



**HAL**  
open science

# Effects of fluid therapy on mesenteric microcirculation using a new probe-based confocal laser endomicroscopy (Cellvizio®) in an endotoxenic porcine model

Charlotte Daniere

► **To cite this version:**

Charlotte Daniere. Effects of fluid therapy on mesenteric microcirculation using a new probe-based confocal laser endomicroscopy (Cellvizio®) in an endotoxenic porcine model. Human health and pathology. 2021. dumas-03533064

**HAL Id: dumas-03533064**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03533064v1>**

Submitted on 18 Jan 2022

**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 - ShareAlike 4.0 International License

UNIVERSITE DE MONTPELLIER  
FACULTE DE MEDECINE MONTPELLIER-NIMES

**THESE**

Pour obtenir le titre de  
**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement  
Par

Charlotte DANIERE

le 29 mars 2021

**Effects of fluid therapy on mesenteric microcirculation using a  
new probe-based confocal laser endomicroscopy (Cellvizio®) in  
an endotoxinic porcine model.**

Directeur de thèse : Docteur Claire ROGER

JURY

Président :

Professeur Jean Yves LEFRANT

Assesseurs :

Professeur Xavier CAPDEVILA

Professeur Laurent MULLER

Docteur Claire ROGER

UNIVERSITE DE MONTPELLIER  
FACULTE DE MEDECINE MONTPELLIER-NIMES

**THESE**

Pour obtenir le titre de  
**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement  
Par

Charlotte DANIERE

le 29 mars 2021

**Effects of fluid therapy on mesenteric microcirculation using a  
new probe-based confocal laser endomicroscopy (Cellvizio®) in  
an endotoxinic porcine model.**

Directeur de thèse : Docteur Claire ROGER

JURY

Président :

Professeur Jean Yves LEFRANT

Assesseurs :

Professeur Xavier CAPDEVILA

Professeur Laurent MULLER

Docteur Claire ROGER

## ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021

### PERSONNEL ENSEIGNANT

#### Professeurs Honoraires

ALBAT Bernard	BRUNEL Michel	HUMEAU Claude	MIRO Luis
ALLIEU Yves	CANAUD Bernard	JAFFIOL Claude	NAVARRO Maurice
ALRIC Robert	CHAPTAL Paul-André	JANBON Charles	NAVRATIL Henri
ARNAUD Bernard	CIURANA Albert-Jean	JANBON François	OTHONIEL Jacques
ASENCIO Gérard	CLOT Jacques	JARRY Daniel	PAGES Michel
ASTRUC Jacques	COSTA Pierre	JOURDAN Jacques	PEGURET Claude
AUSSILLOUX Charles	D'ATHIS Françoise	KLEIN Bernard	PELISSIER Jacques
AVEROUS Michel	DEMAILLE Jacques	LAFFARGUE François	PETIT Pierre
AYRAL Guy	DESCOMPS Bernard	LALLEMANT Jean Gabriel	POUGET Régis
BAILLAT Xavier	DIMEGLIO Alain	LAMARQUE Jean-Louis	PUJOL Henri
BALDET Pierre	DUBOIS Jean Bernard	LAPEYRIE Henri	RABISCHONG Pierre
BALDY-MOULINIER Michel	DUJOLS Pierre	LEROUX Jean-Louis	RAMUZ Michel
BALMES Jean-Louis	DUMAS Robert	LESBROS Daniel	REBOUL Jean
BANSARD Nicole	DUMAZER Romain	LOPEZ François Michel	RIEU Daniel
BAYLET René	ECHENNE Bernard	LORIOT Jean	ROCHEFORT Henri
BILLIARD Michel	FABRE Serge	LOUBATIERES Marie Madeleine	ROUANET DE VIGNE LAVIT Jean Pierre
BLARD Jean-Marie	FREREBEAU Philippe	MAGNAN DE BORNIER Bernard	SAINT AUBERT Bernard
BLAYAC Jean Pierre	GALIFER René Benoît	MARTY ANE Charles	SANCHO-GARNIER Hélène
BLOTMAN Francis	GODLEWSKI Guilhem	MARY Henri	SANY Jacques
BONNEL François	GRASSET Daniel	MATHIEU-DAUDE Pierre	SEGNARBIEUX François
BOURGEOIS Jean-Marie	GUILHOU Jean-Jacques	MEYNADIER Jean	SENAC Jean-Paul
BOUSQUET Jean	GUITER Pierre	MICHEL François-Bernard	SERRE Arlette
BRUEL Jean Michel	HEDON berbard	MION Charles	SOLASSOL Claude
BUREAU Jean-Paul	HERTAULT Jean	MION Henri	VIDAL Jacques
			VISIÉ Jean Pierre

## Professeurs Emérites

ARTUS Jean-Claude	LE QUELLEC Alain
BLANC François	MARES Pierre
BONAFE Alain	MAUDELONDE Thierry
BOULENGER Jean-Philippe	MAURY Michèle
BOURREL Gérard	MESSNER Patrick
BRINGER Jacques	MILLAT Bertrand
CLAUSTRES Mireille	MONNIER Louis
DAURES Jean-Pierre	MOURAD Georges
DAUZAT Michel	PREFAUT Christian
DAVY Jean-Marc	PUJOL Rémy
DEDET Jean-Pierre	RIBSTEIN Jean
ELEDJAM Jean-Jacques	SCHVED Jean-François
GROLLEAU RAOUX Robert	SULTAN Charles
GUERRIER Bernard	TOUCHON Jacques
GUILLOT Bernard	UZIEL Alain
JONQUET Olivier	VOISIN Michel
LANDAIS Paul	ZANCA Michel
LARREY Dominique	

## Docteurs Emérites

PRAT Dominique  
PUJOL Joseph

## ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021

### PERSONNEL ENSEIGNANT

---

#### Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

##### PU-PH de classe exceptionnelle

ALRIC Pierre	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
BACCINO Eric	Médecine légale et droit de la santé
BASTIEN Patrick	Parasitologie et mycologie
BEREGI Jean-Paul	Radiologie et imagerie médicale
BLAIN Hubert	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
BOULOT Pierre	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
CAPDEVILA Xavier	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CHAMMAS Michel	Chirurgie orthopédique et traumatologique
COLSON Pascal	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
COMBE Bernard	Rhumatologie
COSTES Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
COTTALORDA Jérôme	Chirurgie infantile
COUBES Philippe	Neurochirurgie
COURTET Philippe	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
CRAMPETTE Louis	Oto-rhino-laryngologie
CRISTOL Jean Paul	Biochimie et biologie moléculaire
CYTEVAL Catherine	Radiologie et imagerie médicale
DE LA COUSSAYE Jean Emmanuel	Médecine d'urgence
DE WAZIERES Benoît	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
DELAPORTE Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
DEMOLY Pascal	Pneumologie ; addictologie
DOMERGUE Jacques	Chirurgie viscérale et digestive

DUFFAU Hugues	Neurochirurgie
ELIAOU Jean François	Immunologie
FABRE Jean Michel	Chirurgie viscérale et digestive
FRAPIER Jean-Marc	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
HAMAMAH Samir	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
HERISSON Christian	Médecine physique et de réadaptation
JABER Samir	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
JEANDEL Claude	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
JORGENSEN Christian	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
KOTZKI Pierre Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
LABAUGE Pierre	Neurologie
LEFRANT Jean-Yves	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
LEHMANN Sylvain	Biochimie et biologie moléculaire
LUMBROSO Serge	Biochimie et Biologie moléculaire
MERCIER Jacques	Physiologie
MEUNIER Laurent	Dermato-vénéréologie
MONDAIN Michel	Oto-rhino-laryngologie
MORIN Denis	Pédiatrie
PAGEAUX Georges-Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PUJOL Pascal	Biologie cellulaire
QUERE Isabelle	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
RENARD Eric	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
REYNES Jacques	Maladies infectieuses, maladies tropicales
RIPART Jacques	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
ROUANET Philippe	Cancérologie ; radiothérapie
SOTTO Albert	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
TAOUREL Patrice	Radiologie et imagerie médicale

TOUITOU Isabelle	Génétique
VANDE PERRE Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
YCHOU Marc	Cancérologie ; radiothérapie

**PU-PH de 1<sup>re</sup> classe**

AGUILAR MARTINEZ Patricia	Hématologie ; transfusion
ASSENAT Éric	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
AVIGNON Antoine	Nutrition
AZRIA David	Cancérologie ; radiothérapie
BAGHDADLI Amaria	Pédopsychiatrie ; addictologie
BLANC Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
BORIE Frédéric	Chirurgie viscérale et digestive
BOURDIN Arnaud	Pneumologie ; addictologie
CAMBONIE Gilles	Pédiatrie
CAMU William	Neurologie
CANOVAS François	Anatomie
CAPTIER Guillaume	Anatomie
CARTRON Guillaume	Hématologie ; transfusion
CAYLA Guillaume	Cardiologie
CHANQUES Gérald	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CORBEAU Pierre	Immunologie
COULET Bertrand	Chirurgie orthopédique et traumatologique
CUVILLON Philippe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DADURE Christophe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DAUVILLIERS Yves	Physiologie
DE TAYRAC Renaud	Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale
DE VOS John	Histologie, embryologie et cytogénétique



DEMARIA Roland	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
DEREURE Olivier	Dermatologie - vénéréologie
DROUPY Stéphane	Urologie
DUCROS Anne	Neurologie
DUPEYRON Arnaud	Médecine physique et de réadaptation
FESLER Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
GARREL Renaud	Oto-rhino-laryngologie
GENEVIEVE David	Génétique
GUILLAUME Sébastien	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
GUIU Boris	Radiologie et imagerie médicale
HAYOT Maurice	Physiologie
HOUEDE Nadine	Cancérologie ; radiothérapie
KLOUCHE Kada	Médecine intensive-réanimation
KOENIG Michel	Génétique
KOUYOUMDJIAN Pascal	Chirurgie orthopédique et traumatologique
LAFFONT Isabelle	Médecine physique et de réadaptation
LAVABRE-BERTRAND Thierry	Histologie, embryologie et cytogénétique
LAVIGNE Jean-Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
LE MOING Vincent	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
LECLERCQ Florence	Cardiologie
MARIANO-GOULART Denis	Biophysique et médecine nucléaire
MATECKI Stéfan	Physiologie
MORANNE Olivier	Néphrologie
MOREL Jacques	Rhumatologie
NAVARRO Francis	Chirurgie viscérale et digestive
NOCCA David	Chirurgie viscérale et digestive
PASQUIE Jean-Luc	Cardiologie

PERNEY Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
PRUDHOMME Michel	Anatomie
PUJOL Jean Louis	Pneumologie ; addictologie
PURPER-OUAKIL Diane	Pédopsychiatrie ; addictologie
ROGER Pascal	Anatomie et cytologie pathologiques
TRAN Tu-Anh	Pédiatrie
VERNHET Hélène	Radiologie et imagerie médicale

### **PU-PH de 2ème classe**

BOURGIER Céline	Cancérologie; radiothérapie
CANAUD Ludovic	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
CAPDEVIELLE Delphine	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
CLARET Pierre-Géraud	Médecine d'urgence
COLOMBO Pierre-Emmanuel	Cancérologie ; radiothérapie
COSTALAT Vincent	Radiologie et imagerie médicale
DAIEN Vincent	Ophthalmologie
DORANDEU Anne	Médecine légale et droit de la santé
FAILLIE Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
FUCHS Florent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
GABELLE DELOUSTAL Audrey	Neurologie
GAUJOUX Viala Cécile	Rhumatologie
GODREUIL Sylvain	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
GUILPAIN Philippe	Médecine Interne, gériatrie et biologie du vieillissement; addictologie
HERLIN Christian	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brûlologie
IMMEDIATO DAIEN Claire	Rhumatologie
JACOT William	Cancérologie ; Radiothérapie
JEZIORSKI Eric	Pédiatrie

JUNG Boris	Médecine intensive-réanimation
KALFA Nicolas	Chirurgie infantile
LACHAUD Laurence	Parasitologie et mycologie
LALLEMANT Benjamin	Oto-rhino-laryngologie
LE QUINTREC DONNETTE Moglie	Néphrologie
LETOUZEY Vincent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
LONJON Nicolas	Neurochirurgie
LOPEZ CASTROMAN Jorge	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
LUKAS Cédric	Rhumatologie
MENJOT de CHAMPFLEUR Nicolas	Radiologie et imagerie médicale
MILLET Ingrid	Radiologie et imagerie médicale
MURA Thibault	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
NAGOT Nicolas	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
OLIE Emilie	Psychiatrie d'adultes; addictologie
PANARO Fabrizio	Chirurgie viscérale et digestive
PARIS Françoise	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PELLESTOR Franck	Histologie, embryologie et cytogénétique
PEREZ MARTIN Antonia	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
POUDEROUX Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
RIGAU Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
RIVIER François	Pédiatrie
ROSSI Jean François	Hématologie ; transfusion
ROUBILLE François	Cardiologie
SEBBANE Mustapha	Médecine d'urgence
SIRVENT Nicolas	Pédiatrie
SOLASSOL Jérôme	Biologie cellulaire
STOEBNER Pierre	Dermato-vénéréologie

SULTAN Ariane	Nutrition
THOUVENOT Éric	Neurologie
THURET Rodolphe	Urologie
TUAILLON Edouard	Bactériologie-virologie; hygiène hospitalière
VENAIL Frédéric	Oto-rhino-laryngologie
VILLAIN Max	Ophtalmologie
VINCENT Denis	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
VINCENT Thierry	Immunologie
WOJTUSCISZYN Anne	Endocrinologie-diabétologie-nutrition

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

#### 1<sup>re</sup> classe :

COLINGE Jacques (Cancérologie, Signalisation cellulaire et systèmes complexes)

LAOUDJ CHENIVESSE Dalila (Biochimie et biologie moléculaire)

VISIER Laurent (Sociologie, démographie)

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES - Médecine générale**

#### 1<sup>re</sup> classe :

LAMBERT Philippe

AMOUYAL Michel

### **PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine Générale**

CLARY Bernard

DAVID Michel

GARCIA Marc

## **PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine**

BESSIS Didier (Dermato-vénérologie)

MEUNIER Isabelle (Ophtalmologie)

MULLER Laurent (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

PERRIGAULT Pierre-François (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

QUANTIN Xavier (Pneumologie)

ROUBERTIE Agathe (Pédiatrie)

VIEL Eric (Soins palliatifs et traitement de la douleur)

## ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021

### PERSONNEL ENSEIGNANT

---

---

#### Maîtres de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers

##### MCU-PH Hors classe - Echelon Exceptionnel

RICHARD Bruno	Médecine palliative
SEGONDY Michel	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

##### MCU-PH Hors classe

BADIOU Stéphanie	Biochimie et biologie moléculaire
BOULLE Nathalie	Biologie cellulaire
CACHEUX-RATABOUL Valère	Génétique
CARRIERE Christian	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
CHARACHON Sylvie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
FABBRO-PERAY Pascale	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GIANSILY-BLAIZOT Muriel	Hématologie ; transfusion

##### MCU-PH de 1<sup>re</sup> classe

BERTRAND Martin	Anatomie
BOUDOUSQ Vincent	Biophysique et médecine nucléaire
BRET Caroline	Hématologie biologique
BROUILLET Sophie	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
COSSEE Mireille	Génétique
GIRARDET-BESSIS Anne	Biochimie et biologie moléculaire
LAVIGNE Géraldine	Hématologie ; transfusion
LESAGE François-Xavier	Médecine et Santé au Travail
MARTRILLE Laurent	Médecine légale et droit de la santé
MATHIEU Olivier	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie

MOUZAT Kévin	Biochimie et biologie moléculaire
PANABIERES Catherine	Biologie cellulaire
RAVEL Christophe	Parasitologie et mycologie
SCHUSTER-BECK Iris	Physiologie
STERKERS Yvon	Parasitologie et mycologie
THEVENIN-RENE Céline	Immunologie
<b><u>MCU-PH de 2<sup>ème</sup> classe</u></b>	
BERGOUGNOUX Anne	Génétique
CHIRIAC Anca	Immunologie
DE JONG Audrey	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DU THANH Aurélie	Dermato-vénéréologie
FITENI Frédéric	Cancérologie ; radiothérapie
GOUZI Farès	Physiologie
HERRERO Astrid	Chirurgie viscérale et digestive
HUBERLANT Stéphanie	Gynécologie-obstétrique ; Gynécologie médicale
KUSTER Nils	Biochimie et biologie moléculaire
MAKINSON Alain	Maladies infectieuses, Maladies tropicales
PANTEL Alix	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
PERS Yves-Marie	Thérapeutique; addictologie
ROUBILLE Camille	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
SZABLEWSKY	Anatomie et cytologie pathologiques

## **Maîtres de Conférences des Universités - Médecine Générale**

### **MCU-MG de 1<sup>re</sup> classe**

COSTA David

OUDE ENGBERINK Agnès

### **MCU-MG de 2<sup>ème</sup> classe**

FOLCO-LOGNOS Béatrice

CARBONNEL François

## **Maîtres de Conférences associés - Médecine Générale**

CAMPAGNAC Jérômes

LOPEZ Antonio

MILLION Elodie

PAVAGEAU Sylvain

REBOUL Marie-Catherine

SERAYET Philippe



**ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021**

---

PERSONNEL ENSEIGNANT

**Maitres de Conférences des Universités**

Maîtres de Conférences hors classe

BADIA Eric	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
CHAZAL Nathalie	Biologie cellulaire

Maîtres de Conférences de classe normale

BECAMEL Carine	Neurosciences
BERNEX Florence	Physiologie
CHAUMONT-DUBEL Séverine	Sciences du médicament et des autres produits de santé
DELABY Constance	Biochimie et biologie moléculaire
GUGLIELMI Laurence	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
HENRY Laurent	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
HERBET Guillaume	Neurosciences
LADRET Véronique	Mathématiques appliquées et applications des mathématiques
LAINÉ Sébastien	Sciences du Médicament et autres produits de santé
LE GALLIC Lionel	Sciences du médicament et autres produits de santé
LOZZA Catherine	Sciences physico-chimiques et technologies pharmaceutiques
MAIMOUN Laurent	Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
MOREAUX Jérôme	Science biologiques, fondamentales et cliniques
MORITZ-GASSER Sylvie	Neurosciences
MOUTOT Gilles	Philosophie
PASSERIEUX Emilie	Physiologie
RAMIREZ Jean-Marie	Histologie
RAYNAUD Fabrice	Sciences du Médicament et autres produits de santé
TAULAN Magali	Biologie Cellulaire

## ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021

### PERSONNEL ENSEIGNANT

---

#### Praticiens Hospitaliers Universitaires

BARATEAU Lucie	Physiologie
BASTIDE Sophie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
CAZAUBON Yoann	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
DAGNEAUX Louis	Chirurgie orthopédique et traumatologique
DUFLOS Claire	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
GOULABCHAND Radjiv	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
LATTUCA Benoit	Cardiologie
MARIA Alexandre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
MIOT Stéphanie	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
SARRABAY Guillaume	Génétique
SOUCHE François-Régis	Chirurgie viscérale et digestive

## ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021

### PERSONNEL ENSEIGNANT

#### PH chargés d'enseignements

ABOUKRAT Patrick	BLANCHET Catherine	COROIAN Flavia-Oana	GINIES Patrick
AKKARI Mohamed	BLATIERE Véronique	COUDRAY Sarah	GRECO Frédéric
ALRIC Jérôme	BOBBIA Xavier	CRANSAC Frédéric	GUEDJ Anne Marie
AMEDRO Pascal	BOGE Gudrun	CUNTZ Danielle	GUYON Gaël
AMOUROUX Cyril	BOURRAIN Jean Luc	DARDALHON Brigitte	HENRY Vincent
ANTOINE Valéry	BOUYABRINE Hassan	DAVID Aurore	JAMMET Patrick
ARQUIZAN Caroline	BRINGER-DEUTSCH Sophie	DE BOUTRAY Marie	JEDRYKA François
ATTALIN Vincent	BRINGUIER BRANCHEREAU Sophie	DE LA TRIBONNIÈRE Xavier	JREIGE Riad
AYRIGNAC Xavier	BRISOT Dominique	DEBIEN Blaise	KINNE Mélanie
BADR Maliha	BRONER Jonathan	DELPONT Marion	LABARIAS Coralie
BAIS Céline	CADE Stéphane	DENIS Hélène	LACAMBRE Mathieu
BARBAR Saber Davide	CAIMMI Davide Paolo	DEVILLE de PERIERE Gilles	LANG Philippe
BASSET Didier	CARR Julie	DJANIKIAN Flora	LAZERGES Cyril
BATIFOL Dominique	CARTIER César	DONNADIEU-RIGOLE Hélène	LE GUILLOU Cédric
BATTISTELLA Pascal	CASPER Thierry	FAIDHERBE Jacques	LEGLISE Marie Suzanne
BAUCHET Luc	CASSINOTTO Christophe	FATTON Brigitte	LOPEZ Régis
BENEZECH Jean-Pierre	CATHALA Philippe	FAUCHERRE Vincent	LUQUIENS Amandine
BENNYS Karim	CAZABAN Michel	FILLERON Anne	MANZANERA Cyril
BERNARD Nathalie	CHARBIT Jonathan	FITENI Frédéric	MARGUERITTE Emmanuel
BERTCHANSKY Ivan	CHEVALLIER Thierry	FOURNIER Philippe	MARTIN Lucille
BIBOULET Philippe	CHEVALLIER-MICHAUD Josyane	GAILLARD Nicolas	MATTATIA Laurent
BIRON-ANDREANI Christine	COLIN Olivier	GALMICHE Sophie	MEROUEH Fadi
BLANC Brigitte	CONSEIL Mathieu	GENY Christian	MEYER Pierre
BLANCHARD Sylvie	CORBEAU Catherine	GERONIMI Laetitia	MILESI Christophe

MORAU Estelle	SEGURET Fabienne
MOSER Camille	SENESSE Pierre
MOUSTY Eve	SKALLI El Medhi
MOUTERDE Gaël	SOLA Christelle
PANSARD Nicole	SOULLIER Camille
PERNIN Vincent	STOEBNER DELBARRE Anne
PERRIGAULT Pierre François	TEOT Luc
PEYRON Pierre-Antoine	THIRION Marina
PICARD Eric	VACHIERY-LAHAYE Florence
PICOT Marie Christine	VERNES Eric
PIERONI Laurence	VINCENT Laure
POQUET Hélène	WAGNER Laurent
PUJOL Sarah-Lise	ZERKOWSKI Laetitia
PUPIER Florence	
QUANTIN Xavier	
RAFFARD Laurence	
RAPIDO Francesca	
RIBRAULT Alice	
RICHAUD-MOREL Brigitte	
RIDOLFO Jérôme	
RIPART Sylvie	
RONGIERES Michel	
ROULET Agnès	
RUBENOVITCH Josh	
SANTONI Fannie	
SASSO Milène	
SCHULDINER Sophie	

## Remerciements

Au Professeur Jean Yves Lefrant,

Merci d'avoir accepté de diriger ce jury. Merci d'avoir cru en moi dès le début de mon internat, alors que je n'y croyais pas moi même, et de nous inculquer des valeurs éthiques fondamentales dans notre pratique.

Au Professeur Xavier Capdevila,

Merci pour votre empathie et votre bienveillance qui m'ont particulièrement touchée au cours de mon internat, ainsi que pour votre implication sans faille en tant que coordonnateur du DES.

Au Professeur Laurent Muller,

Merci pour ta pédagogie inégalable, tes nombreux enseignements, tes connaissances qui nous paraissent sans limite. Merci pour ta grande humanité et pour l'exemple que tu nous donnes.

Au Docteur Claire Roger,

Merci de ton accompagnement dans ce projet. Ta rigueur et ton implication sont d'une constance remarquable. Je t'admire énormément comme médecin et comme femme. J'espère que ce travail est à la hauteur de tes attentes, et que l'on pourra continuer d'explorer ce vaste sujet ensemble.

Merci à ceux sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour,

A Benjamin, merci pour tes compétences statistiques, ta disponibilité permanente et ta réactivité.

A Guillaume, merci pour ton immense implication dans ce protocole de recherche et ton expérience en recherche expérimentale.

A Marylène, merci pour ta motivation et ta gentillesse, et merci d'être un pilier de ce laboratoire de recherche.

A mes parents, qui m'ont toujours soutenue, accompagnée, qui ont cru en moi, qui ont tout donné pour que mes rêves se réalisent. Vous êtes profondément altruistes, bienveillants et aimants. J'ai la chance d'avoir grandi dans un cocon d'amour, qui me suivra toute ma vie et m'inspire dans ma vie de jeune maman. Merci Maman, pour cette si belle relation que nous entretenons, pour nos nombreux messages quotidiens, pour cette oreille attentive. Merci Papa, pour ta disponibilité, ta gentillesse et ta joie de vivre. Je vous aime.

A Thibaut, mon grand frère qui a toujours raison, ce (fin) gourmet(and) qui nous fait découvrir de nouvelles saveurs. Tu es un vrai épicurien et chaque jour est une fête quand on est avec toi.

A Isadora, qui ne rêve pas d'une belle sœur aussi attentionnée et profondément gentille que toi ? A Eleanor, nous venons juste de nous rencontrer, mais je t'aime déjà tant !!

Je vous souhaite tout le bonheur possible dans votre vie barcelonaise, vous le méritez tellement !

A Papi et Mamie, merci pour tout cet amour dont vous m'entourez depuis toujours. Quel bonheur de passer ma thèse aujourd'hui devant vous. Je sais que cela vous rend fiers ! Vous êtes à la fois le ciment et l'équilibre de la famille. Nos vacances aux Gets et les moments passés chez vous font partie de mes plus beaux souvenirs d'enfance.

A Papi Alain et Claudette, merci pour votre soutien constant.

A mes chers oncles et tantes, Gus et Colette, Valérie et Philippe, Cybèle et Eric, Jean Alain et Véro, Brigitte et Philippe. Je prends toujours autant de plaisir à vous voir autour d'un bon repas de famille !

A mes cousins, Fanny ma petite cousine qui n'est plus si petite, Maxime le futur chef 3 étoiles, Paul le débrouillard, Jules le malin, Antoine le passionné, Alex, qui commence sa vie d'adulte et Adélaïde, la meilleure élève de rubiks que l'on ait connue !

Aux Jouitteau, ma belle famille adorée. A Martine et Xavier pour m'avoir intégrée si facilement et pour toute la tendresse que vous m'apportez. A Hervé, Anne Laure, Yann, Guillemette, Fanny et Armel et aux adorables petites nièces. Je suis profondément heureuse d'avoir rejoint la tribu Jouitteau, nid d'amour et de bienveillance où je me sens bien.

A Astrid, pour cette amitié indéfectible depuis bientôt 25 ans, qui n'a jamais vacillé ni faibli. Tu es un pilier de ma vie, et tu fais partie de ma famille. Je repense avec émotion à nos séances photos d'adolescentes, à thepoire et astridou5, au mollusque, au carnet-super-secret-que-personne-ne-doit-lire. Merci d'être toujours à mes côtés.

A Chalo, dont la bonne humeur n'a d'égale que le sourire. La distance ne nous a pas éloignées mais je suis tellement heureuse que tu sois revenue dans le Sud partager encore de belles aventures.

A Pauline pour ton soutien permanent, tes petites attentions toujours au bon moment. A Laurent et Elise, ta petite famille que j'apprécie tant.

Aux J4CA, les aventures, ah, J4CA moi j'adore ça ! Ca a commencé en 3E et ça continue encore et encore ! Quel bonheur de continuer de vous retrouver, de voir vos petites familles s'agrandir et de continuer à grandir ensemble (on dit vieillir ??).

A Saskia, pour ta disponibilité H24, tes conseils mode et la bienveillance que tu dégages. Chaque fois que l'on se retrouve, c'est comme si on ne s'était jamais quittées ! Je crois que c'est ça, la vraie amitié. Tu es une confidente hors pair. Tu me manques énormément en ces temps !

A Baptiste, parce qu'à vrai dire, c'est quand même grâce à nos sous colles qu'on en est là, non ? Ève et ont de la chance de vous avoir comme parents !

A Jojo, la bonne humeur et la spontanéité incarnée. Tu es une femme forte et pleine de vie.

A Emilie, ton optimisme en toute circonstance est une qualité inébranlable.

A Florian, même si notre relation partait mal en P1, on a rectifié le tir !

Aux Martine, merci de m'avoir intégrée au clan. J'ai appris à connaître et apprécier chacun d'entre vous et je m'estime chanceuse d'avoir croisé votre chemin ! Il est grand temps que nous nous retrouvions.

A Marion, ma copine de grossesse et de jeune maman ! J'ai adoré partager nos ressentis, nos galères et nos émotions.

A Colin, le meilleur parrain pour Léa et à Sandra, notre talentueuse photographe officielle. Et à Eloise évidemment, même si tu m'appelles Chacouch.

A la SFARMILLE. Vous êtes ma famille d'internat. Aurait-on pu espérer une plus belle équipe pour enflammer les soirées parisiennes ?

A Matou, mon acolyte de la première heure. Tu es un concentré de bonheur et tu irradies sur ton passage. J'adore t'écouter raconter tes histoires improbables autour d'un bon vin, parfaitement choisi. A Rémy, alias Léon, qui trace sa route sans tergiverser. J'admire ta détermination et aussi tes punch line. A Julien le bon père de famille et au réseau PICO-les bons tuyaux qui me fascinera toujours ! A Chris le bienheureux fan de juji-K. Les poulpes de palavas n'ont qu'à bien se tenir avec toi ! A Choupi, le maître incontesté des câlins (et des léchouilles d'oreilles).

Aux cointernes du DAR A, quel drôle de semestre nous avons passé ensemble ! Ecourté mais intense. Florène la chef de la rébellion, Asma et sa bonne humeur incroyable, Tiphaine et son humanité, Marwane le chasseur cueilleur, Yannis la star que l'on voit partout, Clément la force tranquille, Gauthier et son humour pince sans rire, Geoffrey et ses memes inégalables, Pierre et sa zen attitude.

A Laure et celle-dont-il-ne-faut-pas-prononcer-le-prénom, merci pour ton humour. Je n'ai jamais rencontré une personne ayant autant d'autodérision. T'es vraiment pas qu'un physique !

A Jérem, notre papa pingouin qui nous a accompagnés et guidés dans nos premiers semestres d'internat.

A Juju. Merci de m'avoir sauvée de multiples traumatismes crâniens, je te revaudrai ça !

A Oflo, avec qui on peut ambiancer la baraque en moins de 5 minutes. Merci pour tes idées farfelues, sans toi je ne me serai jamais sentie telle Marie Antoinette ! Il n'y a qu'avec vous qu'on pouvait faire un feu d'artifice sur le toit du CTS.

A Alice, la pile électrique. J'admire ton énergie et ton aplomb !

A Stéph et son goût de la vie et de la bonne bouffe !

Aux Ollick, nos tellement plus que voisins. Margot-oui-oui, la vraie 2 qui pense tellement aux autres. Max le 6 intransigeant et droit. On partage notre quotidien avec vous, et c'est toujours une joie de vous retrouver pour un apéro, un débriefing

Aux Pernier. les débordants d'énergie. Je ne peux que te remercier Big Mo, de t'impacter dans ma vie. Nico, j'apprécie tellement ta constance d'humeur et ta droiture (un 5 tout craché), je me fais une joie de travailler avec toi ! Le camp Pernier a de beaux jours devant lui !



A David, l'enfant échappé du monde de Peter Pan. Celui qui est toujours enjoué, toujours souriant et toujours chaud, que ce soit pour une sortie escalade, une aprem jeux ou un gros apéro.

Aux Penguinine, à Charlotte pour tes conseils de maternité avisés et ton inspiration bobo zéro déchet, à Simon pour les soirées shooter airlines et à Sacha, le prétendant de Léa !

A Dudu, ma principale rivale à catane et Valou le maître des 7 merveilles.

Au lutin farceur, merci d'avoir égayé ces 2 confinements !

A Nathan et Harmony, une belle rencontre réunionnaise. Le sommet du cimendef n'était que le début, j'ai hâte d'affronter les grandes voies du Verdon avec vous !

Aux aigles, les colloqs d'amour qui me manquent beaucoup !! Gouzou qui a la poudre au nez, Alice et sa fraîcheur, Nolan et sa maturité, Ludi et son empathie profonde, et puis Simon, le petit dernier arrivé qui n'a fait que rendre les choses encore plus folles.

A Jonathan Manzanera pour m'avoir donné l'envie de faire de l'anesthésie réanimation. En faisant ma première garde d'interne avec toi, j'ai bouclé la boucle !

Aux médecins de la réa Nord de St Denis, complètement zinzins mais tellement gentils ! Merci pour tout ce que j'ai appris pendant mon semestre chez vous, c'était tellement riche et intense ! J'espère tous vous recroiser.

A l'équipe d'anesthésie pédiatrique, merci de m'avoir accueilli à 2 reprises. Votre travail d'équipe est un exemple pour nous tous.

A l'équipe de la réanimation chirurgicale de Nîmes, mon coup de cœur de l'internat. J'ai hâte de revenir travailler avec vous tous !

Au personnel de la réanimation de Narbonne, vous êtes d'une gentillesse et d'une bienveillance remarquables. J'ai adoré venir travailler avec vous dans la bonne humeur et la sérénité.

A Léa. C'est comme si tu avais toujours été dans nos vies. Je n' imagine plus ma vie sans toi. Un seul de tes sourires fait exploser mon cœur d'amour. J'ai une chance infinie d'être la maman d'une petite fille si pétillante et si pleine de vie ! Je t'aime de toute mon âme.

A Timothée. Merci de me faire vivre cette aventure incroyable , celle dont on parle dans les livres, celle du grand Amour. Merci de me pousser à découvrir tant de nouvelles choses, à me dépasser. Merci d'être ce conjoint si attentionné, si doux, si drôle et si rassurant. Merci d'être ce père de famille débordant d'amour, investi et joueur ! J'ai une chance infinie de vivre avec un matelot, un grimpeur, un créateur de site internet, un lutin, un squasheur du dimanche, un jongleur, un champion de cube, un chasseur sous marin et un boulanger hors pair.

Notre histoire ne fait que commencer, et je serai tellement heureuse de vieillir à tes côtés. Et te donner encore plein de médailles.

**Effects of fluid therapy on mesenteric microcirculation  
using a new probe-based confocal laser  
endomicroscopy (Cellvizio®) in an endotoxemic porcine  
model.**

Charlotte Daniere<sup>1</sup>, Guillaume Louart<sup>1,2</sup>, Benjamin Louart<sup>1,2</sup>, Marylène Peltier<sup>2</sup>, Florian Bazalgette<sup>1,2</sup>, Antonia Perez Martin<sup>2</sup>, Laurent Muller<sup>1,2</sup>, Jean-Yves Lefrant<sup>1,2</sup>, Claire Roger<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Department of Intensive care medicine, Division of Anesthesiology, Intensive Care, Pain and Emergency Medicine, Nîmes University Hospital, Nîmes, France

<sup>2</sup> EA2992, Caractéristiques Féminines des Dysfonctions des Interfaces Vasculaires, Université de Montpellier-Nîmes, Nîmes France.

Corresponding author : Charlotte DANIERE, Department of Intensive care medicine, Division of Anesthesiology, Intensive Care, Pain and Emergency medicine, Nîmes University Hospital, Place du Professeur Robert Debré, 30 029 Nîmes cedex 9, France. Tel: +33 (0)4 66 68 30 50. [Données anonymisées pour mise en ligne]. ORCID 0000-0002-4176-7713

## **ABSTRACT (247 words)**

*BACKGROUND* : Microcirculatory alterations have been observed at the early phase of sepsis, although macrocirculation seems preserved. The aim of this study was to analyze the effect of crystalloid fluid therapy on mesenteric microcirculation, assessed by the confocal laser endomicroscope Cellvizio ®, in a porcine model of endotoxemic shock.

*METHODS* : Prospective endotoxemic shock (lipopolysaccharide LPS infusion) experimental trial . Piglets were divided into 3 groups: 6 in the sham group (no LPS injection, no fluid), 9 in the control group (LPS infusion, no fluid), and 6 in the crystalloids group (LPS infusion and fluid resuscitation with crystalloids). Fluid resuscitation consisted in a fluid bolus of 20 mL/kg 0.9% saline over 30 minutes followed by a 10 mL/kg/h fluid rate over 4 hours. Mesenteric microcirculation was assessed using a confocal laser endomicroscope (Cellvizio ®). Blood flow within capillaries was visually assessed according to the point of care microcirculation (POEM) score.

*RESULTS* : At baseline, the 3 groups were similar regarding hemodynamic, biological and microcirculatory parameters. At T360, the POEM score significantly decreased in the control and crystalloids groups, whereas it remained unchanged in the sham group (respectively  $1.62 \pm 1.06$  ,  $1.2 \pm 0.45$  and  $5.0 \pm 0$ ,  $p=0,011$ ) There was no significant difference in cardiac output at T360 between the sham and crystalloids groups ( $3.1 \pm 0.8$  vs  $2.3 \pm 0.6$  ,  $p=0.132$ ) or between the control and crystalloids groups ( $2.0 \pm 0.6$  vs  $2.3 \pm 0.6$ ,  $p=0.90$ ).

*CONCLUSION* : There was no significant improvement of microcirculatory alterations after crystalloids resuscitation despite improvement in macrocirculatory parameters in early experimental sepsis.

Keywords : sepsis, endotoxinic shock, microcirculation, crystalloid, cellvizio, confocal laser endomicroscopy

## **BACKGROUND**

Microcirculation represents the anatomical structure where oxygen and nutrients exchange and the largest surface organ in the human body. During sepsis, pathophysiological alterations in microcirculation occur(1), inducing tissue hypoperfusion and cellular hypoxia(2)(3), leading to multi-organ failure.

Endothelial dysfunction is both a marker and the cause of organ failure. Johansson et al. introduced the concept of SHINE "shock-induced endotheliopathy" which gathers endothelial alterations found in different states of shock, strongly associated with poor outcome (4)(5). Microcirculatory alterations have been observed at the early phase of sepsis, even though macrocirculation seems preserved (i.e loss of haemodynamic coherence(6)(7). Usually, these alterations are described as a decrease in vascular density ("capillary rarefaction") and a decrease in capillary perfusion all together called functional capillary density (FCD) , the main determinant of tissue oxygenation. During sepsis, a wide heterogeneity in microcirculation alterations has been described, as all vascular territories may not be affected in the same way. This heterogeneity has been associated with an altered and low capillary blood flow(8).

Most of previous studies focusing on microcirculation analysis in septic shock evaluated sublingual microcirculation, using several evaluation tools such as the SDF (Sidestream Dark Field), IDF (Incident Dark Field), OPS (Orthogonal Polarization Spectral), or the NIRS (Near InfraRed Spectroscopy)(9)(10). Although these studies have resulted in important observations on the prognostic implications of microcirculatory alterations in critically ill patients, it remains questioned whether sublingual microcirculation alterations may adequately reflect microcirculatory intestinal alterations, at least at the early phase of sepsis.(11)

During sepsis, it is known that gut can become a pro-inflammatory organ making SIRS (systemic inflammatory response syndrome) worse and leading to multiple organ failure in a vicious circle(12). Besides, a real-time in vivo analysis of the microcirculation with these tools seems more challenging and time consuming as it requires a significant reprocessing of the images.

The probe-based confocal laser endomicroscope (Cellvizio®) firstly developed to guide abdominal and pulmonary biopsies has the advantage to allow a real-time in vivo visualization of the capillaries while fluorescent dyes such as FITC dextran are concomitantly used (13). Laemmel et al showed that fiber confocal fluorescence microscopy (FCFM) allows to study the microcirculation in vivo, with a very high correlation ( $R^2=0,98$ ) to intravital fluorescence microscopy. FCFM brings advantages such as confocality (avoiding the superposition of vessels), portability due to the small size of the probe and a good spatial resolution. FCFM allows to study the organ in its physiological environment (14). To date, only one study has reported Cellvizio® data in a porcine model of septic shock but its use was mainly endoluminal, and only focused on histological analysis of the intestinal mucosa.(15)

Another way to monitor microcirculation is through endothelial cell related biomarkers such as soluble VEGF receptor, syndecan, soluble thrombomodulin, angiopoietins 1 and 2, highly correlated with glycocalyx damages. (16)

We chose an endotoxinic shock model induced by a LPS infusion, to get as close as possible to the capillary hyperpermeability linked to sepsis.

We have previously investigated the effects of fluid resuscitation during different types of shock(17)(18). However, these studies focused on macrocirculatory effects of fluid. There is increasing evidence that normalization of the microcirculation and

maintenance of end-organ perfusion may be of great value in sepsis management (19)Whether fluid administration improves microcirculation in the acute phase of septic shock remains controversial (20)

We thus sought to perform an experimental study to assess the effects of crystalloid fluid therapy on mesenteric microcirculation, using a new device, the confocal laser endomicroscope Cellvizio®, in a porcine model of endotoxin shock.



## Methods

This study was conducted as a prospective experimental trial in a piglet model. The Animal Care and Use Committee Languedoc-Roussillon (CEEA-LR-12013) approved the protocol and all experiments were performed in an authorized animal research laboratory. All facilities and transport comply with current legal requirements.

Twenty-one female piglets weighing  $32 \pm 3$  kg were fasted over night prior to the experiment, with free access to water. The animals were intravenously anesthetized with sufentanil ( $0.3\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and propofol (bolus of  $3\text{mg}/\text{kg}$  followed by  $1\text{mg}/\text{kg}/\text{h}$ ) after intramuscular premedication with ketamine ( $15\text{mg}/\text{kg}$ ) and midazolam ( $1\text{mg}/\text{kg}$ ) and mechanically ventilated after surgical tracheotomy with an inspired fraction of oxygen of 0.21, a tidal volume of  $8 \text{ mL}/\text{kg}$ , a positive end-expiratory pressure of  $5 \text{ cm H}_2\text{O}$  delivered by a Dräger™ ventilator. An internal jugular central venous line and a PiCCO™ femoral arterial catheter were inserted under ultrasound guidance. A urinary catheter was surgically placed in the bladder by a midline minilaparotomy.

### *Study protocol (Figure 1)*

After surgical preparation, animals were stabilized for 30 minutes. Baseline measurements were performed and piglets were then assigned to one of the 3 study groups: 6 piglets in the sham group (no LPS injection, no fluid), 9 in the control group (LPS infusion, no fluid), and 6 in the experimental crystalloid group (LPS infusion and fluid resuscitation with crystalloids).

Basal hydration with polyionic glucose solution at  $100 \text{ ml}/\text{h}$  was infused during the whole experiment.

At T0, endotoxemic shock was induced by infusing an *Escherichia coli* O111:B4 lipopolysaccharide (4%) at a dose of 150 µg/kg over 30 minutes. (21) At T120, 0.9% saline fluid resuscitation was started as a bolus of 20 mL/kg over 30 minutes followed by a 10 mL/kg/h infusion rate for 3.5 hours in the crystalloids group.

A protocolized haemodynamic resuscitation was performed by trained intensivists in all study groups: a vasopressor support with norepinephrine and dobutamine were administered when necessary, to maintain mean arterial pressure (MAP) above 65 mmHg, according to current recommendations on sepsis management. (22).

Euthanasia was performed at the end of the experiment under general anesthesia with an overdose of thiopental (60 à 80 mg/kg)

#### *Haemodynamic data :*

From the transpulmonary thermodilution PiCCO™ analysis, the following parameters were recorded at T0, T60, T180 and T360: cardiac output (CO), global end diastolic volume (GEDV), extravascular lung water (EVLW), pulmonary vascular permeability index (PVPI), indexed stroke volume (SVI), systemic vascular resistances (SVR). From the pulse contour PiCCO™ analysis, stroke volume variations (SVV), pulse pressure variations (PPV), and dP/dt max (an index of cardiac contractility) were collected. Additional haemodynamic data were recorded at T0, T60, T180 and T360: MAP, heart rate (HR), central venous pressure (CVP) and urine output.

#### *Microcirculation assessment*

We used a probe-based confocal laser endomicroscope (Cellvizio®, Mauna Kea technology, France) with the concomitant administration of 1 mL of an intravascular

dye, FITC dextran (70 kDa) to assess the mesenteric microcirculation. The procedure was standardized: the mesenteric network was visualized by affixing the laser probe in gentle contact with the mesentery without damaging the vessels, at the ileal segment level accessed from the minilaparotomy performed for the urinary catheter. The mesentery was maintained hydrated with warmed saline throughout microcirculation analysis. The CellVizio® was used at T0, T180 and T360. Images were recorded in vivo in a real time manner by the CellViewer software as digital sequences of at least 60 s duration (12 frames per second) (23) and analysed thereafter using the Cellviewer® software to collect FCD, mean vessel diameter (MVD), and total vessel length (TVL), according to the Cardiovascular and dynamics section of the ESICM latest recommendations(24). The vessel detection algorithm detects the medial axis and the border of tubular structures represented by FITC-induced contrast in a specified region of interest (ROI). The length, area, and diameter of the capillaries were calculated as a mean of these tubular structures. For quantification of FCD, the quotient of the capillary area divided by the total area of a given ROI was calculated. Blood flow within the capillaries was also visually scored according to the POEM score as previously described.(25)

Briefly, the POEM scoring system is a 5-point ordinal scale that integrates assessments of both flow and heterogeneity. It enables assessing real-time microcirculatory parameters determined on four video clips from the same piglet at the same time point according to the POEM methodology, i.e, from 1 (critically impaired) to 5 (normal flow without heterogeneity). (supplemental material 1) In order to evaluate POEM score agreement and reliability, all videos were analyzed twice by the same observer blinded

to study group allocation and results of first assessment. A second observer independently analyzed the videos and performed POEM scoring.

### *Laboratory measurements*

Standard lab tests were performed at T0 and T360.

At T0 and T360, soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (sVEGFR) levels were measured in duplicate using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) according to the manufacturer's instructions.

### *Statistical analysis*

Statistical analysis was performed using R software (version 3.3.2) (26). Data are presented as medians and interquartile range (25<sup>th</sup> to 75<sup>th</sup> percentiles) for continuous variables, absolute values and percentages for categorical variables. Groups were compared using the Mann-Whitney rank-sum test. Because of multiple testing, to ensure a global type I error of 0.05 (5%), for each test the level of significance was set at 0.016 (1.6%) thanks to the Bonferroni's correction.(27) To assess inter-rater and intra-rater agreement for the POEM score, we computed the proportion of overall and specific agreement(28). We checked the reliability of this scoring thanks to the weighted Cohen's kappa(29) (30). We also calculated 95% confidence intervals with a non-parametric bootstrap approach consisting in resampling 10000 times with no replacement and using the accelerated bias corrected percentile method(31).

## Results

At baseline, haemodynamic, biological and microcirculatory parameters were similar between the three study groups (Table 1).

No death occurred within the 6 hours of the experiment.

### *Macrocirculatory parameters*

MAP was maintained above 65 mmHg during the 6 hours of experiment for 90.5% of the piglets (19/21). At T360, CO was significantly lower in the control group compared to the sham group ( $p=0.005$ ) (Table 2a). There was no significant difference in CO at T360 between the sham and crystalloids groups ( $p=0.132$ ). Urine output was significantly lower in both control and crystalloids groups compared to the sham group ( $p=0.009$  and  $p=0.004$ , respectively).

### *Microcirculatory parameters*

We obtained analyzable images using the Cellvizio® endomicroscope in 90,5% of the cases (Figure 2). We did not find any significant difference in FCD and MVD between the three study groups at any time whereas TVL was not evaluable due to respiratory variations. (Table 2b) At T360, the POEM score was significantly lower in the control and crystalloids groups ( $p=0.005$  and  $p=0.011$ , respectively), whereas it remained unchanged in the sham group (Table 2b, Figure 3). The proportion of inter-rater agreement was 45.6% (95% CI [33.3-57.9]). The weighted kappa coefficient was 0.68 (95% CI [0.50-0.81]).

The proportion of intra-rater agreement was 57.9% (95% CI [45.6-70.2]). The weighted kappa coefficient was 0.84 (95% CI [0.71-0.92]).

### *Laboratory variables*

Biological data are shown in Table 2c. At T360, bicarbonates were lower in the crystalloids group compared to the sham group ( $p=0,008$ ). At T360, sVEGFR1 levels were significantly higher in both control and crystalloids groups compared to the sham group ( $p=0,001$  and  $p=0,004$ , respectively). There were no significant difference between control and crystalloids group. ( $p=0,8662$ ) (Figure 4)

## Discussion

### *Key findings*

To our knowledge, this is the first study reporting the effects of crystalloids infusion on mesenteric microcirculation assessed by a probe-based confocal laser endomicroscopy (Cellvizio®) in early experimental sepsis. Our results show no significant improvement of microcirculatory alterations after crystalloids resuscitation despite improvement in macrocirculation. Microcirculation assessment tools should be considered to guide haemodynamics resuscitation in sepsis. We report the feasibility of using a probe-based confocal laser endomicroscopy Cellvizio® in the experimental setting to better understand microcirculatory alterations.

### *Relationship with previous papers*

Sepsis treatment guidelines (22) mainly focus upon the normalization of macrocirculatory alterations, with less attention to restore microcirculatory dysfunction that has been shown to worsen outcomes.(32) Increased microcirculatory blood flow during sepsis resuscitation has been correlated with reduced organ failure at 24h even while macrocirculation remains unchanged, supporting the hypothesis that therapeutic interventions should specifically target microcirculation goals to potentially improve organ failure in sepsis. (33) In septic patients, fluid resuscitation is a vital component of patient management. However, in our study, crystalloids fluid resuscitation did not improve microcirculatory dysfunction. These findings are in accordance with previous experimental studies focusing on the effects of fluid resuscitation on microvascular dysfunction in septic shock. Lopez et al. previously reported persistent sublingual microvascular dysfunction despite early haemodynamic resuscitation using crystalloids

infusion and vasopressors in an endotoxin shock.(34) Similarly, Ergin et al. demonstrated that fluid administration partially resolves LPS-induced shock whatever the type of fluid considered (0.9% NaCl, hydroxyethyl starch-ringer acetate solution)(35) whereas Danieni et al. showed that only 20% albumin restored microcirculatory haemodynamics. (36) On the opposite, clinical studies found an improvement in microcirculatory parameters such as microvascular flow index (MFI) after fluid therapy among patients with an initial significant alteration of MFI (<2.6) (37) especially at the early phase of sepsis. (38) However, none of these studies have evaluated intestinal microcirculation.

Several tools have been proposed to assess microcirculatory alterations during experimental sepsis. Handheld microscope devices using high-resolution image sensors and incident dark field imaging allowing automatic analysis of images have been widely studied(39). Only one study reported microcirculatory assessment using the probe-based confocal laser endomicroscopy Cellvizio® in a porcine model of septic shock. (15) In this experimental study, the authors observed a decrease in FCD during sepsis that was reversible with fluid administration. These results differ from what we observed mainly because microcirculation was assessed at the mucosal perfusion level while in the present study we focused on studying mesenteric circulation. Furthermore, Schmidt et al. used colloids resuscitation that has been shown to have greater effects on microcirculation compared to saline (40).

Interestingly, our results confirm the feasibility of using the Cellvizio® endomicroscope in the experimental setting allowing the *in vivo* and real time visualization of pathological microcirculatory flows using a relatively simple score that would be easier to implement at bedside. It has been previously reported that a visual assessment by



a trained operator is a reliable surrogate of a calculated value (41). In the present study, inter-rater agreement was good especially for the extreme values of the POEM score (1 or 5) enabling to reproducibly categorize microcirculation in “altered” or “normal” microcirculation.

### *Implications of study findings*

In addition to goal-directed resuscitation procedures aimed at optimizing systemic haemodynamic variables, a microcirculatory-guided fluid resuscitation procedure would be needed to ensure the ultimate purpose of fluid resuscitation, which is to maximize oxygen transport to the tissue cells by optimizing convective and diffusive transport of oxygen. Since hypovolemia induces convection limitation (low convective flow) and fluid overload diffusion limitation (large diffusion distance), defining the optimal fluid volume should be the first concern of the intensivist. (42)

However, in the present study, the microcirculation remains profoundly altered in the groups of septic animals, whether they receive crystalloids or not. There was no relationship between changes in microvascular perfusion and initial arterial pressure or cardiac index or changes during fluid administration. These data confirm the loss of haemodynamic coherence observed between macro and micro circulation in septic shock. Fluid therapy may not always be adequate to improve microcirculation dysfunction suggesting that other therapeutic interventions should be considered.

Current macrocirculatory goals do not seem sufficient for effective resuscitation, aimed at reducing organ failures. Previous studies suggest that improvement of microcirculation at the early phase of resuscitation is associated with a decrease in

organ failure at 24 hours.(33) These notions have brought out the concept of « microcirculation guided fluid therapy »(42) However, further studies are needed to confirm whether microcirculation-guided fluid therapy can improve organ dysfunction. Other treatments such as different vasopressors have been tried in order to restore normal microcirculation, without success.(43) Development of assessment tools easily implemented at bedside is another prerequisite to microcirculation-guided therapy in sepsis.

### *Study limitations*

Unfortunately, lactate levels were not available during the experiment to correlate with microcirculatory alterations. Nevertheless, signs of organ hypoperfusion were recorded and VEGF Receptor 1 serum levels were higher in both control and fluids groups, compared to sham group. Yang et al showed that plasma sVEGFR1 levels had good correlation with organ hypoperfusion such as renal dysfunction, metabolic acidosis and hematologic dysfunction.(44)

We only studied crystalloids resuscitation as these fluids are recommended as first line treatment in international guidelines (SSC). However, it would be interesting to compare different type of fluids (crystalloids, colloids and albumin for example) and their effect on the POEM score, especially in an experimental setting (45)(46)(47)

In our study, we used an endotoxin shock model, inducing early macro and micro circulatory alterations, and severe and lethal shock. These results can not be extrapolated to all types of shock. We were not able to quantify the capillary leak.

## **Conclusion**

There were no significant improvement of microcirculatory alterations after crystalloids resuscitation despite improvement in macrocirculation haemodynamics, assessed by a probe-based confocal laser endomicroscopy (Cellvizio®) in early experimental sepsis on a piglet model. Targeting macrocirculation and fluid therapy goals may not be sufficient to prevent and treat organ failures in sepsis. Microcirculation guided therapy should be considered for sepsis resuscitation.

## Bibliography

1. De Backer D, Ricottilli F, Ospina-Tascón GA. Septic shock: a microcirculation disease. *Curr Opin Anaesthesiol*. 10 févr 2021;
2. De Backer D, Creteur J, Preiser J-C, Dubois M-J, Vincent J-L. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 juill 2002;166(1):98-104.
3. Ma S, Evans RG, Iguchi N, Tare M, Parkington HC, Bellomo R, et al. Sepsis-induced acute kidney injury: A disease of the microcirculation. *Microcirculation*. févr 2019;26(2):e12483.
4. Johansson P, Stensballe J, Ostrowski S. Shock induced endotheliopathy (SHINE) in acute critical illness - a unifying pathophysiologic mechanism. *Crit Care [Internet]*. 9 févr 2017 [cité 15 janv 2018];21. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5299749/>
5. Sakr Y, Dubois M-J, De Backer D, Creteur J, Vincent J-L. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock\*: *Crit Care Med*. sept 2004;32(9):1825-31.
6. Dyson A, Cone S, Singer M, Ackland GL. Microvascular and macrovascular flow are uncoupled in early polymicrobial sepsis. *Br J Anaesth*. 1 juin 2012;108(6):973-8.
7. Lipińska-Gediga M. Sepsis and septic shock — is a microcirculation a main player? 2016;48(4):5.
8. Edul VSK, Enrico C, Laviolle B, Vazquez AR, Ince C, Dubin A. Quantitative assessment of the microcirculation in healthy volunteers and in patients with septic shock. *Crit Care Med*. mai 2012;40(5):1443-8.
9. Dubin A, Kanoore Edul VS, Caminos Eguillor JF, Ferrara G. Monitoring Microcirculation: Utility and Barriers – A Point-of-View Review. *Vasc Health Risk Manag*. déc 2020;Volume 16:577-89.
10. De Backer D, Ospina-Tascon G, Salgado D, Favory R, Creteur J, Vincent J-L. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and future approaches. *Intensive Care Med*. nov 2010;36(11):1813-25.
11. Boerma EC, van der Voort PHJ, Spronk PE, Ince C. Relationship between

sublingual and intestinal microcirculatory perfusion in patients with abdominal sepsis\*: Crit Care Med. avr 2007;35(4):1055-60.

12. Assimakopoulos SF, Triantos C, Thomopoulos K, Fligou F, Maroulis I, Marangos M, et al. Gut-origin sepsis in the critically ill patient: pathophysiology and treatment. Infection. déc 2018;46(6):751-60.

13. Wang KK, Carr-Locke DL, Singh SK, Neumann H, Bertani H, Galmiche J-P, et al. Use of probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) in gastrointestinal applications. A consensus report based on clinical evidence. United Eur Gastroenterol J. juin 2015;3(3):230-54.

14. Laemmel E, Genet M, Le Goualher G, Perchant A, Le Gargasson J-F, Vicaut E. Fibered confocal fluorescence microscopy (Cell-viZio) facilitates extended imaging in the field of microcirculation. A comparison with intravital microscopy. J Vasc Res. oct 2004;41(5):400-11.

15. Schmidt C, Lautenschläger C, Petzold B, Sakr Y, Marx G, Stallmach A. Confocal laser endomicroscopy reliably detects sepsis-related and treatment-associated changes in intestinal mucosal microcirculation. Br J Anaesth. déc 2013;111(6):996-1003.

16. Chia PY, Teo A, Yeo TW. Overview of the Assessment of Endothelial Function in Humans. Front Med. 7 oct 2020;7:542567.

17. Roger C, Louart B, Louart G, Bobbia X, Claret P-G, Perez-Martin A, et al. Does the infusion rate of fluid affect rapidity of mean arterial pressure restoration during controlled hemorrhage. Am J Emerg Med. sept 2016;34(9):1743-9.

18. Muller L, Toumi M, Bousquet P-J, Riu-Poulenc B, Louart G, Candela D, et al. An increase in aortic blood flow after an infusion of 100 ml colloid over 1 minute can predict fluid responsiveness: the mini-fluid challenge study. Anesthesiology. sept 2011;115(3):541-7.

19. Bennett VA, Vidouris A, Cecconi M. Effects of Fluids on the Macro- and Microcirculations. Crit Care Lond Engl. 20 mars 2018;22(1):74.

20. Pottecher J, Deruddre S, Teboul J-L, Georger J-F, Laplace C, Benhamou D, et al. Both passive leg raising and intravascular volume expansion improve sublingual microcirculatory perfusion in severe sepsis and septic shock patients. Intensive Care Med. nov 2010;36(11):1867-74.

21. Aboab J, Sebille V, Jourdain M, Mangalaboyi J, Gharbi M, Mansart A, et al. Effects of esmolol on systemic and pulmonary hemodynamics and on oxygenation in pigs with hypodynamic endotoxin shock. *Intensive Care Med.* août 2011;37(8):1344-51.
22. 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. *Crit Care Med.* mars 2017;45(3):486-552.
23. Vercauteren T, Doussoux F, Cazaux M, Schmid G, Linard N, Durin M-A, et al. Multicolor probe-based confocal laser endomicroscopy: a new world for in vivo and real-time cellular imaging. In: Tearney GJ, Wang TD, éditeurs. San Francisco, California, USA; 2013 [cité 23 mars 2020]. p. 857504. Disponible sur: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2002490>
24. Ince C, Boerma EC, Cecconi M, Backer DD, Shapiro NI, Duranteau J, et al. Second consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: results from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 6 févr 2018;1-19.
25. Naumann DN, Mellis C, Husheer SLG, Hopkins P, Bishop J, Midwinter MJ, et al. Real-time point of care microcirculatory assessment of shock: design, rationale and application of the point of care microcirculation (POEM) tool. *Crit Care Lond Engl.* 30 sept 2016;20(1):310.
26. Foundation for Statistical Computing. R: The R Project for Statistical Computing [Internet]. [cité 31 mai 2018]. Disponible sur: <https://www.r-project.org/>
27. Bland JM, Altman DG. Multiple significance tests: the Bonferroni method. *BMJ.* 21 janv 1995;310(6973):170.
28. Kottner J, Audigé L, Brorson S, Donner A, Gajewski BJ, Hróbjartsson A, et al. Guidelines for Reporting Reliability and Agreement Studies (GRRAS) were proposed. *J Clin Epidemiol.* janv 2011;64(1):96-106.
29. Fleiss JL, Cohen J. The Equivalence of Weighted Kappa and the Intraclass Correlation Coefficient as Measures of Reliability. *Educ Psychol Meas.* 1 oct 1973;33(3):613-9.
30. Cohen J. Weighted kappa: nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit. *Psychol Bull.* oct 1968;70(4):213-20.

31. DiCiccio , Efron : Bootstrap confidence intervals [Internet]. [cité 30 janv 2019]. Disponible sur: <https://projecteuclid.org/euclid.ss/1032280214>
32. Nakajima Y, Baudry N, Duranteau J, Vicaut E. Microcirculation in Intestinal Villi. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 oct 2001;164(8):1526-30.
33. Trzeciak S, McCoy JV, Dellinger RP, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, et al. Early Increases in Microcirculatory Perfusion During Protocol-Directed Resuscitation are Associated with Reduced Multi-Organ Failure at 24 hours in Patients with Sepsis. *Intensive Care Med*. déc 2008;34(12):2210-7.
34. López A, Grignola JC, Angulo M, Alvez I, Nin N, Lacuesta G, et al. Effects of early hemodynamic resuscitation on left ventricular performance and microcirculatory function during endotoxic shock. *Intensive Care Med Exp*. déc 2015;3(1):14.
35. Ergin B, Zafrani L, Kandil A, Baasner S, Lupp C, Demirci C, et al. Fully Balanced Fluids do not Improve Microvascular Oxygenation, Acidosis and Renal Function in a Rat Model of Endotoxemia. *Shock Augusta Ga*. 2016;46(1):83-91.
36. Damiani E, Ince C, Orlando F, Pierpaoli E, Cirioni O, Giacometti A, et al. Effects of the Infusion of 4% or 20% Human Serum Albumin on the Skeletal Muscle Microcirculation in Endotoxemic Rats. *PloS One*. 2016;11(3):e0151005.
37. Pranskunas A, Koopmans M, Koetsier PM, Pilvinis V, Boerma EC. Microcirculatory blood flow as a tool to select ICU patients eligible for fluid therapy. *Intensive Care Med*. avr 2013;39(4):612-9.
38. Ospina-Tascon G, Neves AP, Occhipinti G, Donadello K, Büchele G, Simion D, et al. Effects of fluids on microvascular perfusion in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med*. juin 2010;36(6):949-55.
39. Prof. (eds.) J-LV. Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2014 [Internet]. 1<sup>re</sup> éd. Springer International Publishing; 2014 [cité 28 mai 2018]. (Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2014). Disponible sur: <http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=86d98fce62faa4b074c5d296785b1fd1>
40. Orbegozo D, Su F, Santacruz C, He X, Hosokawa K, Creteur J, et al. Effects of Different Crystalloid Solutions on Hemodynamics, Peripheral Perfusion, and the Microcirculation in Experimental Abdominal Sepsis. *Anesthesiology*. oct 2016;125(4):744-54.
41. Moore CL, Rose GA, Tayal VS, Sullivan DM, Arrowood JA, Kline JA.

Determination of left ventricular function by emergency physician echocardiography of hypotensive patients. *Acad Emerg Med Off J Soc Acad Emerg Med.* mars 2002;9(3):186-93.

42. Ince C. The rationale for microcirculatory guided fluid therapy. *Curr Opin Crit Care.* juin 2014;20(3):301-8.

43. Potter EK, Hodgson L, Creagh-Brown B, Forni LG. Manipulating the Microcirculation in Sepsis – the Impact of Vasoactive Medications on Microcirculatory Blood Flow: A Systematic Review. *SHOCK.* juill 2019;52(1):5-12.

44. Yang K-Y, Liu K-T, Chen Y-C, Chen C-S, Lee Y-C, Perng R-P, et al. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 levels predict outcomes of pneumonia-related septic shock patients: a prospective observational study. *Crit Care Lond Engl.* 2011;15(1):R11.

45. Hoffmann JN, Vollmar B, Laschke MW, Inthorn D, Schildberg FW, Menger MD. Hydroxyethyl starch (130 kD), but not crystalloid volume support, improves microcirculation during normotensive endotoxemia. *Anesthesiology.* août 2002;97(2):460-70.

46. Dubin A, Pozo MO, Casabella CA, Murias G, Pálizas F, Moseinco MC, et al. Comparison of 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 and saline solution for resuscitation of the microcirculation during the early goal-directed therapy of septic patients. *J Crit Care.* déc 2010;25(4):659.e1-8.

47. Obonyo NG, Fanning JP, Ng ASY, Pimenta LP, Shekar K, Platts DG, et al. Effects of volume resuscitation on the microcirculation in animal models of lipopolysaccharide sepsis: a systematic review. *Intensive Care Med Exp.* déc 2016;4(1):38.



	<b>All n=21</b>	<b>Sham n=6</b>	<b>Control n=9</b>	<b>Crystalloids n=6</b>
SAP (mmHg)	103 [91 ; 122]	100.5 [92 ; 113.5]	109 [96 ; 128]	90 [80.2 ; 107.2]
DAP (mmHg)	68 [61 ; 84]	76 [62.8 ; 94.5]	77 [67 ; 88]	60 [52 ; 64.2]
MAP (mmhg)	85 [78 ; 104]	89 [78.5 ; 106.2]	93 [79 ; 108]	80.5 [67 ; 84.2]
HR (bpm)	109 [97 ; 128]	108.5 [100.2 ; 132.5]	98 [97 ; 114]	118 [110.2 ; 126.5]
CVP (mmHg)	13 [12 ; 14]	12.5 [10.2 ; 14.8]	13 [12 ; 13]	13 [12.2 ; 13]
CO (L/min)	3.6 [2.9 ; 4]	3.2 [2.6 ; 3.8]	3.6 [3.1 ; 4.2]	3.6 [3.1 ; 4.3]
PPV (%)	18 [15 ; 21]	16 [15.2 ; 19]	17 [15 ; 21]	20.5 [18 ; 24.5]
SVV (%)	14 [11 ; 15]	13 [10.2 ; 17.2]	14 [12 ; 15]	15 [14.2 ; 15.8]
SVI (ml/m2)	26 [23 ; 34]	26 [26 ; 27.5]	26 [23 ; 35]	32.5 [22.8 ; 37.8]
GEDV (ml)	547 [483 ; 585]	539 [512.2 ; 575.5]	559 [526 ; 605]	494 [434.8 ; 541.2]
EVLW (ml/kg)	14 [13 ; 15]	14.5 [12.5 ; 15]	14 [14 ; 16]	13 [13 ; 13]
PVPI	2.7 [2.5 ; 2.9]	2.7 [2.6 ; 2.8]	2.8 [2.4 ; 2.8]	2.8 [2.5 ; 3.1]
dP/dTmax (mmHg/s)	585 [518 ; 638]	587.5 [584.2 ; 590]	540 [500 ; 638]	607 [534.2 ; 724.8]
SVR(dyn.s.cm-5.m2)	2100 [1494 ; 2570]	1962.5[1768.8; 2838]	2114 [1985 ; 2570]	1263 [1136.5 ; 2171]
EtCO2 (mmHg)	35 [33 ; 38]	38 [35 ; 42.5]	34 [31 ; 36]	37 [34.8 ; 37.8]
HCO3 (mmol/L)	26.9 [25.4 ; 27.7]	26.9 [26.5 ; 27.1]	26.1 [24.9 ; 29.2]	26.9 [24.8 ; 28.7]
Alb (mmol/L)	28.4 [25.5 ; 30.4]	27.9 [25.7 ; 31.2]	27.9 [25.2 ; 28.4]	29.7 [29.2 ; 35.3]
Urea (mmol/L)	2.6 [2.2 ; 3.3]	2.6 [2.2 ; 3]	2.6 [2.2 ; 3.1]	3 [2.4 ; 4.8]
Creat (micromol/L)	96 [84 ; 105]	89 [84 ; 102.2]	96 [89 ; 107]	98.5 [95.8 ; 99.8]

Na (mmol/L)	137 [134 ; 138]	136.5 [135.2 ; 139.2]	135 [133 ; 138]	138 [138 ; 140.2]
K (mmol/L)	4 [3.8 ; 4.2]	4.5 [4.1 ; 4.8]	4 [3.8 ; 4.1]	3.8 [3.4 ; 4.1]
Cl (mmol/L)	95 [94 ; 97]	95.5 [94.2 ; 96.8]	95 [94 ; 95]	97 [94 ; 97]
pH	7.5 [7.5 ; 7.6]	7.5 [7.5 ; 7.6]	7.5 [7.5 ; 7.6]	7.5 [7.5 ; 7.5]
pCO2 (mmHg)	36 [32 ; 38]	35.5 [32.8 ; 36]	34 [31 ; 38]	37 [35.2 ; 38.8]
pO2 (mmHg)	180 [155 ; 192]	169 [159.8 ; 185]	192 [170 ; 195]	167.5 [152.8 ; 183.8]
VEGFR1 (ng/ml)	2.5 [2.1 ; 4.2]	2.6 [1.5 ; 3.3]	2.3 [2 ; 6,5]	2.6 [1.5 ; 3.3]

Table 1 – Hemodynamic and biological characteristics at baseline

*SAP :Systolic Arterial Pressure, DAP : Diastolic Arterial Pressure, MAP : Mean Arterial Pressure, HR : Heart Rate, CVP : Central Venous Pressure, CO : Cardiac Output, PPV : Pulse Pressure Variation, SVV : Stroke Volume Variation, SVI : Index Stroke Volume, GEDV : Global End-Diastolic Volume, EVLW : Extra Vascular Lung Water, PVPI : Pulmonary Vascular Permeability Index, SVR : Systemic Vascular Resistance, FCD : Functional Capillary Density, MVD : Mean Vessel Diameter, TVL : Total Vessel length, VEGFR1 : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1*

Results are expressed as median (IQR).

Figure 1 – Study Protocol

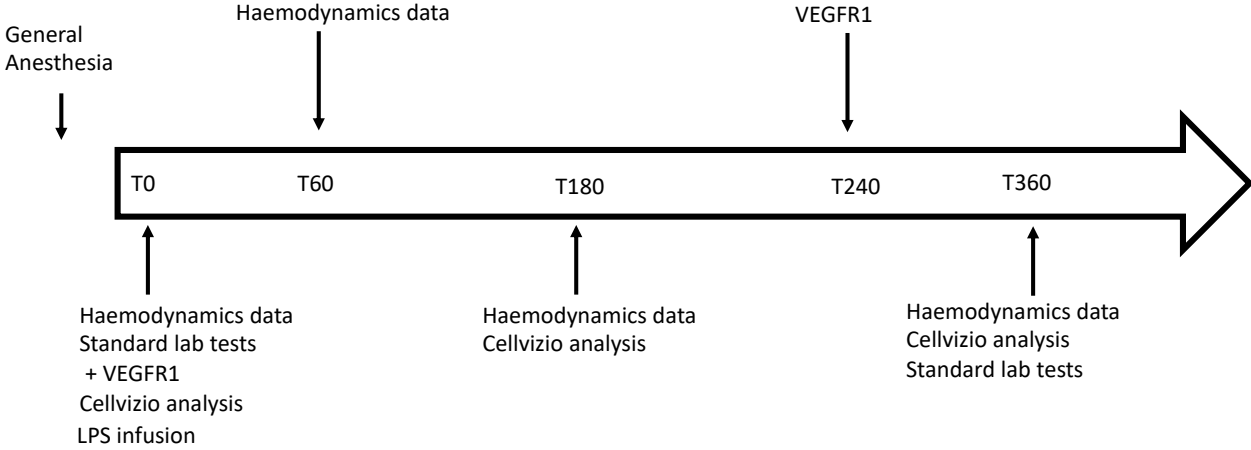
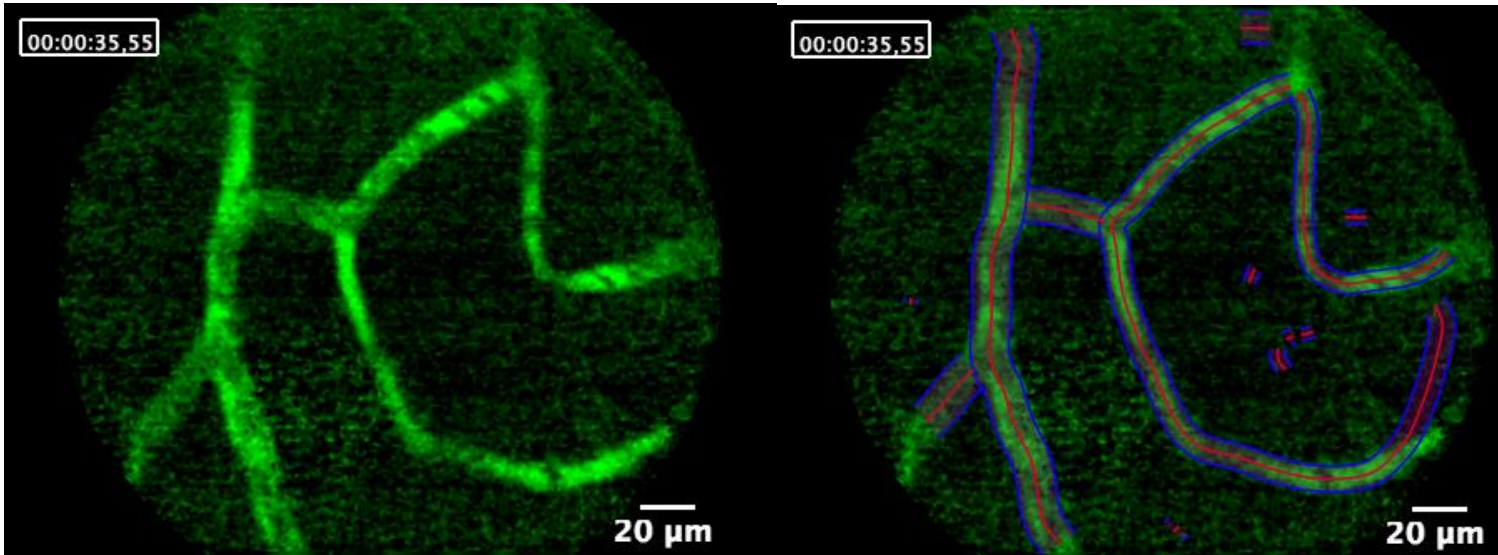


Figure 2 – Microcirculatory assessment acquired with the confocal laser endomicroscope Cellvizio®



Mesenteric capillaries in green light after FITC dextran injection (left panel).

Automatic vascular analysis of region of interest (ROI) using the Cell Viewer software (right panel).

Table 2a – Time course of hemodynamic parameters between T0 and T360.

	Sham n=6	Control n=9	Crystalloids n=6
SAP (mmHg)			
T0	101 [93 ; 114]	109 [96 ; 128]	90 [80 ; 107]
T60	123 [114 ; 132]	115 [107 ; 141]	110 [104 ; 111]
T180	134 [124 ; 135]	101 [79 ; 116]	111 [91; 120]
T360	135 [110 ; 140]	98 [86 ; 121]	114 [94 ; 131]
DAP (mmHg)			
T0	76 [63 ; 95]	77 [67 ; 88]	60 [52 ; 64]
T60	87 [76 ; 100]	77 [64 ; 102]	64 [57 ; 71]
T180	85 [80 ; 89]	70 [55 ; 85]	73 [49 ; 81]
T360	90 [71 ; 96]	66 [59 ; 80]	69 [50 ; 95]
MAP (mmHg)			
T0	89 [79 ; 106]	93 [79 ; 108]	81 [67 ; 84]
T60	101 [90 ; 115]	90 [86 ; 119]	83 [82 ; 90]
T180	105 [97 ; 110]	85 [65 ; 114]	90 [70 ; 96]
T360	108 [85 ; 114]	79 [69 ; 96]	88 [64 ; 112]
HR (bpm)			
T0	109 [100 ; 133]	98 [97 ; 114]	118 [110 ; 127]
T60	100 [94 ; 120]	123 [80 ; 142]	120 [111 ; 127]
T180	92 [89 ; 114]	140 [109 ; 143]	130 [106 ; 133]
T360	102 [89 ; 134]	160 [140 ; 189]	101 [93 ; 126]
Urine output (ml)			

	T0	23 [9 ; 39]	30 [20 ; 70]	55 [36 ; 138]
	T180	40 [40 ; 40]	10 [5 ; 10]	5 [4 ; 11]
	T360	75 [63 ; 230] ❖ ▽	0 [0 ; 30] ❖	0 [0 ; 4] ▽
CO (L/min)				
	T0	3.2 [2.6 ; 3.8]	3.6 [3.1 ; 4.2]	3.6 [3.1 ; 4.3]
	T60	3.3 [2.6 ; 3.5]	4.0 [3.2 ; 4.5]	3.7 [3.1 ; 4.1]
	T180	3.0 [2.7 ; 3.5]	2.9 [2.3 ; 3.1]	3.5 [2.3 ; 3.7]
	T360	2.8 [2.5 ; 3.2] †	2.1 [2.0 ; 2.5] †	2.0 [1.9 ; 2.6]
SVR (dyn.s.cm <sup>-5</sup> .m <sup>2</sup> )				
	T0	1963 [1769 ; 2838]	2114 [1985 ; 2570]	1263 [1137 ; 2171]
	T60	2452 [2216 ; 2835]	1993 [1342 ; 2572]	1458 [1096 ; 1554]
	T180	2474 [2254 ; 3082]	2586 [2284 ; 2658]	1774 [1307 ; 2908]
	T360	2600 [2337 ; 2948]	2368 [2270 ; 2548]	2458 [1837 ; 3361]
EVLW (ml/kg)				
	T0	14.5 [12.5 ; 15.0]	14.0 [14.0 ; 16.0]	13.0 [13.0 ; 13.0]
	T60	14.0 [12.2 ; 15.8]	18.0 [15.0 ; 20.0]	14.5 [13.2 ; 15.8]
	T180	14.5 [13.0 ; 16.0]	17.0 [14.0 ; 17.0]	15.5 [13.2 ; 17.0]
	T360	15.0 [12.5 ; 16.0]	16.0 [15.0 ; 28.0]	15.5 [14.2 ; 16.8]
SVI (mL/m <sup>2</sup> )				
	T0	26 [26 ; 28]	26 [23 ; 35]	33 [23 ; 37.8]
	T60	33 [31 ; 36.8]	34 [30 ; 37]	30 [27 ; 37]
	T180	32 [29 ; 33.8]	21 [17 ; 23]	25 [24 ; 27]
	T360	30 [27 ; 31] ‡	16 [16 ; 17] ‡	25 [17 ; 27]
dP/dt max (mmHg/s)				
	T0	588 [584 ; 590]	540 [500 ; 638]	607 [534 ; 725]
	T60	700 [549 ; 863]	739 [584 ; 882]	825 [737 ; 976]

T180	712 [555 ; 839]	504 [496 ; 637]	724 [526 ; 931]
T360	524 [431 ; 772]	784 [689 ; 964]	646 [555 ; 1051]

† sham vs control p=0,006    ‡ sham vs control p=0.013    ▽ sham vs crystalloids, p= 0.004    ❖ sham vs control, p=0.009  
SAP :Systolic Arterial Pressure, DAP : Diastolic Arterial Pressure, MAP : Mean Arterial Pressure, HR : Heart Rate, CO : Cardiac Output, PPV : Pulse Pressure Variation, SVI : Index Stroke Volume, EVLW : Extra Vascular Lung Water, SVR : Systemic Vascular Resistance

Data are expressed as median (IQR). Groups were compared using the Mann-Whitney rank-sum test.

Table 2b – Time course of Cellvizio® parameters.

	Sham n=6	Control n=9	Crystalloids n=6
<b>POEM</b>			
T0	5.0 [5.0 ; 5.0]	5.0 [5.0 ; 5.0]	5.0 [5.0 ; 5.0]
T180	5.0 [5.0 ; 5.0]	4.0 [1.0 ; 5.0]	3.0 [1.2 ; 4.8]
T360	5.0 [5.0 ; 5.0] ∇ †	1.0 [1.0 ; 2.0] †	1.0 [1.0 ; 1.0] ∇
<b>FCD (cm-2)</b>			
T0	0.014 [0.013 ; 0.014]	0.012 [0.012 ; 0.013]	0.013 [0.012 ; 0.013]
T180	0.013 [0.011 ; 0.014]	0.013 [0.012 ; 0.015]	0.013 [0.012 ; 0.014]
T360	0.013 [0.013 ; 0.016]	0.013 [0.012 ; 0.014]	0.012 [0.010 ; 0.013]
<b>MVD (µm)</b>			
T0	13.1 [12.4 ; 15.8]	11.4 [11.0 ; 15.9]	14.9 [13.8 ; 16.0]
T180	13.9 [12.7 ; 15.0]	13.1 [12.7 ; 14.2]	12.9 [12.4 ; 13.8]
T360	13.6 [13.3 ; 14.4]	12.0 [11.6 ; 12.6]	11.9 [10.7 ; 12.2]

∇ sham vs crystalloids, p=0.011 † sham vs control p=0.005

FCD: Functional Capillary Density, MVD : Mean Vessel Diameter

Data are expressed as median (IQR). Groups were compared using the Mann-Whitney rank-sum test. Missing data : n=2 at T180 in the sham group, n=2 at T360 in the sham group, n=1 at T360 in the control group, n=1 at T360 in the crystalloids group



Table 2c – Time course of biological parameters

	Sham n=6	Control n=9	Crystalloids n=6
Albumin (mmol/L)			
T0	27.9 [25.7 ; 31.2]	27.9 [25.2 ; 28.4]	29.7 [29.2 ; 35.3]
T360	27.3 [23.6 ; 30.7]	26.6 [24.6 ; 29.2]	24.8 [21.0 ; 28.5]
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)			
T0	26.9 [26.5 ; 27.1]	26.1 [24.9 ; 29.2]	26.9 [24.8 ; 28.7]
T360	28.3 [27.2 ; 29.0] †	22.4 [21.7 ; 24.3]	16.5 [14.8 ; 20.3] †
Urea (mmol/L)			
T0	2.6 [2.2 ; 3.0]	2.6 [2.2 ; 3.1]	3.0 [2.4 ; 4.8]
T360	3.7 [3.6 ; 3.8]	4.9 [4.1 ; 6.1]	4.5 [4.1 ; 6.8]
Creatinine (µmol/L)			
T0	89 [84 ; 102]	96 [89 ; 107]	99 [96 ; 100]
T360	98 [83 ; 109]	131 [113 ; 155]	140 [127 ; 154]
Na (mmol/L)			
T0	137 [135 ; 139]	135 [133 ; 138]	138 [138 ; 140]
T360	136 [135 ; 137]	135 [135 ; 136]	141 [138 ; 142]
K (mmol/L)			
T0	4.5 [4.1 ; 4.8]	4.0 [3.8 ; 4.1]	3.8 [3.4 ; 4.1]
T360	4.5 [4.5 ; 4.7]	5.3 [5.0 ; 6.2]	4.7 [4.3 ; 4.9]
Cl (mmol/L)			

	T0	96 [94 ; 97]	95 [94 ; 95]	97 [94 ; 97]
	T360	96 [95 ; 98]	95 [93 ; 95]	99 [99 ; 101]
pH				
	T0	7.5 [7.5 ; 7.6]	7.5 [7.5 ; 7.6]	7.5 [7.5 ; 7.5]
	T180	7.6 [7.6 ; 7.6]	7.5 [7.4 ; 7.5]	7.3 [7.3 ; 7.4]
pCO2 (mmHg)				
	T0	36 [33 ; 36]	34 [31 ; 38]	37 [35 ; 39]
	T180	34 [32 ; 39]	39 [37 ; 45]	38 [37 ; 40]
pO2 (mmHg)				
	T0	169 [160 ; 185]	192 [170 ; 195]	168 [153 ; 184]
	T180	208 [175 ; 209]	147 [125 ; 190]	148 [105 ; 179]
VEGFR1 (ng/ml)				
	T0	2.6 [1.5 ; 3.3]	2.3 [2 ; 6.5]	2.6 [1.5 ; 3.3]
			25.0 [14.4 ; 37.6]	
	T240	3.0 [1.6 ; 4.2] ▽ ❖	▽	22.4 [18.9 ; 26.6] ❖

sVEGFR1 : Soluble Vascular Endothelium Growth Factor Receptor 1. † p=0.008 ▽ p=0,0004

❖ p=0,0022

Data are expressed as median (IQR). Groups were compared using the Mann-Whitney rank-sum test.

Figure 3 – Point Of carE Microcirculation Assessment Score between T0 and T360 –  
From 1 to 5. 5 = normal, 4 = normal with mild heterogeneity, 3 = Normal with marked  
heterogeneity, 2 = Impaired, 1 = Critically Impaired

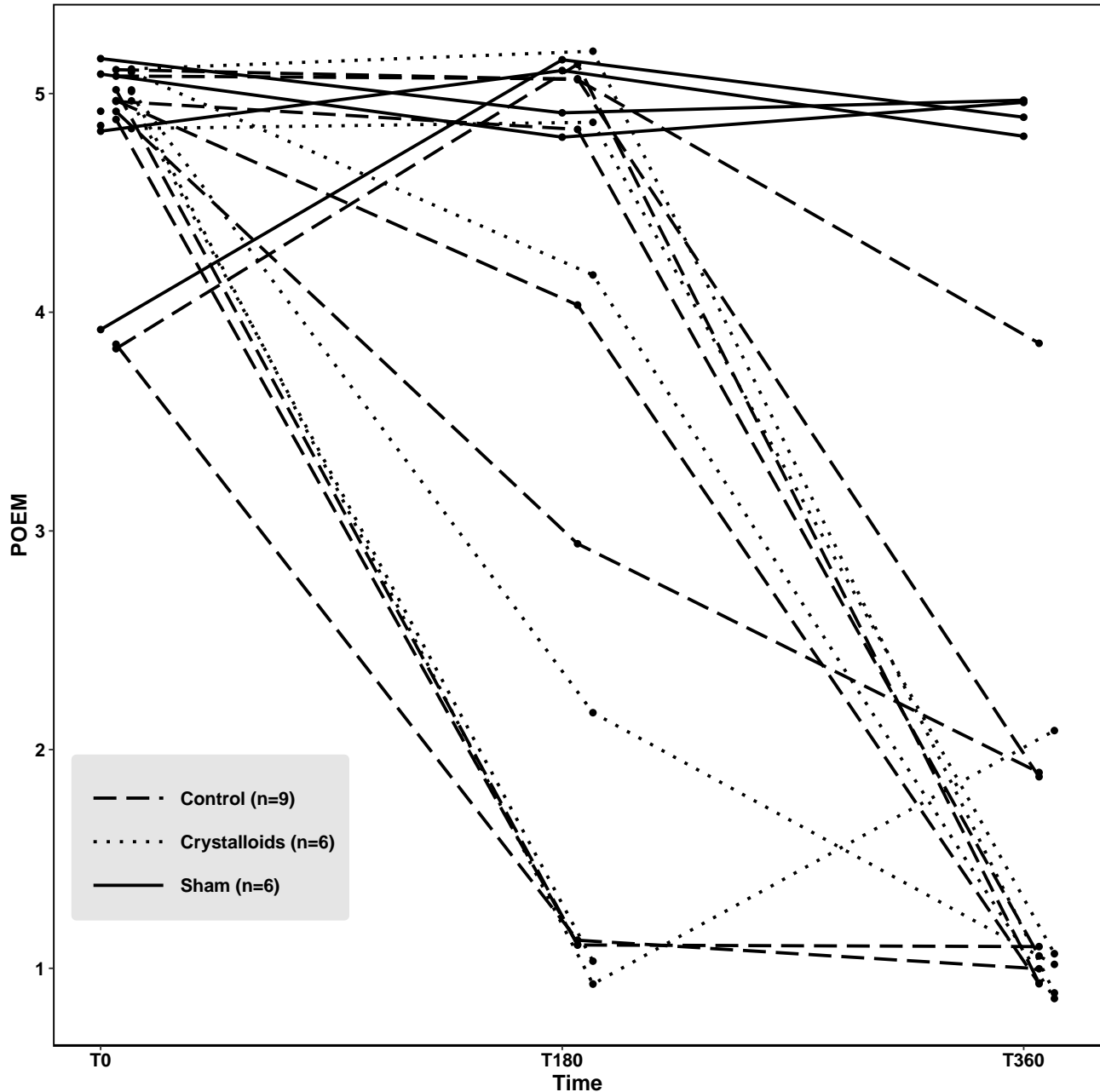
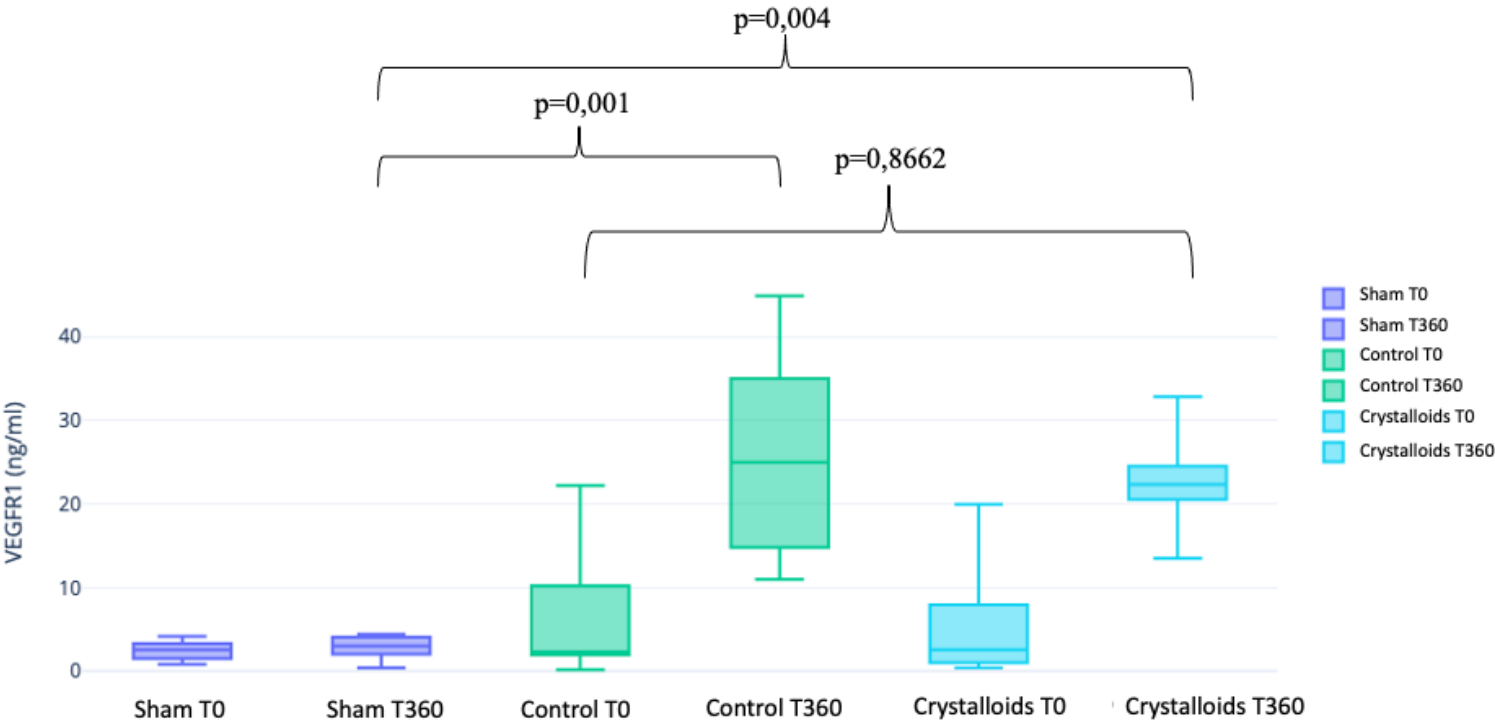
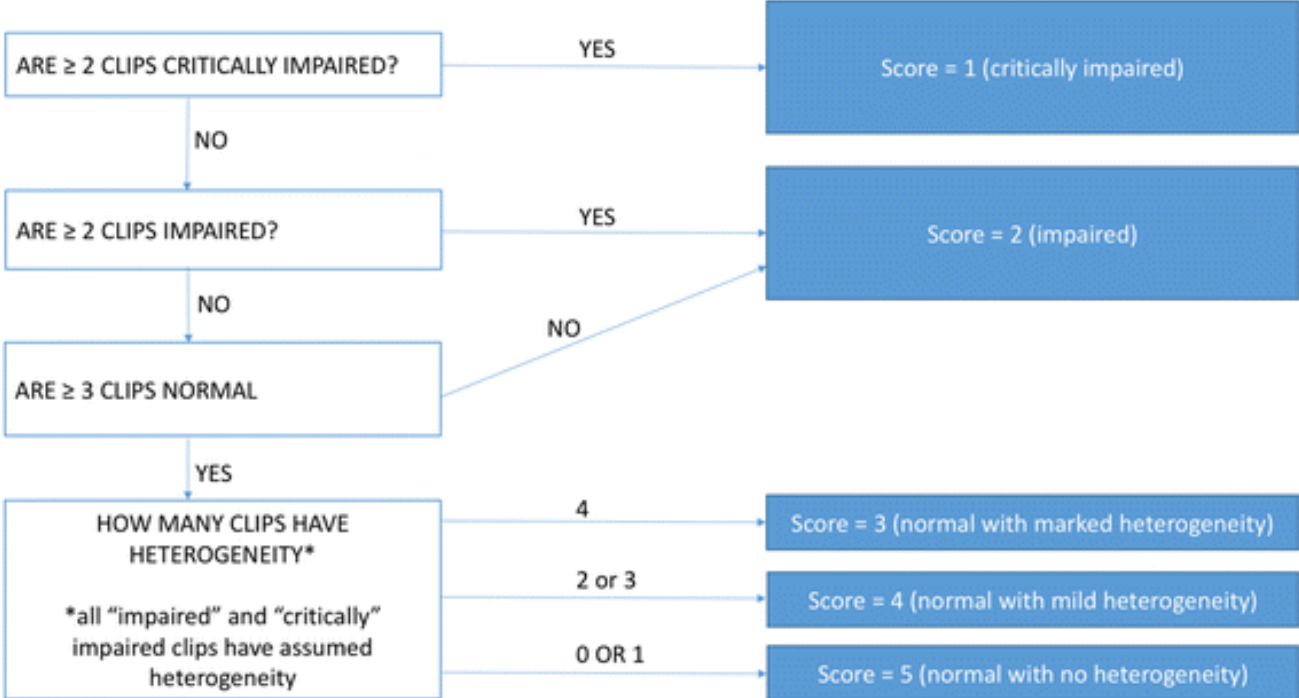


Figure 4 – Time course of sVEGFR1 plasma levels between T0 and T360.



Data are expressed as box plots showing median, interquartile, and full range.

# SUPPLEMENTAL MATERIAL



POEM Score, from Naumann et al. - Critical Care (2016) 20:310 (DOI 10.1186/s13054-016-1492-1)

## SERMENT

- *En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, 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 (e) 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 (se) et reconnaissant (e) 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 (e) d'opprobre et méprisé (e) de mes confrères si j'y manque.*



# RESUME

## *Contexte*

Dès la phase précoce du sepsis, des altérations au niveau de la microcirculation peuvent être observées, alors même que la macrocirculation paraît préservée. L'objectif de cette étude est d'analyser l'effet d'un remplissage vasculaire sur la microcirculation mésentérique, évaluée par l'endomicroscope confocal laser Cellvizio®, dans un modèle porcin de choc endotoxinique.

## *Matériels et méthodes*

Il s'agit d'un essai prospectif expérimental de choc endotoxinique induit par une perfusion de lipopolysaccharide (LPS). Les porcelets étaient répartis en 3 groupes : 6 dans le groupe sham (pas de LPS, pas de remplissage vasculaire), 9 dans le groupe contrôle (perfusion de LPS, pas de remplissage vasculaire), et 6 dans le groupe cristalloïdes (perfusion de LPS et remplissage vasculaire avec des cristalloïdes). Le remplissage vasculaire consistait en un bolus de 20 ml/kg de sérum salé isotonique à 0.9% sur 30 minutes, suivi d'une perfusion de 10 ml/kg/h sur 4 heures. La microcirculation mésentérique était évaluée à l'aide d'un endomicroscope confocal laser (Cellvizio®). Le flux sanguin au travers des capillaires était évalué visuellement par le score POEM (Point of care microcirculation).

## *Résultats*

Initialement, les 3 groupes étaient similaires sur les plans hémodynamique, biologique et microcirculatoire. A T360, le score POEM chutait significativement dans le groupe contrôle et dans le groupe cristalloïdes, alors qu'il restait inchangé dans le groupe sham (respectivement  $1.62 \pm 1.06$ ,  $1.2 \pm 0.45$  et  $5.0 \pm 0$ ,  $p=0,011$ ). Il n'y avait pas de différence significative du débit cardiaque à T360 entre les groupes sham et cristalloïdes ( $3.1 \pm 0.8$  vs  $2.3 \pm 0.6$ ,  $p=0.132$ ) ou entre les groupes contrôle et cristalloïdes ( $2.0 \pm 0.6$  vs  $2.3 \pm 0.6$ ,  $p=0.90$ ).

## *Conclusion*

Nous n'avons pas observé d'amélioration significative des altérations microcirculatoires après remplissage vasculaire malgré une amélioration des paramètres macrocirculatoires, à la phase précoce d'un sepsis expérimental.

Mots clés : sepsis, choc endotoxinique, microcirculation, cristalloïdes, cellvizio, endomicroscope confocal laser.