

## INTRODUCTION

Les taux des lymphocytes T (LT) CD4+ et CD8+, par cytométrie en flux, doivent être interprétés rigoureusement puisqu'ils constituent des paramètres qui déterminent le pronostic évolutif et l'attitude du thérapeute.

Le marquage et l'analyse au cytomètre se fait le plus souvent le même jour mais parfois on est confronté à des contraintes techniques.

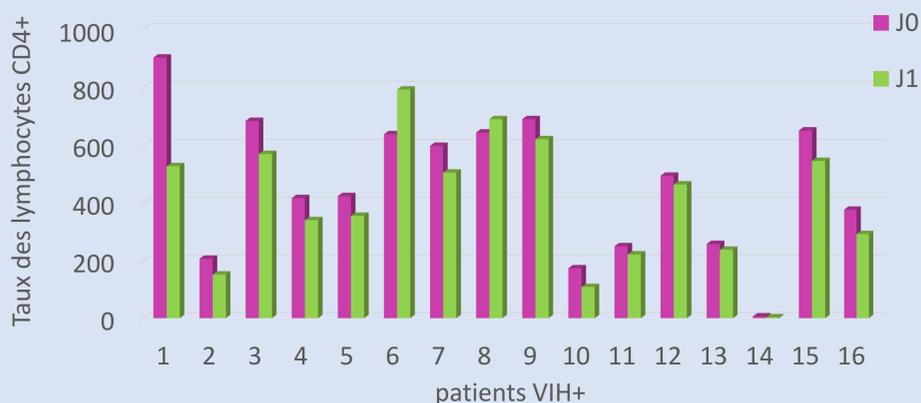
→ L'objectif de notre étude était d'évaluer l'impact du délai d'acquisition au cytomètre sur la numération des LT en comparant les résultats des numérations des LT CD4+, CD8+ en valeurs absolues (VA) et du ratio CD4/CD8 obtenus juste après le marquage (J0) avec ceux après 24h du marquage (J1).

## MATERIEL ET METHODES

- **Etude prospective** incluant tous les prélèvements (sur EDTA) de patients infectés par le VIH et adressés à l'unité de cytométrie en flux du centre régional de transfusion sanguine de Sfax durant le mois d'avril 2022.
- Pour la détermination des valeurs absolues (VA) des sous populations lymphocytaires T, nous avons utilisé la **technique en double plateforme** en utilisant le compteur de globules SFRI H18 pour la numération en VA des lymphocytes et le cytomètre pour l'évaluation des pourcentages des différentes populations lymphocytaires (CD3+, CD4+, CD8+) après un quadruple marquage et avec un seul tube CD45/CD3/CD4/CD8 suivi d'une lyse sans lavage.
- Les VA ont été obtenues par le calcul suivant:
  - Les **LT CD3+** ( $10^3/\mu\text{L}$ ) = LT CD3+ (%) x VA des lymphocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ).
  - Les **LT CD4+** ( $10^3/\mu\text{L}$ ) = LT CD3+/CD4+ (%) x VA des lymphocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ).
  - Les **LT CD8+** ( $10^3/\mu\text{L}$ ) = LT CD3+/CD8+ (%) x VA des lymphocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ).
- Nous avons également calculé le **ratio CD4+/CD8+** en faisant le rapport :
  - VA des LT CD4+ / VA des LT CD8+.
- L'analyse statistique des résultats a été faite par le logiciel SPSS version 20.0.

## RESULTATS

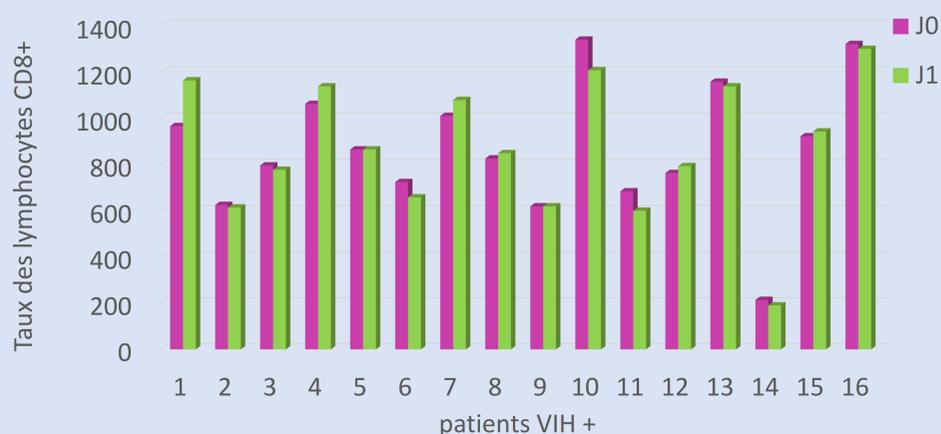
- Seize patients infectés par le VIH ont été inclus.
- **Comparaison des taux des CD4+ entre J0 et J1 :**
  - Le taux moyen des CD4+ variait de 464  $\mu\text{L}$  à J0 à 402  $\mu\text{L}$  à J1 avec une baisse significative du taux des CD4+ chez 87% des patients ( $p < 0,001$ ).
  - La baisse des taux des CD4+ variait de 6 à 50%.
  - Les taux des LT CD4+ à J0 et à J1 sont représentés dans la **figure 1**.



**Figure 1 : Taux des lymphocytes CD4+ chez les patients VIH+ à J0 et J1**

### • Comparaison des taux des CD8+ entre J0 et J1 :

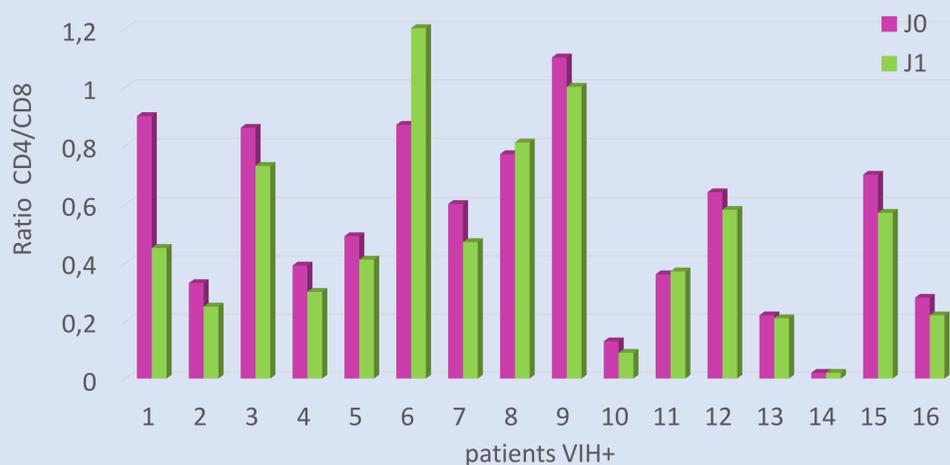
- Le taux moyen des LT CD8+ était de 870  $\mu\text{L}$  à J0 vs 873  $\mu\text{L}$  à J1 avec des VA des CD8+ plus basses à J1 chez 50% des patients ( $p = 0,5$ ).
- La diminution des numérations CD8+ variait de 2 à 12%.
- Les taux des LT CD8+ à J0 et à J1 sont représentés dans la **figure 2**.



**Figure 2 : Taux des lymphocytes CD8+ chez les patients VIH+ à J0 et J1**

### • Comparaison des ratios CD4/CD8 entre J0 et J1 :

- Le ratio CD4/CD8 moyen était de 0,54 à J0 et 0,48 à J1 avec une baisse significative du ratio chez 75% des patients ( $p < 0,001$ ).
- La baisse des ratios CD4+/CD8+ allait de 3 à 50%.
- Les ratios moyens CD4/CD8 à J0 et à J1 sont représentés dans la **figure 3**.



**Figure 3 : Ratio CD4/CD8 chez les patients VIH+ à J0 et J1**

## DISCUSSION ET CONCLUSION

- Selon nos résultats, le marquage et l'acquisition au cytomètre sont faites au mieux le jour du prélèvement ce qui est concordant avec la littérature (1).
- La diminution des taux des populations lymphocytaires T pourrait être expliquée par la technique utilisée de lyse sans lavage où les lymphocytes T vont être en contact avec la solution de lyse pendant 24 heures sans ajout de solution de conservation. La solution de lyse de chlorure d'ammonium affecte aussi bien les globules rouges et les globules blancs provoquant ainsi une diminution du signal de fluorescence détecté (2).
- L'acquisition au cytomètre d'un échantillon marqué doit être réalisée au mieux le même jour sinon il peut être gardé à la température ambiante puis marqué et analysé au maximum dans les 72 heures après le prélèvement (3).

## REFERENCES

1. F. Trimoreau et al. Étapes préanalytiques pour la cytométrie en flux appliquée aux hémopathies. EMC biologie médicale. 2017
2. Karin Plank et al. The effect of erythrocyte lysing reagents on enumeration of leukocyte subpopulations compared with a no-lyse-no-wash protocol. International journal of laboratory Hematology. 2021
3. L.Ait Cheikh et al. Influence du délai de conservation des prélèvements sanguins et qualité du phénotypage lymphocytaire par cytométrie en flux: effets des deux anticoagulants l'héparine et l'EDTA. Revue française des laboratoires. 1996.