

Immunophénotypage des principales populations lymphocytaires circulantes (T, B, NK)

Signification biologique du paramètre	
Les sous-populations lymphocytaires sanguines, qui comportent les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules NK peuvent être identifiées à l'aide des antigènes de différenciation qu'elles expriment à leur surface (CD=clusters de différenciation). Leurs proportions et leurs valeurs absolues évoluent avec l'âge. Des modifications particulières sont associées à divers contextes pathologiques.	
Objectifs de l'analyse et principales indications de prescription	
L'immunophénotypage des populations lymphocytaires circulantes T, B, NK est un examen courant permettant de déterminer à la fois leurs proportions relatives au sein des lymphocytes et leur nombre absolu dans un échantillon sanguin. Cet examen concerne les patients chez qui est suspecté un déficit primitif ou acquis de l'immunité. Cet examen est également utile pour apprécier l'immunité lymphocytaire quel que soit le contexte (maladies auto-immunes, infection sévère ...).	
Place dans la hiérarchie d'un bilan d'exploration	
Il s'agit d'un examen de première intention pour le diagnostic d'un déficit immunitaire sévère. Il est également utilisé pour le suivi de ces patients. Cet examen est complété par un immunophénotypage plus détaillé des lymphocytes si une lymphopénie ou une hyperlymphocytose est identifiée pour l'une ou plusieurs des sous-populations lymphocytaires.	
Nature du prélèvement	Un seul tube de 1 à 5mL de sang prélevé sur EDTA.
Contraintes d'acheminement	Acheminement à température ambiante tempérée
Mode de conservation	Conservation à température ambiante tempérée pour assurer un délai maximal de traitement de l'échantillon en moins de 24 heures.
Principe méthodologique	L'immunophénotypage des populations lymphocytaires circulantes T, B, NK repose le plus souvent sur la réalisation d'un quadruple marquage CD45/CD3/CD16-56 ou CD56 seul/CD19 suivi d'une mesure en cytométrie en flux. Le marquage est réalisé à l'aide d'anticorps monoclonaux fluorescents sur sang total suivi d'une lyse des globules rouges sans lavage. La population lymphocytaire est sélectionnée sur le cytomètre en flux selon des critères morphologiques (cellules marquées positivement par l'anticorps anti-CD45 (panleucocytes)/structure) et corrélée à l'évaluation des cellules marquées positivement par l'anticorps anti-CD3 (lymphocytes T) ou par l'anticorps anti-CD19 (lymphocytes B). Les cellules NK sont repérées par l'absence d'expression de CD3 et de CD19 et la positivité du marquage par les anticorps CD16 et/ou CD56. Il existe également un contingent de cellules NKT qui coexpriment ces marqueurs et CD3. Les valeurs absolues, exprimées en G/L, sont déterminées en simple plateforme à l'aide d'un étalon interne constitué de billes fluorescentes, de concentration connue, présentes dans le tube de préparation. Il est également possible de réaliser une mesure en double plateforme en calculant les valeurs absolues de chaque sous-population à l'aide du nombre absolu de lymphocytes déterminé par un automate de numération en parallèle, idéalement sur le même échantillon.
Type de méthode	Semi-automatisée, marquage et lyse manuels.
Type de mesure	Quantitative. Interprétation en fonction de normes réalisées dans le laboratoire sur des sujets sains de différentes tranches d'âge ou publiées dans la littérature.
CIQ	Contrôles du constructeur pour le cytomètre, contrôles cellulaires commerciaux
EEQ	Oui
Performances du test	Méthode sensible et spécifique
Causes d'erreur, limites du test	Dans le cas de l'utilisation de billes étalon pour déterminer les valeurs absolues il est impératif de pipeter de façon précise le sang. La présence de micro-caillots peut être à l'origine de différences entre les résultats mesurés en simple ou double plateforme. Du fait de l'existence de différences quantitatives pour un même échantillon entre les différentes techniques de mesure de la valeur absolue il est recommandé qu'un patient soit toujours suivi pour ce test dans le même laboratoire.
Références	Backteman K et al. Biological and methodological variations of lymphocyte subsets in blood of human adults. J Immunol Methods 2007;332:20-7.

	Shearer WT et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trial Group P1009 study. J Allergy Clin Immunol 2003;112:973-80. PLonquet A et al. Immune risk phenotype is associated with nosocomial lung infections in elderly in-patients. Immunity and ageing 2011;8:8-15. Blanc C et al. Intérêt de la numération absolue par cytométrie en flux et du quadruple marquage des sous-populations lymphocytaires lors de l'infection par le VIH. RFL 1996;287:59-64.
--	---