

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE SAAD DAHLEB BLIDA-1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de biologie et physiologie cellulaire

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

MEMOIRE DE MASTER EN BIOLOGIE

Option : biologie moléculaire et cellulaire

Chef d'option : Pr. SAADI L.

Thème

**Corrélation entre le stress oxydatif et le pronostic des patients
atteints de sepsis**

Présenté par :

M^{elle} BOULAHOUACHE NAILA

M^{elle} REKKAL RANIA YASMINE

Soutenu le : **24/09/2020**

Devant le jury composé de :

M^{me} MOKRANE A.

MCB

USDB1

Présidente

M^{me} KANANE A.

MAA

USDB1

Examinatrice

M^{me} RAHIM I.

MCB

USDB1

Promotrice

Promotion 2019/2020

Remerciements

Nous remercions en premier lieu **ALLAH** le tous puissant de nous avoir illuminé et Ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Nous tenons à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et particulièrement à Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu.

À notre encadreur **Dr. RAHIM Ibtissem**, Maitre de conférences à l'USDB1, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience... tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer nos sentiments de profonde gratitude.

Nous tenons à exprimer notre respect aux membres du jury.

Nous commençons d'abord par le **Dr.Mokrane A.** qui a accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme présidente de Jury. Qu'elle soit assurée de notre respectueuse considération.

On remercie infiniment **Dr. Kanane A.** Pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de juger ce master et d'être examinatrice.

On remercie particulièrement le **Dr. LASSAS K.** médecin microbiologiste d'avoir nous aidés à effectuer tous les analyses biochimiques et hématologiques.

Nos vifs remerciements aussi le **Dr. Yousfi** Chef de service des maladies infectieuses a Hôpital de Boufarik et les infirmiers en particulier **Toufik, Ramzi, Rabah** pour leur gentillesse et leur aide pendant la réalisation de ce travail, Merci à tout le personnel du service infectieux pour leur aide précieuse, leur sympathie et leurs encouragements.

En fin, nous voulons témoigner notre gratitude et notre profond respect notre chef de département à Mme le **Pr. SAADI Leila** et tous les enseignants du Département de BMC pendant les cinq années du notre parcours.

Dédicace

Au nom de Dieu le Tout-Puissant

J'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour

À mon **cher père** (homme de principe –tolérant – rigoureux et généreux)

À ma **chère mère** (ta générosité, ta simplicité et ton dévouement ont fait de
toi une mère remarquable)

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se
doit vous avez su me faire confiance et me soutenir en toutes
circonstances au cours de toutes mes années d'études, c'est avec émotion que
je vous exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond
respect.

Fière d'être votre fille

Mes dédicaces sont adressées

À mon frère **Redouane** et ma adorable sœur **Asma**

A tous mes copines : **Soumia, Sabrina** et tout ceux que je n'ai
pas cité sans exception, qui m'ont aidé et supporté mes mauvaises et
rares bonnes humeurs, et à celle avec qui j'ai partagé ce travail mon cher
binôme **Rania** et tous les membres de sa famille

A toute la promotion de biologie moléculaire et cellulaire

A tous ceux qui me sont chers et qui m'aiment

Je vous remercie pour tout le soutien moral et affectueux que vous
m'avez prouvé.

Longue vie à vous tous.

Naila Boulahouache .

Dédicace

Je dédie ce travail à ma **mère**, la prunelle de mes yeux, Qu'elle trouve ici ma plus Profonde gratitude et tout mon Amour pour sa patience et son soutien et surtout pour ses prières pour moi tout au long de mes études. qui a su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, qui n'a pas cessée de m'encourager durant toutes mes années d'études et en me prodiguant de ses précieux conseils, les mots ne suffiront pas et n'exprimeront pas tout ce que j'aimerais te dire. J'espère pouvoir te rendre une petite partie de ton amour, tu es la personne la plus chère au monde.

À mon **père** adoré, qui a été toujours à mes côtés. Sans ta confiance, ta compréhension, ton soutien et surtout la bonne éducation que tu nous as donnée, je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui. Trouve à travers ce modeste travail tout mon respect et mon affection.

A ma **grand-mère**, Que Dieu la protège pour nous

À mon frère: **NASSIM** et ma meilleure sœur : **ILHEM**

A mon cher binôme : **Naila** J'ai passé avec toi des moments inoubliables.

A toute ma famille **REKKAL** et **KAID** spécialement : A mon cher oncle **Dr. Kaid Omar** pour son soutiens moral et scientifique et ses conseils précieux

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Rania Yasmine.

Résumé :

Le sepsis est un problème de santé avec un taux de mortalité avoisinant les 6 millions chaque année mondiale. La physiopathologie complexe est ambiguë du sepsis constitue, à l'heure actuelle, un défi majeur pour les chercheurs afin de le définir, cerner sa physiopathologie, le diagnostiquer à un stade précoce et développer une thérapie.

En effet, nous avons mis en exergue l'implication du stress oxydatif dans la physiopathologie du sepsis, le dysfonctionnement d'organes et le pronostic des patients septiques à l'aide d'une méta-analyse portant sur 5 articles de recherche. Nous avons également étudié les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques et biochimiques de 8 patients Algériens atteints de sepsis.

Les résultats épidémiologiques montrent une prédominance du sepsis chez les personnes âgées (>48 ans) de sexe masculin. Ces patients présentaient plus de 2 symptômes caractéristiques du sepsis dont une hyperthermie, hyperleucocytose, une hypotension sévère, une thrombopénie, une augmentation de la fréquence cardiaque et respiratoire, et un dysfonctionnement d'organes (rein).

Les résultats cliniques montrent que 100% des infections étaient dues à des Entérobactéries principalement *E.coli* et dont le site infectieux était abdominale dans la majorité des cas. Ces patients avaient un système immunitaire fragilisé avec au moins une pathologie chronique (Diabète, HTA, une anémie sévère ou des thromboses ...etc).

Les résultats de méta-analyse montrent que les patients septiques présentaient une réponse inflammatoire excessive caractérisée par des taux sériques élevée de CRP, procalcitonine et de cytokines inflammatoire (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ , IL-10). Cette réponse inflammatoire est associée à un stress oxydatif caractérisé par une augmentation des pro-oxydants (MDA/LPO, Protéines carbonylées/AOPP, NO) et une diminution d'anti-oxydants (SOD, catalase, TAC) au niveau du sérum.

Une corrélation positive a été démontrée entre les marqueurs de stress oxydatif (pro-anti-oxydants) et la réponse inflammatoire (TNF- α , IL-8 et IFN- γ), le dysfonctionnement d'organes (rein et foie), la sévérité du sepsis, et la mortalité des patients septiques. Ceci suggère que les marqueurs de stress oxydant pourraient être utilisés comme marqueurs de diagnostic et de pronostic de sepsis.

Mots clés : Sepsis, stress oxydatif, dysfonctionnement d'organes, inflammation, méta-analyse.

Abstract :

Sepsis is a health problem with a death rate of around 6 million each year worldwide. The complex and ambiguous pathophysiology of sepsis constitutes, at the present time, a major challenge for researchers in order to define it, identify its pathophysiology, diagnose it at an early stage and develop a therapy.

Indeed, we have highlighted the involvement of oxidative stress in the pathophysiology of sepsis, organ dysfunction and prognosis of septic patients using a meta-analysis of 5 research articles. We also studied the epidemiological, clinical, hematological and biochemical characteristics of 8 Algerian patients with sepsis.

Epidemiological results show a predominance of sepsis in older (> 48 years) males. These patients presented more than 2 symptoms characteristic of sepsis including hyperthermia, leukocytosis, severe hypotension, thrombocytopenia, increased heart and respiratory rate, and organ (kidney) dysfunction.

The clinical results show that 100% of the infections were due to Enterobacteriaceae mainly *E.coli* and whose infectious site was abdominal in the majority of cases. These patients had a weakened immune system with at least one chronic pathology (Diabetes, hypertension, severe anemia or thrombosis, etc).

The meta-analysis results show that the septic patients exhibited an excessive inflammatory response characterized by elevated serum levels of CRP, procalcitonin and inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ , IL-10). This inflammatory response is associated with oxidative stress characterized by an increase in pro-oxidants (MDA / LPO, Carbonylated proteins / AOPP, NO) and a decrease in anti-oxidants (SOD, catalase, TAC) in the serum.

A positive correlation has been demonstrated between markers of oxidative stress (pro-antioxidants) and the inflammatory response (TNF- α , IL-8 and IFN- γ), organ dysfunction (kidney and liver), severity sepsis, and mortality in septic patients. This suggests that markers of oxidative stress could be used as diagnostic and prognostic markers for sepsis.

Keywords: Sepsis, Oxidative stress, Organ dysfunction, Inflammation, Meta-analysis.

الملخص :

تعفن الدم هو مشكلة صحية بمعدل وفيات يبلغ حوالي 6 ملايين في جميع انحاء العالم كل عام. تشكل الفيزيولوجيا المرضية المعقدة والغامضة لتعفن الدم حاليا تحديا كبيرا للباحثين من اجل تعريفه وتحديد الفيزيولوجيا المرضية له وتشخيصه في مرحلة مبكرة وتطوير العلاج. وفي الواقع قمنا بدراسة العلاقة بين الإجهاد التأكسدي في الفيزيولوجيا المرضية لتعفن الدم. وفشل الأعضاء وتشخيص مرضى تعفن الدم.

وللإجابة على هذه الاهداف اجريت دراسة حول الخصائص الوبائية السريرية الدموية والكيميائية ل 8 مرضى جزائريين يعانون من تعفن الدم مسحوبة مع التحليل التلوي لخمسة مقالات بحثية تتناول الاجهاد التأكسدي
قد اظهرت النتائج الوبائية ان اغلبية المصابين تعفن الدم عند كبار السن من الرجال وهؤلاء المرضى لديهم أكثر من 2 اعراض مميزة لتعفن الدم بما في ذلك ارتفاع الحرارة زيادة عدد الكريات البيضاء انخفاض ضغط الدم الشديد انخفاض الصفائح الدموية زيادة معدل ضربات القلب والجهاز التنفسي وفشل الاعضاء (الكلى)

وقد اظهرت النتائج السريرية ان 100 % من التعنفات كانت بسبب بكتيريا الجهاز الهضمي خاصة الإشريكية القولونية والتي موقعها المعدي في البطن في اغلب الحالات. وكان لدى هؤلاء المرضى جهاز مناعي ضعيف مع مرض مزمن واحد على الأقل (السكري، ارتفاع ضغط الدم، فقر الدم الحاد، تجلط الدم إلخ ...)

تظهر نتائج التحليل التلوي أن مرضى تعفن الدم أظهروا استجابة التهابية مفرطة تتميز بارتفاع مستويات المصل من بروتين سي التفاعلي والبروكالسيتونين والسيبتوكينات (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ , IL-10).

ترتبط هذه الاستجابة الالتهابية بالإجهاد التأكسدي الذي يتميز بزيادة المؤكسدات (MDA / LPO, CB / AOPPs, NO) وانخفاض في مضادات الأكسدة (SODs, catalase, TACs) على مستوى المصل .

تم إثبات وجود علاقة إيجابية بين علامات الإجهاد التأكسدي (الأكسدة / المضادة للأكسدة) والاستجابة الالتهابية (TNF- α , IL-8 et IFN- γ)

وفشل الأعضاء (الكلى والكبد)، وشدة تعفن الدم والوفيات في مرضى تعفن الدم. يشير هذا إلى أنه يمكن استخدام علامات الإجهاد التأكسدي كعلامات تشخيصية و تنبئية لتعفن الدم

الكلمات المفتاحية: تعفن الدم، الإجهاد التأكسدي، فشل الأعضاء، الالتهاب، التحليل التلوي

Abréviations :

SRIS : Syndrome de réponse inflammatoire systémique

SOFA : Sequential [sepsis-related] Organ Failure Assessment

qSOFA : QuickSOFA

APACHE II : Acute physiology and chronic health evaluation II

CIVD : Coagulation intravasculaire disséminée

PRRs : Patterns Recognition Receptors.

PAMPs : Pathogen-Associated Molecular Patterns

TLRs : Toll-like receptors

NF- κ B : Nuclear factor-kappa B

IL-1 β : Interleukine -1 β

TNF- α : Tumor necrosis factor α

IL-8 : Interleukine -8

ICAM-I : Intercellular adhesion molecule 1

Cox-2 : Cyclooxygenase 2

iNOS : Oxyde nitrique synthase inductible

L'IL-6 : Interleukine -6

L'IL-12 : Interleukine -12

ADCC : Cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps

CPA : Cellule présentatrice d'Antigène.

HLA-DR : Antigène Leucocytaire Humain-Antigène D

ROS : Reactive oxygen species

RNS : Reactive nitrogen species

CXCR1 : C-X-C Motifs chemokine Receptor 1

CXCR2 : C-X-C Motifs chemokine Receptor 2

MODS : Multiple organ dysfunction Syndrome

PMN : Polymorphonucléaires

SOD : Superoxyde dismutase.

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

O₂^{•-} : Anion superoxyde

NO[•] : Oxyde nitrique

ONOO⁻ : Peroxynitrites

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

EDTA : Ethylénediamine-tétraacétique

CAT : Catalase

MPO : Myéloperoxydase

MDA : Malondialdéhyde

CRP : Protéine C réactive

PCT : Procalcitonine

SPS : Polyanéthol sulfonate de sodium

GSC : Gélose au sang cuit

ALAT/GPT : Alanine-Amino-Transférase/GlutamoPyruvate Transférase

ASAT/GOT : Aspartate-Amino-Transférase/GlutamoOxaloacétate Transférase

NO : Monoxyde d'azote

TAC : Capacité anti-oxydante totale sérique

TBA : Acide thiobarbiturique

TBARS : Espèces réactives de TBA

LPO : Peroxydation lipidiques

4-HAE : 4- hydroxyl olefins

NO₂⁻ : Nitrites

NO₃⁻ : Nitrates

AOPP : Advanced oxidation protein products

Liste des tableaux :

Tableau I. Caractéristiques épidémiologiques des patients septiques	21
Tableau II. Caractéristiques cliniques des patients septiques	22
Tableau III. Caractéristiques microbiologiques et cliniques des patients Algériens septiques	24
Tableau IV. Caractéristiques hématologiques des patients septiques.....	25
Tableau V. Taux de cytokines/chimiokine inflammatoires des patients atteints de sepsis	27
Tableau VI. Paramètres biochimiques d'altération rénale	29
Tableau VII. Paramètres biochimiques d'altération hépatique	31
Tableau VIII. Paramètres pro-oxydants des patients atteints de sepsis.....	32
Tableau IX. Paramètres anti-oxydants des patients atteints de sepsis	34

Liste des figures :

Figure 1 : Diagramme comparatif des définitions de sepsis décrite par les conférences de Consensus de 1991, 2001 et 2016	5
Figure 2 : Voies de signalisation des TLRs chez les mammifères	7
Figure 3: Phases hyper-inflammatoire et d'immunodépression au cours du sepsis.....	8
Figure 4 : Représentation schématique du stress oxydatif chez les patients septiques.....	9
Figure 5 : Paramètres hématologiques chez les patients septiques	26
Figure 6 : Taux de cytokines plasmatiques des patients atteints de sepsis.....	28
Figure 7 : Paramètres d'altération rénale des patients atteints de sepsis	30
Figure 8 : Paramètres d'altération hépatique des patients atteints septiques	31
Figure 9 : Taux de pro-oxydants plasmatiques des patients atteints de sepsis	33
Figure 10 : Taux d'antioxydants plasmatiques des patients atteints de sepsis.....	34
Figure 11 : Schéma récapitulatif de certains mécanismes physiopathologiques à la base de dysfonctionnements d'organes au cours de sepsis	40

Tableaux Annexes :

Annexe 1 : Tableau I : Les scores SOFA.....**i**

Annexe 1 (Suite) : Tableau II : Liste des PRRs couramment étudiés et leurs PAMPs et DAMPs..... **iii**

Annexe 2 : Tableau III: questionnaire des données épidémiologiques, cliniques, microbiologique et biochimique.....**iv**

Figures Annexes :

Annexe 1 : Figure 1. Récepteurs de la surface cellulaire et intracellulaires responsables de la reconnaissance des produits microbiens et des signaux de danger endogènes..... **ii**

Annexe 2 (Suite) : **v**

Annexe 3 (Suite) :

Figure 2. Corrélation des taux plasmatiques de MPO (A, B), SOD (C, D), et Catalase (E, F) avec les scores SOFA et APACHE II respectivement..... **xii**

Figure 3. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec la clearance de la créatinine..... **xii**

Figure 4. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec la clearance du taux de bilirubine totale **xiii**

Figure 5. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec le taux de TNF- α **xiii**

Figure 6. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec le taux d'IL-8..... **xiv**

Figure 7. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec le taux d'IFN- γ **xiv**

Annexe 3 : Abstract des articles utilisés en méta-analyse.

Article 1. Spanidis et *al.*, 2015 **vii**

Article 2. Kumar et *al.*, 2018..... **viii**

Article 3. Kumar et *al.*, 2019..... **ix**

Article 4. Qiu et *al.*, 2019..... **x**

Article 5. Acuña-Fernández et *al.*, 2020... **xi**

Sommaire :

Introduction 1

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

I. Sepsis.....3

I. 1. Définition du sepsis.....3

I. 2. Physiopathologie du sepsis..... 5

I. 2. 1. Réponse immunitaire au cours du sepsis.....5

I. 2. 1. 1. Phase hyper-inflammatoire.....5

I. 2. 1. 2. Immunodépression..... 8

I. 3. Stress oxydatif et sepsis.....9

I. 3. 1. Définition du stress oxydatif.....9

I. 3. 2. Systèmes pro-oxydant/Antioxydant..... 10

I. 3. 3. Stress oxydatif et sepsis.....11

I. 4. Thérapies du sepsis.....11

Chapitre II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériel.....13

II. 1. 1. Matériel non Biologique.....13

II. 1. 2. Matériel Biologique.....14

II. 1. 3. Patients.....14

II. 2. Méthodes.....14

II. 2. 1. Prélèvements sanguins..... 14

II. 2. 2. Hémoculture.....14

II. 2. 3. Etude de la réponse inflammatoire des patients septiques..... 15

II. 2. 3. 1. Dosage des paramètres Hématologiques (FNS)..... 16

II. 2. 3. 2. Dosage des cytokines inflammatoire..... 16

II. 2. 3. 3. Dosage de la protéine C réactive (CRP) et de la procalcitonine (PCT)..... 16

II. 2. 4. Dosages des paramètres biochimiques..... 16

II. 2. 4. 1. Dosage de la créatinine et de l'urée/BUN plasmatiques..... 17

II. 2. 4. 2. Dosage de la bilirubine	17
II. 2. 5. Dosage des marqueurs de stress oxydatif	18
II. 2. 5. 1. Dosage des paramètres pro-oxydants	18
II.2. 5. 2. Dosage des paramètres antioxydants.....	19
II. 3. Etude statistique.....	20

Chapitre III. Résultats et Discussion

III. 1.Résultats	21
1. Caractéristiques épidémiologiques des patients.....	21
2. Caractéristiques cliniques des patients.....	22
3. Caractéristiques microbiologiques et cliniques des patients Algériens	24
4. Réponse inflammatoire des patients septiques.....	25
5. Caractéristiques biochimiques et dysfonctionnement d'organes	29
6. Evaluation du stress oxydatif chez les patients septiques	32
7. Analyse de corrélation des paramètres de stress oxydatif et des marqueurs de lésions organiques et le pronostic chez les patients atteints de sepsis	35
III. 2. Discussion	37
Conclusion.....	41
 Références bibliographiques	
Annexes	i

Le sepsis est un syndrome complexe, défini comme un dysfonctionnement d'organe mortel causé par une réponse dysrégulée de l'hôte à l'infection. Il constitue un problème de santé publique avec un taux de mortalité des patients avoisinant les 40% (**Singer et al., 2016 ; Caraballo et Jaimes., 2019**).

Le sepsis tue une personne dans le monde toute les 5 secondes, particulièrement les individus fragilisés et immunodéprimé. On estime près de 30 millions de cas de sepsis, avec un potentiel de 6 millions de décès par an ; Il serait la deuxième cause de décès dans le monde selon « The National Center for Health Statistics and the Centers for Disease Control and Prevention » (**Singer et al., 2016 ; Mehta et Gill., 2019**).

La mortalité élevée des patients revient à la complexité de la physiopathologie du sepsis et de l'absence d'un traitement efficace pour le sepsis. Ceci constitue, à l'heure actuelle, un défi majeur pour les chercheurs afin de définir, diagnostiqué et cerner la physiopathologie de cette affection et la traiter de manière appropriée (**Laroye et al ., 2017 ; Salomão et al., 2019**).

Le sepsis est une réponse inflammatoire excessive et délétère pour plusieurs système (redox, immunitaire, coagulation, métabolique ...) et organes (poumon, cœur, foie, rein,...) (**Pang et al., 2019 ; Danielski et al., 2020**).

Le stress oxydatif en faveur d'une surproduction des espèces réactives de l'oxygène/nitrogène (ROS/RNS) (**Sid et al., 2013**). Les ROS/RNS oxydent et endommagent les macromolécules comme L'ADN, les protéines et les lipides conduisant à des lésions cellulaires associées à diverses pathologies, comme le sepsis (**Moukette et al., 2015 ; Jadeja et al., 2017**).

Dans le cadre du projet de fin d'études, il nous a été proposé d'étudier l'implication du stress oxydatif dans la physiopathologie du sepsis, le dysfonctionnement d'organes et le pronostic des patients septiques. Nous avons pour objectifs de :

- ✓ Déterminer les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques et biochimiques chez des patients Algériens atteints de sepsis et les comparer avec 5 travaux de recherche synthétisés.
- ✓ Etudier l'implication du stress oxydatif et de la réponse inflammatoire dans la pathogénèse du sepsis à l'aide d'une méta-analyse de 5 travaux de recherche récents.

- ✓ Rechercher d'éventuelles corrélations entre les paramètres du stress oxydatif, le dysfonctionnement d'organes et le pronostic des patients septiques.

La survenue de la pandémie au SARS-Cov2 et l'expansion de la COVID-19, avec le confinement qui s'en est suivi, a contraint les structures sanitaires, dont l'EPH de Boufarik, Blida. Nous nous sommes limités à analyser quelques caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques et biochimiques, de la population étudiée. Nous avons aussi enrichi notre étude par une analyse d'articles de recherche sur la le stress oxydant et le sepsis.

I. Sepsis

Le sepsis constitue une préoccupation majeure de santé publique, avec un taux de mortalité supérieur à 40% (**Singer et al., 2016**). On estime que le sepsis affecte plus de 30 millions de personnes dans le monde chaque année, entraînant potentiellement 6 millions de décès (**Fleischmann et al., 2016**). En 2017, 48,9 millions de cas de sepsis ont été enregistré dans le monde et 11 millions de décès ont été signalé, ce qui représente une augmentation de l'indice annuel de 1,63%. La mortalité était plus élevée chez les hommes que chez les femmes (164,2/100 000 contre 134,1/100 000) (**Rudd et al., 2020**).

Le sepsis affecte principalement les individus déjà fragilisés, les enfants et les nouveau-nés ayant un âge <5ans (20,3 millions cas) ainsi que les adultes et les personnes âgées ayant un un âge >20ans (23,7 millions cas). Les enfants et les adolescents âgés de 5 à 19 ans (4,9 millions cas) étaient les moins touchés par le sepsis (**Rudd et al., 2020**).

Les projections dans l'avenir suggèrent un doublement du nombre de cas d'ici cinquante ans, en particulier en raison du vieillissement de la population.

I. 1. Définition du sepsis

Le terme sepsis/septicémie, créé en 1837 par le médecin français Pierre Piorry, à partir des mots grecs Σήψις (putréfaction) et αίμα (sang), désigne la présence de bactéries (voire de champignons ou de virus) dans le sang (**Funk et al., 2009**).

Le sepsis est un syndrome physiopathologique complexe initialement défini en **1991**, lors d'une conférence de consensus, comme un Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique (SIRS) associé à infection ou « SIRS », qui est aggravé en sepsis sévère (sepsis et dysfonctionnement d'un organe) puis en choc septique (sepsis et hypotension sévère) (**Bone et al., 1992**).

Le SRIS est attesté par la présence concomitante d'au moins deux critères parmi les 4 suivants : (i) température >38°C ou <36°C, (ii) fréquence cardiaque >90 battements/minute, (iii) fréquence respiratoire >20 cycles/minute ou pression artérielle en CO₂ <32 mmHg, (iv) nombre de globules blanc >12 000 cellules/μL ou <4 000 cellules/μL ou présence d'au moins 10% de granuleux immatures (**Singer et al., 2016**).

La physiopathologie complexe, caractérisée par une réaction inflammatoire excessive, un stress oxydatif, et un désordre de plusieurs systèmes (immunitaire, coagulation, métabolique...), constitue un défi supplémentaire, pour les chercheurs, afin de poser une

définition adéquate et de développer une thérapie efficace (Singer et al., 2016). Ainsi, la définition du sepsis a connue deux mises à jours en 2001 et en 2016, depuis la toute première élaborée en 1991 (Bone et al., 1992 ; Levy et al., 2001 ; Singer et al., 2016).

Selon la dernière mise à jour datant de 2016, l'association entre l'inflammation et l'infection ainsi que les critères de SIRS ont été abandonnés. Le sepsis est actuellement considéré comme étant un dysfonctionnement mortel d'organes causé par une réponse dysrégulée de l'hôte à l'infection (Singer et al., 2016). Il est aggravé en choc septique, caractérisé par des anomalies circulatoires, cellulaires et métaboliques particulièrement profondes augmentant le risque de mortalité.

Les nouveaux critères cliniques du sepsis incluent une infection suspectée ou confirmée avec un dysfonctionnement d'organe identifié par une augmentation aiguë de deux points ou plus du score SOFA (*the Sequential [sepsis-related] Organ Failure Assessment*) **Tableau I, annexe 1.**

Le dépistage précoce du sepsis est également encouragé par l'utilisation d'un score clinique simplifié et rapide appelé quickSOFA (qSOFA) basé sur deux des critères cliniques suivants : (i) fréquence respiratoire ≥ 22 cycles/min, (ii) pression artérielle systolique ≤ 100 mm Hg (iii) Altération des fonctions supérieures (encéphalopathie ou syndrome confusionnel, score de Glasgow <14).

Le choc septique est identifié, en plus des critères cliniques de sepsis, par une exigence de vasopresseur pour maintenir une pression artérielle supérieure ou égale à 65 mm Hg et un taux de lactate sérique supérieur à 2 mmol/L (>18 mg/dL) (Singer et al., 2016).

Néanmoins, les limites de cette mise à jour de la définition et des critères cliniques de sepsis ont été débattu et une nouvelle mise à jour semble être nécessaire (**Figure 1**).

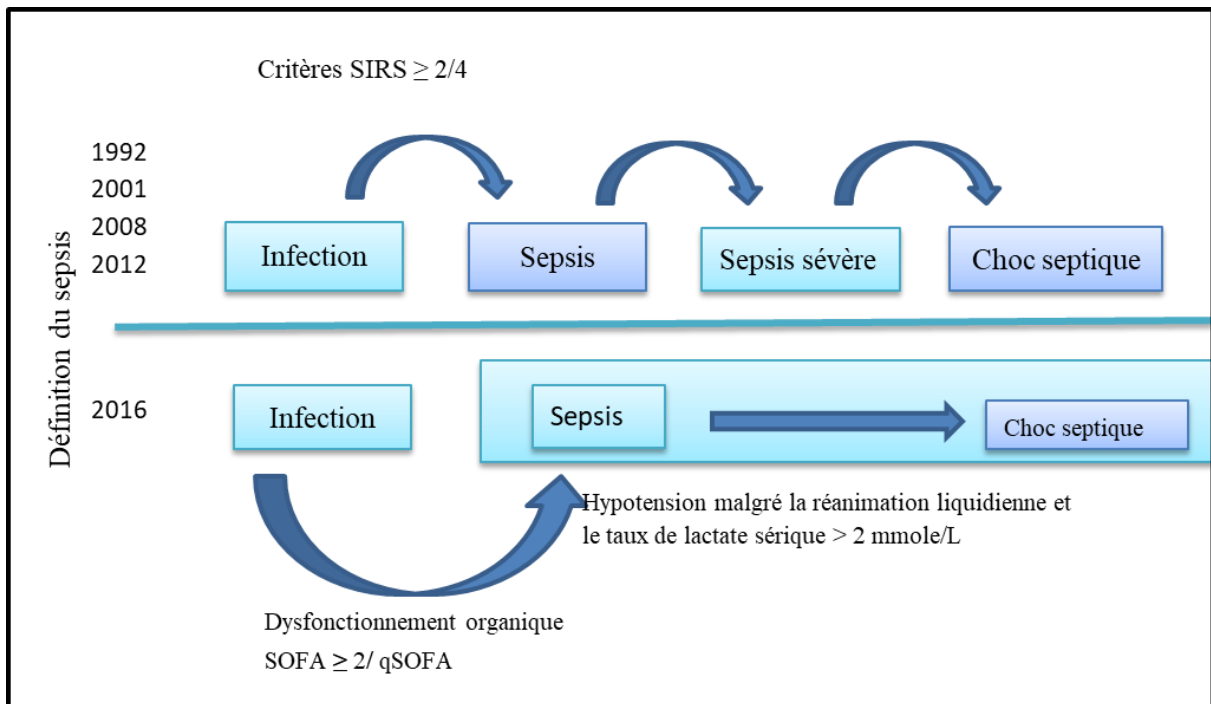


Figure 1. Diagramme comparatif des définitions de sepsis décrite par les conférences de consensus de 1991, 2001 et 2016, adaptée de (Napolitano, 2018).

I. 2. Physiopathologie du sepsis

Au cours du sepsis, les réponses immunitaire et inflammatoire sont excessivement activées par les agents infectieux et maintenues par des stimuli à la fois infectieux et non infectieux. (Delile, 2017). Cette réponse est associée à des déséquilibres de plusieurs systèmes conduisant à des défaillances vasculaire et viscérale ainsi que des thromboses microvasculaires secondaires à une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) et éventuellement à la mort (Cimolai et al., 2015).

I. 2. 1. Réponse immunitaire au cours du sepsis

La réponse immunitaire lors du sepsis est une succession de deux phases une phase hyper-inflammatoire et une phase d'immunodépression (Ono et al., 2018).

I. 2. 1. 1. Phase hyper-inflammatoire

L'activation du système immunitaire lors d'une infection débute par une phase pro-inflammatoire contrebalancée par une phase anti-inflammatoire qui permet le retour à l'homéostasie. Le déclenchement de la réponse immunitaire et l'hyperinflammation au cours du processus du sepsis est caractérisé par plusieurs phases (Poujol, 2016).

✓ **Reconnaissance du pathogène**

Les cellules de l'hôte disposent des récepteurs « PRR » (*Patterns Recognition Receptors*) qui reconnaissent des motifs hautement conservés spécifiques des pathogènes ou « PAMPs » (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*). Il résulte de cette interaction une réaction inflammatoire locale au niveau de l'organe infecté visant à limiter la dissémination du germe infectieux (**Delile, 2017 ; Assinger et al., 2019**).

Les principaux PAMPs recensés dans le monde microbien ainsi que les différentes familles de PRRs sont résumés dans le **Tableau II de l'annexe 1** .

Les Toll-like receptors ou « TLR » sont les récepteurs PRRs les plus décrits chez l'homme **Figure 1 de l'annexe 1**. Ils sont exprimés par les cellules immunitaires (monocytes/macrophages, polynucléaires neutrophiles, cellules dendritiques, LT, LB...) et par les cellules épithéliales (**O'Neill et al., 2013**) (**Figure 2**).

L'activation des TLRs par les PAMPs permet d'activer plusieurs voies de signalisation principalement la voie du facteur de transcription NF- κ B. Ce dernier contribue à l'expression de médiateurs clé de la réponse inflammatoire, dont notamment les cytokines (l'IL-1 β , le TNF α , l'IL-8 et les interférons de type I), les molécules d'adhérence (ICAM-1), la cyclooxygénase 2 (Cox-2) et la NOSynthase inductible (iNOS) (**Tapader et al., 2018**).

Ces cytokines vont induire, d'une part, la production de nouveaux médiateurs inflammatoires (Cytokines, chimiokines, NO...) et ainsi contribuer au développement des réponses immunitaires innée et adaptative (**Poujol, 2016**). D'autre part, elles induisent l'expression de peptides antimicrobiens destinés à l'élimination du pathogène. Plusieurs travaux de recherche ont démontré le rôle clé du NF- κ B dans la pathogénèse, le dysfonctionnement d'organe et la létalité au cours du sepsis. Il fut démontré que le niveau d'activation du NF- κ B est positivement corrélée à la gravité du sepsis montrant une augmentation de son activité chez les patients septiques décédés par rapport aux survivants (**Arnalich et al., 2000 ; Fan et al., 2001**).

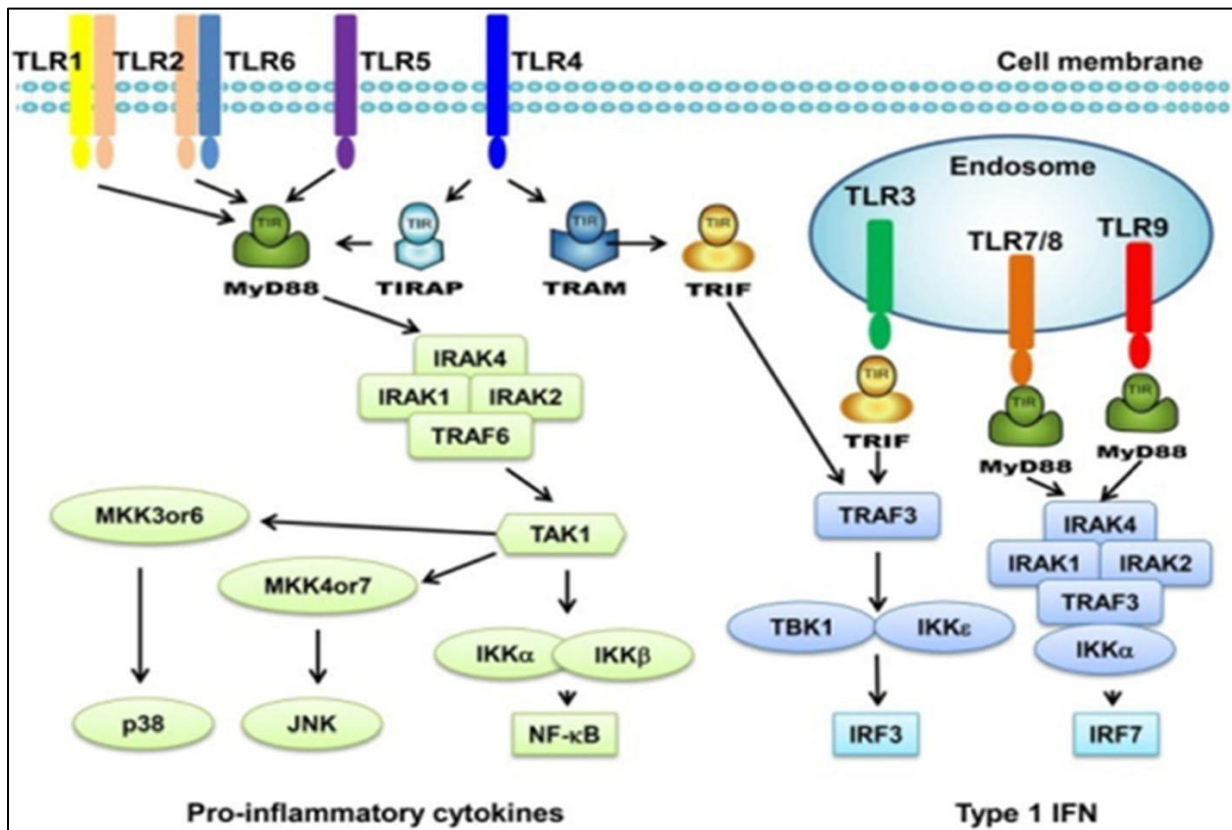


Figure 2. Voies de signalisation des TLRs chez les mammifères (El-Zayat et al., 2019).

✓ **Déclenchement de la réponse immuno-inflammatoire**

La reconnaissance du pathogène déclenche une cascade de réponse inflammatoires localisés et systémiques visant à éradiquer le pathogène. Les médiateurs inflammatoires induits suite à cette réponse sont nombreux et les cytokines pro-inflammatoires comptent parmi les plus importants. Celles qui sont particulièrement étudiées dans le cadre des syndromes septiques sont le $TNF\alpha$, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-12 et l' $INF\gamma$ (Grimaldi, 2014).

La libération de ces cytokines stimule la synthèse de molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales. Les polynucléaires neutrophiles circulants peuvent infiltrer les tissus, suivis par le recrutement et l'activation des monocytes/macrophages et des cellules dendritiques. Ces dernières seront responsable de l'apprêtement antigénique; elles participent à l'activation, la prolifération et la différenciation des lymphocytes T et B (Grimaldi, 2014). Les lymphocytes T effecteurs migrent vers le site infectieux et participe, de par ses activités helper et cytotoxiques à l'amplification de la réponse immune et à l'élimination des pathogènes et des cellules infectées. L'immunité humorale n'est pas en reste, puisque des anticorps immuns sont générés après activation prolifération et différenciation des LB. Ces anticorps sont une fraction soluble très importante puisqu'elle est capable de neutraliser les

germes infectieux et d'induire des mécanismes spécifiques tels que l'activation du système du complément, l'opsonisation et l'ADCC (Grimaldi, 2014).

La réponse inflammatoire (pro-inflammatoire/anti-inflammatoire) devient exacerber et un état d'hyper-inflammation systémique caractérisé par une production massive de cytokines qualifiée d' « Orage cytokinique » est observée (Poujol, 2016).

I. 2. 1. 2. Immunodépression

L'immunosuppression affecte à la fois le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif. Elle est marquée par des altérations des cellules immunitaires innées et adaptatives (apoptose, altérations fonctionnelles et modifications phénotypiques), qui ne seront plus capable de combattre l'infection.

Cette phase observe entre autres une lymphopénie résultant de l'apoptose des LB et LT et la réduction de leur prolifération, une reprogrammation des CPA conduisant à une diminution de l'expression du HLA-DR, ainsi qu'un phénotype immature des neutrophiles. Ces derniers subissent également des dysfonctions, altérant leurs capacités anti-microbiennes telles qu'une diminution de la production des ROS ou une baisse de l'activité chimiotactique via une diminution de l'expression des récepteurs CXCR1 et CXCR2 (Figure 3) (Lereclus, 2018 ; Cao et al., 2019).

Des études récentes indiquent que les patients décédés d'un sepsis ont une immunosuppression marquée. Leur mortalité résulte d'une incapacité des patients à éliminer les infections primaires, ainsi que le développement d'infections secondaires (Ono et al., 2018).

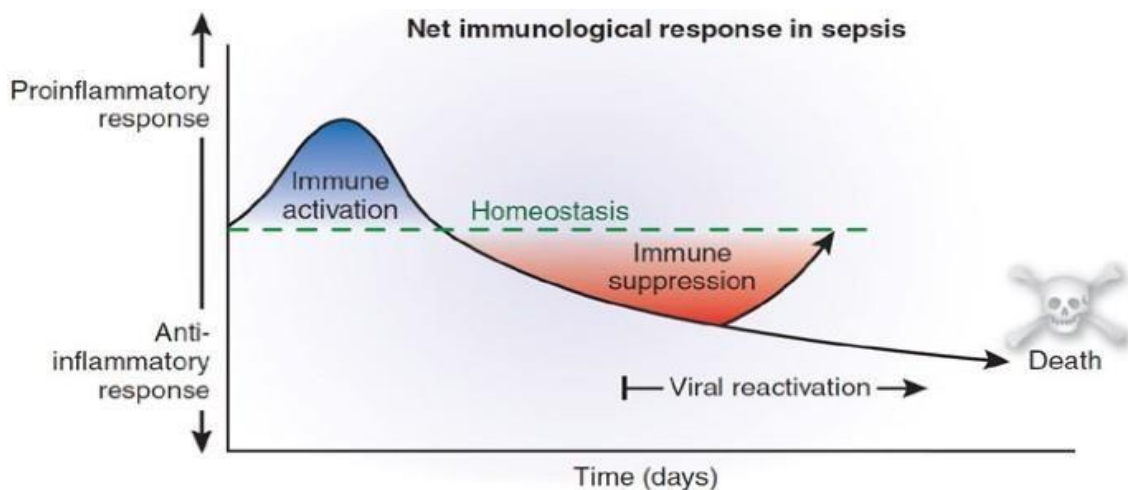


Figure 3. Phases hyper-inflammatoire et d'immunodépression au cours du sepsis (Hotchkiss et al., 2009).

I. 3. Stress oxydatif et sepsis

I. 3. 1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants en faveur d'une surproduction des espèces réactives de l'oxygène/nitrogène (ROS/RNS) (Sid *et al.*, 2013). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink *et al.*, 2008). Les ROS/RNS oxydent et endommagent les macromolécules comme L'ADN, les protéines et les lipides conduisant à des lésions cellulaires (Moukette *et al.*, 2015 ; Jadeja *et al.*, 2017). La génération excessive de ROS/RNS épuise les antioxydants endogènes, qui par la suite, ne parviennent pas à piéger tous les ROS conduisant à des lésions cellulaires associées à diverses pathologies, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, infectieuses et neurodégénératives (Jadeja *et al.*, 2017) (Figure 4).

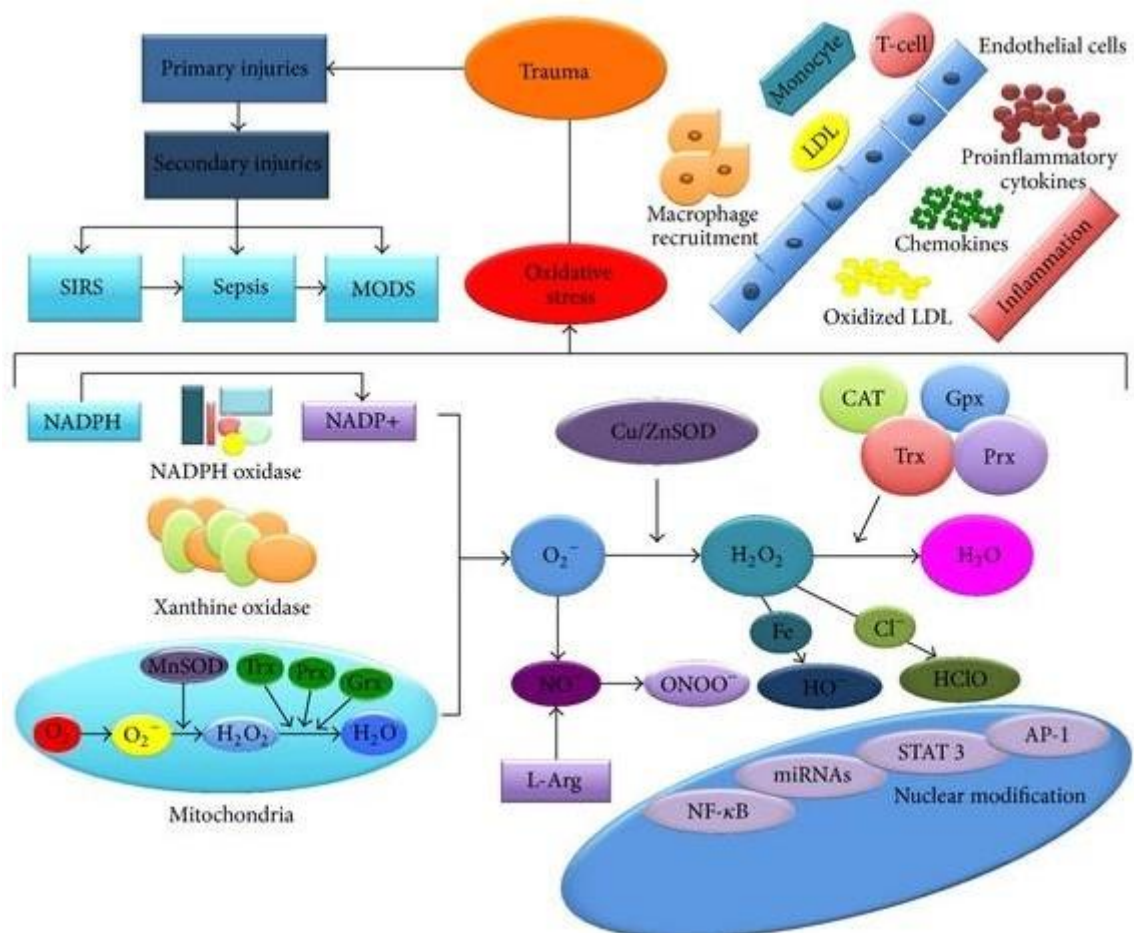


Figure 4. Représentation schématique du stress oxydatif chez les patients septiques

(Papurica et al., 2015). L'infection induit une série de lésions secondaires dues aux déséquilibres biologiques et biochimiques. Le premier effet secondaire installé est le SIRS, suivi d'un sepsis, et enfin de MODS (multiple organ dysfunction Syndrome). Les inflammations générées par l'action des cellules polymorphonucléaires (PMN), ainsi que par l'hypermétabolisme, maintiennent et augmentent le stress oxydatif. Les mitochondries sont considérablement affectées, produisant ainsi des quantités importantes d'anion superoxyde. Les radicaux libres produits au niveau cellulaire sont neutralisés par de nombreuses enzymes antioxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la thioredoxine (Trx), la glutathion peroxydase (Gpx), et la peroxiredoxins (Prx).

I. 3. 2. Systèmes pro-oxydant/Antioxydant

A l'état quiescent, une homéostasie redox est maintenue grâce à un équilibre de la balance des systèmes antioxydants/ pro-oxydants. Cet équilibre permet une production contrôlée des ROS/RNS à des doses raisonnables indispensable à de nombreuses fonctions physiologiques comme la signalisation cellulaire, la mort cellulaire programmée et la défense de l'organisme (Ye et al., 2015 ; Belaïch et Boujraf ., 2016). Cependant cette homéostasie redox peut être rompue, soit par une production excessive de ROS/RNS (pro-oxydantes) soit par une diminution des capacités anti-oxydantes. On parle alors de stress oxydatif (Migdal et Serres., 2011).

Les ROS/RNS sont générés par de sources endogènes et exogènes à partir de l'oxygène (O₂) et de l'azote (N). Ainsi, les principales sources endogènes des ROS/RNS sont la chaîne respiratoire mitochondriale, la NAD(P)H oxydase, la xanthine oxydase et la NOSynthase. Les ROS/RNA exogènes résultent de la pollution, de la fumée de cigarette, de l'alcool, de certains médicaments, des solvants industriels, et les radiations. (Hrycay et Bandiera., 2015) (Figure 4).

L'anion superoxyde O₂•⁻ constitue la première espèce réactive résultant d'une réaction réduction électronique de l'oxygène. La dégradation de ces radicaux superoxydes O₂•⁻ est contrôlée par des systèmes de défense antioxydants, qui s'adaptent au taux de radicaux présents. Ainsi, la production des radicaux superoxydes est régulée par des métalloenzymes, les superoxydes dismutases (SOD), qui catalysent leur dismutation en peroxyde d'hydrogène, H₂O₂. Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas en soi un radical mais une molécule, il est lui-même toxique et capable de donner naissance, *via* des réactions de type « réaction de Fenton », à la plus délétère des espèces radicalaires du stress oxydant , le radical

hydroxyle $\cdot\text{OH}$. La quantité de peroxyde d'hydrogène est régulée par l'enzyme héminique, la catalase (CAT) et par la glutathion peroxydase (GPx) qui catalysent sa réduction par le glutathion (GSH) en eau et oxygène (**Bouguirne, 2012 ; Shah et al., 2014**).

Les RNS englobent principalement le radical monoxyde d'azote ($\cdot\text{NO}$) et le peroxyde d'azote (ONOO^-). Le $\cdot\text{NO}$ est synthétisé par la NO synthase à partir de la L-arginine, en présence d'oxygène. Le $\cdot\text{NO}$ forme avec l'anion superoxyde $\text{O}_2\cdot^-$ un puissant oxydant, le peroxyde d'azote (ONOO^-) (**Shah et al., 2014 ; Phaniendra et al., 2015**).

I. 3. 3. Stress oxydatif et sepsis

Le stress oxydatif, au cours du sepsis, apparaît jouer un rôle dans le maintien la réponse inflammatoire systémique et la genèse des dysfonctions d'organes par l'intermédiaire de la dysfonction endothéliale et microcirculatoire. Le niveau de stress oxydatif semble corrélé avec la sévérité de sepsis. Il est significativement plus élevé chez les patients atteints de SIRS avec défaillances d'organes que chez ceux n'ayant pas de défaillances d'organes et pourrait contribuer à la survenue de multiples défaillances d'organes (**Motoyama et al., 2003 ; Huet et al., 2007**).

Les ROS/RNS produites réagissent et altèrent toutes les molécules cellulaires (ADN, protéines, lipides et glucides) conduisant à la mort cellulaire et ainsi au dysfonctionnement d'organes caractéristique de sepsis (**Galley, 2011 ; Nagar et al., 2018**).

I. 4. Thérapies du sepsis

Depuis plus de vingt ans, malgré les progrès considérables accomplis dans la compréhension de la physiopathologie du sepsis, aucune nouvelle thérapie n'a vu le jour. Le traitement de sepsis repose essentiellement sur la neutralisation des germes grâce à l'antibiothérapie, l'éradication du foyer infectieux responsable de la dissémination, un traitement symptomatique et le maintien des fonctions vitales grâce aux supports nécessaires (**Chrétien, 2018**).

De très nombreux essais cliniques coûteux se sont achevés par des échecs, et le seul nouveau médicament mis sur le marché (Xigris®) a été finalement retiré en 2011, faute d'une démonstration convaincante de son efficacité. De nouveaux concepts doivent donc être élaborés, et des tests de diagnostic plus rapide permettraient une mise sous antibiotiques plus

précoce. Ce dernier élément demeure fondamental, car chaque heure gagnée améliore les chances de survie (**Chrétien, 2018**).

Chapitre II. Matériel et Méthodes

Dans le cadre de l'obtention du diplôme de Master en Biologie Cellulaire et Moléculaire, nous devons réaliser un travail de recherche sur le stress oxydatif au cours du sepsis. Ce travail devait se réaliser en collaboration avec 3 services et laboratoires :

- ✓ Service des maladies infectieuses de l'EPH Boufarik de Blida .
- ✓ Laboratoire de pédagogie Biologie Cellulaire et Moléculaire de la FSB de l'université de Blida 1.
- ✓ Laboratoire de pharmacologie cellulaire et signalisation de la FSB-USTHB.

La survenue de la pandémie au SARS-Cov2 et l'expansion de la COVID-19 a profondément touché plusieurs secteurs, notamment l'enseignement supérieur et la recherche scientifiques, dans le monde et en Algérie. Dans ces circonstances, exacerbées par le confinement total de la wilaya de Blida, premier foyer de l'infection (Daira de Boufarik) et lieu de notre résidence, notre travail a pris fin le 15 mars 2020, un mois seulement après le début de notre stage à l'EPH Boufarik.

Nous avons dû adapter notre étude à la situation actuelle en nous limitant à analyser les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques et biochimiques de la population étudiée. Nous avons aussi enrichi notre étude par une analyse d'articles de recherche sur le sepsis et le stress oxydant. Ainsi, le présent travail regroupe deux parties :

- Une étude sur des patients Algériens septiques, réalisée au niveau des laboratoires de Biochimie et bactériologie du service des maladies d'infectieux de l'EPH Boufarik, durant une période de 1 mois du 15 février au 15 mars 2020.
- Une méta-analyse de 5 travaux de recherche qui répondaient aux objectifs préalablement fixés.

Notre travail a porté sur l'implication du stress oxydatif dans la physiopathologie du sepsis, le dysfonctionnement d'organes et le pronostic des patients septiques.

II. 1. Matériel

II. 1. 1. Matériel non Biologique

L'appareillage, les réactifs sont cités en **Annexe 2**.

II. 1. 2. Matériel Biologique

- Sang périphérique.

II. 1. 3. Patients

L'étude a été menée sur un total de 14 sujets, classés comme :

- Contrôles sains dont 6 hommes âgés de 38 à 86 ans .
- Patients septiques dont 8 hommes âgés de 48 à 94 ans admis en unité de soins intensif et n'ayant subi aucun traitement (Antibiothérapie, Corticothérapie, ...) ont été inclus dans notre étude.

Ces derniers ont été recrutés au niveau du service des maladies infectieuses de l'EPH Boufarik.

Les données épidémiologiques (âge, sexe), cliniques (Température, Fréquence cardiaque et respiratoire, MAP, ATCD, survie...), microbiologique (hémoculture) et biochimique (créatinine) ont été récolte à partir d'un questionnaire (**Tableau III, Annexe 2**) communiqué aux médecins soignants. Toutes ces données ont été colligées dans une base de données Excel.

II. 2. Méthodes

II. 2. 1. Prélèvements sanguins

Des prélèvements sanguins par ponction veineuse et dans des conditions d'asepsie très rigoureuses ont été réalisés sur :

- Tube EDTA afin de déterminer la formule d'énumération sanguine (FNS) et les paramètres de stress oxydants. Le sang a été centrifugé à 3000 g pendant 10 min à 4°C et le sérum a été récupéré puis conservé à -40°C jusqu'à utilisation.
- Tube héparine afin de doser les paramètres biochimiques (Créatinine).
- 2 types de flacons d'hémoculture ont été utilisés : flacons classiques et flacons BACT/ALERT®.

II. 2. 2. Hémoculture

L'hémoculture est une technique de laboratoire réalisée dans le but de mettre en évidence la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries et levures) dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques.

Le milieu d'hémoculture est un bouillon nutritif conditionné en flacon. La composition du milieu favorise le développement de la plupart des bactéries rencontrées en pathologie humaine (germes aérobies, anaérobies et microaérophile). Il contient le polyanéthol sulfonate de sodium (SPS) à une concentration de 0,03 % qui joue le rôle d'anticoagulant, neutralise l'activité bactéricide du sérum humain et inhibe l'action de certains antibiotiques (streptomycine, kanamycine, gentamicine et polymixine B).

Après ensemencement du sang dans les flacons d'hémoculture (1 flacon classique et 1 flacon BACT/ALERT®), les flacons, accompagnés d'une fiche de renseignements cliniques, sont rapidement acheminé au laboratoire de bactériologie, où ils sont immédiatement incubés à 37°C.

Les flacons classiques sont incubés à l'étuve pendant 10 jours au maximum alors que ceux de l'automate **BACT/ALERT® 3D** sont subcultivés après une alerte de l'appareil indiquant une culture positive (7 jours au maximum).

L'incubation à l'étuve est systématiquement interrompue par des subcultures sur Gélose au sang cuit (GSC) en J1 (1^{er} jour), J3 (3^{ème} jour) et J 10(10^{ème} jour) avant de rendre un résultat négatif.

Après incubations, une goutte des milieux positifs est ensemencée à l'aide d'une pipette pasteur sur milieu GSC, un milieu solide riche pour les germes exigeants. Les boîtes de pétri destinées à l'isolement des germes aérobies sont incubées à 37°C pendant 24h à l'étuve alors que les celles des germes aéro-anaérobies facultatifs sont incubés à 37°C à l'étuve dans une jarre à bougie sous 3 à 5 % de CO₂ et saturée d'humidité. Dans le cas d'une suspicion de bactéries anaérobies strictes une jarre spécifique fermée hermétiquement créant l'anaérobiose est utilisée.

II. 2. 3. Etude de la réponse inflammatoire des patients septiques

La réponse inflammatoire des patients septiques a été estimée par mesure des paramètres inflammatoires parmi : le nombre de leucocytes, le taux de CRP et de procalcitonine (PCT), le taux de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, et IFN- γ) et anti-inflammatoire (IL-10) et de chimiokines (IL-8). Nous avons réalisé un FNS dans notre étude alors que les autres paramètres inflammatoires ont été pris des différentes études.

II. 2. 3. 1. Dosage des paramètres hématologiques (FNS)

L'hémogramme ou numération-formule sanguine (NFS) est un examen hématologique qui permet d'obtenir une évaluation quantitative (numération) et qualitative (formule) des éléments figurés du sang : les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes (**Cloutier et al., 2014**). Il est souvent requis devant une suspicion d'anémie, une altération de l'état général, en cas d'hémorragie, de thromboses, d'infection persistante ou de cancer. Il est aussi prescrit dans le cadre de la surveillance d'un traitement médicamenteux (**Berthélémy, 2014**).

L'hémogramme a été réalisé à l'aide d'un automate (BC-5300 mindray).

II. 2. 3. 2. Dosage des cytokines inflammatoires

Les taux de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, et IFN- γ), de cytokines anti-inflammatoire (IL-10) et de chimiokine (IL-8) ont été mesurées dans le sérum des patients septiques à l'aide de kits ELISA commerciaux ou par Le kit ProcartaPlex Simplex d'Affimetrix (**Kumar et al., 2018; Kumar et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020**).

II. 2. 3. 3. Dosage de la protéine C réactive (CRP) et de la procalcitonine (PCT)

La protéine C réactive (CRP) est une protéine de phase aiguë synthétisée principalement par le foie et joue un rôle important dans les réactions inflammatoires par activation du complément. Elle est utilisée comme marqueur biologique d'infection ou d'inflammation.

La procalcitonine (PCT) est une pro-hormone stockée, après sa synthèse, dans des granules de sécrétion dans tous les types cellulaires de l'organisme. Elle est libérée des granules par un stimulus pro-inflammatoire notamment : les cytokines IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , et les bactéries. Elle est donc couramment utilisée dans le diagnostic d'une infection aiguë et à définir la durée du traitement antimicrobien (**Westwood et al., 2015**).

Ces paramètres ont été mesurés par kits commerciaux dans les deux études de Qui et al. (2019) Acuña-Fernández et al. (2020).

II. 2. 4. Dosage des paramètres biochimiques

Le sepsis est caractérisé par un dysfonctionnement d'organes (rein, foie, cœur, ...). Afin d'estimer la défaillance d'organes et la sévérité du sepsis nous avons ciblé les paramètres de dysfonctionnement rénale (créatinine, Urée/BUN), les paramètres de dysfonctionnement hépatique (Bilirubine, ALAT/ASAT). Seule, la créatinine a été dosée dans notre étude, les autres dosages ont été apportés des 5 études de méta-analyse.

II. 2. 4. 1. Dosage de la créatinine et de l'urée/BUN plasmatiques

La créatinine et l'urée/BUN (Blood Urea Nitrogen) sont des marqueurs utilisés en pratique quotidienne pour évaluer la fonction rénale, en particulier la fonction glomérulaire (**Delanaye et al., 2010 ; Fernandes et al., 2018**). Elle est le produit final du métabolisme de la créatine chez les mammifères, qui est effectué par les muscles squelettiques pour libérer de l'énergie. Le rein étant la seule voie d'élimination de la créatinine (**Huang et al., 2016 ; Fernandes et al., 2018**).

L'urée/BUN (Blood Urea Nitrogen) est synthétisé par le foie dans le cycle de l'urée à partir de l'ammoniac. Il nous indique l'état de perfusion du rein.

Le dosage de la créatinine dans notre étude a été réalisé par kit (BIOASSay Système) ou par automate dans les études utilisées dans notre méta-analyse (**Kumar et al., 2018 ; Acuña-Fernández et al., 2020**).

Le dosage de l'urée/BUN a été fait par automate (**Qui et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020**).

II. 2. 4. 2. Dosage de la bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxy, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Algeciras-Schimmich et al., 2007**).

Le dosage de la bilirubine totale et de la bilirubine conjuguée (directe) permet de mettre en évidence et d'effectuer le suivi des maladies hépato-biliaires.

Nous n'avons pas pu réaliser le dosage de la bilirubine dans notre étude. Les résultats du dosage de la bilirubine présentés sont ceux d'Acuña-Fernández et al. (2020) qui ont effectué ce dosage par automate (**Acuña-Fernández et al., 2020**).

D'autres marqueurs de dysfonctionnement hépatiques telles que les transaminases ALAT/GPT(Alanine-Amino-Transférase/GlutamoPyruvate Transférase) et ASAT/GOT (Aspartate-Amino-Transférase/GlutamoOxaloacétate Transférase) ont été également dosés dans le sérum des patients par automate (**Qui et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020**).

II. 2. 5. Dosage des marqueurs de stress oxydatif

Nous avons conservé à -40°C des échantillons sériques des deux groupes contrôle et septique. Ces échantillons ont été destinés aux dosages des paramètres de stress oxydatif (pro-anti-oxydants). Malheureusement, cette partie n'a pas été réalisée étant donné que tous les laboratoires étaient fermés durant la pandémie du COVID-19.

Pour cela, nous avons réalisé une synthèse des résultats de 5 études récentes ciblant les paramètres des stress oxydatif que nous avons voulu dosé :

- Les marqueurs pro-oxydants : la myéloperoxydase (MPO, enzyme marqueur de l'infiltration des neutrophiles), le malondialdéhyde (MDA, marqueur de la peroxydation lipidique), le monoxyde d'azote (NO, RNS et marqueur d'activation de la NOS) et les protéines carbonylées (marqueur d'oxydation protéique).
- Les marqueurs antioxydants : enzymatique (la catalase et la Superoxyde Dismutase) et la capacité anti-oxydante totale sérique (TAC).

II. 2. 5. 1. Dosage des paramètres pro-oxydants

✓ Dosage du taux de malondialdéhyde (MDA) et de peroxyde lipidique

Le malondialdéhyde (MDA) est un index direct de la peroxydation lipidique. La méthode de dosage de MDA est basée sur la détermination, par spectrophotométrie à 532nm, de l'intensité de la couleur rose, produite après réaction de deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) avec les peroxydes lipidiques ou les espèces réactives de TBA (TBARS) entre autre le MDA (Ayala et al., 2014).

Le dosage de MDA sérique a été réalisé par la méthode ELISA ou par la méthode de Keles et al. (2001) (Keles et al., 2001 ; Qiu et al., 2019).

En outre la peroxydation lipidique pourrait être estimée par dosage des produits de peroxydation lipidiques (LPO), qui permet de mesurer en plus du MDA le 4- hydroxyl olefins (HAE -4). Le dosage des LPO a été réalisé par kit commercial (Esterbauer et Cheeseman., 1990).

✓ Dosage de l'activité de la myéloperoxydase (MPO)

La myéloperoxydase (MPO) est une hémoprotéine stockée dans les granules azurophiles des neutrophiles. Elle synthétise de l'acide hypochloreux et d'autres oxydants réactifs pour phagocyter les bactéries ingérées (Serteyn et al., 2003).

Le dosage de l'activité MPO a été réalisé par la méthode de l'ortho-dianisidine (**Karbach et al., 2014**).

✓ *Dosage du taux de monoxyde d'azote (NO)*

Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire synthétisé par la NO synthase à partir de la L arginine (**Tousoulis et al., 2012**). Le NO est un gaz instable qui est rapidement métabolisé en nitrites (NO_2^-) et nitrates (NO_3^-). Son dosage se fait de manière indirecte par la détermination des taux de ces métabolites nitrites et nitrates (**Grand et al., 2001**).

Le dosage de monoxyde d'azote a été fait par la méthode ELISA (**Qiu et al., 2019**).

✓ *Dosage du taux de protéines carbonylées*

Les protéines carbonylées représentent un marqueur de l'oxydation globale des protéines, par les ROS dans le sang, les tissus et les cellules (**Weber et al., 2015**).

Le dosage de Protéine carbonyle a été déterminé par la méthode de Patasoukis et al. (2004) (**Patasoukis et al., 2004**).

Le taux d'AOPP (*Advanced oxidation protein products*) est, aussi un biomarqueur de la modification oxydative des protéines, formés par réaction entre les protéines plasmatiques et les oxydants chlorés tels que les chloramines ou l'acide hypochloreux (**Melough et al., 2017 ; Gryszczyńska et al., 2019**).

Le dosage de AOPP a été évalué selon la méthode (**Witko-Sarsat et al., 1998**).

II. 2. 5. 2. Dosage des paramètres antioxydants

✓ *Dosage de l'activité Superoxyde Dismutase (SOD)*

Les superoxydes dismutases sont des enzymes antioxydantes ubiquitaires. Ces métalloprotéines représentent la première ligne de défense anti-oxydante contre le stress oxydant (**Haleng et al., 2007**).

La SOD catalyse la conversion du radical anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et oxygène (**Kabel, 2014**).

Le dosage de la SOD a été déterminée soit par kit ou par la méthode ELISA (**Kumar et al., 2018 ; Qiu et al., 2019**).

✓ *Dosage de l'activité catalase*

La catalase est une enzyme ubiquitaire localisée dans les peroxysomes et dans le cytosol (Aebi, 1984). Elle catalyse la réaction de décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (Jevva et al., 2015).

Le dosage de l'activité catalase a été effectué, par suivi de la cinétique de transformation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène selon la méthode (Hidalgo et al., 2006).

✓ *Dosage de la capacité anti-oxydante totale (TAC)*

La capacité antioxydante totale (TAC) ou le statut antioxydant total (TAS) permet d'estimer le statut antioxydant global du corps (Wu et al., 2017). Ce dosage nous permet donc de mesurer les différents antioxydants enzymatique (SOD, catalase, GPx) et non enzymatique (GSH, Vitamine A, C, β-carotène, acide urique, bilirubine..etc) dans le sérum.

La TAC a été dosée selon la méthode (Janaszewska et Bartos., 2002) .

II.3. Etude statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM. Le logiciel GraphPad Prism v. 6.0 est utilisé pour analyser les données.

Le test ANOVA unidirectionnel avec un test *post hoc* de Tukey est utilisé pour comparer les différences entre les groupes expérimentaux, avec P<0,05 étant considéré comme statistiquement significatif.

Chapitre III. Résultats et Discussion

Nous étude s’inscrit dans le cadre d’une recherche fondamentale des mécanismes impliqués dans la pathogénèse du sepsis. Pour ce faire, nous avons analysé 5 travaux de recherche que nous avons comparée à notre étude sur des patients Algériens. L’interprétation et la discussion des résultats se feront comme suit :

- Nous décrirons, d’abord, les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques et biochimiques des patients Algériens atteints de sepsis. Les données de notre étude seront, par la suite, comparer avec les données de 5 travaux de recherche.
- Ensuite nous déterminerons l’implication du stress oxydatif et de la réponse inflammatoire dans la pathogénèse du sepsis à l’aide d’une synthèse de données récents de la littérature (5 articles).
- Enfin, nous rechercherons d’éventuelles corrélations entre les paramètres du stress oxydatif, le dysfonctionnement d’organes et le pronostic des patients septiques.

III. 1. Résultats

1. Caractéristiques épidémiologiques des patients

Les caractéristiques épidémiologiques (Age et sexe- ratio) des patients Algériens et ceux des études utilisées sont représentés dans le tableau I .

Tableau I. Caractéristiques épidémiologiques des patients septiques.

Paramètres	Contrôle	Sepsis	Références
	<i>Contrôle (n=6)</i>	<i>Sepsis (n=8)</i>	Boulahouache et Rekkal., 2020 <i>Algérie</i>
Age (min-max)	60.7±8.7 (38-86)	69.12±5.68 (48-94)	
Sexe ratio H/F	6/0	8/0	
	<i>Contrôle (n=50)</i>	<i>Sepsis (n=100)</i>	Kumar et al., 2018 <i>Inde</i>
Age (min-max)	42±10 (32-52)	57.5±0.5 (57-58)	
Sexe ratio H/F	32/18	61/39	
	<i>Contrôle (n=45)</i>	<i>Sepsis (n=80)</i>	Kumar et al., 2019 <i>Inde</i>
Age (min-max)	40±11 (29-51)	49±17 (32-66)	
Sexe ratio H/F	34/11	58/22	
	<i>Contrôle (n=15)</i>	<i>Sepsis (n=25)</i>	Qiu et al., 2019 <i>Chine</i>
Age (min-max)	65.5 (54-73)	59 (50-70.5)	
Sexe ratio H/F	11/4	13/12	
	<i>Contrôle (n = 12)</i>	<i>Sepsis (n =20)</i>	Acuña-Fernández et al., 2020 ; Espagne
Age (min-max)	46.5±21.5 (25-68)	60.5±20.5 (40-81)	
Sexe ratio H/F	7/5	13/7	

H/F : Homme/femme.

Les résultats épidémiologiques des patients Algériens montrent une prédominance du sepsis chez les patients âgés (69.12 ± 5.68 ans) de sexe masculin (sexe ratio 8/0). Nos résultats sont accord avec les résultats de **Kumar et al.** (2018), **Kumar et al.** (2019), **Qiu et al.** (2019), et **Acuña-Fernández et al.** (2020). Néanmoins, les résultats de **Qiu et al.** (2019) n'ont pas montré de prédominance masculine (sexe ratio 13/12) (**Tableau I**).

2. Caractéristiques cliniques des patients

Les caractéristiques cliniques (Température, fréquences cardiaque et respiratoire, pression artérielle moyenne et les scores APACHE II et SOFA) des patients Algériens et ceux des études utilisées sont représentés dans le tableau II.

Tableau II. Caractéristiques cliniques des patients septiques.

Paramètres	Contrôle	Sepsis	Références
	<i>Contrôle (n=6)</i>	<i>Sepsis (n=8)</i>	Boulahouache et Rekkal., 2020 <i>Algérie</i>
Température (°C)	36.72 ± 0.06	38.08 ± 0.36**	
FR (rpm)	16.51 ± 0.001	27.26±1.67***	
FC (bpm)	72.36 ± 6.50	87± 1.5*	
MAP (mm Hg)	87.12±4.16	72.38±5.08*	
	<i>Contrôle (n=50)</i>	<i>Sepsis (n=100)</i>	Kumar et al., 2018 <i>Inde</i>
Température (°C)	37.05 ± 0.05	39.02 ± 0.19	
Score APACHE II	-	22 ± 5***	
Score SOFA	-	8.5 ± 2.5***	
	<i>Contrôle (n=45)</i>	<i>Sepsis (n=80)</i>	Kumar et al., 2019 <i>Inde</i>
Température (°C)	37.18±0.39	38.35±0.42	
FR (rpm)	19±1	28±3	
FC (bpm)	82±4	111±10	
MAP (mm Hg)	77±7	92±14	
Score APACHE II	-	24.5±4.2***	
Score SOFA	-	9.4±1.9***	
	<i>Contrôle (n=15)</i>	<i>Sepsis (n=25)</i>	Qiu et al., 2019 <i>Chine</i>
Score APACHE II	13 (10-17)	15 (14-21)	
	<i>Contrôle (n = 12)</i>	<i>Sepsis (n =20)</i>	Acuña-Fernández et al., 2020 <i>Espagne</i>
Température (°C)	36.72 ± 0.06	37.06 ± 0.23***	
FR (rpm)	16.51 ± 0.001	14.49 ± 1.34	
FC (bpm)	72.36 ± 6.50	90.83 ± 6.11*	
MAP (mm Hg)	87,12±4.16	73,67±2.18*	
Score SOFA	-	6.10 ± 1.16***	

FR : Fréquence respiratoire; **FC** : Fréquence cardiaque ; rpm : respiration/min ; **bpm** : battements/min, **MAP** : pression artérielle moyenne ; **APACHE II** : *acute physiology and chronic health evaluation II* ; **SOFA**: *sequential organ failure assessment*;*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle.

Les résultats cliniques montrent que les patients Algériens septiques présentaient les symptômes caractéristiques de sepsis avec une hyperthermie pour la majorité des patients (38.08 ± 0.36 °C vs 36.72 ± 0.06 °C) comparés au groupe contrôle. Cependant si dans la majorité des cas de sepsis on observe une hyperthermie, il existe dans environ 10 à 20 % des cas une réponse hypothermique à l'infection (**Young et Bellomo., 2014**). Nos données ont montré que parmi les 8 patients un présentait une hypothermie (35.7 °C) (**Tableau II**).

La fièvre est un symptôme courant des maladies infectieuses et du sepsis. Elle résulte de la réponse inflammatoire excessive résultant de la tempête cytokinique (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 et IFN- γ) (**Schortgen ,2012**) .

De plus, une augmentation de 65.11% de la fréquence respiratoire et de 20.23% de la fréquence cardiaque associée à une hypotension ($72,38 \pm 5.08$ vs $87,12 \pm 4.16$ mm Hg) ont été observés chez les patients septiques comparés au groupe contrôle. Nos résultats sont en accord avec les résultats des travaux de **Kumar et al.** (2018), **Kumar et al.** (2019), et **Acuña-Fernández et al.** (2020) qui ont noté une hyperthermie, une augmentation de la fréquence cardiaque et respiratoire chez les patients septiques (**Tableau II**). Néanmoins, **Kumar et al.** (2019) ont observé une augmentation de la pression artérielle moyenne chez les patients septiques comparés au groupe contrôle.

Le score SOFA (*sepsis-related organ failure assessment*) décrit le dysfonctionnement d'organes pendant que le score APACHE II (*acute physiology and chronic health evaluation*) évalue la sévérité et la mortalité des patients septiques admis en unité de soins intensifs (USI). Ces scores sont calculés à partir des données cliniques (oxygénation, échelle Glasgow qui évalue l'état de conscience...) et biochimiques (Natrémie, Kaliémie, hématicrite, créatinine...). Toutefois, il nous a été difficile de calculer les scores SOFA et APACHE II chez les patients Algériens par manque d'information.

Les scores SOFA et APACHE II augmentent chez les patients septiques (**Tableau II**). Ces résultats suggèrent que les patients septiques présentent un dysfonctionnement d'au moins un organe ce qui indique la sévérité du sepsis chez ces derniers en faveur d'un mauvais pronostic (**Kumar et al., 2018 ; Kumar et al., 2019 ; Qiu et al.,2019 ; Acuña Fernández et al., 2020**).

3. Caractéristiques microbiologiques et cliniques des patients Algériens

Les caractéristiques microbiologiques et cliniques (survie, ATCD, site infectieux) des patients Algériens sont mentionnés dans le tableau III.

Tableau III. Caractéristiques microbiologiques et cliniques des patients Algériens septiques.

Paramètres		Sepsis (n=8)
ATCD	Diabète	50% (4/8)
	HTA	37.5% (3/8)
	Insuffisance rénale	25% (2/8)
	Infection urinaire	25% (2/8)
	Prostate	25% (2/8)
	Anémie sévère/ thrombose	12.5% (1/8)/ 12.5% (1/8)
Hémoculture	Gram-	60% <i>E.coli</i> , 20% <i>Salmonella sp</i> , 20% <i>Proteus mirabilis</i>
	Gram+	-
	Mix	-
Sites infectieux (%)	Abdominale	75% (6/8)
	Urogénitale	12.5% (1/8)
	Pied diabétique	12.5% (1/8)
	Cardiaque	12.5% (1/8)
Survie	Oui	87.5 % (7/8)
	Non	12.5% (1/8)

ATCD : Antécédents.

Nos résultats montrent que 50% des patients septiques étaient diabétiques, pendant que 37.5% étaient hypertendus et 25% présentaient soit une insuffisance rénale, une infection urinaire ou un problème de prostate (hypertrophie, opéré pour un adénome). De plus, 12.5% patients présentaient une anémie sévère ou des thromboses. Toutefois, tous nos patients septiques présentaient plus qu'un ATCD. Parmi les 8 patients septiques nous avons enregistré un cas de décès (**Tableau III**).

La porte d'entrée majoritaire était abdominale dans 75% des cas alors que 12.5% étaient soit uro-génitale, cardiaque ou à partir du pied diabétique (**Tableau III**). 100% des infections étaient dues à des Entérobactéries à Gram- dont 60% par *E.coli*, 20% par *Salmonella sp*, et 20% par *Proteus mirabilis* (**Tableau III**).

Nos résultats ne concordent pas avec l'étude de **Kumar et al.**, (2019) qui ont démontré que 56.61% des infections étaient pulmonaires par des bactéries à Gram+ (*S. aureus* et *S. pneumonia*), alors que 30.44% étaient sanguine par des bactéries à Gram- (*E.coli*, *Klebsiella*

pneumonia P. aeruginosa) et 12.95% étaient par des levures (*Candida lipolytica*, *Candida tropicalis*) (Kumar et al., 2019).

4. Réponse inflammatoire des patients septiques

La réponse anti-infectieuse lors du sepsis est caractérisée par une réponse inflammatoire excessive et délétère. L'ampleur de cette réponse pourrait être déterminée au niveau systémique par la mesure des paramètres inflammatoires parmi : le nombre de leucocyte, le taux de CRP et de procalcitonine (PCT), le taux de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, et IFN- γ) et anti-inflammatoire (IL-10) et de chimiokines (IL-8).

Les résultats hématologiques (FNS) et biochimiques (CRP, PCT) des patients septiques comparés aux groupes contrôles sont représentés dans le tableau IV et la figure 5.

Tableau IV. Caractéristiques hématologiques des patients septiques.

Paramètres	Contrôle	Sepsis	Références
	Contrôle (n=6)	Sepsis (n=8)	Boulahouache et Rekkal., 2020 <i>Algérie</i>
GB (10 ³ /mm ³)	7.01 ± 0.66	19.39± 3.51**	
Neutrophiles (%)	52.6 ± 3.92	89.38 ± 0.72***	
Lymphocytes (%)	33.7 ± 2.70	9.98 ± 3.65***	
Plaquettes (10 ⁶ /mm ³)	306.83±20.97	207.6±25.91**	
	Contrôle (n=50)	Sepsis (n=100)	Kumar et al., 2018 <i>Inde</i>
Neutrophiles (%)	63.82 ± 4.94	85.49 ± 7.34***	
Lymphocytes (%)	27.12 ± 0.84	9.32 ± 1.94***	
	Contrôle (n=45)	Sepsis (n=80)	Kumar et al., 2019 <i>Inde</i>
GB (10 ³ /mm ³)	7,9±0,63	16,9±1,83***	
Neutrophiles (%)	67±3	84±7***	
Lymphocytes (%)	7,9±0,63	16,9±1,83***	
Plaquettes (10 ⁶ /mm ³)	273±18	151±9***	
	Contrôle (n=15)	Sepsis (n=25)	Qiu et al., 2019 <i>Chine</i>
GB (10 ³ /mm ³)	11.09±5.96	14.64±11.94	
CRP (mg/l)	60.33±46.68	109.28±42.79**	
PCT (µg/l)	0,6 (0,1-1,5)	5,4 (0,3-24)***	
	Contrôle (n = 12)	Sepsis (n =20)	Acuña-Fernández et al., 2020 <i>Espagne</i>
GB (10 ³ /mm ³)	7.05 ± 1.28	15.63 ± 2.52**	
Neutrophiles (%)	55.68 ± 3,25	86.95 ± 1.40***	
PCT (µg/l)	0.26 ± 0.08	14.96 ± 2.17***	

GB : Globule Blancs ; **CRP** : Protéine C réactive ; **PCT** : Procalcitonine. *P<0.05,**P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle.

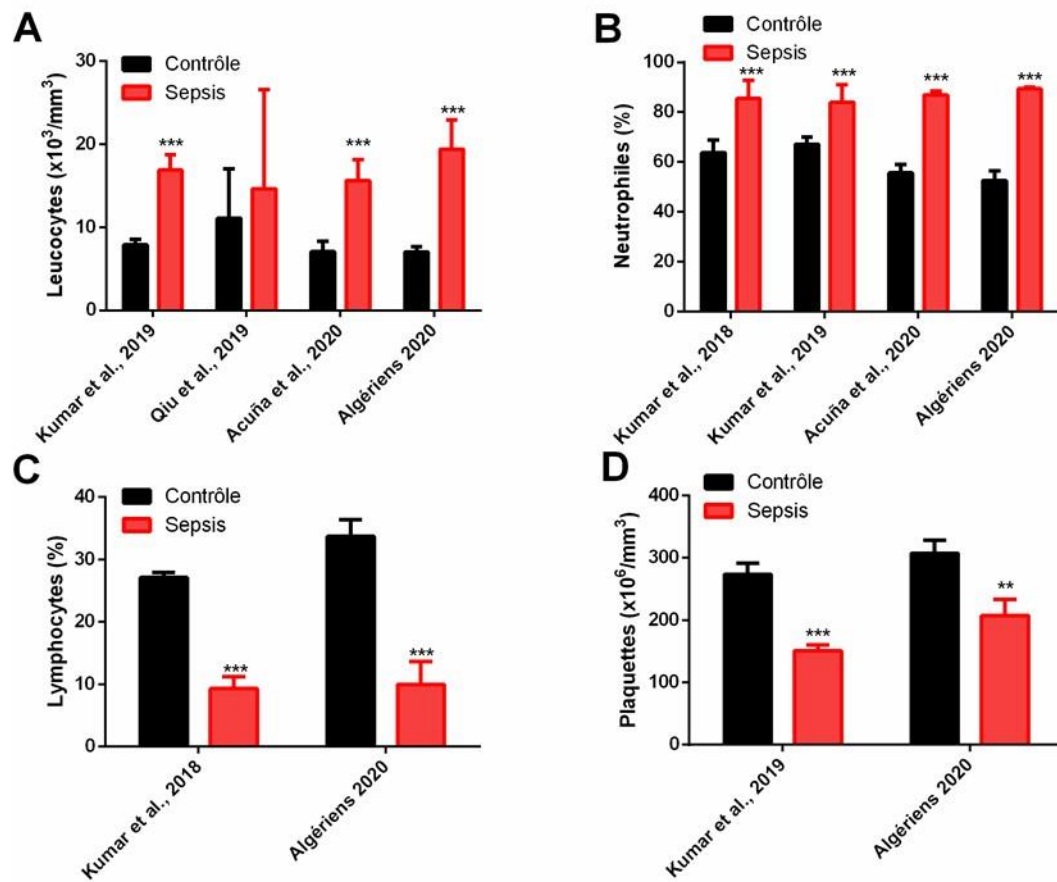


Figure 5. Paramètres hématologiques chez les patients septiques. A : taux de leucocytes sanguin, B : pourcentage de polynucléaires neutrophiles, C : pourcentage des lymphocytes et D : taux de plaquettes. *P<0.05,**P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle (Kumar et al., 2018; Kumar et al., 2019; Qiu et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020).

Les patientes Algériens septiques présentaient une réponse inflammatoire excessive caractérisée par une hyperleucocytose, une lymphopénie et une thrombopénie. Le taux de leucocytes sanguins augmente de 176.60% (2.8 fois) et en particulier les polynucléaires neutrophiles augmentent de 69.92% chez les patients septiques comparés au groupe contrôle (Tableau IV, Figure 5). Cependant, les taux de lymphocytes et de plaquettes diminuent de 70.38% et de 32.34% respectivement, chez les patients septiques comparés au groupe contrôle (Tableau IV, Figure 5). Nos résultats sont comparables à ceux de Kumar et al. (2018), Kumar et al. (2019), et Acuña-Fernández et al. (2020) (Tableau IV, Figure 5).

En outre, les taux de CRP et de la procalcitonine (PCT) augmentent fortement chez les patients septiques ce qui suggère une réponse inflammatoire excessive chez ces derniers (Qiu et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020).

Les taux de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, et IFN- γ) et anti-inflammatoire (IL-10) et de chimiokine (IL-8) au niveau du sérum des patients septiques comparés aux groupes contrôles sont représentés dans le tableau V et la figure 6.

Tableau V. Taux de cytokines/chimiokine inflammatoires des patients atteints de sepsis.

Paramètres	Contrôle	Sepsis	Références
	<i>Contrôle (n=50)</i>	<i>Sepsis (n=100)</i>	Kumar et al., 2018 <i>Inde</i>
TNF- α (pg/ml)	4.465 \pm 0.185	152 \pm 59***	
IFN- γ (pg/ml)	4.298 \pm 0.13	130.5 \pm 64.35***	
IL-8 (pg/ml)	3.399 \pm 0.098	92 \pm 12.72***	
	<i>Contrôle (n=45)</i>	<i>Sepsis (n=80)</i>	Kumar et al., 2019 <i>Inde</i>
TNF- α (pg/ml)	5.33 \pm 0.44	166 \pm 10.32***	
IFN- γ (pg/ml)	4.15 \pm 0.17	142.87 \pm 5.29***	
IL-8 (pg/ml)	3.78 \pm 0.187	139.47 \pm 6***	
	<i>Contrôle (n = 12)</i>	<i>Sepsis (n = 20)</i>	Acuña-Fernández et al., 2020 <i>Espagne</i>
TNF- α (pg/ml)	2.91 \pm 0.18	8.73 \pm 0.54***	
IL-1 β (pg/ml)	1.26 \pm 0.06	2.66 \pm 0.2***	
IL-6 (pg/ml)	1.92 \pm 0.38	115.38 \pm 19.23***	
IL-10 (pg/ml)	1.64 \pm 0.09	6.73 \pm 1.27***	
IL-8 (pg/ml)	2.27 \pm 0.04	20 \pm 2.73***	

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle.

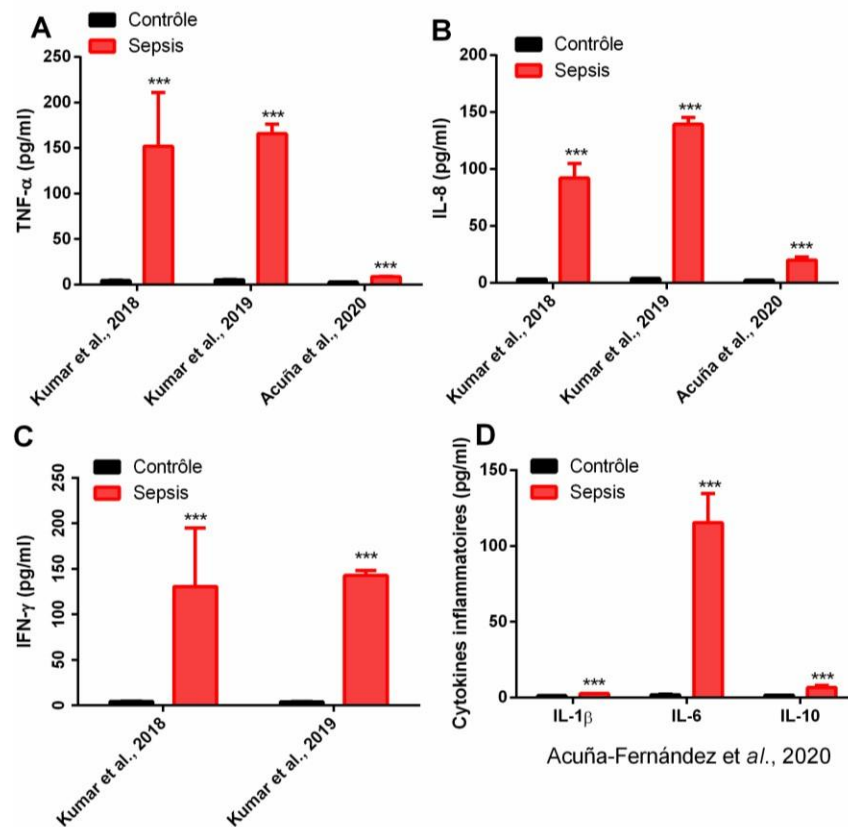


Figure 6. Taux de cytokines plasmatiques des patients atteints de sepsis. A : taux de cytokines pro-inflammatoire TNF- α , B : taux de chimiokine IL-8, C : taux d'IFN- γ , D : taux de cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-6 et de cytokines anti-inflammatoire IL-10.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs contrôle (Kumar et al., 2018 ; Kumar et al., 2019; Acuña-Fernández et al., 2020).

Les taux de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, et IFN- γ), de cytokines anti-inflammatoire (IL-10) et de chimiokine (IL-8) augmentent significativement chez les patients septiques comparés aux groupes contrôles (Tableau V, Figure 6).

Kumar et al. (2018) et Kumar et al. (2019) ont rapporté une augmentation très importante du taux de TNF- α de 34 fois et 31.1 fois respectivement comparés aux groupes contrôles alors que dans l'étude de Acuña-Fernández et al. (2020) ce taux augmente de 3 fois. De même pour les taux d'IFN- γ et l'IL-8 qui augmentent respectivement de 30.4 fois et de 27.1 fois (Kumar et al., 2018) et de 34.42 fois et 36.9 fois (Kumar et al., 2019) chez les patients septiques comparés aux groupes contrôles respectifs (Tableau V, Figure 6).

En outre, les taux d'IL-1 β , d'IL-6 et d'IL-10 augmentent de 2.1 fois, 60.1 fois, 4.1 fois respectivement chez les patients septiques comparés aux taux contrôles (**Tableau V, Figure 6**) (Acuña-Fernández et al., 2020).

Ces résultats suggèrent une libération massive de cytokines pro-inflammatoires/anti-inflammatoires et de chimiokines en faveur d'une tempête ou d'un orage cytokinique caractéristique de l'état hyper-inflammatoire du sepsis.

5. Caractéristiques biochimiques et dysfonctionnement d'organes

Les sepsis est associé à un dysfonctionnement d'au moins un organe. Les paramètres de cytotoxicité rénale (créatinine et BUN) et hépatiques (bilirubine et transaminases ALAT/ASAT) ont été mesurés chez les patients septiques et comparés aux groupes contrôles.

Les paramètres de cytotoxicité rénale (créatinine et BUN) sont représentés dans le tableau VI et la figure 7 .

Tableau VI. Paramètres biochimiques d'altération rénale.

Paramètres	<i>Contrôle</i>	<i>Sepsis</i>	Références
	<i>Contrôle (n=6)</i>	<i>Sepsis (n=8)</i>	Boulahouache et Rekkal., 2020 <i>Algérie</i>
Créatinine (mg/dl)	8.16 \pm 1.25	23.02 \pm 5.30***	
	<i>Contrôle (n=50)</i>	<i>Sepsis (n=100)</i>	Kumar et al., 2018 <i>Inde</i>
Créatinine (μ moles/l)	140 \pm 5	197 \pm 5***	
	<i>Contrôle (n=45)</i>	<i>Sepsis (n=80)</i>	Kumar et al., 2019 <i>Inde</i>
Créatinine (μ moles/l)	7,9 \pm 0,63	16,9 \pm 1,83***	
	<i>Contrôle (n=15)</i>	<i>Sepsis (n=25)</i>	Qiu et al., 2019 <i>Chine</i>
Créatinine (μ moles/l)	87 (55-114)	92.5 (57.8-123.8)	
BUN (mmoles/l)	6.97 \pm 4.32	9.99 \pm 5.26**	
	<i>Contrôle (n = 12)</i>	<i>Sepsis (n =20)</i>	Acuña-Fernández et al., 2020 <i>Espagne</i>
Créatinine (mg/dl)	0.93 \pm 0.13	0.71 \pm 0.14*	
BUN (mg/dl)	30.12 \pm 3.26	20.79 \pm 2.76	

Urée/BUN (Blood Urea Nitrogen). Créatinine 1mg/dl = 88.4 μ moles/l. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle.

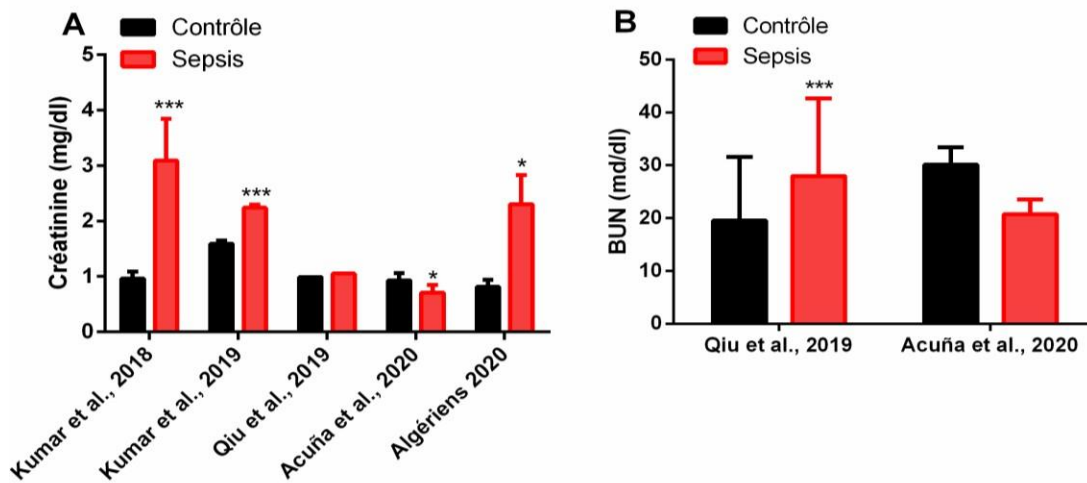


Figure 7. Paramètres d'altération rénale des patients atteints de sepsis. A : Créatininémie ; B : taux de Urée/BUN (Blood Urea Nitrogen). *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle (Kumar et al., 2018 ; Kumar et al., 2019; Qiu et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020).

Nos résultats montrent une augmentation significative de 182.1% (2.8 fois) du taux de créatinine chez les patients septiques. Ces résultats concordent avec les résultats de Kumar et al. (2018), Kumar et al. (2019), et Qiu et al. (2019) mais pas avec ceux d'Acuña-Fernández et al. (2020) qui ont observé une diminution de 23.65% du taux de créatinine plasmatique chez les patients septiques (Tableau VI , Figure 7).

De même, le taux d'urée/BUN augmente de 43.3% chez les patients septiques comparés au groupe contrôle (Qiu et al., 2019). Néanmoins, Acuña-Fernández et al. (2020) ont montré une diminution de 31% du taux de d'urée/BUN chez les patients septiques comparés au groupe contrôle (Acuña-Fernández et al., 2020).

Ces résultats indiquent une altération des paramètres rénaux en faveur d'un dysfonctionnement rénale chez les patients septiques.

Les paramètres de cytotoxicité hépatique (bilirubine et transaminases ALAT/ASAT) sont représentés dans le tableau VI et la figure 7 .

Tableau VII. Paramètres biochimiques d'altération hépatique.

Paramètres	Contrôle	Sepsis	Références
	Contrôle (n=50)	Sepsis (n=100)	Kumar et al., 2018 <i>Inde</i>
Bilirubine totale (mg/dl)	0.91 ± 0.11	1.92 ± 1.09***	
	Contrôle (n=45)	Sepsis (n=80)	Kumar et al., 2019 <i>Inde</i>
Bilirubine totale (µmoles/l)	18.1±1.2	30.65±2.3***	
	Contrôle (n=15)	Sepsis (n=25)	Qiu et al., 2019 <i>Chine</i>
ALAT/GPT (U/l)	15 (13-26)	27,5 (18-36,2)	
ASAT/GOT (U/l)	28.53±14.02	50.76±19.53***	
	Contrôle (n = 12)	Sepsis (n =20)	Acuña-Fernández et al., 2020 <i>Espagne</i>
Bilirubine totale (mg/dl)	0.75 ± 0.10	0.91 ± 0.14*	
ALAT/GPT (U/l)	26.07 ± 4.23	28.84 ± 3.60	
ASAT/GOT (U/l)	30. 08 ± 3.50	33.13 ± 3.88	

ALAT/GPT: Alanine-Amino-Transférase/GlutamoPyruvate Transférase. **ASAT/GOT :** Aspartate-Amino-Transférase/GlutamoOxaloacétate Transférase. Bilirubine 1mg/dl = 17.1 µmoles/l ; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle.

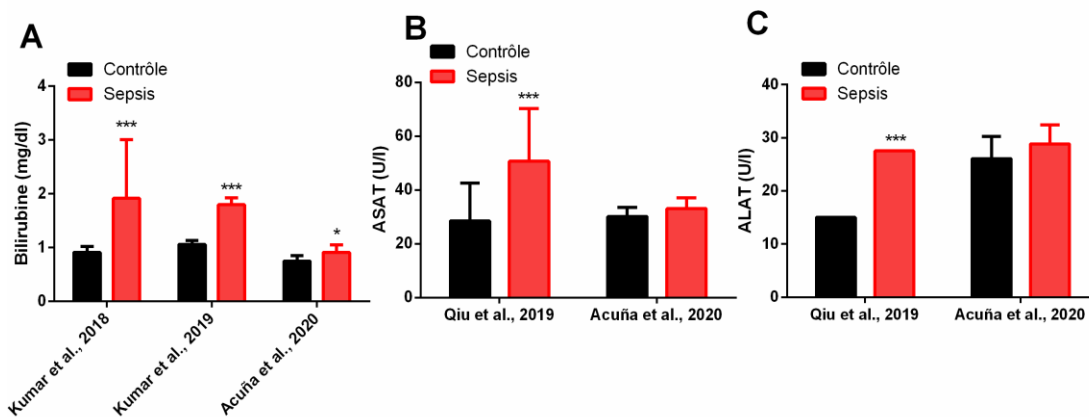


Figure 8. Paramètres d'altération hépatique des patients atteints de sepsis. A : taux de bilirubine, B : taux d'ASAT et C : taux d'ALAT.*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle. (Kumar et al., 2018 ; Kumar et al., 2019; Qiu et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020).

Le taux de bilirubine totale augmente significativement chez les patients septiques comparés aux groupes contrôles (Tableau VII, Figure 8) (Kumar et al., 2018 ; Kumar et al., 2019; Acuña-Fernández et al., 2020).

Toutefois, le taux d'ALAT et d'ASAT restent inchangés selon Acuña-Fernández et al. (2020) alors que seul le taux d'ASAT augmente de 77.9% chez les patients septiques selon

Qiu et al. (2019) (Tableau VII, Figure 8) (Qiu et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020).

Ces résultats sont en faveur d'une altération hépatique chez les patients septiques comparés aux groupes contrôles.

6. Evaluation du stress oxydatif chez les patients septiques

L'équilibre redox des patients septiques a été évalué par dosage des paramètres pro-oxydants (MDA/LPO, Protéines carbonylées, AOPP, NO) et anti-oxydants (SOD, catalase, TAC) au niveau du sérum. Le taux des paramètres pro-oxydants sont représentés dans le tableau VIII et la figure 9 .

Tableau VIII. Paramètres pro-oxydants des patients atteints de sepsis.

Paramètres	Contrôle	Sepsis	Références
	<i>Contrôle (n=6)</i>	<i>Sepsis (n=8)</i>	Spanidis et al., 2015 <i>Grèce</i>
MDA(μmoles/l)	6.66±0.5	7.33±1	
Protéines carbonylées (nmoles/mg prot)	0.916±0.16	1.08±0.08	
	<i>Contrôle (n=50)</i>	<i>Sepsis (n=100)</i>	Kumar et al., 2018 <i>Inde</i>
MPO (nmoles/min/mg prot)	0.405 ± 0.16	1.37± 0.51***	
	<i>Contrôle (n=15)</i>	<i>Sepsis (n=25)</i>	Qiu et al., 2019 <i>Chine</i>
MDA(ng/l)	399.30±50.23	488.31±76.68***	
NO (ng/l)	4.42±0.88	5.08±0.89*	
	<i>Contrôle (n = 12)</i>	<i>Sepsis (n =20)</i>	Acuña-Fernández et al., 2020 <i>Espagne</i>
LPO (nmoles/ml)	1.32±0.16	2.4±0.16***	
AOPP (nmoles/ml)	37.33±4	80±8***	

LPO: index de peroxydation lipidique (Polyunsaturated fatty acid peroxide MDA+ 4- hydroxyl olefins (HAE) ; **MDA** : Malandialdéhyde; **MPO** : Myélopéroxydase ; **AOPP** : Advanced oxidation protein products (index of protein oxidation and inflammation) . *P<0.05,**P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle

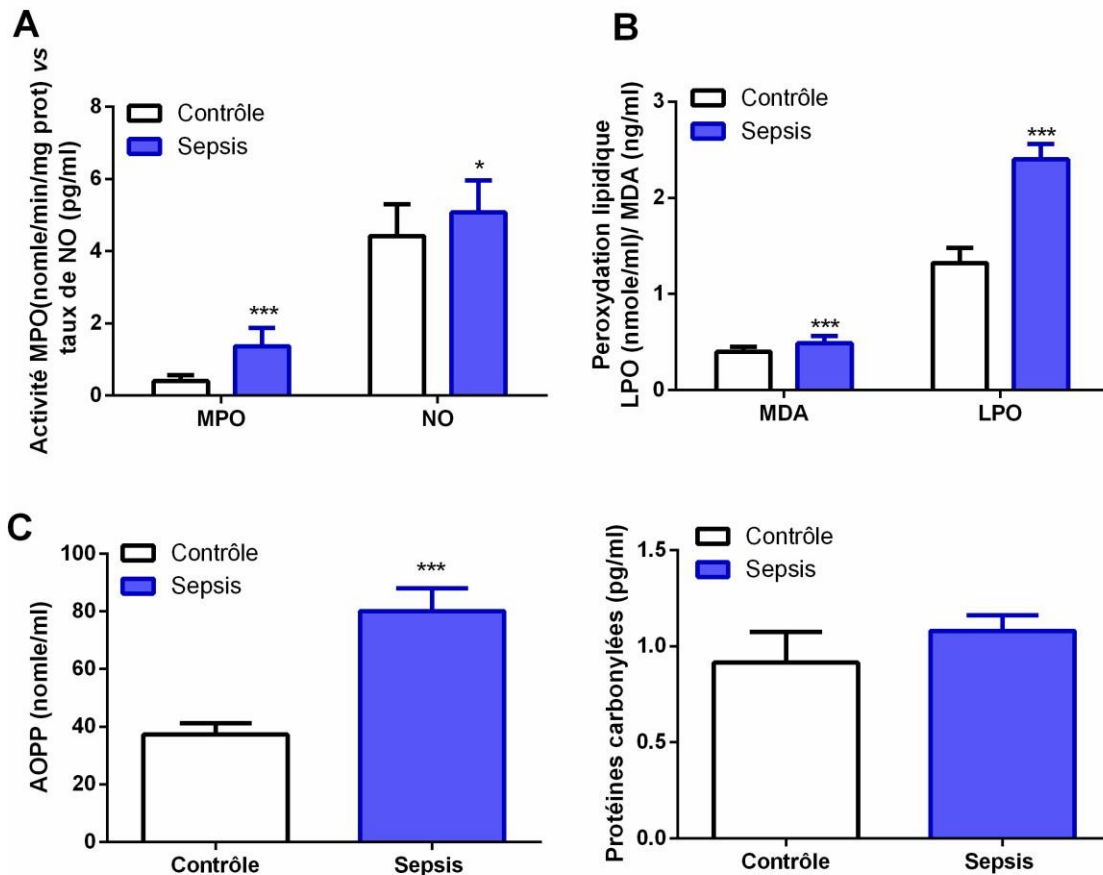


Figure 9. Taux de pro-oxydants plasmatiques des patients atteints de sepsis. A : Activité myéloperoxydase MPO et taux de NO (monoxyde d'azote) ; B : Taux de peroxydes lipidiques LPO: index de peroxydation lipidique ; C : Oxydation protéique AOPP et protéines carbonylées : index d'oxydation protéiques.* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs contrôle (Spanidis *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2018 ; Qiu *et al.*, 2019 ; Acuña-Fernández *et al.*, 2020).

L'analyse des résultats des paramètres pro-oxydants montrent que les patients septiques présentent un stress oxydatif caractérisé par une augmentation significative de ces derniers dans le sérum des patients septiques comparés aux groupes contrôles respectifs. Néanmoins, Spanidis *et al.* (2015) ont enregistré une légère augmentation des taux de MDA et de protéines carbonylées chez les patients septiques comparés au groupe contrôle, mais qui n'est pas significative (Tableau VIII , Figure 9).

Le taux de MPO, marqueur d'accumulation et d'activation des neutrophiles, augmente fortement de 238.3% (3.4 fois) dans le sérum des patients septiques comparés au groupe contrôle (Kumar *et al.*, 2018). Ces résultats confirment le taux élevé des neutrophiles préalablement observé chez les patients septiques (Tableau VIII , Figure 9).

De même, le taux de NO augmente significativement de 14.9% chez les patients septiques comparé au taux basal. Le NO constitue la principale espèce réactive de l’oxygène qui est synthétisé à forte concentration par la iNOS lors d’une réponse inflammatoire suite à l’activation du facteur de transcription NF-κB (Qiu et al., 2019).

Le taux de peroxyde lipidique (LPO) augmente significativement de 81.8% chez les patients septiques comparé au taux basal (Acuña-Fernández et al., 2020). Aussi, le taux de MDA augmente de 22.3% chez les patients septiques comparé au groupe contrôle (Tableau VIII, Figure 9) (Qiu et al., 2019).

L’oxydation protéique, déterminée par le taux d’AOPP, augmente de 114.3% (2.1 fois) chez les patients septiques comparés au groupe de contrôle (Acuña-Fernández et al., 2020).

Le Tableau IX représente les paramètres anti-oxydants (SOD, catalase et TAC) dans le sérum des patients septiques comparés aux taux basales.

Tableau IX. Paramètres anti-oxydants des patients atteints de sepsis.

Paramètres	Contrôle	Sepsis	Références
	Contrôle (n=6)	Sepsis (n=8)	Spanidis et al., 2015
TAC (nmole DPPH/l)	1.06±0.03	0.83±0.06*	Grèce
	Contrôle (n=50)	Sepsis (n=100)	Kumar et al., 2018
SOD (kU/l)	7.825 ±0.975 ***	1.72 ± 0.48***	Inde
Catalase (mg/l)	52.27 ± 6.67	6.8 ± 2.6***	
	Contrôle (n=15)	Sepsis (n=25)	Qiu et al., 2019
SOD (%)	46.87±6.96	48.26±22.57	Chine

TAC : Capacité anti-oxydante totale. SOD : Superoxyde Dismutase. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle.

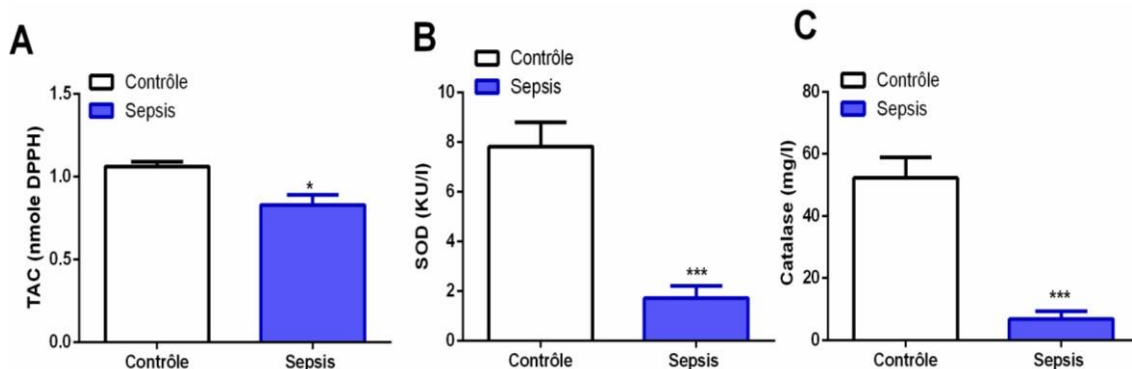


Figure 10. Taux d’antioxydants plasmatiques des patients atteints de sepsis. A : capacité anti-oxydante totale , B : activité superoxyde dismutase SOD ; C : activité catalase.

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs contrôle (Spanidis et al., 2015; Kumar et al., 2018 ; Qiu et al., 2019 ; Acuña-Fernández et al., 2020).

L'ensemble des résultats analysés montrent une diminution de la défense anti-oxydante chez les patients septiques. La capacité anti-oxydante totale, les activités superoxyde dismutase et catalase diminuent significativement de 21.7%, 78% et 86.99% respectivement chez les patients septiques comparés aux groupes contrôles respectifs (**Tableau IX, Figure 10**) (**Spanidis et al., 2015 ; Kumar et al., 2018**).

Contrairement à ces observations, l'étude de Qiu et *al.* (2019) n'a montré aucun changement de l'activité SOD chez les patients septiques comparés au groupe contrôle (**Tableau IX, Figure 10**) (**Qiu et al., 2019**).

Ces résultats indiquent une baisse de la barrière anti-oxydante en faveur d'un stress oxydatif chez les patients septiques.

7. Analyse de corrélation des paramètres de stress oxydatif et des marqueurs de lésions organiques et le pronostic chez les patients atteints de sepsis

7.1. Corrélation entre le stress oxydatif et la sévérité du sepsis

Les résultats de l'étude de Kumar et *al.* (2018) montrent que les scores SOFA et APACHE II des patients septiques enregistrés au moment de l'admission en USI corrélaient positivement avec l'activité MPO (**Figure 2A**; $r_2 = 0.604$, **Figure 2B**; $r_2 = 0.507$, $p < 0.01$) comme déterminé par l'analyse de corrélation de Pearson (**Annexe 3**). La SOD et la CAT ont montré des corrélations négatives avec les scores SOFA (Pour SOD; **Figure.2C**; $r_2 = 0.939$, Pour CAT; **Figure 2E**; $r_2 = 0.955$) et APACHE II (Pour SOD; **Figure 2D**; $r_2 = 0.769$, $p < 0,01$, Pour CAT; **Figure 2F**; $r_2 = 0,718$, $p < 0,01$) (**Annexe 3**) (**Kumar et al., 2018**).

L'analyse de corrélation entre les paramètres de stress oxydatif et le pronostic chez les patients septiques a montré que l'activité de la SOD plasmatique était corrélée négativement avec la mortalité à 28 jours ($r = -0,468$, $P < 0,05$), tandis que les taux de MDA et de NO étaient positivement corrélés avec la mortalité à 28 jours ($r = 0,598$ et $r = 0,611$, respectivement, $p < 0,01$) (**Qiu et al., 2019**).

Ces résultats suggèrent que le déséquilibre redox entre les paramètres oxydants/antioxydants joue un rôle clé dans la gravité de la réponse inflammatoire à un stade précoce du sepsis.

7.2. Corrélation entre le stress oxydatif et le dysfonctionnement d'organes

✓ Corrélation entre le stress oxydatif (oxydants/anti-oxydants) et la fonction rénale

Les taux de SOD et de CAT dans le plasma sanguin au stade précoce de sepsis étaient corrélés avec clairance de la créatinine. Le coefficient de corrélation de Pearson a montré une relation linéaire entre la clairance de la créatinine et la SOD (**Figure 3A**; $r^2 = 0,825$, $p < 0,001$) et la catalase (**Figure 3B**; $r^2 = 0,806$, $p < 0,001$). A l'inverse, une corrélation négative entre la clairance de la créatinine et l'enzyme MPO a été observée (**Figure 3C**; $r^2 = 0,491$, $p < 0,001$) (**Annexe 3**) (**Kumar et al., 2018**).

L'analyse de corrélation entre les paramètres de stress oxydatif et les paramètres de lésions organiques chez les patients atteints de sepsis a montré que les taux de MDA et NO étaient positivement corrélés avec le taux de la créatinine sérique ($r=0,426$ et $r=0,431$, respectivement, $P < 0,05$) (**Qiu et al., 2019**).

✓ Corrélation entre le stress oxydatif (oxydants/anti-oxydants) et la fonction hépatique

Une relation négative entre la bilirubine totale et la SOD (**Figure 4A**; $r^2 = 0,944$, $P < 0,001$) ainsi que la catalase (**Figure 4B**; $r^2 = 0,829$, $p < 0,001$) a été trouvée. La corrélation entre l'activité MPO et la teneur en bilirubine a montré relation positive (**Figure 4C**; $r^2 = 0,481$, $p < 0,001$) (**Annexe 3**) (**Kumar et al., 2018**).

7.3. Corrélation entre le stress oxydatif (oxydants/anti-oxydants) et le taux de cytokines

Une relation inverse entre le niveau de cytokines/chimiokines (TNF- α , IL-8 et IFN- γ) avec les activités des deux enzymes anti-oxydantes SOD (**Figure 5A**; $r^2 = 0,618$, **Figure 6A**; $r^2 = 0,175$, **Figure 7A**; $r^2 = 0,769$, $p < 0,001$) et Catalase (**Figure 5B**; $r^2 = 0,675$, **Figure 6B**; $r^2 = 0,815$, **Figure 7B**; $r^2 = 0,746$ $p < 0,001$), a été observée. Cependant, le coefficient de corrélation de Pearson a montré une relation positive entre le taux des cytokines et l'activité MPO (**Figure 5C**; $r^2 = 0,381$, **Figure 6C**; $r^2 = 0,424$ **Figure 7C**; $r^2 = 0,503$, $p < 0,001$) (**Annexe 3**) (**Kumar et al., 2018**).

Les taux des paramètres de stress oxydatif chez les patients septiques sont considérablement augmentés, ce qui est étroitement lié aux lésions d'organes et à un mauvais pronostic. Ainsi, les taux plasmatiques des paramètres de stress oxydatif à savoir la SOD, le MDA et le NO pourraient être utilisés comme biomarqueurs indépendant pour prédire la mortalité des patients septiques.

III.2. Discussion

Dans la présente étude nous avons démontré l'association du stress oxydatif à la physiopathologie du sepsis, le dysfonctionnement d'organes et le pronostic des patients septiques. Ce stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre de la balance redox traduit par une augmentation des marqueurs pro-oxydants (MDA/LPO, NO, protéines carbonylées/AOPP) et une diminution d'anti-oxydant (SOD, catalase, TAC).

Le sepsis est un syndrome physiopathologique complexe et ambigu, caractérisé par des désordres de plusieurs systèmes : immunitaire, redox, coagulation, et métabolique. Sa complexité constitue un défi supplémentaire, pour les chercheurs, afin de poser une définition adéquate, cerner sa physiopathologie et de développer une thérapie efficace (**Singer et al., 2016**). Il résulte d'une réponse inflammatoire exacerbée contre une infection bactérienne, virale, parasitaire ou fongique. Les bactéries Gram-négatives sont les principaux agents pathogènes responsables du sepsis (**Lin et al., 2018**).

L'activation des PRRs (TLRs) par les PAMPs bactériens (LPS) résulte en une activation du facteur de transcription NF- κ B qui, à son tour, induit la transcription de plus de 200 gènes (**Martinet et al., 2009**) dont des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β), des chimiokines (IL-8), des molécules d'adhésion (ICAM-I, VCAM-1), des molécules nécessaires à l'activation des cellules T, des enzymes pro-oxydantes (iNOS, Cox-2), des enzymes antioxydantes (SOD, GPx), des molécules anti-apoptotiques (Bcl2) et des facteurs de coagulation (facteur tissulaire) (**Leentjens et al., 2013**). Certains de ces produits exercent un feedback positive et activent la voie NF- κ B, intensifiant la réponse inflammatoire en cas de sepsis. Parmi eux, les cytokines pro-inflammatoires l'IL-1 β , et le TNF α , participent à l'amplification de l'inflammatoire réponse (**Liu et Malik., 2006**).

Les cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 sont directement impliquées dans la thermogénèse (**Lee et al., 2012**). Ainsi, si dans la majorité des cas de sepsis on observe une hyperthermie, il existe dans environ 10 à 20 % des cas une réponse hypothermique à l'infection (**Young et Bellomo., 2014**). L'hyperthermie pourrait ralentir la croissance des micro-organismes. (**Schortgen ,2012**).

La réponse inflammatoire est associée à un déséquilibre redox, caractérisé par une hyperproduction de ROS/RNS. En revanche, les leucocytes activés pendant la réponse inflammatoire augmente la production des ROS (**Camicia et al., 2014**). Les ROS/RNS

altèrent et endommagent les biomolécules (lipides, protéines, ADN) conduisant à une cytotoxicité ou à des dommages d'organes (**Halliwell, 2009**).

La mitochondrie est la principale source de ROS, l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en grande partie, produit par une fuite d'électrons transférés par la chaîne respiratoire mitochondriale (complexe I et III) (**Macdonald et al., 2003 ; Finaud et al., 2006**). Ainsi, une fonction mitochondriale altérée et une exagération de la réponse des cellules immunitaires conduit à une accumulation de ROS capables d'activer le NF- κ B de manière dose-dépendante créant ainsi un cycle inflammatoire vicieux traduit par une réponse exacerbée et délétère (**Zhou et al., 2001; Horton, 2003 ; Mantzarlis et al., 2017**).

Les leucocytes activés produisent plus de ROS, parmi, les neutrophiles infiltrent le site inflammatoire et libèrent de la MPO qui génère l'acide hypochloreux HOCl à partir d' H_2O_2 . La MPO oxyde également les nitrites NO_2^- par le H_2O_2 pour produire un radical dioxyde d'azote NO_2^{\bullet} conduisant à la nitration des protéines. En plus de leur effet antimicrobien, ces ROS/RNS sont plus réactifs et oxyde des lipides et des hémoprotéines contribuant ainsi à l'amplification du stress oxydatif, du processus inflammatoire et au dysfonctionnement d'organes (**Nauseef, 2014 ; Ndrepepa, 2019**).

Les RNS, principalement l'oxyde nitrique (NO^{\bullet}) est produit sous le contrôle de NF- κ B après activation des deux NOSynthases inductibles cytosolique (iNOS) et mitochondriale (i-mtNOS). Le NO^{\bullet} est le produit principal de ces enzymes, il provoque des effets délétères car il induit une vasodilatation systémique et une hypotension, et augmente les dommages cellulaires (**Mantzarlis et al., 2017**). De plus, le NO^{\bullet} réagit rapidement avec l' $O_2^{\bullet-}$ donnant un produit très toxique le peroxynitrite $ONOO^-$ (**Beheshti et al., 2020**). Le peroxynitrite inhibe de manière irréversible les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale (complexe I et III), l'ATP synthase, réduisant la production d'ATP et favorisant ainsi la mort cellulaire (**Cadenas et al., 2000; Escames et al., 2003; Garcia et al., 2017**). L'excès de ROS/RNS produites lors de sepsis déclenche la mort cellulaire apoptotique et nécrotique, en fonction de la gravité du stress oxydatif (**Saito et al., 2006**).

L'effet cytotoxique des cytokines inflammatoires et des ROS/RNS affecte directement la fonction de plusieurs systèmes et d'organes conduisant à des lésions pulmonaires, au dysfonctionnement hépatique et à une insuffisance rénale. Par conséquent, plusieurs organes seront affectés et donne un syndrome de dysfonctionnement d'organes multiples (MODS) (**Rossaint et Zarbock., 2015**), ce qui conduit finalement à la mort des patients.

Les ROS activent également le facteur de transcription Nrf2 (Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2) qui régule plus de 500 gènes parmi des enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GRd), et la superoxyde dismutase (SOD) en plus d'enzymes essentielles à la synthèse de glutathion (glutamate cysteine ligase) (**Kensler et al., 2007 ; Liu et al., 2017**).

La SOD est une enzyme anti-oxydante intracellulaire ayant une fonction clé car elle catalyse la dismutation de l'O₂^{•-} en H₂O₂ et O₂ (**Haleng et al., 2007**). La SOD joue un rôle essentiel dans le contrôle des niveaux de peroxy-nitrite et de la formation de nitro-tyrosine, inhibant ainsi les lésions d'organes (**Constantino et al., 2017**). La diminution des niveaux de SOD implique que les organes n'étaient pas protégés des dommages oxydatifs médiés par l'O₂ pendant la septicémie (**Dennis et Witting., 2017**).

La catalase est une enzyme anti-oxydante qui catalyse la réaction de transformation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en oxygène et en eau. Ainsi, la catalase protège les cellules et les tissus des effets toxiques du peroxyde d'hydrogène (**Jevva et al., 2015**).

Une corrélation positive a été démontré entre les marqueurs de stress oxydatif (pro-anti-oxydants) et la réponse inflammatoire (TNF- α , IL-8 et IFN- γ), le dysfonctionnement d'organes (rein et foie), la sévérité du sepsis, la mortalité des patients septiques.

Une corrélation positive entre l'activité MPO et les scores SOFA (dysfonctionnement d'organes) et APACHE II (sévérité et mortalité), le taux de bilirubine sérique, ainsi que le taux de cytokines pro-inflammatoire (TNF- α , IL-8 et IFN- γ). De plus, le taux de MDA et de NO corrélaient positivement avec la mortalité des patients et le taux de créatinine sérique. En outre, l'activité SOD et catalase corrélaient positivement avec la clairance de la créatinine (**Kumar et al., 2018**).

Ceci suggère que le déséquilibre redox, conduisant au stress oxydatif, joue un rôle clé dans le dysfonctionnement d'organe, la sévérité du sepsis et le pronostic des patients septiques. Ainsi, les marqueurs de stress oxydant pourraient être utilisés comme marqueurs de diagnostic et de pronostic de sepsis.

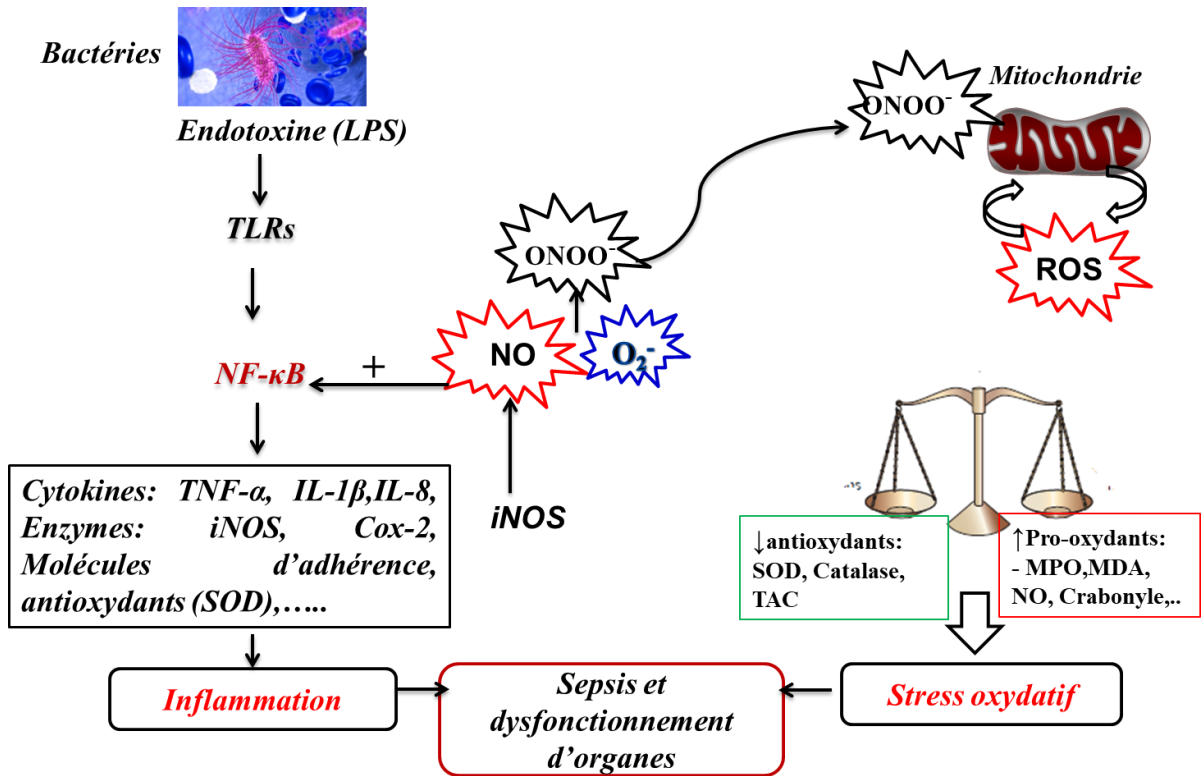


Figure 11. Schéma récapitulatif de certains mécanismes physiopathologiques à la base de dysfonctionnements d'organes au cours de sepsis.

Nos résultats épidémiologiques montrent une prédominance du sepsis chez les hommes âgés ayant un âge > 48ans. Ces patients présentaient les caractéristiques cliniques du sepsis avec une hyperthermie ($T^{\circ} \geq 38$), une hyperleucocytose, une hypotension sévère, une thrombopénie, une augmentation de la fréquence cardiaque (Tachycardie) et respiratoire (Tachypnée), et un dysfonctionnement d'organes (rein).

Les résultats de l'hémoculture montrent les infections sont dues à des Entérobactéries principalement *E.coli*. Le site infectieux était abdominal dans la majorité des cas. Ces patients avaient un système immunitaire fragilisé avec au moins une pathologie chronique (Diabète, HTA, une anémie sévère ou des thromboses ...etc).

Les résultats de méta-analyse montrent que les patients septiques présentaient une réponse inflammatoire excessive caractérisée par des taux sériques élevée de CRP, procalcitonine et de cytokines inflammatoire ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-8$, $IFN-\gamma$, $IL-10$).

De plus, les patients septiques présentaient un stress oxydatif caractérisé par une augmentation des marqueurs pro-oxydants (MDA/LPO, Protéines carbonylées/AOPP, NO) et une diminution des marqueurs anti-oxydants (SOD, catalase, TAC) au niveau du sérum.

Une corrélation positive a été démontré entre les marqueurs de stress oxydatif (pro-anti-oxydants), la réponse inflammatoire ($TNF-\alpha$, $IL-8$ et $IFN-\gamma$), le dysfonctionnement d'organes (rein et foie), la sévérité du sepsis, et la mortalité des patients septiques.

Ceci suggère que les marqueurs de stress oxydant pourraient être utilisés comme marqueurs de diagnostic et de pronostic de sepsis.

En perspectives, il serait intéressant de :

- Rechercher d'éventuelles corrélations entre les paramètres du stress oxydatif, le dysfonctionnement d'organes et le pronostic des patients septiques Algériens.
- Etudier l'effet de molécule anti-oxydante naturelle comme la mélatonine, la vitamine C et E.

A

- Acuña-Fernández C, Marín JS, Díaz-Casado ME, Rusanova I, Darias-Delbey B, Pérez-Guillama L, Florido-Ruiz J, Acuña-Castroviejo D. (2020) . Daily change in the expression of clock genes in sepsis and their relation with sepsis outcome and urinary excretion of 6-sulfatoximelatonin. *Shock* ; 53(5):550-559.
- Aebi H.(1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*;105:121-126.
- Algeciras-Schimnich A, Cook WJ, Milz TC, Saenger AK, & Karon BS. (2007). Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry* ; 40 : 1311 – 1316.
- Arnalich F, García-Palomero E, López J, Jiménez M, Madero R, Renart J, Vázquez JJ, Montiel C. (2000). Predictive value of nuclear factor kappaB activity and plasma cytokine levels in patients with sepsis. *Infect. Immun*; 68:1942-1945.
- Assinger A, Schrottmaier WC, Salzmann M, Rayes J. (2019) Platelets in Sepsis: An Update on Experimental Models and Clinical Data. *Frontiers in Immunology* ; (10) :1687.
- Ayala A, Muñoz MF, & Argüelles S.(2014).Lipid Peroxidation:Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal . *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* ; 2014 :1–31.

B

- Beheshti F, Hosseini M, Hashemzahi M, Hadipannah MR, Mahmoudabady M. (2020). The Cardioprotective Effects of Aminoguanidine on Lipopolysaccharide Induced Inflammation in Rats . *Cardiovascular Toxicology* ; 20(5):474-481.
- Belaïch R, & Boujraf S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques* ; 10(1) : 38-42.
- Berthélémy S. (2014). L'hémogramme ou numération-formule sanguine. *Actualités Pharmaceutiques* ; (53) 538 : 53-55.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. (1992). Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* ; 101(6):1644-55.

- Bouguirne B. (2012). Conception et synthèse de la dérive phénolique hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires. Thèse de doctorat. Université Toulouse III.

C

- Cadenas E, Poderoso JJ, Antunes F, Boveris A. (2000). Analysis of the pathways of nitric oxide utilization in mitochondria . *Free Radic Res* ; 33:747-756.
- Camicia G, Pozner R, and Larran~aga G. (2014). Neutrophil Extracellular Traps in Sepsis . *Shock* ; 42(4) : 286-294.
- Cao C, Yu M, Chai Y. (2019). Pathological alteration and therapeutic implications of sepsis-induced immune cell apoptosis. *Cell Death & Disease* ; (10) : 2-14.
- Caraballoa C, Jaimes F. (2019). Organ Dysfunction in Sepsis: An Ominous Trajectory From Infection To Death . *Yale J Biol Med*; V 92(4): 629–640.
- Chrétien F. (2018). Sepsis / Septicémie. Institut Pasteur.
- Cimolai MC, Alvarez S, Bode C, Bugger H. (2015). Mitochondrial Mechanisms in Septic Cardiomyopathy. *Int J Mol Sci* ; 16 (8): 17763-17778.
- Cloutier L, René A, Jutras A.(2014).La formule sanguine complète. *Pratique clinique* ; 11 (1).
- Constantino L, Galant LS, Vuolo F, Guarido KL, Kist LW, et al. (2017). Extracellular superoxide dismutase is necessary to maintain renal blood flow during sepsis development. *Intensive Care Medicine Experimental* ; 5(1) : 15.

D

- Danielski LG, Giustina AD, Bonfante S, Barichello T, & Petronilho F. (2020). The NLRP3 Inflammasome and Its Role in Sepsis Development. *Inflammation* ; 43 (1): 24-31.
- Delanaye P, Cavalier E, Maillard N, Krzesinski J, et al. (2010). La créatinine : d’hier à aujourd’hui. *Ann Biol Clin*; 68 (5) : 531-43.
- Delile E. (2017). Impact de la délétion totale et endothéliale de PTP1B sur la dysfonction cardiovasculaire et l’insulino-résistance dans un modèle de sepsis sévère expérimental. Université de Rouen Normandie.

- Dennis JM, Witting PK. (2017). Protective Role for Antioxidants in Acute Kidney Disease. *Nutrients* ; 9(7) : 718.

E

- El-Zayat SR, Sibaii H & Manna FA. (2019). Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bull Natl Res Cent* ; 43(1):187.
- Escames G, León J, Macías M, Khaldy H, Acuña-Castroviejo D. (2003). Melatonin counteracts lipopolysaccharide-induced expression and activity of mitochondrial nitric oxide synthase in rats. *FASEB J*; 17:932-934.
- Esterbauer H & Cheeseman KH. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* ; (186):407-421.

F

- Fan J, Ye RD, Malik AB. (2001). Transcriptional mechanisms of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* ; 281(5):L1037-1050.
- Fernandes AR, Souza PS, Oliveira AE, Chaves AR. (2018). A New Method for the Determination of Creatinine in Urine Samples Based on Disposable Pipette Extraction. *J Braz Chem Soc* ; 29 (4): 695-700.
- Finaud J, Lac G, Filaire E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* ; 36:327-358.
- Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. (2016) . Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*; 193(3): 259-72.
- Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. (2009) .Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin* ; 25(1) : 83–101.

G

- Galley HF.(2011). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *British Journal of Anaesthesia* ; 107(1):57-64.
- García JA, Ortiz F, Miana J, Doerrier C, Fernandez-Ortiz M, Rusanova I, Escames G, Garcia JJ, Acuna-Castroviejo D. (2017). Contribution of inducible and neuronal nitric oxide synthases to mitochondrial damage and melatonin rescue in LPS-treated mice. *J Physiol Biochem* ; 73:235-244.

- Grand F, Guitton J, Goudable J. (2001). Optimisation of the measurement of nitrite and nitrate in serum by the Griess reaction . *Ann Biol Clin* ; 59(5):559-65.
- Grimaldi DA. (2014). Mécanismes cellulaires et moléculaires de l'immunodépression postinfectieuse . *Médecine humaine et pathologie*. Université René Descartes – Paris.
- Gryszczyńska B, Budzyń M, Formanowicz D, Formanowicz P, Krasinski Z, Majewska N, Kasprzak MP. (2019). Advanced Oxidation Protein Products and Carbonylated Proteins Levels in Endovascular and Open Repair of an Abdominal Aortic Aneurysm: The Effect of Pre-, Intra-, and Postoperative Treatment. *BioMed Research International* ; 2019:1–9.

H

- Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, & Chapelle P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de liege* ; 62(10) : 628-638.
- Halliwell B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free Radic Biol Med* ; 46(5): 531-542.
- Hidalgo ME, Fernández E, Cabello A, et al.(2006). Evaluation of the antioxidant response of *Chiton granosus* Frembly, 1928 (Mollusca: Polyplacophora) to oxidative pollutants. *Rev Biol Sea Oceanogr* ; 41:155-165.
- Horton JW. (2003). Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology* ; 189:75-88 .
- Hotchkiss R, Coopersmith C, McDunn J, et al. (2009). The sepsis seesaw: tilting toward immunosuppression. *Nat Med* ; 15 : 496–497.
- Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent JL. (2016). Sepsis and septic shock . *Nature Reviews Disease Primers* ; (2): 16045.
- Hrycay EG, Bandiera SM. (2015). Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer. *Adv Pharmacol* ; 74: 35-84.
- Huang K, Li M, Li H, Li M, Jiang Y, and Fang X. (2016). Accurate quantification of creatinine in serum by coupling a measurement standard to extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Sci Rep* ; 6: 19283 .
- Huet O, Obata R, Aubron C, et al. (2007). Plasma-induced endothelial oxidative stress is related to the severity of septic shock . *Crit Care Med* ; 35(3):821-6.

J

- Jadeja RN, Devkar RV, Nammi S. (2017). Oxidative Stress in Liver Diseases: Pathogenesis, Prevention, and Therapeutics. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* ; 2017 :8341286-2 .
- Janaszewska A and Bartos G. (2002). Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scandinavian J Clin Lab Invest* ;62(3): 231-236.
- Jeeva JS, Sunitha J, Ananthalakshmi R, Rajkumari S, Ramesh M, Krishnan R.(2015). Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases J, *Pharm Bioallied Sci* ; 7 (2): S331 – S333.

K

- Kabel AM.(2014). Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal of Nutrition and Health* ; 2 (3): 35-38.
- Karbach S, Wenzel P, Waisman A, Munzel T, Daiber A. (2014). eNOS uncoupling in cardiovascular diseases-the role of oxidative stress and inflammation. *Current pharmaceutical design* ;V(20): 3579-94.
- Keles MS, Taysi S, Sen N, Aksoy H and Akcay F.(2001). Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci* ; 28(2): 141-143.
- Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S.(2007). Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway . *Annu Rev Pharmacol Toxicol* ; 47:89-116.
- Kirschvink N , Moffarts B , Lekeux P .(2008). The oxidant / antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*; 177:178-191.
- Kumar S, Gupta E, Kaushik S, Srivastava VK, Mehta SK, Jyoti A.(2018). Evaluation of oxidative stress and antioxidant status: Correlation with the severity of sepsis . *Scand J Immunol* ; 87(4):e12653.
- Kumar S, Gupta E, Kaushik S, Srivastava VK, Saxena J, Mehta S, Jyoti A. (2019). Quantification of NETs formation in neutrophil and its correlation with the severity of sepsis and organ dysfunction . *Clin Chim Acta* ; 495:606-610.

L

- Laroye C, Gibot S, Reppel L, Bensoussan D. (2017). Mesenchymal Stromal/Stem Cells: A New Treatment For Sepsis And Septic Shock? . *Stem Cells* ; 35(12):2331-

2339.

- Lee CC, Avalos AM, Ploegh HL. (2012). Accessory molecules for Toll-like receptors and their function. *Nat Rev Immunol* ; 12 (3):168- 179.
- Leentjens J, Kox M, van der Hoeven JG et al. (2013). Immunotherapy for the Adjunctive Treatment of Sepsis: From Immunosuppression to Immunostimulation. Time for a Paradigm Change?. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* ; 187(12) : 1287-93.
- Lereclus E. (2018). Origine et rôles des cellules myéloïdes suppressives dans le sepsis. *Médecine humaine et pathologie*. Université de Limoges.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. (2001). International Sepsis Definitions Conference. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit CareMed*; 31:1250–1256.
- Lin J, Chen L, Lin J, et al. (2018). A novel approach for fast detection of sepsis with Gram-negative bacterial infection. *Microb Biotechnol* ; 11(6):1121-1123.
- Liu SF, Malik AB. (2006) . NF-kappa B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol. Physiol* ; 290:622-645.
- Liu X, Zhang X, Ding Y, Zhou W, Tao L, Lu P, Wang Y, Hu R. (2017). Nuclear Factor E2- Related Factor-2 Negatively Regulates NLRP3 Inflammasome Activity by Inhibiting Reactive Oxygen Species-Induced NLRP3 Priming. *Antioxid Redox Signal*; 26:28-43.

M

- Macdonald J, Galley HF, Webster NR. (2003). Oxidative stress and gene expression in sepsis. *British Journal of Anaesthesia* ; 90(2) : 221-232.
- Mantzaris K, Tsolaki V, et Zakyntinos E. (2017). Role of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Sepsis and Potential Therapies. *Oxid Med Cell Longev* ; 2017 : 5985209.
- Martinet O, Delabranche X, Aghajanian M, Hasselmann M. (2009) .SIRS, Sepsis, CARS, SDRA : comprendre différents aspects de l'inflammation en réanimation. *Nutrition Clinique et Métabolisme* ; 23(4): 185-191.
- Mehta S, Gill SE. (2019). Improving clinical outcomes in sepsis and multiple organ dysfunction through precision medicine. *J Thorac Dis* ; 11(1): 21–28.
- Melough MM, Sun X, Chun OK. (2017) .The Role of AOPP in Age-Related Bone Loss and the Potential Benefits of Berry Anthocyanins . *Nutrients* ; 9(7):789.

- Migdal CA, Serres MI. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Université Lyon 1.
- Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, et al. (2003). Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*;31(4):1048-52.
- Moukette B, Pieme CA, Nya Biapa PC, Ngogang JY. (2015). In vitro antioxidant and antilipoperoxidative activities of bark extracts of *Xylopiya aethiopia* against ion-mediated toxicity on liver homogenates. *J Complement Integr Med* ; 12(3):195-204.

N

- Nagar H, Piao S, Kim CS. (2018). Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Sepsis. *Acute Crit Care* ; 33(2): 65–72.
- Napolitano LM. (2018). Sepsis 2018: Definitions and Guideline Changes. *Surg Infect* ; 19(2):117-125.
- Nauseef WM. (2014). Myeloperoxidase in human neutrophil host defence. *Cellular Microbiology* ; 16(8):1146-55.
- Ndrepepa G. (2019). Myeloperoxidase - A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clin Chim Acta* ; 493:36-51.

O

- O'Neill LAJ, Golenbock D, Bowie AG. (2013). The history of Toll-like receptors redefining innate immunity. *Immunology* ; 13: 453-460.
- Ono S, Tsujimoto H, Hiraki S, Aosasa S. (2018). Mechanisms of sepsis-induced immunosuppression and immunological modification therapies for sepsis. *Ann Gastroenterol Surg* ; 2 (5): 327–329.

P

- Pang J, Zheng Y, Han Q, et al. (2019). The Role of ALDH2 in Sepsis and the To-Be-Discovered Mechanisms. *Adv Exp Med Biol* ; 1193:175-194.
- Papurica M, Rogobete AF, Sandesc D, Dumache R, Nartita R, Sarandan M, Cradigati AC, Luca L, Corina Vernic C, and Bedreag1 OH. (2015). Redox Changes Induced by General Anesthesia in Critically Ill Patients with Multiple Traumas. *Molecular Biology International* ; 2015 : 11 .
- Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT, Georgiou CD, Angelatou F and

Matsokis NA. (2004). Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neurosci Lett* ; 357(2): 83-86.

- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases . *Indian J Clin Biochem*; 30(1): 1- 26.
- Poujol FA. (2016). Immunodépression acquise en réanimation : approche expérimentale et clinique des altérations lymphocytaire induites lors des syndromes septiques. Université Claude Bernard –Lyon 1.

Q

- Qiu C, Wu J, Pei F, Wang L, Mei M, Guan X , Ouyang B .(2018). Correlation between oxidative stress factors and prognosis of patients with sepsis . *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* ; 31 (7):847-851.

R

- Rossaint J, Zarbock A. Pathogenesis of multiple organ failure in Sepsis, (2015). *Crit. Rev. Immunol.* 35 (4) : 277–291.
- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, Colombara DV, Ikuta KS, Kissoon N, Finfer S, Struzek CF, Machado FR, et al . (2020). Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* ; 395: 200–11.

S

- Saito Y, Nishio K, Ogawa Y, Kimata J, Kinumi T, Yoshida Y, Noguchi N, Niki E. (2006). Turning point in apoptosis/necrosis induced by hydrogen peroxide. *Free Radic Res* ; 40:619– 630.
- Salomão R, Ferreira BL, Salomão MC, Santos SS, Azevedo LCP, Brunialti MKC. (2019). Sepsis: evolving concepts and challenges ; 52(4): e8595.
- Schortgen F. (2012). Fever in sepsis. *Minerva Anesthesiol* ;78(11):1254-64.
- Serteyn D, Grulke S, Franck T, Mouithys-Mickalad A, Deby-dupont G. (2003). La myéloperoxydase des neutrophiles, une enzyme de défense aux capacités oxydantes. *Ann Méd Vét* ; 147 : 79-93.

- Shah D, Mahajan N, Sah S, Nath SK, Paudyal B. (2014). Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus .J Biomed Sci ; 21(1): 23.
- Sid B, Verrax J, Calderon PB. (2013). Role of oxidative stress in the pathogenesis of alcohol-induced liver disease . Free Radical Research ; 47(11): 894–904.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. (2016). The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis3) . JAMA; 315:801-810.
- Spanidis Y, Goutzourelas N, Stagos D, Kolyva AS, Gogos C A, Bar-Or D, Kouretas D. (2015). Assessment of Oxidative Stress in Septic and Obese Patients Using Markers of Oxidation-reduction Potential. *in vivo* ; 29 (5): 595-600.

T

- Tapader R, Bose D, Dutta P, Das S, et al .(2018). SsIE (YghJ), a Cell-Associated and Secreted Lipoprotein of Neonatal Septicemic Escherichia coli, Induces Toll-Like Receptor 2-Dependent Macrophage Activation and Proinflammation through NF- κ B and MAP Kinase Signaling . *Infect Immun* ; 86(9): e00399-18.
- Tousoulis D, Kampoli AM, Tentolouris C , Papageorgiou N, & Stefanadis C. (2012). The Role of Nitric Oxide on Endothelial Function. *Current Vascular Pharmacology* ; 10(1) : 4–18.

W

- Weber D, DaviesMJ, & Grune T. (2015). Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: Focus on sample preparation and derivatization conditions. *Redox Biology* ; 5 : 367–380.
- Westwood M, Ramaekers B, Whiting P, Tomini F, Joore M, Armstrong N, Ryder S, Stirk L, Severens J & Kleijnen J. (2015). Procalcitonin testing to guide antibiotic therapy for the treatment of sepsis in intensive care settings and for suspected bacterial infection in emergency department settings: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess*; 19(96): 1-236.
- Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, Capeillere-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, Dayer JM, Jungers P, Drueke T & Descamps-Latscha B .(1998). Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol* ; 161 (5):2524-2532.

Y

- Ye ZW, Zhang J, Townsend DM, Tew KD. (2015). Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation . *Biochimica et Biophysica Acta* ; 1850 (8):1607–1621.
- Young PJ, Bellomo R. (2014). Fever in sepsis: is it cool to be hot? .*Critical Care* ; 18(1) : 109.

Z

- Zhou LZ, Johnson AP, Rando TA.(2001). NF kappa B and AP-1 mediate transcriptional responses to oxidative stress in skeletal muscle cells. *Free Radic Biol Med*; 31 (11): 1405-1416.

Annexes:

Annexe 1

Tableau I: Les scores SOFA (the Sequential [sepsis-related] Organ Failure Assessment) (Singer *et al.*, 2016).

Score					
Système	0	1	2	3	4
Respiration					
PaO ₂ /FIO ₂ mmHg (kPa)	≥400 (53.3)	<400 (53.3)	<300 (40)	<200 (26.7) avec Assistance respiratoire	<100 (13.3) avec assistance respiratoire
Coagulation					
Plaquettes x10 ³ /μL	≥150	<150	<100	<50	<20
Foie					
Bilirubine mg/dL (μmoles/L)	<1.2 (20)	1.2-1.9(20-32)	2.0-5.9(33-101)	6.0-11.9(102-204)	>12.0(204)
Cardiovasculaire	MAP≥70mmHg	MAP<70mmHg	Dopamine<5 or dobutamine ^a	Dopamine 5.1-15 or epinephrine≤0.1 or norepinephrine≤0.1 ^a	Dopamine>15 or epinephrine>0.1 or norepinephrine>0.1 ^a
Système nerveux central					
Glasgow Coma Scale score ^b	15	13-14	10-12	6-9	<6
Rénal					
Créatinine, mg/dL (μmoles/L)	<1.2(110)	1.2-1.9(110-170)	2.0-3.4(171- 299)	3.5-4.9(300-440)	>5.0(440)
Production d'urine mL/d				<500	<200

FIO₂, fraction de l'oxygène inspire (Fraction of inspired oxygen). **MAP**, moyenne de pression artérielle (Mean arterial pressure), **PaO₂**, Pression partielle d'oxygène (partial pressure of oxygen). **a**, les doses de catecholamine sont données comme μg/kg/min pour au moins 1heure. **b**, les scores de l'échelle Galasgow Coma varie de 3 à 15, le score le plus élevé indique une meilleure fonction neurologique.

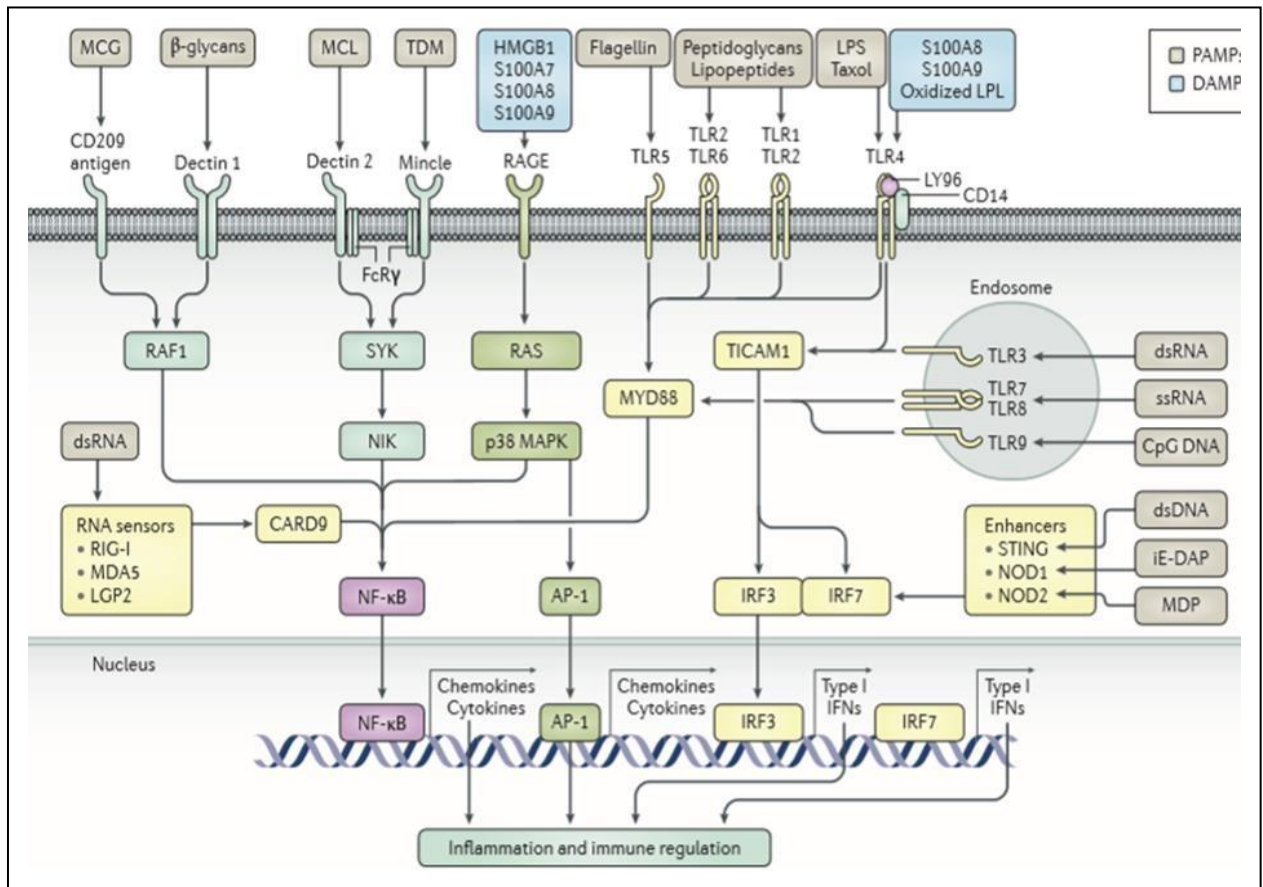


Figure 1. Récepteurs de la surface cellulaire et intracellulaires responsables de la reconnaissance des produits microbiens et des signaux de danger endogènes (alarmins) (Hotchkiss *et al.*, 2016).

Annexes 1 (Suite)

Tableau II : Liste des PRR couramment étudiés et leurs PAMPs et DAMPs (Raymond et al.,2017)

PRRs	Location	PAMPs	DAMPs
TLR1	Plasma membrane	Lipoproteins	
TLR2	Plasma membrane	Lipoproteins Peptidoglycan Lipoteichoic acid	HMGB1 Hsp70 S100
TLR3	Endosome	Viral dsRNA	
TLR4	Plasma membrane	Lipopolysaccharide	HMGB1 Hsp70 S100 Hyaluronic acid
TLR5	Plasma membrane	Flagellin	
TLR6	Plasma membrane	Lipoproteins	
TLR7	Endosome	Viral ssRNA	
TLR8	Endosome	Viral ssRNA	
TLR9	Endosome	Pathogen DNA	mtDNA nDNA
Dectin	Plasma membrane	Beta-glucans	
Mincle	Plasma membrane		SAP130
NOD1	Cytoplasm	Peptidoglycan	
NOD2	Cytoplasm	Peptidoglycan	
NALP3	Cytoplasm	Viral dsDNA Viral ssRNA	nDNA ATP Uric acid
RIG-1	Cytoplasm	Viral dsRNA	
MDA5	Cytoplasm	Viral dsRNA	
RAGE	Plasma membrane		AGEs HMGB1 S100

Annexe 2

Tableau III: Questionnaire des données.

		Sepsis (n=..)	Contrôle(n=..)
Genre (F/H)			
Age (an)			
ATCD			
Température (°C)			
Fréquence respiratoire (inspirations/min)			
Fréquence cardiaque (90 battements/min)			
Leucocytes (10³/ mm³)			
Neutrophiles (%)			
Lymphocytes (%)			
Plaquettes (10⁶/mm³)			
Créatinine (µmoles/L)			
Hémoculture (+/-)			
Pathogène	Gram+		
	Gram-		
	Mix		
	inconnu		
Site infectieux	Pulmonaire		
	Abdominale		
	Sanguin		
	urogénitale		
	Autres		
	inconnu		
Survivant/non survivant			

Annexe 2 (Suite)

✓ *Appareillage*



Automate (BACT/ALERT 3D)



Etuve



Hotte à flux laminaire



Automate (BC-5300 mindray)

✓ *Réactifs*



Gélose au sang cuit (GSC)

Annexe 3 : Abstract des articles utilisés en méta-analyse

✓ Article 1. Spanidis et al., 2015

in vivo 29: 595-600 (2015)

Assessment of Oxidative Stress in Septic and Obese Patients Using Markers of Oxidation-reduction Potential

YPATIOS SPANIDIS¹, NIKOLAOS GOUTZOURELAS¹, DIMITRIOS STAGOS¹, ANASTASIA S. KOLYVA², CHARALAMBOS A. GOGOS², DAVID BAR-OR^{3,4,5,6} and DIMITRIOS KOURETAS¹

¹Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece;

²Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine, Patras University Hospital, Rion-Patras, Greece;

³Trauma Research Department, St. Anthony Hospital, Lakewood, CO, U.S.A.;

⁴Trauma Research Department, Swedish Medical Center, Englewood, CO, U.S.A.;

⁵Trauma Research Department, Medical Center of Plano, Plano, TX, U.S.A.;

⁶Luoxis Diagnostics, Inc., Englewood, CO, U.S.A.

Abstract. *Background/Aim: The novel static (sORP) and capacity (cORP) oxidation-reduction potential markers were examined for assessing oxidative stress in plasma of patients with sepsis. Moreover, the possible effect of obesity-induced oxidative stress on patients with sepsis was investigated. Materials and Methods: sORP and cORP markers, as well as the conventional oxidative stress biomarkers total antioxidant capacity (TAC), thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and protein carbonyls (CARB), were assessed in plasma. Results: sORP marker was increased significantly in the sepsis group, while cORP was significantly lower compared to the control group, indicating oxidative stress. Furthermore, in patients with sepsis, TAC was significantly lower compared to control group. However, obesity had no effect on sORP, cORP and TAC in patients with sepsis, although it increased levels of CARB and TBARS. Conclusion: The present results suggest, for the first time, that ORP markers could be used for assessing oxidative stress in patients with sepsis.*

✓ Article 2. Kumar et al., 2018

Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Status: Correlation with the Severity of Sepsis.

Authors – Sanni Kumar¹, Ena Gupta¹, Sanket Kaushik¹, Vijay Kumar Srivastava¹, Sudhir Kumar Mehta², Anupam Jyoti^{1*}

Abstract

Sepsis is a condition caused by infection followed by unregulated inflammatory response which may lead to the organ dysfunction. During such condition, over-production of oxidants is one of the factors which contribute cellular toxicity and ultimately organ failure and mortality. Antioxidants having free radicals scavenging activity exert protective role in various diseases. The present study has been designed to evaluate the levels of oxidative and anti-oxidative activity in sepsis patients and their correlation with the severity of the sepsis. A total of 100 sepsis patients and 50 healthy controls subjects were enrolled in this study from the period October 2016 to June 2017. The investigation included measurements of oxidative enzyme, myeloperoxidase (MPO), antioxidant enzymes including superoxide dismutase activity (SOD) and catalase activity (CAT) and cytokines (TNF- α , IL-8 and IFN- γ). Furthermore, the level of these activities was correlated with severity of sepsis. Augmented levels of oxidants were found in sepsis as demonstrated by DMPO nitron adduct formation and plasma MPO level activity (1.37 ± 0.51 in sepsis vs 0.405 ± 0.16 in control subjects). Cytokines were also found to be increased in sepsis patients. However, plasma SOD and CAT activities were significantly attenuated ($p < 0.001$) in the sepsis patients compared with controls subjects. Moreover, inverse relation between antioxidant enzymes (SOD and CAT) and organ failure assessment (SOFA), physiological score (APACHE II), organ toxicity specific markers have been observed as demonstrated by Pearson's correlation coefficient. This study suggests that imbalance between oxidant and antioxidant play key role in the severity of sepsis.



Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cca



Quantification of NETs formation in neutrophil and its correlation with the severity of sepsis and organ dysfunction



Sanni Kumar^a, Ena Gupta^a, Sanket Kaushik^a, Vijay Kumar Srivastava^a, Juhi Saxena^b, Sudhir Mehta^c, Anupam Jyoti^{a,*}

^a Amity Institute of Biotechnology, Amity University Rajasthan, Amity Education Valley, Kant Kabwar, NH-11C, Jaipur-Delhi Highway, Jaipur 303002, India

^b Dr. B. Lal Institute of Biotechnology, 6-E, Mahatya Industrial Area, Jaipur 302017, India

^c Department of General Medicine, SMS Medical College & Attached Hospitals, J.L.N. Marg, Jaipur 302004, India

ARTICLE INFO

Keywords:

Cytokines
NETs
Neutrophils
Sepsis
Organ dysfunction

ABSTRACT

Background: Previous study from this lab has discerned oxidative, nitrosative stress and their relationship with cytokines contributing to the severity of sepsis and organ dysfunction. Cytokines are known to induce neutrophil extracellular traps (NETs) formation via free radicals generation. Hyper-activation of neutrophil leads to the increased NETs formation or ineffective clearance of NETs would likely increase the risk of auto-antibody generation against NETs components and being partly responsible for the sepsis severity and organ dysfunction. The present study was undertaken to further assess the status of NETs formation and their correlation with severity of sepsis, with the cytokines and organ dysfunction.

Methods: The level of NETs formation, DNA release, elastase release, and inflammatory cytokines was determined in 80 sepsis patients and 45 healthy volunteers. Their linearity with organ parameters and associations with sepsis severity were also assessed.

Results: NETs formation experiment was carried out and it was significantly higher in sepsis (70%) compared to control (30%). NETs % were positively correlated with severity of sepsis and organ dysfunction. Pearson's correlation coefficient demonstrated a direct relation between NETs components and organ parameters with Sepsis severity scores.

Conclusion: NETs formation is significantly higher due to which it is contributing to the sepsis severity and organ failure.

Correlation between oxidative stress factors and prognosis of patients with sepsis

Qiu Chunfang, Wu Jianfeng, Pei Fei, Wang Luhao, Mei Meihua, Guan Xiangdong, Ouyang Bin

Department of Critical Care Medicine, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

Corresponding author: Ouyang Bin, Email: binouyang@yahoo.com

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between plasma oxidative stress factors levels and organ damage parameters as well as prognosis in patients with sepsis. **Methods** A case-control study was conducted. Twenty-five patients admitted to surgical intensive care unit (ICU) of the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University from March to December in 2016 and diagnosed as sepsis were enrolled as study subjects. Another 15 patients without sepsis admitted to surgical ICU in the same period were enrolled as controls. General demographic data, main diagnoses, acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score within 24 hours, clinical laboratory indicators [alanine aminotransferase (ALT), aspartate transaminase (AST), serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), white blood count (WBC)] and oxidative stress indicators [superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO)] as well as length of ICU stay, total hospital stay and 28-day mortality were recorded. Spearman or Pearson correlation method was used to analyze the correlation between oxidative stress indicators and organ damage indicators as well as prognosis in patients with sepsis. Receiver operator characteristic (ROC) curve was plotted to evaluate the predictive value of oxidative stress indicators for 28-day mortality in patients with sepsis. **Results** The length of ICU stay in sepsis group was significantly longer than that in non-sepsis group [days: 7.0 (5.5, 11.0) vs. 4.0 (1.0, 11.0), $P < 0.05$], and AST, BUN, CRP, PCT, plasma MDA and NO levels were significantly higher than those in non-sepsis group [AST (U/L): 50.76 ± 19.53 vs. 28.53 ± 14.02 , BUN (mmol/L): 9.99 ± 5.26 vs. 6.97 ± 4.32 , CRP (mg/L): 109.28 ± 42.79 vs. 60.33 ± 46.68 , PCT ($\mu\text{g/L}$): 5.4 (0.3, 24.0) vs. 0.6 (0.1, 1.5), MDA (ng/L): 488.31 ± 76.68 vs. 399.30 ± 50.23 , NO (ng/L): 5.08 ± 0.89 vs. 4.42 ± 0.88 , all $P < 0.05$]. There was no significant difference in gender, age, APACHE II score, total hospital stay, 28-day mortality, ALT, SCr, WBC or plasma SOD activity between the two groups. The correlation analysis between oxidative stress parameters and organ damage parameters as well as prognosis in patients with sepsis showed that MDA and NO were positively correlated with SCr (r value was 0.426 and 0.431, respectively, both $P < 0.05$), and there was a positive correlation between MDA and NO ($r = 0.990$, $P < 0.01$); plasma SOD activity was negatively correlated with 28-day mortality ($r = -0.468$, $P < 0.05$), while MDA and NO levels were positively correlated with 28-day mortality (r value was 0.598 and 0.611, respectively, both $P < 0.01$). ROC curve analysis showed that plasma SOD, MDA and NO levels had a good independent predictive effect on 28-day mortality, the area under ROC curve (AUC) was 0.816 ± 0.087 , 0.904 ± 0.078 and 0.912 ± 0.071 , and the best cut-off value was 40.76% (sensitivity 68.4%, specificity 100%), 487.93 ng/L (sensitivity 83.3%, specificity 89.5%) and 5.31 ng/L (sensitivity 83.3%, specificity 89.5%), respectively. **Conclusions** The plasma levels of oxidative stress factors in patients with sepsis are significantly increased, which is closely related to organ damage and poor prognosis. The plasma SOD, MDA and NO levels can be used as independent bio-marker to predict the 28-day mortality of patients with sepsis.

【Key words】 Sepsis; Oxidative stress; Prognosis

✓ Article 5. Acuña-Fernández et al., 2020

Shock, Publish Ahead of Print

DOI : 10.1097/SHK.0000000000001433

Daily changes in the expression of clock genes in sepsis and their relation with sepsis outcome and urinary excretion of 6-sulfatoximelatonin

Carlos Acuña-Fernández^{1,*}, Jorge Solera Marín¹, María E Díaz-Casado², Iryna Rusanova², Beneharo Darias-Delbey¹, Luis Pérez-Guillama¹, Javier Florido-Ruiz², Darío Acuña-Castroviejo^{2,3*}

Abstract

Background: Whereas the circadian system controls the daily production of melatonin and the daily activity of the immune system, increasing evidences support the association between circadian misalignment with the alterations in the immune response and melatonin rhythm during sepsis. The aim of this study was to analyze the daily changes in clock genes expression and the urinary excretion of 6-SM (6-sulfatoxymelatonin, the major melatonin metabolite), and their connection with the innate immune activity, oxidative status in blood, and clinical outcome during sepsis.

Methods: Healthy volunteers, non-septic ICU patients, and septic ICU patients, were evaluated. The expression of *bmal1*, *per2*, *clock*, and *cry1* genes was determined by PCR in blood; 6-SM was assessed in urine by ELISA; plasma cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , and IL-10 were determined by a multiplex array method, and lipid peroxidation (LPO) and protein oxidation (AOPP) by spectrophotometry. Hematological and biochemical data, and clinical scores of the patients, were also recorded.

Results: Clock gene rhythm was maintained in non-septic patients but blunted in septic ones, whereas the innate immune and the oxidative stress responses were significantly higher in the latter. 6-SM excretion was also more elevated in septic than in non-septic patients, and it correlated with the degree of the immune response and oxidative status. 6-SM also correlated with SOFA and procalcitonin in the patients. Proinflammatory cytokines, LPO, and AOPP were normalized in the patients once recovered from sepsis.

Conclusion: Our data suggest a relationship between clock genes rhythm disruption, the immune response and the oxidative status, with 6-SM acting as a compensatory response. ICU conditions are not a main clock disrupter because the significant differences found in the responses of septic versus non-septic patients under the same ICU environment.

Keywords: septic patients; clock genes; chronodisruption; innate immunity; 6-sulfatoximelatonin; oxidative stress; cytokines

Annexe 3

- ✓ Résultats d'analyses de corrélation des paramètres de stress oxydatif et des marqueurs de lésions organiques et le pronostic chez les patients atteints de sepsis (Kumar *et al.*, 2018)

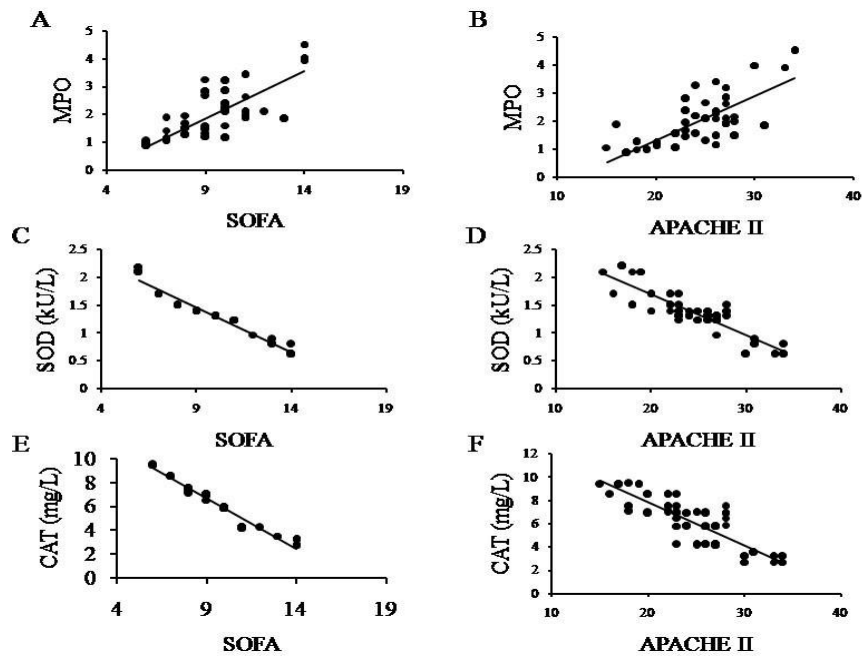


Figure 2. Corrélation des taux plasmatiques de MPO (A, B), SOD (C, D), et Catalase (E, F) avec les scores SOFA et APACHE II respectivement.

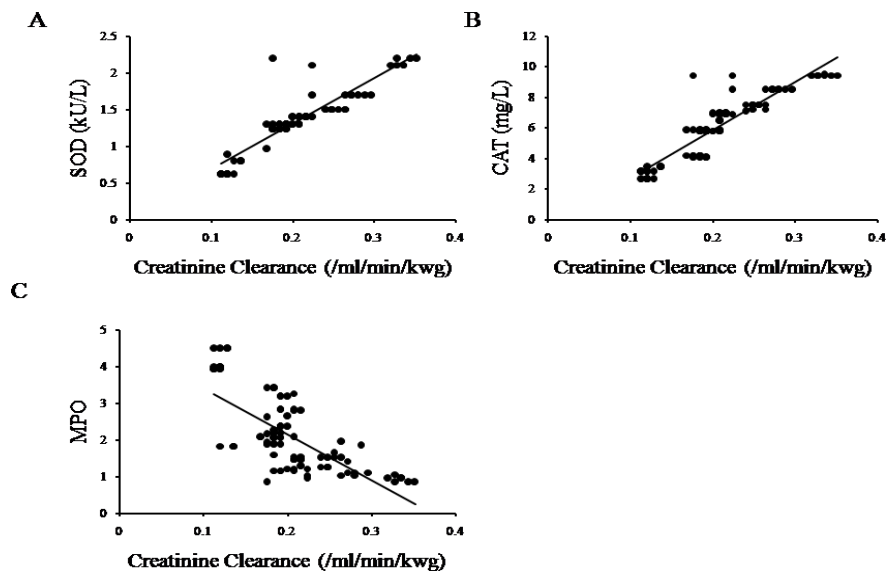


Figure 3. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec la clearance de la créatinine.

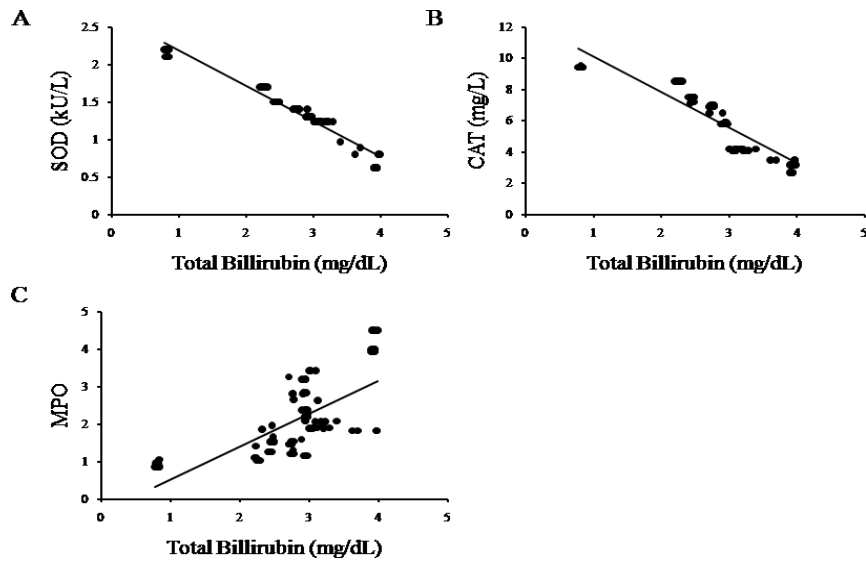


Figure 4. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec les la clearance de le taux de bilirubine totale.

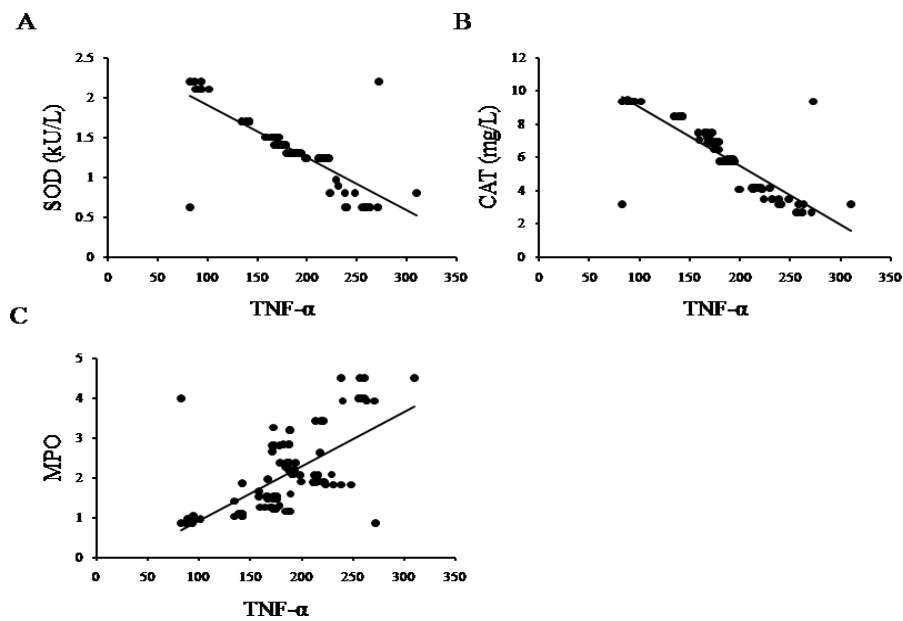


Figure 5. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec le taux de TNF- α .

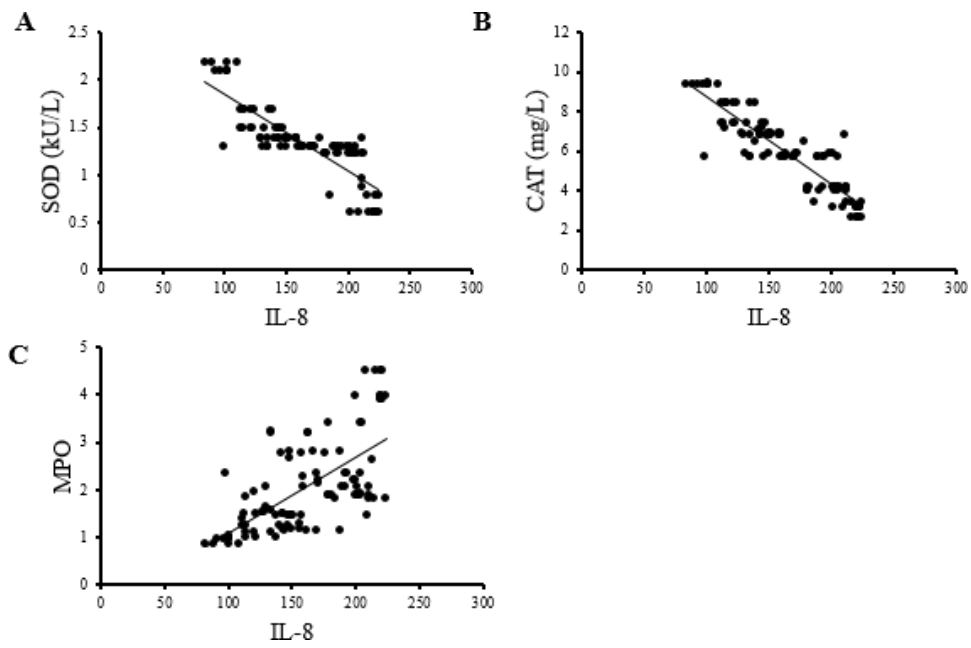


Figure 6. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec le taux d'IL-8.

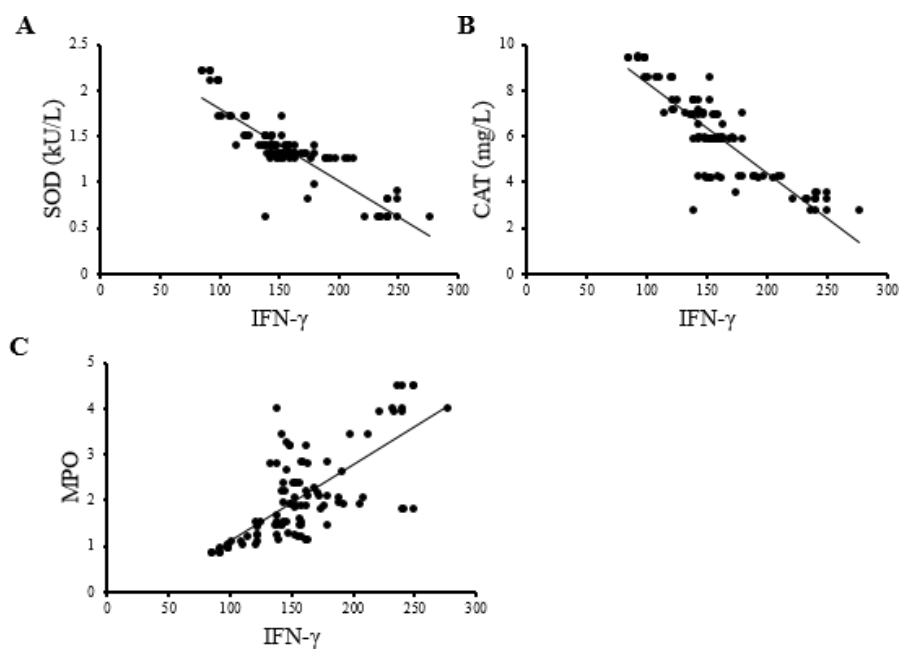


Figure 7. Corrélation des taux plasmatiques de SOD (A), Catalase (B) et MPO (C), avec le taux d'IFN-γ.