

4.3 Evaluation de l'immunité cellulaire en laboratoire

Salut. Bien que ce n'est pas un problème strictement de la virologie, Nous allons passer brièvement en revue le processus complexe par lequel réponses immunitaires acquises sont générés lorsqu'il y a une infection virale. Lymphocytes-T, en reconnaissant antigène virale activé dans la membrane des cellules, prolifèrent et se différencient en deux populations différentes : Les lymphocytes T-helper ou Th, qui coopèrent avec d'autres cellules alors ces progrès de réponses immunitaires, et les lymphocytes T cytotoxiques ou Tc, qui tuent les cellules infectées. Comme ces cours de processus, lymphocytes sécrètent des molécules, qui sont appelées cytokines, qui servent de communication entre les cellules du système immunitaire et les inciter à répondre ou à faire de leur fonction.

Eh bien, pour vérifier si la réponse cellulaire au virus est correcte différents points peuvent être analysés comme la multiplication des cellules après une stimulation antigénique ; la destruction des cellules infectées, par un test qui évalue la capacité de la cytotoxicité des lymphocytes Tc ; ou la sécrétion de cytokines, par exemple, en utilisant le test ELISA que nous avons vu dans la vidéo précédente. Dans cette vidéo, nous allons voir Comment déterminer la multiplication des lymphocytes, ou lymphoprolifération.

La lymphoprolifération est une technique qui mesure la prolifération des lymphocytes T-helper en réponse aux antigènes viraux présenté par présentatrices d'antigène des cellules. Cela se produit uniquement si le patient a déjà été exposé au virus, c'est-à-dire, s'il a récupéré d'une infection ou s'il a été vacciné, toujours avec ce même virus.

La première chose est d'isoler les lymphocytes. Les plus faciles à obtenir sont ceux du sang périphérique, recueillis avec anticoagulant. Sang est dilué avec milieu de culture et placé délicatement sur le dessus du une substance dense appelée gradient de Ficoll. Après l'essorage, érythrocytes et granulocytes pénètrent le Ficoll et ils s'installent dans la partie inférieure du tube, mais les lymphocytes et des monocytes restent à l'interface entre le Moyen de Ficoll et le plasma et de la culture. Nous les recueillir avec soin et les compter au microscope. Nous appellerons ces cellules PBMC.

Nous avons mis 100 000 PBMC dans chacun bien d'une plaque de 96 puits et d'ajouter une suspension virale ou antigène viral dans chaque puits, et nous laisser pour incuber à 37°C pendant 4 à 6 jours. Pendant ce temps, traitent les cellules présentatrices d'antigène du virus et présentez-le à lymphocytes T. Si le patient a déjà été exposé au même virus, Il y aura des lymphocytes T qui reconnaissent le virus et de prolifèrent.

Pour déterminer à quel point ils sont multipliés, Nous ajoutons la thymidine, que vous savez que c'est un nucléotide qui fait partie de l'ADN, marqué avec tritium, qui est un pont hydrogène radioactif, et nous laisser incuber 6 heures de plus. Cette thymidine tritiée est incorporée dans l'ADN des cellules nouvelles, alors, quand nous recueillons les cellules et nous mesurons la quantité de radioactivité dans un compteur à scintillation, Il indique le degré de la multiplication cellulaire. Comme toujours, nous devons prendre des précautions, faire comme chaque échantillon en triple exemplaire et d'ajouter des PBMC d'un individu normal non infectés, ainsi que les PBMC du patient sans stimuler avec le virus, pour être utilisé comme un contrôle.

Les résultats peuvent être exprimés comme indice de stimulation, qui est le rapport entre la radioactivité mesurée dans les cultures stimulées et les contrôles sans stimuler de la même personne.

La prolifération des lymphocytes peut être également évaluée par des trousse ne nécessitant aucune radioactivité. Ils mesurent la quantité d'ATP cytoplasmique les cellules métaboliquement actives. Par conséquent, une plus grande quantité de cellules, les niveaux

d'ATP sont plus élevés. ATP est utilisée dans une réaction de luminescence qui peut être mesurée par un luminomètre.

Comme vous pouvez le voir il y a différentes techniques pour détecter le système immunitaire cellulaire réponse après l'infection virale. Je viens seulement de quelques-uns. Il y a beaucoup plus et beaucoup d'autres sont en développement. Venez découvrir. Je vous remercie pour votre attention.