



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V -
Rabat Faculté de Médecine et de
Pharmacie
RABAT



Année 2023

n° MS092023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE MEDICALE EN :
IMMUNOLOGIE

Intitulé

**Immunophénotypage Lymphocytaire et Déficits
Immunitaires Primitifs:
Expérience du Laboratoire d'Immunologie de l'HER**

**SERVICE DE TRANSFUSION SANGUINE, D'IMMUNOLOGIE, ET DE THERAPIE
CELLULAIRE**

Présenté PAR :

Docteur KAOUTAR ELMORABIT

Encadré PAR :

Professeur ATOUF OUAFA

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu qui m'a donné la force, la patience et le courage d'accomplir ce travail.

Tout d'abord, je tiens par ces lignes à exprimer mes sincères reconnaissances et remerciements à mes parents pour leur soutien inébranlable, à mes frères et sœurs pour leur aide, disponibilité et encouragements.

Je remercie tous mes professeurs, pour les efforts constant afin de nous garantir une formation solide et de qualité. Ils ont été une réelle source d'inspiration et d'encouragement.

Je tiens à remercier particulièrement Professeur Atouf pour avoir accepté d'encadrer mon travail. Ses commentaires ont été précieux pour améliorer le contenu, et d'en faire un travail appréciable et enrichissant.

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude pour leur appui tout au long de mon parcours, et de mon profond respect.

Que ce modeste travail témoigne de ma reconnaissance et de mes sentiments les plus profonds envers tous ceux et celles qui ont, de près ou de loin, contribué à sa réalisation.

RESUME

Introduction

Les déficits immunitaires primitifs (DIP) sont des troubles congénitaux dont la prévalence augmente continuellement. L'immunophénotypage des sou-populations lymphocytaires (IPL) par cytométrie en flux (CMF) constitue une étape clé dans la démarche diagnostique des DIP.

L'objectif de notre étude est de décrire les profils des DIP analysés, et d'évaluer les prescriptions de l'immunophénotypage dans le cadre des DIP cellulaires et humoraux.

Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive étalée sur 2 ans, menée au laboratoire de cytométrie du service de transfusion, immunologie, banque de cellules de l'Hôpital d'Enfants de Rabat.

Nous avons étudié les résultats d'IPL des patients pédiatriques pour lesquels l'analyse a été prescrite.

Nous avons analysé les caractéristiques de l'échantillon, puis des profils obtenus de manière comparative entre un premier groupe de patients chez qui l'IPL était normal et un 2ème groupe chez qui l'IPL a montré une diminution d'une ou de plusieurs sous-populations lymphocytaires.

Résultats

Sur 154 prescriptions reçus, 28,6%(44) suggéraient un DIP. 61.7% des prescriptions n'étaient pas renseignées ou manquaient d'informations. La médiane d'âge était de 10 mois dans le groupe 2, avec une prédominance masculine (sexe ratio de 1.29). Le taux de consanguinité était de 25.2%(35).

31.8%(14) avaient un profil T-B-NK- évoquant un déficit immunitaire combiné sévère, 18.2%(8) étaient T-B-NK+ en faveur des déficits combinés, et 18.2%(8) étaient T+B-NK+ évoquant une agammaglobulinémie ou un commun variable. La variabilité des signes clinique et le nombre restreint des patients ne permet d'en retenir aucun comme significatif. Certains signes, corrélés aux profils d'IPL obtenus, aident à préciser le type DIP.

Conclusion

L'IPL par CMF permet de poser le diagnostic de DIP de l'immunité adaptative, par la corrélation de ses résultats au contexte clinico-biologique des patients. C'est un test coûteux, dont l'indication doit être faite suivant une démarche orientée et réfléchie. Une sensibilisation des médecins prescripteurs s'impose.

Mots clé : Déficiences immunitaires primitives, cytométrie en flux, immunophénotype des sous-populations lymphocytaires.

ABSTRACT

Introduction

Primary immunodeficiencies (PID) are congenital disorders whose incidence is on the rise. Flow cytometry (FCM) is a crucial step in the diagnostic process for PID. The aim of our study was to describe the profiles of the PID patients analysed and to evaluate the contribution of FCM in the diagnosis of cellular and humoral PIDs.

Methods and Materials

This study was retrospective and descriptive in nature, conducted over 2 years at the cytometry laboratory of the Transfusion, Immunology, and Cell Bank Department of the Children's Hospital in Rabat. The results of lymphocyte subpopulation analysis (IPL) for pediatric patients for whom the test was prescribed were studied. The characteristics of the sample were analysed, and the profiles obtained were then compared between a group of patients with normal IPL and another group with decreased lymphocyte subpopulations.

Results

Out of 154 prescriptions received, 44 (28.6%) suggested a PID. 61.7% of prescriptions were incomplete or lacked information. The median age in the second group was 10 months, with a male predominance (sex ratio of 1.29). The rate of consanguinity was 25.2% (35). 31.8%(14) had a T-B-NK- profile, indicating severe combined immunodeficiency, 18.2% (8) were T-B-NK+ suggesting combined deficiencies and 18.2% (8) were B- indicating agammaglobulinemia or common variable. The variability of clinical signs and the small number of patients did not permit us to identify any as significant. Certain signs, correlated with the IPL profiles obtained, helped in specifying the type of PID.

Conclusion

In conclusion, IPL by FCM can aid in the diagnosis of PIDs of adaptive immunity by correlating its results with the clinical and biological context of the patients. However, it's a costly test, and its use should be based on a thoughtful and targeted approach. Prescribing doctors must be sensitized about its use.

Keywords: Primary immune deficiencies, flow cytometry, immunophenotyping for lymphocyte subsets.

ملخص

مقدمة

نقص المناعة الأولية هي اضطرابات خلقية يتزايد انتشارها باستمرار. يعد تنميط المجموعات الفرعية للخلايا اللمفاوية عن طريق قياس التدفق الخلوي خطوة أساسية في النهج التشخيصي لنقص المناعة الأولية. الهدف من دراستنا هو وصف ملامح نقص المناعة الأولية التي تم تحليلها، وتقييم مساهمة التدفق الخلوي في تشخيص نقص المناعة الأولية الخلوية والخلطية.

المواد والأساليب

هذه دراسة وصفية بأثر رجعي امتدت على مدى سنتين وأجريت في معمل قياس الخلايا التابع لخدمة نقل الدم وعلم المناعة والبنك الخلوي بمستشفى الأطفال بالرباط. درسنا نتائج تنميط المجموعات الفرعية للخلايا اللمفاوية لمرضى الأطفال الذين تم وصف التحليل لهم. قمنا بتحليل خصائص العينة، ثم الملامح التي تم الحصول عليها بطريقة مقارنة بين المجموعة الأولى من المرضى الذين كانت لديهم نتيجة التحليل عادية والمجموعة الثانية التي أظهر فيها تنميط المجموعات الفرعية للخلايا اللمفاوية انخفاضًا واحدًا أو أكثر من مجموعة الخلايا الفرعية.

النتائج

من بين 154 وصفة طبية تم تلقيها، 28.6% (44) اقترحوا وجود نقص المناعة الأولية. 61.7% من الوصفات الطبية لم تُعبأ أو تفتقر إلى المعلومات. كان متوسط العمر 10 أشهر في المجموعة 2، مع غلبة الذكور (نسبة الجنس 1.29). كانت نسبة زواج الأقارب 25.2% (35). 31.8% (14) لديهم ملف T-B-NK- الذي يوحى بوجود نقص المناعة المشترك الوخيم، و18.2% (8) كانوا T-B-NK+ لصالح النقص المشترك، و18.2% (8) كانوا B- مما يستحضر وجود غاماغلوبولين أو متغير مشترك. لا يسمح بتباين العلامات السريرية وقلة عدد المرضى باعتبار أي منها مهمًا. تساعد بعض العلامات المرتبطة بملفات تنميط المجموعات الفرعية للخلايا اللمفاوية التي تم الحصول عليها في تحديد نوع نقص المناعة الأولية.

استنتاج

يجعل تنميط المجموعات الفرعية للخلايا اللمفاوية بواسطة التدفق الخلوي من الممكن إجراء تشخيص نقص المناعة الأولية للمناعة التكيفية، من خلال ربط نتائجها مع السياق السريري البيولوجي للمرضى. إنه اختبار مكلف، يجب أن يتم الإشارة إليه باتباع نهج موجه ومدروس. مع العلم أن الوعي العالي للأطباء الواسفين أمر ضروري. اس ال تدفق الخلوي، تنميط المجموعات الفرعية للخلايا اللمفاوية، وهي أول خطوة أساسية في النهج التشخيصي لنقص المناعة الأولية.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	10
REVUE DE LA LITTERATURE	12
PARTIE 1 : DEFICITS IMMUNITAIRES PRIMITIFS.....	12
1. GENERALITES.....	12
2. CLASSIFICATION	15
3. DIAGNOSTIC.....	16
PARTIE 2 : PLACE DE LA CYTOMETRIE EN FLUX DANS LE DIAGNOSTIC DES DIP	23
1. APPORT DE LA CMF DANS LES DIP	23
2. DEFINITION DES POPULATIONS CELLULAIRES	24
3. VALEURS NORMALES DE REFERENCE	24
4. ROLE DE LA CMF DANS LE DIAGNOSTIC DES DIP COMBINES : Ex. SCID	26
5. ROLE DE LA CMF DANS LE DIAGNOSTIC DES DIP EN ANTICORPS	28
MATERIEL ET METHODES	41
RESULTATS	35
1. Age.....	35
2. Sexe.....	35
3. Renseignements fournis.....	36
4. Consanguinité.....	37
5. Intervalle entre l'âge du début des Symptômes et la Prescription.....	37
6. Antécédents Familiaux.....	37
7. Répartition des signes cliniques rapportés.....	38
8. Profils d'IPL retrouvés dans le groupe 2	40
DISCUSSION	43
CONCLUSION	48
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	49
ANNEXE	55

LISTE DES ABBREVIATIONS

DIP	Déficits Immunitaires Primitifs
IUIS	Union Internationale des Sociétés d'Immunologie
CMF	Cytométrie En Flux
NK	Natural Killers
LOF	Loss Of Function
GOF	Gain Of Function
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
AR	Autosomique Récessive
AD	Autosomique Dominant
SCID	Severe Combined Immune Deficiency
WAS	Wiskott-Aldrich Syndrome
XLA	X-Linked Agammaglobulinemia
FHL	Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis
LAD1	Leukocyte Adhesion Deficiency Type 1
CGD	Chronic Granulomatous Disease
MSMD	Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease
ALPS	Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome
JMF	Foundation Jeffrey Modell
SCID	Severe Combined Immunodeficiency
DIS	Déficits Immunitaires Secondaires
CSH	Cellules Souches Hématopoïétiques
IVIG	Immunoglobulines Intraveineuses
CD3	Cluster of Differentiation
CID	Combined Immune Deficiencies
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
RTE	Recent Thymic Emigrants
BTK	Tyrosine Kinase de Bruton
CVID	Common Variable Immune Deficiencies
AC	AntiCorps
IPL	Immunophénotypage des sous-Populations Lymphocytaire
GB	Globules Blancs
ADA	Adenosine Deaminase
RAG	Recombinase Activating Gene

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Fréquence mondiale de DIP estimée par Bousfiha et al.....	14
Tableau 2 : Classification des PID selon la dernière mise à jour du comité d'experts de l'IUIS pour l'immunodéficience primaire (adapté d'après.....)	15
Tableau 3 : Symptômes caractéristiques suggérant la présence de DIP d'après Jeffrey Modell Foundation.....	17
Tableau 4: Signes cliniques des DIP en fonction des composants atteints du système immunitaire.....	17
Tableau 5 : Principaux pathogènes observés associés aux différents déficits	19
Tableau 6 : Tableau regroupant les explorations étendues à réaliser devant la suspicion d'un DIP	19
Tableau 7 : Apport diagnostique de la CMF par rapport aux tests génétiques dans le diagnostic des DIP classés selon l'IUIS.....	23
Tableau 8 : Taux des sous-populations lymphocytaires du sang périphérique chez des enfants sains répartis par âge, exprimé en valeurs absolues (x10 ³).....	25
Tableau 9 : Immunophénotypage lymphocytaire dans les SCID avec les anomalies génétiques associées	26
Tableau 10 : Tests de CMF applicables au DIP cellulaires et humoraux.....	30
Tableau 11 : Fréquence des signes clinique rapportés dans l'échantillon et analyse comparative de leur fréquence dans les groupes 1 et 2.....	38
Tableau 12 : Profils d'IPL retrouvés et synthèse des signes rapportés qui leur sont associés.....	42

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Nombre d'anomalies génétiques à l'origine d'Erreurs innées de l'immunité, par année de découverte (depuis 1980 à 2021) rapportés par le comité IUIS/OMS (20).....	13
Figure 2 : Schéma illustrant la démarche diagnostique initiale orientée devant la suspicion d'un DIP cellulaires et humoral (51)	22
Figure 3 : Immunophénotypage par CMF dans les SCID (A) SCID T-B+NK+. Comparaison entre sujets sains pédiatriques (HC Heath Control) et patient ayant un SCID Hypomorphique (B) des LT naïfs et mémoires (B) de LT RTE (Recent Thymic Emigrants).....	27
Figure 4 : (A) Immunophénotypage avec absence des LB (Agammaglobulinémie) (B) Représentation des LB commutés, non commutés et naïfs (basée sur l'expression du CD27+ et de l'IgD), LB CD21low, puis les LB en prolifération (IgM++CD38+) et les plasmoblastes (CD38++IgM-) (65)	29
Figure 5 : Représentation en DOT-Plot d'un résultat d'IPL réalisé dans notre laboratoire et des protocoles utilisés : (A) Protocole tube 1 CD3/CD4/CD8. (B) : Protocole tube 2 CD3/CD19/CD16/56	33
Figure 6 : Répartition de l'échantillon selon les résultats de l'IPL : normal pour le groupe 1 et anormal pour le groupe 2.....	35
Figure 7 : Taux de prescriptions avec des renseignements non ou incomplètement fournis dans tout l'échantillon	36
Figure 8 : Catégories des signes cliniques rapportés et leurs fréquences dans l'ensemble de l'échantillon	38
Figure 9 : Profil des IPL retrouvé et leur fréquence dans le groupe 2.....	40

1. INTRODUCTION

Les déficits immunitaires primitifs (DIP) réfèrent à un groupe rare et hétérogène de troubles génétiques altérant les composants du système immunitaire, ce qui prédispose les individus affectés à des infections récurrentes et/ou de gravité accrue, et à une prépondérance d'auto-immunité, d'allergie, d'auto-inflammation et de malignités. Les DIP affectent les enfants comme les adultes à travers le monde (1-6).

Les efforts de recherche menés sur les gènes pathogènes en cause ont été très actifs et ont permis de révéler une énorme diversité phénotypique dans les DIP (5).

D'après la dernière mise à jour du comité d'experts de l'Union internationale des sociétés d'immunologie (IUIS : International Union of Immunological Experts Committee), 485 gènes ont été identifiés, et sont à l'origine de 404 phénotypes de DIP, répartis selon le type de l'anomalie immunologique causale (7).

Ceci a mené à un changement du paradigme connu de « déficits immunitaires primitifs » en tant que défaut de réponse du système immunitaire aux infections, vers un concept relativement nouveau, plus large et plus inclusif d'«erreurs innées de l'immunité », englobant les immunodéficiences primaires, mais aussi les troubles de dérégulation immunitaire (8).

Dans le monde, environ 6 millions de personnes sont affectées de DIP, dont 70 à 90% restent non diagnostiqués (9,10).

En effet, les DIP ont été pendant longtemps perçus comme des pathologies de l'enfant. Ceci a forcément contribué aux diagnostics « manqués » de DIP. Il est actuellement supposé que 25 à 40% des DIP sont diagnostiqués chez l'adulte (11).

D'autre part, la complexité des tableaux cliniques fait que certaines formes restent sous-diagnostiquées durant plusieurs années.

De nos jours, la situation a considérablement évolué, grâce à l'avènement de moyens diagnostics performants basés sur des tests immunologiques et génétiques (11-14) permettant de poser le diagnostic de DIP précis, tant chez l'enfant que chez l'adulte.

Assurément, les procédures de diagnostic actuelles DIP impliquent une gamme de tests spécialisés, notamment la cytométrie en flux (CMF). La grande variété de ses applications a fortement étayé le diagnostic d'un grand nombre de ces troubles (15).

En effet, au cours des 3 dernières décennies, la CMF a émergé comme technologie inestimable par sa capacité inégalée d'identifier simultanément les propriétés physiques et fonctionnelles des cellules immunitaires, ainsi que de nombreux produits géniques, en analysant des milliers de cellules par seconde (16).

Ceci a permis d'identifier les anomalies caractérisant différents phénotypes de DIP, et d'étayer la démarche diagnostique pour arriver à étiqueter le déficit en question. La CMF a donc révolutionné le domaine des DIP, et constitue une étape clé indispensable au diagnostic de la plupart des DIP.

La maîtrise de ce groupe de pathologie et les moyens diagnostiques apparaît alors cruciale, puisque le diagnostic précoce et la prise en charge adéquate conditionnent le pronostic vital des patients affectés.

Depuis l'année 2020, le laboratoire de transfusion, d'immunologie, et banque de cellules et de tissus a mis en place la technique d'immunophénotypage des sous populations lymphocytaires T, B et Natural Killers (NK), pour le diagnostic des DIP de l'immunité adaptative (SCID), chez les enfants suivis à l'hôpital d'enfants de Rabat.

Le but de ce travail est de rapporter l'expérience de notre laboratoire, et d'évaluer l'apport de la CMF dans le diagnostic des DIP cellulaires, principalement les SCID, et humoraux. Ceci afin d'affiner les indications de prescription, de décrire les profils des DIP analysés, et de mettre en place des instructions de prescription pour faciliter l'interprétation et aboutir à une stratégie diagnostique optimale pour ces patients dans notre contexte.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Partie 1 : DEFICITS IMMUNITAIRES PRIMITIFS

1. GENERALITES

Les DIP affectent les différents composants de l'immunité innée et adaptative, incluant les neutrophiles, macrophages, cellules dendritiques, protéines du complément, NK, lymphocytes B et T, ainsi que les voies de signalisation (16-18).

Ces états sont causés par des mutations germinales monogéniques qui entraînent une perte d'expression, une perte de fonction (Loss Of Function LOF ; amorphe/hypomorphe) ou un gain de fonction (Gain Of Function GOF ; hypermorphe) de la protéine codée (19-21).

Il en résulte une réponse immunitaire aberrante en raison des rôles critiques de ces protéines dans le développement, le maintien et le fonctionnement des cellules du système immunitaire, ce qui affecte l'homéostasie et les défenses adéquates à des stimuli externes (agents infectieux ou antigènes environnementaux) et internes (cytokines, auto-antigènes et cellules cancéreuses) (20, 22,23).

La majorité des DIP sont secondaires à des mutations dans un gène unique certes, seulement la pénétrance variable de ces mutations entraîne des phénotypes rapportés qui sont de gravité variable. Ceci rend leur reconnaissance et leur diagnostic différentiel difficiles (24 - 26).

a. Epidémiologie

Après amélioration de la définition des phénotypes cliniques des DIP (27, 28), la prévalence collective de ces affections est en augmentation continue (Figure1). En effet, les erreurs innées de l'immunité représentent un modèle sans précédent liant des défauts monogéniques définis à des phénotypes cliniques de dérégulation immunitaire (20). Ceci constitue un apport important aux tableaux cliniques complexes de ces affections.

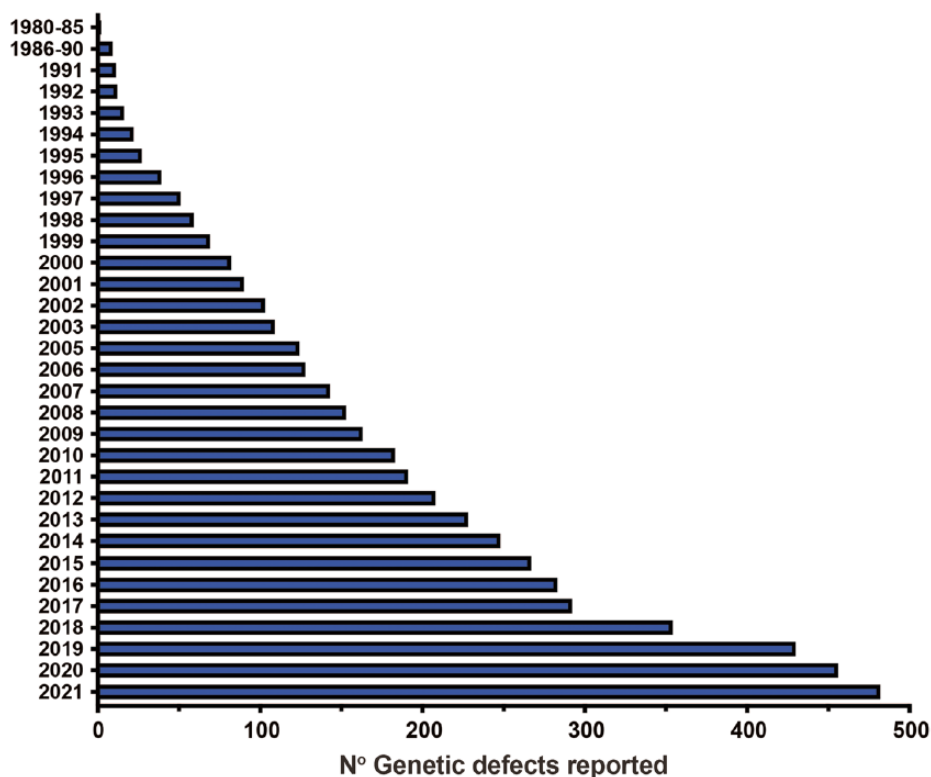


Figure 1 : Nombre d'anomalies génétiques à l'origine d'Erreurs innées de l'immunité, par année de découverte (depuis 1980 à 2021) rapportés par le comité IUIS/OMS (20).

Des études récentes, ont montré que ces affections pourraient en effet être plus fréquentes que ce que l'on avait estimé auparavant (26-28), et que leur prévalence rejoindrait celle de certaines maladies telles que la leucémie (27).

Dans les pays européens, la prévalence estimée des DIP varie de 2,7/100 000 en Allemagne, à 4,16-5,9/100 000 en Suisse et au Royaume-Uni, et à 8/100 000 en France (29, 30).

En Afrique, peu d'études ont été menées pour décrire spécifiquement la prévalence et les caractéristiques épidémiologiques des DIP (Tableau 1) (26).

Selon la dernière enquête mondiale de la JMF (Jeffrey Modell Foundation), 1 836 patients atteints de DIP provenaient d'Afrique sur un total mondial de 94 024 patients (31).

Bousfiha et al (27) ont estimé la prévalence des DIP à 902 631 cas en Afrique.

D'après le registre marocain publié en 2014 et regroupant les données de 15 ans (de 1998 à 2012) (32), mis à jour en 2015, l'estimation est de 525 patients (33). Les chiffres les plus actualisés disponibles publiés, rapportent 750 patients (34).

Region	Estimate of the number of PID patients based on a prevalence of 5.6/100 000 inhabitants from the Australian Registry[7]	Estimate of the number of PID patients based on a prevalence of 86.3/100 000 inhabitants from the Boyle and Buckley's survey[8]	Estimate of the annual incidence of PID based on an incidence of 10.3/100 000 person years from Joshi et al.[9]	Registry
Europe	41,401	638,015	76,148	18 392*
Africa	58,572	902,631	107,730	1 306†
North America	19,464	299,947	35,799	2 804‡
South America	22,214	342,336	40,858	3,321
Asia	235,617	3,631,027	433,367	3 841§
Oceania	2,082	32,082	3,829	1 209¶
Worldwide	390,546	6,018,593	718,326	60 364

PID = primary immunodeficiency.
*Europe.
†North Africa.
‡USA.
§Japan and Iran. ¶Australia and New Zealand. || 2011 JMF registries.

Tableau 1 : Fréquence mondiale de DIP estimée par Bousfiha et al. (26)

b. Modes de transmission

Les DIP peuvent être hérités selon différents modes de transmission. La transmission autosomique récessive (AR) est la forme la plus courante chez les patients issus de mariages consanguins (36, 37). Toutefois, certains DIP sont hérités selon un mode autosomique dominant (AD) (35).

Le taux élevé de DIP autosomiques récessifs dans les pays maghrébins par rapport au registre européen est aligné avec la fréquence élevée de la consanguinité parentale dans la région (26, 38). Ceci expliquerait la prévalence accrue de certains DIP dans ces régions.

En effet, la mise en place de registres nationaux des DIP (29, 32, 39, 40), ainsi que les registres regroupant les données pour certaines régions géographiques (1), se sont révélés être un outil important pour évaluer les caractéristiques cliniques et épidémiologiques des DIP, ainsi qu'un instrument pouvant faire avancer la recherche et les collaborations dans ce domaine. Ceci faciliterait le diagnostic des DIP ainsi que leur prise en charge.

c. Symptômes Evocateurs

Un large éventail de présentations cliniques caractérise les DIP et rend leur diagnostic assez complexe. Les symptômes varient selon le phénotype du déficit en cause (6). Toutefois, il existe des signes communs

qui peuvent alerter sur une éventuelle immunodéficience primaire, et déclencher les explorations adéquates (41).

Quoi qu'il en soit, les symptômes peuvent être répartis en trois catégories principales : infections - tumeurs malignes - maladies auto-immunes. Ces patients nécessitent donc particulièrement une approche multidisciplinaire pour le diagnostic et la prise en charge (11, 42).

Nous détaillerons dans la suite les signes cliniques communs évoquant un DIP, puis ceux orientant vers des déficits cellulaires ou humoraux les plus fréquents, pour initier les explorations de manière ciblée.

2. CLASSIFICATION

Les DIP sont généralement classés en fonction de la composante du système immunitaire qui est principalement perturbée : immunité innée ou adaptative.

Depuis 1970, la description et la classification des DIP est assurée par le comité d'experts de l'Union internationale des sociétés d'immunologie (IUIS). Grâce à leurs publications biannuelles, avec identification de plus de 20 gènes / an (20), leurs travaux servent de référence pour ces affections, et fournissent un cadre visant à faciliter l'approche de prise en charge diagnostique et thérapeutique, ainsi que le suivi constant des progrès achevés.

Suite à la dernière rencontre du comité d'experts de l'Union internationale des sociétés d'immunologie (IUIS) en mars 2019, une mise à jour de la classification est proposée et rapportée dans le tableau 2 qui présente une classification simplifiée mettant en évidence les grandes catégories de DIP (20).

Groupes majeurs de DIP	Exemple de DIP appartenant au groupe
1. Immunodeficiencies affecting cellular and humoral immunity	Severe combined immune deficiency (SCID), CID
2. Combined immunodeficiencies with associated or syndromic features	Wiskott-Aldrich syndrome (WAS), DiGeorge syndrome
3. Predominantly antibody deficiencies	BTK deficiency, X-linked agammaglobulinemia (XLA)
4. Diseases of immune dysregulation	Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL syndromes), Chediak-Higashi Syndrome, IPEX, immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy X-linked
5. Congenital defects of phagocyte number or function	Leukocyte adhesion deficiency type 1 (LAD1), X-linked chronic granulomatous disease (CGD),

6. Defects in intrinsic and innate immunity	Mendelian susceptibility to mycobacterial disease (MSMD)
7. Autoinflammatory disorders	Type 1 interferonopathies
8. Complement deficiencies	C1q deficiency due to defects
9. Bone marrow failure	Fanconi anemia type A
10. Phenocopies of inborn errors of immunity	Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS–SFAS), Thymoma with hypogammaglobulinemia (Good syndrome)

Tableau 2 : Classification des PID selon la dernière mise à jour du comité d'experts de l'IUIS pour l'immunodéficience primaire (adapté d'après (20)).

3. DIAGNOSTIC

a. Tableaux Cliniques

- Signes cliniques évoquant un DIP

Les DIP sont responsables d'une vulnérabilité accrue aux germes (bactéries, virus, parasites, champignons et protozoaires), à l'origine d'infections qui peuvent devenir chroniques et générer des récurrences de longue durée, ou être fatales si elles ne sont pas prises en charge en temps opportun et de manière adéquate. Les DIP peuvent également prédisposer aux néoplasies et aux maladies auto-immunes et inflammatoires (4).

La maîtrise des signes cliniques faisant suspecter un DIP est primordiale car l'établissement précoce du diagnostic conditionne le pronostic.

Devant la variété et la complexité des tableaux cliniques évoquant un DIP, un groupe d'experts des DIP ont établi, en collaboration avec la Fondation Jeffrey Modell (JMF), une liste de signes caractéristiques devant faire évoquer un DIP. Ces signes sont en nombre de 10 chez l'enfant et de 6 chez l'adulte (Tableau 3) (47).

En plus de l'aide apporté par la nouvelle classification phénotypique, la connaissance de ces signes (figures 3), aide les médecins à identifier les patients chez qui un DIP est suspecté, susceptibles de faire l'objet d'une évaluation immunologique appropriée.

Pediatric symptoms	Adult symptoms
Four or more episodes of otitis a year	Four or more infections requiring an antibiotic treatment (otitis, bronchitis, sinusitis, or pneumonia) a year
Two or more episodes of severe sinusitis a year	Recurrent infections or infections requiring a long-term antibiotic treatment
Antibiotic therapy lasting for 2 months or longer, with no clear improvement	Two or more severe infections (osteitis, encephalitis, sepsis, cerebrospinal meningitis, dermatitis)
Two or more episodes of pneumonia a year	Two or more episodes of X-ray confirmed pneumonia within 3 years
Delay of normal development of a child or absence of body weight gain	Infections in atypical localizations or caused by atypical pathogens
Recurrent deep skin or systemic abscesses	Familial primary immunodeficiencies
Chronic mycosis of the oral cavity and skin in a child over 1 year of age	
Long-term use of intravenous antibiotics for infection	
Two or more severe infections or sepsis	
Family history indicating primary immunodeficiency	

Tableau 3 : Symptômes caractéristiques suggérant la présence de PID chez l'enfant et l'adulte adapté d'après Jeffrey Modell Foundation (11)

Cette liste, quoique largement utilisée, rapporte essentiellement les signes associés au syndrome infectieux, puisqu'il constitue la manifestation la plus retrouvée dans la plupart des DIP.

Des signes cliniques plus spécifiques peuvent d'emblée orienter vers un DIP particulier (Figure 4).

Neutrophil Count/Function	T and B cells count/function	Complement subunits
Chronic periodontitis	Severe, generalized infections, resistant to antibiotics	Recurrent suppurative infections
Recurrent stomatitis	Infections with opportunistic microorganisms	Another episode of bacteremia
Recurrent skin abscess	Chronic diarrhea (resistant to treatment) caused by rotaviruses, <i>Campylobacter</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Cryptosporidium</i> , and others	Another episode of meningococcal cerebrospinal meningitis
Systemic abscesses	Chronic exfoliative erythroderma, skin ulceration	Arthritis
Staphylococcal pneumonia	Extensive skin ulceration secondary to varicella virus infection	Recurrent pneumonia and bronchitis, suppurative otitis secondary to infection with encapsulated bacteria
Osteitis	Generalized infection associated with <i>Bacillus Calmette-Guérin</i> (BCG) vaccine against tuberculosis; BCGitis	
Abnormal wound healing	Delayed physical development of a child	
Presence of granulomas in the respiratory, alimentary, and urinary tracts	Presence of bone lesions	
	Presence of abscesses in the central nervous system (CNS)	

Tableau 4 : Signes cliniques des DIP en fonction des composants atteints du système immunitaires (11)

- **Signes cliniques orientant vers un DIP T (Catégorie 1 et 2 de la classification IUIS)**

La gravité du tableau clinique dépend de la sévérité de l'anomalie des lymphocytes T. Les patients peuvent se présenter avec des infections récurrentes à *Pneumocystis jiroveci*, ou aggravés par des agents pathogènes courants y compris certains virus (cytomégalovirus, adénovirus, rougeole, molluscum et vaccin souches), champignons (espèces *Candida* et *Aspergillus*), bactéries pyogéniques, mycobactéries et parasites (protozoaires et helminthes) (Tableau 5).

Un déficit cellulaire peut également affecter la fonction production d'anticorps (48, 49), conduisant à des infections sino-pulmonaires.

De plus, les complications auto-immunes, en particulier l'entéropathie dans les maladies inflammatoires de l'intestin, les cytopénies auto-immunes et les éruptions eczémateuses sont fréquentes et caractéristiques du CID (50).

Les patients atteints de SCID (Severe Combined Immunodeficiency) typique présentent souvent une diarrhée, un retard de croissance et des infections opportunistes au cours de la première année de vie. En l'absence de traitement curatif (greffe de CSH ou thérapie génique), le pronostic vital est mis en jeu. Un diagnostic précoce améliore donc considérablement la survie puisqu'il permet de traiter ces patients et d'éviter les complications fatales (50).

- **Signes cliniques orientant vers un DIP B (Catégorie 3 de la classification IUIS)**

Les patients atteints de DIP humoraux par anomalies lymphocytaires B présentent habituellement des infections bactériennes souvent dues à des bactéries encapsulées (tableau 5). Ces infections sont de gravités variables, allant d'infections otosinopulmonaires récurrentes à des infections invasives nécessitant une hospitalisation (49).

Les symptômes apparaissent généralement à partir de 6 mois de vie, parallèlement à la disparition progressive des anticorps IgG maternelles. Toutefois, ce groupe de déficit peut se manifester à la petite enfance ou à l'âge adulte. Ces patients peuvent faire des complications non infectieuses, notamment lymphoprolifératives (lymphadénopathie, hépatosplénomégalie et maladie pulmonaire interstitielle auto-immune et malignes (50, 51).

Type de déficit	Pathogènes observés	Principaux tableaux cliniques
Déficits immunitaires combinés	Tous virus et spécialement CMV, VRS, EBV Bactéries : Streptococcus pneumoniae, Haemophilus, Pseudomonas, Staphylococcus aureus, Neisseria, Mycoplasma mais aussi Salmonella, Listeria, bactéries de la flore entérique Mycobactéries typiques et atypiques incluant le BCG Champignons : Candida, Aspergillus, cryptocoque Parasites : Pneumocystis jiroveci, Toxoplasma, Cryptosporidies	Pneumocystose Infections virales Mycobactérioses disséminées Infections bactériennes
Déficits immunitaires humoraux	Entérovirus Bactéries et spécialement Streptococcus, Haemophilus, Staphylococcus, Pseudomonas, Neisseria, Mycoplasma Parasite : Giardia	Infections ORL et pulmonaires Diarrhées Méningites

Tableau 5 : Principaux pathogènes observés associés aux différents déficits (53)

b. Explorations de Base

L'établissement du diagnostic de DIP nécessite une démarche réfléchiée pour optimiser les explorations, poser le diagnostic précis et éviter les retards de prise en charge thérapeutique.

Le tableau clinique évocateur et les germes infectieux incriminés permettent en général, dans un premier temps, une excellente orientation vers une catégorie de déficit. Toutefois, des examens de première intention restent nécessaires pour appuyer les arguments cliniques et justifier le choix des tests spécifiques à réaliser (Tableau 6).

Il est à noter qu'avant de procéder à l'investigation d'un DIP, il est primordial d'éliminer le diagnostic des DIS, qui sont en rapport avec d'autres causes, principalement les infections virales (Virus de l'immunodéficience humaine VIH notamment) ou bactériennes, fuite d'immunoglobulines (Ig), malignité, ou traitements immunosuppresseurs (52).

Nous citons les examens de base à réaliser et leur apport en cas de déficit en LT et/ou LB.

Basic Analytic and Bacteriology Tests	Basic Immunological Tests for Assessing:
Blood cell count with smear	Immunoglobulins: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD
Electrophoresis of proteins	IgG subclasses: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4
C-reactive protein, procalcitonin	Specific anti-pneumococcal antibodies
Complete ionogram	Hemolytic activity of the complement
AST, ALT, GGTP,	Complement subunits: C1q-esterase, C3c and C4, C5–C9, MBL level
Cancer markers: AFP, CAE	MPO lymphocyte subpopulations:
	T – CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁺ ,

	T native/memory CD45RA/RO,
	B – CD19, CD20, CD22,
	B mature-native – CD19 ⁺ /CD27 ⁻ /IgD ⁺ /IgM ⁺ ,
	B marginal zone B cells – CD19 ⁺ /CD27 ⁺
	B class-switched memory cells – CD19 ⁺ /CD27 ⁺ /IgD ⁻ /IgM ⁻
Anti-HbsAg antibodies	NK cells – CD3 ⁻ /CD16 ⁺ /CD56 ⁺
Anti-tetanus antibodies	
IgA and IgG antibodies against endomysium	Phagocytic properties of neutrophils: Phago-test
Presence of isohemagglutinins	Metabolic activity of neutrophils: Chemiluminescence, burst-test
Microalbumin	Expression of adhesion molecules: CD11a, CD18
CMV IgG and IgM – PCR method	Presence of gp91phox
EBV IgG and IgM – PCR method	Presence of double negative T cells – CD3 ⁺ /CD4 ⁻ /CD8 ⁻ /TCRαβ ⁺
<i>Toxoplasma gondii</i> IgG and IgM	Expression of CD40 and CD40L
Mycoplasma IgG, IgM	Expression of CD25 (the receptor for IL2)
<i>Chlamydia pneumoniae</i> IgG, IgA, IgM	TREC level
Cultures of biological material for bacteria and fungi	Expression of MHC

Tableau 6 : Tableau regroupant les explorations étendues à réaliser devant la suspicion d'un DIP (11)

(AST aspartate aminotransferase, ALT alanine transaminase, GGTP Gamma-glutamyl transferase, MBL mannose-binding lectin, AFP alpha-fetoprotein, CAE carcinoembryonic antigen, MPO myeloperoxidase, HBsAg hepatitis B surface antigen, NK nuclear killer cells, CMV cytomegalovirus, EBV Epstein-Barr virus, MHC major histocompatibility complex).

b.1. Hémogramme (53, 54)

Renseigne essentiellement sur la formule leucocytaire, avec le nombre de PNN et de lymphocytes. Il est important de rapporter les valeurs par rapport à l'âge. Une lymphocytose physiologique est retrouvée chez le jeune enfant : les lymphocytes maternels pouvant occulter une lymphopénie sous-jacente. Une lymphopénie <2000/mm³ chez un nouveau-né impose la réalisation de l'immunophénotype (IP) des sous-populations lymphocytaires, car c'est un signe évoquant fortement le diagnostic de SCID.

Une neutropénie constatée doit être contrôlée et explorée. Il peut s'agir d'une neutropénie cyclique, congénitale sévère ou auto-immunes.

Une anémie ou thrombopénie peuvent être associés à certains déficits (syndrome de Wiskott-Aldrich) ou à des manifestations auto-immunes.

b.2. Dosage pondéral des immunoglobulines (53, 54)

Permet l'évaluation de la production en anticorps. Pendant les six premiers mois de vie, les IgG sont d'origine maternelle. Une hypogammaglobulinémie physiologique est constatée entre 6 et 8 mois. D'où l'importance de l'interprétation des résultats en fonction de l'âge.

Ce dosage présente un intérêt particulier dans le cas d'un déficit en LB ou d'un déficit combiné. Il permet de mettre en évidence une diminution des 3 classes d'Ig (IgG, IgA et IgM) ce qui évoque une hypogammaglobulinémie ou agammaglobulinémie. Dans le syndrome d'Hyper IgM, les taux des IgA et IgG sont effondrés, contrastant avec un taux d'IgM augmenté ou normal. Un déficit isolé en IgA peut également être révélé. Toutefois, un taux normal des 3 isotypes peut être en faveur d'un déficit en sous-classes ou d'un défaut de production d'anticorps antipolysaccharidiques.

b.3. Étude des sérologies vaccinales (53)

Permet l'étude de la réponse humorale vis-à-vis d'anticorps anti-protéique et anti-polysaccharidique, et leurs résultats doivent être corrélés à l'âge et au statut vaccinal de l'enfant.

En effet, un déficit humoral ne peut être éliminé qu'après l'étude des sérologies post-vaccinales, voire les sérologies après infection certaine, et le dosage d'iso-hémagglutinines.

Il est à noter que les sérologies post-vaccinales doivent être effectuées entre 4 et 8 semaines après vaccination.

D'autres tests peuvent être réalisés en fonction du contexte clinique, notamment les tests d'exploration du complément, l'électrophorèse des protéines plasmatiques.

L'étape suivante pour l'établissement du diagnostic consiste en la caractérisation phénotypique du DIP évoqué. Dans le cas de suspicion des déficits en LT et/ou LB, l'indication de compléter l'exploration par l'IP des sous-populations lymphocytaires est sans-équivoque, avant de confirmer le diagnostic par étude génétique.

a. Démarche Diagnostique

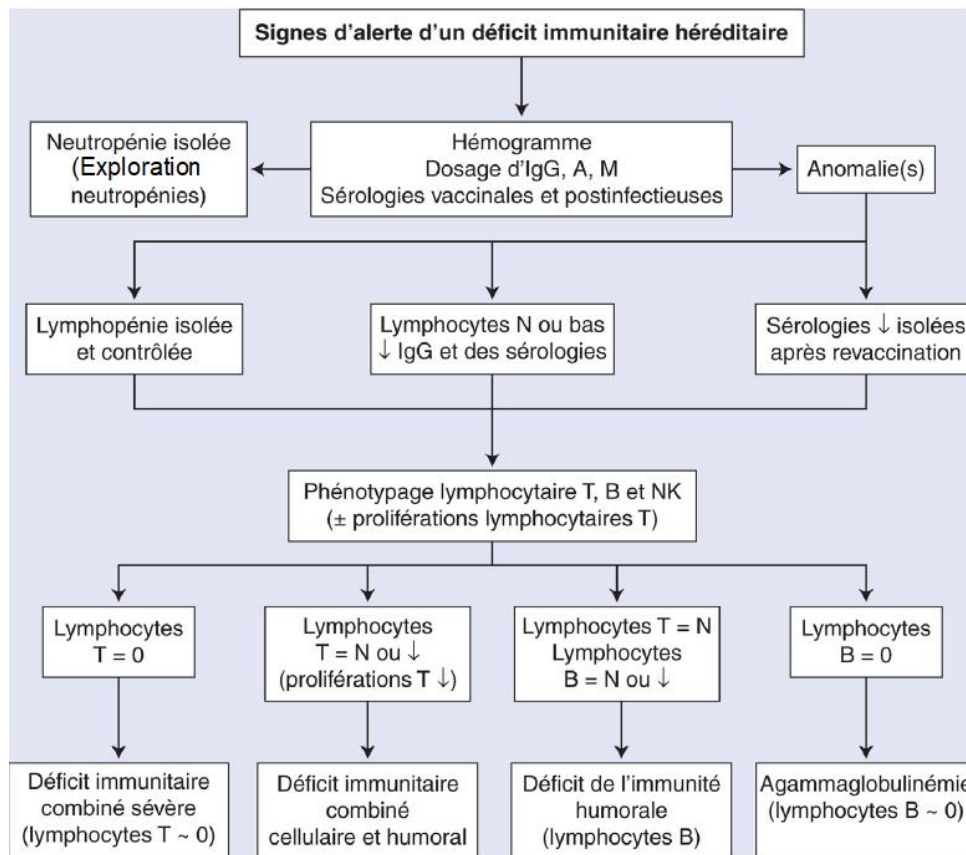


Figure 2 : Schéma illustrant la démarche diagnostique initiale orientée devant la suspicion d'un DIP cellulaires et humoral (51)

b. Principes Thérapeutiques

Avec un taux de mortalité moyen de 20 % en Afrique, il existe des défis considérables concernant la prise en charge et le pronostic des patients atteints de DIP (44).

Le traitement initial pour la plupart des patients implique principalement une gestion agressive de l'infection, une thérapie à base d'immunoglobulines intraveineuses (IVIg), et une prophylaxie antibiotique et antifongique. Le traitement par IVIg augmente le taux de survie et diminue la fréquence et la gravité des infections pouvant potentiellement mettre en jeu le pronostic vital des patients (45).

Les thérapies enzymatiques ou à base de cytokines sont également des modalités de traitement dans certaines indications, toutefois, la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) constitue le remède définitif pour les DIP sévères, principalement les SCID (46).

Partie 2 : PLACE DE LA CYTOMETRIE EN FLUX DANS LE DIAGNOSTIC DES DIP

1. Apport de la CMF dans les DIP Classification

Le choix adéquat d'un test de laboratoire est important pour obtenir un diagnostic correct et rapide. La cytométrie en flux (CMF) est reconnue pouvant être aussi informative qu'un test génétique et être utilisée dans le diagnostic de presque tous les PID connus (Tableau 7) (55, 56).

En effet, le diagnostic d'un bon nombre de ces troubles est fortement étayé par une grande variété d'applications de CMF. Les anomalies détectées par cette technique peuvent être regroupées de manière générale en 3 catégories de troubles caractérisés par : (1) une diminution relative ou absolue dans une ou plusieurs sous-population cellulaire, (2) une perte ou une expression anormale d'un ou plusieurs marqueurs cellulaires spécifiques et (3) une perte ou une fonction aberrante (57).

L'application de la CMF pour analyser les niveaux d'expression et les fonctions des protéines, ainsi que l'étude des fonctions cellulaires offre une approche rapide, quantitative et fiable pour identifier et prouver le contexte génétique sous-jacent des DIP (58).

Elle représente un outil clé en immunologie clinique, et constitue ainsi un moyen diagnostic incontournable dans le diagnostic des DIP (59, 60).

Bien que la CMF soit largement utilisée dans la plupart des pays en développés, l'accès reste restreint dans les pays en voie de développement aux marqueurs classiques, tels que CD3, CD4, CD8 et CD19 (56).

PID	Flow Cytometry	Immunoglobulines	NGS
I. Immunodeficiencies affecting cellular and humoral immunity	(+)	(+)	(+)
II. Combined immunodeficiencies with associated or syndromic features	(+)	(+)	(+)
III. Predominately antibody deficiency	(-)	(+)	(+)
IV. Disease of immune dysregulation	(-)	(+/-)	(+)
V. Congenital defects of phagocyte number, function or both	(+/-)	(-)	(+)
VI. Defects in intrinsic and innate immunity	(-)	(-)	(+)
VII. Auto-inflammatory disorders	(-)	(+/-)	(+)
VIII. Complement deficiencies	(-)	(-)	(+)
IX. Phenocopies of PID	(-)	(+/-)	(+)

Tableau 7 : Apport diagnostique de la CMF par rapport aux tests génétiques dans le diagnostic des DIP classés selon l'IUIS (56)

2. Définition des Populations Cellulaires

Le dénombrement exact des populations cellulaires est crucial pour décider du diagnostic précis des DIP. L'orientation initiale guider le choix des panels qui devraient contenir des combinaisons d'anticorps appropriés pour la mise en évidence des marqueurs cellulaires et l'énumération des cellules recherchées. Les sous-populations lymphocytaires sont différenciées grâce au cluster de différenciations de surface : les LT sont définis par la présence du CD3 (Cluster of differentiation), les NK sont CD3 négatifs et CD56 et/ou CD16 positifs, les LB sont CD3 négatifs et CD19 et CD20 positifs. Les sous-populations LT helpers sont définies comme CD3+ et CD4+, les LT suppresseurs/cytotoxiques sont CD3+ et CD8+.

La somme des pourcentages des LT, LB et NK doit être comprise entre 95 et 105% (61), et la somme des pourcentages des LT CD3+CD4+ et CD3+CD8+ doit être égale au pourcentage total des CD3+ +ou-10%.

Le système immunitaire mûrit avec l'âge, et la distribution des populations cellulaires diffère suivant cette maturation. Les sujets jeunes possèdent plus de cellules immatures que les personnes plus âgées, qui eux, ont plus de cellules matures et mémoires. Les LT naïfs sont définis étant CD3+CD45RA+, et les LT matures sont CD3+CD45RO+. La présence d'un taux anormalement élevé de LT matures chez un nourrisson peut refléter un chimérisme foëto-maternel, ou la présence de LT oligoclonaux. Ces cellules sont CD3+CD4+CD45RO+ or CD3+CD45RO+CD8+ (61).

3. Valeurs Normales de Référence

Le taux des sous-populations des lymphocytes est dynamique pendant l'enfance en raison de la maturation et l'expansion du système immunitaires durant les premières années de vie. La valeur absolue des LB CD19+ se dédouble après la naissance et diminue ensuite de 6 fois à partir de 2 ans pour se stabiliser relativement à l'âge adulte. Les LT augmentent considérablement après la naissance, puis diminuent de 3 fois à partir de 2 ans jusqu'à l'âge adulte en raison de la perte des cellules CD45RA+, avec une diminution progressive du ratio CD4/CD8 avec l'âge (62). Le taux de LT naïfs et activés régresse avec l'âge. Dans l'enfance, l'expression du CD45RA+ et des cellules activées qui sont 138+ est plus importante, alors que l'expression des lymphocytes matures est diminuée. Ces variations sont en rapport avec le changement du pool en CD45RA en raison de leur libération du thymus (63). Chez le nouveau-né, les LT naïfs constituent 80 à 90% de la population lymphocytaire T, tandis que les LT mémoires prédominent à l'âge adulte (65).

Les NK constituent 10% du taux de lymphocytes totaux, avec une diminution de 3 fois pendant les deux premiers mois de vie avant de se stabiliser (64)

Ces cinétiques de changement des taux lymphocytaires imposent la corrélation systématique des valeurs obtenues aux valeurs normales pour l'âge.

Subset	N	0-3 mo	3-6 mo	6-12 mo	1-2 yr	2-6 yr	6-12 yr	12-18 yr
WBC	800	10.60 (7.20-18.00)	9.20 (6.70-14.00)	9.10 (6.40-13.00)	8.80 (6.40-12.00)	7.10 (5.20-11.00)	6.50 (4.40-9.50)	6.00 (4.40-8.10)
Lymphocytes	800	5.40 (3.40-7.60)	6.30 (3.90-9.00)	5.90 (3.40-9.00)	5.50 (3.60-8.90)	3.60 (2.30-5.40)	2.70 (1.90-3.70)	2.20 (1.40-3.30)
3	699	3.68 (2.50-5.50)	3.93 (2.50-5.60)	3.93 (1.90-5.90)	3.55 (2.10-6.20)	2.39 (1.40-3.70)	1.82 (1.20-2.60)	1.48 (1.00-2.20)
19	699	0.73 (0.30-2.00)	1.55 (0.43-3.00)	1.52 (0.61-2.60)	1.31 (0.72-2.60)	0.75 (0.39-1.40)	0.48 (0.27-0.86)	0.30 (0.11-0.57)
16/56	770	0.42 (0.17-1.10)	0.42 (0.17-0.83)	0.40 (0.16-0.95)	0.36 (0.18-0.92)	0.30 (0.13-0.72)	0.23 (0.10-0.48)	0.19 (0.07-0.48)
4	699	2.61 (1.60-4.00)	2.85 (1.80-4.00)	2.67 (1.40-4.30)	2.16 (1.30-3.40)	1.38 (0.70-2.20)	0.98 (0.65-1.50)	0.84 (0.53-1.30)
8	699	0.98 (0.56-1.70)	1.05 (0.59-1.60)	1.04 (0.50-1.70)	1.04 (0.62-2.00)	0.84 (0.49-1.30)	0.68 (0.37-1.10)	0.53 (0.33-0.92)
4/45RA/62L	694	2.25 (1.20-3.60)	2.23 (1.30-3.60)	2.10 (1.10-3.60)	1.64 (0.95-2.80)	0.96 (0.42-1.50)	0.56 (0.31-1.00)	0.39 (0.21-0.75)
8/45RA62L	696	0.73 (0.38-1.30)	0.74 (0.45-1.20)	0.70 (0.33-1.20)	0.76 (0.40-1.40)	0.54 (0.26-0.85)	0.41 (0.20-0.65)	0.30 (0.17-0.56)
4/45RA	694	2.27 (1.20-3.70)	2.32 (1.30-3.70)	2.21 (1.10-3.70)	1.65 (1.00-2.90)	0.98 (0.43-1.50)	0.57 (0.32-1.00)	0.40 (0.23-0.77)
8/45RA	696	0.87 (0.45-1.50)	0.91 (0.55-1.40)	0.87 (0.48-1.50)	0.94 (0.49-1.70)	0.67 (0.38-1.10)	0.54 (0.31-0.90)	0.40 (0.24-0.71)
4/DR/38	694	0.08 (0.03-0.18)	0.11 (0.05-0.26)	0.10 (0.04-0.22)	0.10 (0.05-0.25)	0.06 (0.03-0.14)	0.04 (0.02-0.08)	0.03 (0.01-0.06)
8/DR/38	697	0.05 (0.02-0.16)	0.07 (0.03-0.17)	0.09 (0.04-0.27)	0.15 (0.05-0.54)	0.11 (0.05-0.34)	0.06 (0.03-0.18)	0.04 (0.02-0.13)
4/DR	694	0.10 (0.04-0.18)	0.15 (0.06-0.28)	0.12 (0.05-0.26)	0.13 (0.07-0.28)	0.09 (0.05-0.18)	0.07 (0.04-0.12)	0.06 (0.03-0.10)
8/DR	697	0.05 (0.02-0.16)	0.08 (0.03-0.17)	0.09 (0.04-0.29)	0.18 (0.06-0.60)	0.14 (0.07-0.42)	0.09 (0.04-0.27)	0.07 (0.03-0.18)
4/38	694	2.54 (0.16-3.90)	2.77 (1.60-4.00)	2.55 (1.20-4.10)	2.02 (1.20-3.30)	1.21 (0.59-2.00)	0.75 (0.48-1.20)	0.57 (0.33-1.00)
8/38	697	0.93 (0.55-1.60)	0.94 (0.53-1.50)	0.93 (0.45-1.60)	0.95 (0.57-1.90)	0.67 (0.39-1.10)	0.48 (0.24-0.74)	0.31 (0.16-0.57)
4/28	695	2.56 (1.60-3.80)	2.65 (1.60-4.00)	2.58 (1.20-4.20)	2.12 (1.30-3.40)	1.33 (0.69-2.00)	0.94 (0.63-1.50)	0.79 (0.49-1.20)
8/28	696	0.71 (0.35-1.30)	0.73 (0.35-1.20)	0.67 (0.28-1.10)	0.72 (0.40-1.30)	0.50 (0.28-0.87)	0.40 (0.21-0.70)	0.29 (0.16-0.52)
4/95	695	0.29 (0.16-0.58)	0.41 (0.23-0.62)	0.51 (0.29-0.82)	0.50 (0.27-0.91)	0.42 (0.27-0.65)	0.36 (0.25-0.62)	0.40 (0.25-0.66)
8/95	696	0.12 (0.05-0.31)	0.16 (0.06-0.39)	0.22 (0.08-0.66)	0.34 (0.10-0.85)	0.30 (0.11-0.58)	0.25 (0.08-0.53)	0.21 (0.08-0.45)
3/4/45RO	644	0.32 (0.06-0.90)	0.33 (0.12-0.63)	0.34 (0.16-0.80)	0.40 (0.21-0.85)	0.36 (0.22-0.66)	0.35 (0.23-0.63)	0.38 (0.24-0.70)
3/4/45RO	644	0.10 (0.03-0.33)	0.12 (0.03-0.29)	0.12 (0.04-0.33)	0.23 (0.06-0.57)	0.19 (0.09-0.44)	0.21 (0.07-0.39)	0.16 (0.06-0.31)
3/45RO	644	0.48 (0.09-1.20)	0.46 (0.15-0.86)	0.47 (0.22-1.10)	0.65 (0.30-1.30)	0.57 (0.33-1.00)	0.59 (0.32-0.95)	0.56 (0.34-0.97)
3-/19/38	655	0.60 (0.12-2.00)	1.20 (0.00-2.80)	1.29 (0.02-2.20)	1.04 (0.00-2.20)	0.56 (0.01-1.20)	0.28 (0.00-0.67)	0.03 (0.00-0.35)
3-/19	655	0.62 (0.12-2.10)	1.26 (0.00-2.80)	1.33 (0.02-2.30)	1.10 (0.00-2.30)	0.67 (0.02-1.40)	0.34 (0.00-0.74)	0.04 (0.00-0.39)

Tableau 8 : Taux des sous-populations lymphocytaires du sang périphérique chez des enfants sains répartis par âge, exprimé en valeurs absolues (x10³) (64)

4. Rôle de la CMF dans le diagnostic des déficits immunitaires combinés (CID Combined immune deficiencies) (Tableau 10)

Les déficits immunitaires combinés comprennent à la fois le SCID et les déficits moins profonds affectant les LT et LB.

Les SCID regroupent l'ensemble des troubles caractérisés par une absence totale ou une diminution profonde en LT (<300 CD3+/μl) pouvant s'accompagner ou pas d'une absence ou diminution des LB et NK (Tableau 9) (66).

	Lymphocyte phenotype	Associated genetic defects	Comments
I.	T-B-NK- SCID	<i>ADA, PNP</i>	Accumulation of toxic metabolites inhibits DNA synthesis and repair and leads to severe lymphopenia (7).
II.	T-B-NK+ SCID	<i>RAG1, RAG2, DCLRE1C, LIG4, NHEJ1</i>	Defects in somatic recombination result in decreased or absent T and B lymphocytes (8).
III.	T-B+NK- SCID	<i>IL2RG, JAK3</i>	T-B+NK- SCID results from defects in common gamma chain that is required for normal development of T and NK cells (9). Analysis of surface expression of CD132 may also help in identifying the defect (10).
IV.	T-B+NK+ SCID	<i>IL7 R, CD3δ, CD3ε and CD3ζ</i>	Reduced surface expression of CD127 on T cells can help in classifying SCID (11).
V.	Omenn syndrome	<i>RAG1, RAG2, DCLRE1C, ADA, LIG4, IL2RG, IL7R, DiGeorge syndrome</i>	Reduced naïve T cells (CD3+45RA+45RO-), elevated memory T cells (CD3+45RA-45RO+), and increased expression of HLA DR on T lymphocytes are noted in Omenn syndrome (12). T cell receptor Vβ repertoire analysis shows skewed Vβ usage indicating oligoclonality (13).

Tableau 9 : Immunophénotypage lymphocytaire dans les SCID avec les anomalies génétiques associées (60)

L'analyse préliminaire des sous populations lymphocytaires portant sur les marqueurs CD3, CD19, CD16/56 représente le test de première ligne qui permet d'identifier le phénotype SCID (67), notamment le T-B-NK- qui constitue le SCID le plus profond, imposant une prise en charge urgente.

La CMF permet également d'identifier les formes moins profondes de CID. En effet, une lymphopénie T CD4 isolée est décrite dans le déficit en CMH classe II (complexe majeur d'histocompatibilité), avec une diminution d'expression de l'HLA-DR (68). Une lymphopénie isolée avec un taux LT CD4 préservé évoque un déficit en TAP1, TAP2 et ZAP70 (69).

Dans certains cas, des tests supplémentaires peuvent s'avérer nécessaires même en cas de normalité de la première ligne d'immunophénotypage. Dans le syndrome d'Omenn ou dans le cas de persistance de LT maternels acquis par voies transplacentaire, le taux des LT CD3 peut être normal. Dans ces situations, l'estimation des LT naïfs (CD45RA+ CD45RO- CD62L+) et LT mémoires (CD45RO+CD45RA-CD62L-) dans les LT CD4+ et CD8 sont utiles puisque la population des LT naïfs est effondrée (70).

Une tendance vers un phénotype LT mémoire est retrouvée également dans les SCID hypomorphiques (65) (SCID avec anomalies génétiques partielles, conduisant à des phénotypes légers, comme certaines formes de déficits en rapport avec les mutations RAG 1 RAG2).

Le marqueur CD31 caractérise les LT ayant nouvellement quitté le thymus, appelés « émigrants thymiques récents » (RTE Recent Thymic Emigrants). Il est effondré dans le syndrome de Di-George, témoin de l'agénésie thymique (65).

L'évaluation de l'expression de diverses autres molécules de surfaces peut être utilisée en fonction du contexte, notamment l'expression du CD132 sur les monocytes, qui permet de caractériser les SCID liés à l'X (71).

Des tests fonctionnels par CMF peuvent également être réalisés pour l'évaluation de la fonction lymphocytaire et d'autre pour l'estimation de la prolifération des lymphocytes (72).

Des tests de stimulation peuvent être indiqués, comme dans les déficits en JAK3, révélé par une diminution de STAT3 ou STAT5 dans les LT après stimulation par l'IL2 et l'IL21 (67, 73).

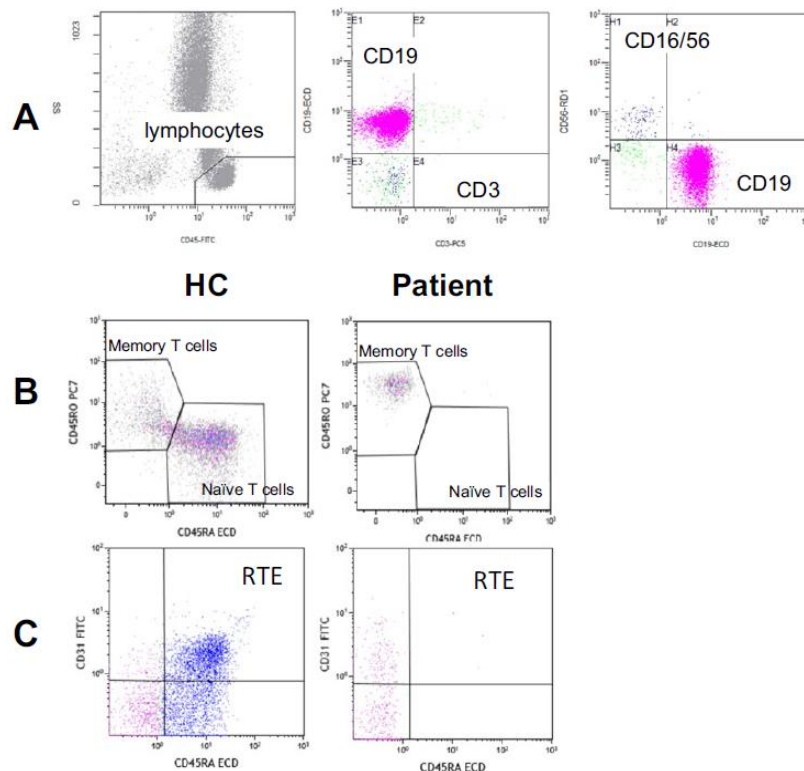


Figure 3 : Immunophénotypage par CMF dans les SCID (A) SCID T-B+NK+. Comparaison entre sujets sains pédiatriques (HC Healthy controls) et patient ayant un SCID Hypomorphique (B) des LT naïfs et mémoires (C) de LT RTE (Recent Thymic Emigrants) (65)

5. Rôle de la CMF dans le diagnostic des DIP en anticorps (Tableau 10)

Cette catégorie de déficit regroupe les DIP les plus communs, caractérisés principalement par des infections récurrentes secondaires des anomalies de développement, de différenciation ou de fonction des LB.

L'exploration par CMF porte initialement sur la détermination des sous populations LT, LB et NK, puis selon l'orientation, l'estimation des populations B naïves et matures, ainsi des LB mémoires CD27+.

Aussi, on peut avoir recours à l'évaluation de l'expression de molécules de surface connues être affectées spécifiquement dans des DIP humoraux (marqueur CD40L dans le syndrome d'hyper-IgM lié à l'X, ou la tyrosine kinase de Bruton (BTK) intracellulaire dans l'ammaglobulinémie liée à l'X) (49).

a. Agammaglobulinémie liée à l'X (XLA)

Il s'agit d'un DIP humoral secondaire à une mutation du gène codant pour la BTK.

Elle est caractérisée par une hypogammaglobulinémie profonde avec une diminution, voire absence des LB en périphérie. La CMF révèle, en plus du taux effondré des CD19, une expression diminuée de la BTK sur les monocytes (74), ou normale avec perte de fonction (75).

Il est nécessaire toutefois, comme pour la plupart des déficits, de renforcer le diagnostic par la confirmation génétique de la mutation en cause.

b. Déficiences immunitaires communes variables (Common Variable Immune Deficiencies CVID)

Les CVID regroupent un ensemble de syndromes indifférenciés, caractérisés par des perturbations de maturation ou de fonction des LB, et de la réponse anticorps (Ac) (65).

Bien qu'il soit difficile de poser le diagnostic de CVID, certains caractères communs orientent le diagnostic, principalement un taux d'Ig réduit et une réponse vaccinale diminuée. Des perturbations des populations LB orientent le diagnostic, avec diminution des LB matures et mémoires (76, 77).

Les LB du sang périphérique peuvent être largement classés en naïfs (CD27-IgD+), mémoires non commutés (IgD+CD27+), mémoires commutés (CD27+IgD-), en prolifération (IgM+CD38+), LB plasmoblastiques (CD38+IgM-), et les LB CD21^{low} (exprimant faiblement le CD21) (Figure 4).

Dans le CVID, le caractère le plus constant est une diminution globale des LB mémoire CD27+ (65,67).

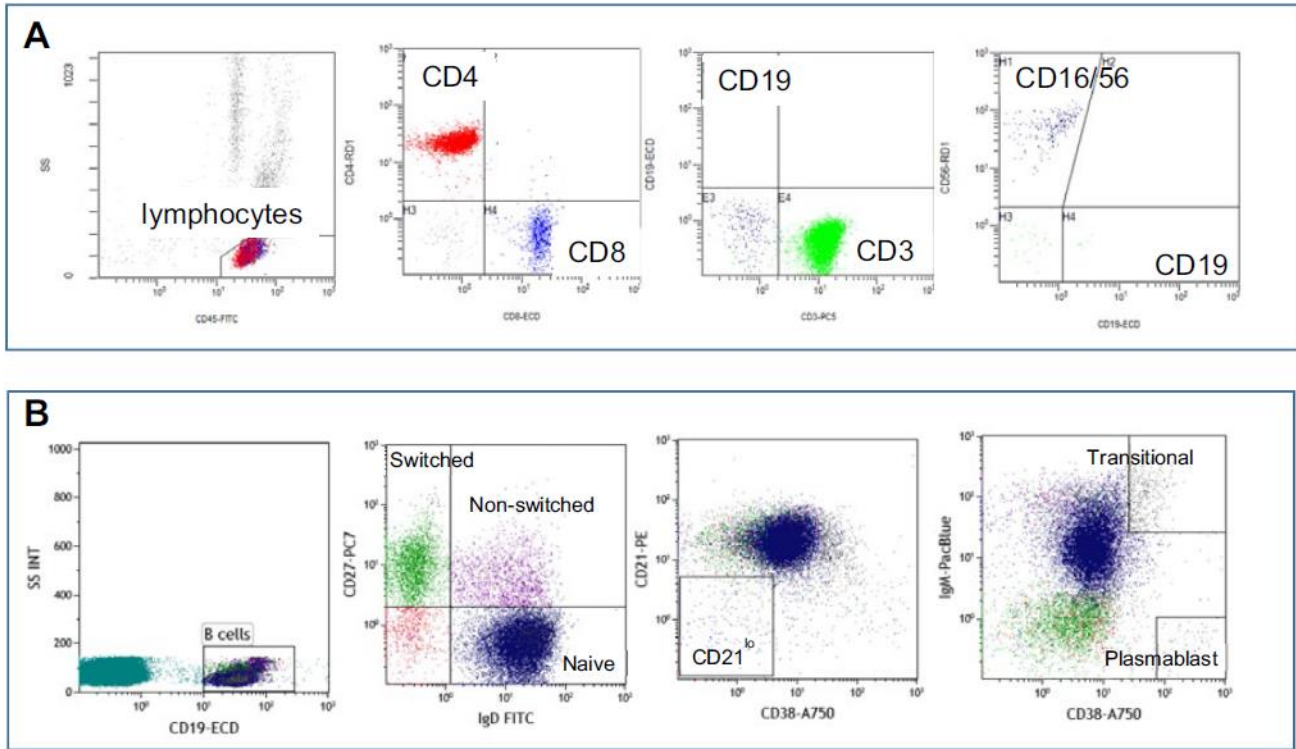


Figure 4 : (A) Immunophénotypage avec absence des LB (Agammaglobulinémie) (B) Représentation des LB commutés, non commutés et naïfs (basée sur l'expression du CD27+ et de l'IgD), LB CD21^{low}, puis les LB en prolifération (IgM++CD38+) et les plasmoblastes (CD38+++IgM-) (65)

Defect	Flow cytometry analysis
Combined immunodeficiencies	
SCID (X-linked or AR)	Absent T cells (and/or B and NK cells), decreased/absent CD31 ⁺ RTE, perturbations in naïve, and memory T cells ^a
X-SCID	CD132 on lymphocytes may be absent ^a , decreased phosphorylation of STAT5 ^c
Jak-3 mutations	Decreased phosphorylation of STAT5 ^c
ZAP-70 defects	Low CD8 T cells ^a , Decreased ZAP70 in T cells ^b
Omenn Syndrome and leaky SCID	Increased memory T cells, TCR analysis for oligoclonality ^a
BLS Type 1	Decreased/absent MHC Class I, low CD8 ^a
BLS Type 2	Decreased/absent MHC Class II, low CD4 ^a
X-linked HIGM	Decreased expression or function of CD40L on activated T cells ^c
AR-HIGM	Absent CD40 on B cells ^a
DOCK8 deficiency	Decreased DOCK8 expression in lymphocytes ^b
Combined immunodeficiencies with syndromic or associated features	
Wiskott-Aldrich Syndrome	Decreased WAS protein ^b
HIES	Perturbations in T- and B-cell populations ^a , decreased TH17 cells ^{b, c}
Antibody deficiencies	
XLA	Decreased/Absent B cells ^a , decreased/absent Btk protein in monocytes ^b
CVID	Decreased memory B cells, perturbations in switched, non-switched, transitional, and CD21 ^{lo} B cells ^a Absent CD19 expression ^a Decreased ICOS on activated T cells ^c Decreased BAFF-R expression on B cells ^a
AR-HIGM (UNG, AICDA)	Decreased memory B cells, perturbations in switched and non-switched memory B cells ^a

Tableau 10 : Tests de CMF applicables au DIP cellulaires et humoraux (65)

2. MATERIEL ET METHODES

CADRE DE L'ETUDE

Ce travail a été mené au laboratoire de cytométrie du service de transfusion, immunologie, banque de cellules de l'Hôpital d'Enfants de Rabat. Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive étalée sur 2 ans, de septembre 2020 à décembre 2022.

Il porte sur l'analyse des résultats d'immunophénotypage des sous-populations lymphocytaires (IPL) réalisés dans notre laboratoire, prescrit pour des patients pédiatriques suivis à l'HER, pour lesquels un DIP a été suspecté.

Tous les patients adressés pour l'analyse ont été retenus.

Les données ont été saisies sur une fiche d'exploitation Excel qui comprend les paramètres renseignés sur la « fiche de renseignements » mise en place par notre laboratoire, qui est remplie par le médecin prescripteur, et jointe à la prescription d'IPL (Annexe 1).

L'analyse des différents paramètres a été réalisée sur la totalité des patients inclus dans l'étude, répartis en deux groupes :

- Groupe 1 : patients pour lesquelles l'IPL était normal ;
- Groupe 2 : patients pour lesquels l'IPL était anormal (diminution d'une ou de plusieurs sous-populations lymphocytaires).

METHODES

Le prélèvement de sang périphérique requis pour le test est prélevé sur tube EDTA, et analysé dans les 24h. Un délai de conservation à température ambiante (entre +18 et +25°C) pendant 24h peut être accepté.

Une NFS est réalisée systématiquement avant l'IPL. Elle permet de poser l'indication à la dilution ou la concentration de l'échantillon pour avoir un nombre de globules blancs (GB) entre 3 et 10x10³ GB/ μ l.

L'IPL est réalisé sur le cytomètre en flux NAVIO EX de Beckman Coulter à 2 lasers, 6 couleurs.

Pour la mesure des cellules d'intérêt (LB, LT et NK), on utilise deux panels « CYTO-STAT tetraCHROME » de Beckman Coulter, qui comprennent des anticorps dirigés chacun contre la molécule CD de la cellule recherchée, couplés à un fluorochrome (CD3-PC5 : anticorps anti CD3 couplé à la PC5) :

1- Panel 1 LT : CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5, utilisé dans un premier tube pour la mesure des lymphocytes totaux, LT CD3, LTCD4 et LT CD8.

2- Panel 2 LB : CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 auquel on ajoute le CD16-PE, utilisés dans un deuxième tube. Il permet de mesurer les lymphocytes totaux, LB CD19, NK CD56/16.

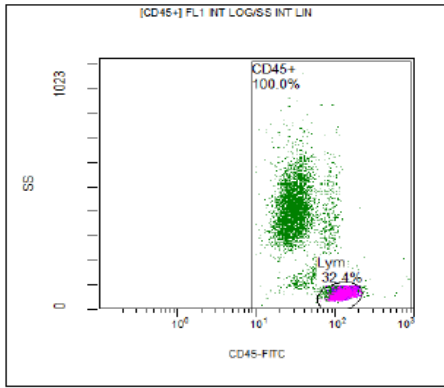
L'ajout des billes de comptage « Flow-count fluorospheres » permet la détermination des valeurs absolues.

Les protocoles utilisés pour chacun des tubes permettent d'avoir le nombre des GB CD45+, et de déterminer les lymphocytes totaux et les LT CD3+. Le premier tube renseigne en plus, à partir des LT CD3+, sur les LTCD4+ et LT CD8+. Tandis que le deuxième renseigne à partir des LT CD3-, sur des LB CD 19+ et NK CD56/16+ (Figure 5).

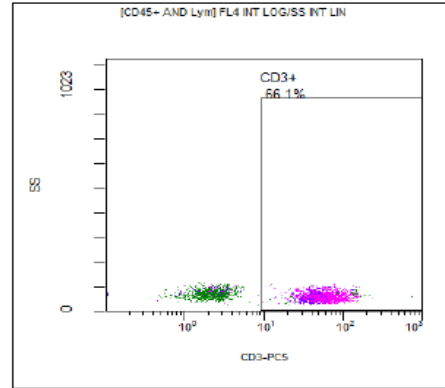
ANALYSE STATISTIQUE

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel commercial SPSS pour Windows (version 13.0).

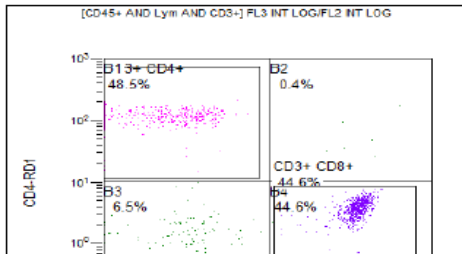
La comparaison des deux groupes de patients a été faite par le test de Pearson Khi-deux, et par le test exact de Fisher en cas de non-validité. Les résultats dont la P value est < 0.05 sont considérés significatifs.



[CD45+] FL1 INT LOG/SS INT LIN			
Region	Cells/ μ L	Number	%Gated
ALL	2416	14965	100.00
CD45+	2416	14965	100.00
Lym	782	4845	32.38



[CD45+ AND Lym] FL4 INT LOG/SS INT LIN			
Region	Cells/ μ L	Number	%Gated
ALL	782	4845	100.00
CD3+	517	3203	66.11



[CD45+ AND Lym AND CD3+] FL3 INT LOG/FL2 INT LOG			
Region	Cells/ μ L	Number	%Gated
ALL	517	3203	100.00
B1	251	1555	48.55
B2	2	12	0.37
B3	33	207	6.46
B4	231	1429	44.61
CD3+ CD4+	251	1554	48.52
CD3+ CD8+	230	1427	44.55

[CD45+ AND Lym AND CD3+] Legend			
Color	Name	% Gated	Cells/ μ L
Purple	CD3+ CD4+	48.52	250.84
Blue	CD3+ CD8+	44.55	230.34
Green	CD45+	100.00	517.01
Yellow	Beads	0.00	0.00
Orange	CAL	0.00	0.00
Red	CD3+	100.00	517.01
Light Green	Lym	100.00	517.01

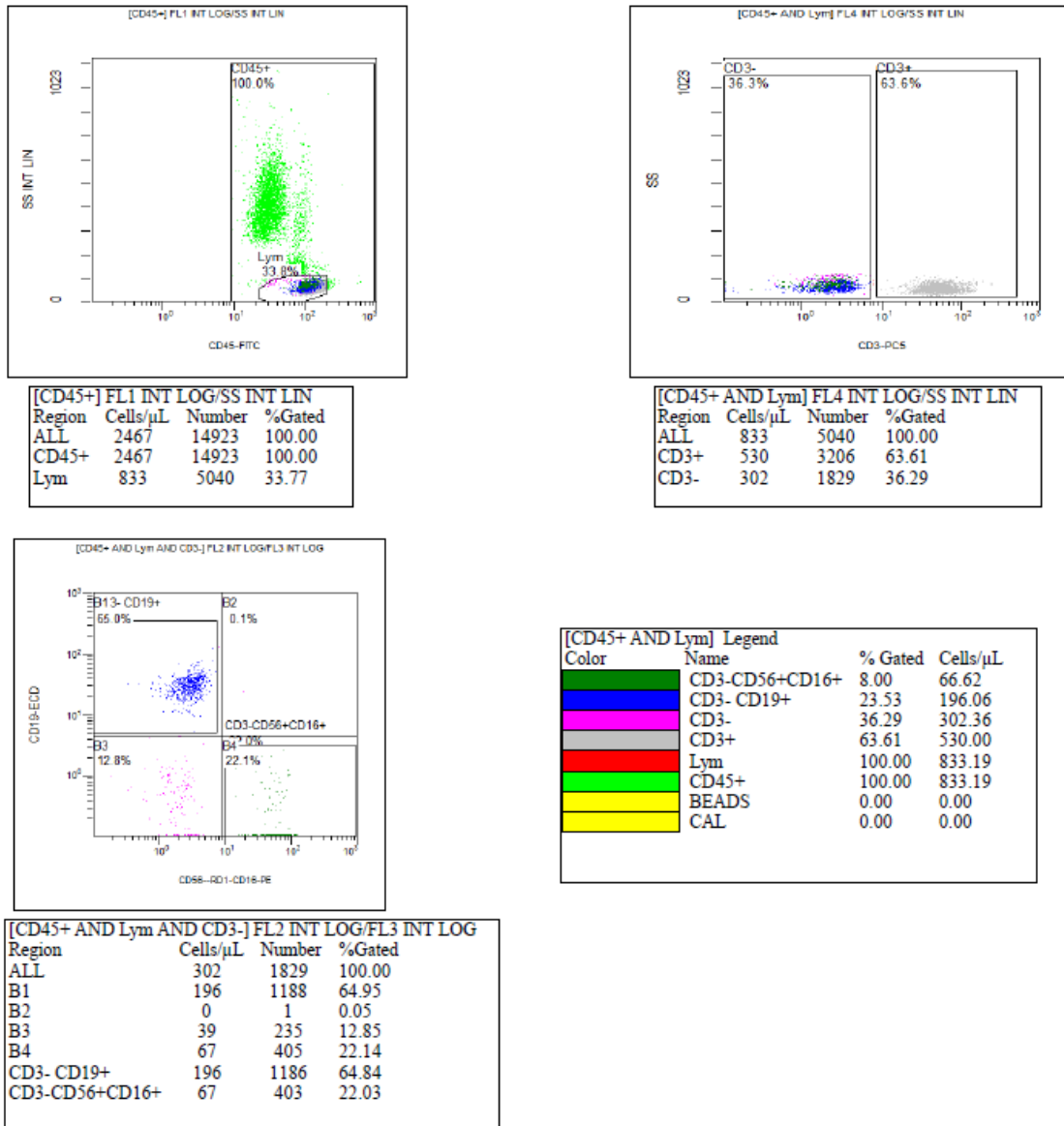


Figure 5 : Représentation en DOT-Plot d'un résultat d'IPL réalisé dans notre laboratoire et des protocoles utilisés : (A) Protocole tube 1 CD3/CD4/CD8. (B) : Protocole tube 2 CD3/CD19/CD16/56

3. RESULTATS

Sur la totalité des patients adressés pour analyse d'IPL (n=154), 71,4% (110) avaient un IPL normal (groupe 1), alors que 28,6% (44) présentaient un résultat anormal (groupe 2).

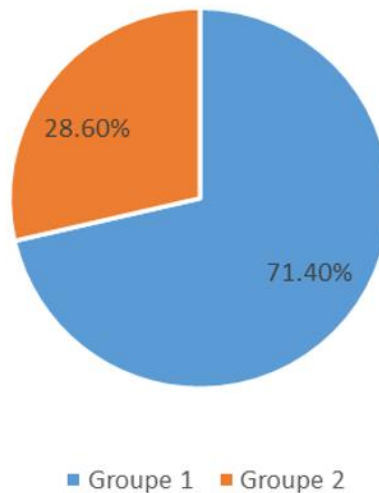


Figure 6 : Répartition de l'échantillon selon les résultats de l'IPL : normal pour le groupe 1 et anormal pour le groupe 2

L'analyse des différents paramètres à étudier a été faite de manière comparative pour la totalité de l'échantillon puis entre les 2 groupes en ciblant surtout le groupe 2.

1. Age

La médiane d'âge de notre échantillon est de 12 mois, comprise entre 1 mois et 15 ans, proche de celle du groupe 2 qui est de 10 mois, avec une tranche d'âge située entre 1 mois et 10 ans.

2. Sexe

Le sexe ratio est de 1.29, avec une prédominance masculine à 56,5% (87) contre 67 (43,5%) de patients de sexe féminin. Cette prépondérance masculine est retrouvée également dans le groupe 2 avec 59,5% (25) de patients de sexe masculin vs 40,5 (17) de sexe féminin, le sexe ratio étant de 1.47.

3. Renseignements Fournis

a. Taux de prescriptions avec renseignements fournis vs non ou incomplètement fournis

Le taux de non-communication des renseignements cliniques et biologiques nécessaires à l'interprétation des résultats atteignait 61.7% sur tout l'échantillon (Figure 7)

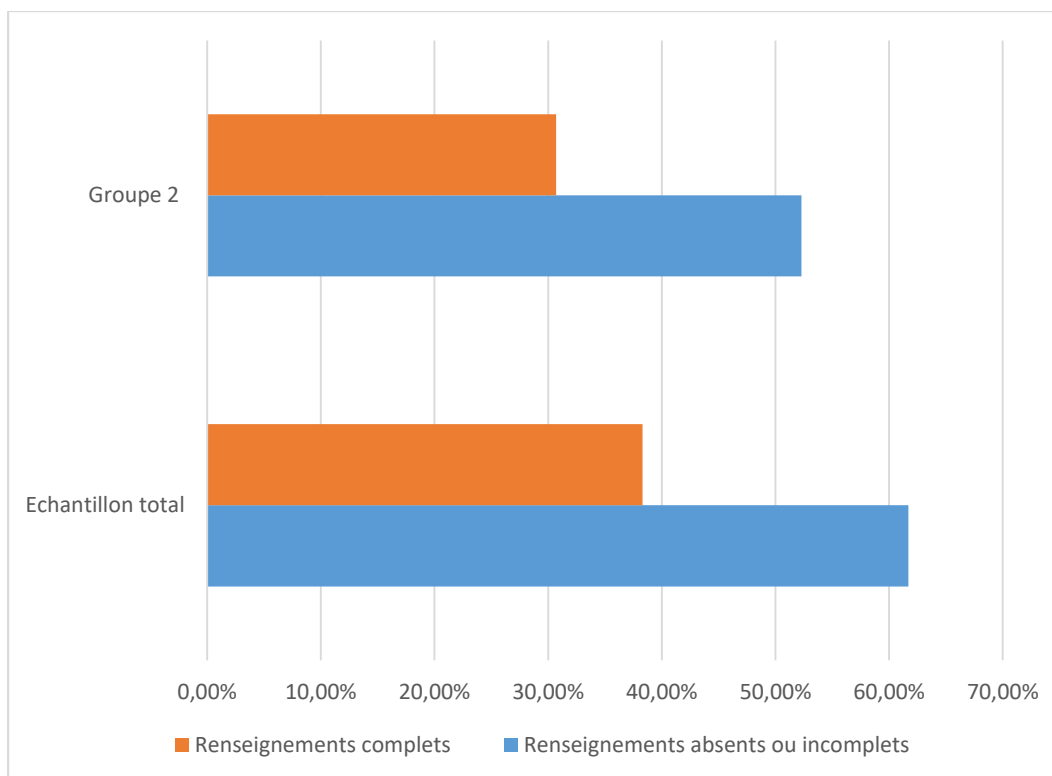


Figure 7 : Taux de prescriptions avec des renseignements non ou incomplètement fournis dans tout l'échantillon.

b. Taux de prescriptions avec statut viral VIH renseigné et résultat

Dans le cadre de l'élimination d'un déficit immunitaire secondaire, une sérologie ou une PCR VIH est demandée systématiquement, et le résultat normalement communiqué lors de la prescription de l'IPL. Dans notre échantillon, cette information n'est obtenue que pour 69.5% (107) des patients, avec une négativité chez ceux pour lesquels les résultats sont fournis. Pour le groupe 2, le statut viral VIH est précisé chez 72.7 % (32) des patients, pour lesquels il est négatif.

c. Taux des prescriptions avec résultats du dosage pondéral des Ig renseigné et résultat

Sur les 154 prescriptions reçues, le dosage pondéral des Ig était fourni avec la prescription dans 39% (61) des cas, avec un résultat anormal (diminution d'un ou de plusieurs isotypes d'Ig) chez 3.9% (6) des patients.

4. Consanguinité

Le taux de consanguinité est de 25.2% (35) dans tout l'échantillon, avec un taux de 15.1% (21) dans le groupe 1, et de 10.1% (14) dans le groupe 2. Ce paramètre ne semble pas être corrélé de manière significative aux résultats d'IPL anormaux avec une P value à 0.052.

5. Intervalle entre l'âge du début des symptômes et la prescription

La médiane d'âge rapportée de survenue des symptômes était de 8 mois chez les patients du groupe 2, et de 2 ans chez les patients avec IPL normal. Un délai moyen de 6 mois est retrouvé entre le début de la symptomatologie et la prescription de l'IPL.

6. Antécédents familiaux (décès/ DIP dans la famille)

Les antécédents de DIP dans la famille sont retrouvés chez 10.5% des patients du groupe 2, et la notion de décès n'est rapportée que dans 7.9% des cas chez ces patients.

7. Répartition des signes cliniques rapportés

Les signes cliniques étant très polymorphes ou non spécifiques, et ont été répertoriés en catégories.

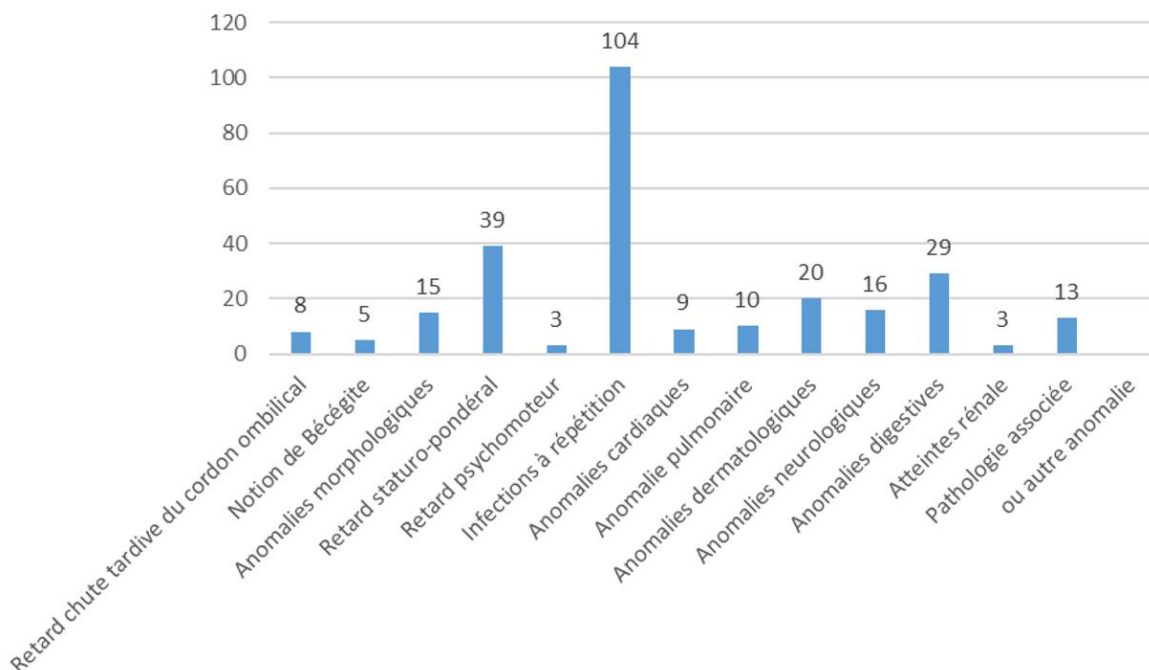


Figure 8 : Catégories des signes cliniques rapportés et leurs fréquences dans tout l'échantillon.

Les signes les plus fréquemment rapportés (> 20 cas) dans notre échantillon sont les infections à répétition (80,6% (n=104)), le retard staturo-pondéral (31,5% (n=39)), et les anomalies digestives (23,7% (n=29)) (Figure 8).

La fréquence de chacun des signes rapportés a été calculée pour les deux groupes. D'après l'analyse comparative, les seuls renseignements corrélés de manière significative avec un IPL anormal sont classés dans la catégorie « pathologie associé » : il s'agit de la LAL, avec une P value < 0.01. Le retard psychomoteur est rapporté aussi associé au groupe 2 avec une P value à 0.07, à noter que le nombre de cas est de 3 (Tableau 11).

Catégories des signes cliniques rapportés	Fréquence dans le groupe 1	Fréquence dans le groupe 2	P value
Retard chute du cordon ombilical	5,7% (7)	0,8% (1)	0,322
Notion de BCGite	3,3% (4)	0,8% (1)	0,689
Anomalies morphologiques	6,4% (8)	5,6 (7)	0,12
Malformation des pieds	1,6% (2)	0	
Agénésie thymique	2,4% (3)	1,6% (2)	
Faciès dysmorphique	1,6% (2)	1,6% (2)	
Trisomie 21	0	0,8% (1)	
Agénésie thymique + faciès dysmorphique	0,8% (1)	0	

Embryofetopathie	0	0,8% (1)	
Syndrome de Griscelli	0	0,8% (1)	
Retard staturo-pondéral	17,7% (22)	13,7% (17)	0.1
Retard psychomoteur	0	2,5% (3)	0.02
Infections à répétition	58,9% (76)	21,7% (28)	0,611
Anomalies cardiaques	4.8% (6)	2.4% (3)	0,712
Malformation non déterminée	2,4% (3)	1,6% (2)	
CIA + transposition des gros vaisseaux	0	0,8% (1)	
CIV avec HTAP	0,8% (1)	0	
Kawasaki	0,8% (1)	0	
OSTIUM SECONDAIRE	0,8% (1)	0	
Anomalie pulmonaire	4% (5)	4% (5)	0,461
Abcès pulmonaire	0,8% (1)	0	
Pneumopathie	0	1,6% (2)	
Séquelles de viroses	2,4% (3)	0	
Asthme du nourrisson	0	0,8% (1)	
Miliaire TB	0,8% (1)	1,6% (2)	
Anomalies dermatologiques	8.8% (11)	7.2% (9)	0,086
Abcès fessier	1,6% (2)	0,8% (1)	
Dermatite séborrhéique	1,6% (2)	0	
Ichtyose	0	1,6% (2)	
Pyoderma gangrenosum	0	1,6% (2)	
Ulcérations généralisées	4,0% (5)	0,8% (1)	
Muguet buccal	0	1,6% (2)	
Cheveux gris	0,8% (1)	0,8% (1)	
Anomalies neurologiques	7.2% (9)	5.6% (7)	0,235
Abcès cérébral	1,6% (2)	0	
Atrophie cérébrale	0	0,8% (1)	
Convulsions/Epilepsie	1,6% (2)	1,6% (2)	
hémorragie méningée	0,8% (1)	0	
Hydrocéphalie	1,6% (2)	0	
Méningoencéphalite	0,8% (1)	0	
Syndrome de Guillain Barré	0	1,6% (2)	
Tumeur cérébrale	0	0,8% (1)	
Paralysie hémifaciale	0,8% (1)	0	
Infirmité motrice cérébrale	0	0,8% (1)	
Anomalies digestives	13.4% (17)	10.3% (12)	0,076
Abcès hépatique profond	0,8% (1)	0,8% (1)	
Abcès splénique	0,8% (1)	0	
Diarrhée chronique	9,4% (12)	7,9% (10)	
Maladie cœliaque	0,8% (1)	0	
Œsophagite à HP+	0,8% (1)	0	
Tuberculose péritonéale	0,8% (1)	0	

Diarrhée chronique et atrophie villositaire totale	0	0,8% (1)	
Atteintes rénale	1.6% (2)	0.8% (1)	
Abcès rénal	0,8% (1)	0	1
Néphrite bilatérale	0	0,8% (1)	
Reflux vésico-urétéral	0,8% (1)	0	
Pathologie associée ou autre anomalie	1.6% (2)	8.6% (11)	
LAL	0	3,1% (4)	<,001
Dénutrition sévère	0	0,8% (1)	
Trisomie 21	0,8% (1)	0,8% (1)	
Arthralgies non inflammatoires	0	0,8% (1)	
Syndrome hémorragique	0,8% (1)	0,8% (1)	
Malformation artério veineuse	0	0,8% (1)	
SAM	0	1,5% (2)	

Tableau 11 : Fréquence des signes clinique rapportés dans l'échantillon et analyse comparative de leur fréquence dans les groupes 1 et 2.

(CIA : Communication inter-auriculaire, CIV : communication inter-ventriculaire, HTAP : hypertension artérielle pulmonaire, LAL : Leucémie aigüe lymphoïde, SAM : syndrome d'activation macrophagique).

8. Profils d'IPL retrouvés dans le groupe 2

Les résultats ont été répartis en sous-groupes selon de la population lymphocytaire déficiente. D'après nos résultats, le déficit le plus représenté est celui en T-B-NK- à 31.8% (14), suivis des déficits T-B-NK+ et T+B-NK+ (ou B-) avec un taux similaire de 18.2% (8), et du déficit T-B+NK+ à un taux de 15,9% (7). Certains des cas retrouvés ont une déficience isolée NK-, CD3-CD4- ou CD3-CD8- à des taux faibles de 4,5% (2). Un cas de déficit T-B+NK- est retrouvé (Figure 9).

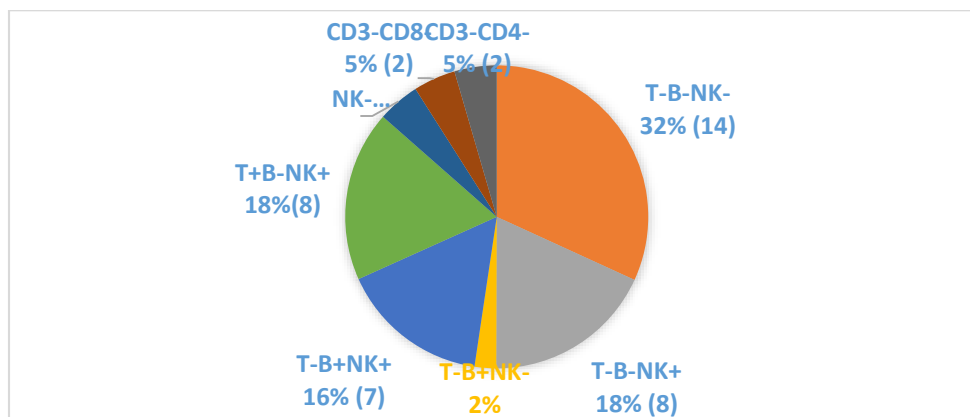


Figure 9 : Profil des IPL retrouvé et leur fréquence dans le groupe 2.

Les signes cliniques et informations fournis sont très hétérogènes ou non spécifique. Le tableau 12 représente des signes rapportés pour chacun des sous-groupes de déficit retrouvé. La définition des profils selon les signes cliniques a permis d'associer les 4 patients chez qui une LAL est rapportée aux déficits T-B-NK- (2 cas) et T-B+NK+ (2 cas), et le retard psychomoteur aux profils T-B-NK+, T-B+NK- et CD19-. Les infections à répétition sont rapportées chez les patients de tous les profils. A noter un nombre de patients plus importants dans les catégories T-B-NK-, T-B-NK+. Certains signes sont rapportés de manière très peu fréquente, mais retrouvés uniquement dans le groupe 2, évoquant fortement un DIP sévère. Il s'agit d'un cas de syndrome de Griscelli, ayant eu un profil T-B-NK-, et 2 cas d'agénésie thymique avec un profil T-B+NK+.

Dans ce groupe 2, le dosage pondéral d'Ig rapportés était diminué chez 2 patients T-B-NK-, 1 patient T-B-NK+, et 1 patient CD19-.

La médiane d'âge a été calculée pour le groupe ayant les profils T-, elle était de 7 mois.

Sous-population lymphocytaire atteinte	T-B-NK- (n= 14)	T-B-NK+ (n=8)	T-B+NK+ (n=7)	T-B+NK- (n=1)	T+B-NK+ (n=8)	NK (n=2)	CD3-CD8- (n=2)	CD3-CD4- (n=2)
Notion de BCGite						1		
Retard chute du cordon		1						
Retard staturo-pondéral	3	4	3		7			
Retard psycho-moteur		1	1		1			
Anomalies morphologiques	Faciès dysmorphique (1) Embryofetopathie (1) Sd de Griscelli (1)	Dermatite séborrhéique (2)	Faciès dysmorphique (1) Agénésie thymique (2)		Trisomie 21 4			
Infection à répétition :	(9)	(4)	(3)		(6)	(2)	(2)	(2)
Siège	Pulmonaire (1) digestif (1)	Pulmonaire (1) Digestif (2), ORL et cérébral (1)	Pulmonaire (2), Urinaire et digestif (1)		Pulmonaire (3), cutané (1), rénal et ORL (1)	Pulmonaire et cérébral (1)	Pulmonaire (2)	Pulmonaire (2) Cutané (1)
Germes identifiés	CMV (1)				Staphylocoque (1), Pneumocoque (2)			
Atteinte dermatologique	Ichtyose (1) Ulcérations généralisées (1) Cheveux gris (7)	Muguet buccal (2) Abscess fessier (1)	Ichtyose (1)				Pyoderma gangrenosum (2)	
Atteinte neurologique	Atrophie cérébrale (1) Convulsions/Epilepsie (1) Sd de Guillain Barré (2) Tumeur cérébrale (1)	Convulsions/Epilepsie (1) Infirmité motrice cérébrale (1)						
Atteinte digestive	Diarrhées chroniques (6) Abscess hépatique (1)		Diarrhées chroniques (6)		Diarrhées chroniques (2)			
Atteinte pulmonaire				Asthme du nourrisson (1)	Pneumopathie		Miliaire tuberculeuse (1)	
Atteinte cardiaque		Malformation non déterminée (2)			CIA + Transposition des gros vaisseaux (1)			
Pathologie associée ou autre anomalie	LAL (2) Dénutrition sévère (1) Malformation artérioveineuse (1) SAM (2)		LAL (2) Arthralgies non inflammatoires (1)					
Dosage pondéral des Ig	(2)	(1)			(1)			

Tableau 12 : Profils d'IPL retrouvés et synthèse des signes rapportés qui leur sont associés.

(n) = nombre de cas retrouvés, Cases vides = non renseigné ou absent.

4. DISCUSSION

Les DIP sont des troubles congénitaux engendrés par diverses anomalies des cellules immunitaires, ce qui se traduit par leur classification en plusieurs phénotypes, en fonction du gène à l'origine de l'atteinte en question.

Grâce au développement des moyens diagnostiques immunologiques et génétiques, une meilleure connaissance de ce groupe de pathologie est constatée, avec une augmentation de l'estimation de leur prévalence. L'IPL en CMF est un moyen diagnostique clé qui permet le diagnostic de la plupart des DIP (8). Il s'agit d'un test réalisé en deuxième intention, après suspicion de DIP sur la base de signes cliniques et d'un bilan biologique d'orientation initial.

Sur la totalité des patients adressés pour IPL, 28,6% (44) avaient un résultat anormal (défiance de l'une ou de plusieurs sous-populations lymphocytaires). Un taux pareil de patients avec IPL en faveur d'un DIP dans une population où le diagnostic est suspecté paraît bas. Ceci renvoie à remettre en question l'indication de la demande de cette analyse et à sensibiliser les prescripteurs.

L'IPL devrait être réalisé selon une démarche réfléchie et rapportée au contexte clinique et biologique orienté du patient, d'où l'importance des renseignements cliniques pour décider de l'indication du test et permettre une interprétation adéquate des résultats.

Dans l'échantillon étudié, les renseignements cliniques étaient absents ou incomplets sur 61,7% (95) des prescriptions, à savoir les antécédents de DIP ou de décès dans la fratrie, la notion de consanguinité, les signes cliniques ou pathologie associées, ainsi que le statut VIH et le dosage pondéral des Ig. En effet, la connaissance du statut viral VIH et l'un des principaux éléments pour éliminer un déficit immunitaire secondaire, étape initiale nécessaire avant de penser à un DIP. Chose qui n'est pas toujours renseignée ou non réalisée au moment de la prescription, avec 69,5% (107) des prescriptions où le statut viral est précisé, et 72,7% (32) dans le groupe 2. L'enquête familiale, à la recherche d'antécédent de DIP, de décès dans la fratrie ou de consanguinité, s'impose. En effet, elle permet de susciter un diagnostic précoce et de suspecter le mode de transmission éventuel. Pour le dosage pondéral des Ig, il était précisé pour 39% (61) des cas.

Ces renseignements constituent des éléments primordiaux pour le diagnostic. Leur manque a en effet constitué une difficulté pour l'exploitation des données dans cette étude.

L'âge est important pour distinguer initialement certains DIP. La médiane d'âge retrouvé dans notre échantillon était de 12 mois. Elle était de 10 mois chez les patients pour lesquels l'IPL était en faveur de DIP, variant entre 1 mois et 10 ans. Il existe une grande variabilité d'âge en fonction du type de DIP : le registre marocain rapporte une médiane d'âge de 6.21 (32). En effet, la corrélation de l'âge au tableau clinique permet de s'orienter vers un type d'atteinte : les SCID se manifestent un âge tôt dans la 1ère année de vie. Les CVID surviennent plus tardivement. Dans le sous-groupe de patients chez qui l'IPL était en faveur d'un déficit immunitaire combiné T-, la médiane d'âge était de 7mois. Ce résultat est comparable à celui qui a été publié par Michos et al (6mois) (83), mais reste supérieur à celui retrouvé par Stephan et al (2mois) (84). Ce retard de diagnostic peut influencer la prise en charge thérapeutique des patients. En effet, plus la greffe est réalisée à un âge précoce, plus les chances de réussite sont meilleures.

La précision des antécédents familiaux est pertinente pour préciser l'existence de DIP dans la famille ou de survenue de décès dans la fratrie. Une hérédité AR peut être soulevée en cas de frère ou de sœur atteint(e), tandis qu'une hérédité AD est soulevée dans le cas de transmission d'un parent à son enfant. Certains DIP liés à l'X sont suspectés quand la maladie n'est présente que chez les sujets de sexe masculins (18, 36). Une prédominance masculine est retrouvée dans notre échantillon avec un sexe ratio de 1.29. Ceci réplique ce qui est retrouvé dans la plupart des publications à ce sujet, rapportant une prédominance masculine, avec un sexe ratio de 1.17 dans le registre marocain (78). Ceci est fort probablement en rapport avec la fréquence des maladies de transmission lié à l'X, notamment déficiences en BTK où les déficits en anticorps.

Le taux de consanguinité est rapporté plus important chez les patients DIP que dans la population générale (18), et la corrélation de notion de consanguinité paraît accroître le risque de certains DIP de phénotype sévère (79,80), à savoir les CID qui sont fréquents dans les pays à consanguinité importante (81). Plus particulièrement, le déficit en molécule CMH classe I est répandu dans les pays du Maghreb : il est considéré comme « Maladie Maghrébine » (18). Ceci n'a pas été retrouvé dans notre analyse, avec un taux de consanguinité chez les patients ayant un IPL en faveur de DIP à 10.1 (14). Ceci serait en rapport avec le manque de renseignements des prescriptions reçus.

Ces notions (antécédents familiaux et consanguinité) apportent certes une aide dans l'étape où le médecin trace la démarche diagnostique. Toutefois, leur absence ne permet pas d'exclure l'hypothèse diagnostique.

Les signes cliniques évocateurs de DIP constituent la pierre angulaire dans leur diagnostic. Ils permettent d'une part de suspecter et d'évoquer un DIP : il s'agit de signes qui permettent aux médecins prescripteurs de penser au DIP et ne pas retarder le diagnostic, surtout pour les cas de DIP sévères. D'autre part, ils permettent d'orienter les investigations et d'amorcer les explorations nécessaires pour confirmer et déterminer le type de DIP : signes plus spécifiques.

Une bonne connaissance de ces signes est donc essentielle, car un intervalle de temps important entre l'apparition des symptômes et l'établissement du diagnostic peut affecter le pronostic de ces patients (18). Dans notre échantillon, ce délai n'a pas pu être calculé puisque la date du diagnostic exact de DIP n'était pas disponible. Seulement l'estimation du délai entre le début des symptômes et la prescription de l'analyse était de 6 mois. L'intérêt de cette information est de donner une idée sur le temps de prise en charge qui paraît élevé. D'où l'intérêt de souligner l'importance d'une bonne connaissance des signes alarmant suggérant un DIP, notamment ceux établis par la « Jeffrey Modell Foundation (JMF) », pour ne pas retarder les explorations.

Dans notre échantillon, les signes cliniques principalement rapportés sont les infections à répétition, le retard staturo-pondéral, et les anomalies digestives.

En effet, une étude rétrospective (82) menée en Angleterre portant sur 536 patients pédiatriques, dont 430 étaient connus ayant un DIP défini, et 133 non défini, ceci dans le but d'évaluer l'efficacité prédictive des signes établis par la JMF : cette étude rapporte 3 signes ayant contribué au diagnostic : les antécédents familiaux de DIP, les infections à répétition ayant nécessité une antibiothérapie en intra-veineux, et le retard staturo- pondéral.

Plusieurs études soulignent que les 10 signes JFM sont insuffisants et qu'il faut inclure les infections sporadiques, les maladies auto-immunes et inflammatoires, ainsi que les pathologies malignes. En effet, dans le groupe 2 de nos patients avec IPL anormal, la LAL était significativement associée au DIP T-B-NK- et T-B+NK+, seulement ce résultat doit être confirmé en raison de la taille de l'échantillon, et le nombre des cas DIP retrouvés. Ceci se réplique pour le retard psychomoteur retrouvé uniquement chez le groupe 2. On ne peut parler d'association significative avec le nombre de cas disponibles certes, toutefois, ce signe rapporté au contexte permet de compléter le tableau et évoquer certains DIP combinés sévères.

Dans notre contexte, l'IPL permet de faire le diagnostic principalement des déficits combinés sévères et les phénotyper en T B NK (SCID et CID), ainsi que des déficits prédominants en anticorps (agammaglobulinémie et le CVID). Il peut également éliminer les diagnostics différentiels. Il est à préciser

qu'un IPL normal n'élimine pas un DIP, puisqu'il peut s'agir de DIP de l'immunité adaptative fonctionnelle, ou de l'immunité innée, notamment un déficit en cellules phagocytaires.

Le profil le plus fréquent dans ce groupe est le T-B-K- puis le T-B-NK+ à des taux de 31,8% (14) et 18,2% (8) respectivement. Ceci évoque en premier un SCID T-B- : essentiellement déficit en ADA (Adenosine deaminase) ou déficit en RAG (Recombinase activating gene). Les principaux signes rapportés et associés à ce groupe sont en faveur de ces DIP, à savoir les infections à répétition, de siège principalement pulmonaire, le retard psychomoteur (ADA), et une diminution des Ig.

Il est à noter la présence d'autres signes pertinents, à des taux non significatifs certes, mais qui renvoient fortement vers un DIP particulier, notamment un cas de syndrome de Griscelli, dont le profil était T-B-NK-. Normalement ce DIP est caractérisé par une atteinte fonctionnelle en NK et en CD8, avec des taux de LT et LB circulants normaux. Ceci impose une interprétation contextuelle est nécessaire avec une corrélation avec le tableau clinico-biologique, et d'un contrôle de l'IPL sur un autre prélèvement.

Un autre signe évocateur du syndrome de DiGeorge est l'agénésie thymique, retrouvé chez 2 malades dont le profil était T-B+NK+, avec des anomalies cardiaques, ce qui corrobore l'hypothèse diagnostique.

Le profil CD19- est retrouvé à des taux de 18,2% (8), ce qui doit faire évoquer l'agammaglobulinémie et les CVID (catégorie 3 de la classification IUIS). Dans notre série, en dehors des infections à répétitions rapportées (sans éléments précis d'infection bactérienne sévères), il n'y a pas de signe rapporté fortement pourvoyeur d'un phénotype particulier. De plus, le dosage pondéral des Ig, élément diagnostique clé pour ce groupe de DIP, n'est rapporté diminuer que chez un seul malade (non renseigné pour la plupart des patients).

D'autres profils ont été retrouvés, à des taux très faibles : le DIP CD3-CD4- (2cas), avec des infections à répétition de siège pulmonaire revoyant vers un déficit en CMH classe II, et le DIP CD3-CD8- (2cas), avec un Pyoderma gangrenosum chez les 2 patients, fortement en faveur d'un déficit en CMH classe I.

Ces résultats sont concordants avec ce qui est rapporté dans la littérature. En effet, dans le Moyen-Orient et les pays maghrébins, les DIP les plus fréquents sont les CID, avec une prédominance des SCID T-B-, ainsi que des déficits en CMH classe I, contrairement à l'Europe où les CID sont moins fréquents (10%), et les déficits en anticorps sont plus répandus à des taux de 50% (11).

Il est en effet important de tenir compte de la prévalence régionale de ces maladies et en prendre compte dans la démarche diagnostique.

Nos résultats, même si difficile à interpréter devant le manque de renseignements nécessaires et la disparité des signes cliniques rapportés, montrent que l'IPL, rapporté au contexte clinico-biologique du malade, garde toute sa place pour poser un diagnostic précis de DIP. Par ailleurs, c'est l'étude génétique qui permet de confirmer le diagnostic de l'anomalie génétique responsable du DIP.

5. CONCLUSION

Le pronostic des DIP nécessite une prise en charge rapide et un traitement curatif définitif par greffe de CSH. D'où l'intérêt de poser le diagnostic correct et rapide, en ayant recours à des moyens d'exploration adéquats.

Dans notre série, l'IPL a permis de déterminer les profils phénotypiques obtenus en CMF. Toutefois, pour la plupart des patients, l'indication de l'IPL n'était pas justifiée, les informations nécessaires dans la démarche diagnostique non ou incomplètement précisés, notamment la notion de consanguinité, les signes cliniques, et le dosage pondéral des Ig.

Il paraît donc important de faire des efforts de sensibilisation et d'amélioration des connaissances sur les DIP auprès des médecins prescripteurs, sur la nécessité de poser une indication réfléchie de l'IPL, et de fournir les renseignements cliniques et biologiques pertinents pour poser le diagnostic précis et d'étiqueter les profils retrouvés en CMF. D'autant plus qu'il s'agit d'une analyse couteuse, qui n'est pas à demander en première intention, et qu'il faut optimiser les explorations pour ne pas retarder la prise en charge de ces patients.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Anna, A. M. (2020). Primary Immunodeficiencies in Russia: Data From the National Registry. *Frontiers in Immunology*, vol, 11, 1-15.
- 2) Joyce, E. Y., Orangeb, J. S., & Demirdaga, Y. Y. (2018). New primary immunodeficiency diseases: context and future. *Current Opinion in Pediatrics*, 30(00), 1-16.
- 3) Kanako, M. S., Sekinaka, Y., Endo, A., Imai, K., & Nonoyama, S. (2022). The Primary Immunodeficiency Database in Japan, *Frontiers in Immunology*, vol, 12, 1-5.
- 4) Tangye, S. G., Al-Herz, W., Bousfiha, A., Chatila, T., Cunningham-Rundles, C., Etzioni, A., et al. (2020). Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *Journal of Clinical Immunology*. 40(1), 24-64.
- 5) Bousfiha, A., Jeddane, L., Picard, C., Al-Herz, W., Ailal, F., Chatila, T., et al. (2020). Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *Journal of Clinical Immunology*, 40(1), 66-81.
- 6) Isabelle, M., Bousfiha, A., Carla, D., Surjit, S., Yu, L. L., Antonio, C-N., Liliana, B., Adli, A., Adeli, M., & Jose, D. (2021). Primary Immunodeficiencies: A Decade of Progress and a Promising Future. *Frontiers in Immunology*, vol, 11, 1-5.
- 7) Picard, C., Bobby, G. H., Al-Herz, W., Al-Herz, W., Bousfiha, A., Casanova, J.L., & al. (2018). Primary immunodeficiency diseases committee report on inborn errors of immunity: International Union of Immunological Societies: 2017. *Journal of Clinical Immunology*, Vol,38, 96-128.
- 8) Buccioli, G. & Meyts, I. (2020). Recent advances in primary immunodeficiency: from molecular diagnosis to treatment. *F1000Research*, 9(194), 1-15.
- 9) Bousfiha, A. A., Jeddane, L., Ailal, F., Benhsaien, I., Mahlaoui, N., Casanova, J. L., & al. (2013). Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought. *Journal of Clinical Immunology*, 33(1), 1-7.
- 10) Buckley, R. H. (2004). Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annual Review of Immunology*, Vol.22, 625-655.
- 11) Aleksandra, L. U., Gerard, P., Jerzy, S., & Katarzyna, B-K. (2020). Primary Immunodeficiencies: Diseases of Children and Adults – A Review. *Adv Exp Med Biol - Clinical and Experimental Biomedicine*, Vol, 1289, 37-54.
- 12) Bonilla, F. A., Khan, D. A., Ballas, Z.K., Chinen, J., Frank, M. M., Hsu, J.T., Keller, M., Kobrynski, L.J., Komarow, H. D., & all. (2015). Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. Joint Task Force on Practice Parameters, representing the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; the American College of Allergy, Asthma & Immunology; and the Joint Council of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*, 136(5), 1186-1205.
- 13) Locke, B. A., Dasu, T., Verbsky, J. W. (2014). Laboratory diagnosis of primary immunodeficiencies. *Clin Rev Allergy Immunol*, 46(2), 154-168.

- 14) Piątosza, B., Pac, M., Siewiera, K., Pietrucha, B., KlauedelDreszler, M., Heropolitańska-Pliszka, E., WolskaKuśnierz, B., Dmeńska, H., Gregorek, H., Sokolnicka, I., Rękawek, A., Tkaczyk, K., Bernatowska, E. (2013). Common variable immune deficiency in children – clinical characteristics varies depending on defect in peripheral B cell maturation. *J Clin Immunol*. Vol.33, 731-741.
- 15) Maurice, R.G. (2007). Role of Flow Cytometry in the Diagnosis and Monitoring of Primary Immunodeficiency Disease. *Clinics in Laboratory Medicine*, Vol.27, 591-626.
- 16) De Vries, E. (2012). Patient-centred screening for primary immunodeficiency, a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists: 2011 update. European Society for Immunodeficiencies (ESID) members. *Clin Exp Immunol*, 167(1), 108-119.
- 17) Lehman, H., Hernandez-Trujillo, V., Ballow M. (2015). Brief review. Diagnosing primary immunodeficiency: A practical approach for the non-immunologist. *Curr Med Res Opin*, 31(4), 697-706.
- 18) Erjaee, A., Berg, D. V. S., & Pepper, M. S. (2019). Primary immunodeficiency in Africa- a review. *South African Medical Journal*, 109(8), 1-9.
- 19) Picard, C., Bobby, G. H., Al-Herz, W., Bousfiha, A., Casanova, J. L., Chatila, T., & al. (2018). International Union of Immunological Societies: 2017 primary immunodeficiency diseases committee report on inborn errors of immunity. *J Clin Immunol*, 38(1), 96-128.
- 20) Stuart, G. T., Waleed, A., Aziz, B., & all. (2020). Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *Journal of Clinical Immunology*, Vol. 40, 24-64.
- 21) Bousfiha, A., Jeddane, L., Picard, C., Ailal, F., Bobby Gaspar, H., AlHerz, W., et al. (2018). The 2017 IUIS phenotypic classification for primary immunodeficiencies. *J Clin Immunol*, 38(1), 129-143.
- 22) Casanova, J. L., Abel, L. (2018). Human genetics of infectious diseases: unique insights into immunological redundancy. *Semin Immunol*, Vol.36, 1–12.
- 23) Zhang, S. Y., Jouanguy, E., Zhang, Q., Abel, L., Puel, A., Casanova, J. L. (2019). Human inborn errors of immunity to infection affecting cells other than leukocytes: from the immune system to the whole organism. *Curr Opin Immunol*, Vol.59, 88–100.
- 24) Seymour, B., Miles, J., Haeney, M. (2005). Primary antibody deficiency and diagnostic delay. *Journal of Clinical Pathology*, 58(5), 546-547.
- 25) Kobrynski, L., Powell, R. W., Bowen, S. (2014). Prevalence and morbidity of primary immunodeficiency diseases, United States 2001-2007. *J Clin Immunol*, 34(8), 954-961.
- 26) Erjaee, A., Berg, D. V. S., & Pepper, M. S. (2019). Primary immunodeficiency in Africa- a review. *South African Medical Journal*, 109(8), 1-9.
- 27) Bous'ha, A. A., Jeddane, L., Ailal, F., & al. (2013). Primary immunodeficiency diseases worldwide: More common than generally thought. *J Clin Immunol*, 33(1), 1-7.
- 28) Modell, V., Orange, J. S., Quinn, J., Modell, F. (2018). Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on disease classification, regional trends, treatment modalities and physician reported outcomes. *Journal of Immunology Research*, 66(3), 367-380.

- 29) Leiding, J. W, Forbes, L. R. (2019). Mechanism-based precision therapy for the treatment of primary immunodeficiency and primary immunodysregulatory diseases. *Journal of Allergy Clin Immunol Pract*. Vol.7, 761-773.
- 30) Mahlaoui, N., Jais, J. P., Brosselin, P., Mignot, C., Beaurain, B., Brito, C., & al. (2017). Prevalence of primary immunodeficiencies in France is underestimated. *Journal of Allergy Clin Immunol*, Vol.140, 1731-1733.
- 31) Modell, V., Orange, J. S., Quinn, J., Modell, F. (2018). Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on disease classification, regional trends, treatment modalities and physician reported outcomes. *Journal of Immunology Research*, 66(3), 367-380.
- 32) Bousfiha, A. A, Jeddane, L., El Hafidi, N., Benajiba, N., Rada, N., El Bakkouri, J., Kili, A., Benmiloud, S. & al. (2014). First Report on the Moroccan Registry of Primary Immunodeficiencies: 15 Years of Experience (1998±2012). *J Clin Immunol*, 34(4), 459-468.
- 33) Moroccan Health Journal. (2015). Primary Immunodeficiencies: Epidemiology in the Arab World, 1±6. <https://www.tawassol.ma/2015/237>
- 34) Bousfiha, A. A., Errami, A., Jeddane, L., Mellouli, F., Reda, S. M., Adeli, M., Al-Herz, W., Zyoud, R., Erwa, N., Suleiman, Y., Boukari, R., Dakkoune, M., Yagoubi, A., Al-Mousa, H., Arnaout, R., Alhamadi, S., Bejaoui, M., Barbouche, M. R., AlSaoud, B., Al-Dhekri, H. (2018). Primary Immunodeficiencies: Epidemiology in the Maghreb. *Tunis Med*. 96(10-11), 672-677.
- 35) Al-Herz, W., Aldhekri, H., Barbouche, M. R., Rezaei, N. (2014). Consanguinity and Primary Immunodeficiencies. *Human Heredity*, Vol.77, 138-143.
- 36) Al-Herz, W., Naguib, K. K., Notarangelo, L. D., Geha, R. S., Alwadaani, A. (2011). Parental consanguinity and the risk of primary immunodeficiency disorders: report from the Kuwait National Primary Immunodeficiency Disorders Registry. *International Archives of Allergy and Immunology*. Vol.154, 76-80.
- 37) Rezaei, N., Pourpak, Z., Aghamohammadi, A., & al. (2006). Consanguinity in primary immunodeficiency disorders; the report from Iranian Primary Immunodeficiency Registry. *American Journal of Reproductive Immunology*, Vol.56, 145-151.
- 38) Barbouche, M. R., Galal, N., Ben-Mustapha, I., & al. (2011). Primary immunodeficiencies in highly consanguineous North African populations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1238(1), 42-52.
- 39) Heimall, J.R., Hagin, D., Hajjar, J., Henrickson, S. E., Hernandez-Trujillo, H. S., Tan, Y., & al. (2018). Use of genetic testing for primary immunodeficiency patients. *J Clin Immunol*, Vol.38, 320–329.
- 40) Marschall, K., Hoernes, M., Bitzenhofer-Grüber, M., Jandus, P., Duppenhaler, A., Wuillemin, W. A., & al. (2015). The Swiss National Registry for Primary Immunodeficiencies: report on the first 6 years' activity from 2008 to (2014). *Clin Exp Immunol*, Vol,182, 45-50.
- 41) Humanitas Research Hospital. Primary Immunodeficiency. Available at: <https://www.humanitas.net/diseases/primary-immunodeficiency/>

- 42) Cunningham-Rundles, C. (2011). Autoimmunity in primary immune deficiency: taking lessons from our patients. *Clin Exp Immunol*, 164(Suppl 2), 6–11.
- 43) Bejaoui, M., Barbouche, M. R., Sassi, A., & al. (1997). [Primary immunodeficiency in Tunisia: Study of 152 cases]. *Arch Pediatr*, 4(9), 827-831.
- 44) Naidoo, R., Ungerer, L., Cooper, M., Pienaar, S., Eley, B. S. (2011). Primary immunodeficiencies: A 27-year review at a tertiary paediatric hospital in Cape Town, South Africa. *J Clin Immunol*, 31(1), 99-105.
- 45) Ballow, M. (2012). Primary immunodeficiency disorders: Antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol*, 109(4), 581-591.
- 46) Gennery, A. R., Slatter, M. A., Grandin, L., Taupin, P. (2010). Transplantation of hematopoietic stem cells and long-term survival for primary immunodeficiencies in Europe: Entering a new century do we do better?. Inborn Errors Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, European Society for Immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*, 126(6), 602-610.
- 47) O’Sullivan, M. D., Cant, A. J. (2012) The 10 warning signs: a time for a change?. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 12(6), 588-594.
- 48) Abraham, R. S. (2011). Relevance of laboratory testing for the diagnosis of primary immunodeficiencies: a review of case-based examples of selected immunodeficiencies. *Clin Mol Allergy*, 9(6), 1-18.
- 49) Vijaya, K. M. D., Jennifer, R., Heimall, M. D., Hey, C., & al. (2021). A Toolkit and Framework for Optimal Laboratory Evaluation of Individuals with Suspected Primary Immunodeficiency. *American academy of Allergy, Asthma & Immunology*, 9(9), 3293-3307.
- 50) Tangye, S. G., Al-Herz, W., Bousfiha, A., Chatila, T., Cunningham-Rundles, C., Etzioni, A., & al. (2020). Human inborn errors of immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*, Vol.40, 24-64.
- 51) Ammann, S., Lehmborg, K., Zur Stadt, U., Janka, G., Rensing-Ehl, A., Klemann, C., & al. (2017). Primary and secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis have different patterns of T-cell activation, differentiation and repertoire. *Eur J Immunol*, Vol.47, 364-373.
- 52) Christine, M., Julia, U. & Richard, W. (2018). Primary immunodeficiency. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 14(Suppl 2):61, 141-152.
- 53) Thomas, C & Audrain, M. (2019). Exploration des déficits immunitaires primitifs. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 1-12.
- 54) Admoua, B., Haouachb, K., Ailal, F., Benhsainec, I., Barbouchd, M. R., Bejaoui, M. & Bousfiha, A. A. (2010). Déficits immunitaires primitifs : approche diagnostique pour les pays émergents Primary immunodeficiencies: Diagnosis approach in emergent countries. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, Vol.25, 257-265.
- 55) O’Gorman, M. R. G. (2018). Flow cytometry assays in primary immunodeficiency diseases. *Methods Mol Biol*, Vol.1678, 321–345.
- 56) Maria, F. V., & Luis, A. P. (2019). Diagnosis of primary immunodeficiency diseases in the developing world: the need for education and networking with the developed world. *Current Opinion Pediatr*, Vol.31, 835-842.

- 57) Maurice, R.G. (2007). Role of Flow Cytometry in the Diagnosis and Monitoring of Primary Immunodeficiency Disease. *Clinics in Laboratory Medicine*, Vol.27, 591-626.
- 58) Sevil, O. H. (n.d). Flow Cytometric Approach in the Diagnosis of Primary Immunodeficiencies. Intechopen, 1-21.
- 59) Kanegane, H., Hoshino, A., Okano, T., Yasumi, T., Wada, T., Takada, H., & al. (2018). Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases. *Allergol Int*, Vol.67, 43-54.
- 60) Amit, R., Arora, K., Shandilya, J., & al. (2019). Flow cytometry for diagnosis of primary immune deficiencies- A tertiary center experience from North India. *Frontier in Immunology*, 10(2111), 1-11.
- 61) Barbara, P. (2007). Flow cytometry as a reliable tool in diagnostics – review of basic principles, standard procedures and tests in diagnostics of primary immunodeficiencies. *Centr Eur J Immunol*, 32(4), 247-257.
- 62) De Vries, E., de Bruin-Versteeg, S., Comans-Bitter, W. M., & al. (2000). Longitudinal survey of lymphocyte subpopulations in the first year of life. *Pediatr Res*, Vol. 47, 528-537.
- 63) De Vries, E., de Bruin-Versteeg, S., Comans-Bitter, W. M., & al. (2000). Longitudinal survey of lymphocyte subpopulations in the first year of life. *Pediatr Res*, Vol.47, 528-537.
- 64) William, T. S., Howard, M. R., Rebecca, S. G., & al. (2003). Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: The Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol*, 112(5), 973-980.
- 65) Knight, V. (2018). The utility of flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *Int J Lab Hematol*, 41(Supp. 1), 63-72.
- 66) Kanegane, H., Imai, K., Morio, T. (2017). Severe combined immunodeficiency: from its discovery to the perspective. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, 40(3), 145-154.
- 67) Amit, R., Arora, K., Shandilya, J., & al. (2019). Flow cytometry for diagnosis of primary immune deficiencies- A tertiary center experience from North India. *Frontier in Immunology*, 10(2111), 1-11.
- 68) Hanna, S., Etzioni, A. (2014). MHC class I and II deficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. Vol.134, 269-275.
- 69) Gadola, S. D., Moins-Teisserenc, H. T., Trowsdale, J., Gross, W. L., Cerundolo, V. (2000). TAP deficiency syndrome. *Clin Exp Immunol*. Vol,121, 173-178.
- 70) Knight, V. (2019). The utility of flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *Int J Lab Hematol*, Vol,41, 63–72.
- 71) Oliveira, J. B., Notarangelo, L. D., Fleisher, T. A. (2008). Applications of flow cytometry for the study of primary immune deficiencies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. Vol.6, 499-509.
- 72) Tario, J. D., Conway, A. N., Muirhead, K. A., Wallace, P. K. (2018). Monitoring cell proliferation by dye dilution: considerations for probe selection. *Methods Mol Biol*, Vol.1678, 249–299.
- 73) Kanegane, H., Hoshino, A., Okano, T., Yasumi, T., Wada, T., Takada, H., & al. (2018). Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases. *Allergol Int*, Vol.67, 43-54.
- 74) Conley, M. E. & Cooper, M. D. (1998). Genetic basis of abnormal B cell development. *Curr Opin Immunol*. Vol.10, 399-406.

- 75) Kanegane, H., Tsukada, S., Iwata, T. (2000). Detection of Bruton's tyrosine kinase mutations in hypogammaglobulinaemic males registered as common variable immunodeficiency (CVID) in the Japanese Immunodeficiency Registry. *Clin Exp Immunol*, 120(3), 512-517.
- 76) Cunningham-Rundles, C. (2012). The many faces of common variable immunodeficiency. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. Vol.2012, 301-305.
- 77) Saikia, B., Gupta, S. (2016). Common variable immunodeficiency. *Indian J Pediatr*, Vol.83, 338-344.
- 78) Bousfiha, A. A., Jeddane, L., El Hafidi, N., Benajiba, N., Rada, N., El Bakkouri, J., Kili, A., Benmiloud, S., Benhsaien, I., Faiz, I., Maataoui, O., Aadam, Z., Aglaguel, A., Ait Baba, L., Jouhadi, Z., & Abilkassem, R. (2014). First Report on the Moroccan Registry of Primary Immunodeficiencies: 15 Years of Experience (1998±2012). *J Clin Immunol*, 34(4), 459-468.
- 79) Aghamohammadi, A., Abolhassani, H., Moazzami, K., Parvaneh, N., & Rezaei, N. (2010). Correlation between common variable immunodeficiency clinical phenotypes and parental consanguinity in children and adults. *J Investig Allergol Clin Immunol*, Vol.20, 372-379.
- 80) Rivoisy, C., Gérard, L., Boutboul, D., Malphettes, M., Fieschi, C., Durieu, I., Tron, F., Masseau, A., Bordigoni, P., Alric, L., Haroche, J., Hoarau, C., Bérézné, A., Carmagnat, M., Mouillot, G., Oksenhendler, E. (2012). for the DEFI study group: Parental consanguinity is associated with a severe phenotype in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*, Vol,32, 98-105.
- 81) Galal, N., Ohida, M., Meshaal, S., & al. (2019). Targeted screening for primary immunodeficiency disorders in the neonatal period and early infancy. *Afri Health Sci*, Vol.19, 1449-1459.
- 82) Subbarayan, A., Colarusso, G., Hughes, S. M., & al. (2011). Clinical features that identify children with primary immunodeficiency diseases. *Pediatrics*, Vol,127, 810-816.
- 83) A Michos, M Tzanoudaki, A Villa et al. Severe combinedimmunodeficiency in Greek children over a 20-year period:rarity of γ c-chain deficiency (X-Linked) type. *J ClinImmunol*.2011 Oct; 31(5):778-83.
- 84) J L. Stephan, V. Vlekova, F. Le Deist et al. Severe combinedimmunodeficiency: A retrospective single-center study ofclinical presentation and outcome in 117 patients. *The Journalof Pediatrics* Volume 123, Number 421; 1993.

ANNEXE



**Service de Transfusion, d'Immunologie et Thérapie cellulaire
Hôpital d'Enfants – Centre Hospitalier Universitaire Ibn Sina – Rabat**

IDENTITE DU PATIENT	
Nom et Prénom :	
Sexe :	
Date et lieu de naissance :	
MEDECIN TRAITANT	
Médecin traitant :	
Téléphone :	
E-mail :	
ATCD	
Notion de consanguinité parentale :	<input type="checkbox"/> Oui Degré :
	<input type="checkbox"/> Non
Antécédents familiaux de DIP :	<input type="checkbox"/> Oui Nombre : Sexe :
	<input type="checkbox"/> Non
Notion de décès d'enfants dans la famille:	<input type="checkbox"/> Oui Lien :
	<input type="checkbox"/> Non
TABLEAU CLINIQUE	
Age du début des symptômes:	
Diagnostic: <input type="checkbox"/> Suspecté : Préciser :	<input type="checkbox"/> Connu : Préciser :
<input type="checkbox"/> Chute tardive du cordon ombilical (>3 semaines)	
<input type="checkbox"/> Notion de Bécégite	
<input type="checkbox"/> Anomalies morphologiques : Préciser :	
<input type="checkbox"/> Retard staturo-pondéral	
<input type="checkbox"/> Malformations Cardiaques avec agénésie thymique totale ou partielle	
<input type="checkbox"/> Infections à répétition :	
Type de l'infection :
Age de survenue :
Siège :
Germe responsable:
<input type="checkbox"/> Anomalies dermatologiques :	<input type="checkbox"/> Oui : Préciser :
	<input type="checkbox"/> Non
<input type="checkbox"/> Atteinte neurologique :	<input type="checkbox"/> Oui : Préciser :
	<input type="checkbox"/> Non
<input type="checkbox"/> Atteinte gastro-intestinale :	<input type="checkbox"/> Oui : Préciser :
	<input type="checkbox"/> Non

<input type="checkbox"/> Atteinte rénale :	<input type="checkbox"/> Oui : Préciser :
	<input type="checkbox"/> Non
<input type="checkbox"/> Pathologie associée au DIP :	<input type="checkbox"/> Oui : Préciser : <input type="checkbox"/> Maladie auto-immune:
	<input type="checkbox"/> Hémopathie :
	<input type="checkbox"/> Autre :
	<input type="checkbox"/> Non

BILANS REALISES		
NFS (la plus récente)*		
Dosage pondéral des Immunoglobulines*	<input type="checkbox"/> Fait*	<input type="checkbox"/> Non fait
Phénotypage lymphocytaire*	<input type="checkbox"/> Fait*	<input type="checkbox"/> Non fait
Sérologie/ PCR VIH*	<input type="checkbox"/> Fait	<input type="checkbox"/> Non fait
<i>(*) Prière de joindre les résultats de l'analyse demandée à la prescription si déjà faites.</i>		

TRAITEMENTS	
Immunoglobulines:	Transfusions sanguines:
<input type="checkbox"/> Oui : date :	<input type="checkbox"/> Oui : date :
<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Non