

## 4.4 Marqueurs de l'immunodéficience

Certains virus infectent les cellules du système immunitaire et les détruisent, donc ils ne peuvent pas exercer leur fonction de défense. Comme nous l'avons dit, la réponse immunitaire est extrêmement complexe, et les cellules impliquées peuvent être victime du virus. Dans cette vidéo nous allons voir comment évaluer le nombre de lymphocytes T, mais le même principe s'applique à d'autres cellules.

Les cellules immunitaires ont sur leur surface des molécules qui les identifient, qui sont appelées CD (cluster de différenciation). On ne connaît pas la fonction de chacun d'eux mais nous savons qu'ils sont présents toujours sur certaines cellules ou sont exprimés associés à certains états d'activation des lymphocytes. Par exemple, les lymphocytes T sont caractérisés par CD3, associés à leurs récepteurs ; les cellules T-helper ou Th sont également CD4+ et les lymphocytes T cytotoxiques CD8+ ; les lymphocytes B sont CD19+ et lorsqu'ils sont activés, ils sont aussi CD23+ ; et elles sont toutes CD45+, qui les définit comme des leucocytes. Il semble complexe, mais vous verrez l'utilité c'est de savoir de ces molécules.

Déterminer les marqueurs CD4 et CD8, qui définissent les lymphocytes Th et Tc, respectivement, bien que pas exclusivement, est souvent utilisé pour évaluer l'état immunitaire d'un individu, en particulier la relation des cellules CD4:CD8. Cette relation peut être affectée par un virus qui infecte les cellules du système immunitaire. C'est le cas de l'infection par le VIH, ou par le virus de la mononucléose infectieuse chez les personnes ; ou chez les chats par le virus de l'immunodéficience ou de la leucémie féline. Dans ces infections, le rapport CD4:CD8 est souvent utilisé pour déterminer la progression de l'infection et le succès de la thérapie antirétrovirale. Un rapport supérieur à 2 indique un système immunitaire normal et en dessous de 1, l'immunodéficience.

Pour déterminer le nombre de cellules qui ont un certain CD les anticorps monoclonaux sont utilisés. Ils sont très spécifiques et sont marqués par un fluorochrome. Quand nous voulons déterminer plusieurs populations, par exemple CD4+ et CD8+, deux fluorochromes différents peuvent être utilisés. Comme exemple, nous pouvons utiliser du sang entier enlever préalablement les culots globulaires en lisant les cellules avec une solution spécifique. Nous ajoutons un anticorps anti-CD marqué au fluorochrome et après une brève période d'incubation dans l'obscurité nous analysons les cellules dans le cytomètre en flux.

Le cytomètre est un instrument très sensible. Il a un flux par le biais d'un système dans lequel les cellules sont considérées isolément. Ainsi, chaque cellule est traversée par un faisceau laser, qui active la fluorescence dans les cellules qui ont été « marquées » avec l'anticorps spécifique. Le cytomètre reconnaît la fluorescence de la surface des cellules spécifiques, et détecte les cellules, leur collecte dans des récipients individuels. Ainsi, une population hétérogène de cellules peut être épurée et des sous-populations spécifiques qui ont différents CD sont séparées.

Dans le cas des cellules T-helper et T cytotoxiques, le résultat est exprimé dans un graphique où la complexité et la taille sont d'abord analysés. Les lymphocytes sont séparés de cette façon. Les lymphocytes sont petits avec une faible complexité. Dans un deuxième temps, ils sont classés selon l'intensité de la fluorescence de leurs respectifs fluorochromes. Regardez le graphique à droite. Notez que l'échelle est logarithmique, et les trois principales populations de cellules : les CD4 et CD8 négatifs ; et le positif à l'un des deux marqueurs.

N'oubliez pas de faire les exercices recommandés pour déterminer si les patients que nous montrons sont immunodéficients ou non. Je vous remercie beaucoup pour votre attention.