que celles de la PCT. De plus, elles augmentaient selon la sévérité du sepsis et la mortalité.

Les molécules d'adhésion des neutrophiles et monocytes à l'endothélium (CD11b et CD18).

Ces molécules participent à l'adhésion des neutrophiles et monocytes à l'endothélium (par CD54) et aux protéines de la matrice extra-cellulaire.

Le CD11b a été étudié conjointement au CD64 par Jämsä et al. (35) chez des patients de réanimation présentant une inflammation post circulation extra-corporelle, des patients en sepsis et des patients ne présentant pas d'inflammation. Les patients septiques avaient un nCD64 significativement plus élevé que les deux autres groupes. L'expression du CD64 sur les monocytes (mCD64) était elle aussi plus élevée sans que cela ne soit significatif. De plus l'expression du CD11b sur le PNN et le monocyte (nCD11b et mCD11b) était significativement plus élevée chez les patients septiques comparé aux deux autres groupes. Parmi ces marqueurs, l'aire sous la courbe était plus élevée pour le nCD64.

Aucune étude n'étudie l'expression du CD18 sur les PNNs et les monocytes dans le sepsis.

Pourquoi s'intéresser aux 3 sous-groupes de monocytes dans le sepsis ?

Les monocytes et les macrophages ont un rôle central dans l'immunomodulation durant le sepsis. Ils jouent un rôle par leur phagocytose, et donc dans l'éradication des pathogènes, la présentation antigénique, l'activation / l'inhibition des lymphocytes et la production des cytokines et chimiokines. Les monocytes classiques (90% chez un patient sain) ont un phénotype pro-inflammatoire et les non classiques (10%) anti-inflammatoire (36).

Ferreira da Mota et al. ont étudié ces différents sous-groupes de monocytes chez des patients admis en réanimation pour sepsis et ont montré que l'expression du CD16 sur les monocytes était plus élevée en cas de sepsis montrant un shift des monocytes classiques vers les non classiques (37). Dans cette étude également, le mCD64 était significativement plus élevé chez les patients septiques.

Objectifs du travail.

L'objectif de ce travail est donc d'étudier l'évolution de l'expression du CD64, CD16, CD32, CD11b et CD18 et de la répartition des 3 différents types de monocytes (classiques, intermédiaires et non classiques) lors du développement d'une EO-VAP chez des patients traumatisés crâniens graves ou atteints d'un hémorragie méningée sévère afin de déterminer s'ils pourraient avoir un rôle comme biomarqueurs diagnostiques de PAVM. Ceci permettrait un diagnostic d'EO-VAP, et donc un traitement, plus précoce afin d'améliorer la morbi-mortalité de ces patients.

Matériel et méthodes.

Cette étude rétrospective a été conduite au CHU de Brest, dans le service de réanimation chirurgicale.

Les patients âgés de 18 ans ou plus admis en réanimation chirurgicale au CHU de Brest d'août 2019 à Janvier 2020, présentant un traumatisme crânien (TC) isolé ou une hémorragie sous-arachnoïdienne isolée et un score de Glasgow (GCS) inférieur ou égal à 8 étaient inclus. Les patients avec un score Abbreviated Injury Score (AIS) ≥ 2 de n'importe quelle région et/ou une néoplasie (dont hématologique) étaient exclus.

Pour ces patients, les données de la numération de la formule sanguine (NFS), la procalcitonine (PCT), la C-réactive protéine (CRP) et les données de cytométrie en flux permettant d'identifier et de classer les monocytes en leurs 3 sous-groupes (classiques, intermédiaires et non classiques) et d'avoir les IMFs, pour les PNNs et les monocytes, des CD11b, CD18, CD16, CD64 et CD32 étaient disponibles à partir des prélèvements sanguins quotidiens des cinq premiers jours d'hospitalisation en réanimation. Les prélèvements bactériologiques (qui étaient prélevés à la discrétion du médecin en charge) étaient aussi disponibles.

Les patients étaient classés en 2 groupes distinguant les patients présentant une EO-VAP de ceux n'en présentant pas.

Les données démographiques, cliniques, biologiques et bactériologiques étaient recueillies pour les 5 premiers jours en réanimation.

Le critère principal était de déterminer la valeur diagnostique du nCD64 comme biomarqueur diagnostique d'EO-VAP.

Les critères secondaires étaient d'étudier l'évolution des monocytes selon leurs 3 sous-groupes (classiques, intermédiaires et non classiques) et des IMFs, pour les PNNs et les monocytes, des CD11b, CD18, CD16, CD64 et CD32 pendant les cinq premiers jours d'hospitalisation en réanimation selon les deux groupes de patients (infectés vs. non infectés).

Mesures en cytométrie en flux.

100 µL de sang étaient mélangés (vortex) à un mixte d'Ac (Beckman Coulter) :

- 1 µL d'anticorps anti-CD18 combinés au fluorochrome FITC
- 1 µL d'anticorps anti-CD16 combinés au fluorochrome APC
- 1 µL d'anticorps anti-CD11b combinés au fluorochrome AF750
- 2 µL d'anticorps anti-CD14 combinés au fluorochrome PC7
- 2 µL d'anticorps anti-CD15 combinés au fluorochrome PB
- 2 µL d'anticorps anti-CD32 combinés au fluorochrome KrO
- 5 µL d'anticorps anti-CD64 combinés au fluorochrome PE

Après 15 minutes les cellules étaient lysées puis les échantillons étaient analysés par un cytomètre Navios (Beckman Coulter).

Une calibration quotidienne était réalisée en utilisant des billes de calibration. Les données étaient analysées en aveugle, sans avoir reçus d'informations concernant les patients.

Le gating des cellules est détaillé sur la figure 4.

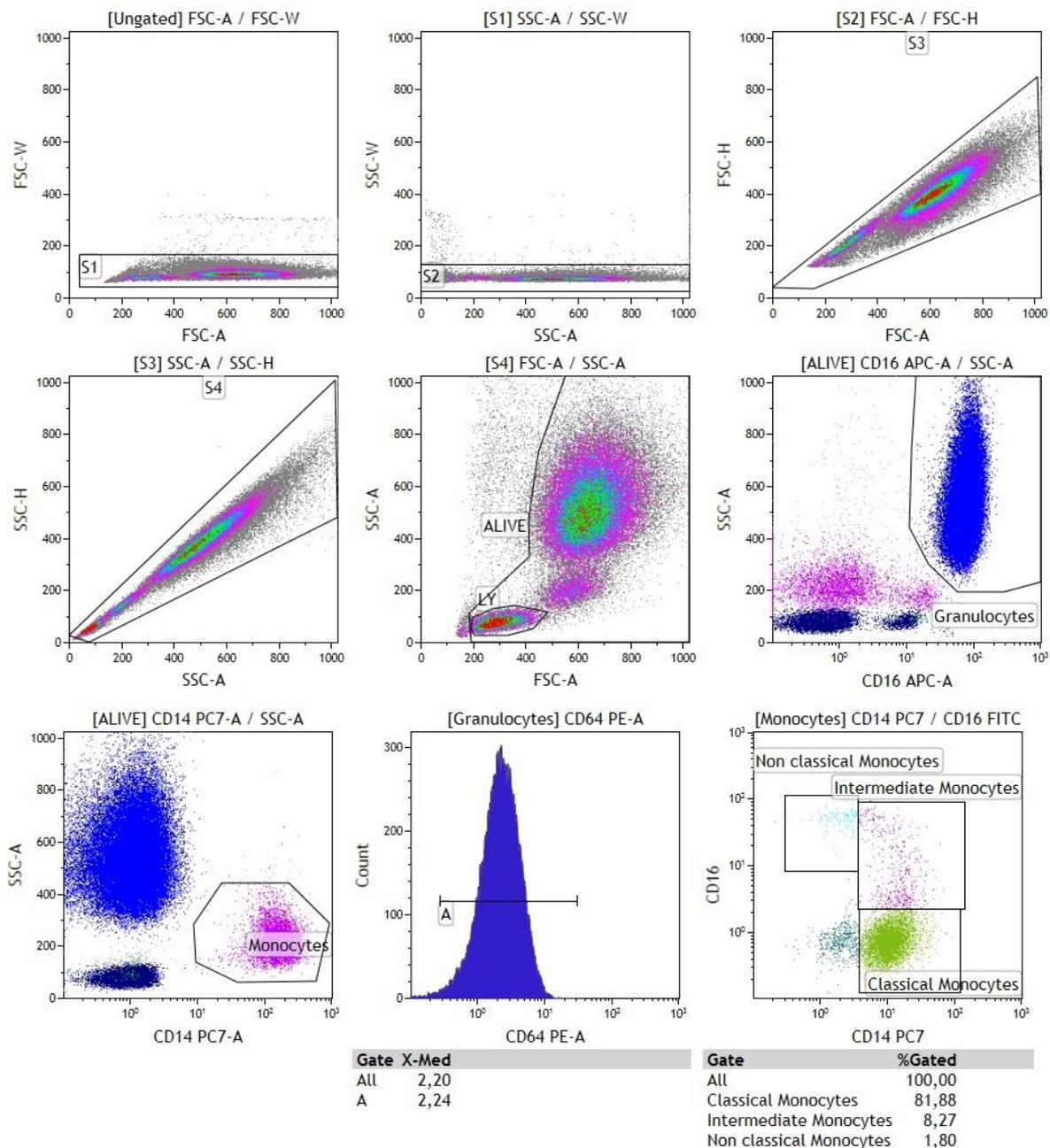


Figure 4. Le gating était réalisé par le logiciel KALUZA. Les cellules vivantes « ALIVE » sont isolées en utilisant la taille et structure (FSC-A et SSC-A). Les granulocytes sont isolés en utilisant le CD16 et la taille (CD16 APC-A et SSC-A) et les monocytes en utilisant le CD14 et la taille (CD14 PC7-A et SSC-A) sur la gate « ALIVE ». Par la suite l'IMF pour les CD14, CD16, CD32, CD64, CD11b et CD18 est mesurée pour la gate monocyte et granulocyte (seul le CD64 sur les granulocytes est représenté ici). Enfin, les monocytes sont répartis en leur 3 sous-groupes en utilisant le CD14 et CD16. Abréviations : IMF, intensité moyenne de fluorescence.

Prise en charge des patients

En réanimation chirurgicale à Brest, les médecins n'utilisent pas de score CPIS. Les prélèvements bactériologiques, les radiographies pulmonaires et la mise en place d'un traitement antibiotique se fait à la discrétion du médecin selon le degré de suspicion d'EO-VAP. Aucun prélèvement systématique n'est réalisé notamment pour étudier la colonisation respiratoire.

Pour cette étude, étant donné que les prélèvements bactériologiques ne sont réalisés qu'en cas de suspicion d'infection, chaque patient avec un prélèvement bactériologique pulmonaire positif et étant mis sous traitement antibiotique dans les 5 premiers jours était considéré comme ayant une EO-VAP. Le médecin établissant le diagnostic et démarré le traitement antibiotique ne connaissait pas les résultats des analyses par cytométrie en flux. En revanche ils connaissaient les résultats de la NFS, CRP et PCT et autres examens habituels.

Sélection des données pour l'analyse.

Les patients étaient classés en 2 groupes : un groupe de patients présentant une EO-VAP et un groupe de patients n'en présentant pas.

Les données concernant les patients recevant des antibiotiques à J0 ou J1 étaient retirées. En effet beaucoup de ces patients sont traités de manière probabiliste et reçoivent la première dose d'antibiotique avant les prélèvements bactériologiques et donc il est très difficile de savoir si ces patients sont réellement infectés. De plus ils reçoivent les antibiotiques avant que l'infection ne se développe réellement et ont donc un faible niveau d'inflammation. Or on cherche ici à montrer une différence de valeur des biomarqueurs d'inflammation des patients infectés vs. non infectés.

En revanche, les patients avec des prélèvements positifs à J0 et J1 mais traités à partir de J2 étaient retenus dans l'analyse.

De plus les données issues des patients traités par antibiotiques depuis plus de 24h étaient elles aussi retirées. En effet, si l'antibiotique est efficace pour traiter l'infection, on s'attend à ce que l'inflammation baisse après la mise en place du traitement et donc les biomarqueurs de l'inflammation aussi.

Analyse statistique.

Les variables continues sont présentées par leur moyenne et écart-types et les variables catégorielles par nombre et pourcentage. Les groupes étaient comparés par test χ^2 , test exacte de Fisher ou test de Wilcoxon/Mann-Whitney U selon la variable comparée. Pour tous les tests, une valeur de $p < .05$ était considérée comme statistiquement significative.

Pour l'analyse des biomarqueurs, le package "cutpointr" était utilisé pour identifier les seuils, construire les courbes ROC permettant de visualiser toutes les valeurs seuils de sensibilité et spécificité, pour calculer la sensibilité (Se), la spécificité (Sp), la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN).

Pour l'analyse longitudinale avec les mesures répétées, une analyse de variance (ANOVA) était faite.

Les courbes d'incidence cumulative pour chaque groupe (infecté vs. non infecté) étaient construites et également comparées par test de log-rank.

Résultats.

D'août 2019 à Janvier 2020, 18 patients ont été inclus dans cette étude mais seulement 12 ont été retenus car 2 patients du groupe non infecté et 4 patients du groupe infecté ont reçu un traitement antibiotique à J0 ou J1 (figure 5).

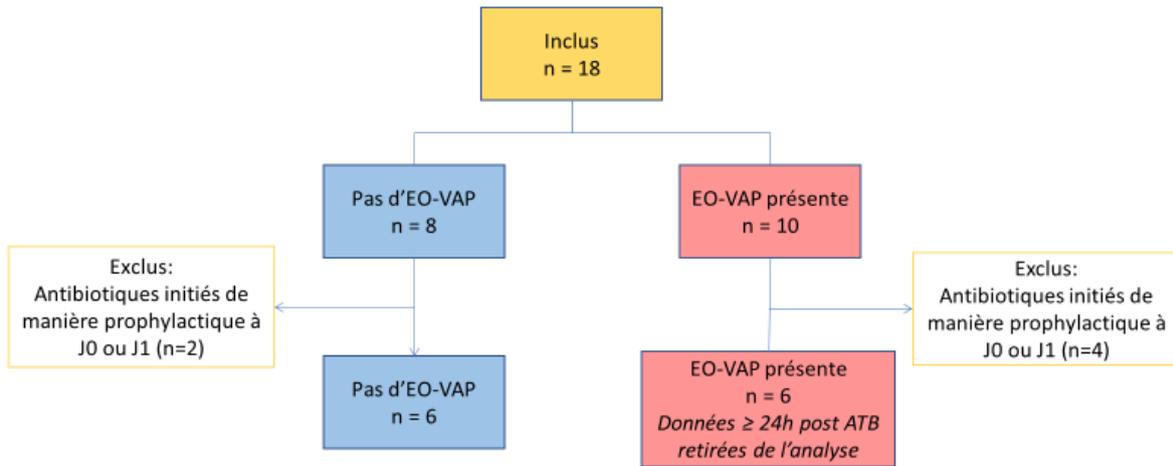


Figure 5. Diagramme de flux. Le nombre de patients avec des données de cytométrie disponibles est indiqué. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia.

La population était composée de 58% de femmes et 42% d'hommes. La moyenne d'âge était de 58 ans. Aucun n'avait reçu d'antibiotique ou de traitement immunosuppresseur dans la semaine précédant l'hospitalisation. 8 patients étaient admis pour traumatisme crânien grave et 4 pour hémorragie sous-arachnoïdienne. Parmi les 12 patients, 50% ont développé une EO-VAP dans les 5 premiers jours de la prise en charge. Le tableau 4 décrit les données démographiques par groupe.

Variable	Pas d'EO-VAP (n=6)	EO-VAP (n=6)	p-value
Age (moyenne (DS))	65.8 (12.9)	49.5 (22.1)	0.149
Homme (%)	0 (0.0)	5 (83)	0.019
≥ 1 comorbidité (%)	1 (16.7)	2 (33.3)	1.000
Corticoïdes dans les 7 jours précédents l'admission (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
Antibiotiques dans les 7 jours précédents l'admission (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
Diagnostic à l'entrée (%)			
HSA	4 (66.7)	0 (0.0)	0.06
TC	2 (33.3)	6 (100.0)	
Contrôle ciblé de la température (%)	0 (0.0)	3 (50.0)	0.182
Utilisation de barbituriques (%)	0 (0.0)	1 (16.7)	1.000
Craniectomie décompressive (%)	0 (0.0)	2 (33.3)	0.439

Tableau 4. Caractéristiques des patients développant ou non une EO-VAP. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; HAS, Hémorragie sous-arachnoïdienne ; TC, traumatisme crânien.

En utilisant les résultats de la cytométrie en flux, les données pour les différents clusters de différenciation sont disponibles pour 94% des jours, tous patients confondus.

En utilisant les résultats de la NFS, des données sont disponibles pour 96% des jours, tous patients confondus.

Analyse du polynucléaire neutrophile.

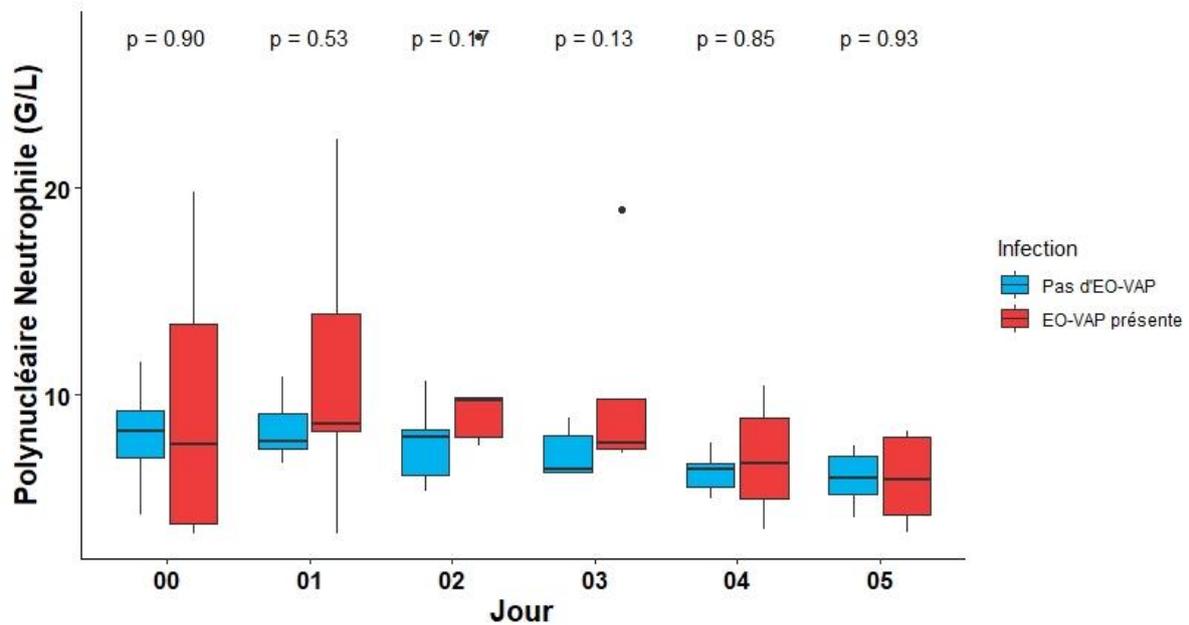


Figure 6. Boîtes à moustache représentant le nombre de polynucléaire neutrophile selon les 2 groupes : présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia.

Il n'y a pas de différence significative entre les 2 groupes sur le nombre de polynucléaires neutrophiles de J0 à J5 (Figure 6).

CD64 (nCD64).

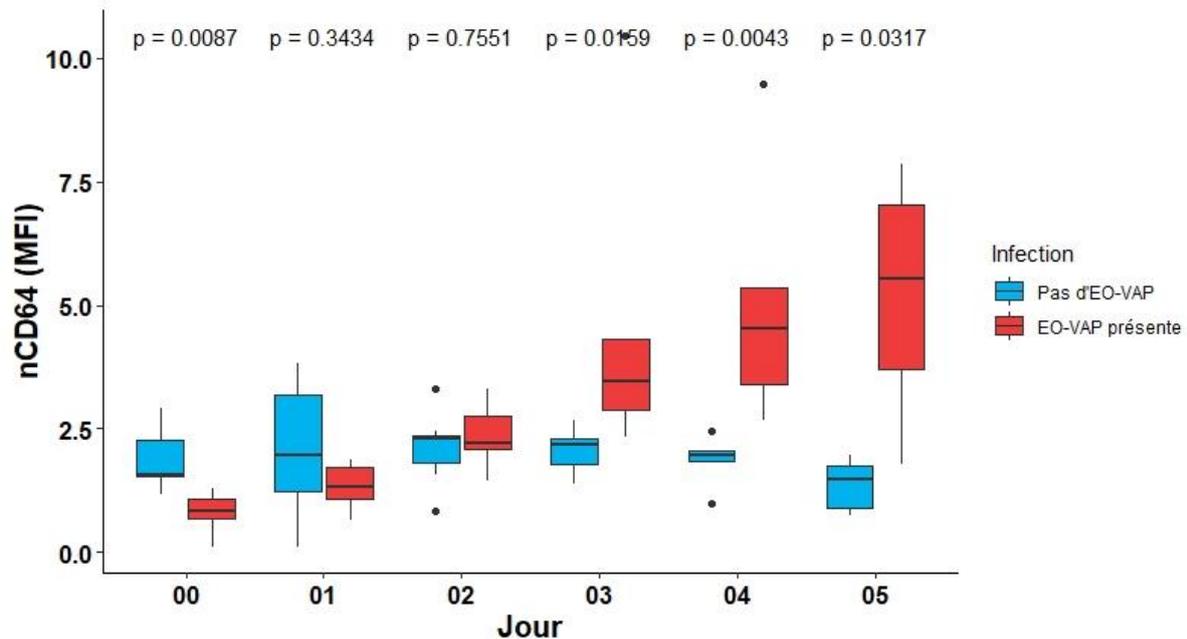


Figure 7. Boîtes à moustache représentant l'IMF du nCD64 selon les 2 groupes : présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de Wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; IMF, intensité moyenne de fluorescence ; nCD64, expression du CD64 sur le polynucléaire neutrophile.

De J3 à J5, les patients présentant une EO-VAP ont une valeur de nCD64 significativement plus élevée ($p = 0.0159$, $p = 0.0043$ et $p = 0.0317$ à J3, J4 et J5 respectivement) (Figure 7).

En modélisant les résultats avec un modèle ANOVA à mesure répétées, en mettant la variable Jour (J0-J5) et Infection (EO-VAP présente ou non) comme effet fixe et Nom (Patients) comme effet aléatoire, l'expression de nCD64 est significativement différente selon les 2 groupes ($p = 0.045$).

Le seuil optimal pour discriminer les patients avec et sans EO-VAP à partir du 3^{ème} jour par l'IMF du nCD64 est de 2.33 (Se = 0.93 et Sp = 0.86) (tableau 5). En construisant la fonction d'efficacité du récepteur (= courbe ROC (*receiver operating characteristic*)), l'aire sous la courbe (ASC) est de 0.94 (figure 8). Les données jour par jour sont renseignées dans le tableau 5.

Marqueur	Jour	Seuil	Se	Sp	Se + Sp	Précision	ASC
CD64							
	Jour 0 seulement	> 1.53 IMF	0.83	1	1.83	0.91	0.97
	Jour 1 seulement	> 1.97 IMF	0.57	1	1.57	0.75	0.69
	Jour 2 seulement	> 2.29 IMF	0.57	0.6	1.17	0.58	0.43
	Jours 3-5 inclus	> 2.33 IMF	0.93	0.86	1.8	0.90	0.94
	Jour 3 seulement	> 2.60 IMF	0.8	0.8	1.6	0.80	0.96
	Jour 4 seulement	> 2.66 IMF	1	1	2	1	1
	Jour 5 seulement	> 1.77 IMF	1	0.8	1.8	0.89	0.95
CD16							
	Jour 0 seulement	> 68.52 IMF	0.6	0.5	1.1	0.55	0.4
	Jours 1-5 inclus	> 67.7 IMF	0.87	0.88	1.74	0.87	0.91
	Jour 1 seulement	> 76.81 IMF	0.86	1.0	1.86	0.92	0.89
	Jour 2 seulement	> 68.31 IMF	0.86	1	1.86	0.92	0.92
	Jour 3 seulement	> 61.55 IMF	1	1	2	1	1
	Jour 4 seulement	> 67.7 IMF	1	0.8	1.8	0.91	0.83
	Jour 5 seulement	> 83.19 IMF	0.8	1.0	1.8	0.89	0.95
CD64/(CD16/100)							
	Jour 0 seulement	> 2.04 IMF	0.83	0.8	1.63	0.82	0.77
	Jour 1 seulement	> 3.44 IMF	0.57	1.0	1.57	0.75	0.63
	Jours 2-5 inclus	> 3.77 IMF	0.95	0.96	1.90	0.95	0.97
	Jour 2 seulement	> 3.77 IMF	1	0.85	1.85	0.92	0.91
	Jour 3 seulement	> 6.74 IMF	1	1	2	1	1
	Jour 4 seulement	> 4.56 IMF	1	1	2	1	1
	Jour 5 seulement	> 2.42 IMF	1	1	2	1	1

Tableau 5. Seuils optimaux de l'IMF de nCD64, nCD16 et du rapport nCD64/(nCD16/100) pour discriminer les patients avec et sans EO-VAP. Abréviations : ASC, aire sous la courbe ; Se, sensibilité ; Sp, spécificité ; IMF, intensité moyenne de fluorescence ; nCD64, expression du CD64 sur le polynucléaire neutrophile ; nCD16, expression du CD16 sur le polynucléaire neutrophile.

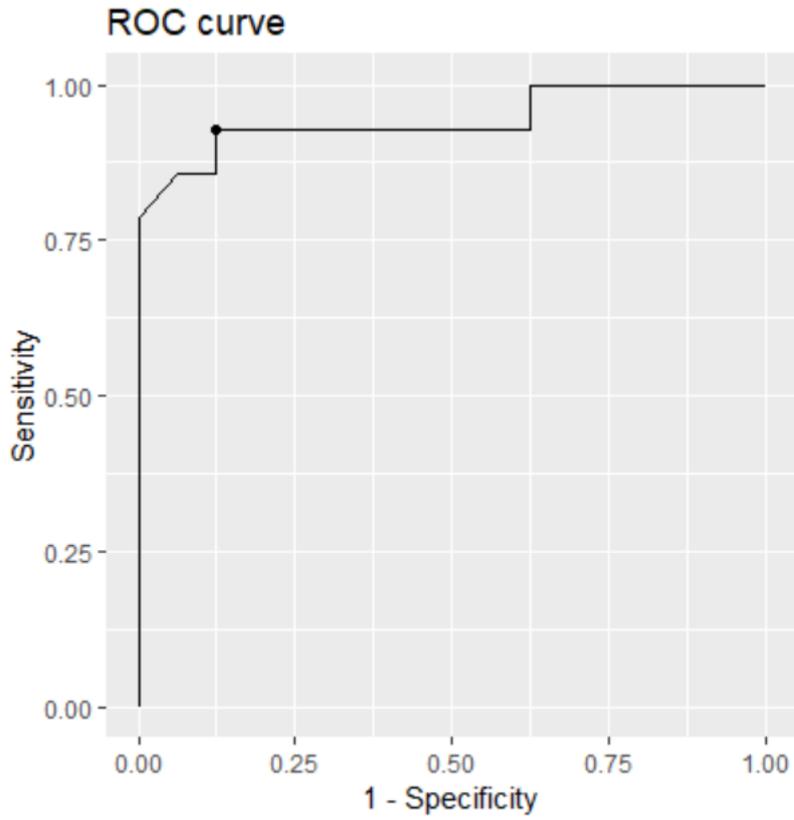


Figure 8. Courbe ROC de l'expression de nCD64 expression pour le diagnostic de l'EO-VAP de J3 à J5. Abbreviations: EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia; nCD64, expression du CD64 sur le polynucléaire neutrophile.

CD16 (nCD16).

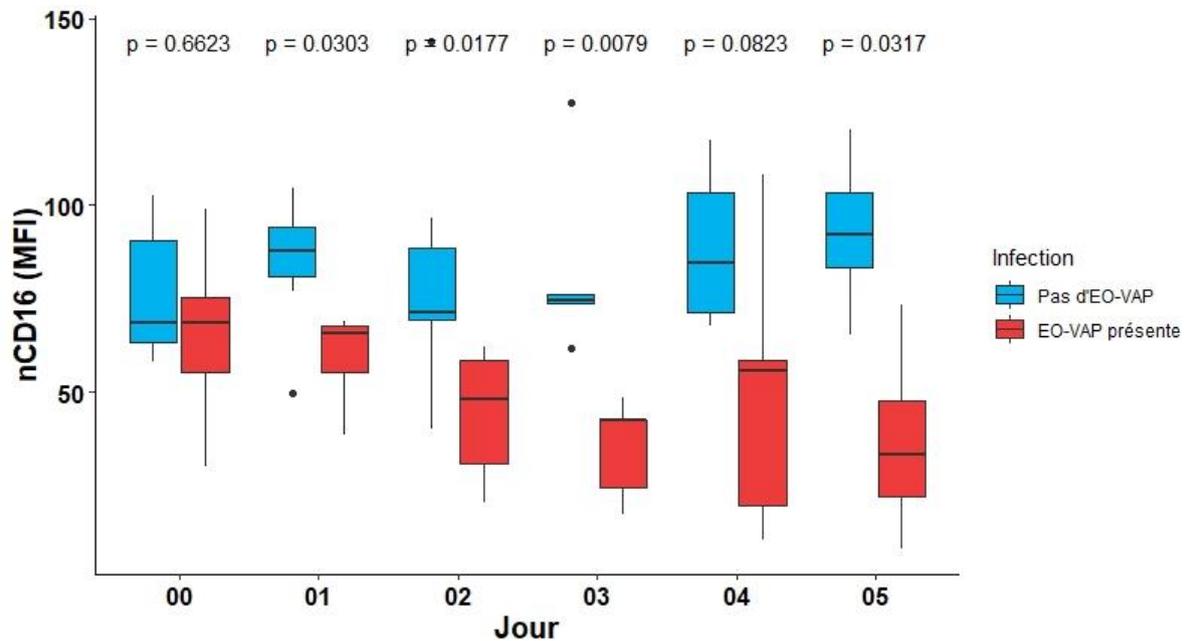


Figure 9. Boîtes à moustache représentant l'IMF du nCD16 selon les 2 groupes : présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviation : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; IMF, intensité moyenne de fluorescence ; nCD16, expression du CD16 sur le polynucléaire neutrophile.

A J1, J2, J3 et J5, les patients présentant une EO-VAP ont une valeur de nCD16 significativement plus basse ($p = 0.0303$, $p = 0.0177$, $p = 0.0079$ et $p = 0.0317$ à J1, J2, J3 et J5 respectivement) (Figure 9).

En modélisant les résultats avec un modèle ANOVA à mesure répétées, en mettant la variable Jour (J0-J5) et Infection (EO-VAP présente ou non) comme effet fixe et Nom (Patients) comme effet aléatoire, l'expression de nCD16 est significativement différente selon les 2 groupes ($p = 0.005$).

Le seuil optimal pour discriminer les patients avec et sans EO-VAP de J1 à J5 par l'IMF du nCD16 est de 67.7 (Se = 0.87 et Sp = 0.88) (tableau 5). En construisant la courbe ROC, l'aire sous la

courbe (ASC) est de 0.91 (figure 10). Les données jour par jour sont renseignées dans le tableau

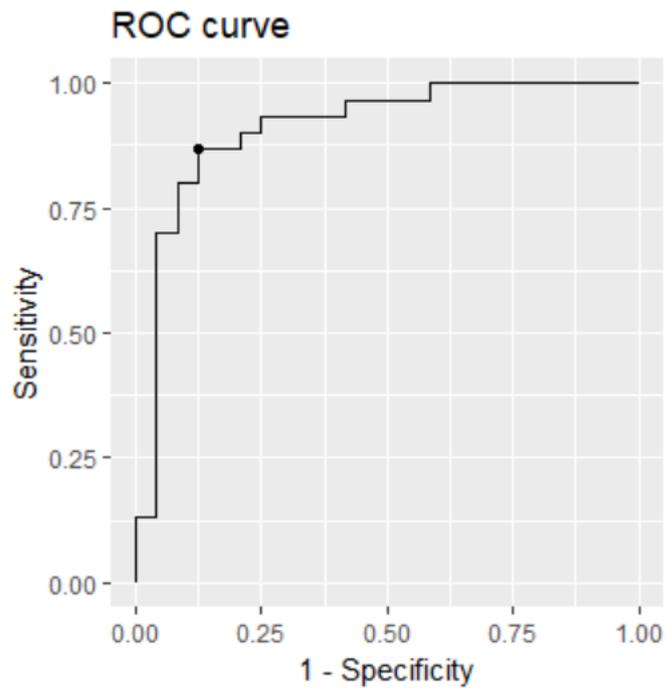


Figure 10. Courbe ROC de l'expression de nCD16 pour le diagnostic de l'EO-VAP de J1 à J5. Abbreviations: EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia; nCD16, expression du CD64 sur le polynucléaire neutrophile.

Rapport nCD64/nCD16

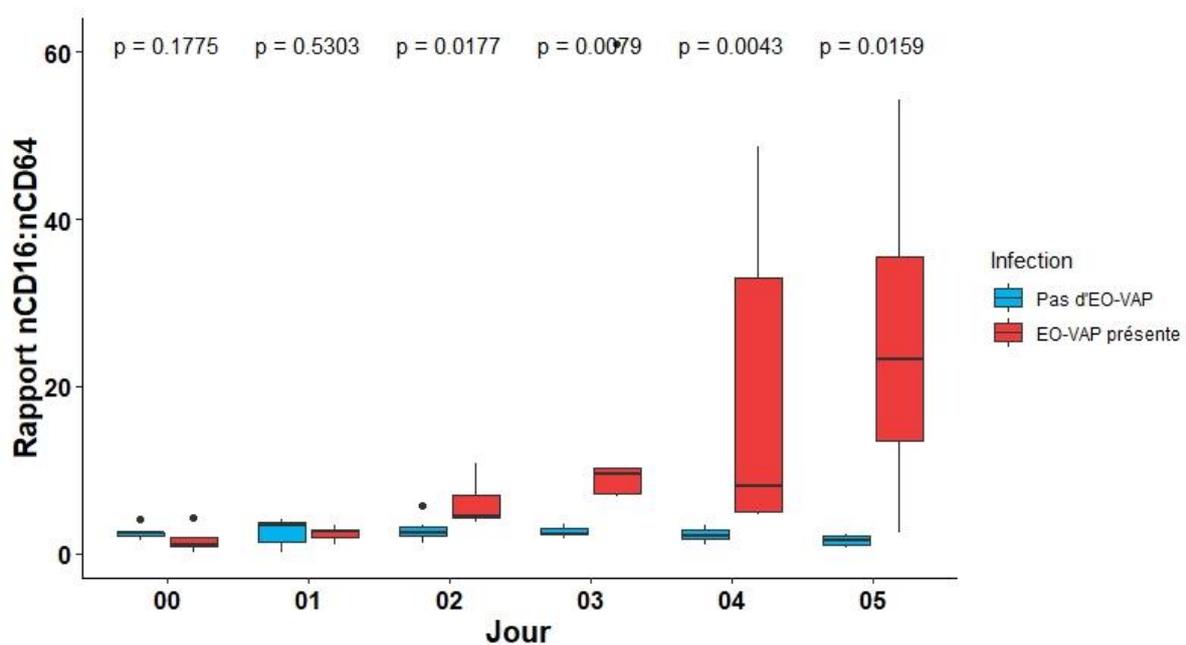


Figure 11. Boîtes à moustache représentant le rapport nCD64/(nCD16/100) selon les 2 groupes : présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; IMF, intensité moyenne de fluorescence ; nCD64, expression du CD64 sur le polynucléaire neutrophile ; nCD16, expression du CD16 sur le polynucléaire neutrophile.

De J2 à J5, les patients présentant une EO-VAP ont une valeur de nCD64/(nCD16/100) significativement plus élevée ($p = 0.0177$, $p = 0.0079$, $p = 0.0043$ et $p = 0.0159$ à J2, J3, J4 et J5 respectivement) (Figure 11).

En modélisant les résultats avec un modèle ANOVA à mesure répétées, en mettant la variable Jour (J0-J5) et Infection (EO-VAP présente ou non) comme effet fixe et Nom (Patients) comme effet aléatoire, le rapport de nCD64/nCD16 est significativement différent selon les 2 groupes ($p = 0.019$).

Le seuil optimal pour discriminer les patients avec et sans EO-VAP de J2 à J5 par le rapport nCD64/(nCD16/100) est de 3.77 ($Se = 0.95$ et $Sp = 0.96$) (tableau 5). En construisant la courbe ROC, l'aire sous la courbe (ASC) est de 0.97 (figure 12). Les données jour par jour sont renseignées dans le tableau

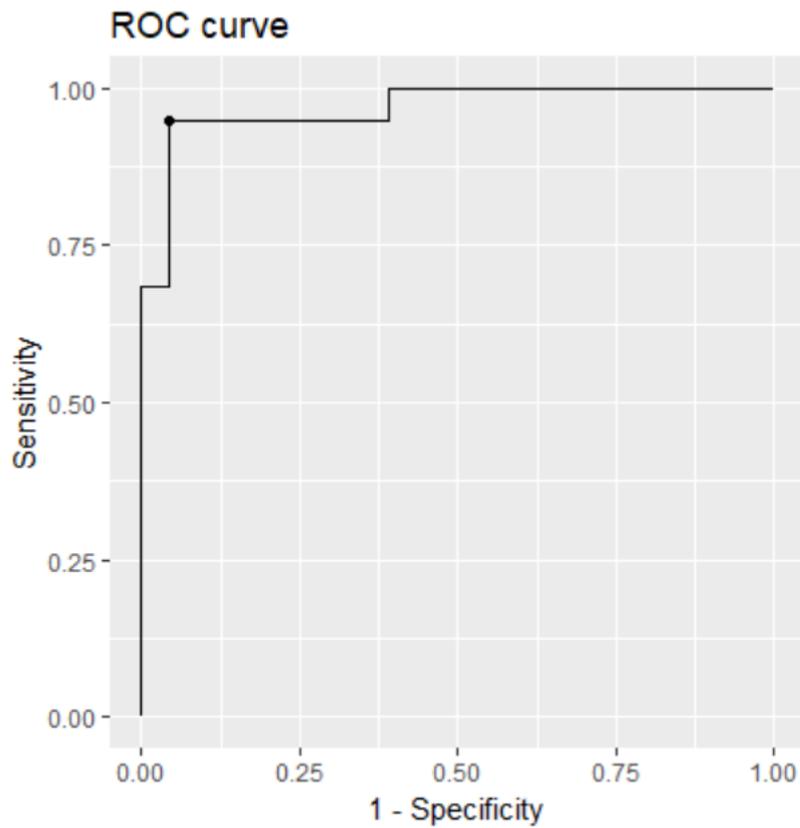
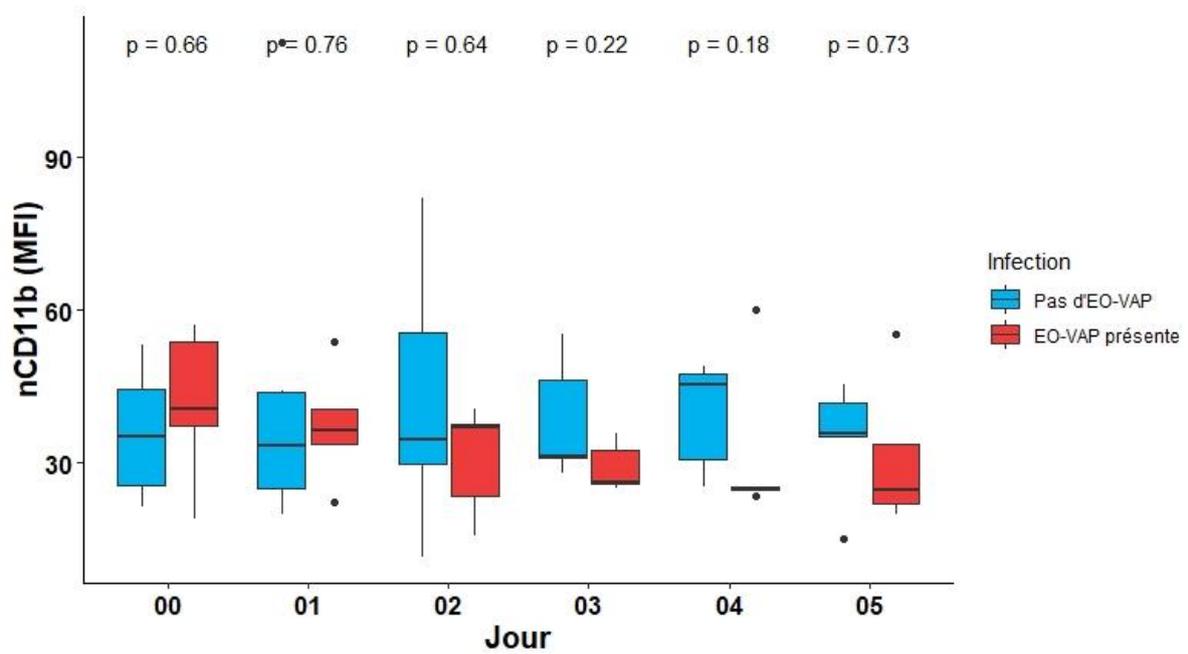
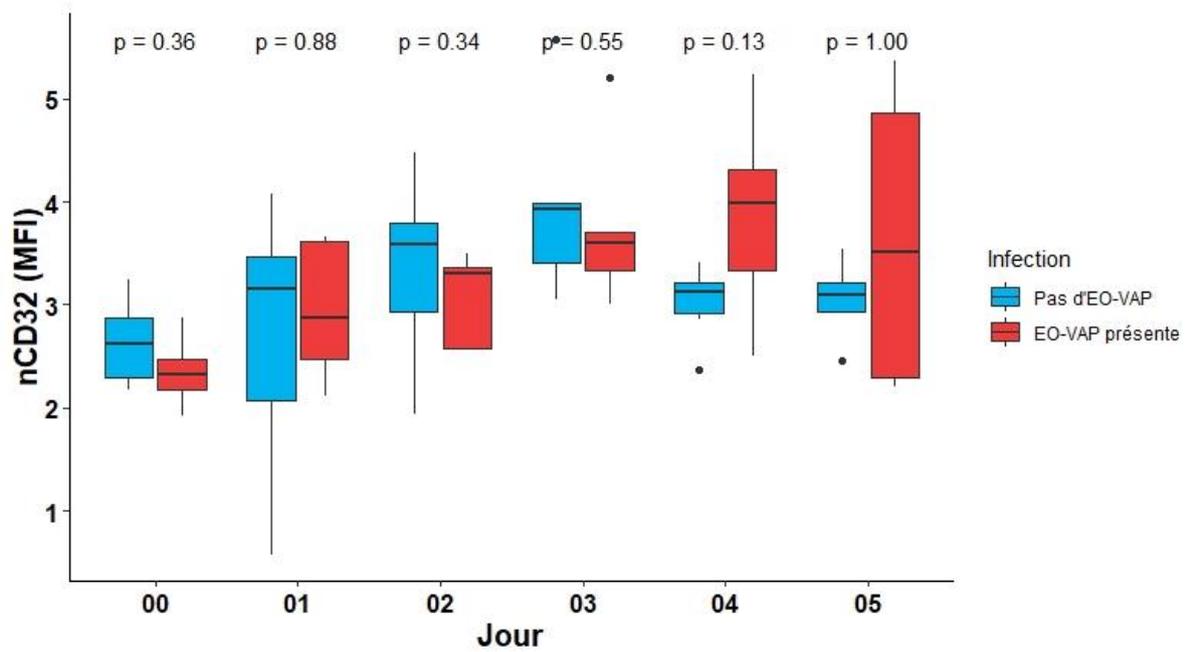


Figure 12. Courbe ROC du rapport nCD64/(nCD16/100) pour le diagnostic de l'EO-VAP de J2 à J5. Abbreviations: EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia; nCD64, expression du CD64 sur le polynucléaire neutrophile; nCD16, expression du CD16 sur le polynucléaire neutrophile.

nCD32, nCD11b et nCD18



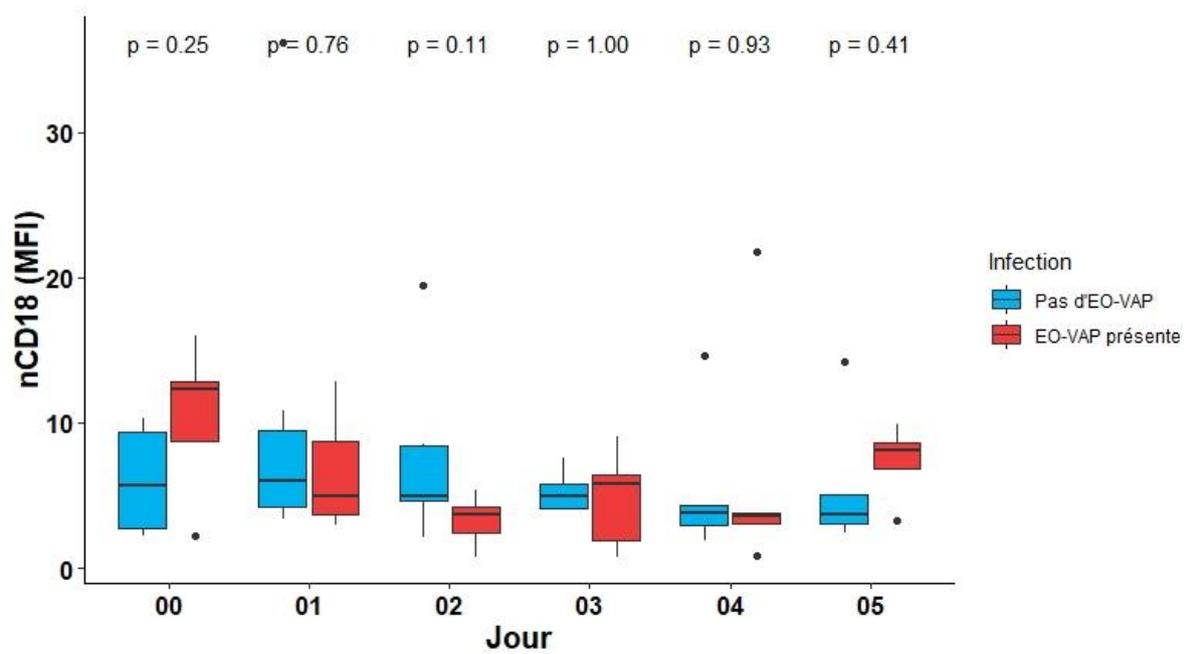
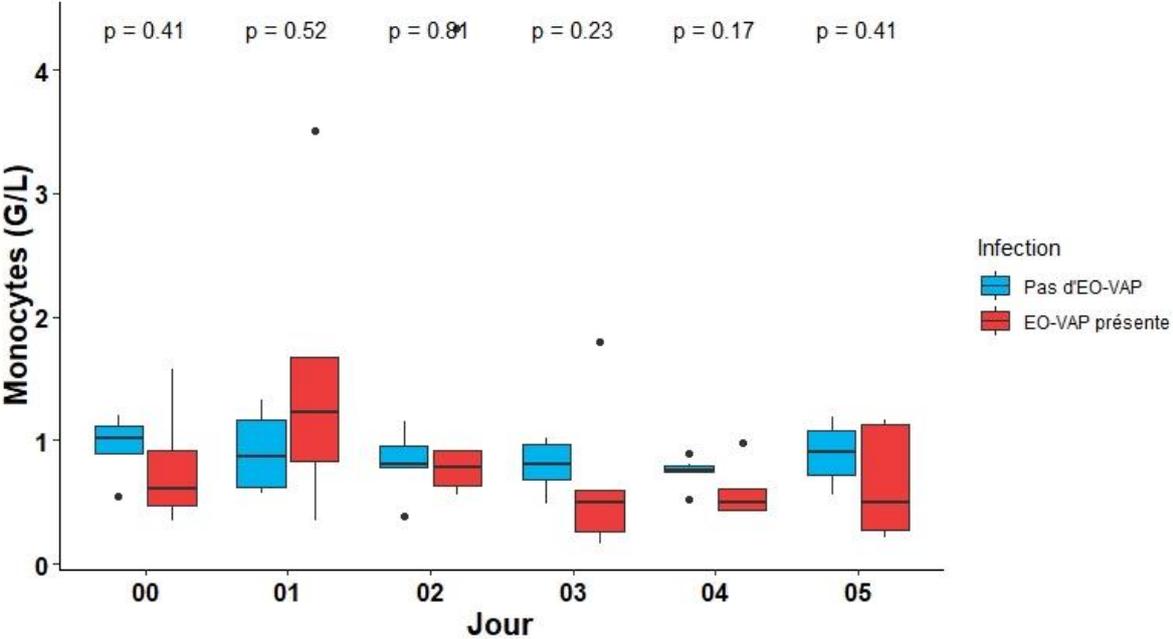


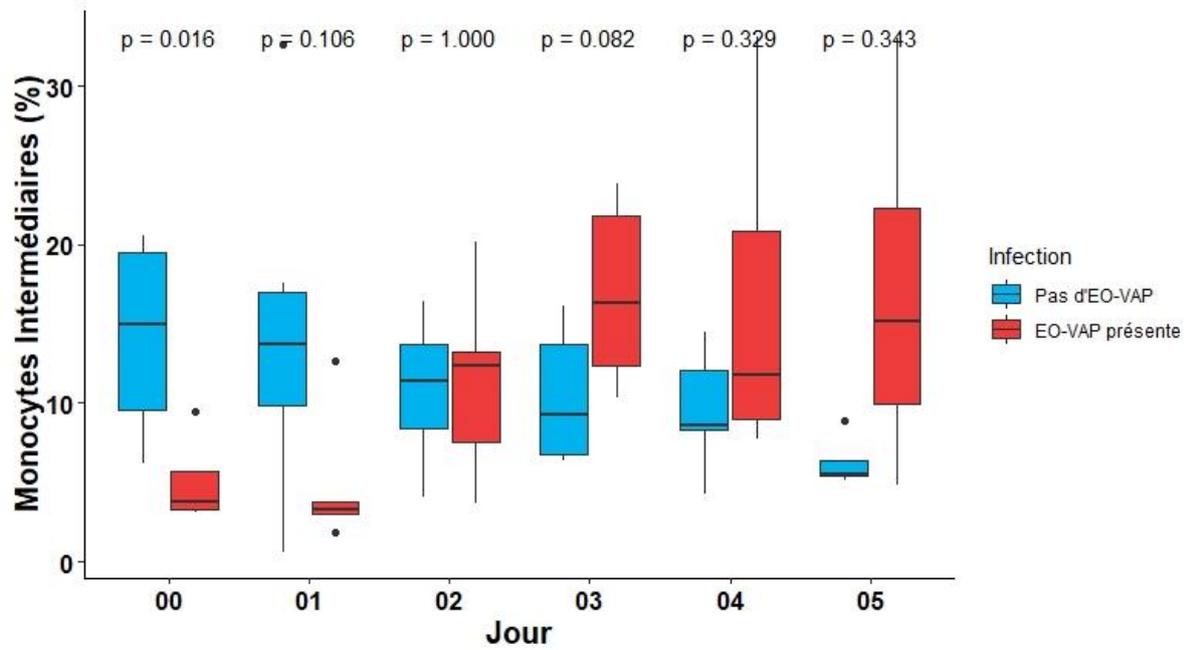
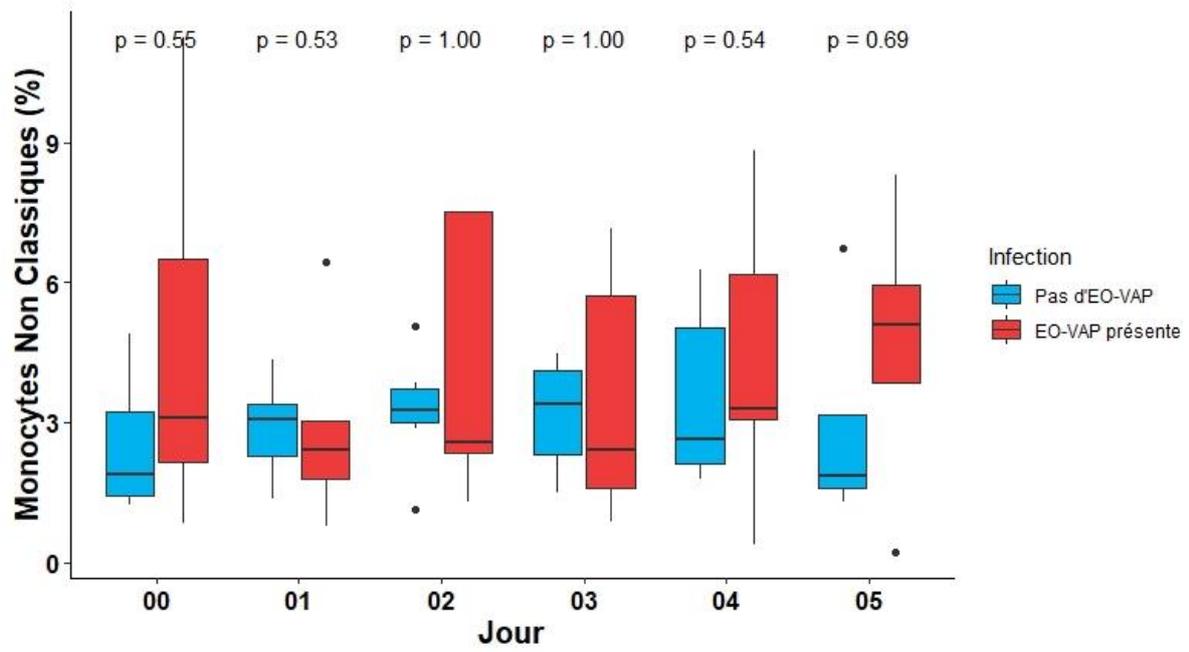
Figure 13. Boîtes à moustache représentant l'IMF du nCD32, nCD11b et nCD18 selon les 2 groupes : présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; IMF, intensité moyenne de fluorescence ; nCD32, expression du CD32 sur le polynucléaire neutrophile ; nCD11b, expression du CD11b sur le polynucléaire neutrophile ; nCD18, expression du CD18 sur le polynucléaire neutrophile.

Il n'y a pas de différence significative pour l'expression du nCD32, nCD11b et nCD18 entre les deux groupes (Figure 13).

Analyse du monocyte.

Les 3 sous-groupes.





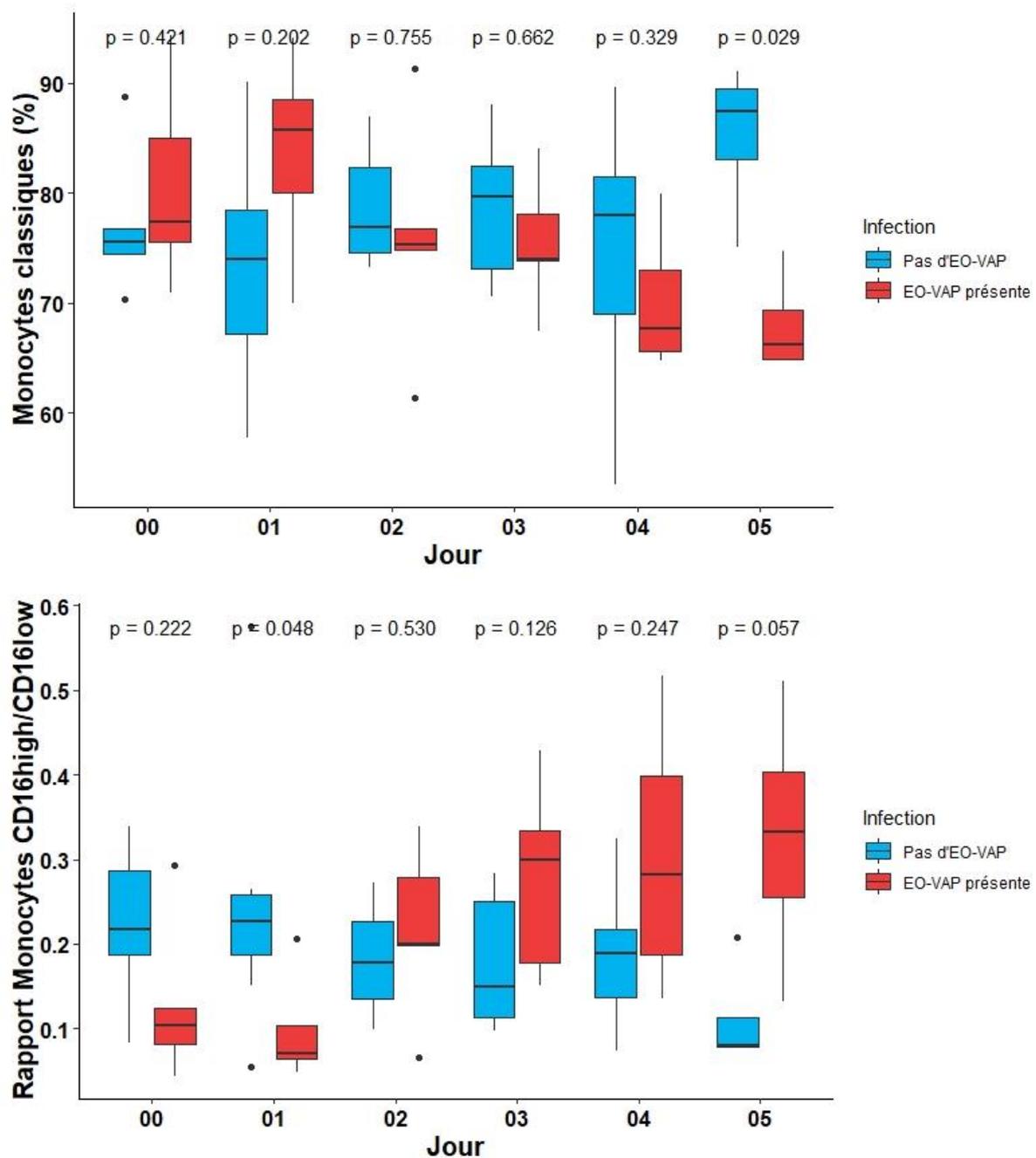
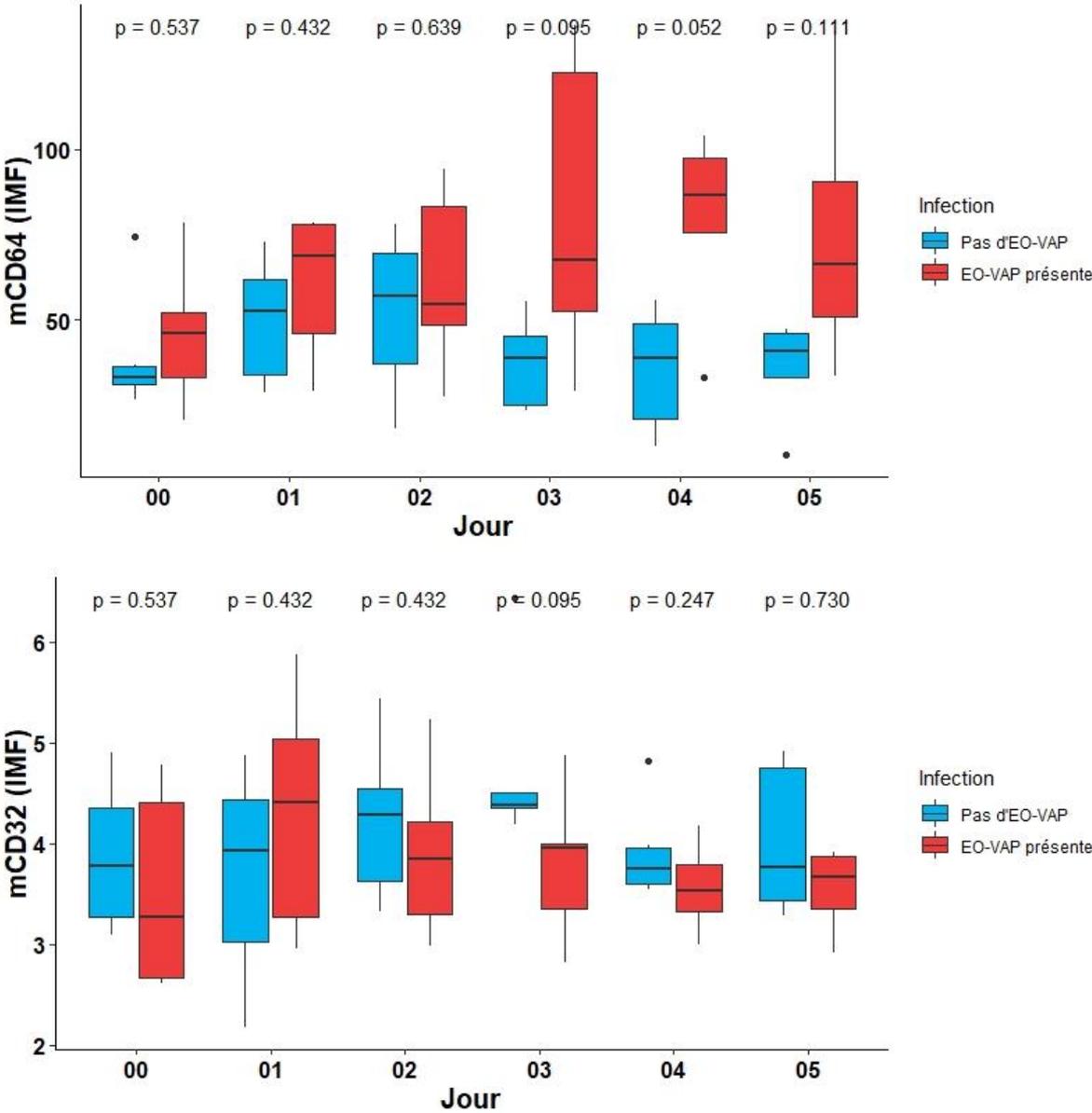


Figure 14. Boites à moustache représentant le nombre de monocytes, leur répartition selon leur 3 sous-groupes et le rapport des monocytes CD16high/CD16low selon la présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviation : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; nCD16, expression du CD16 sur le monocyte.

Il n'y a pas de différence significative entre les patients infectés ou non infectés pour les 3 groupes de monocytes de J0 à J5. A J0 et J1 le rapport des monocytes CD16high/CD16low (mCD16high/mCD16low) est plus bas pour le groupe de patients infectés par rapport au

groupe de patients non infectés alors qu'il est plus haut de J2 à J5 sans que cela ne soit significatif (Figure 14).

mCD64, mCD32, mCD18 et mCD11b



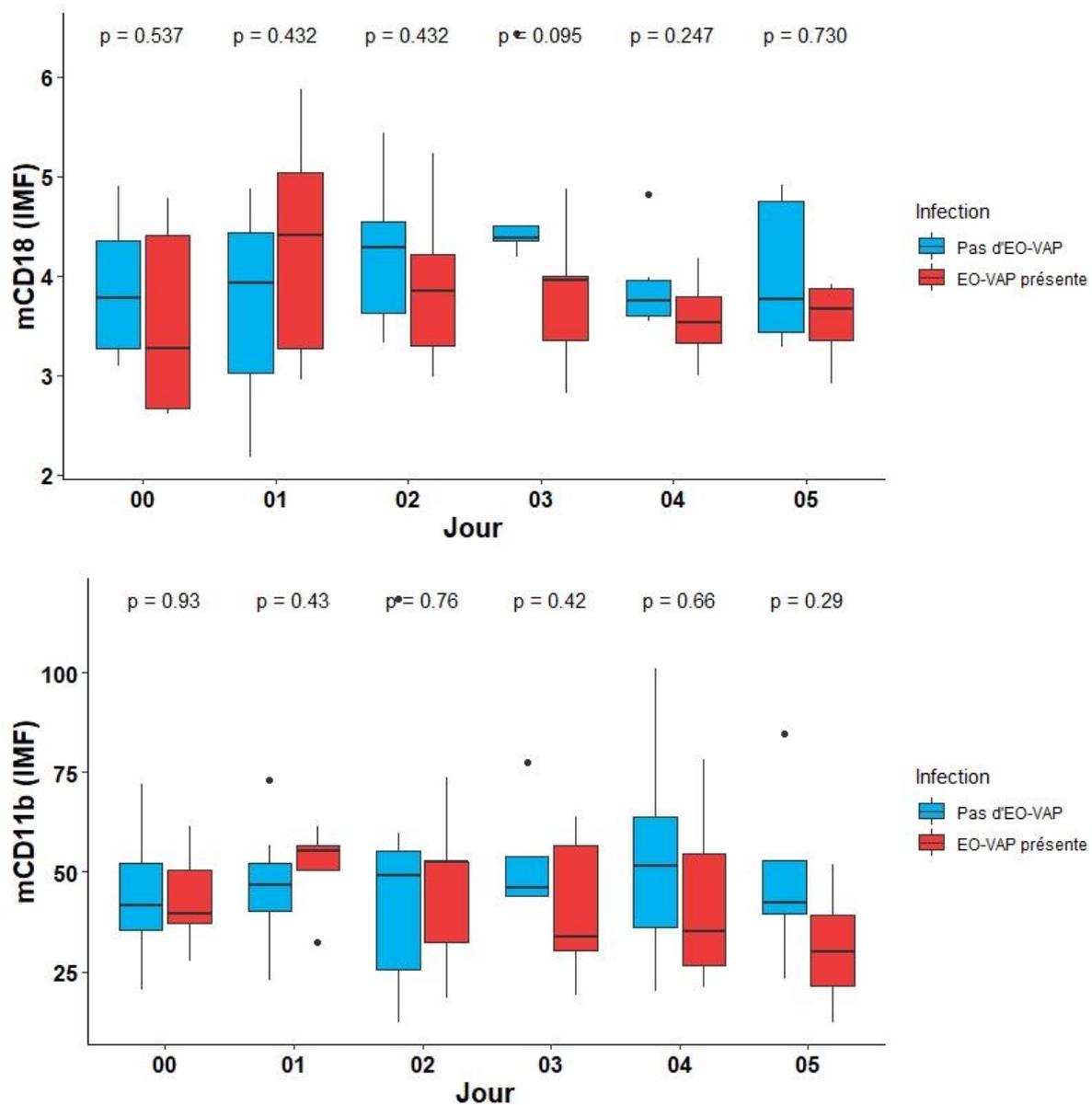


Figure 15. Boîtes à moustache représentant l'IMF du mCD64, mCD32, mCD18 et mCD11b selon les 2 groupes : présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; IMF, intensité moyenne de fluorescence ; mCD64, expression du CD64 sur le monocyte ; mCD32, expression du CD32 sur le monocyte ; mCD18, expression du CD18 sur le monocyte ; mCD11b, expression du CD11b sur le monocyte.

Il n'y a pas de différence significative pour l'expression du mCD64, mCD32, mCD18 et mCD11b entre les deux groupes (Figure 15).

La PCT et la CRP

Concernant la PCT, des données sont disponibles pour 67% des jours, tous patients confondus.

Concernant la CRP, des données sont disponibles pour 84% des jours, tous patients confondus.

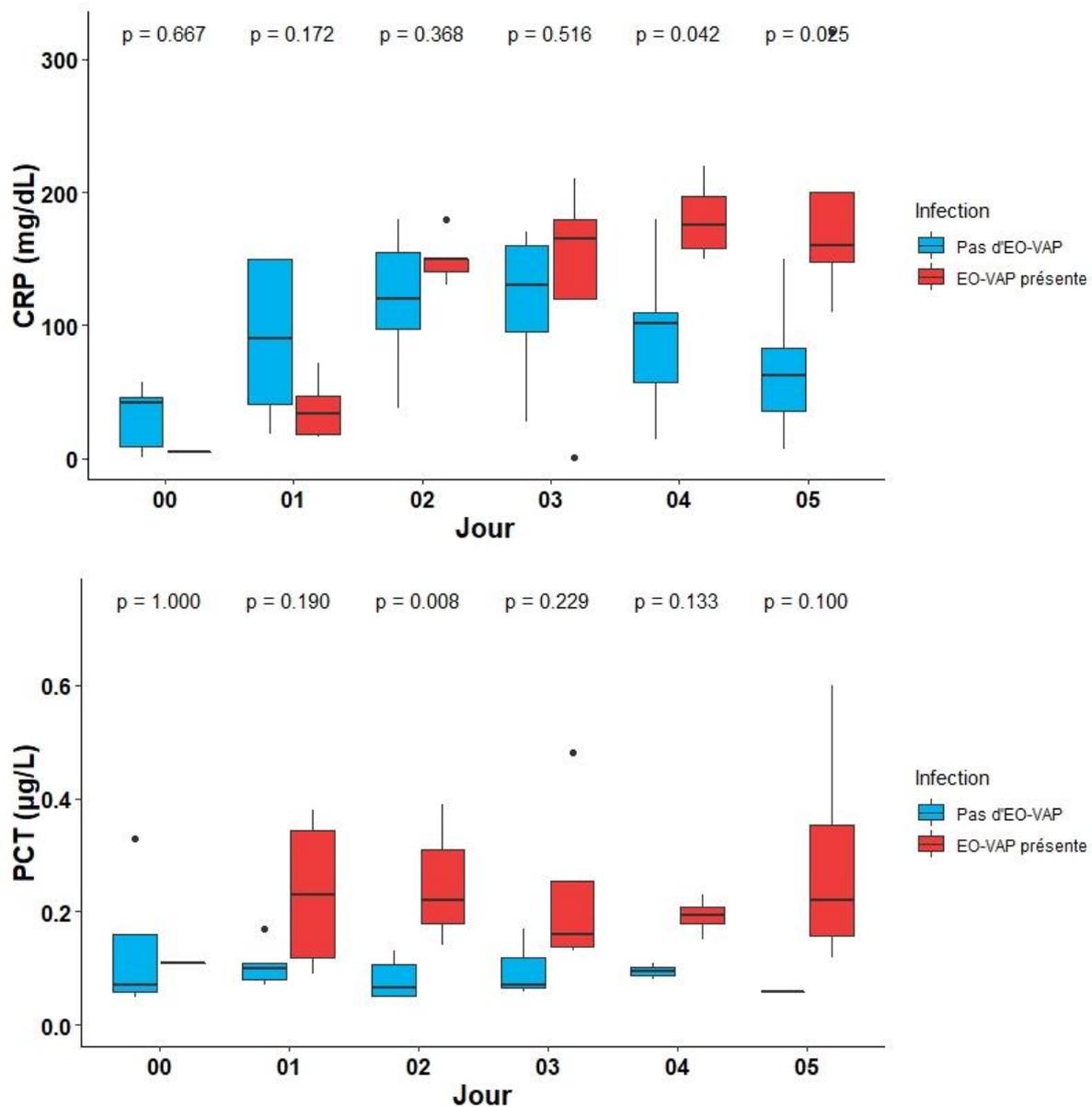


Figure 16. Boîtes à moustache représentant les concentrations de la CRP et de la PCT selon les 2 groupes : présence ou non d'EO-VAP. Pour chaque jour, un test de Wilcoxon est réalisé pour tester la différence entre les 2 groupes. Abréviations : EO-VAP, Early onset ventilator acquired pneumonia ; CRP, C-réactive protéine ; PCT, procalcitonine.

La CRP est statistiquement plus élevée pour le groupe de patients infectés à J4 et J5 ($p = 0.042$ et $p = 0.025$ respectivement) mais pas après ajustement par correction de Bonferroni.

La PCT est statistiquement plus élevée pour le groupe de patients infectés à J2 ($p = 0.008$) et ce même après ajustement par Bonferroni ($p = 0.048$) (Figure 16).

Résultats par patient

	Date du prélèvement bactériologique positif	Date du début de l'antibiothérapie	Date CPIS positif	Date nCD64	Date nCD64/16
Patients non infectés					
Patient 1			J4		
Patient 2			J3		
Patient 3					
Patient 4			J2		
Patient 5					
Patient 6					
Patients infectés					
Patient 1	J2	J3	J2	NA	J2
Patient 2	J5	J5		J3	J2
Patient 3	J5	J5	J5	J4	J2
Patient 4	J4	J5		J3	J2
Patient 5	J3	J7	J4	J3	J2
Patient 6	J2	J4	J4	J3	J2

	Négatif
	Positif

Tableau 6. Date des prélèvements bactériologiques, du début de l'antibiothérapie, du score CPIS de J0 à J5, du nCD64 en ne prenant en compte que des résultats de J3 à J5 et en prenant

2.33 d'IMF comme seuil de positivité et du rapport $nCD64/(nCD16/100)$ en ne prenant en compte que les résultats de J2 à J5 et en prenant 3.77 comme seuil de positivité

Abréviation : nCD64, expression du CD64 sur le polynucléaire neutrophile ; nCD16, expression du CD16 sur le polynucléaire neutrophile ; CPIS, Clinical Pulmonary Infection Score.

Le tableau 6 montre que 1/6 patients non infectés a un score CPIS positif (faux positif) et 2/6 patients infectés ont un score CPIS négatifs (faux négatifs).

En utilisant le nCD64 de J3 à J5, 1 patient sur 6 non infectés est faussement positif et 6/6 patients infectés sont positifs à J3.

En utilisant le rapport $nCD64/(nCD16/100)$ de J2 à J5, 1 patient sur 6 non infectés est faussement positif et 6/6 patients infectés sont positifs à J2 et/ou J3.

Le nCD64 et le rapport $nCD64/(nCD16/100)$ sont à chaque fois positif avant la date de début de l'antibiothérapie.

Discussion.

Nous avons évoqué la difficulté à diagnostiquer le sepsis et en particulier les PAVMs. Du fait de l'augmentation de la morbi-mortalité leur étant attribuée (chez les patients neurolésés particulièrement), il est important de diagnostiquer les PAVMs précocement afin de les traiter le plus tôt possible. Le diagnostic se faisant sur des arguments cliniques, radiologiques et biologiques peu spécifiques en attendant le résultat de prélèvements bactériologiques, l'existence d'un biomarqueur diagnostique fiable serait d'une aide précieuse dans la prise en charge des PAVMs.

Cette étude a pour but d'évaluer la performance, du nCD64 mais aussi de l'expression du CD16, CD32, CD18, CD11b à la surface des polynucléaires neutrophiles et des monocytes comme biomarqueur diagnostique d'infection, pour les patients neurolésés développant une EO-VAP dans leurs cinq premiers jours d'hospitalisation.

Nous avons choisi d'inclure des patients neurolésés car ils développent fréquemment une infection. De plus ils s'infectent alors qu'ils sont déjà pris en charge par opposition aux patients admis en réanimation pour sepsis chez qui on ne connaît pas la date du début de l'infection. Cette caractéristique de la population étudiée nous permet d'obtenir des valeurs pour les différents biomarqueurs avant et pendant le développement de l'infection en effectuant des prélèvements quotidiens. On obtient ainsi la cinétique des biomarqueurs pendant que l'infection se développe.

Nous avons observé que le nCD64 était significativement plus élevé pour les patients développant une EO-VAP entre J2 et J5 de leur prise en charge comparé aux patients ne développant pas d'infection. En se servant du nCD64 comme biomarqueur diagnostique d'EO-VAP entre J3 et J5 on a une sensibilité et une spécificité de 0.93 et 0.86 respectivement.

Ceci est en accord avec les précédentes études sur le nCD64 comme celle de Dimoula et al. (33), qui incluait 103 patients septiques et 365 patients non septiques de réanimation et dans laquelle la sensibilité et la spécificité étaient de 0.89 et 0.87 respectivement ou comme celle de Gibot et al., qui incluait 300 patients et dans laquelle l'expression du nCD64 pouvait distinguer les patients septiques des non septiques avec une sensibilité et une spécificité de 0.84 et 0.85 respectivement (38).

La plus grande sensibilité du nCD64 dans notre étude par rapport à celle des 2 autres études citées précédemment pourrait être due au fait que les EO-VAP sont d'origine bactériennes et il est relativement facile d'en avoir la preuve bactériologique alors que les études pouvaient inclure des patients avec sepsis d'origine viral ou fongique ou dont la porte d'entrée était indéterminée et donc les prélèvements pouvaient être faussement négatifs.

Nous avons également montré que lorsque les patients développaient une EO-VAP, ils présentaient une baisse du nCD16 et le nCD32 était inchangé. Ceci est en accord avec l'étude de Chieh-Liang et al. (34). Nous avons également montré que l'utilisation du rapport $nCD64/(nCD16/100)$ permettait de diagnostiquer une EO-VAP avec une sensibilité et une spécificité de 0.95 et 0.96 respectivement et ce de J2 à J5. Cependant l'analyse statistique montre une différence statistiquement moins forte du rapport $nCD64/(nCD16/100)$ entre les deux groupes de patients par rapport au nCD64 seul. Ceci s'explique par le fait que le rapport

fait intervenir deux dosages (nCD64 et nCD16) et donc les variations sont plus importantes. On peut imaginer qu'en incluant plus de patients, la différence aurait été plus significative.

Il est intéressant de noter que chez nos patients étudiés, la mise en place d'une antibiothérapie en se basant sur, soit le nCD64 (utilisable dès J3) avec une valeur seuil de 2.33 d'IMF, soit le nCD64/nCD16 (utilisable dès J2) avec une valeur seuil de 3.77, aurait permis un traitement plus précoce pour chacun des patients et donc potentiellement une amélioration de la morbi-mortalité (39,40). Cependant 1 patient sur 6 aurait été traité par excès. Cela nécessite d'être vérifié par une étude ultérieure.

Aussi, les leucocytes et particulièrement les polynucléaires neutrophiles n'étaient pas augmentés significativement en cas d'infection de J0 à J5 alors que leur dosage est utilisé en routine pour le diagnostic des infections.

Également, notre étude n'est pas en faveur de l'utilisation de la PCT ni de la CRP dans le diagnostic d'EO-VAP de J0 à J5. Cependant nos résultats pourraient être influencés par l'importance des données manquantes concernant ces deux marqueurs.

Concernant les monocytes, aucune différence significative entre les deux groupes de patients n'a été retrouvée que ce soit pour les 3 sous-groupes de monocytes ou pour les différents CD étudiés. Cependant il semblerait que comme constaté par Ferreira da Mota et al. (37), l'expression du CD16 sur les monocytes soit plus élevée en cas d'EO-VAP ce qui se traduit par un shift des monocytes classiques vers les non classiques. Dans notre étude, on observe seulement une tendance sans que cela ne soit significatif.

En revanche, nous n'avons pas observé de différence d'expression du CD11b sur le monocyte (ni sur le PNN) comme l'avait fait Jämsä et al. (35). Dans cette même étude, l'expression du CD64 sur les monocytes (mCD64) était plus élevée sans que cela ne soit significatif chez les patients septiques et c'est également ce que nous avons observé.

A notre connaissance aucune étude n'avait étudié ces marqueurs pour le diagnostic des EO-VAP chez les patients neurolésés.

Notre étude a plusieurs limites.

Premièrement, l'utilisation du cytomètre nécessite une calibration quotidienne pour que les résultats soient comparables d'un jour à l'autre. Bien que les calibrations aient été correctement effectuées, les valeurs peuvent varier légèrement d'un jour à l'autre. De plus, les valeurs d'IMF variants d'une marque de cytomètre à l'autre, les valeurs seuils déterminées par notre cytomètre ne sont pas généralisables aux centres utilisant des cytomètres différents surtout s'ils sont de marque différente.

Secondairement, même si la plupart des prélèvements étaient analysés dans les 6 heures, certains l'étaient plus tardivement. Ceci a pu avoir un impact sur la qualité des analyses.

Troisièmement, il n'y a pas de protocole standardisé pour le diagnostic des PAVM, ni pour leur prise en charge dans notre service. De ce fait, en particulier à J0 et J1, des patients ont reçus des antibiotiques de manière empirique sans que l'on sache s'ils étaient infectés et nous les avons donc exclus de l'analyse. Aussi, certains patients étaient traités avant les prélèvements ce qui peut rendre les prélèvements bactériologiques faussement négatifs.

Enfin, les médecins n'avaient pas connaissance des résultats des analyses par cytométrie en flux, mais ils connaissaient ceux de la CRP et de la PCT et ont pu baser le diagnostic, en partie, sur ces résultats.

Conclusion

Cette étude montre l'utilité de l'expression du nCD64 et du rapport nCD64/nCD16 comme biomarqueur diagnostique des EO-VAP entre J2 et J5 chez les patients admis en réanimation pour TC grave ou HSA sévère. Les résultats de notre étude doivent cependant être validés dans une étude de plus grande ampleur et prospective avec un protocole de diagnostic et de prise en charge des EO-VAP plus précis.

Bibliographie.

1. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* avr 2003;31(4):1250-6.
2. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Crit Care Med.* mars 2017;45(3):486-552.
3. Kreger BE, Craven DE, McCabe WR. Gram-negative bacteremia. IV. Re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients. *Am J Med.* mars 1980;68(3):344-55.
4. Zahar J-R, Timsit J-F, Garrouste-Orgeas M, Français A, Vesin A, Vesim A, et al. Outcomes in severe sepsis and patients with septic shock: pathogen species and infection sites are not associated with mortality. *Crit Care Med.* août 2011;39(8):1886-95.
5. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care.* 2010;14(1):R15.
6. van Engelen TSR, Wiersinga WJ, Scicluna BP, van der Poll T. Biomarkers in Sepsis. *Critical Care Clinics.* janv 2018;34(1):139-52.
7. Meduri GU. Diagnosis and differential diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Clin Chest Med.* mars 1995;16(1):61-93.
8. Berton DC, Kalil AC, Teixeira PJZ. Quantitative versus qualitative cultures of respiratory secretions for clinical outcomes in patients with ventilator-associated pneumonia. *Cochrane Database Syst Rev.* 30 oct 2014;(10):CD006482.
9. Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic « blind » bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis.* mai 1991;143(5 Pt 1):1121-9.

10. Fartoukh M, Maitre B, Honoré S, Cerf C, Zahar J-R, Brun-Buisson C. Diagnosing pneumonia during mechanical ventilation: the clinical pulmonary infection score revisited. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 juill 2003;168(2):173-9.
11. Ramirez P, Garcia MA, Ferrer M, Aznar J, Valencia M, Sahuquillo JM, et al. Sequential measurements of procalcitonin levels in diagnosing ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J.* févr 2008;31(2):356-62.
12. Luyt C-E, Combes A, Reynaud C, Hekimian G, Nieszkowska A, Tonnellier M, et al. Usefulness of procalcitonin for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* août 2008;34(8):1434-40.
13. Stolz D, Smyrniotou N, Eggimann P, Pargger H, Thakkar N, Siegemund M, et al. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in ventilator-associated pneumonia: a randomised study. *Eur Respir J.* déc 2009;34(6):1364-75.
14. Luyt C-E, Guérin V, Combes A, Trouillet J-L, Ayed SB, Bernard M, et al. Procalcitonin kinetics as a prognostic marker of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 janv 2005;171(1):48-53.
15. Seligman R, Meisner M, Lisboa TC, Hertz FT, Filippin TB, Fachel JMG, et al. Decreases in procalcitonin and C-reactive protein are strong predictors of survival in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care.* 2006;10(5):R125.
16. Hillas G, Vassilakopoulos T, Plantza P, Rasidakis A, Bakakos P. C-reactive protein and procalcitonin as predictors of survival and septic shock in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J.* avr 2010;35(4):805-11.
17. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 1 sept 2016;63(5):e61-111.
18. Righy C, do Brasil PEA, Vallés J, Bozza FA, Martin-Loeches I. Systemic antibiotics for preventing ventilator-associated pneumonia in comatose patients: a systematic review

and meta-analysis. *Annals of Intensive Care* [Internet]. déc 2017 [cité 30 mars 2020];7(1).

Disponible sur:

<http://annalsofintensivecare.springeropen.com/articles/10.1186/s13613-017-0291-4>

19. Bronchard R, Albaladejo P, Brezac G, Geffroy A, Seince P-F, Morris W, et al. Early onset pneumonia: risk factors and consequences in head trauma patients. *Anesthesiology*. févr 2004;100(2):234-9.
20. Jovanovic B, Milan Z, Djuric O, Markovic-Denic L, Karamarkovic A, Gregoric P, et al. Twenty-Eight-Day Mortality of Blunt Traumatic Brain Injury and Co-Injuries Requiring Mechanical Ventilation. *Med Princ Pract*. 2016;25(5):435-41.
21. Winklewski PJ, Radkowski M, Demkow U. Cross-talk between the inflammatory response, sympathetic activation and pulmonary infection in the ischemic stroke. *J Neuroinflammation*. 24 déc 2014;11:213.
22. Moscatello K, Lint TF, Keller CC. USMLE step 1 lecture notes 2015: immunology and microbiology. 2015.
23. Gordon S. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity*. 15 mars 2016;44(3):463-75.
24. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Baker DL, Baker A. Cellular and molecular immunology. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2018. 565 p.
25. Karlmark KR, Tacke F, Dunay IR. Monocytes in health and disease - Minireview. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. juin 2012;2(2):97-102.
26. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. déc 2008;8(12):958-69.
27. McFarlin BK, Bowman EM. Advanced flow cytometry techniques for clinical detection. *Methods*. 01 2018;134-135:1-2.

28. Gondhalekar C, Rajwa B, Patsekin V, Ragheb K, Sturgis J, Robinson JP. Alternatives to current flow cytometry data analysis for clinical and research studies. *Methods*. 01 2018;134-135:113-29.
29. Chen X, Hasan M, Libri V, Urrutia A, Beitz B, Rouilly V, et al. Automated flow cytometric analysis across large numbers of samples and cell types. *Clin Immunol. avr* 2015;157(2):249-60.
30. Lacombe F, Maynadié M, Chatelain B, Béné M-C. Évolution des outils informatiques d'analyse des données en cytométrie en flux. *Revue Francophone des Laboratoires*. sept 2017;2017(495):57-61.
31. Rahim A, Meskas J, Drissler S, Yue A, Lorenc A, Laing A, et al. High throughput automated analysis of big flow cytometry data. *Methods*. 01 2018;134-135:164-76.
32. Hoffmann JJML. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. *Biochem Med (Zagreb)*. 2011;21(3):282-90.
33. Dimoula A, Pradier O, Kassenger Z, Dalcomune D, Turkan H, Vincent J-L. Serial Determinations of Neutrophil CD64 Expression for the Diagnosis and Monitoring of Sepsis in Critically Ill Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 15 mars 2014;58(6):820-9.
34. Hsu K-H, Chan M-C, Wang J-M, Lin L-Y, Wu C-L. Comparison of Fcγ receptor expression on neutrophils with procalcitonin for the diagnosis of sepsis in critically ill patients: Neutrophil CD64 as a marker of sepsis. *Respirology*. janv 2011;16(1):152-60.
35. Jämsä J, Huotari V, Savolainen E-R, Syrjälä H, Ala-Kokko T. Kinetics of leukocyte CD11b and CD64 expression in severe sepsis and non-infectious critical care patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. août 2015;59(7):881-91.
36. Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood*. 15 nov 1989;74(7):2527-34.
37. Ferreira da Mota NV, Brunialti MKC, Santos SS, Machado FR, Assuncao M, Azevedo LCP, et al. Immunophenotyping of Monocytes During Human Sepsis Shows Impairment in

Antigen Presentation: A Shift Toward Nonclassical Differentiation and Upregulation of FCγR1-Receptor. *SHOCK*. sept 2018;50(3):293-300.

38. Gibot S, Béné MC, Noel R, Massin F, Guy J, Cravoisy A, et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 juill 2012;186(1):65-71.
39. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. juin 2006;34(6):1589-96.
40. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. nov 2009;136(5):1237-48.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me le demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque. »

BOTQUELEN (Etienne) – Evolution de l’expression du CD64, CD16, CD32, CD11b et CD18 sur les monocytes et polynucléaires neutrophiles lors du développement d’une EO-VAP chez des patients traumatisés crâniens graves ou atteints d’une hémorragie méningée sévère.

RESUME : Après avoir rappelé le rôle du CD64, CD16, CD32, CD11b et CD18 sur les monocytes et polynucléaires neutrophiles dans l’immunité innée, l’auteur explique l’intérêt qu’ils pourraient avoir comme biomarqueurs diagnostics d’infection en particulier chez les patients neurolésés et intubés.

Il évalue quotidiennement, pendant les 5 premiers jours de prise en charge, l’expression de ces différents marqueurs chez des patients avec traumatisme crânien grave et hémorragie méningée sévère en les séparant en deux groupes : les patients développant une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique et ceux n’en développant pas.

L’auteur nous présente une étude personnelle de 12 cas.

Il conclut en discutant les CDs qui semblent avoir le plus d’intérêt comme biomarqueurs biologiques diagnostiques d’infection.

MOTS CLES :

Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM)

Expression du CD64, CD16, CD32, CD11b et CD18

Immunité innée

Traumatisme crânien (TC) grave

Hémorragie méningée (HM/HSA) sévère

JURY :

Président

Mr le Professeur Olivier Huet

Membres du jury

Mr le Professeur Divi Cornec

Mr le Dr Christophe Jamin

Mme le Dr Véronique Vermeersch

DATE DE SOUTENANCE :

25 Juin 2021