



Immunophénotypage des Lymphocytes T: CD3 ; CD4; CD8.

1. Introduction

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

- **Immunité innée:** rapide, non spécifique, dirigée contre ce qui est étranger à l'organisme. Ce sont les barrières de défense naturelle (peau, muqueuses), diverses substances sécrétées (protéines cytokines) et des cellules dédiées: monocytes, granulocytes, lymphocytes NK.
- **Immunité acquise:** lente, mais spécifique à un antigène, fait la distinction du soi / non soi. Elle est adaptative et se renforce après un nouveau contact. Les cellules impliquées sont les lymphocytes B, responsables de l'immunité humorale (production d'Ig), et les lymphocytes T, responsables de l'immunité cellulaire (cytokines; action directe).

Les différentes lignées de leucocytes (et particulièrement de lymphocytes) peuvent être caractérisées par la présence à leur surface de glycoprotéines membranaires spécifiques, appelées CD (Cluster de Différenciation). Les CD sont ubiquitaires, spécifiques d'une lignée cellulaire, marqueurs d'une expression aberrante de cellules néoplasiques, ou sont exprimés selon le stade de différenciation (maturité) cellulaire. Ils permettent, à l'aide d'anticorps couplés à des fluorochromes de caractériser et de quantifier les cellules ciblées: l'immunophénotypage.

La quantification des sous-populations lymphocytaires sanguines permet d'explorer l'immunité cellulaire, avec un décompte des lymphocytes totaux. Pour le suivi des patients VIH+ ou immunosupprimés, la distinction et la quantification, au sein des cellules T, des T *helpers* CD4+ et des T *cytotoxiques* CD8+ est réalisée.

2. Intérêt

Les lymphocytes T 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+.

Une diminution de la fraction CD8+ a été constatée dans la sclérose en plaque, le lupus érythémateux disséminé, l'eczéma atopique sévère ou encore les anémies hémolytiques auto-immunes.

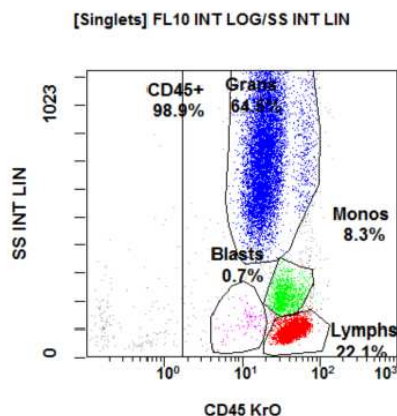
Une augmentation des lymphocytes CD8+ est associée à une activation du système immunitaire et peut être observée lors d'infections virales ou de rejets de greffes.

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. Méthode

L'immunophénotypage est réalisé sur un prélèvement sanguin. L'échantillon est mis en contact d'anticorps marqués par des fluorochromes selon la pathologie recherchée et les hématies sont lysées. Le cytomètre en flux dispose d'un système permettant l'alignement des cellules et leur passage une par une devant les 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.



Les profils d'expressions permettent ainsi l'identification des sous-populations cellulaires d'intérêt:

- 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.

Ceci va permettre ensuite d'évaluer les sous-populations lymphocytaires d'intérêt :

- Le **CD3** est spécifique des lymphocytes T.
 - Le double marquage **CD3+/CD4+** permet de cibler les **lymphocytes T CD4+** tout en évitant de compter les monocytes qui sont également **CD4+** (mais n'ont pas de CD3).
 - De même le marquage **CD3+/CD8+** cible les **lymphocytes T cytotoxiques CD8+**, en excluant les lymphocytes NK qui expriment aussi le CD8 mais pas le CD3.

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

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 :	suivi HIV+ → 90 points (code OFAS : 1x1523.00, 3x1524.00)

Renseignements

- Christine Monnier, FAMH immunologie (christine.monnier@ne.ch)
- Dr Véronique Viette, directrice FAMH, (veronique.viette@ne.ch)

Bibliographie

- 1 <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/leucocytes-et-leur-pathologie/96-physiologie-des-lymphocytes-b-t-et-nk>
- 2 <https://www.eurofins-biomnis.com/wp-content/uploads/2015/09/43-Focus-Immunophenotypage.pdf>