

Laboratoire | 18/06/2021 | N°112

Immunophénotypage des Lymphocytes T, B et NK

1 - INTRODUCTION

Dans l'organisme, deux systèmes de protection (immunité) se chevauchent et se complètent :

- **Immunité innée:** rapide, non spécifique et dirigée contre ce qui est étranger à l'organisme. Les acteurs de l'immunité innée sont les monocytes, les granulocytes, et les **lymphocytes NK**.
- **Immunité acquise:** lente, spécifique à un antigène, fait la distinction du soi / non soi. Les cellules impliquées sont les **lymphocytes B**, responsables de l'immunité humorale (production d'Ig), et les **lymphocytes T**, responsables de l'immunité cellulaire (production de cytokines; action directe).

Les différentes lignées de leucocytes peuvent être caractérisées par la présence de glycoprotéines membranaires spécifiques, appelées CD (Cluster de Différenciation). Les CD permettent, à l'aide d'anticorps spécifiques couplés à des fluorochromes, de caractériser et de quantifier les cellules ciblées (**immunophénotypage**).

2 - CELLULES CIBLEES ET INTERET CLINIQUE

Les lymphocytes T helpers (CD4+) sont les principales cibles du VIH, leur nombre diminue lorsque l'infection progresse. De même, les infections bactériennes (brucellose et tuberculose) ou encore certaines thérapeutiques (méthotrexate, fludarabine, corticoïdes, ...) peuvent entraîner une diminution durable des lymphocytes T CD4+.

Les lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) : la sclérose en plaque, le lupus érythémateux disséminé, l'eczéma atopique sévère ou encore les anémies hémolytiques auto-immunes diminuent la fraction de CD8+ circulants. A l'inverse, une augmentation des lymphocytes CD8+ est associée à une activation du système immunitaire et peut être observée lors d'infections virales ou de rejets de greffes.

Les lymphocytes B (CD19+) : la quantification des lymphocytes B est utilisée dans le suivi du traitement par Rituximab. En effet, l'anticorps monoclonal de ce médicament est dirigé contre le CD20, un autre CD présent à la surface des lymphocytes B matures. Par conséquent, ce traitement diminue le nombre de lymphocytes B en induisant leur lyse par différents mécanismes.

Les lymphocytes Natural Killer NK (CD56+/CD16+) constituent la première réponse de l'organisme lors d'une agression par des agents pathogènes. Le rôle des NK est de détruire les cellules altérées telles que les cellules infectées et les cellules cancéreuses.

L'immunophénotypage peut aussi être utilisé pour évaluer l'état des défenses immunitaires lors de traitements comme la greffe de cellules souches, la transplantation d'organes ou comme aide au diagnostic de lymphome et de déficits primitifs de l'immunité.



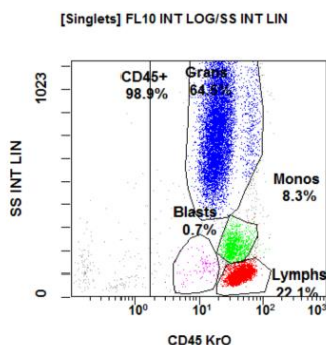
3 - METHODE

Le prélèvement sanguin est mis en contact avec des anticorps marqués par des fluorochromes. Le cytomètre en flux dispose d'un système permettant l'alignement des cellules et leur passage une par une devant des lasers et des détecteurs de fluorescence (photomultiplicateurs). En plus des fluorescences ou « couleurs » différentes qui permettent la détermination des sous-populations de lymphocytes, la diffraction de la lumière du laser donne des informations sur la taille et la structure (granulosité) de chaque cellule analysée. Le marquage permet l'identification des sous-populations cellulaires:

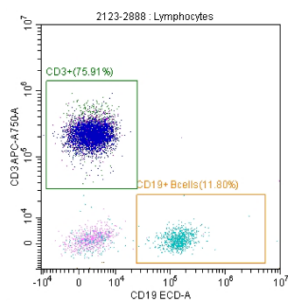
- Le **CD45** est un marqueur pan-leucocytaire qui permet de cibler l'ensemble de leucocytes, puis d'analyser la part de granulocytes, monocytes et lymphocytes en fonction de leur taille et de leur structure (Graphe 1).

Cette première sélection va permettre ensuite d'évaluer les sous-populations lymphocytaires d'intérêt :

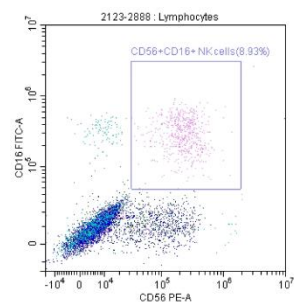
- Le **CD3** est spécifique des lymphocytes T (Graphe 2).
 - Le double marquage **CD3+/CD4+** permet de cibler les **lymphocytes T helpers CD4+**.
 - De même le marquage **CD3+/CD8+** cible les **lymphocytes T cytotoxiques CD8+**.



Graphe 1 : marquage CD45



Graphe 2 : Lymphocytes T (CD3+) et Lymphocytes B (CD19+)



Graphe 3 : Cellules NK (CD16+CD56+)

- Le **CD19** est spécifique des **lymphocytes B** (Graphe 2).
- Les **lymphocytes NK** sont identifiés comme étant **CD3-** et **CD56+/CD16+** (Graphe 3). Les cellules **CD56+/CD3+** sont des **NKT**.

4 - VALEURS DE RÉFÉRENCE

Sous-population	Cellules/mm3	% de lymphocytes
CD45	1140 - 3380	
CD3	780 - 2240	55 – 83
CD4	490 – 1640	28 – 57
CD8	170 – 880	10 - 39
CD19	80 - 490	6 - 19
CD56/CD16	80 - 690	7 – 31

5 - RECOMMANDATIONS

Le prélèvement est réalisé sur tube EDTA (destiné uniquement à cet examen) conservé à température ambiante, stable 24h. Attention : **pas de prélèvements le week-end**; pour le **vendredi** et la **veille de jour férié** faire parvenir le tube **avant midi au laboratoire**.

Les populations lymphocytaires du sang périphérique varient selon un rythme nyctéméral, avec une valeur minimale des CD4 le matin. Toute maladie aiguë comme une pneumonie, une grippe, une infection au virus de l'herpès ou une chimiothérapie peuvent générer une diminution temporaire des CD4.

6 - ANALYSE

Principe, méthode :	Cytométrie de Flux
Demande :	Feuille "IMMUNOLOGIE"
Préanalytique :	Prélèvement sur tube EDTA
Fréquence du dosage :	3 fois par semaine
Remarque :	Le dosage se fait sur le site de la Chaux-de-fonds
Prix :	TBNK 129.60 points (code OFAS : 1x1523.00, 6x1524.00)



7 – RENSEIGNEMENTS

Christine Monnier, FAMH immunologie
(christine.monnier@ne.ch)

Dr Véronique Viette, directrice FAMH,
(veronique.viette@ne.ch)

8 – BIBLIOGRAPHIE

<http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/leucocytes-et-leur-pathologie/96-physiologie-des-lymphocytes-b-t-et-nk>

<https://www.eurofins-biomnis.com/wp-content/uploads/2015/09/43-Focus-Immunophenotypage.pdf>

