



THÈSE DE DOCTORAT
Présentée par

EL ALLAM Aicha

Discipline : Biologie
Spécialité : Immunologie- immunogénétique

Déficits immunitaires combinés Sévères (SCIDs)

Épidémiologie et apport de la cytométrie en flux dans le diagnostic

Soutenue le 06 /01/2023

Devant le Jury

Présidente :

Mme. Nadia DAKKA

PES, Faculté des sciences, Rabat.

Examineurs :

Mr. Youssef BAKRI

PES, Faculté des sciences, Rabat.

Mr. Fouad SEGHROUCHN

Directeur Adjoint, Centre Mohammed VI de la
Recherche et de l'Innovation, Rabat.

Mr. Abdellah BADOU

PES, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca.

Mme. Naima EL HAFIDI

PES, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat.

Mr. Brahim ADMO

PES, Faculté de Médecine, Marrakech.

Mr. Rabii AMEZIANE
EL HASSANI

PH, Faculté des sciences, Rabat.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents, Mhamed et Malika, qui m'ont soutenu tout au long de mes études, dans mes choix et mes erreurs, et m'ont donné la force et le courage de continuer.

Grâce à eux, j'ai pu arriver là où je suis aujourd'hui et je leur en serai toujours reconnaissant. A mes deux frères, Marwan et Tarik, et à ma sœur Hanane et mon oncle Mohand qui ont été et sont toujours présents pour moi. Au reste de ma famille, grands-parents, tantes, oncles et cousins. Je vous aime tous. A mes amis d'ici et d'ailleurs, qui m'ont aidé tout au long de ce parcours. Je ne vous oublie pas. A mes professeurs, qui nous ont toujours donné le meilleur d'eux-mêmes pour nous apprendre au-delà de ce qui est écrit dans les livres, l'école de la vie

Avant-propos

*Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés dans le laboratoire de Biologie des pathologies humaines (BioPatH) de la Faculté des Sciences de Rabat sous la Direction du Monsieur **Youssef BAKRI** Professeur en collaboration avec le laboratoire d'Immunologie Cellulaire, à l'Institut National d'Hygiène de Rabat, sous la co-direction du **Docteur Fouad SEGHROUCHNI**.*

Je tiens à remercier chaleureusement les professeurs qui m'ont encadré durant cette thèse et les membres du Jury :

***Monsieur Youssef BAKRI** Professeur d'Immunologie et de cancérologie à la faculté des sciences de Rabat, Directeur de la thèse, qui a dirigé et corrigé cette thèse et qui a été toujours disponible pour le bien de la thèse et par ses qualités humaines, ses conseils toujours précieux malgré ses énormes préoccupations.*

***Monsieur Fouad SEGHROUCHNI**, chef du laboratoire d'immunologie cellulaire à l'Institut National d'Hygiène et co-directeur de la thèse, qui a proposé ce sujet et m'a encadré dans son laboratoire, il a dirigé et suivi de très près ce travail de recherche. C'est grâce à ses suggestions, remarques et critiques que ce travail a pu être réalisé.*

***Madame Nadia DAKKA**, Directrice du laboratoire de Biologie des pathologies humaines (BioPatH) de la Faculté des Sciences de Rabat, pour ses efforts pour aider les étudiants et pour avoir pris de son temps pour présider le jury de ma thèse.*

***Monsieur Brahim ADMO** Professeur d'Immunologie à la Faculté de Médecine de Marrakech, qui m'a fait l'honneur de prendre le temps d'être membre de jury de ma thèse et qui a également accepté d'être mon rapporteur de thèse.*

***Monsieur Rabii AMEZIANE EL HASSANI** Professeur de Biologie cellulaire et moléculaire à la faculté des sciences de Rabat pour l'attention bienveillante qu'il a accordée à ce travail et pour son acceptation d'être membre de jury et rapporteur de ma thèse.*

***Madame Naima EL HAFIDI**, Professeur de pédiatrie à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat-Unité d'immunologie, maladies allergiques et respiratoires, Hôpital des enfants-CHU Ibn Sina, Rabat, qui m'a gentiment accepté dans mon stage, a revu avec moi les dossiers des patients et m'a beaucoup aidé pour la partie Clinique. Je la remercie également d'avoir accepté d'être mon rapporteur interne.*

Monsieur Abdellah BADOU Professeur d'Immunologie à la Faculté de médecine et de Pharmacie-Université Hassan II de Casablanca qui m'a fait l'honneur d'être membre de jury et examinateur et rapporteur de ma thèse.

*Ce travail n'aurait jamais pu être achevé sans l'aide technique et intellectuelle du Pr. **Claude LAMBERT** du l'hôpital universitaire Saint-Etienne, France, du Pr. **Abdelhakim BOUYAHYA** de la Faculté des Sciences de Rabat, du Pr. **Sourav GHOSH** et du Pr. **Carla ROTHLIN** du Laboratoire d'Immunobiologie de l'Université de Yale, USA.*

Sans oublier l'aide précieuse de mes collègues doctorants ou autre du laboratoire d'immunologie cellulaire de l'Institut National d'Hygiène (El Fakihi sara, Hicham Tahoou), Lindsey Hudge du laboratoire d'immunobiologie de l'Université de Yale, USA.

Avec le recul, la liste des personnes à remercier est longue, de la maternelle à l'université... à commencer par mes parents et ma famille. En vrac et sans hiérarchie, je remercie :

*Mes parents **Mhamed El Allam** et **Malika Kasri** qui ont toujours cru en moi et ont toujours été à mes côtés pour me conseiller et m'encourager à continuer.*

Mes frères et sœur Marwan el Allam et (sa femme soumiya touch), Tarik el allam, Hanan el allam pour leur aide et leur soutien.

Ma grand-mère Hadda Agday et mon oncle Mohand Kasri et sa femme Hassna ainsi que toute ma famille pour leur présence toujours pour moi.

Je n'oublie pas de remercier mes amis à Rabat et Azilal: Fatima, soumia, lamiae, sara, je m'excuse auprès de ceux que j'ai pu oublier.

Résumé

Le déficit immunitaire primaire et plus spécifiquement l'immunodéficience combiné sévère (SCID) spécifiquement comprend des troubles génétiques hétérogènes du système immunitaire, souvent caractérisées par un dysfonctionnement de la maturation et développement des cellules T, l'incidence mondiale du SCID a été calculée à 1 /58000 naissances. Un diagnostic précoce suivi d'un traitement, peut augmenter les chances de survie, et la cytométrie en flux joue un rôle primordial dans le diagnostic.

Nos principaux objectifs dans ce travail ont été : établir des valeurs normales des cellules lymphocytaires T, B, NK propres à la population pédiatrique marocaine, servant au diagnostic et l'interprétation des résultats d'un sous typage lymphocytaire par la cytométrie en flux.

Entamer une étude épidémiologique visant une estimation de l'incidence du SCID et ces mutations génétiques à travers le monde, en se basant sur les registres et des études récentes dans de nombreuses régions mondiales (l'Amérique, l'Europe, l'Asie, l'Afrique). Ainsi, l'étude de 35 patients SCID nous a permis de définir le profil clinique et immunologique des patients SCID au Maroc.

Enfin, une bonne compréhension des aspects cliniques et biologiques des patients DIP généralement et SCID spécifiquement en plus d'un diagnostic spécifique et précoce, permet une meilleure prise en charge des patients marocains.

Mots clés : Déficit immunitaire primitif ; l'immunodéficience combiné sévère ; incidence ; épidémiologie ; valeurs normales.

Abstract

Primary immunodeficiency and more specifically severe combined immunodeficiency (SCID) includes heterogeneous genetic disorders of the immune system, often characterized by dysfunction of T-cell maturation and development, the incidence of SCID worldwide was calculated at 1/58000 births. Early diagnosis followed by treatment can increase the chances of survival, and flow cytometry plays a crucial role in this diagnosis.

Our main objectives in this work were to establish normal values of T, B, NK lymphocytes specific to the Moroccan pediatric population, used for diagnosis and interpretation of lymphocytes subtyping results by flow cytometry.

An epidemiological study and an estimation of the incidence of SCID and its related genetic mutations worldwide, based on registries and recent studies in many regions of the world (America, Europe, Asia, and Africa). Thus, the study of 35 SCID patients allowed us to define the clinical and immunological profile of SCID patients in Morocco.

Finally, a good understanding of the clinical and biological aspects of DIP and SCID patients specifically the early diagnosis aspect, thus allowing a better management of Moroccan patients.

Keywords: Primary immune deficiency; severe combined immune deficiency; incidence; epidemiology; normal values.

Liste des abréviations :

CD	Cluster de Différentiation
CH50	Classical pathway Haemolytic complement activity 50%
DHR	DiHydroRhodamine-1,2,3
DIC	Déficit Immunitaire Combiné
DICS	Déficit Immunitaire Combiné Sévère
DICV	Déficit Immunitaire Commun Variable
DIP	Déficit Immunitaire Primitif
EDTA	Ethylène Diamine Tetra Acétique
ESID	Européen Society for Immunodeficiency
GCSH	Généralement une greffe de cellules souches hématopoïétiques
HLAII	Human Leukocyte Antigen type II
IFN γ	Interféron-gamma
Ig	Immunoglobuline
IPIDR	Iranian Primary Immunodeficiency Registry
IV	Intraveineuse
JMCN	Jeffrey Modell Center Network
JMF	Jeffrey Model Foundation
LAD I	Leukocyte Adhesion Deficiency Type I
LAGID	Latin American Group for Immunodeficiencies
MSPID	Moroccan Society for Primary Immunodeficiencies
NBS	Newborn Screening
NFS	Numération Formule Sanguine
NK	Natural Killer
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PIDJ	Primary Immunodeficiency in Japan
SCID	Severe Combined Immunodeficiency
SPL	Sous-Populations Lymphocytaires
TCR	T-Cell Receptor
TREC	TCR Receptor Excision Circle
WAS	Syndrome de Wiskott-Aldrich
XLA	Agammaglobulinémie liée à X

Liste des Illustrations

Figure 1. Voies possibles lors de la rencontre de l'hôte avec une configuration étrangère.....	1
Figure 2. Différenciation des lymphocytes B.....	5
Figure 3. Différenciation et sélection des lymphocytes T.....	6
Figure 4. Schéma simplifié de la différenciation des lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes T CD8, CD4 et CD4 régulateur (Treg) sortent du thymus sous forme naïve.....	8
Figure 5. Mécanismes physiopathologiques des déficits immunitaires primitifs	12
Figure 6. Arbre présentant les étapes d'exploration de déficits immunitaires primitifs.....	20
Figure 7. Schéma de différence entre le système immunitaire d'un sujet normal et celui d'un sujet atteint du SCID.....	22
Figure 8. X-linked SCID Les probabilités d'infection d'un enfant issu d'une mère infectée.	23
Figure 9. Autosomal récessif SCID : les probabilités d'infection d'un enfant issu de deux parents infectés.	24
Figure 10. L'immun-phénotypes du SCID déficit combiné Sévère.....	27
Figure 11. The adenosine deaminase (ADA) metabolism.....	29
Figure 12. JAK3 signaling pathway.....	30
Figure 13. Voies de développement lymphoïde et position relative de certains mutations responsables de SCID.....	32
Figure 14. Proportions de génotypes d'immunodéficience combinée sévère (SCID).....	34
Figure 15. Analyse des sous-ensembles lymphocytaires pour le SCID.....	36
Figure 16. Schéma de la différenciation hématopoïétique et des progéniteurs cibles de la correction par transfert de gène dans le DICS lié à l'X.....	38
Figure 17. principe de la cytométrie en flux.....	39
Figure 18. Dot plot cytométrie en flux d'un sujet témoin et d'un patient avec une agammaglobulinémie congénitale	43
Figure 19. Histogrammes de cytométrie en flux démontrant l'expression de l'IFN γ R1 sur des monocytes provenant d'un sujet témoin.....	44
Figure 20. Histogrammes de cytométrie en flux du test de la DHR.....	45
Figure 21. Principe de	53
Figure 22. Schéma des étapes de préparation et lecture d'un échantillon par néphélométrie.....	54
Figure 23. Schéma de la procédure de marquage des cellules avant lecture au cytomètre.....	57
Figure 24. Exemple représentatif de la stratégie de sélection et de l'identification de sous-ensembles lymphocytaires spécifiques.....	59
Figure 25. Étapes de la Mise en place du Burst oxydatif.....	63
Figure 26 : Affichage recommandés d'histogrammes/tracés de points pendant l'acquisition des données d'un burst test.....	64
Figure 27. Histogrammes des des granulocytes, stimulés avec des bactéries <i>E. coli</i> et stimulation avec PMA.....	65
Figure 28. Stratégie de "gating" fixée pour les patients SCID.....	71
Figure 29. Graphique du changement du nombre absolu des lymphocytes en fonctions de l'âge	75
Figure 30. Nombre de sous-ensembles lymphocytaires indiqués dans le sang de donneurs marocains en fonction de l'âge.....	76
Figure 31. Pourcentage des sous-ensembles lymphocytaires indiqués dans le sang des donneurs marocains en fonction de l'âge.....	77
Figure 32. Comparaison entre les valeurs médianes du nombre absolu des sous-population Lymphocytaire dans différents pays.....	79
Figure 33. Distribution de 1040 patients analysé de la base de données.....	99
Figure 34. Numération des sous-populations lymphocytaires dans les sous-groupes SCID.....	103
Figure 35. Manifestations cliniques chez les patients non-PID et SCID.....	104
Figure 36. Distribution des manifestations cliniques dans les quatre sous-groupes de Patients	

Liste des Tableaux

Tableau I. 10 Signes d'alerte d'un déficit immunitaire Hériditaire chez un enfant.....	12
Tableau II. Distribution des patients par groupe d'âge.....	52
Tableau III. Valeurs normales des Immunoglobulines A, G, M en fonction de l'âge.....	55
Tableau IV Liste des dots plots utilisés pour chaque population à déterminer.....	58
Tableau V Valeurs normales des sous-populations lymphocytaires en fonction de l'âge.....	60
Tableau VI. Fourchette normale de l'activité des granulocytes et monocytes sur différents stimuli	66
Table VII. Valeurs absolues de sous-ensembles lymphocytaires (T, B, NK).....	73
Tableau VIII. Valeurs relatives (%) des sous-ensembles de lymphocytes (T, B, NK).....	74
Tableau X. Comparaison entre l'intervalle de tolérance des sous-populations lymphocytaire du Maroc et des Pays-Bas.....	80
Tableau XI. Données démographiques des enfants SCID et enfants non DIP.....	100
Tableau XII. Comptage des sous-populations de lymphocytes dans les quatre sous-types de SCID.....	101

Glossaire

Déficits immunitaires : Anomalies génétiques touchant le système immunitaire commencent à apparaître dès l'âge pédiatrique ou adulte, le plus souvent causé par des mutations bloquant le développement d'une lignée ou des mutations interférant avec la fonction des cellules

Déficits immunitaires primaires sévères : Un groupe de troubles génétiques hétérogènes du système immunitaire caractérisé par le dysfonctionnement de la maturation et du développement des lymphocytes T et peut être accompagnée par des fonctions perturbées des lymphocytes B et ou les cellules tueuses naturelles

Prévalence : Nombre de cas d'une maladie, au sein d'une population donnée, dans un moment précis généralement présenté par une proportion.

Incidence : Nombre de nouveaux malades ou de nouvelles maladies dans une population durant une période précise, généralement 1 an. Elle peut être exprimée sous forme d'incidence cumulée ou d'incidence instantanée.

Valeurs normales : Des valeurs calculées à partir d'un ensemble de patients sains et sur lesquelles se basent l'interprétation des résultats.

.

Table de matière

Résumé.	<i>i</i>
Abstract	<i>ii</i>
Liste des abréviations	<i>iii</i>
Liste des Illustrations	<i>iv</i>
Liste des Tableaux	<i>vi</i>
Glossaire	<i>vii</i>
Introduction générale	1
Système immunitaire	1
<i>Système immunitaire innée</i>	2
<i>Système immunitaire adaptatif</i>	2
<i>Cellules de système immunitaire adaptatif</i>	3
<i>Lymphocytes B</i>	3
<i>Lymphocytes T</i>	5
<i>Lymphocytes T CD8</i>	6
<i>Lymphocytes TCD4</i>	7
<i>Cellules T régulatrices (T reg)</i>	8
<i>Facteurs de différenciation des cellules immunitaire</i>	9
<i>Age et Sexe</i>	9
<i>Environnement</i>	10
<i>Génétique</i>	10
<i>Infections</i>	10
<i>Infections Précoces</i>	10
<i>Infections bactériennes</i>	11
<i>Infections nosocomiales</i>	11
Déficit immunitaire primitif	11
<i>Déficits immunitaires combinés (cellulaire CID /SCID)</i>	13
<i>Déficits immunitaires humoraux (DIH)</i>	13
<i>Agammaglobulinémies congénitales (Bruton)</i>	14
<i>Défauts de recombinaison de commutateur de classe syndrome hyper IGM</i>	14
<i>Déficit commun variable (CIVD)</i>	15
<i>Déficits Syndromique (Le Syndrome de Wiskott-Aldrich)</i>	15
<i>Syndrome de Di-George</i>	16
<i>Le déficit du compliment</i>	16
<i>Diagnostic du déficit immunitaire primitif</i>	17
<i>Diagnostic clinique : étape 1</i>	17
<i>Diagnostic biologique : Étape 2</i>	18
<i>Caractérisation des DIP étape 3</i>	19
<i>Dosage génétique Étape 4</i>	21

<i>L'immunodéficience combinée sévère (SCID)</i>	21
<i>Transmission du SCID</i>	22
<i>X-linked SCID (XSCID)</i>	22
<i>Autosomal récessif SCID</i>	23
<i>Types de SCID</i>	24
<i>LEAKY SCID</i>	24
<i>Variante SCID (lymphocytes T toujours bas mais pas de défaut dans les gènes SCID connus)</i>	25
<i>SCID typique</i>	25
<i>Les phénotypes du SCID</i>	25
<i>Déficit immunitaire combiné sévère B-positif, NK-négatif (T-B + NK-SCID)</i>	25
<i>Déficit immunitaire combiné sévère B négatif et NK positif (T-B-NK + SCID)</i>	26
<i>Déficit immunitaire combiné sévère B-négatif, NK-négatif (T-B-NK-SCID)</i>	26
<i>Déficit immunitaire sévère B-positif, NK-positif(T-B+NK+SCID)</i>	27
<i>Les Mutation génétiques causant le SCID</i>	28
<i>Déficit SCID (ADA) de désaminase d'adénosine</i>	28
<i>Déficit de la chaîne alpha du récepteur IL-7 (IL-7Rα-Deficeint SCID)</i>	29
<i>Déficit SCID de la kinase 3 de Janus</i>	29
<i>Déficiences de la chaîne CD3 (CD3– SCID déficient)</i>	30
<i>Déficiences CD45</i>	31
<i>Les Déficiences géniques activant la recombinaison (SCID déficient en RAG1 ou RAG2)</i>	31
<i>Déficit immunitaire par Carence en Artémis</i>	32
<i>Épidémiologie mondiale du SCID</i>	33
<i>Diagnostic du SCID</i>	34
<i>Informations familiales</i>	35
<i>Diagnostic Clinique</i>	35
<i>Diagnostic biologique</i>	35
<i>Traitement du SCID</i>	37
<i>Protection contre les infections</i>	37
<i>Perfusions d'anticorps</i>	37
<i>Greffes de cellules souches/moelle osseuse</i>	37
<i>La Cytométrie en flux :</i>	38
<i>Les composants et leurs rôles</i>	39
<i>Le système fluide :</i>	39
<i>Le système Optique</i>	40
<i>Système électronique</i>	41
<i>Les détecteurs de photons</i>	42

<i>Les explorations du système immunitaire par cytométrie en flux</i>	42
<i>Évaluation de DIP associée à une altération des populations (ou sous-populations) lymphocytaires</i>	42
<i>Évaluation du DIP par détection de défauts des protéines de la surface cellulaire</i>	43
<i>Évaluation du DIP par détection les défauts d'expression des protéines intracellulaires</i>	44
<i>Évaluation de DIP par détection les anomalies fonctionnelles</i>	44
<i>Les tests de prolifération lymphocytaire (TTL)</i>	45
<i>I.1. Patients et échantillons</i>	51
<i>I.2. Méthodes</i>	52
<i>I.2.1. Étude immunologique</i>	52
<i>I.2.1.1 Numération de la formule sanguine</i>	52
<i>I.2.1.2. Dosage des immunoglobulines par techniques néphélobimétrie</i>	52
<i>I.2.1.3 Immunophénotypage des sous populations lymphocytaire par cytométrie en flux</i>	55
<i>Quantification de l'activité du Burst oxydatif des monocytes et des granulocytes</i>	60
<i>2ème Partie : Étude de l'épidémiologie régional du SCID dans le monde</i>	66
<i>3ème Partie : Caractérisation et étude des patients SCID au Maroc</i>	68
<i>Laboratoire d'immunologie cellulaire (ImmCell)</i>	69
<i>Collecte des données</i>	69
<i>Base de données</i>	69
<i>Analyse des patients de la base de données et leurs diagnostics</i>	70
<i>Patients SCID</i>	70
<i>Diagnostic</i>	70
<i>Analyse des données et statistiques</i>	70
<i>Stratégie de gîte pour classification des patients SCID :</i>	71
<i>1ere Partie : Détermination des valeurs normal des enfants dans une population marocaine</i>	73
<i>Résultats</i>	73
<i>Détermination des valeurs absolues et relatives du sous-ensemble de lymphocytes (T, B, NK) chez les enfants marocains.</i>	73
<i>Comparaison de l'évolution du nombre et pourcentages de lymphocytes et de ses sous-ensembles entre les groupes de jeune âge</i>	74
<i>Comparaison des valeurs normales des enfants marocains aux valeurs normales des enfants d'autre pays (Cameroun, en Turquie, aux Etats-Unis et aux Pays-Bas).</i>	78
<i>Discussion</i>	81

<i>Valeurs absolues et relatives du sous-ensemble de lymphocytes (T, B, NK) chez les enfants marocains.</i>	81
<i>Comparaison de l'évolution du nombre et pourcentages de lymphocytes et de ses sous-ensembles entre les groupes de jeune âge.</i>	82
<i>Comparaison des valeurs normales des enfants marocains aux valeurs normales des enfants d'autre pays (Cameroun, en Turquie, aux Etats-Unis et aux Pays-Bas).</i>	83
2ème Partie : Etude de l'épidémiologie régional du SCID dans le monde	84
<i>Amérique du Nord</i>	84
<i>Amérique centrale et du Sud</i>	85
<i>Europe occidentale</i>	86
<i>Pays scandinaves</i>	87
<i>Distribution de l'incidence et les gènes du SCID en Europe de l'est et Turquie.</i>	88
<i>Distribution de l'incidence et des gènes du SCID en Asie</i>	90
<i>Asie (Moyen-Orient)</i>	90
<i>Asie (Asie de l'Est)</i>	92
<i>Asie (y compris le Sud-Est et les autres)</i>	93
<i>Distribution de l'incidence et des gènes du SCID en Afrique du Nord.</i>	95
<i>Afrique du Sud</i>	95
<i>Afrique du Nord</i>	96
<i>Australie/Nouvelle-Zélande</i>	97
3ème Partie caractérisation et étude des patients SCID au Maroc	99
RÉSULTATS	99
<i>Distribution des patients Analysés des patients de la base de données</i>	99
<i>Caractéristiques démographiques des groupes SCID et non-SCID d'étudiés</i>	100
<i>Caractéristiques immunologiques des patients SCID marocain</i>	101
<i>Caractéristiques cliniques des patients SCID Marocain en comparaison aux patients non-PID</i>	103
DISCUSSION	106
<i>Distribution des patients Analysés des patients de la base de données</i>	106
<i>Caractéristiques démographiques des groupes SCID et non-SCID d'étudiés</i>	106
<i>Les caractéristiques immunologiques des patients SCID marocain</i>	107
<i>Caractéristiques cliniques des patients SCID Marocain en comparaison aux patients non-PID</i>	109

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction générale

Généralités

Le système immunitaire est un réseau complexe de cellules et de facteurs moléculaires capables de reconnaître et d'éliminer les agents pathogènes ou molécules étrangères (antigènes) tels que les organismes pathogènes et les molécules nocives exogènes ou endogènes auxquels nous sommes constamment exposés. L'immunologie peut être décrite comme la somme de tous les processus physiologiques qui confèrent à l'hôte la capacité de reconnaître les matières étrangères à lui-même et de les neutraliser, de les éliminer ou de les métaboliser avec ou sans dommages pour ses propres tissus. Cette capacité à différencier le "soi" du "non-soi" constitue la caractéristique fondamentale de la réponse immunitaire et la base de la compréhension de l'immunologie clinique dans la santé et la maladie. **Figure 1** schématise l'issue possible lors d'une rencontre entre la réponse immunitaire de l'hôte et une substance étrangère. Si la substance étrangère ne peut être bloquée par les barrières naturelles telles que la peau et les sécrétions muqueuses, elle entre en contact avec le système immunitaire (**figure 1**). Le développement d'une réponse immunitaire est un mécanisme à plusieurs niveaux qui dépend de l'interaction entre le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif, qui comprennent tous deux plusieurs types de cellules ayant des fonctions et une distribution distincte dans l'organisme ([Brunker 2012](#) ; [Song & Colonna, 2018](#)).

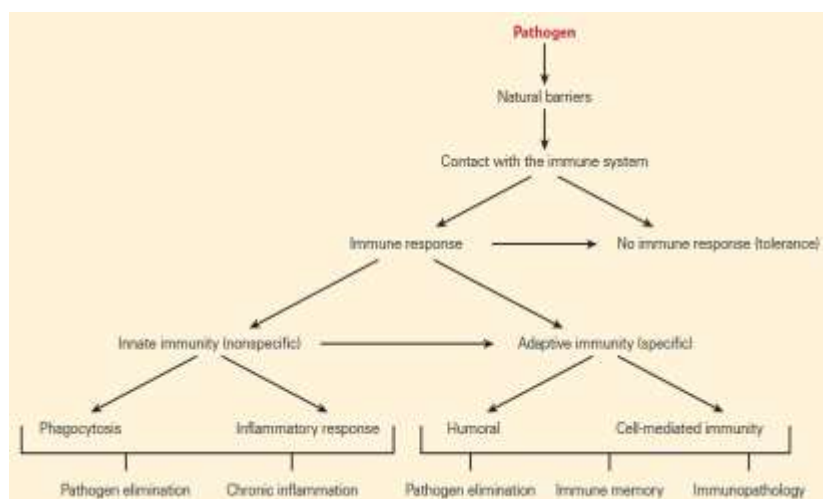


Figure 1. Voies possibles lors de la rencontre de l'hôte avec une configuration étrangère ([Brunker 2012](#)).

I.1 Système immunitaire inné

L'immunité innée représente généralement la première ligne de défense contre les infections ; elle est rapidement disponible pour répondre aux agents pathogènes. Les principaux types de cellules qui composent le système immunitaire inné sont les granulocytes (mastocytes, neutrophiles, basophiles et éosinophiles), les cellules lymphoïdes innées (ILC), les cellules tueuses naturelles (NK), les monocytes, les lymphocytes, les éosinophiles, les macrophages et les cellules dendritiques (CD), alors que ceux du système immunitaire adaptatif comprennent les cellules T et les cellules B. Les mécanismes impliqués dans les réponses innées comprennent un groupe de récepteurs qui interviennent dans la détection des pathogènes grâce à la reconnaissance de nombreuses motifs moléculaires, nombreux stimulus d'origine pathogène ou environnementale ont le potentiel d'induire des effets métaboliques et épigénétiques qui provoquent un changement de programme transcriptionnel à la fois dans le progéniteur et en phase terminale des cellules immunitaires innées différenciées. Ces événements incitent le système immunitaire inné à induire une réponse forte et plus efficace aux infections ultérieures, avec un effet qui peut être prolongé pendant des mois, voire des années (Netea et al., 2011 ; Netea et al., 2016 ; Song & Colonna, 2018).

I.2 Système immunitaire adaptatif

L'immunité adaptative a une cible plus élevée de spécificité qui se développe sur un temps de réponse plus long, au cas par cas, contre chaque pathogène qui échappe à la clairance par l'immunité innée. Cette spécificité est obtenue grâce à des récepteurs de surface capable de reconnaître un seul épitope d'un seul antigène. L'activation des cellules immunitaires adaptatives spécifiques de l'antigène implique un mécanisme moléculaire connu sous le nom de présentation de l'antigène, dans ce mécanisme des groupes de cellules immunitaires exposent des épitopes dérivés de pathogènes au sein d'une configuration moléculaire que les cellules T peuvent reconnaître par leurs récepteurs de surface spécifiques aux épitopes. Les cellules immunitaires adaptatives sont ensuite activées et se développent de manière clonale et induisent une chaîne de mécanismes qui leur permettent d'attaquer les cellules infectées, d'empêcher la dissémination des agents pathogènes vers les tissus sains et d'aider le système immunitaire inné à éliminer l'infection. La mémoire immunologique est gérée par

l'immunité adaptative et a une longue durée sous forme de cellules spécifiques de pathogènes capables de faire une réponse adaptative plus rapide et plus forte en cas d'une autre rencontre avec le même pathogène.

I.3 Cellules de système immunitaire adaptatif

Les cellules impliquées dans la défense de l'organisme sont toutes issues de cellules souches pluripotentes localisées dans la moelle osseuse. Sous l'effet de différentes cytokines, ces cellules souches vont se différencier en précurseurs lymphoïdes qui vont donner naissance aux lymphocytes B, T et « Natural killer » ou précurseurs myéloïdes vont donner naissance aux cellules de la lignée phagocytaire (polynucléaires neutrophiles -PNN-, monocytes, macrophages, cellules dendritiques).

I.3.1 Lymphocytes B

Les lymphocytes B sont des cellules importantes du système immunitaire adaptatif et sont essentielles pour la production d'anticorps. Les lymphocytes B détectent directement les antigènes grâce à des récepteurs membranaires (BCR). Différents BCR ont une spécificité antigénique distincte, et chaque cellule B ne possède qu'un seul type de BCR. Les cellules B constituent le troisième groupe de cellules présentatrices d'antigène, l'internalisation de l'antigène est plus efficace lorsqu'elle est médiée par le BCR de lymphocytes B. Une fois l'épitope d'antigénique est reconnu par un BCR, l'antigène est internalisé, avec le récepteur, et traité pour la présentation. Les peptides dérivés d'antigènes deviennent alors disponibles sur la surface de la cellule B pour la reconnaissance par les cellules T, la reconnaissance des peptides dérivés de l'antigène par les cellules Th activées conduit à l'activation et la prolifération des cellules B, pour renforcer leur spécificité envers des classes précises de pathogènes, et développer les régions variables de leurs BCR afin d'augmenter l'affinité pour leur épitope cible, et produire des formes solubles sécrétées de leurs BCR appelés les anticorps ou les cellules B mémoire. Les anticorps produits par les cellules B activées ont plusieurs fonctions parmi lesquelles l'inhibition de l'activité des pathogènes et molécules nuisibles ou aidant

à l'identification et à l'élimination des agents pathogènes par les cellules immunitaires (Editors & Board, 2002 ; Eibel et al., 2014 ; Kumari 2017).

Les lymphocytes B présentent un répertoire d'immunoglobulines nécessaire pour une protection efficace de l'hôte contre les différents agents pathogènes. Les immunoglobulines (Ig) sont secrétées par les plasmocytes qui représentent le stade final de différenciation des lymphocytes B. Ces derniers se développent à partir des cellules souches hématopoïétiques (précurseurs lymphoïdes) de la moelle osseuse où ils subissent une série de différenciations durant lesquelles survient le réarrangement des gènes du récepteur des lymphocytes B (BCR - B cell-receptor) voir (**Figure 2**). Ces BCRs sont représentés par un complexe de signalisation associé à une molécule d'IgM membranaire. Ces BCRs sont capables de reconnaître une grande variété d'antigènes. L'expression réussie de la première chaîne lourde Mu et ultérieurement de la chaîne légère (Kappa ou Lambda) sur la surface de la cellule B immature permet la poursuite de la différenciation du stade pré-B au stade de cellule B mature naïve. Après avoir quitté la moelle osseuse, la rencontre du lymphocyte B avec l'antigène, dans les ganglions lymphatiques régionaux, initie une série supplémentaire de différenciations de lymphocytes B aboutissant à la production des immunoglobulines. Une fois l'interaction avec l'antigène spécifique accomplie, les cellules B sont activées et se divisent en cellules mémoire ou en plasmocyte, une cellule spécialisée dans la fabrication et la sécrétion d'anticorps circulants. Dans certains cas, ce sont les lymphocytes T qui activent et transforment les lymphocytes B, la commutation isotypique mène à la substitution des IgM initiaux par des IgG, IgA ou des IgE de haute affinité. Le rôle initial fondamental des IgM réside dans la liaison avec les agents pathogènes intravasculaires et dans l'activation du complément, tandis que la réponse immunitaire secondaire, propose 3 productions des immunoglobulines type IgG, IgA et IgE, est nécessaire pour une protection continue et efficace contre les agents pathogènes invasifs.

- Les IgA accomplissent de multiples fonctions dans la défense des muqueuses. Dans le milieu extravasculaire.
- Les IgG constituent la clé effectrice du processus d'opsonisation et d'activation du complément.
- Les IgE sont impliquées dans la défense contre les parasites.

La production des IgG de haute affinité constitue un pilier dans la réussite de la vaccination ainsi qu'une composante capitale de la mémoire immunitaire contre différents agents infectieux. Les troubles résultant d'un déficit dans chacune des étapes citées antérieurement ont des conséquences cliniques plus ou moins graves.

Généralement un défaut qui se produit lors des étapes critiques du développement des cellules B a le potentiel de causer des DIH (Déficits immunitaires humoraux).

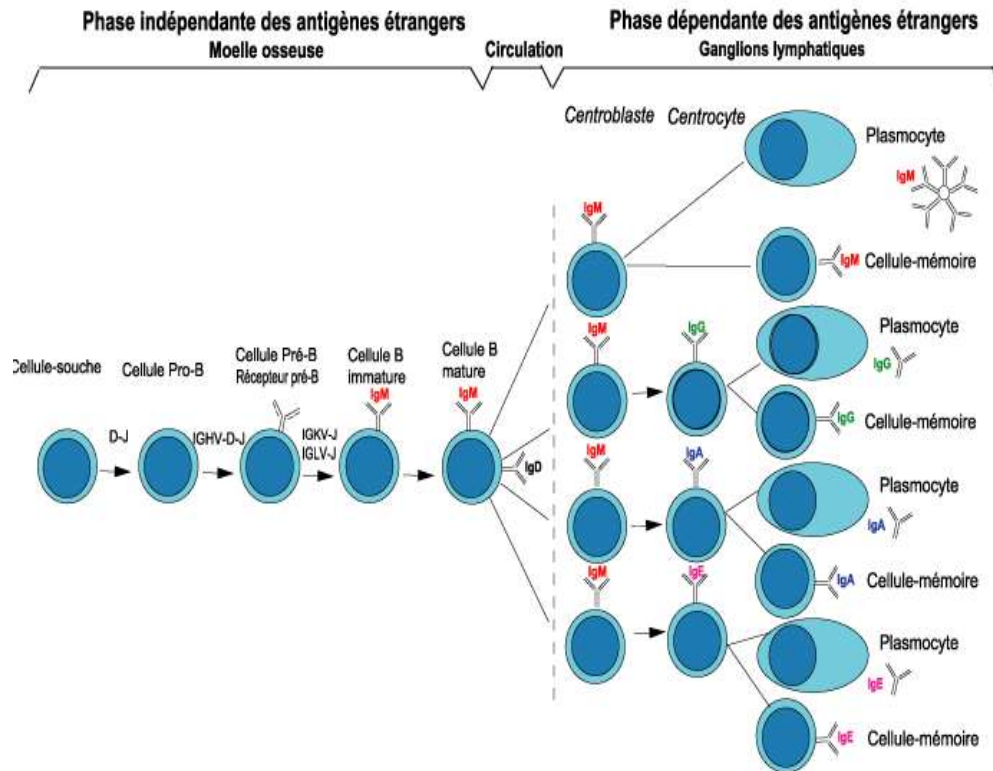


Figure 2. Différenciation des lymphocytes B (Lefranc M-P, et Lefranc G, 2002)

I.3.2 Lymphocytes T

Dans le thymus les cellules T immature subissent une première sélection qui permet de déterminer les lymphocytes capables de détecter les antigènes du soi et une deuxième sélection pour déterminer ceux capable de détecter les antigènes du non-soi, pour qu'ils intègrent les organes lymphoïdes secondaires où aura lieu la maturation de la réponse adaptative (**Figure 3**). La différenciation se fera en plusieurs étapes et prendra en compte le réarrangement des gènes codant le TCR afin de permettre son expression. Contrairement au lymphocytes B, les lymphocytes T reconnaissent les pathogènes présentés à la surface des APC. Cette reconnaissance est méditée par le récepteur des

lymphocytes T (TCR), Les TCR sont des récepteurs membranaires caractéristiques des lymphocytes T, et chaque cellule T est caractérisée par un seul type de TCR. L'organisme d'un individu sain possède un énorme répertoire de TCR et en présence d'un pathogène envahissant, seuls les lymphocytes T dont le TCR reconnaît les antigènes dérivés de ce pathogène spécifique sont activés pour qu'elles deviennent des cellules effectrices qui vont se multiplier. Il existe 2 principaux types de lymphocytes T, les CD4 et les CD8 cytotoxiques avec d'autres variantes (T régulateurs) **(Figure 4)** (Ekkens et al., 2007 ; Buchholz et al., 2016 ; Halle et al., 2017).

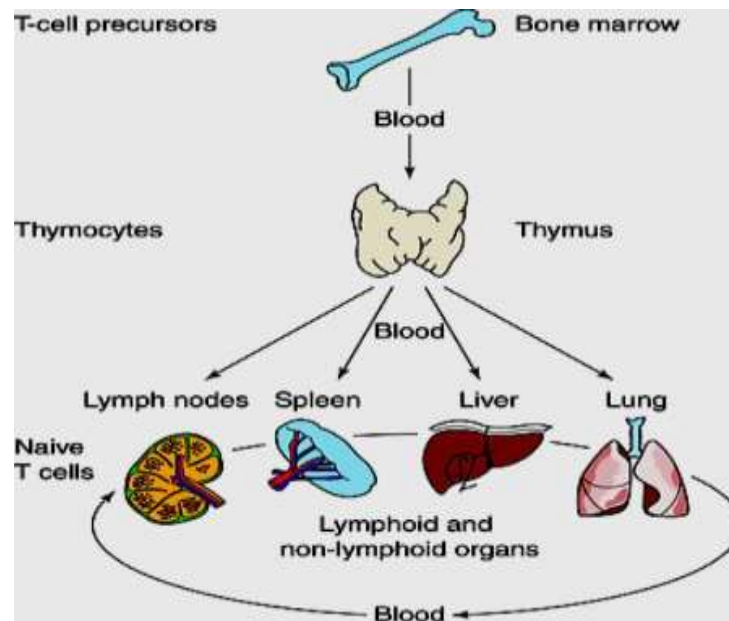


Figure. 3 : Différenciation et sélection des lymphocytes T (Batteux F, 2003).

I.3.3 Lymphocytes T CD8

Les cellules T cytotoxiques (ou lymphocytes T cytotoxiques, CTL) sont des acteurs importants de la réponse immunitaire contre les pathogènes intracellulaires tels que les virus ou certaines bactéries. Ils sont également impliqués dans le contrôle de l'élimination des cellules tumorales ; se caractérisent par le cluster de différenciation CD8, ainsi que par le TCR-2. Le développement d'une réponse TCD8+ cytotoxique est nécessaire pour l'organisme afin de pouvoir contrôler de nombreuses infections virales et bactériennes. Lors d'une infection, les cellules présentatrices d'antigènes, comme les monocytes inflammatoires, les macrophages ou les cellules dendritiques, produisent des cytokines qui vont agir de façon directe ou indirecte pour

influencer les fonctions d'activation et différenciation des lymphocytes T CD8+. Parmi ces médiateurs, les interférons (IFN) de type II (qui regroupent les IFN α et β). Ces cytokines présentent également des propriétés immunomodulatrices importantes. Une fois différenciées en CTL, ces cellules (T CD8) seront armées pour mettre en œuvre leur potentiel cytotoxique ([Ekkens et al., 2007](#) ; [Martinet & Goriely, 2012](#) ; [Tonon et al., 2015](#)).

I.3.4 Lymphocytes TCD4

Les cellules T auxiliaires (Th) sont CD4 + et sont divisées en différentes sous-classes avec une capacité distincte à réguler l'activité d'autres cellules immunitaires innées ou adaptatives, en particulier les macrophages et les cellules B. La reconnaissance d'un peptide antigénique dans un contexte de CMH de classe II permettra à un lymphocyte T CD4+ de s'activer, de proliférer (expansion clonale) et après différenciation, d'acquérir ses fonctions effectrices. Il pourra alors se différencier en deux types de lymphocytes T auxiliaires ou T « helpers » (TH) Cette classification première est fonction de l'implication de ces cellules effectrices dans la réponse immune contre des pathogènes intra (Th1) ou extra (Th2) cellulaires et du profil cytokinique qui leur est associé : TH1 ou bien TH2. La lignée TH1 sera plus impliquée dans les réponses contre les pathogènes intracellulaires (virus, bactéries...), par la sécrétion des cytokines (IL-2, IFN γ , TNF- α , lymphotoxine ou TNF- β ...). Les cellules TH1 agiront notamment sur les CPA en augmentant leur capacité de phagocytose, leur production de médiateurs pro-inflammatoires ainsi que leur aptitude à présenter et à activer des lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes TH2 seront quant à eux plutôt impliqués dans les réponses contre les pathogènes extracellulaires (parasitoses...) avec le profil cytokinique suivant : IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13. Les lymphocytes TH2 participeront activement aux réponses allergiques, ainsi qu'aux effets inhibiteurs sur les réponses pro-inflammatoires. Ces deux populations de TH vont par leur sécrétion de cytokines s'inhiber mutuellement favorisant ainsi leur propre développement. L'identification subséquente d'autres lignages a conduit à la révision du paradigme Th1/Th2 et à élargir l'éventail des sous-populations de LT CD4 aux sous-populations T régulatrices (Treg), T helper 17 (Th17) et T folliculaire helper (TFH) ([Peguillet, 2014](#)).

I.3.5 Cellules T régulatrices (T reg)

Les cellules T régulatrices (T reg) sont CD4 + et sont activées par les mêmes mécanismes que ceux décrits pour d'autres classes de lymphocytes T effecteurs à la différence que leur spécificité TCR est dirigée vers les auto-antigènes. Sont alors impliqués dans le maintien de la tolérance périphérique et la prévention des maladies auto-immunes ainsi que la fonction des Tregs n'est pas liée à l'élimination des pathogènes mais plutôt au maintien des mécanismes de l'auto-reconnaissance et tolérance du soi. L'existence des Treg a été suggérée en observant le rôle central du thymus dans le développement d'une population de lymphocytes T régulatrice. Il est admis que les Treg issus du thymus sont dites naturels (n T reg) et dépendent de l'interleukine-2 pour leur survie. De nombreuses expériences ont montré que des lymphocytes T aux fonctions régulatrices peuvent également être induits (Treg) en périphérie à partir de lymphocytes T conventionnels naïfs. Pour la production et l'induction des Treg, la présence dans L'environnement cytokinique (IL-10 et TGF- en particulier) est essentielle ([Aschenbrenner et al., 2007](#) ; [Siri et al., 2012](#))

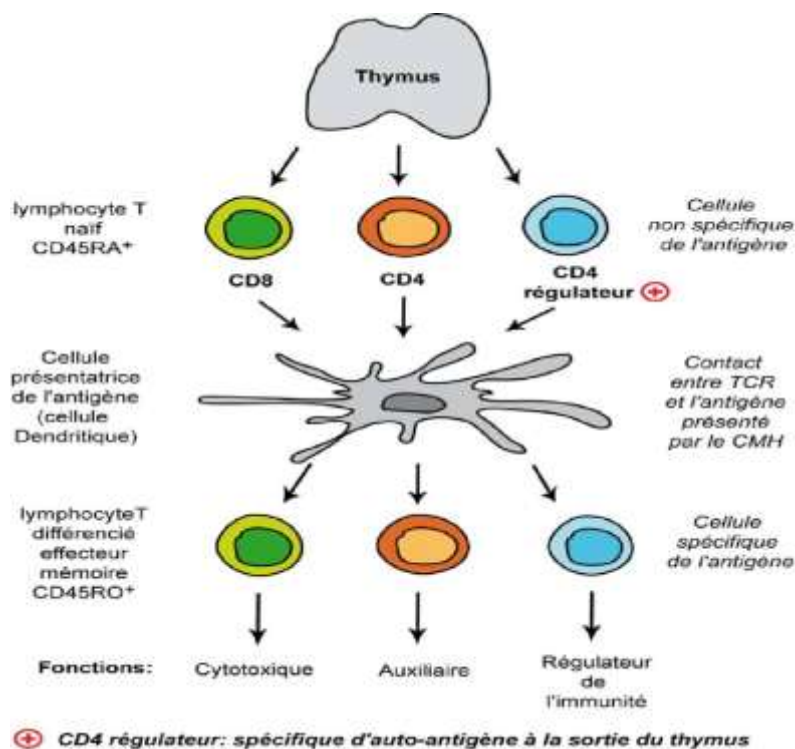


Figure. 4 Schéma simplifié de la différenciation des lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes T CD8, CD4 et CD4 régulateur (Treg) sortent du thymus sous forme naïve.

La rencontre avec l'antigène présenté par le CMH d'une cellule présentatrice de l'antigène et le TCR du lymphocyte T va provoquer la différenciation de lymphocytes T naïfs en lymphocytes effecteurs cytotoxiques et auxiliaires ([Pour et al. 2011](#)).

I.4 Facteurs de différenciation des cellules immunitaire

Le système immunitaire a un rôle essentiel contre les agents pathogènes. Les interactions hôte-pathogène déclenchent des réponses immunitaires par l'activation des populations de cellules immunitaires spécialisées. ([Patin et al., 2018](#)). Plusieurs études ont été faites sur les cellules immunitaires des personnes en bonne santé et ont montré la présence des différences importantes existant entre ces personnes. ([Roman et al., 1995](#)) ces différences peuvent être causé par l'effet prédominant des facteurs.

I.4.1 Age et Sexe

Ils agissent sur la composition des cellules sanguines humaines ([Liston et al., 2016](#)). L'âge généralement est associé à une diminution du taux de lymphocytes mais à une augmentation au niveaux des cellules myéloïdes, plusieurs sous-populations de lymphocytes T activés et mémoires augmentent avec l'âge ([Goronzy & Weyand, 2017](#)) ainsi que les niveaux du sous-ensemble de lymphocytes T varient considérablement avec l'âge. Tandis que Le sexe est associé à différents sous-ensembles de cellules B ; Les femmes avaient une proportion plus élevée de cellules CD4, une proportion plus faible de cellules CD8, et un ratio plus élevé que les hommes. Il a également été montré que l'âge était associé avec une augmentation dans la proportion des cellules CD4, une diminution de la proportion de cellules CD8, et une augmentation des T helper. Ainsi, sur les populations de cellules T naïves et les populations de cellules T mémoires, respectivement, alors que le sexe influence le nombre des cellules innées et de cellules adaptatives. ([Tollerud et al., 1989](#) ; [Patin et al., 2018](#))

I.4.2 Environnement

Un facteur qui affecte la différenciation des cellules immunitaires, notant l'effet saisonnier sur les sous-populations de cellules immunitaires (Liston et al., 2016 ; Brodin et al., 2015), les Sous-ensembles de cellules B sont généralement les plus systématiquement touchées, toutes les sous-populations de cellules B affichent des niveaux nettement plus élevés en hiver. La même chose pour les IgG, T reg, NK. Les monocytes classiques (CD14 ++ CD16-) sont également significativement plus élevés en hiver, tandis que les granulocytes, Les cellules T (CD4, CD8) ainsi que les cellules mémoires montrent un pic plus élevé pendant les mois d'été (Ter Horst et al., 2016 ; Aguirre-Gamboa et al., 2016).

I.4.3 Génétique

Généralement la variation génétique humaine affecte les paramètres des cellules immunitaires, en particulier l'expression à la surface des cellules des marqueurs classiquement utilisés pour identifier La différenciation ou activation des leucocytes (Patin et al., 2018).

I.4.4 Infections

Une infection désigne l'envahissement puis la multiplication de micro-organismes au sein d'un organe du corps vivant. Ces micro-organismes peuvent être des virus ou des bactéries. Une infection peut également être provoquée par des parasites ou par des champignons. Tous les organes et tous les systèmes de l'organisme peuvent être touchés par des agressions infectieuses : la peau, le système ORL et bronchique, l'appareil digestif, l'appareil urinaire et gynécologique, le système nerveux central, etc... "L'infection devient une maladie lorsque le système immunitaire et ses barrières ne sont pas à la hauteur de l'agression.

I.4.4.1 Infections Précoces

Les primo-infections sévères à cytomégalo virus (CMV) dans les premières semaines de vie ou à germes opportunistes (*Pneumocystis jiroveci*, cryptosporidie, microsporidie, *Aspergillus*) peuvent être évocatrices de déficit immunitaire combiné sévère (DICS). Les

primo-infections à Epstein-Barr virus (EBV) compliquées d'un syndrome d'activation lympho-histiocytaires doivent faire penser à une lympho-histiocytose familiale ou un syndrome lymphoprolifératif lié à l'X. ([Bertrand and Baleydier, 2010](#))

I.4.4.2 Infections bactériennes

Les infections bactériennes sont dues à des bactéries qui causent maladies dites pathogènes. Il existe une grande variété de bactéries pathogènes qui peuvent provoquer un grand nombre d'infections : pulmonaires, ORL (nez, gorge, oreilles), stomatologiques (cavité buccale), digestives, urinaires, etc. La première rencontre entre microbe et l'homme survient généralement à la naissance. Ces organismes jouent un rôle dans la santé et la maladie, et l'interaction de ces organismes avec le corps humain intervient dans le développement du processus de la réponse immunitaire ([Reid, 2004](#)).

Les infections Bactériennes sévères (méningite, ostéomyélite, pneumonie) et/ou répétées ou traînantes (infections ORL, bronchiques) doivent évoquer un déficit de l'immunité humorale. Le nouveau-né ne le fait pas immédiatement vu la présence des anticorps maternels protégeant les enfants durant les premiers mois de vie et tous déficits en anticorps qui se manifestent par des infections bactériennes n'apparaîtront donc qu'après un intervalle libre.

I.4.4.3 Infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont acquises dans un établissement de soins. Le délai entre l'admission et le début de l'infection doit être de 48–72 heures. Peuvent-être virales ou bactériennes. Les infections nosocomiales touchent généralement les patients immunodéprimés en raison de l'âge, les maladies sous-jacentes ou médicales ou chirurgicales ([Weinstein, 1998](#) ; [Lachassinne et al., 2004](#)).

II. Déficit immunitaire primitif

Les déficits immunitaires primitifs ou dits héréditaires sont des maladies ou des anomalies génétiques touchant l'immunité adaptatives ou innée commencent à apparaître dès l'âge pédiatrique ou jeune adulte ([Model et al., 2014](#) ; [Thomas & Audrain, 2019](#)). La société internationale d'immunologie déclare environ 300 gènes connus ([Bousfiha et al.,](#)

2015 ; Picard et al., 2015). Le classement des déficits immunitaires primitifs dépend des cellules atteintes (**Figure 5**). Les manifestations révélatrices des déficits immunitaires primitifs sont surtout des infections sévères et/ou récidivantes, ou causées par des germes opportunistes, mais d'autres signes d'appel et d'autres complications sont possibles : allergies sévères, cassure de la courbe staturopondérale, manifestations auto-immunes, cancers ou manifestations syndromiques associées. Un déficit immunitaire doit être recherché devant un ou des signes cliniques d'alerte (**Tableau I**) (Thomas & Audrain, 2019).

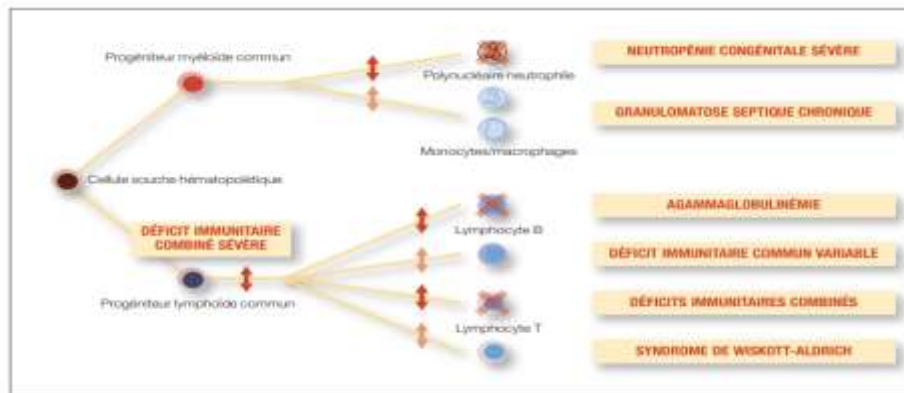


Figure 5: Mécanismes physiopathologiques des déficits immunitaires primitifs  : mutations bloquant le développement d'une lignée ;  : mutations interférant avec la fonction des cellules (Suarez 2010).

Tableau I. 12 signes d'alerte pour les nourrissons dans leur première année de vie (Carneiro-Sampaio, Jacob, and Leone 2011)

1	Infections fongiques, virales ou bactériennes sévères et/ou persistantes
2	Réaction défavorable aux vaccins vivants, particulièrement au BCG
3	Diabète sucré persistant ou autre manifestation auto-immune et/ou inflammatoire
4	Symptômes évoquant un sepsis sans isolement de germe
5	Lésions cutanées étendues
6	Diarrhée persistante
7	Malformations cardiaques congénitales (principalement des anomalies conotroncales)
8	Retard de chute du cordon ombilical (>30 jours)
9	Cas connus de DIP dans la famille ou de décès précoces suite à une infection
10	Lymphopénie persistante (2500 cellules /mm ³) ou autre cytopénie, ou leucocytose en absence d'infection
11	Hypocalcémie avec ou sans convulsions
12	Absence d'ombre thymique sur les radiographies

II.1 Déficits immunitaires combinés (cellulaire CID /SCID)

Les déficits immunitaires combinés (CID) sont un groupe de troubles génétiques phénotypiquement hétérogènes caractérisés par de profondes déficiences de la fonction des lymphocytes T et B, qui prédisposent le patient à des complications infectieuses et non infectieuses. On a découvert que des mutations dans 32 gènes différents causaient ces conditions sévères. Les déficits immunitaires cellulaires sont nombreux et l'on peut citer les déficits en CD40 ligand, les déficits d'expression des protéines HLA de classe II, les déficits en PNP, les déficits en ZAP-70 ou en CD8, les déficits en DNA ligase IV... Les lymphocytes T sont en nombre normal ou diminué, mais avec des fonctions anormales, associés à des lymphocytes B en nombre normal ou diminué et un déficit de la fonction. L'incidence globale des CID est estimée à 1 sur 75000 à 100000 naissances vivantes ([Lipstein et al., 2010](#)). Vu que la plupart des formes de CID /SCID sont héritées comme traits autosomiques récessifs, Les CID/SCID sont caractérisé par un haut niveau d'hétérogénéité génétique, immunologique et clinique et plus commune dans les zones à fort taux de consanguinité ([Al-Herz et al., 2011](#) ; [Al-Herz & Al-Mousa, 2013](#) ; [Al-Herz et al., 2015](#) ; [Picard et al., 2015](#)).

II.2 Déficits immunitaires humoraux (DIH)

Les déficits immunitaires humoraux (DIH) sont les déficits les plus fréquents. Peuvent se manifester à tout âge avec des pics dans l'enfance causées par diverses mutations génétiques ([Vetrie et al., 1993](#)). Leur conséquence finale est l'incapacité à produire des anticorps et donc une réponse immunitaire non efficace contre les agents pathogènes invasifs et par conséquence des infections récurrentes et/ou sévères. Les DIH se présentent par un spectre hétérogène de symptomatologies cliniques, allant le plus souvent des formes asymptomatiques dans les déficits sélectifs en IgA et en sous-classes d'IgG aux agammaglobulinémies congénitales sévères dans lesquelles la production de

tous les isotypes d'immunoglobulines est sévèrement diminuée (Winkelstein et al., 2006 ; Driessen & Van Der Burg, 2011).

II.2.1 Agammaglobulinémies congénitales (Bruton)

L'agammaglobulinémie liée à l'X fut, en 1952, le premier déficit immunitaire primitif décrit par Bruton (Driessen & Van Der Burg, 2011). Caractérisée par un taux de lymphocytes B circulants bas et par une réduction significative des concentrations de tous les isotypes d'Ig sériques prédisposant aux infections bactériennes, qui sont alors fréquentes et sévères. Il a été désigné que le gène responsable de l'agammaglobulinémie liée à l'X est Le gène BTK (Bruton's tyrosine kinase), qui code pour une tyrosine kinase cytoplasmique entrant dans la maturation des lymphocytes B (Vetrie et al., 1993). Cela induit un blocage au développement des lymphocytes B dans la moelle osseuse et alors leur absence dans le sang, en conséquence une anomalie dans la production d'anticorps de tous les isotypes d'immunoglobulines sera présente. Ces déficits humoraux se traduisent par des infections bactériennes sévères et récurrentes, apparaissant après l'élimination des anticorps d'origine maternelle (IgG passant librement la barrière placentaire).

II.2.2 Défauts de recombinaison de commutateur de classe syndrome hyper IGM

Le syndrome hyper IgM présente des affections rares caractérisées par une diminution des taux sériques d'IgG et d'IgA, mais normales ou taux élevé des d'IgM et ceci par ce que Les patients atteints du Syndrome d'Hyper-IgM (HIGM) sont incapables de passer de la production d'anticorps de type IgM à celle d'anticorps de types IgG, IgA ou IgE. Ce syndrome est causé par diverses anomalies génétiques qui affectent l'interaction entre les lymphocytes T et les lymphocytes B et plus couramment une anomalie d'une protéine trouvée à la surface des lymphocytes T activés " CD40 ligand " ; produite par un gène sur le chromosome X. Par conséquent c'est héritée en tant que caractère récessif lié à l'X et généralement constatée chez les garçons uniquement et c'est par ce que le ligand CD40 intervient dans certaines fonctions des cellules T les patients atteints du Syndrome d'Hyper-IgM lié à l'X (XHIM) présentent également une déficience de certaines des fonctions lymphocytaires T protectrices ; par contre autres formes rares du syndrome hyper IgM sont héritées en tant que caractère récessif autosomique et peuvent être observées chez les filles et les garçons. Ils sont causés par une affectation des voies de

signalisation du CD40. Plusieurs aspects cliniques peuvent être détectés chez les patients atteints du syndrome hyper IgM notamment ; les infections bactériennes, les infections pulmonaires, les infections opportuniste, des troubles gastro-intestinaux ([Allen et al., 1993](#) ; [Quartier et al., 2004](#) ; [Picard et al., 2018](#)).

II.2.3 Déficit commun variable (CIVD)

L'immunodéficience variable commune (CVID) est une carence en anticorps idiopathique avec une prévalence estimée de 1 : 25000. Il est défini par des taux sériques d'IgG inférieurs à 2 SD des valeurs normales en présence d'une diminution des niveaux IgA et ou d'IgM ; généralement caractérisé par une baisse du taux d'anticorps dans le sang (hypogammaglobulinémie). La majorité des patients semblent avoir des quantités normales de lymphocytes B, mais ces derniers ne se développent pas en plasmocytes capables de produire les divers types d'immunoglobulines et d'anticorps ; Les symptômes chez La plupart des patients CVID commencent jusqu'à l'enfance. Par conséquent, le diagnostic ne se fait qu'après 5 ans Parfois CVID est précédé par un déficit en IgA, un déficit en sous-classe d'IgG ou un déficit en anticorps anti-polysaccharide. Le CIVD affecte autant les hommes que les femmes. Il a été identifié par différentes causes génétiques. Les données épidémiologiques déclarent sa haute fréquence chez les Caucasiens que chez les Asiatiques ; le manque d'anticorps chez les patients atteints de CIVD les rend très sensibles aux infections notamment la pneumonie, les méningites, la sinusite aiguë ou chronique, la conjonctivite aiguë, l'otite, la rhinite purulente, les problèmes gastro-intestinaux (douleurs abdominales, ballonnements, nausées, vomissements, diarrhées et perte de poids...) plus la baisse des IgG est profonde plus les infections sont sévères ([Poodt et al., 2009](#) ; [Urschel et al., 2009](#) ; [Tahiat et al., 2014](#)) .

II.3 Déficits Syndromique (Le Syndrome de Wiskott-Aldrich)

Ce Syndrome est un déficit immunitaire primaire qui touche les lymphocytes T et B. et connu par diminution des plaquettes sanguines (Thrombocytopénie). En 1937, le Dr. Wiskott décrivait trois frères présentant de faibles numérations de plaquettes (thrombocytopénie), une diarrhée sanglante, de l'eczéma et des infections récidivantes des oreilles. Dix-sept ans plus tard, Dr. Aldrich démontrait que ce syndrome était hérité

en tant que caractère récessif lié à l’X dans les années 1950 et 1960 ; Le Syndrome de Wiskott-Aldrich est causé par des mutations dans Le gène WASP est situé sur le bras court du chromosome X. Ce gène qui code pour une protéine cytoplasmique a fonctions multiples (WASP), La protéine du syndrome de Wiskott-Aldrich est une molécule de signalisation et instrumentale pour l’immunité apparentée et innée, la motilité et la protection contre les maladies auto-immunes. Les aspects cliniques du Syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) varient d’un patient à l’autre et dépend de la gravité de la mutation, quatre phénotypes son principaux dans ce syndrome clinique : le syndrome de Wiskott-Aldrich classique, la thrombopénie liée à l’X, la thrombocytopénie intermittente et la neutropénie. Généralement les patients attients de ce syndrome ont une tendance accrue aux saignements ainsi que des infections bactériennes, des irritations de la peau et de l’eczéma ou des infections dues au déficit immunitaire sous-jacent ([Kariya et al., 2013](#) ; [Massaad, Ramesh and Geha, 2013](#)).

II.3.1 Syndrome de Di-George

Le syndrome de Di-George est un déficit immunitaire primitif décrit pour la première fois en 1965 en Philadelphie, du a une délétions génétique dans la région chromosomique de Di-George en 22q11 qui consiste à la perte (délétion) d'un petit fragment sur une région précise du chromosome 22, de mutations des gènes du chromosome 10p13 et de mutations d'autres gènes inconnus qui entraînent une Dys-embryogénèse des structures qui se développent à partir des poches branchiales pendant la 8ème semaine de grossesse. Les nourrissons qui ont un syndrome de Di-George présentent généralement des infections récidivantes qui apparaissent peu après la naissance, des malformations cardiaques (crosse de l'aorte interrompue, tronc artériel commun, tétralogie de Fallot, communication inter-auriculaire ou interventriculaire), anomalie du palais, dis-régulation du taux de calcium dans le sang, des perturbations du système immunitaire qui varie considérablement et la fonction des lymphocytes T ainsi que des difficultés d'apprentissage ([Minier et al., 2005](#) ; [Davies et al., 2017](#)) .

II.4 Le déficit du compliment

Le système du complément est un ensemble de protéines synthétisées par le foie qui interviennent dans la défense contre les maladies infectieuses et inflammatoires, par la solubilisation et l’élimination des complexes immuns au cours des maladies systémiques

; Ces protéines sont généralement explorées pour le diagnostic et le suivi de ces maladies auto-immunes et infectieuses. Les avancées récentes ont néanmoins mis en évidence leur intérêt dans d'autres affections. Les protéines du système du complément sont plasmatiques et membranaires qui s'activent en cascade par 3 voies principales. La voie alterne constitue la première ligne de défense contre l'infection et elle est active en permanence, contrairement aux deux autres voies. La principale protéine concernée est le C3, qui est régulée en permanence (Facteurs H, I...) et dont l'amplification de l'action est déclenchée par une liaison covalente avec une surface bactérienne. Le déficit héréditaire en C3 cause généralement des infections bactériennes à répétition de localisation O.R.L. et pulmonaire, son diagnostic se fait par la recherche de C3Nef, ou une enquête familiale est nécessaire. D'autres déficits également peuvent être présents notons le déficit héréditaire en properdine ; le déficit héréditaire en C1Inh qui est responsable de l'œdème angionévrotique héréditaire ; le déficit en C5, C6, C7 et en C8 qui se complique principalement d'infection systémique à *Neisseria* et notamment de méningites (Swart et al., 1993 ; Rosa et al., 2004 ; Pettigrew, Teuber and Gershwin, 2009 ; Sarma and Ward, 2011).

II.5 Diagnostic du déficit immunitaire primitif

II.5.1 Diagnostic clinique : étape 1

A pour objectif de rechercher les signes cliniques spécifiques de certains DIP et d'éliminer un déficit immunitaire acquis. Au cours d'une suspicion d'un DIP, la symptomatologie clinique ou le type du germe révélateur permettent en général une excellente catégorisation du déficit, en déficit humoral, cellulaire, combiné, des phagocytes ou du complément (**Figure 6**).

Données cliniques

Les données cliniques collectées doivent comprendre en générale, l'histoire vaccinale (réactions aux vaccins vivants (tels que le BCG)) ; Antécédents infectieux (âge de début, type d'infection, répétition, durée, antibiothérapie prolongée ; Manifestations associées (auto-immunité, allergies, tumeurs) ; Antécédents familiaux et arbre généalogique complet (consanguinité, décès en bas âge).

Examens physiques : doivent être envisagés :

- Retard de croissance ;
- Anomalie de la peau et des muqueuses : éruption, verrues, candidose chronique, état buccodentaire, Télangiectasies, aspect des cheveux (albinisme) et des phanères (dystrophie)
- Anomalies des organes lymphoïdes : adénopathies, splénomégalie, hépatomégalie, hypoplasie des organes lymphoïdes secondaires (ganglions, amygdales) observée dans l'agammaglobulinémie congénitale ;
- Pathologie ORL : otites, sinusites ;
- Pathologie ophtalmologique : conjonctivites chroniques, uvéites, télangiectasies conjonctivales ;
- Complications pulmonaires : toux chronique, bronchites ou pneumopathies récurrentes, dilatation des bronches, hippocratisme digital ;
- Troubles digestifs : appétit, transit, perte de poids, douleurs abdominales récurrentes ;
- Atteinte neurologique : ataxie, retard mental, microcéphalie.
- Bilan de suspicion ou d'exploration de déficit immunitaire L'ensemble du bilan suivant doit être envisagé.

Imagerie : radiographie du thorax chez l'enfant (ombre thymique), scanner thoracique (thymome, dilatation des bronches, nodules pulmonaires, adénopathies médiastinales), échographie ou scanner abdominal (adénopathies profondes, splénomégalie) ([Bertrand et al., 2010](#) ; [Punwani et al., 2017](#) ; [Guffroy and Korganow, 2019](#) ; [Solé, 2021](#)).

II.5.2 Diagnostic biologique : Étape 2

Cette étape est basée sur :

Hémogramme : Une neutropénie profonde (< 500 par millimètre cube) persistante permet d'évoquer fortement la maladie de Kostman. Si la neutropénie est fluctuante, le comptage hebdomadaire des neutrophiles pendant six semaines permettra d'évoquer fortement une neutropénie cyclique, toutes les trois à cinq semaines.

Une lymphopénie (surtout chez l'enfant chez qui elle revêt une importance particulière puisqu'il existe une lymphocytose physiologique de l'enfant). Chez l'adulte, un résultat est significatif s'il est inférieur à 1 G/L.

Une lymphocytose peut traduire une leucémie lymphoïde chronique. L'anémie ou la thrombopénie sont habituellement des stigmates d'auto-immunité, parfois associée au déficit immunitaire.

Test fonctionnels : dosage des anticorps naturels (allo hémagglutinines de groupe ABO) et des antigènes vaccinaux (diphtérie, tétanos, polio, pneumocoque) ; prolifération lymphocytaires in vitro aux mitogènes et antigènes vaccinaux ; tests fonctionnels des polynucléaires neutrophiles : explosion oxydative, chimiotactisme, phagocytose.

Dosage des immunoglobulines : électrophorèse des protéines sériques ± immunofixation (indispensable chez l'adulte pour écarter une gammapathie monoclonale) l'électrophorèse des protéines (EPP) recherchera en générale une hypoalbuminémie. Cette EPP permettra aussi de discuter un déficit en alpha-1-antitrypsine en l'absence du pic alpha-1 chez un patient présentant une dilatation des bronches (DDB) ; dosage pondéral des IgG, IgA, IgM (mise en évidence d'une hypogammaglobulinémie globale ou sélective) ; dosage des sous-classes d'IgG (IgG1 à 4) ([Admou et al., 2010](#) ; [Suarez, 2010](#) ; [Miot et al., 2018](#))

II.5.3 Caractérisation des DIP étape 3

Cette étape vise à caractériser phénotypiquement la plupart des DIP évoqués à l'étape 2 mais aussi de diagnostiquer et d'évoquer d'autres DIP :

Immunophénotypage des lymphocytes B, T, NK : devant une lymphopénie ou un tableau clinique évoquant un déficit immunitaire cellulaire (DIC), une numération des sous-populations T, B et NK par cytométrie en flux, permet de retenir et de classer les DICS (lymphopénie CD3 à évaluer en fonction de l'âge).

Dosage du complément :

Les rares déficits héréditaires en fractions du complément peuvent être, pour leurs conséquences infectieuses, groupés schématiquement en deux entités : déficit d'activation du C3 et déficits du complexe lytique (C5—C8). Le premier, provoqué par des déficits en

C2 et C4 ou en facteurs H et I (inhibiteurs de la voie alterne qui provoquent une consommation excessive du C3). Le dosage des fractions C3 et C4 du complément permet d'orienter le diagnostic vers un déficit de la voie classique en présence d'une baisse de CH50 et de C4 avec C3 normal ou abaissé, ou un déficit de la voie alterne devant une baisse de CH50 et de C3 avec C4 normal. Quand C3 est abaissée isolément, l'exploration comportera la recherche de C3Nef et l'étude des protéines H et I. Par ailleurs, devant un contexte évocateur (œdème récidivant des extrémités, de la face et des muqueuses associées à des crises douloureuses abdominales paroxystiques, souvent déclenchés par un traumatisme physique ou psychique dans un contexte familial), l'effondrement isolé C4 avec CH50 normal doit faire éliminer un déficit en inhibiteur de la C1-estérase (C1-INH) (Madkaikar et al., 2019)

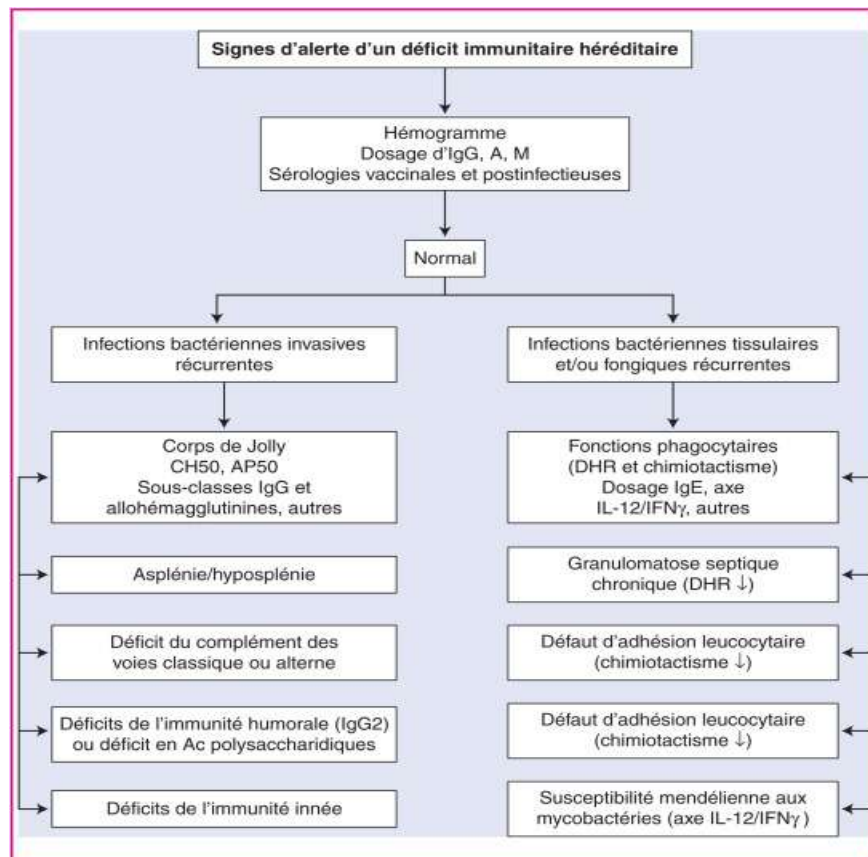


Figure 6. Arbre présentant les étapes d'exploration de déficits immunitaire primitif (C. Thomas and Audrain 2019).

II.5.4 Analyse génétique : Étape 4

La finalité de cette étape est de caractériser sur le plan moléculaire et génétique le type de DIP, Recherche de mutation en fonction de l'orientation : la majorité des gènes ou des déficits moléculaires sous-tendant les différents DIP ont été identifiés, avec les mutations entraînant le déficit immunitaire, plus de 150 gènes identifiés dans des déficits immunitaires primitifs est possible dans des laboratoires spécialisés. Elle permet un conseil génétique et un diagnostic anténatal. (Suarez, 2010 ; Seleman et al., 2017 ; Yska et al., 2019).

III. L'immunodéficience combinée sévère (SCID)

L'immunodéficience combinée sévère (SCID) comprend un groupe de troubles génétiques hétérogènes du système immunitaire également connu en tant que « maladie de garçon de bulle » après David Vetter qui était né en 1971 avec cette maladie. Le SCID est caractérisé par le dysfonctionnement de la maturation et du développement des lymphocytes T (**Figure 7**). En plus d'un manque d'immunité médiée par les lymphocytes T, les patients SCID peuvent présenter divers sous-types selon la fonction perturbée des lymphocytes B et ou les cellules tueuses naturelles (NK). (SCID) est une condition qui entraîne souvent des infections graves et la mort chez les sujets d'un jeune âge, ils deviennent plus vulnérables aux infections potentiellement fatales telles que la varicelle, la méningite, la pneumonie et d'autres infections systémiques. Les bébés, qui sont nés dans cette condition, meurent habituellement durant l'année de leur naissance faute de diagnostic retardé (Shearer et al., 2014 ; Blom et al., 2017 ; Heimall et al., 2017 ; Van der Ploeg et al., 2019). La plupart des formes du SCID suivent une hérédité qui est récessive en nature. Toutes les formes sont des troubles monogéniques autosomiques récessifs (AR-SCID) ou liés à l'X (XL-SCID).

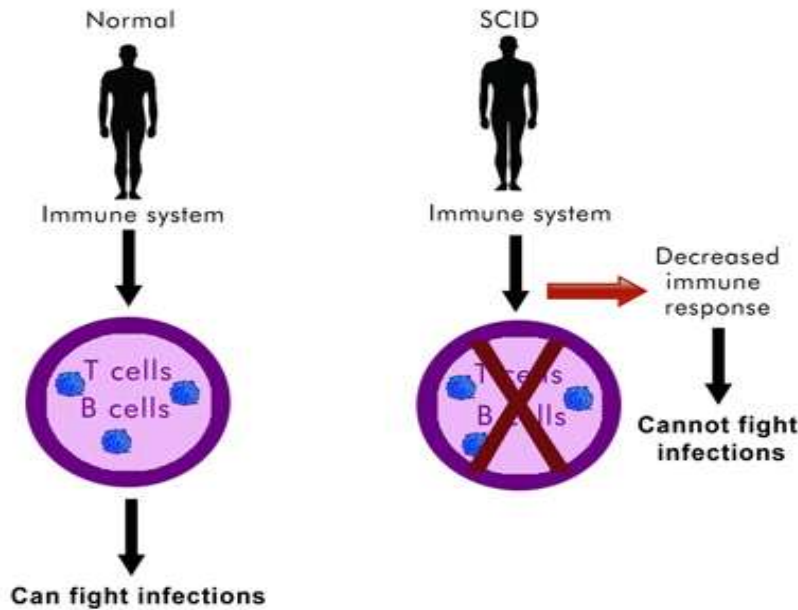


Figure.7 Schéma de différence entre le système immunitaire d'un sujet normal et celui d'un sujet atteint du SCID ([Combined and Acronym 2020](#)).

III.1 Transmission du SCID

III.1.1 X-linked SCID (XSCID)

Le type de transmission du SCID le plus courant est de manière récessive liée au chromosome X. Ce type de transmission est situé sur le chromosome X, l'un des chromosomes sexuels (**Figure 8**). Le gène responsable du SCID lié à l'X s'appelle IL2RG. Les gènes vont généralement par paire, chaque parent donnant une copie à son enfant. Les chromosomes sexuels, en revanche, sont différents. Ce gène code pour la chaîne gamma commune (γc) partagée par les récepteurs de surface cellulaire pour diverses molécules d'interleukine (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 et IL-21). IL2RG joue un rôle sur les récepteurs extérieurs des lymphocytes, l'activation et multiplications des cellules. Les mutations héritées de X-linked dans IL2RG perturbent son fonctionnement, produisant « une sous-unité à chaînes gamma courte » défectueuse, qui est une pièce de plusieurs récepteurs défectueux (IL) d'interleukine. IL2RG active aussi une molécule importante de signalisation, JAK3 sur le chromosome 19. Les mutations dans JAK3 contribuent également aux récepteurs défectueux de l'IL. Un homme hérite un chromosome X de sa mère et un chromosome Y de son père. Une femme hérite deux

chromosomes X, un de chaque parent. Lorsqu'une femme a une copie non fonctionnelle du gène sur l'un de ses chromosomes X, elle ne sera pas atteinte de SCID. En effet, elle possède une deuxième copie fonctionnelle du gène sur son autre chromosome X. Un homme avec un gène IL2RG non fonctionnel sur son chromosome X aura le SCID. Cela est dû au fait qu'il n'a pas de deuxième chromosome X avec un gène IL2RG actif. Comme ils n'ont qu'une seule copie du gène IL2RG, les hommes sont plus souvent atteints de SCID récessif lié à l'X que les femmes. Si une mère possède un gène IL2RG non fonctionnel, elle est dite porteuse. Pour les porteurs, il y a 50 % de chances que chaque grossesse masculine soit atteinte de SCID et 50 % de chances que chaque grossesse féminine soit porteuse, comme sa mère. Un père transmet son chromosome Y à ses fils et son chromosome X à ses filles. Par conséquent, si un père est atteint de SCID, aucun de ses fils ne sera atteint de SCID cependant toutes ses filles seront porteuses. (Noguchi et al., 1993 ; Puck et al., 1993 ; Sugamura et al., 1996 ; R. H. Buckley, 2000 ; Yee et al., 2008 ; De Ravin et al., 2016)

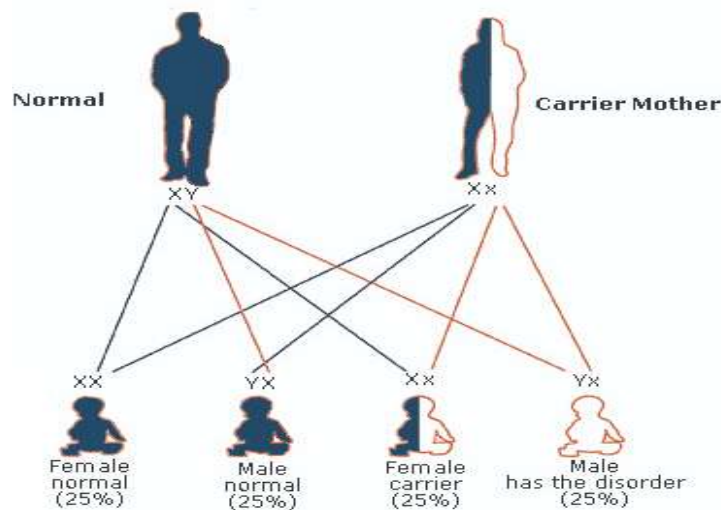


Figure.8 X-linked SCID Les probabilités d'infection d'un enfant issu d'une mère infectée $\blacksquare^{XY}$ gène fonctionnel, $\square^x$ gène non fonctionnel (Combined and Acronym 2020).

III.1.2 Autosomal récessif SCID

Certains types de SCID sont hérités de manière autosomique récessive, Il existe de nombreux gènes différents à l'origine du SCID autosomique récessif. Ce type d'hérédité

touche aussi bien les garçons que les filles (**Figure.9**). De nombreux gènes contribuent à faire fonctionner notre système immunitaire correctement. Chez les enfants atteints de SCID autosomique récessif, une paire de gènes ne fonctionne pas correctement. Ces enfants héritent d'une copie du gène défectueux de chaque parent. Les parents d'enfants atteints de SCID autosomique récessif sont rarement eux-mêmes affectés. Au contraire, chaque parent possède un gène non fonctionnel pour le SCID. Ils sont appelés porteurs. Les porteurs ne sont pas atteints de SCID car leur autre copie du gène fonctionne correctement. Lorsque les deux parents sont porteurs, l'enfant a 25 % de chances d'être atteint de SCID à chaque grossesse. Il y a 50 % de chances que l'enfant soit porteur, tout comme les parents. L'enfant a 25 % de chances d'avoir deux gènes qui fonctionnent.

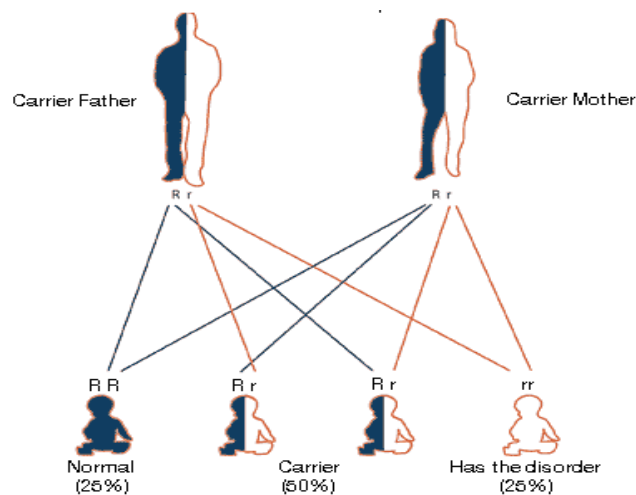


Figure .9 Autosomal récessif SCID : les probabilités d'infection d'un enfant issu de deux parents infectés ■ R gène fonctionnel □ r gène non fonctionnel (Combined and Acronym 2020).

III.2 Types de SCID

III.2.1 LEAKY SCID

Un SCID atypique ou Leaky SCID se produit lorsque le défaut dans un gène permet un nombre de lymphocytes T normal, voire élevé. Ces cellules T ne protègent pas contre les agents pathogènes, mais elles sont suractivées, provoquant une inflammation et des dommages de la même manière qu'une maladie auto-immune le ferait. Ce SCID est causé

par une activité partielle des gènes RAG1 ou RAG2 (Griffith et al., 2014 ; Shearer et al., 2014).

III.2.2 Variante SCID (lymphocytes T toujours bas mais pas de défaut dans les gènes SCID connus)

Le dépistage des nouveau-nés a permis d'identifier les nourrissons dont le nombre de lymphocytes T est constamment bas et qui ne présentent pas de déficit génétique SCID identifié. Ces enfants ont besoin de tests et de prise en charge supplémentaires, car ils peuvent avoir une immunodéficience combinée ou une affection de type SCID (Chitty-Lopez et al., 2020)

III.2.3 SCID typique

Il existe quatre catégories principales de SCID typiques ou classiques en fonction desquelles les cellules immunitaires (cellules T, B ou NK) sont défectueuses. La plupart des types de SCID sont considérés comme des SCID typiques, caractérisés par un nombre faible ou nul de lymphocytes T et un système immunitaire non fonctionnels (Shearer et al., 2014).

III.3 Les phénotypes du SCID

Le SCID est classé phénotypiquement en raison de types de cellules non fonctionnelles voir (Figure 10).

III.3.1 Déficit immunitaire combiné sévère B-positif, NK-négatif (T-B + NK-SCID)

(T-négatif, NK-négatif, B-positif) un type de SCID dans lequel les cellules T et NK sont incapables de répondre aux facteurs de croissance (cytokines) nécessaires au développement et à la survie dans le corps. SCID récessif lié (X-SCID), qui est causé par une mutation du gène IL2RG sur le chromosome X. La sous-unité protéique gamma (γ c) des récepteurs de cytokine pour l'interleukine (IL-) 2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 et IL-21 sont codés par le gène IL2RG, ce qui rend les garçons atteints de X-SCID incapables de transmettre les signaux des facteurs de croissance nécessaires pour produire des cellules T et NK fonctionnelles. Des mutations autosomiques récessives dans le gène JAK3 peuvent également provoquer T-B + NK-SCID. Les cellules T et les cellules NK dans le corps, comme dans X-SCID, ont besoin de la protéine JAK3 pour réagir aux facteurs de

croissance nécessaires au développement et à la survie. Les cellules B de ces patients sont également non fonctionnelles sans l'aide des cellules T ([Barreiros et al., 2018](#)).

III.3.2 Déficit immunitaire combiné sévère B négatif et NK positif (T-B-NK + SCID)

Un défaut dans les cellules T et B, mais pas dans les cellules NK, provoque T-B-NK + SCID. Les cellules T et les cellules B dans le corps ont besoin à la fois de facteurs de croissance et d'expression des récepteurs antigéniques pour se développer et survivre. Les gènes d'activation de la recombinaison 1 (RAG1) et 2 (RAG2) font partie de la machinerie cellulaire nécessaire pour créer un récepteur d'antigène spécifique. Via son récepteur d'antigène, chaque cellule T ou cellule B reconnaît un antigène spécifique (un composant d'une bactérie, d'un champignon ou d'un virus envahissant). Le SCID peut survenir lorsqu'une mutation réduit le rôle des protéines RAG1 ou RAG2. D'autres causes plus rares incluent des mutations dans d'autres gènes impliqués dans la production du récepteur de l'antigène, comme le gène DCLRE1C, qui code pour la protéine Artémis. Le T-B-NK + SCID a été rarement identifié dans d'autres troubles sensibles aux radiations provoqués par des gènes autosomiques récessifs (PRKDC, LIG4, NHEJ1). Tous ces types de SCID sont autosomiques récessifs.

III.3.3 Déficit immunitaire combiné sévère B-négatif, NK-négatif (T-B-NK-SCID)

La cause la plus fréquente de T-B-NK-SCID est le déficit en adénosine désaminase. ADA SCID est une maladie autosomique récessive causée par une mutation du gène ADA. Les patients atteints de T-B-NK-SCID sont dépourvus de cellules T, B ou NK, ils sont plus sensibles aux infections bactériennes, fongiques et virales. Et le temps nécessaire aux patients ADA-SCID pour développer des symptômes varie en fonction du défaut spécifique du gène ADA. Les mutations de l'adénylate kinase 2 (AK2), un gène impliqué dans la formation des lymphocytes et d'autres globules blancs de la moelle osseuse nécessaires pour combattre l'infection, provoquent un autre type de T-B-NK-SCID. Les défauts de l'AK2 provoquent une dysgénésie réticulaire, un type extrême de SCID qui est également suivi de problèmes d'audition et de faibles nombres de neutrophiles. En raison de l'extrême neutropénie, les infections sévères sont plus susceptibles d'être présentes plus tôt.

III.3.4 Déficit immunitaire sévère B-positif, NK-positif(T-B+NK+SCID)

T-B + NK + SCID est causé par des défauts qui n'affectent que les cellules T et sont causés par la perte d'un facteur de croissance, d'un récepteur ou d'un récepteur d'antigène de cellule T, qui sont tous deux nécessaires au développement et à la survie des cellules T. Les cellules T, mais pas les cellules B ou les cellules NK, ont besoin d'IL-7 pour survivre chez l'homme. Le groupe de cause le plus courant de SCID est la déficience de la chaîne alpha du récepteur IL7 (gène IL7R). Les cellules T, mais pas les cellules B ou les cellules NK, ont besoin d'IL-7 pour survivre chez l'homme. T-B + NK + SCID a également été lié à des mutations dans CD3D, CD3E et CD247, qui sont tous des composants du récepteur de l'antigène des lymphocytes T. En outre, la protéine CD45 codée par le gène PTPRC est un régulateur critique du récepteur de l'antigène des lymphocytes T. T-B-NK + SCID a été lié à des mutations du gène PTPRC dans de nombreux cas. Il existe tous les gènes autosomiques récessifs (Gaspar, Gilmour and Jones, 2001 ; Fischer et al., 2005 ; Cossu, 2010).

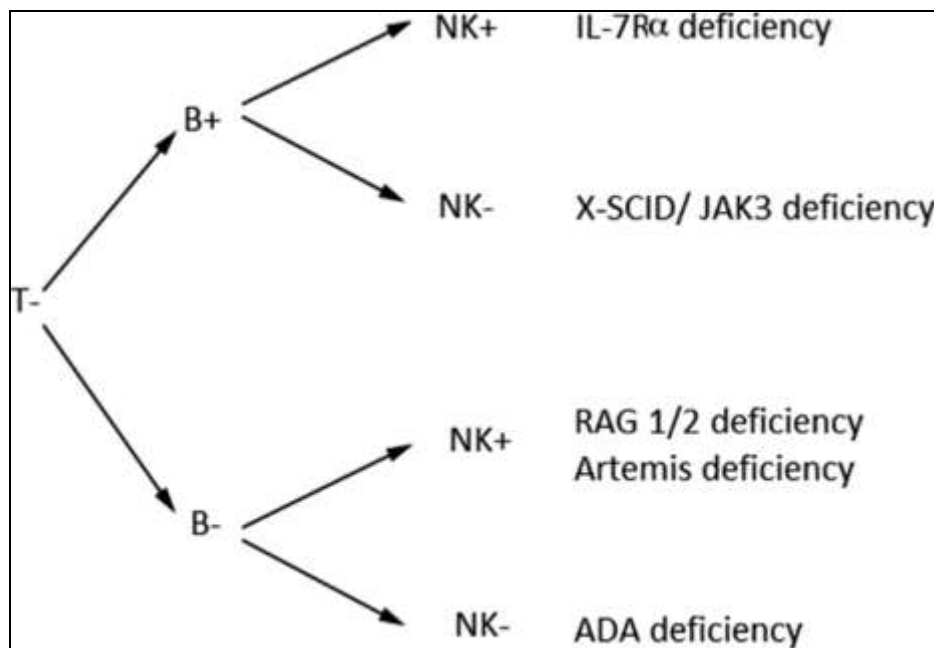


Figure 10. L'immun-phénotypes du SCID déficit combiné Sévère (Rivers and Gaspar 2015)

III.4 Les Mutations génétiques causant le SCID

III.4.1 Déficit SCID (ADA) de désaminase d'adénosine

Une absence de l'enzyme adénosine désaminase (ADA) a été identifiée par Gibelet et collègues en 1972 comme cause de SCID (Giblett et al., 1972) ; ce type de SCID est induit en raison du déficit de l'enzyme d'ADA (un élément indispensable pour la production de l'ADN neuf, le développement des lymphocytes et la disposition des métabolites toxiques. Ce défaut représente environ 17% des patients atteints de la maladie. Le gène codant d'ADA a été cartographié sur le chromosome 20q13.2 – q13.11, cloné et séquencé. Le déficit en ADA causé par des mutations de ce gène se traduit par des accumulations marquées d'adénosine, 20-désoxyadénosine et 20 -O-méthyl adénosine, des métabolites passagers à l'intérieur des cellules (**Figure 11**). Ces produits chimiques commencent à montrer des manifestations toxiques jusqu'au degré de détruire les lymphocytes immatures. Le système immunitaire du patient alors devient sévèrement compromis et souvent mortel en l'absence du traitement rapide. Il existe certaines caractéristiques distinctives du déficit en ADA, y compris de multiples anomalies squelettiques de dysplasie chondro-osseuse à l'examen radiographique. Ces derniers incluent l'évasement des jonctions ostéochondrales et une anomalie osseuse dans les corps vertébraux. Les patients déficients en ADA ont une lymphopénie plus profonde que les nourrissons atteints d'autres types de SCID, avec un nombre absolu moyen de lymphocytes inférieur à 500 / mm³ et une carence des trois types de cellules immunitaires (T-B-NK-SCID) (Giblett et al., 1972 ; Hirschhorn, 1995 ; Rebecca H. Buckley, 2004)

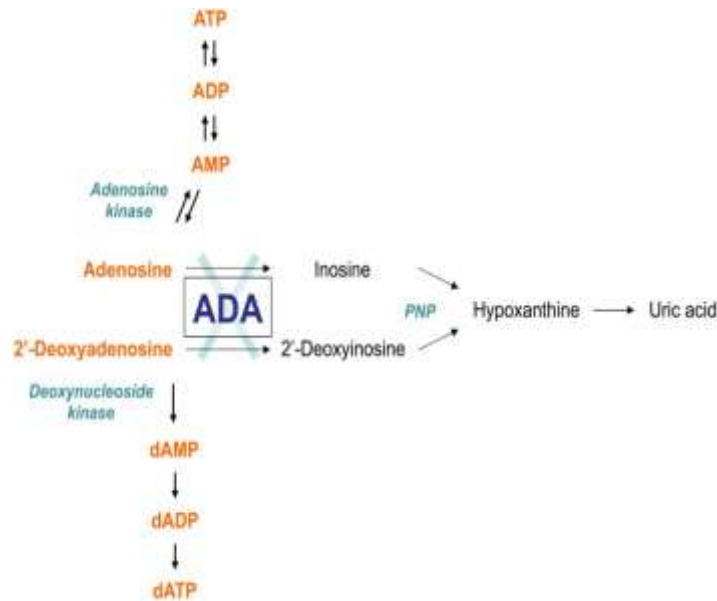


Figure 11. Le métabolisme de l'adénosine désaminase (ADA) (Sauer et al. 2012).

III.4.2 Déficit de la chaîne alpha du récepteur IL-7 (IL-7R α -Deficient SCID)

Ce type de mutation représente 11% de l'incidence du SCID. Ce type est dû à des mutations du gène de l'IL-7R α sur le chromosome 5p13 ; ces mutations de l'IL-7R α entraînent à elles seules un déficit en cellules T mais pas en cellules B ou en cellules NK (T- B+NK+). Les humains porteurs de mutations IL-7R α ont non seulement des lymphocytes B, mais ces lymphocytes B semblent fonctionner normalement (Puel et al., 1998 ; Leonard, 2001 ; Rebecca H. Buckley, 2004).

III.4.3 Déficit SCID de la kinase 3 de Janus

Causé par la mutation génique qui code l'enzyme kinase 3 de Janus, qui est présente dans les lymphocytes (Figure.12). Les patients atteints d'un SCID autosomique récessif causé par un déficit en Jak3 ressemblent à tous les autres types dans leur sensibilité à l'infection et à la maladie du greffon contre l'hôte à partir de cellules T allogéniques. Cependant, ils ont les caractéristiques des lymphocytes les plus ressemblant étroitement à ceux des patients atteints de SCID lié à l'X ; parce que Jak3 est la seule molécule de signalisation connue pour être associée avec γ c ; y compris un pourcentage élevé de cellules B et de très faibles pourcentages de cellules T et NK ; le phénotype T-B+NK.

C'est un gène candidat pour des mutations conduisant à un autosomique récessif T – B + NK– SCID, les nourrissons SCID déficients en Jak3 ont un très faible nombre de cellules NK, même après une greffe de moelle osseuse réussie). De plus, dans une plus grande similitude avec les patients SCID-X1, ils n'arrivent pas à développer une fonction normale des cellules B après malgré leur Nombre de cellules B. cela peut être due à des récepteurs de cytokine anormaux de ces cellules B hôtes. Et pour le déficit en cellules NK peut être dus à un défaut de signal via le récepteur IL-15 (Russell et al., 1995 ; Macchi et al., 1995 ; R. H. Buckley et al., 1997 ; Ricker, 1968 ; Asao et al., 2001 ; Rebecca H. Buckley, 2004 ; Michos et al., 2011).

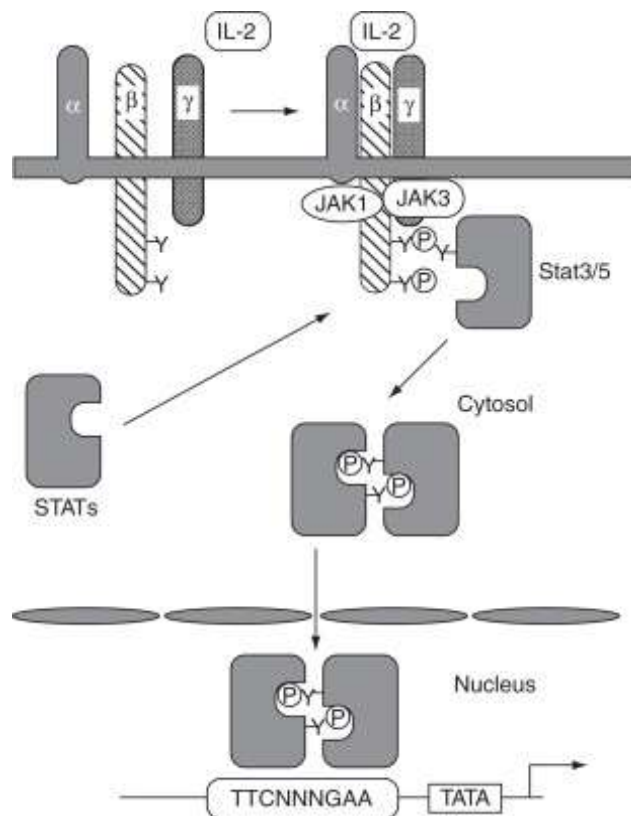


Figure. 12 Les voies de signalisation du JAK3. JAK3 est une tyrosine kinase essentielle dans la voie de signalisation de la chaîne gamma commune des récepteurs d'interleukines : IL2R, IL4R, IL7R, IL9R, IL15R et IL21R (W J Leonard 1996).

III.4.4 Déficience de la chaîne CD3 (CD3– SCID déficient)

C'est un SCID autosomique récessif du aux mutations homozygotes du codon stop dans la région du gène qui code le domaine extracellulaire de CD3δ ce qui entraîne une

profonde déficience de cellules T CD3 + circulantes matures, pas de cellules T CD4 + ou CD8 + et une absence totale de cellules T γ / δ . Dans ce type de SCID le nombre de cellules B peut être normal ou augmenté, et les cellules NK sont normales dans l'ensemble donc leur phénotype lymphocytaire ressemblait à celui du déficit en IL-7Ra. Le thymus chez les nourrissons avec un déficit en CD3 δ est d'une taille normale sur la radiographie thoracique. Les nourrissons présentant des mutations dans le gène codant pour la chaîne delta de CD3 ressemblent à tous les autres par leur sensibilité à l'infection et leur absence totale de fonction cellulaire. Les réponses des lymphocytes aux mitogènes sont absentes. ([Rebecca H. Buckley, 2004](#) ; [Dadi et al., 2004](#) ; [De Saint Basile et al., 2004](#))

III.4.5 Déficience en CD45

Il est dû aux mutations dans le gène codant pour la protéine de surface leucocytaire commune CD45, qui est davantage responsable de réguler les kinases nécessaires à la transduction du signal des récepteurs d'antigènes des cellules T et B ([Hermiston, Xu, and Weiss 2003](#); [Rebecca H. Buckley 2004](#)).

III.4.6 Les déficiences génétiques activant la recombinaise (SCID déficient en RAG1 ou RAG2)

Causé par des mutations dans les gènes recombinants activateurs, RAG1 et RAG2. Les nourrissons atteints de SCID autosomique récessif causé par des mutations dans les gènes recombinants activateurs, RAG1 et RAG2, Ces gènes, sur le chromosome 11p13, codent pour des protéines nécessaires au réarrangement somatique des gènes des récepteurs d'antigène sur les cellules T et B. Les mutations dans RAG1 ou RAG2 abolissent l'initiation de la recombinaison du récepteur de l'antigène, qui empêche la progression des progéniteurs des lymphocytes T et B au-delà du DN3 et stade de développement pré-B-1, donnant naissance à un T-B-NK + phénotype SCID1 (**Figure 13**). Ce type génétique de SCID est plus courant en Europe qu'aux États-Unis, Les SCID causé par le déficit en RAG1 ou RAG2 échouent fréquemment à développer des cellules B après une transplantation de moelle osseuse ; les nourrissons atteints de SCID ressemblent à tous les autres par leur sensibilité aux infections et leur absence totale de fonction des cellules T ou B. Ces Nourrissons présentent classiquement des symptômes infectieux causés par

des agents pathogènes viraux courants, qui comprennent les virus respiratoires tels que les virus respiratoires syncytiaux, les virus para-influenza, ainsi que cytomégalovirus et adénovirus et virus causant des entérites, y compris le rotavirus (qui peuvent être acquis à partir d'un vaccin vivant atténué) et norovirus. Une sensibilité aux agents pathogènes opportunistes tels que *Pneumocystose jirovecii*, ou organismes vaccinaux atténués utilisés dans les vaccins vivants, y compris le BCG, et les vaccins contre le poliovirus est pathogéniques. (Rebecca H. Buckley, 2004 ; Corneo et al., 2001 ; Gennery, 2019)

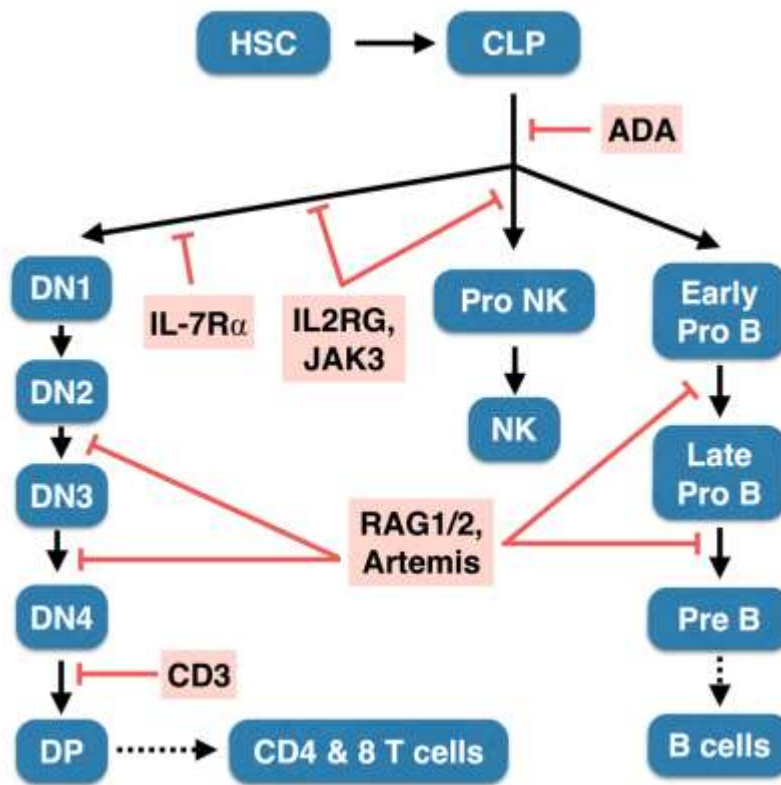


Figure 13. Voies de développement lymphoïde et position relative de certaines mutations responsables de SCID (NOTARANGELO 2010)

III.4.7 Déficit immunitaire par Carence en Artémis

C'est une déficience d'un nouveau facteur de recombinaison / réparation de l'ADN V (D) J qui appartient à la superfamille des métallo-β lactamases. Représente une autre cause récemment découverte du SCID humain, il est codé par un gène sur le chromosome 10p appelé Artémis. Les patients atteints de cette déficience ont une incapacité à réparer l'ADN après que des coupes doubles ont été faites par RAG1 ou RAG2 ainsi qu'ils ont

une sensibilité accrue aux rayonnements à la fois des fibroblastes cutanés et des cellules de la moelle osseuse des personnes atteintes de ce type de SCID. (Rebecca H. Buckley, 2004 ; Dvorak & Cowan, 2010 ; Moshous et al., 2001 ; Schuetz et al., 2014)

III.5 Épidémiologie mondiale du SCID

Identifier la prévalence ou l'incidence du SCID dans un pays permet de confirmer l'état de santé de ses nouveau-nés et d'établir un protocole bien défini pour la gestion et le diagnostic précoce des enfants nés avec ce syndrome. Le dépistage néonatal (NBS) permet de déterminer l'incidence précise au sein d'une population ce qui permet le développement d'un diagnostic et d'un traitement précoces (**Figure 14**). Il est à noter que l'incidence du SCID varie selon les régions mondiales. A partir d'un projet de dépistage à grande échelle du SCID ; dépistage de 11 programmes ; aux Etats-Unis (3.030.083 nouveau-nés), l'incidence de l'immunodéficience combinée sévère en Amérique du Nord a pu être calculée à 1/58.000 naissances au-dessus de l'incidence de 1 sur 100.000 conseillée à partir de diagnostics cliniques rétrospectifs (Stephan et al. 1993)(Wang et al. 2011) Alors que le taux d'incidence en New-Zélande est proche du point médian de la fourchette des États-Unis (~34 000 - ~162 000), alors que à partir des données taïwanaises et asiatique l'incidence du SCID était dans les environs de 1/ 53 196 (Xia et al. 2018). Dans d'autre études le taux de mariages consanguins en Turquie, en Arabie Saoudite, au Koweït est plus élevé ce qui explique l'incidence excessive du déficit immunitaire combiné sévère dans ces pays (Al-Mousa et al. 2018)(Abolhassani et al. 2018). La plupart des autres pays d'Afrique et quelques-uns d'Europe n'ont pas d'estimation de l'incidence ou de la prévalence du SCID en raison de l'absence d'études épidémiologiques sur le SCID et du dépistage néonatal.

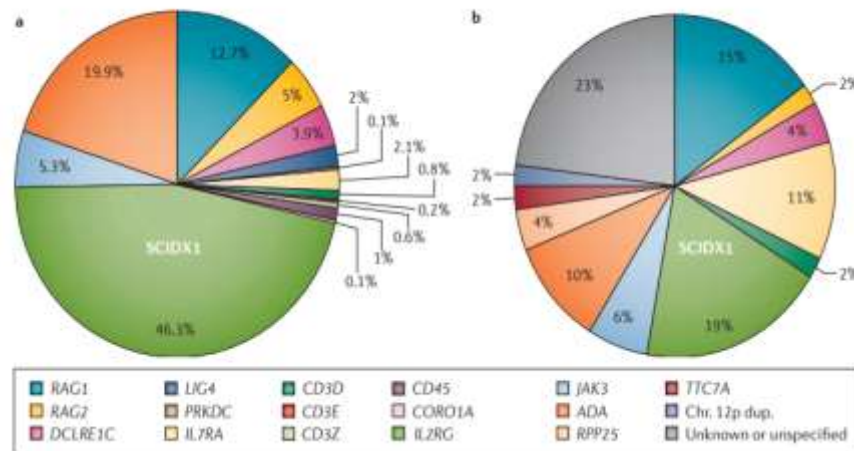


Figure14. | (a) Proportions de génotypes d'immunodéficience combinée sévère (SCID) telles que rapportées par les centres de transplantation européens et autres en l'absence de programmes de dépistage des nouveau-nés. (b) et 11 programmes de santé publique aux États-Unis avec un test dépistage néonatal universel représentant >3 millions de naissances (Alain Fischer et al. 2015).

III.6 Diagnostic du SCID

Une Détection précoce du SCID après la naissance, suivie d'un traitement rétablissant le système immunitaire (généralement une greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH)) avant l'apparition des infections, peu augmenter largement les chances de survie. Pour ces raisons, plusieurs pays ont déjà inclus le dépistage du SCID dans leur dépistage néonatal (NBS), comme aux Pays-Bas. Le test TREC (cercle d'excision des récepteurs des cellules T) peut être utilisé sur un échantillon de sang par piqûre au talon à cet effet. Le dépistage TREC a pour but d'identifier les nourrissons atteints de la plupart des formes de SCID et aussi certains nourrissons avec des lymphocytes T très bas en raison d'autres conditions. Vu que l'incidence du SCID est faible, les ressources sont rares et l'évaluation du rapport coût-efficacité, l'ajout du dépistage du SCID au programme de dépistage néonatal est pertinent pour la prise de décision. (Myers et al., 2002 ; Yee et al., 2008) (Manuscript, 2013 ; Kwan et al., 2014 ; van der Spek et al., 2015).

III.6.1 Informations familiales

Généralement les enfants souffrant du SCID sont d'un âge moins de 2 ans ; la recherche d'une consanguinité et/ou des antécédents familiaux du SCID ou d'un autre DIP (Shearer et al. 2014)

III.6.2 Diagnostique Clinique

Les signes cliniques sont d'une large variété. Les infections du nourrisson atteint de SCID peuvent être beaucoup plus graves et même mettre sa vie en danger. Elles peuvent inclure les infections cutanées, le muguet oral, la pneumonie, l'infection de l'oreille aiguë, la sinusite, la diarrhée continue, les infections respiratoires virales graves, la méningite et/ou les infections du sang. Chez des patients SCID, ces infections deviennent moins sensibles aux demandes de règlement. Présence d'une réaction contre les microbes affaiblis dans les vaccins tels que la poliomyélite, les rotavirus, la varicelle, le BCG etc. (Shearer et al. 2014 ; Hague et al. 1994).

III.6.3 Diagnostic biologique

La première étape dans le diagnostic biologique consiste à compter les lymphocytes du sang périphérique de l'enfant (ou ceux du sang du cordon). Pour ce faire, on effectue deux tests : la formule sanguine complète et le différentiel manuel (ou le pourcentage de chaque type de globules blancs dans le sang), à partir duquel le médecin peut calculer le nombre absolu des lymphocytes (ou le nombre total des lymphocytes dans le sang). Il y a généralement plus de 4 000 lymphocytes par millimètre cube dans le sang d'un enfant normal au cours des premiers mois de sa vie, dont 70 % sont des lymphocytes T. Les enfants atteints de SCID ont très peu de lymphocytes dans leur sang. La moyenne pour tous les types de SCID est d'environ 1 500 lymphocytes (par millimètre cube). Si le nombre de lymphocytes est faible, il faut le confirmer en répétant le test une nouvelle fois. Si le nombre de lymphocytes est faible après avoir éliminé une infection VIH, il faut refaire le test une nouvelle fois et faire un immunophénotypage lymphocytaire dans lequel les différents types de lymphocytes peuvent être identifiés à l'aide des anticorps spéciaux et comptés grâce à la cytométrie de flux. Les lymphocytes T auxiliaire CD4, les lymphocytes T tueuses CD8, les lymphocytes B et les lymphocytes NK. (Hague et al. 1994 ; Gennery and Cant 2001 ; van der Spek et al. 2015). L'analyse par cytométrie en flux permet également la détermination du phénotypique d'un SCID (**figure.15**)

Étant donné que les IgG de la mère passent dans le sang du bébé par le placenta, elles seront présentes dans le sang du nouveau-né et du jeune enfant à des niveaux presque normaux. Par conséquent, le déficit en IgG peut ne pas être présent pendant plusieurs mois, jusqu'à ce que les IgG maternelles transférées aient été éliminées par métabolisme. Cependant, les autres taux d'immunoglobulines (IgA et IgM) sont généralement très faibles dans le SCID (Bertrand et al. 2010 ; El-Maataoui et al. 2011).

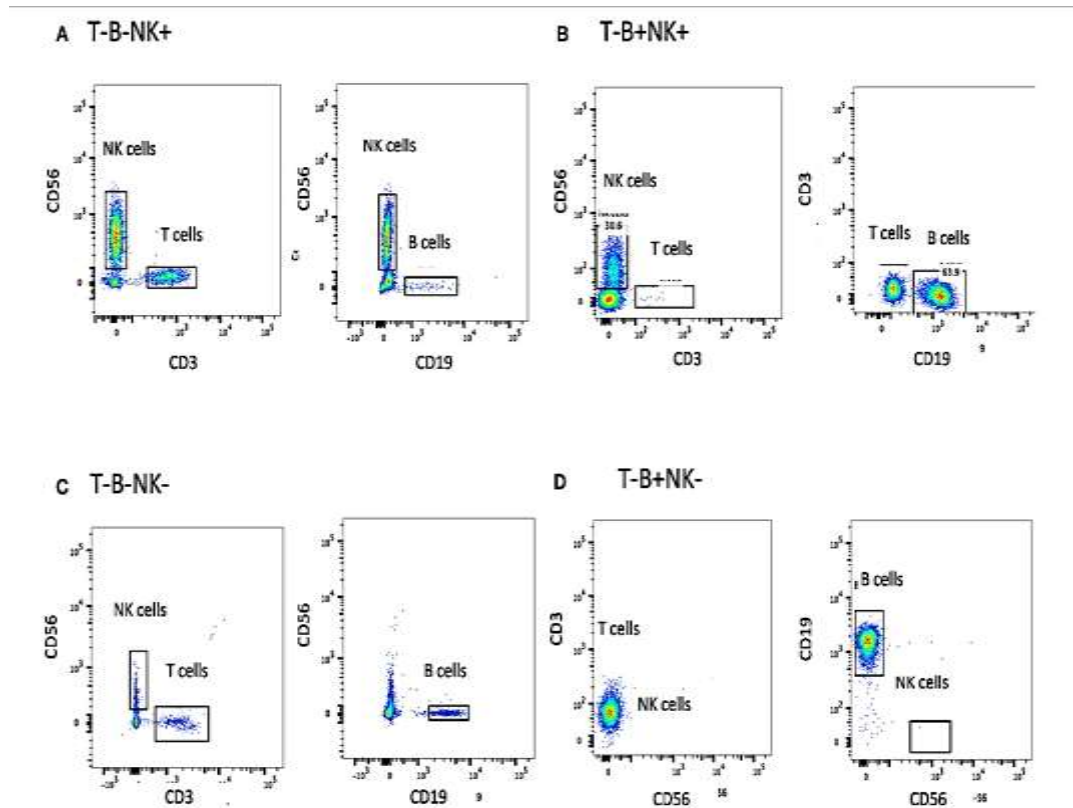


Figure 15. Analyse des sous-ensembles lymphocytaires pour le SCID. Les échantillons analysés par cytométrie en flux, en sélectionnant les lymphocytes par FS/SC et en sélectionnant les cellules T (CD3+), les cellules B (CD19+) et les cellules NK (CD56+CD3-) (A) T-B-NK+ (B) T-B-NK+ (C) T-B-NK- (D) T-B+NK- SCID, respectivement (Madkaikar et al. 2019).

III.7 Traitement du SCID

III.7.1 Protection contre les infections

Rien n'est plus important pour la santé d'un enfant atteint de SCID que de prévenir les infections potentielles. Ainsi que les enfants atteints de SCID ne doivent pas recevoir les vaccins standard de l'enfance.

III.7.2 Perfusions d'anticorps

Comme l'organisme de l'enfant ne possède pas de cellules B saines produisant des anticorps contre les infections, il peut avoir besoin de perfusions régulières par voie intraveineuse (IV, administration par une veine) ou sous-cutanée (administration sous la peau) de l'anticorps immunoglobine (également appelé immunoglobine, gamma globine, IVIG ou SCIG) ([Msd and Fernandez 2021](#)).

III.7.3 Greffes des cellules souches/moelle osseuse

Presque tous les enfants atteints de SCID sont traités par une greffe de cellules souches, également appelée greffe de moelle osseuse. Les cellules de moelle osseuse ou cellules souches sont administrées par voie intraveineuse, comme pour une transfusion sanguine. Les cellules souches sont un type polyvalent de cellules présentes dans la moelle osseuse. Ces cellules ont une capacité unique et puissante : elles peuvent se développer en plusieurs types différents de cellules spécialisées ; une fois dans la circulation sanguine. Elles se transforment alors en globules blancs sains qui reconstituent les fonctions immunitaires et le système immunitaire retrouve sa fonction complète, l'enfant peut être définitivement guéri (**figure 16**) ([A Fischer et al. 2000](#) ; [Gross et al. 2001](#) ; [Msd and Fernandez 2021](#)).

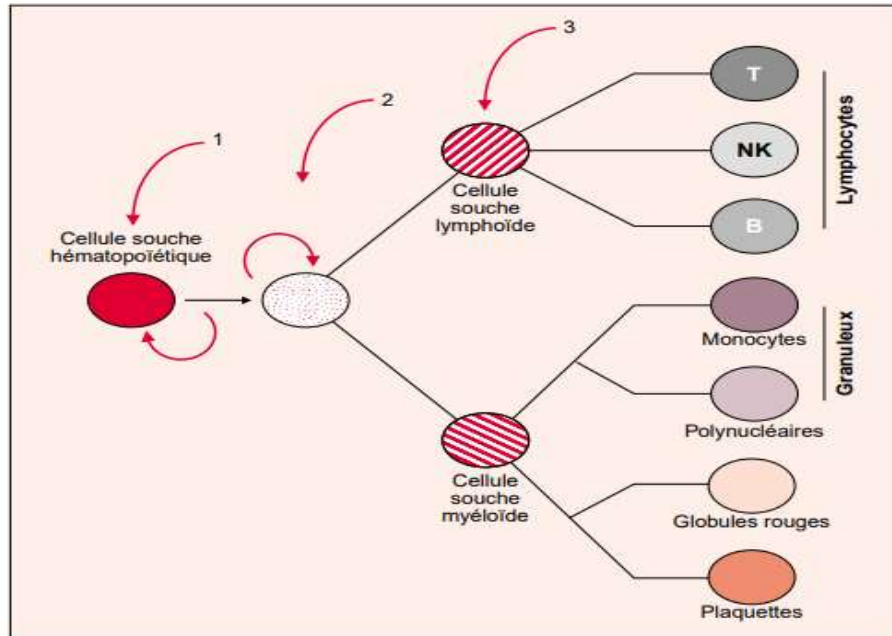


Figure 16. Représentation schématique de la différenciation hématopoïétique et des progéniteurs cibles de la correction par transfert de gène dans le SCID lié à l'X. La flèche en rouge signifie que la cellule est cyclique et désigne la capacité d'auto-renouvellement. Les 3 flèches numérotées indiquent la cellule cible potentielle pour le transfert de gènes : (1) cellule souche hématopoïétique pluripotente à capacité d'auto-renouvellement ; (2) cellule souche pluripotente ayant perdu sa capacité d'auto-renouvellement ; (3) cellule souche lymphoïde. (A Fischer et al. 2000)

IV. La Cytométrie en flux :

La cytométrie en flux est une technique qui permet de mesurer plusieurs caractères physiques généralement les cellules et les étudier à l'état fluide (gaz ou liquide). Tous ça à l'aide du cytomètre qui se compose lui-même en trois parties : (fluide, optique, électronique) permet de mesurer la diffusion de la lumière et l'émission de la fluorescence, les cellules doivent être en suspension dans un milieu liquide, pour être après poussées par un système de pompe et envoyées une par une devant un faisceau laser qui permet de mesurer ou évaluer les paramètres cellulaires (1^{er} paramètre de granularité (SSC) et de taille (FSC) (**Figure 17**), 2^{ème} paramètre est l'intensité de la fluorescence (FI). Pour mieux comprendre ce deuxième paramètre on sait qu'on a trois types de Lymphocytes T, B et NK chacune a ses anticorps spécifique donc quand ces dernières passent devant le laser elles seront détectées par des capteurs spécifiques.

Chaque marqueur (anticorps) accompagné d'une molécule de fluorescente qui transforme la lumière incidente en radiation lumineuse de longueur d'onde supérieure (Greimers, 2002).

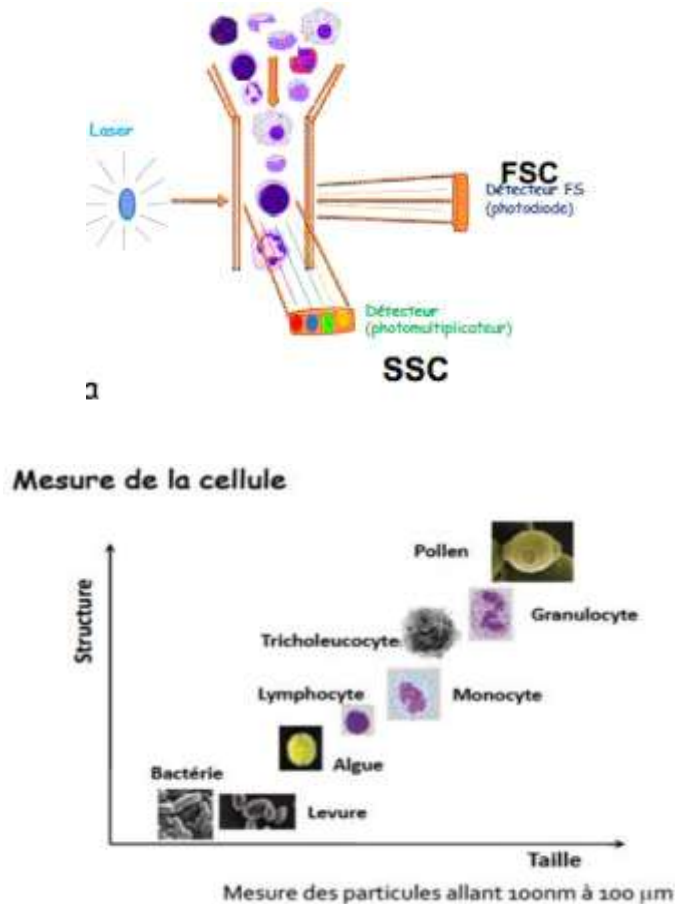


Figure 17: Principe de la cytométrie en flux (H. ELLEUCH ZGHAL 2004)

IV.1 Les composants et leurs rôles

IV.1.1 Le système fluidique :

C'est un système qui est responsable du transport de l'échantillon vers la cellule en flux, il permet de faciliter le passage des cellules d'une manière linéaire grâce au processus de mise au point hydrodynamique ou bien la focalisation hydrodynamique. Il est composé de deux liquides essentiels (liquide de gaine et liquide de l'échantillon).

Liquide de gaine composé de l'eau distillée ou solution saline (PBS, eau de mer Filtrée pour analyse) et d'une solution saline pour Tri.

Liquide de l'échantillon composé des solutions essentiellement pour mettre les cellules en suspension.

La focalisation hydrodynamique c'est le processus qui permet de séparer plusieurs espèces et les injectées au centre du canal. Dans la focalisation hydrodynamique le fluide de gaine se déplace plus rapidement et utilisé pour forcer l'échantillon dans un flux de noyau petit (également appelé noyau hydrodynamique) de sorte que toutes les particules se déplacent le long du même axe à peu près à la même vitesse. Le flux de base est maintenu en assurant un flux laminaire, caractérisé par des couches se déplaçant parallèlement les unes aux autres dans un flux sans mélange ([Zafrani and Monneret 2017](#)).

Changement de pression

La pression du fluide de gaine détermine la vitesse du système. Par conséquent, si on souhaite modifier le taux d'événements, c'est-à-dire le nombre de cellules ou des particules passant le point d'interrogation au cours d'une période donnée, on modifie la pression différentielle entre l'échantillon et le fluide de gaine ([Zafrani and Monneret, 2017](#)).

IV.1.2 Le système optique

Permet de gérer l'éclairage et la Collecte de Lumière au sein de l'instrument. Les composants du système optique travaillent pour projeter différentes longueurs d'onde de Lumière sur la cellule, collecter les données (diffusion latérale et directe ainsi que l'émission des fluorophores excités) sous la forme de photons émis et convertir ces photons en signaux électriques. Les composants du système optique comprennent aussi des sources de lumière d'excitation, des lentilles et des filtres utilisés pour collecter et déplacer la lumière autour de l'instrument, ainsi que le système de détection qui génère la photo courante. Les sources de lumière d'excitation les plus courantes dans les instruments de cytométrie en flux sont les lasers. La lumière laser est cohérente (à une fréquence d'onde identique et synchronisée), monochromatique (à une seule Longueur d'onde) et énergétique des propriétés qui garantissent que les cellules sont éclairées avec une lumière uniforme d'une longueur d'onde spécifique ([Zafrani and Monneret 2017 ; Muller 2020](#)).

Lasers

- * faisceau d'une seule longueur d'onde (rais laser) ou un mélange de raies.
- * peuvent fournir des raies de quelques milliwatts à plusieurs watts
- * fournissent une lumière cohérente.

Filtres

Sont des matériaux qui absorbent certaine longueur d'onde et transmettent les autres et on a trois types :

- **Filtre passe-haut standard** : transmission de la lumière plus de 620nm.
- **Filtre passe-bas standard** : transmission est inférieure de 525nm.
- **Filtre passe –bande standard** : transmission entre 620-640nm.

Miroirs

- Jouent le rôle de réflexion des signaux de la lumière absorbé par les fluorochromes.

IV.1.3 Système électronique

C'est le système qui est chargé de numériser et de traiter la photo courante provenant du détecteur et de la sauvegarder pour une analyse ultérieure. Les photons qui sont émis lorsque le laser frappe la cellule lorsqu'elle traverse le point d'interrogation sont détectés par le photomultiplicateur (PMD) ou la photodiode (PD). Ces photons peuvent provenir de la lumière diffusée par la cellule ou de l'émission par fluorescence associés à la cellule. Une fois dans le détecteur, les photons sont convertis en électrons et le signal est multiplié proportionnellement. Le signal sort du détecteur sous forme de courant électrique après la sortie du détecteur. Le courant électrique se déplace vers l'amplificateur (AMP) où il est amplifié, cette impulsion est ensuite convertie en un signal numérique. Le signal numérique est transféré sur l'ordinateur et devient les données à analyser. Dans cette section on fait l'interprétation avec exactitude des résultats de l'expérience ([H. Elleuch Zghal 2004](#) ; [Zafrani and Monneret, 2017](#)).

IV.1.4 Les détecteurs de photons

Photomultiplicateur un système donnant la possibilité de détecter les photons il se présente sous la forme d'un tube électronique, chaque multiplicateur composé d'un ensemble d'électrodes nommé dynodes.

Photodiodes composant semi-conducteur on les utilise pour les signaux très intense et lorsqu'on a un problème potentiel (pas de gain) ([Muller 2020](#)).

IV.2 Les explorations du système immunitaire par cytométrie en flux

IV.2.1 Évaluation de DIP associée à une altération des populations (ou sous-populations) lymphocytaires

Le phénotypage lymphocytaire T, B et NK par cytométrie en flux en cas de lymphopénie, est recommandé, afin de déterminer le nombre de lymphocytes T CD4+, T CD8+, B CD19+ et NK CD16+CD56+ en valeurs absolues. Vu la lymphocytose physiologique chez l'enfant, prédominant notamment sur les lymphocytes B les résultats doivent être interprétés en fonction de l'âge de l'enfant. Ce phénotypage lymphocytaire est très informatif, puisqu'il peut permettre de diagnostiquer des déficits immunitaires sévères nécessitant une prise en charge thérapeutique urgente. C'est le cas notamment des SCID, qui sont caractérisés par une absence de lymphocytes T, ainsi que les lymphocytes B et/ou NK peuvent également être absents. Plusieurs gènes ont été identifiés dans les SCID, la plupart codant pour des protéines indispensables à la maturation des lymphocytes T et/ou B et/ou NK. En cas de lymphopénie T, il conviendra de réaliser un phénotypage lymphocytaire T étendu par cytométrie en flux, afin d'évaluer les pourcentages des lymphocytes T naïfs (TCD4+CD45RA+ pour les T CD4+ naïfs, T CD4+CD45RA+CD31+ pour les T CD4+ naïfs émigrants thymiques précoces et T CD8+CD45RA+CCR7+ pour les T CD8+ naïfs) et des lymphocytes T mémoires (T CD4+CD45RO+ pour les T CD4+ mémoires, T CD8+CD45RO+CCR7+ pour les T CD8+ mémoires centraux et T CD8+CD45RO+CCR7- pour les T CD8+ mémoires effecteurs) ([Abraham, 2011](#) ; [Abraham and Aubert, 2016](#)).

Exemple des patients dont les taux d'immunoglobulines sont diminués le nombre de lymphocytes B doivent être évalués et s'il est faible (<2 %) pendant la petite enfance ou l'enfance, il faut suspecter une agammaglobulinémie congénitale, soit X (XLA) ou autosomique récessive (**Figure 18**) (Fleisher et al., 2016).

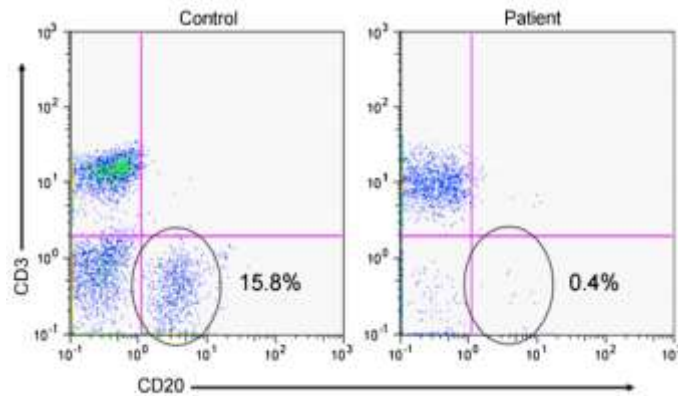


Figure 18. Dot plot de cytométrie en flux d'un sujet témoin et d'un patient avec une agammaglobulinémie congénitale démontrant une diminution marquée des cellules B circulantes. (Fleisher et al., 2016)

IV.2.2 Évaluation du DIP par détection de défauts des protéines de la surface cellulaire

La cytométrie en flux peut être utile dans le diagnostic des immunodéficiences associées à des défauts dans l'expression de protéines de surface cellulaire. Dans le syndrome hyper IgM lié à l'X, les lymphocytes T CD4⁺ peuvent être étudiés pour leur expression du ligand CD40 (CD154) après activation. Également dans l'expression du récepteur 1 de l'interféron gamma sur les monocytes dans le cadre d'une suspicion de susceptibilité mendélienne à la maladie mycobactérienne (MSMD). Un sous-groupe de ces patients peut présenter soit un défaut autosomique récessif (absence d'expression du récepteur) ou autosomique dominant (expression accrue du récepteur) de cette protéine qui peut être différenciée par cytométrie de flux (**figure 19**) (Freyer et al. 2004).

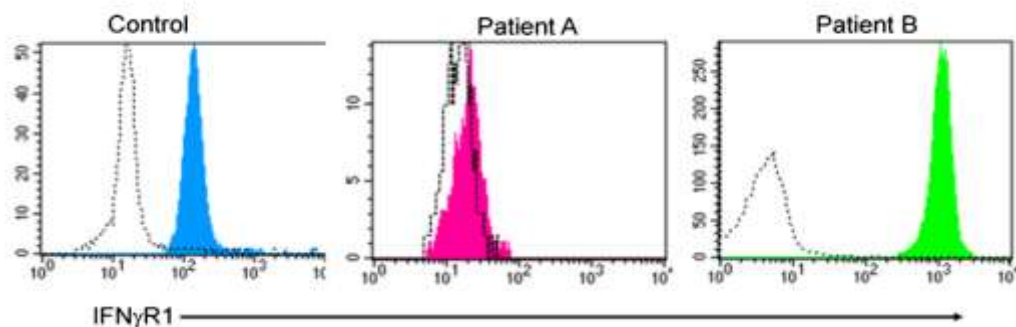


Figure 19. Histogrammes de cytométrie en flux démontrant l'expression de l'IFN γ R1 sur des monocytes provenant d'un sujet témoin, d'un patient présentant un défaut IFN γ R1 autosomique récessive (patient A) et d'un patient présentant une anomalie autosomique dominante de l'IFN γ R1 (patient B) (Fleisher et al., 2016).

IV.2.3 Évaluation du DIP par détection les défauts d'expression des protéines intracellulaires

Un certain nombre de PID sont associés à une expression défectueuse des protéines intracellulaires et, dans certains cas, cela peut constituer un test de dépistage efficace par cytométrie en flux. Dans le syndrome de Wiskott Aldrich (WAS) et de la thrombocytopénie liée à l'X (XLT), l'absence ou la diminution de l'expression de la protéine Wiskott Aldrich (WASP) peut aider à établir le diagnostic (Nakajima et al. 2009).

IV.2.4 Évaluation de DIP par détection les anomalies fonctionnelles

Plus récemment, la cytométrie en flux a été utilisée pour évaluer des caractéristiques fonctionnelles spécifiques et cela a évolué vers des applications utiles pour le diagnostic des DIP. L'essai fonctionnel le plus couramment utilisé est l'évaluation de l'explosion oxydative après l'activation des granulocytes en utilisant le test de la dihydrorhodamine 123 (DHR) (figure 20) (Jirapongsananuruk et al. 2003).

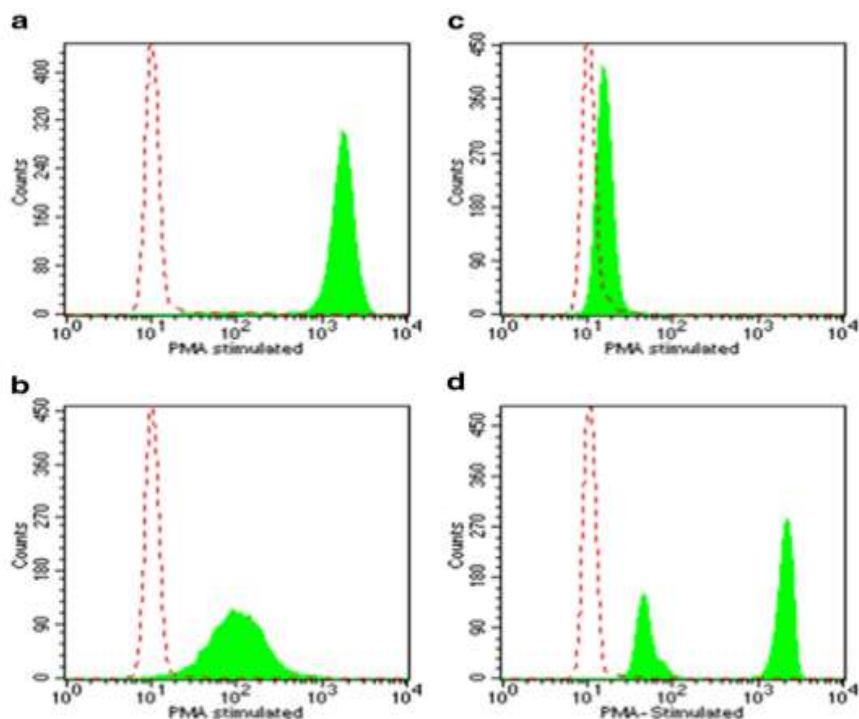


Figure 20. Histogrammes de cytométrie en flux du test de la DHR, d'analyse démontrant le changement (ou l'absence de changement) de la fluorescence des neutrophiles après stimulation par la PMA chez un sujet témoin (a), un patient atteint de CGD autosomique récessive (p47 phox) (b), un patient avec une CGD récessive liée au chromosome X (gp91 phox) (c) et un porteur lié au chromosome X (d). La ligne pointillée montre la fluorescence de fond des neutrophiles non stimulés (Fleisher et al., 2016).

IV.2.5 Les tests de prolifération lymphocytaire (TTL)

Les tests de prolifération lymphocytaire (TTL) en réponse à un mitogène non spécifique (de type phytohémagglutinine ou PHA) et à des antigènes spécifiques selon l'histoire clinique (anatoxine tétanique, tuberculine, CMV...). la réponse spécifique d'antigène vis-à-vis du bacille de Calmette Guérin restant solide même à distance de la vaccination. Par ailleurs, elles sont également ininterprétables chez un patient traité par immunosuppresseurs, en particulier par des drogues qui inhibe l'activation lymphocytaire. Une diminution des TTL associée à un nombre normal ou diminué de lymphocytes T doit faire suspecter un déficit immunitaire combiné (CID) qui associe déficit cellulaire et humoral. Alors, une maladie de Burton est évoquée en cas d'absence de lymphocytes B associée à une agammaglobulinémie chez un garçon, ainsi qu'un diagnostic de CVID est évoqué En cas d'hypogammaglobulinémie associée à un nombre normal ou diminué de lymphocytes B, sans anomalie des lymphocytes T (Abraham, 2011 ; Audrain et al., 2014 ; Kato et al., 2006).

Le déficit immunitaire primitif DIP et spécifiquement l'immunodéficience combinée sévère (SCID) caractérisé par le dysfonctionnement de la maturation et du développement des lymphocytes T Le SCID représente 8,74% des PID dans la population marocaine comme indiqué dans le premier registre marocain. Il est considéré comme une urgence pédiatrique potentiellement mortelle. Une détection et un diagnostic précoce après la naissance, suivie d'un traitement convenable rétablissant le système immunitaire, peu augmenter largement les chances de survie et la cytométrie en flux joue un rôle primordial dans ce diagnostic.

Malheureusement la méconnaissance du ce désordre rend ce diagnostic difficile. Les lymphocytes sont un sous-ensemble de globules blancs qui font partie intégrante de la défense immunitaire humorale et cellulaire contre les protéines étrangères et les agents pathogènes variant dans leurs nombres ([Kakar A., et al., 2011](#)).

De nombreuses maladies et troubles infantiles et pédiatriques peuvent réduire le nombre et/ou les sous-ensembles de lymphocytes. C'est le cas, par exemple, de l'immunodéficience primaire et du VIH transmis de la mère à l'enfant ([McCusker, Upton, and Warrington 2018 ; Rouet et al. 2006](#))). D'autre part, les cancers pédiatriques peuvent augmenter anormalement le nombre de lymphocytes T ([Eckschlager 1992](#)). La détermination par cytométrie en flux du nombre total de lymphocytes et/ou de sous-ensembles de lymphocytes est particulièrement important dans l'évaluation initiale et le diagnostic de nombreuses maladies et troubles cliniques, notamment l'auto-immunité, les immunodéficiences, les infections et les tumeurs malignes ([Locke, Dasu, and Verbsky 2014 ; Wong et al. 2013](#))

Le SCID entraîne une mort précoce s'il n'est pas traité de toute urgence par une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogènes, ce qui souligne l'importance cruciale d'un diagnostic précoce ([Rozmus et al. 2013](#)). Malgré cela, l'hétérogénéité des présentations immunologiques et cliniques fait du diagnostic du SCID un défi important. Par conséquent, la connaissance des caractéristiques courantes du SCID au sein d'une population donnée peut contribuer à sensibiliser les médecins et à accélérer le diagnostic.

OBJECTIS DU TRAVAIL

Les objectifs de cette étude sont :

- ❑ Établir les valeurs de référence normales stratifiées selon l'âge des sous-ensembles de lymphocytes du sang pour la population pédiatrique marocaine servant pour une interprétation des résultats de la cytométrie servant dans le diagnostic de déficit immunitaire combiné sévère SCID, et l'analyse du changement des valeurs des cellules immunitaire vis-à-vis les groupes d'âge et la comparaison des valeurs de la population marocaine avec des population occidentale.

- ❑ Étudier l'épidémiologie du SCID dans les différentes populations à travers le monde et savoir s'il existe une corrélation entre les mutations génétiques les plus fréquentes, leur mode d'héritage et le taux d'incidence du SCID et la distribution géographique des cas de SCID.

- ❑ Identification et analyse du profil clinique, immunologique des patients SCID marocain et déterminer les caractéristiques majeures du SCID marocain et comparer les profils des patients SCID au Maroc avec ceux d'autres populations, Cameroun, USA, Turquie, Hollande et détermination des points de différence.

MATERIELS ET METHODES

1.1ère Partie : Détermination des valeurs normales chez des enfants dans une population marocaine

Le nombre de lymphocytes circulants peut augmenter (lymphocytose) lors de certaines infections telles que la mononucléose ou lors de troubles lymphoprolifératifs tels que la leucémie lymphocytaire aiguë ou chronique, Il peut aussi diminuer (lymphocytopénie) lors d'infections virales telles que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou lors de maladies héréditaires telles que les immunodéficiences primitive (DIP) (Kakar A. et al., 2011 ; Zinzani, P. L. et al., 2016 ; Locke, Dasu, and Verbsky 2014).

L'interprétation de l'immunophénotypage de routine réalisé par cytométrie en flux dépend fortement de la comparaison entre les valeurs de laboratoire mesurées sur l'échantillon testé et les valeurs normales obtenues chez des individus sains (Locke, Dasu, and Verbsky 2014; McCoy and Overton 1994). Le nombre total de globules blancs, y compris les lymphocytes, ainsi que la distribution de ses sous-ensembles sont très variables dans la population. La première enquête nationale sur la santé et la nutrition (National Health and Nutrition Examination Survey) menée aux États-Unis a montré que le nombre total de leucocytes était différent selon l'âge (McGrath, Hitchcock, and VanAssendelft 1982). D'autres études ont également démontré l'effet de l'âge sur les lymphocytes du sang périphérique (Jiao et al. 2009). Une autre étude a examiné le nombre total de leucocytes entre les hommes et les femmes de 25 à 71 ans (à intervalles de 5 ans) et a conclu que ce nombre était significativement différent entre les hommes et les femmes à tous les âges examinés (Chen et al. 2016). Des différences similaires ont été observées pour les monocytes et les éosinophiles (Chen et al. 2016). Par conséquent, les valeurs de référence devraient être stratifiées en fonction du sexe et de l'âge.

Parmi les autres régulateurs bien connus de la réponse immunitaire figurent l'exposition environnementale, notamment l'exposition prénatale (Duramad, Tager, and Holland 2007), le niveau de nutrition et également l'exposition microbienne ou "l'hypothèse de l'hygiène" (Bloomfield et al. 2006 ; Lisse et al. 1997). Comme le nombre total de lymphocytes, ainsi que ses sous-ensembles, peuvent différer d'un pays à l'autre en raison des variations locales des conditions susmentionnées, de nombreuses études ont porté sur

des populations ethniques afin d'établir les valeurs de laboratoire de référence R.S. Kibaya (Lugada et al. 2004; de Moraes-Pinto et al. 2014; Sagnia et al. 2011; Shearer et al. 2003; Tosato et al. 2015).

L'utilisation de valeurs de référence nationales devrait donc améliorer la précision du diagnostic basé sur la cytométrie en flux. Dans une étude précédente, notre groupe a établi les valeurs de référence des lymphocytes pour la population adulte marocaine.

Le but de cette partie est d'établir les valeurs de référence normales stratifiées selon l'âge des sous-populations de lymphocytes du sang périphérique pour la population pédiatrique Marocaine. Pour ce faire, les taux et les valeurs absolus des sous-populations lymphocytaires T, B et NK ont été mesurés dans le sang périphérique d'enfants sains Marocains repartis en fonction des leurs âges. Les résultats ont été comparés avec ceux dans d'autres populations.

○ **I.1. Patients et échantillons**

Patients

Quatre-vingt-trois enfants en bonne santé ont été recrutés à l'unité d'immunologie, des maladies allergiques et respiratoires de l'hôpital des enfants de Rabat entre octobre 2005 et mars 2008 et envoyés au Laboratoire d'Immunologie Cellulaire de l'Institut National d'Hygiène pour une analyse immunologique. Le consentement éclairé des parents a été obtenu avant d'évaluer les sujets pour l'étude. Chaque individu a fait l'objet d'une évaluation clinique par un pédiatre afin de confirmer s'il était éligible pour participer à l'étude.

Critères d'inclusion : Les patients retenus pour cette étude sont :

- Des enfants ayant un âge égal ou inférieur à 12 ans ;
- Les sujets ne souffrant pas de maladies chroniques ou aiguës
- Des sujets sont cliniquement normaux,

Critères exclusion :

- Tout sujet présentant Une infection à VIH ; d'autres déficits immunitaires secondaires (Hypo protidémie ; malnutrition ; insuffisance rénale chronique ; hémopathies malignes ; chimiothérapie immunosuppressive, etc...) ; Maladies

infectieuses ou de troubles immunologiques et hématologiques. ; Antécédents familiale de déficits immunitaires primitif ; Consanguinité familiale.

Tableau II. : La distribution des sujets de l'étude par groupe d'âge.

Groupe	Groupe I	Groupe II	Groupe III	Groupe IV	Groupe V
Tranche d'âge	0 à 1 an	> 1 à 2 ans	> 2 à 6 ans	> 6 à 12 ans	12 ans
Nombre	(N=12)	(N=13)	(N=17)	(N=21)	(N=20)

Les échantillons :

Trois types d'échantillons de sang total périphérique ont été prélevés par ponction veineuse de chacun des 83 enfants. Le premier échantillon de 5mL sur un tube EDTA (l'acide éthylènediamine-tétraacétique). Le deuxième échantillon est prélevé sur un tube sec et analysés dans les 24 heures suivant le prélèvement. Le troisième sur tube hépariné.

○ I.2. Méthodes

▪ I.2.1. Étude immunologique

● I.2.1.1 Numération de la formule sanguine

Une analyse quantitative et qualitative des éléments du sang (globules rouges, globules blancs et plaquettes sanguines) a été réalisée pour tous les sujets de l'étude sur le même prélèvement sanguin EDTA. Les mesures sont réalisées sur un automate Beckmann Coulter

● I.2.1.2. Dosage des immunoglobulines par néphélométrie

Pour chaque sujet de l'étude, un dosage pondéral des immunoglobulines (IgA, IgG, IgM) est aussi réalisé par technique néphélométrie sur le sérum récupéré à partir du sang prélevé sur le tube sec. Les mesures sont réalisées sur l'automate **NEPHSTAR® Immunoglobulin (IgA, IgG, IgE) Kit**.

● Principe

L'immuno-néphélométrie consiste en la mesure de la lumière diffusée par des complexes insolubles formés par la réaction entre une protéine spécifique dans les échantillons et

son antisérum respectif, la quantité de lumière diffusée étant directement proportionnelle à la concentration de la protéine étudiée à condition que l'antisérum soit en excès. Les concentrations sont automatiquement calculées par référence à une courbe d'étalonnage stockée dans l'instrument. La néphélométrie laser permet le dosage de nombreuses protéines dans le sérum humain, elle est automatisée, ce qui permet le dosage de nombreux échantillons simultanément **Figure 21**.

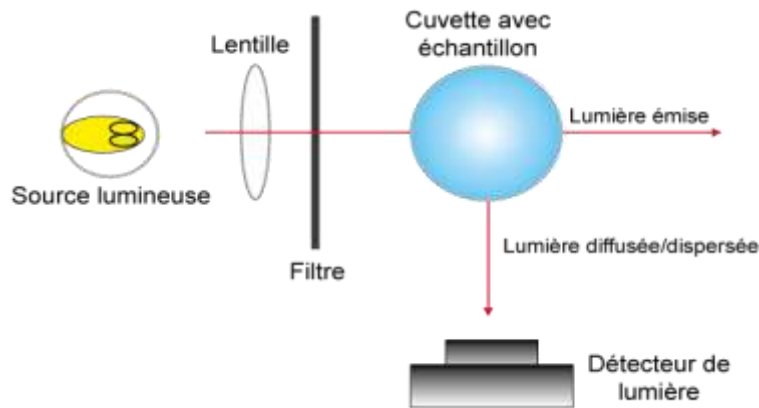


Figure 21. Principe de la technique néphélométrie : Le système de néphélométrie mesure l'intensité de la lumière dispersée à un angle de 90° par rapport au trajet de la lumière incidente. Cette méthode est particulièrement bien adaptée pour les mesures de faible turbidité ([Nephstar Catalog 2007](#))

- **Prélèvement et préparation des échantillons**

Les échantillons de sang sur tube sec sont laissés pour coaguler naturellement. Les sérums sont séparés dès que possible pour éviter l'hémolyse. Les sérums peuvent être conservés à $2-8^\circ\text{C}$ pendant 48 heures, sinon ils sont congelés à -20°C . Les dilutions d'échantillons doivent être fraîchement préparées le jour du test. L'analyse des types de sérums suivants peuvent donner des valeurs trompeuses :

- ☐ Échantillons hautement lipidiques, turbides et hémolysés : ne sont pas adaptés aux tests de néphélométries et ne doivent pas être utilisés. Car ça ne convient pas aux tests de néphélométries et ne doivent pas être utilisés à moins d'être centrifugés ou préparés selon d'autres méthodes.

- ☐ Échantillons contenant des facteurs rhumatoïdes : Des para-protéines ou des immunocomplexes circulants peut entraîner des valeurs trompeuses en raison de la diffusion non spécifique de la lumière éventuellement générée par ces articles.

- **Procédure du teste**

Les étapes de préparation et lecture d'un échantillon par néphélométrie sont décrite dans la **figure 22**.

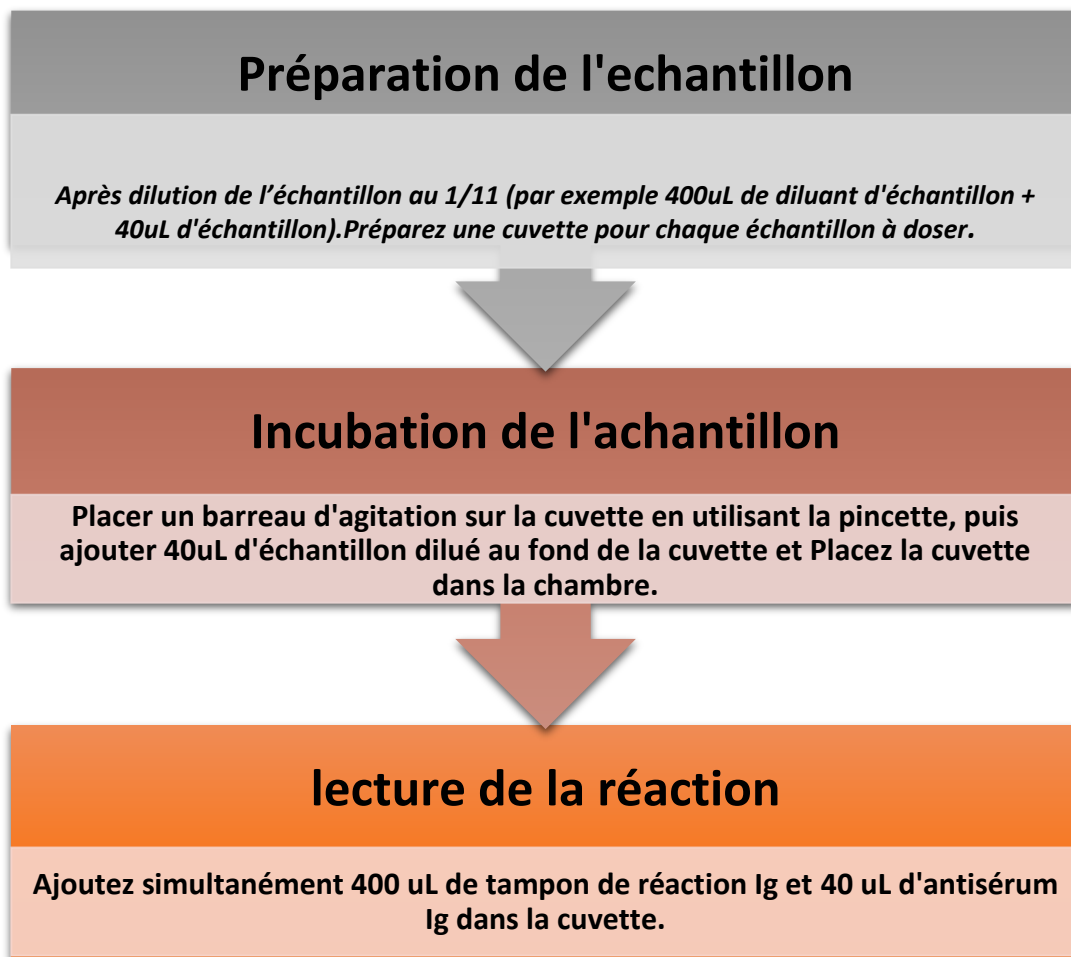


Figure 22. Schéma des étapes de préparation et lecture d'un échantillon par néphélométrie.

- **Interprétation des résultats**

L'interprétation des résultats de concentrations des immunoglobulines se fait par comparaison avec les concentrations normales (valeurs normales) de chaque tranche d'âge (**Tableau III**).

Tableau III : Valeurs normales des Immunoglobulines A, G, M en fonction de l'âge selon l'IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) (Bertrand et al. 2010).

Age	IgG (g/L)					IgA (g/L)	IgM (g/L)
	IgG totaux	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4		
0 – 1 m	6.2 – 13	2.4-10.6	0.87-4.1	0.14-0.55	0.039-0.56	0.07 – 0.22	0.04 – 0.65
1-6 m	2.9 -8.6	1.8-7.0	0.34-2.1	0.14-0.80	0.017-0.36	0.1- 0.62	0.25 – 0.85
6 m – 1 an	2.4 – 4.4	2.0-7.7	0.34-2.3	0.15-0.97	0.012-0.43	0.27 – 0.86	0.34 – 1.14
1 – 3 ans	3.4 – 6.2	2.5-9.0	0.38-2.8	0.14-1.20	0.011-1.06	0.33 – 1.22	0.48 – 1.43
3 – 9 ans	4.8 – 9.0	3.5-10.8	0.63-4.1	0.13-1.42	0.015-1.89	0.41 – 1.57	0.54 – 1.53
9 – 12 ans	6.2 – 11.5	4.0-11.5	0.98-4.8	0.15-1.49	0.030-2.10	0.5 – 1.7	0.55 – 1.55
12 – 18 ans	6.6 – 12.2	3.7-12.8	1.06-6.1	0.18-1.63	0.035-2.30	0.56 – 2.03	0.57 – 1.62
Adulte	6.6 -12.8	4.9-11.4	1.50-6.4	0.20-1.10	0.080-1.40	0.7 -3.4	0.5 -2.1

- **I.2.1.3 Immunophénotypage des sous populations lymphocytaires par cyrtométrie en flux**

Un immunophénotypage des sous populations lymphocytaires a été réalisé pour les 83 enfants sur un tube de prélèvement avec anticoagulant EDTA par cyrtométrie en flux en utilisant (BD Trucount Tube) et sur un cyrtomètre FACS Canto II (BD) qui possède 2 lasers et lit 6 couleurs.

- **Principe**

Le principe de la cyrtométrie en flux repose sur l'analyse multiparamétrique d'une suspension de cellules entraînées dans un flux liquide et qui défilent à grande vitesse devant le faisceau d'un ou plusieurs lasers. Lorsque du sang total est ajouté au réactif, les anticorps Marqués au fluorochrome se lient spécifiquement aux antigènes portés par les leucocytes. Pendant l'acquisition, les cellules passent devant le faisceau laser et diffusent la lumière laser. Les cellules marquées deviennent fluorescentes. Ces signaux de diffusion de même que la longueur d'onde et l'intensité de fluorescence, détectés par

l'instrument, fournissent des informations sur la taille de la cellule, sa complexité interne, et aussi sur la présence et la densité des antigènes portés par ces cellules.

- **Échantillon et réactifs**

Échantillon

- Sang totale prélevé sur tube EDTA un minimum de 50 µL de sang total est nécessaire pour cette procédure.
- Le sang anti-coagulé conservé à la température ambiante (20°C-25°C) doit être marqué dans les 24 heures suivant le prélèvement et analysé dans les 24 heures suivant le marquage.

Réactifs

- Les anticorps fluorescents spécifiques des marqueurs cellulaires des lymphocytes T, B et cellules NK : anti-CD45, (PerCP) ; anti-CD3, (FITC) ; anti-CD4, (PE-Cy7) ; anti-CD8, (APC-Cy7) ; anti-CD19, (APC) ; anti-CD16/56, (PE)
- La solution de lyse des globules rouges (FACS lysing solution ; BD) contient du diéthylène glycol et du formaldéhyde).
- Des tubes BD Trucount contiennent chacun un culot lyophilisé de billes fluorescentes dans un tube à usage unique. (Utilisés avec une procédure spécifique de lyse/no Wash).

- **Mode opératoire**

Marquage des cellules (figure 23)

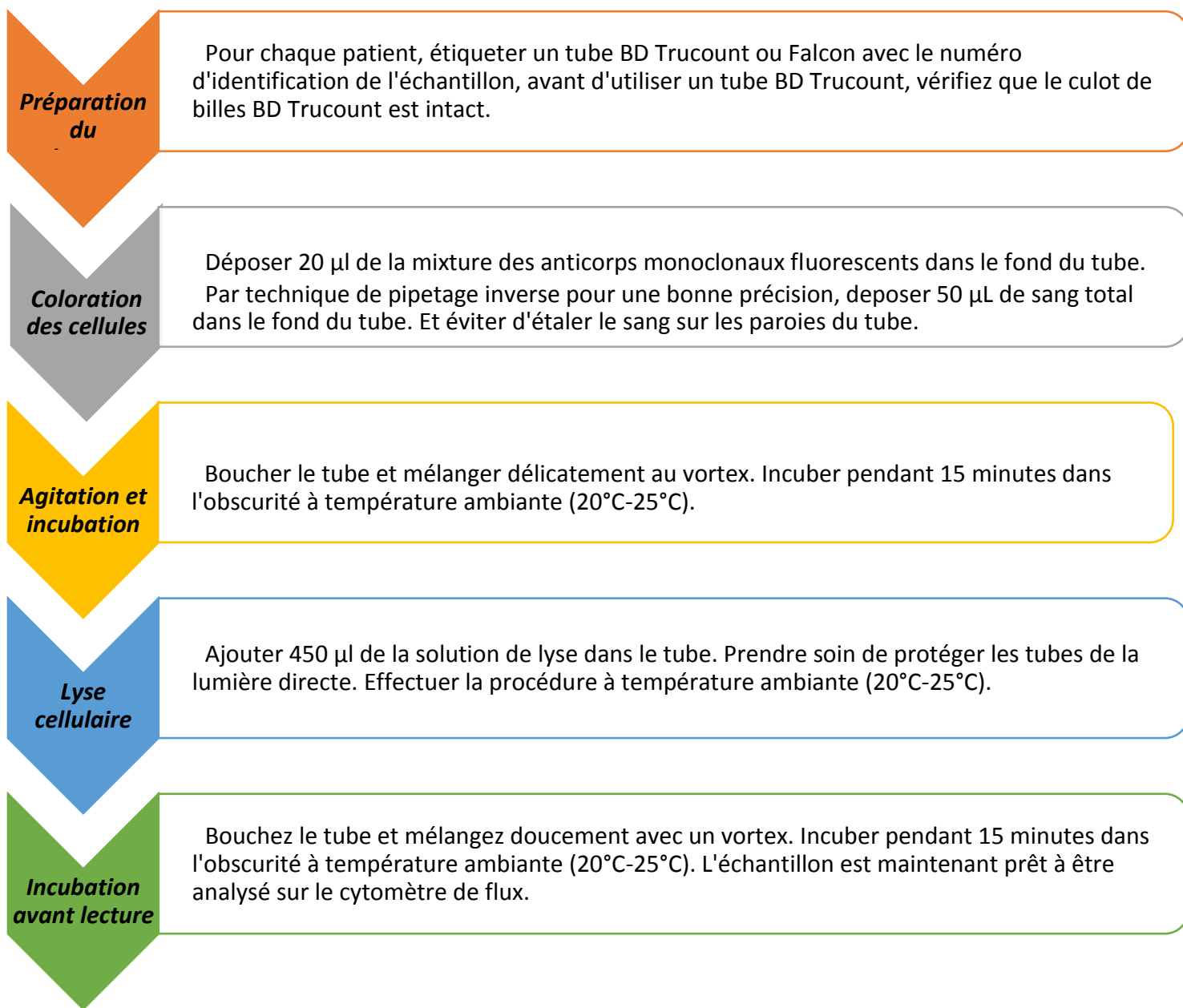


Figure 23 : Schéma de la procédure de marquage des cellules avant lecture au cytomètre.

- **Lecture au cyrtomètre**

La lecture sur le cytomètre se fait par étape : **Tableau (IV) et (Figure 24)**

1. Détermination de la population lymphocytaire en se focalisant par le leuco-gâte (CD45 contre SSC-A).

2. Les lymphocytes T CD3⁺ et T helper CD3⁺, CD4⁺ sont ensuite déterminés par la dot plot (CD3 vs CD4) sur les lymphocytes
3. Les lymphocytes T cytotoxiques T CD3⁺, CD8⁺ sont aussi déterminés par le dot plot (CD3 vs CD8) sur les lymphocytes.
4. Les lymphocytes B et NK sont identifiés sur les lymphocytes aussi mais par les dots plots (CD3 vs CD19) et (CD3 vs CD16⁺CD56⁺).

Tableau IV : liste des dots plots utilisés pour chaque population à déterminer

Dot Plot	Population déterminés
CD45 vs SSC-A	Lymphocytes
CD3 vs CD4	Lymphocytes T CD3 ⁺ , CD4 ⁺
CD3 vs CD8	Lymphocytes T CD3 ⁺ , CD8 ⁺
CD3 vs CD19	Lymphocytes B
CD3 vs CD16⁺CD56⁺	Lymphocytes NK

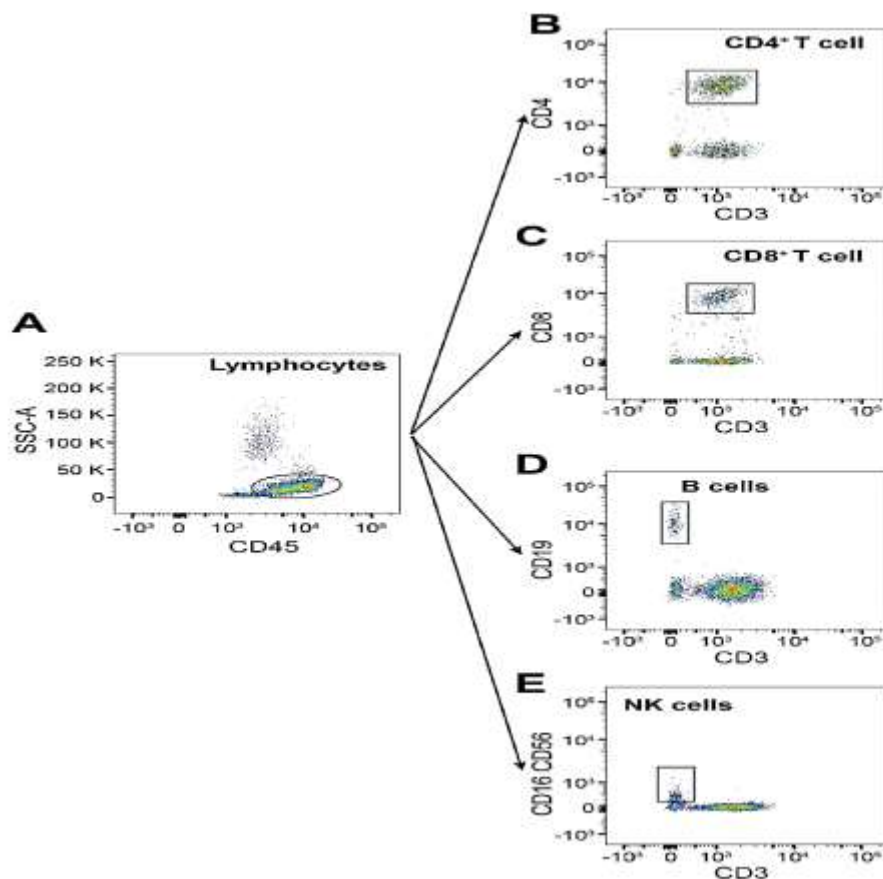


Figure 24. Exemple représentatif de la stratégie de sélection et de l'identification de sous-ensembles lymphocytaires spécifiques.

- **Calcul des nombres absolus**

En cas d'utilisation du logiciel BD FACS-Diva ou par le logiciel FlowJo, les résultats indiquent les cellules positives en pourcentage des lymphocytes. Dans le cas d'utilisation de plate-forme unique, le calcul des numérations absolues se fait directement en utilisant le compte des billes préalablement introduites dans la suspension cellulaire (Truecount). Le logiciel calcule alors le nombre de cellules positives par microlitre de sang (comptage absolu).

Les comptes absolus sont calculés en utilisant la formule suivante

$$\frac{\text{\#Événements dans la population cellulaire}}{\text{\#perles test}} \times \frac{\text{\#Événements dans la région du nombre absolu de perles}}{\text{volume de test}} = \text{nombre absolu de cellules de la population}$$

Méthode de calcul (Dual Platform)

Le calcul du compte absolus des sous-population lymphocytaire peut aussi être déterminé en utilisant, le pourcentage de la sou population en question déterminé par le cytométrie sur la base du nombre absolu de lymphocytes déterminé par un analyseur hématologique ou par d'autres moyens.

- **Interprétation des résultats**

Les résultats des count absolus des sous population lymphocytaires sont comparé selon l'âge a des valeurs normales. Pour toute valeur basse, l'analyse est refaite pour une confirmation sur un nouveau prélèvement (**Tableau V**) :

Tableau V :Valeurs normales des sous-populations lymphocytaires (103 / μ L) en fonction de l'âge ([Shearer et al. 2003](#)).

Sous-population	0 - 3 mois	3 - 6 mois	6 -12 mois	1 - 2 ans	2 - 6 ans	6 - 12 ans	12-18 ans
GB	7.20-18.00	6.70-14.00	6.40-13.00	6.40-12.00	5.20-11.00	4.40-9.50	4.40 -8.10
Lymphocytes	3.40 -7.60	3.90 -9.00	3.40 -9.00	3.60 -8.90	2.30 -5.40	1.90-3.70	1.40 -3.30
LT CD3	2.50 -5.50	2.50 -5.60	1.90 -5.90	2.10 -6.20	1.40 -3.70	1.20-2.60	1.00 -2.20
LB CD19	0.30 -2.00	0.43 -3.00	0.61 -2.60	0.72 -2.60	0.39 -1.40	0.27-0.86	0.11 -0.57
NK CD16/56	0.17 -1.10	0.17 -0.83	0.16 -0.95	0.18 -0.92	0.13 -0.72	0.10-0.48	0.07 -0.48
LT CD4	1.60 -4.00	1.80 -4.00	1.40 -4.30	1.30 -3.40	0.70 -2.20	0.65-1.50	0.53 -1.30
LT CD8	0.56 -1.70	0.59- 1.60	0.50 -1.70	0.62- 2.00	0.49 -1.30	0.37-1.10	0.33 -0.92

IV.2.5.1 Quantification de l'activité du Burst oxydatif des monocytes et des granulocytes

Pour certains de nos patients un test d'explosion oxydatif des granulocytes est réalisé. Ce test permet la détermination quantitative du Burst oxydatif leucocytaire dans le sang total hépariné. Il utilise des bactéries opsonisées non marquées (*E. coli*) et le 12-myristate 13-acétate de phorbol (PMA) en tant que stimulants. La dihydrorhodamine 123 (DHR) est utilisé comme sonde fluorescente en présence de H₂O₂ produit de l'explosion oxydative.

Ce test détermine ainsi le pourcentage de cellules phagocytaires qui produisent des oxydants réactifs (conversion de DHR 123 en R 123) et leur activité enzymatique (quantité de R 123 par cellule). L'évaluation de l'activité du Burst oxydatif doit être réalisée par cytométrie de flux.

- **Principe**

La phagocytose par les neutrophiles poly morpho-nucléaires et les monocytes constituent un bras essentiel dans la défense de l'hôte contre les infections bactériennes ou fongiques. Le processus phagocytaire peut être séparé en plusieurs étapes majeures : chimiotaxie (migration des phagocytes vers les sites inflammatoires), l'attachement des particules à la surface des cellules des phagocytes, l'ingestion (phagocytose) et la destruction intracellulaire par mécanismes dépendants de l'oxygène (explosion oxydative) et indépendants de l'oxygène. PHAGOBURST est un test qui permet la détermination quantitative du Burst oxydatif des leucocytes. Utilisant des bactéries *E. coli* opsonisées non marquées en tant que stimulus particulaire, la protéine kinase en tant que stimulus particulaire, le ligand de la protéine kinase C, le phorbol 12-myristate 13-acétate (PMA) comme stimulus élevé, et le peptide chimiotactique N-formyl Met Leu Phe (fMLP) comme stimulus physiologique faible, la dihydrorhodamine (DHR) 123 comme substrat fluorogène. Lors de la stimulation, les granulocytes et les monocytes produisent des métabolites réactifs de l'oxygène (anion superoxyde anion, peroxyde d'hydrogène, acide hypochloreux) qui détruisent les bactéries à l'intérieur du phagosome. La formation des oxydants réactifs au cours de l'explosion oxydative peut être surveillée par l'ajout et l'oxydation DHR 123. La réaction est arrêtée par l'addition d'une solution de lyse, qui élimine les érythrocytes et entraîne une fixation partielle des leucocytes. Après une étape de lavage avec la solution de lavage, la solution de coloration de l'ADN est ajoutée pour exclure les artefacts d'agrégation des bactéries ou des cellules. Le pourcentage de cellules ayant produit des radicaux réactifs de l'oxygène sont ensuite analysés ainsi que leur intensité de fluorescence moyenne (activité enzymatique). En résumé, la phagocytose et la digestion qui en découle sont un processus multi-étape et multifactoriel ([Sawyer, D.W., Donowitz 1989 ; Male, D. et al., 2007](#)).

- **Échantillons et réactifs**

Échantillon

Le sang total sur tube de prélèvement sanguin contenant de l'anticoagulant héparine.

Réactifs

- ❑ REACTIF A : De solution de lavage
- ❑ REACTIF B : Suspension d'E. coli stabilisée et opsonisées
- ❑ REACTIF C : Le peptide chimiotactique fMLP
- ❑ REACTIF D : Du phorbol 12-myristate 13-acétate (PMA)
- ❑ REACTIF E : Le substrat contenant de la dihydrorhodamine 123
- ❑ REACTIF F : solution de lyse après dilution 1 : 10
- ❑ REACTIF G : Solution de coloration de l'ADN pour la discrimination cytométrique des bactéries lors de l'analyse des leucocytes

- **Procédure du test**

1. Préparer les réactifs
2. Préparer le bain de glace.
3. Préchauffer le bain-marie à 37 °C (contrôle précis de la température !).
4. Allumer et calibrer le cytomètre en flux.

Mise en place du Burst oxydatif :

En suivant les étapes dans (**Figure 25**) et (**l'annexe 1**) les cellules dans l'échantillon seront activées en présence de stimulant puis mis en contact avec un substrat pour une oxydation avant d'être lysé et fixé. Après, une coloration d'ADN la réaction est mesurée sur un cytomètre en flux

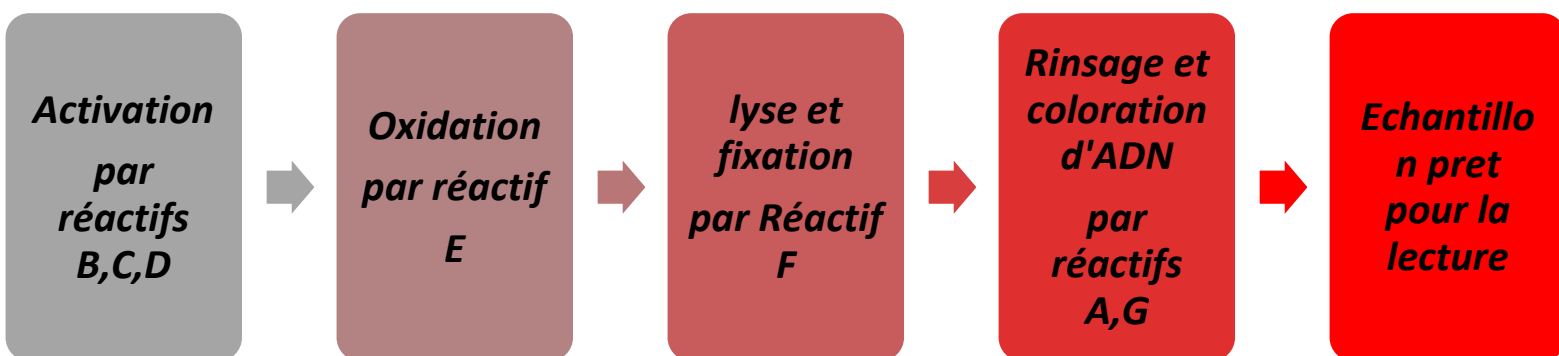


Figure 25. Étapes de la Mise en place du Burst oxydatif

- **Analyse cytométrique en flux**

Les cellules sont analysées par cytométrie en flux en utilisant la lumière d'excitation bleu-vert (laser à ions d'argon de 488 nm).

Mesure

Pendant l'acquisition des données, une porte "gâte" est mise en place dans l'histogramme de fluorescence rouge sur les événements qui émettent le même niveau de fluorescence sur ce canal témoignait, ainsi d'un même contenu d'ADN. Ce sont les leucocytes ; Cellule diploïde humaine (c'est-à-dire exclusion des agrégats de bactéries. Voir **(la figure 26.A)**). Il est également possible d'exclure les bactéries en utilisant le déclenchement de la fluorescence dans le canal FL2 ou FL3. Collecter 10 000 à 15 000 leucocytes par échantillon **(Figure 26)**.

Évaluation des données

Le pourcentage de cellules ayant produit des métabolites réactifs de l'oxygène (recrutement) est analysé ainsi que leur intensité de fluorescence moyenne (quantité de substrat clivé, activité). Pour cela, le cluster des neutrophiles est gaité dans le diagramme de dispersion (lin FSC vs lin SSC) et son histogramme de fluorescence verte (FL1) est

analysé voir (**Figure 27**). Pour cela, utilisez l'échantillon témoin pour définir un marqueur pour la fluorescence-1 (FL1) de sorte que moins de 1-3% des événements sont positifs. Le pourcentage de cellules positives dans les échantillons de test peut alors être déterminé en comptant le nombre d'événements au-dessus de cette position du marqueur. La fluorescence moyenne est en corrélation avec la quantité d'oxydation par leucocyte individuel.

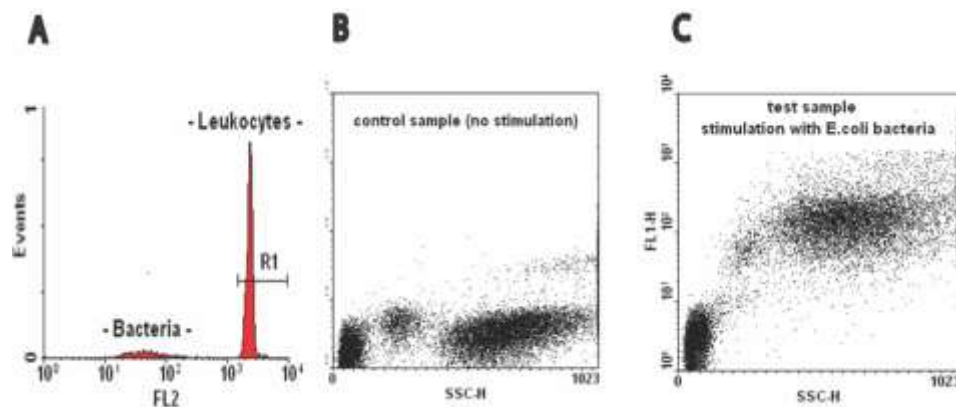


Figure 26 : Affichage recommandés d'histogrammes/tracés de points pendant l'acquisition des données (voir figures A, B, C). Typiques Graphiques FSC/SSC et histogrammes FL1 de l'essai d'éclatement oxydatif (temps d'incubation de 10 + 10 min à 37 °C). **A** le gâte sur l'ADN des leucocytes (histogramme FL2) ; **B** Dot plot lin SSC / log FL1 du contrôle d'échantillon (pas de stimulation) ; **C** Dot plot lin SSC / log FL1 de l'échantillon testé (stimulation avec la bactérie *E. coli*).

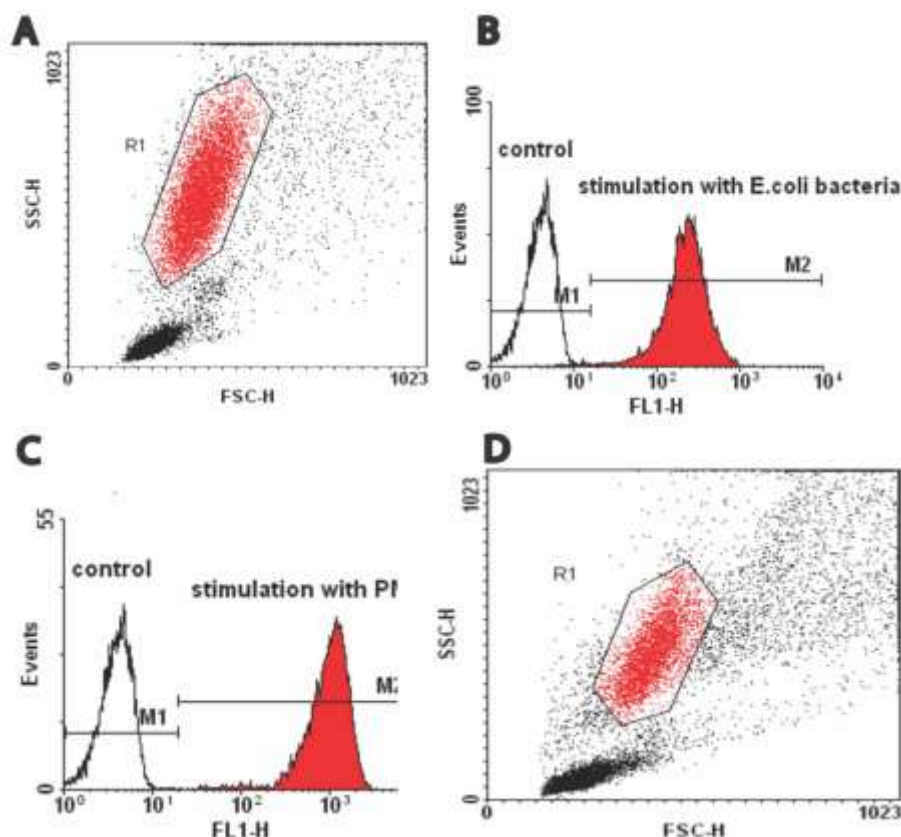


Figure 27. Les histogrammes des échantillons de contrôle sont présentés à gauche (voir figures A - F). **A** Graphique au typique gâte FSC/SSC, sur les granulocytes, stimulation avec des bactéries *E. coli* ; **B** Histogramme typique de FL1, porte fixée sur les granulocytes, stimulation avec des bactéries *E. coli* ; **C** Graphique typique FSC/SSC, gâte réglée sur les granulocytes, stimulation avec PMA ; **D** Histogramme typique de FL1, gâte réglée sur les granulocytes, stimulation avec PMA.

• Interprétation des résultats

L'activité de l'explosion oxydative des granulocytes et des monocytes est déterminée après comparaison avec la fourchette déterminée sur des échantillons de sang total hépariné des sujets sains.

TableauVI : fourchettes normales de l'activité des granulocytes et monocytes sur différents stimulus.

Type de cellule	Stimulus	% d'oxydation des Cellules	Geo Mean FL1
Granulocytes	E. coli	97-100	150-500
	PMA	98-100	300-1000

Analyse statistique

Les résultats (nombres absolus) ont été calculés par Excel (Microsoft) et des tests statistiques de normalité ont été effectués à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov et du test de Shapiro-Wilks. Une transformation algorithmique a été effectuée à l'aide de SPSS 20.0 afin de réduire l'asymétrie. (W.Q. Meeker, G.J. Hahn, and L.A. Escobar, Wiley, Hoboken 2017). Nous avons fixé la proportion à inclure à 0,90 [bilatéral, comparable aux points percentiles (p) 5 et 95] avec un niveau de confiance de 0,95. Les limites de tolérance ont été calculées avec Minitab 18 et les valeurs de log-transformation ont été retransformées en valeurs originales. Les valeurs moyennes, médianes, maximales et minimales, ainsi que les différences significatives entre les sous-ensembles de lymphocytes des différents groupes ont été calculées à l'aide de Prism 8.0 (GraphPad).

II. 2èmePartie : Étude de l'épidémiologie régionale du SCID dans le monde

Le SCID représente 8,74% des PID dans la population marocaine comme indiqué dans le premier rapport sur le registre marocain (A. Bousfiha et al. 2015). Il représente 8,2% des PID dans la population tunisienne (Mellouli et al. 2015), et 5,7% des PID dans une étude espagnole (Matamoros Florí et al. 1997). Bien qu'il n'y ait pas de grandes différences entre ces populations méditerranéennes, il est néanmoins difficile de définir avec

précision la prévalence du SCID dans des pays comme le Maroc en raison du décès précoce fréquent des patients avant leur diagnostic. Le pourcentage de SCID est significativement plus élevé (21,1%) dans la population iranienne (Aghamohammadi et al. 2014). Il a également été signalé qu'en Iran, la prévalence du SCID non diagnostiqué était extrêmement élevée (Bahrami et al. 2020). Dans les pays où les mariages consanguins sont fréquents, l'incidence du SCID autosomique récessif peut être plus élevée (Tasher and Dalal 2012) (Saleem et al. 2013 ; Suliaman, Al-Ghonaïum, and Harfi 2006), bien que le SCID lié au chromosome X soit la forme la plus courante dans le monde.

L'incidence du SCID est estimée à 1 pour 40 000-100 000 naissances vivantes aux États-Unis. Cependant, dans certains pays, l'incidence peut atteindre 1 pour ~3 000 naissances vivantes. À la lumière des différentes mutations génétiques qui causent le SCID, de leur mode d'héritage et de la variation frappante du taux d'incidence dans différents pays, nous avons cherché à savoir s'il existe une corrélation entre les mutations génétiques les plus fréquentes, leur mode d'héritage et le taux d'incidence du SCID et la distribution géographique des cas de SCID. Nous avons choisi arbitrairement des pays représentatifs de 12 régions du monde et avons étudié la littérature pour répondre à cette question. Nous avons également inclus le SCID atypique et le syndrome d'Omenn dans notre rapport, lorsqu'ils ont été rapportés séparément, ou nous parlons de SCID lorsque nous faisons référence au SCID atypique et au syndrome d'Omenn ensemble. Pour cela Nous avons conduit une recherche bibliographique sur google scholar et PubMed, en utilisant les mots-clés « incidence », « prévalence » et « sévère combine immunodéficience », pour collecter les informations les plus récentes et les plus pertinentes concernant la prévalence et l'incidence des SCID ou même le pourcentage des SCID dans les DIP dans les populations ou l'incidence et la prévalence des SCID n'est pas pu être encore déterminé. Nous avons été concentrés sur les plus importants anciens et récents articles et registre publiés de chaque pays. Nous avons sélectionné et retenu en priorité les articles concernant des registres internationaux couvrant des continents (Europe, Asie, Amérique du Sud, Afrique, Australie/Nouvelle Zélande, Iran et Japon), La plupart des données disponibles sur l'épidémiologie des SCID et PID sont tirées des registres et les articles identifiant l'incidence ou la prévalence des SCID et PID à partir d'utilisation des T reg à la recherche de données actualisées ainsi les gènes les plus détectés dans chaque pays.

Nous avons à la fin contribué à une comparaison entre les estimations des différentes et incidences et prévalences au monde

III. ***3èmePartie : Caractérisation et étude des patients SCID au Maroc***

L'immunodéficience combinée sévère (SCID) est un ensemble génotypique et phénotypique hétérogène d'immunodéficiences primaires héréditaires (DIP). Sa prévalence dans le monde est estimée à 1 pour 50 000 à 100 000 naissances vivantes ([Tasher and Dalal 2012](#)). Le SCID est considéré comme une urgence pédiatrique potentiellement mortelle. Les enfants SCID sont normaux lors de l'accouchement et commencent à souffrir d'infections sévères dès le premier mois de leur vie. Les infections respiratoires, le retard de croissance, la diarrhée chronique, la candidose orale persistante, la pneumonie et la septicémie sont les manifestations les plus courantes chez les patients SCID ([R. H. Buckley 2000](#); [Reust 2013](#)). La transplantation de moelle de donneurs apparentés HLA-identiques ou haplo-identiques dépourvus de cellules T est un traitement qui sauve la vie des patients atteints de tout type de SCID.

Les SCID peuvent résulter de mutations dans plusieurs gènes essentiels à la différenciation des cellules T et sont associés de manière variable à un développement anormal des cellules B et/ou NK. Les immunodéficiences SCID peuvent être classées selon la présence ou l'absence de cellules B et NK dans le sang périphérique en T-B-NK- ou T-B-NK+ et T-B+NK- ou T-B+NK+. Le SCID T-B-NK- est le plus souvent associé à des mutations ADA (adénosine désaminase) ou AK (adénylate kinase), c'est une maladie autosomique récessive. Le SCID T-B-NK+ est associée à des mutations, notamment RAG1 et RAG2, qui affectent la recombinaison V(D)J, essentielle à la fonctionnalité des récepteurs des lymphocytes T (TCR). D'autres mutations connues qui entraînent le SCID T-B-NK+ sont Artémis et DNA-PKcs. Le T-B+NK- SCID est fréquemment causé par des mutations affectant la chaîne commune des récepteurs IL-2, 4, 7, 9 et 15 qui signale par l'intermédiaire de la tyrosine kinase JAK3. Il s'agit d'une maladie héréditaire liée au chromosome X. Cependant, les mutations de JAK3 peuvent également donner lieu à une maladie T-B+NK similaire, qui est autosomique récessive. Le SCID T-B+NK+ comprend

des maladies causées par des mutations de l'IL-7R, de la coronine 1A, du CD45, du CD3D, du CD3E et du CD3Z. Enfin, il existe des SCID avec des cellules T résiduelles. Des mutations dans des gènes qui fonctionnent après le développement des cellules T comme l'ADN ligase IV, CD3G, CD8, IL-2R, p56LCK, ZAP70, STAT5, FOXP1, DOCK8, CD40, CD40L ou des déficiences dans les gènes codant pour le CMH de classe I ou le CMH de classe II caractérisent typiquement cette forme (Tasher and Dalal 2012)

Dans le cadre de sa mission d'exploration immunologique du DIP cette partie de notre travail a pour objectif d'étudier et analyser le profil clinique, immunologique des patients SCID marocain et déterminer les caractéristiques majeures du SCID au marocain.

III.1 Laboratoire d'immunologie cellulaire (ImmCell)

Le laboratoire d'immunologie cellulaire (ImmCell) à l'institut nationale d'hygiène premier laboratoire spécialisé dans le diagnostic des DIP par Cytométrie en flux au Maroc ; la création du laboratoire a commencé en 2008 et reçoit des patients suspectés de déficit immunitaire primitif des différents centres hospitaliers du Maroc

III.2 Collecte des données

Depuis la création du laboratoire ImmCell en 2008 une fiche de prescription est remplie pour chaque patient suspecté de DIP et destiné pour une exploration phénotypique des sou populations lymphocytaires. Cette fiche renseigne sur toutes les informations nécessaires pour poser un diagnostic de DIP voire fiche de prescription (**Annexe 2**). La fiche a été développée en collaboration avec les pédiatres spécialisés en DIP est remplie par le médecin ou résident en charge du patient, dès suspicion d'un DIP. Pour les patients SCID une fiche de diagnostic plus détaillé a été remplie et validée voire la fiche de diagnostic des SCID (**Annexe 3**).

III.3 Base de données

Une base de données informatisée sur une feuille de Microsoft Excel® a été créé en 2008, basée sur les données récoltées des patients. Contenant le nom et prénom du malades, le sexe, l'âge, la date et type du prélèvement, les résultats de formule sanguine NFS spécifiquement celui des leucocytes et lymphocytes, les résultats du dosage

pondérale (IgA, IgE, IgG), les résultats du phénotypage des sous populations lymphocytaire (T, B, NK).

III.4 Analyse des patients de la base de données et leurs diagnostics

1040 patients suspecté d'avoir un Déficit Immunitaire Primitif étaient enregistrés dans la base de données informatisé du laboratoire ImmCell entre (2008-2019) ont été analysés par des pédiatres experts en DIP, les patients DIP a été diagnostiqués comme tel en se basant sur les critères biologiques, cliniques et familiales de la dernière classification du comité d'expert de l'IUIS. Pour chaque patient diagnostiqué, les données cliniques et les résultats biologiques, sérologie HIV, NFS, dosage pondérale, sous typage lymphocytaire, ainsi que l'historique familiale sont analysés

III.5 Patients SCID

III.5.1 Diagnostic

Le diagnostic de SCID a été établi sur la base du profil clinique, notamment le retard de croissance, les infections à répétition, le muguet buccal, la pneumonie et d'autres caractéristiques cliniques du SCID. Les sujets de l'étude ont été sélectionnés pendant une période de 10 ans, de 2008 à 2018, parmi les patients admis à l'unité d'immuno--allergologie et des maladies respiratoires de l'hôpital d'enfants de Rabat et référés au laboratoire ImmCell de l'Institut national d'hygiène pour la détermination des sous-populations lymphocytaires. Les informations sur les manifestations cliniques, les antécédents familiaux de SCID et la consanguinité ont été recueillies à partir des dossiers médicaux archivées al hôpital d'enfant Rabat. Les diagnostics confirmés de SCID ont été établis par les pédiatres sur la base du profil clinique, des antécédents et de la faible numération lymphocytaire.

III.5.2 Analyse des données et statistiques

Le nombre de cellules des patients SCID a été exprimé sous forme de médiane (min-max). Les résultats on était analysé, via le programme de Microsoft Excel®. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS 20.0. Le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé pour déterminer les différences de prédominance, de

caractéristiques biologiques et cliniques entre les groupes de sujets de l'étude. Les valeurs $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives. Les graphes ont été préparés par le logiciel Adobe Illustrator®

III.5.3 Stratégie de gâte pour classification des patients

SCID :

Des exemples représentatifs de la stratégie de sélection et de l'identification de sous-ensembles lymphocytaires spécifiques dans les cas de non-PID, T-B+NK-, T-B+NK+, T-B-NK- et T-B-NK+ sont présentés dans la figure ci-dessous voir (**Figure 28**).

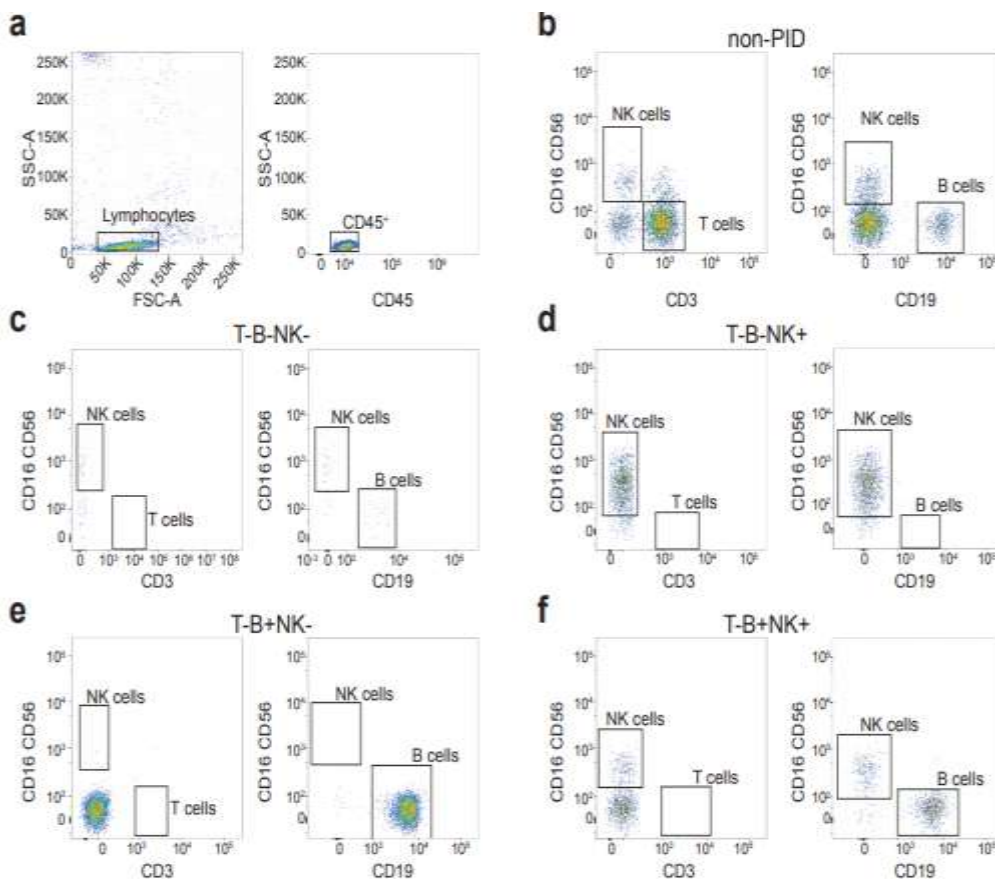


Figure 28. Stratégie de gâte fixée pour les patients SCID, Les pourcentages de chaque sous-population lymphocytaire fixés sont directement donnés par le logiciel d'analyse. La valeur absolue de la sous-population a été déterminée en rapportant le nombre de cellules acquises au volume calculé en utilisant une concentration connue de billes True Count®.

RESULTATS ET DISCUSSION

IV. 1^{ère} Partie : Détermination des valeurs normal des enfants dans une population marocaine

IV.1 Résultats

IV.1.1 Détermination des valeurs absolues et relatives du sous-ensemble de lymphocytes (T, B, NK) chez les enfants marocains.

Les valeurs absolues et relatives du sous-ensemble de lymphocytes (cellules T CD3+, cellules T auxiliaires (CD3+CD4+), cellules T cytotoxiques (CD3+CD8+), cellules B (CD3-CD19+) et cellules NK (CD3-CD16+ et/ou CD56+), y compris la médiane, moyenne sont présentées dans le (**Tableau VII**) et le (**Tableau VIII**), respectivement. Les valeurs fournies dans ces tableaux représentent une probabilité que 90 % des enfants en bonne santé se situent dans cette fourchette.

Table VII : Valeurs absolues de sous-ensembles lymphocytaires (T, B, NK)

Lymphocytes	GROUPE D'ÂGE									
	Group I N = 11		Group II N = 13		Group III N = 17		Group IV N = 21		Group V N = 20	
	Median [n x 10 ⁹ /L]	Mean (5 th to 95 th percentile) [n x 10 ⁹ /L]	Median [n x 10 ⁹ /L]	Mean (5 th to 95 th percentile) [n x 10 ⁹ /L]	Median [n x 10 ⁹ /L]	Mean (5 th to 95 th percentile) [n x 10 ⁹ /L]	Median [n x 10 ⁹ /L]	Mean (5 th to 95 th percentile) [n x 10 ⁹ /L]	Median [n x 10 ⁹ /L]	Mean (5 th to 95 th percentile) [n x 10 ⁹ /L]
CD3+	6.30	6 (3.2 - 7.9)	5.90	6.22 (2.9 - 10.00)	2.90	2.69 (0.20 - 5.20)	2.80	2.43 (0.9 - 4.90)	0.81	1.058 (0.8 - 4.3)
CD4+	4.20	4.3 (2.0 - 6.1)	3.80	3.94 (1.9 - 6.3)	1.80	1.61 (0.50 - 2.1)	1.60	1.34 (0.8 - 2.1)	0.44	0.53 (0.13 - 1.45)
CD8+	1.25	1.35 (0.90 - 2.2)	2.10	2.40 (0.90 - 3.60)	1.10	0.95 (0.30 - 1.8)	0.90	0.87 (0.30 - 1.60)	0.24	0.31 (0.08 - 0.75)
CD19+	2.03	2.12 (0.46 - 3.63)	2.26	2.29 (0.95 - 3.72)	1.24	1.23 (0.54 - 2.03)	0.62	0.61 (0.21 - 0.98)	0.11	0.12 (0.05 - 0.22)
CD16+56+	0.44	0.64 (0.05 - 1.64)	0.48	0.62 (0.17 - 1.44)	0.53	0.48 (0.17 - 0.98)	0.26	0.33 (0.12 - 0.65)	0.095	0.11 (0.02 - 0.33)

Tableau VIII. Les valeurs relatives (%) des sous-ensembles de lymphocytes (T, B, NK).

LYMPHOCYTES	GROUPES D'ÂGE									
	Group I N = 11		Group II N = 13		Group III N = 17		Group IV N = 21		Group V N = 20	
	Median % des lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % des lymphocytes	Median % des lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % des lymphocytes	Median % des lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % des lymphocytes	Median % des lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % des lymphocytes	Median % des lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % des lymphocytes
CD3+	75.00	75.43 (54.4 - 92)	66.18	66.18 (51.50 - 80.00)	59.21	59.21 (38.70 - 76.90)	67.33	67.33 (44.44 - 86.67)	70.68	70.68 (46.03 - 81.90)
CD4+	50.60	57.39 (35.7 - 96.8)	41.38	42.27 (30.48 - 58.54)	36.36	35.20 (19.35 - 46.15)	36.96	36.84 (22.22 - 54.29)	36.58	35.91 (25.64-49.88)
CD8+	16.40	17.69 (9.40 - 26.20)	25.00	25.05 (16.36 - 37.80)	21.70	20.95 (11.36 - 30.23)	22.20	23.71 (15.00 - 35.56)	25.80	25.50 (10.90 - 41.12)
CD19+	23.30	27.34 (8.7- 43.20)	27.56	26.63 (7.60 -38.91)	29.77	28.03 (13.85 - 41.36)	19.50	19.25 (4.67 - 43.30)	10.28	11.11 (6.85-17.70)
CD16+ 56+	4.90	8.56 (0.94 - 21.86)	7.06	6.67 (1.39 - 12.00)	10.59	12.64 (2.83 - 33.04)	9.04	9.15 (3.75 - 20.00)	7.86	8.60 (2.43-16.18)

IV.1.2 Comparaison de l'évolution du nombre et pourcentages de lymphocytes et de ses sous-ensembles entre les groupes de jeune âge

Les analyses de l'évolution du nombre de sous-populations lymphocytaires dans le sang périphérique avec l'âge a montré en généralement un changement du nombre de cellules lymphocytaire en fonction de l'âge (**Figure 29**). Cependant cette évolution n'a montré aucune différence statistiquement significative dans les cellules CD3+ entre le groupe I et II ou entre le groupe III et le groupe IV. Néanmoins, une réduction significative associée à l'âge a été observée lorsque le groupe I ou le groupe II était comparé au groupe III, au groupe IV ou au groupe V et même lorsque le groupe III ou le groupe IV était comparé au groupe V (**Figure 30A**). Des résultats identiques ont été obtenus pour la population CD3+CD4+ (**Figure 30B**). Les nombres des cellules CD3+CD8+, ont montré une augmentation statistiquement significative des nombres totaux du groupe I au groupe II. Cependant, il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes I et III ou entre les groupes I et IV. Des différences significatives ont de nouveau été notées lorsque le groupe I a été comparé au groupe V. Le groupe II était significativement différent des groupes III, IV et V. Les groupes III et IV étaient également significativement différents du groupe V. Ces résultats indiquent que le nombre de cellules CD3+CD8+ augmente temporairement entre les âges de 1 et 2 ans, avant de diminuer des âges supérieurs à 2 ans (**figure 30C**). Pour les cellules B CD19+, nous avons noté qu'à l'exception du groupe I et

du groupe II, il y avait des différences statistiquement significatives. Ces résultats suggèrent que les cellules B diminuent après l'âge de 2 ans (**Figure 30D**). Enfin, lorsque le nombre de cellules NK a été comparé entre les âges, nous n'avons observé aucune différence significative entre les groupes, à l'exception du groupe I par rapport au groupe V, du groupe II par rapport au groupe V et du groupe III par rapport au groupe V. Ces résultats indiquent que le nombre de cellules NK diminue après l'âge de 12 ans (**Figure 30E**).

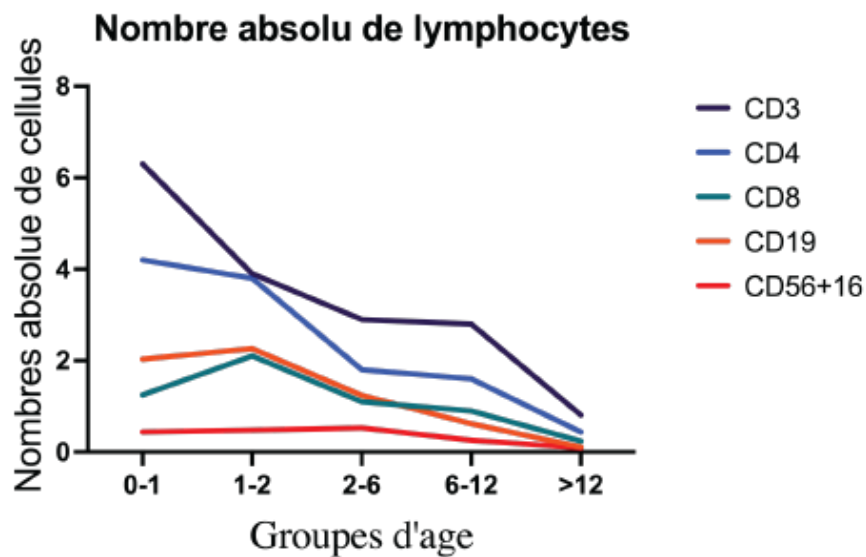


Figure 29 : Graphique du changement du nombre absolu des lymphocytes en fonctions de l'âge 1 : (0-1 an), 2 : (1-2 ans), 3 : (2-6ans), 4 : (6-12 ans), 5 : (12ans-Adults)

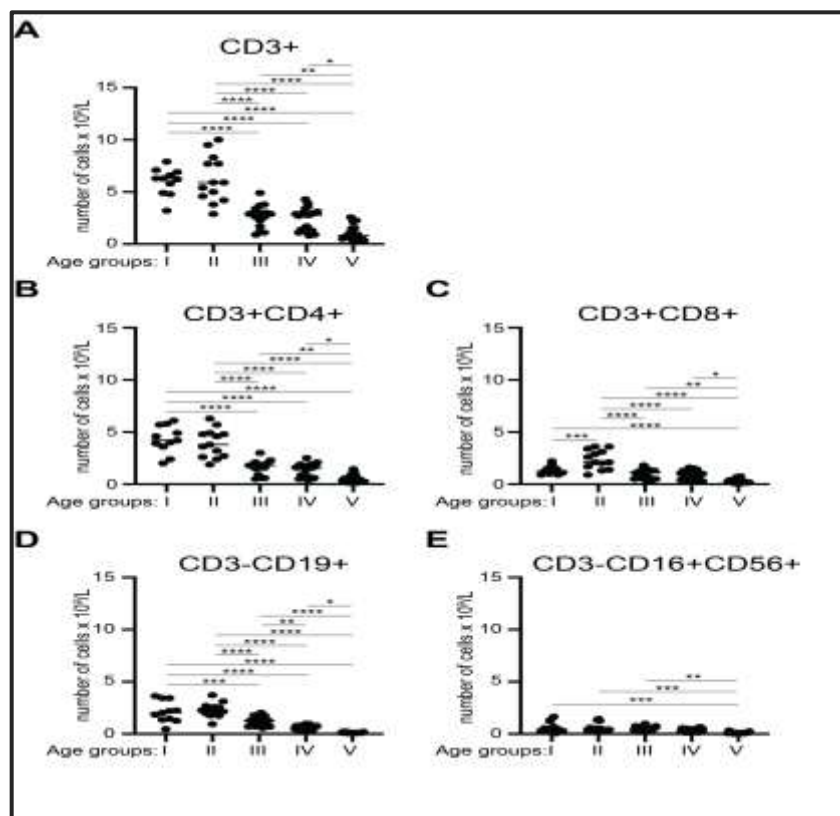


Figure 30. Nombre de sous-ensembles lymphocytaires indiqués dans le sang des donneurs marocains en fonction de l'âge. Données médianes et indépendantes pour le nombre de populations lymphocytaires indiquées chez des donneurs d'âges différents (A-E). Les groupes représentent des échantillons provenant de donneurs d'âges différents comme suit : groupe I : 0 à 1 an (n=12), groupe II : 1 à 2 ans (n=13), groupe III : 2 à 6 ans (n=17), groupe IV : 6 à 12 ans (n=21) et groupe V : 12 ans (n=20). ANOVA à sens unique, seules les différences significatives sont indiquées. * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 et **** p < 0,0001.

En comparant les changements dans les proportions de lymphocytes et de sous-ensembles lymphocytaires, nous n'avons pas observé de différence significative dans les proportions de lymphocytes CD3+ entre les différents groupes d'âge, à l'exception d'une diminution du groupe I (0-1 an) au groupe III (2-6 ans) (**Figure 31A**). Les proportions ont toutefois augmenté de manière significative entre le groupe III (2-6 ans) et le groupe V (12 ans-adulte) (**Figure 31A**). Ces résultats indiquent que la proportion de lymphocytes a légèrement baissé aux âges de 2 à 6 ans avant de remonter aux niveaux antérieurs. En revanche, les proportions de lymphocytes T auxiliaires CD3+CD4+ étaient significativement différentes dans le groupe I et dans les autres groupes (**Figure 31B**). Ces résultats indiquent que les proportions de lymphocytes T auxiliaires CD3+CD4+ ont diminué entre l'âge de 0-1 an et celui de 1-2 ans. Par la suite, les proportions de cette

sous-population lymphocytaire n'ont plus changé et sont restées constantes. Les quantités relatives de lymphocytes T cytotoxiques CD3+CD8+ n'ont pas semblé changer avec l'âge, à l'exception d'une augmentation significative dans le groupe des adultes de 12 ans (**figure 31C**). L'examen des proportions de lymphocytes B CD3-CD19+ indique des différences significatives entre le groupe I et le groupe IV, ainsi qu'entre le groupe II et le groupe V, le groupe III avec le groupe IV et le groupe V, et le groupe IV avec le groupe V (**Figure 31D**). Ces résultats indiquent qu'il y a une réduction significative des proportions de cellules B autour/après la 12e année. Les proportions de cellules NK n'ont montré aucune différence, sauf entre le groupe II et le groupe III (**figure 31E**).

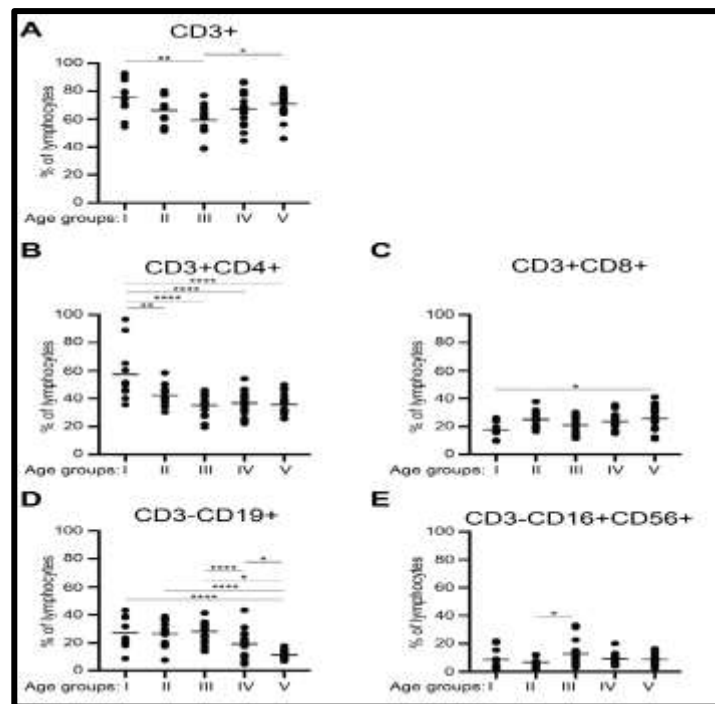


Figure 31. Pourcentage des sous-ensembles lymphocytaires indiqués dans le sang des donneurs marocains en fonction de l'âge. Données moyennes et indépendantes pour le pourcentage de populations lymphocytaires indiquées dans les leucocytes CD45+ chez des donneurs d'âges différents (A-F). Les groupes représentent des échantillons provenant de donneurs d'âges différents comme suit : groupe I : 0 à 1 an (n=12), groupe II : 1 à 2 ans (n=13), groupe III : 2 à 6 ans (n=17), groupe IV : 6 à 12 ans (n=21) et groupe V : 12 ans (n=20). ANOVA à sens unique, seules les différences significatives sont indiquées. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ et **** $p < 0,0001$.

IV.1.3 Comparaison des valeurs normales des enfants marocains aux valeurs normales des enfants d'autres pays (Cameroun, en Turquie, aux Etats-Unis et aux Pays-Bas).

La comparaison des valeurs médianes marocaine à celles précédemment rapportées pour des études réalisées au Cameroun, en Turquie, aux Etats-Unis et aux Pays-Bas ([Shearer et al. 2003](#); [Sagnia et al. 2011](#); [Herbinger et al. 2013](#); [Schatorjé et al. 2012](#)). Montre que la valeur médiane des lymphocytes CD3+, ainsi que des cellules CD4+, CD8+ et CD19+ était plus élevée dans les échantillons marocains que les médianes correspondantes rapportées dans les études camerounaises ([Sagnia et al. 2011](#)), turques ([Herbinger et al. 2013](#)) et américaines ([Shearer et al. 2003](#)), en particulier dans les groupes d'âge 0-1 an et 1-2 ans (**Figure 32**). Pour les cellules NK, les médianes de la population marocaine étaient très proches de celles du Cameroun et des États-Unis aux âges de 0 à 1 an (**Figure 32**). Toutes trois étaient inférieures à celles de la population turque (**Figure 32**). À l'âge de 1 à 2 ans, la population marocaine et la population turque étaient similaires pour le nombre médian de cellules NK, et étaient plus élevées que les populations camerounaise et américaine (**Figure 32**). À l'âge de 2 à 6 ans, la médiane marocaine était la plus élevée des quatre groupes, mais à nouveau à l'âge de 6 à 12 ans, elle est tombée en dessous de celle du Cameroun et de la Turquie pour atteindre un niveau similaire à celui des États-Unis (**Figure32**). Cependant, tous les paramètres (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, ainsi que les cellules NK) étaient plus faibles dans la population marocaine par rapport aux populations camerounaise, turque et américaine, après l'âge de 12 ans (**Figure32**).

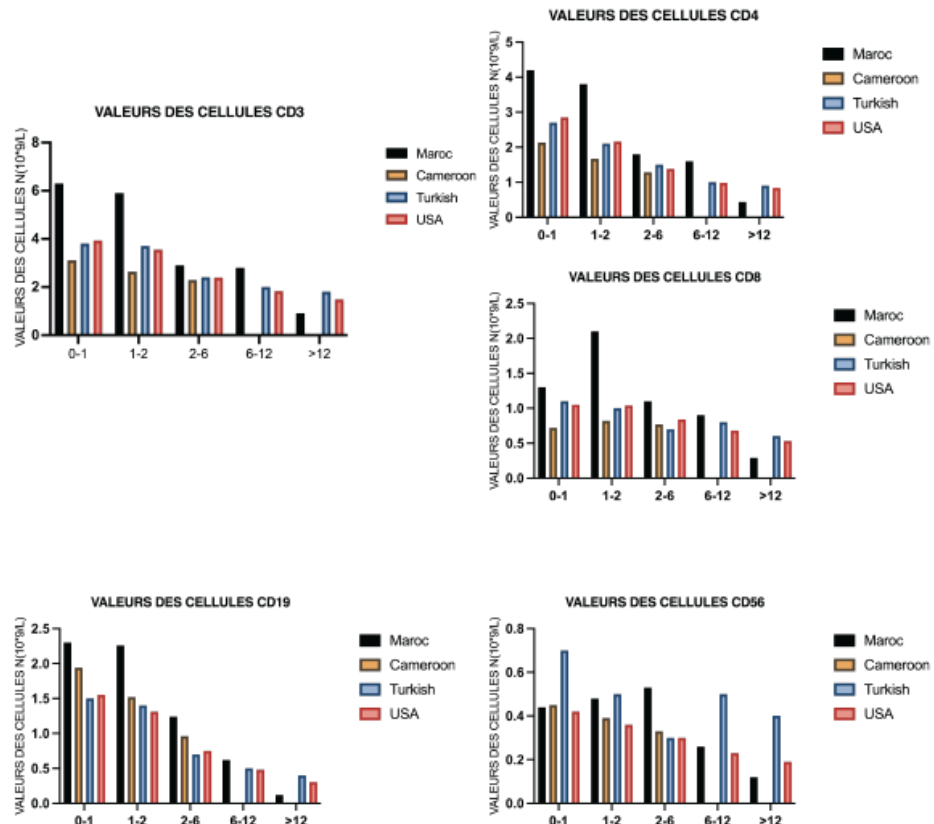


Figure 32 : Comparaison entre les valeurs médianes du nombre absolu des sous-population Lymphocytaire dans différents pays. ($n \cdot 10^9 / L$)

Nous avons également comparé les intervalles de tolérance entre nos valeurs et une étude des Pays-Bas (Schatorjé et al. 2012) - la seule étude qui a exploré les intervalles de tolérance -. Sur 50 paramètres (10 paramètres chacun pour 5 groupes d'âge), 16 paramètres (32%) ont montré plus de 57% de différence (57% à 476%) dans les moyennes (**Tableau IX**). Les moyennes du nombre absolu et des proportions relatives des cellules B étaient systématiquement plus élevées dans tous les groupes d'âge au Maroc (55-79%), à l'exception du groupe > 12 ans (**Tableau IX**). Les moyennes des proportions relatives des cellules NK étaient plus élevées dans l'étude néerlandaise dans tous les groupes d'âge (**Tableau IX**). Nous observons également une concordance des moyennes, des 5^{ème} et 95^{ème} percentiles entre les deux populations pour les proportions relatives de CD3+, CD4+ et CD8+ ainsi que pour le nombre absolu de CD4+ (**Tableau IX**).

Tableau IX. Comparaison entre l'intervalle de tolérance des sous-ensembles lymphocytaires du Maroc et des Pays-Bas (Netherland)

Lymphocyte subsets		AGE GROUPS														
		Group I			Group II			Group III			Group IV			Group V		
		Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th
CD3 (total) [n x 10 ⁹ /L]	Morocco	6.00	3.20	7.90	6.22	2.90	10.00	2.70	0.20	5.20	2.43	0.90	4.90	1.06	0.80	4.30
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	4.00	1.40	11.50	2.50	0.70	8.80	1.90	0.85	4.30	1.80	0.77	4.00	1.50	0.78	3.00
	d (1-2)%	33	56	-46	60	76	12	30	-325	17	26	14	18	-42	3	30
CD3 (%)	Morocco	75.43	54.40	92.00	66.18	51.50	80.00	59.21	38.70	76.90	67.33	44.44	86.67	70.68	46.03	81.90
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	68.00	49.00	95.00	60.00	36.00	100.00	69.00	52.00	92.00	73.00	55.00	97.00	67.00	50.00	91.00
	d (1-2)%	10	10	-3	9	30	-25	-17	-34	-20	-8	-24	-12	5	-9	-11
CD4 (total) [n x 10 ⁹ /L]	Morocco	4.30	2.00	6.10	3.94	1.90	6.30	1.61	0.50	2.10	1.34	0.80	2.10	0.53	0.13	1.45
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	2.70	1.00	7.20	1.60	0.40	7.20	1.10	0.50	2.70	1.00	0.40	2.50	1.00	0.50	2.00
	d (1-2)%	37	50	-18	59	79	-14	32	0	-29	25	50	-19	-89	-285	-38
CD4 (%)	Morocco	57.39	35.70	96.80	42.27	30.48	58.54	35.20	19.35	46.15	36.84	22.22	54.29	35.91	25.64	49.88
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	46.00	25.00	86.00	39.00	16.00	91.00	40.00	25.00	66.00	40.00	26.00	61.00	42.00	28.00	64.00
	d (1-2)%	20	30	11	8	48	-55	-14	-29	-43	-9	-17	-12	-17	-9	-28
CD8 (total) [n x 10 ⁹ /L]	Morocco	1.35	0.90	2.20	2.40	0.90	3.60	0.95	0.30	1.80	0.87	0.30	1.60	0.31	0.08	0.75
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	1.10	0.20	5.40	0.70	0.20	2.80	0.60	0.20	1.80	0.60	0.20	1.70	0.50	0.20	1.20
	d (1-2)%	18.52	77.78	-145.45	70.83	77.78	-22.22	36.84	33.33	0.00	31.03	33.33	-6.25	-61.29	-150.00	-60.00
CD8 (%)	Morocco	17.69	9.40	26.20	25.05	16.36	37.80	20.95	11.36	30.23	23.71	15.00	35.56	25.50	10.90	41.12
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	16.00	6.00	41.00	16.00	7.00	40.00	21.00	9.00	49.00	25.00	13.00	47.00	22.00	12.00	40.00
	d (1-2)%	10	36	-56	36	57	-6	0	21	-62	-5	13	-32	14	-10	3
B cells (total) [n x 10 ⁹ /L]	Morocco	2.12	0.46	3.63	2.29	0.95	3.72	1.23	0.54	2.03	0.61	0.21	0.98	0.12	0.05	0.22
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	0.94	0.11	7.70	0.76	0.16	3.70	0.49	0.18	1.30	0.29	0.10	0.80	0.23	0.06	0.82
	d (1-2)%	55.66	76.09	-112.12	66.81	83.16	0.54	60.16	66.67	33.96	52.46	52.38	18.37	-91.67	-39.13	272.73
B cells (%)	Morocco	27.34	8.70	43.20	26.63	7.60	38.91	28.03	13.85	41.36	19.25	4.67	43.30	11.11	6.85	17.70
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	7.00	1.00	64.00	11.00	1.00	96.00	6.00	2.00	25.00	8.00	2.00	31.00	15.00	5.00	49.00
	d (1-2)%	74	89	-48	59	87	-147	79	86	-40	-58	57	-28	-35	27	-177
NK cells (total) [n x 10 ⁹ /L]	Morocco	0.64	0.05	1.64	0.62	0.17	1.44	0.48	0.17	0.98	0.33	0.12	0.65	0.11	0.02	0.33
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	0.52	0.07	3.90	0.47	0.06	4.00	0.18	0.06	0.51	0.20	0.07	0.59	0.34	0.10	1.20
	d (1-2)%	19	-36	-138	24	68	-178	63	64	-48	-39	42	9	-209	-456	-264
NK cells (%)	Morocco	8.56	0.94	21.86	6.67	1.39	12.00	12.60	2.83	33.04	9.15	3.75	20.00	8.60	2.43	16.18
	Netherlands (Schatorjé <i>et al.</i>)	15.00	3.00	77.00	19.00	8.00	45.00	18.00	8.00	39.00	12.00	4.00	33.00	10.00	4.00	28.00
	d (1-2)%	-75	-219	-252	-185	-476	-275	-43	-183	-18	-31	-7	-65	-16	-65	-73

IV.2 Discussion

IV.2.1 Valeurs absolues et relatives du sous-ensemble de lymphocytes (T, B, NK) chez les enfants marocains.

Les valeurs de référence des sous-ensembles lymphocytaires du sang périphérique ont été déterminées par immunophénotypage par cytométrie en flux pour aider au diagnostic des différents défauts et dysfonctionnements immunologiques tels que les infections à VIH. (A. Kakar, R. Beri, A. Gogia, S.P. Byotra, V. Prakash, S. Kumar 2011; Wondimeneh et al. 2012) ou les DIP (De Ravin et al. 2016) (O’Gorman, Zollett, and Bensen 2011; Kanegane et al. 2018) dans la population marocaine. Les patients pédiatriques infectés par le VIH ont un nombre réduit de CD4+(Berhan 2011). Le VIH non traité entraîne une perte progressive des CD4+(Deeks et al. 2015). L’immunodéficience primaire englobe des troubles hétérogènes, le plus souvent héréditaires, qui affectent le développement, la fonction ou les deux de plusieurs sous-ensembles lymphocytaires (Notarangelo 2010). Par exemple, dans le cas de l’immunodéficience primaire, des mutations peuvent entraîner la perte d’expression de marqueurs tels que CD19 (Wentink et al. 2015). De plus, l’immunodéficience primaire peut être causée par des mutations dans des gènes qui affectent la différenciation terminale d’une lignée spécifique de lymphocytes, comme les mutations dans BTK qui entraînent la perte presque complète des cellules B (Kopecký and Lukešová 2007; Cook and Tangye 2009). De tels changements peuvent être révélés par des analyses cytométriques en flux et une comparaison minutieuse avec les valeurs de référence. Les individus affectés par le VIH peuvent développer des maladies immunologiques, des infections et des complications oncologiques, ainsi que plusieurs autres morbidités courantes. Les patients atteints d’immunodéficience primaire sont très sensibles aux infections courantes et/ou récurrentes de divers organes, notamment la peau, la gorge, les oreilles, les poumons, les voies urinaires ou intestinales. Ces patients ont également un risque plus élevé de ne pas réussir à éliminer les infections ou de présenter un degré d’infection exceptionnellement élevé. Un diagnostic précoce du VIH ou du DIP par cytométrie en flux et une comparaison avec les valeurs de référence sont essentiels pour prévenir une morbidité et une mortalité dangereuses associées à la maladie (McCusker, Upton, and Warrington 2018)

IV.2.2 Comparaison de l'évolution du nombre et pourcentages de lymphocytes et de ses sous-ensembles entre les groupes de jeune âge.

Le nombre et les sous-ensembles de lymphocytes étant connus se varier d'une région à l'autre, notre groupe a établi dans une étude précédente les valeurs de référence des lymphocytes pour la population marocaine adulte ([Sahmoudi et al. 2020](#)). Dans la présente étude, nous avons établi les valeurs de référence des lymphocytes pour la population marocaine infantile à l'âge de 0-1 an, 1-2 ans, 2-6 ans, 6-12 ans et > 12 ans. Les résultats de l'immunophénotypage des lymphocytes par cytométrie en flux peuvent être influencés par de nombreuses variables telles que l'anticoagulant utilisé, la préparation des échantillons, les anticorps monoclonaux utilisés, le protocole de coloration choisi et le plateau technique. Dans cette étude, les échantillons ont été traités selon la méthode de la plateforme unique - procédure de lysage sans lavage et stratégie de gating recommandée par le fabricant. Quatre-vingt-trois individus ont été soigneusement sélectionnés, afin de répondre aux normes des sujets sains. Nos résultats montrent que le nombre de cellules T CD8⁺ augmente après la petite enfance ([Lisse et al. 1997](#)). Cela peut résulter d'une exposition accrue aux antigènes au cours des premiers mois de la vie. La diminution du nombre total de cellules T et B à l'âge adulte observée dans nos études est également conforme aux rapports précédents ([Comans-Bitter et al. 1997](#); [Marciano et al. 2014](#); [Wiener et al. 1990](#)). En revanche, le nombre de cellules NK semble être stable de 0 à 1 an jusqu'à 6 à 12 ans, comme l'ont rapporté [Ikinciogullari et al](#) ([Herbinger et al. 2013](#)). Contrairement aux nombres totaux, les valeurs en pourcentage des sous-ensembles de lymphocytes n'ont pas changé de façon substantielle avec l'âge. Ce résultat confirme les rapports précédents selon lesquels les changements dans le nombre absolu de lymphocytes ne sont pas cohérents avec les changements dans leurs pourcentages ([Comans-Bitter et al. 1997](#)).

IV.2.3 Comparaison des valeurs normales des enfants marocains aux valeurs normales des enfants d'autres pays (Cameroun, en Turquie, aux Etats-Unis et aux Pays-Bas).

Dans cette étude il est important de noter que nous avons observé une augmentation des valeurs médianes des cellules CD3⁺ et CD4⁺ à l'âge de 0-1 an et 1-2 ans dans la population marocaine par rapport à celle du Cameroun, de la Turquie et des Etats-Unis ([Herbinger et al. 2013](#); [Sagnia et al. 2011](#) ; [Shearer et al. 2003](#)). Ces différences peuvent être dues à une exposition différente aux antigènes. Il a été signalé que les enfants qui rencontrent plus d'antigènes dans leur environnement présentent un nombre plus élevé de lymphocytes ([de Moraes-Pinto et al. 2014](#)). D'autres facteurs environnementaux, génétiques et/ou nutritionnels peuvent également contribuer à ces différences ([Özkan et al. 1993](#) ; [Lisse et al. 1997](#) ; [Bloomfield et al. 2006](#) ; [Ulijaszek 1998](#)).

I. 2^{ème} Partie : Étude de l'épidémiologie régional du SCID dans le monde

I.1 Amérique du Nord

Nous avons choisi les États-Unis, Canada et le Mexique comme pays représentatifs de l'Amérique du Nord. Le Mexique est également considéré comme faisant partie de l'Amérique centrale et de l'Amérique du Sud car il fait partie du consortium Grupo Latinoamericano de Inmunodeficiencias Primarias (LAGID). Aux États-Unis, le SCID a été ajouté au panel de dépistage uniforme recommandé en 2010 par la Commission consultative du secrétaire sur les discordes héréditaires chez les nouveau-nés et les enfants. Depuis décembre 2018, tous les enfants nés aux États-Unis sont testés pour le SCID. Dans une étude américaine portant sur les enfants nés entre janvier 2008 et juillet 2013, il a été constaté que l'incidence du SCID était de 1,39 sur 100 000 naissances vivantes (Kwan et al. 2014) . Avec un SCID typique (<300 cellules T CD3/L), le SCID variable (300-1500 cellules T CD3/L) et le syndrome d'Omenn étaient considérés ensemble, l'incidence était de 1,72/100 000 naissances vivantes (Kwan et al. 2014). Au Canada, le dépistage néonatal du SCID a été mis en place pour la première fois en 2013 dans l'État de l'Ontario à la demande d'Immunodéficiency Canada. Six États - les Territoires du Nord-Ouest, l'Alberta, le Manitoba, l'Ontario, le Nouveau-Brunswick et la Nouvelle-Écosse - procèdent actuellement au dépistage du SCID. L'incidence du SCID au Canada, à l'exception des Canadiens autochtones (Premières nations canadiennes, Métis et Inuits, c'est-à-dire CFMI) est de 1,4/100 000 naissances vivantes. Le SCID est diagnostiqué à l'âge moyen de 4,2 mois au Canada, ce qui entraîne un taux de mortalité de 30 %. Il est discuté que par le dépistage néonatal et le diagnostic précoce, cette mortalité peut être réduite. Aux États-Unis et au Canada, l'incidence du SCID parmi les populations autochtones telles que le Navajo et les CFMI est significativement plus élevée (Rozmus et al. 2013; Kwan and Puck 2015) . La comparaison d'une étude prospective (6901) menée par le Primary Immune Deficiency Treatment Consortium (PIDTC) des États-Unis et du Canada entre 2010 et 2018 avec une étude rétrospective (6902) portant sur la période 1968-2012 a permis de constater une augmentation du nombre de SCID (630 cas en 44 ans contre 182 cas en 8 ans), et surtout des SCID atypiques ou des déficits immunitaires combinés, c'est-à-dire des DIC (81 cas en 44 ans contre 68 cas en 8 ans). Kwan et al. Ont constaté que, par ordre de prévalence, IL2RG

était le gène muté le plus fréquemment observé, suivi de IL7R, ADA, RAG1, JAK3, Artémis/DCLRE1C, RAG2, CD3D, TC7A dans cet ordre (Kwan et al. 2014). Les auteurs ont également noté un cas de syndrome de Pallister-Killian avec tétrasomie de 12p et six cas où aucune mutation connue n'a été trouvée dans les gènes SCID connus 4. L'étude PIDTC a noté une augmentation de la fréquence des SCID mutés par RAG1 et RAG2 entre 1968-2012 et 2010-2018 (Dvorak et al. 2019).

Le Mexique ne dispose pas d'un registre national pour les SCID et les données épidémiologiques sont limitées. Enquête du Sistema Automatizado de Egresos Hospitalarios (SAEH), qui est un système d'enregistrement automatisé pour la sortie de l'hôpital au Mexique, entre 2010 à 2015 a documenté 14 cas de SCID. De plus, 110 cas suspecte de SCID ont été signalés (Geovanna Saucedo Aparicio et al. 2018). On pense que le système SAEH sous-représente les cas puisque le diagnostic est souvent retardé. Des efforts sont en cours pour diagnostiquer le SCID avec la détection standardisée des cercles d'excision des récepteurs des cellules T (TREC) (Castro, Elva, and Padilla 2019). LAGID estime l'incidence du SCID au Mexique à 0,17/100 000 naissances vivantes (Zelazko et al. 1998).

I.2 L'Amérique centrale et du Sud

LAGID comprend 12 pays d'Amérique centrale et du Sud - Argentine, Brésil, Chili, Colombie, Costa Rica, Honduras, Mexique, Panama, Paraguay, Pérou, Uruguay et Venezuela a été formé en 1933 (Zelazko et al. 1998). Dans le 2ème rapport publié en 2006, sur un total de 3321 patients atteints de PID, 172 ont été diagnostiqués comme SCID (5,17%). Le SCID représentait 9,5% des PID (Thalhammer, JulianBoztug 2021). L'incidence du SCID pour 100 000 naissances vivantes était la suivante : 0,55 en Argentine, 0,12 au Brésil, 1,28 au Chili, 0,24 en Colombie, 3,79 au Costa Rica, 0,05 au Honduras, 0,17 au Mexique, 0,17 au Panama, 0,13 au Paraguay, 0 au Pérou, 0,72 en Uruguay et 0,02 au Venezuela. L'Argentine a développé la capacité de diagnostic moléculaire bien que les mutations associées au SCID n'aient pas été signalées.

Distribution de l'incidence et des gènes du SCID en Europe occidentale

I.3 Europe occidentale

Une analyse récente révèle que sur les 16 486 patients du registre de la Société européenne des immunodéficiences (ESIR), 920 patients ont été diagnostiqués comme atteints de CID, y compris le SCID, le Leakey SCID et le syndrome d'Omenn ([Thalhammer, JulianBoztug 2021](#)). Plus de 70 % des patients présentaient des symptômes avant l'âge de 1 an et plus de 90 % avant l'âge de 5 ans 12. La plupart des diagnostics de SCID ont été posés avant que le patient n'atteigne l'âge d'un an 12. Nous avons également examiné la littérature pour connaître l'incidence par pays, bien que limitée à l'Allemagne, la France et le Royaume-Uni. L'incidence du SCID en Allemagne de 2014 à 2015 a été estimée à 1,6/100 000 naissances vivantes (1 :62 500) ([Shai et al. 2020](#)). Le SCID représentait environ 3 % des PID inclus entre 2012 et 2017 dans le registre national allemand des immunodéficiences primaires. La consanguinité était la plus élevée (44 %) dans les familles de patients SCID au sein des DIP. L'âge d'apparition était <1 an chez 86% des patients SCID ([El-Helou et al. 2019](#)) Dans une étude française prospective à grande échelle sur le dépistage du SCID chez le nouveau-né à l'aide d'un kit TREC, 1,59/100 000 naissances vivantes ont été diagnostiquées comme SCID ([Caroline Thomas et al. 2019](#)). L'incidence médiane du SCID au Royaume-Uni entre 1980 et 2000 était de 7,6/100 000 naissances vivantes. L'incidence minimale du SCID a été signalée comme étant de 0,50/100 000 naissances vivantes ([Shillitoe et al. 2018](#)). En ce qui concerne les mutations couramment observées, dans une étude allemande portant sur 15 patients dont les données génétiques étaient disponibles, 3 patients présentaient une mutation RAG1, 2 une mutation ADA et 2 autres une mutation IL2RG ([Shai et al. 2020](#)). Dans une étude du registre national français, l'IL2RG était la mutation commune associée au SCID détectée chez 89 des 355 patients ayant subi un test génétique ([Mahlaoui et al. 2019](#)). La deuxième mutation la plus fréquente était celle de RAG1 (78 patients). Des mutations ADA ont été détectées chez 44 patients, Artemis/DCLRE1C chez 44 autres patients, JAK3 chez 35 patients et RAG2 chez 28 patients ([Mahlaoui et al. 2019](#)). Au Royaume-Uni, la mutation IL2RG a été trouvée chez 46 des 142 patients disposant de données génétiques (32,4 %). Elle était suivie par les mutations ADA (38 sur 142, soit 26,8 %). La mutation JAK3 a été détectée chez 11 des 142 patients (7,75 %). RAG1 a été détectée

chez 15 patients (10,56%), RAG2 chez 3 patients (2,11%) et Artémis/DCLRE1C chez 10 patients (7,04%) ([Shillitoe et al. 2018](#)).

Ensuite, nous avons étudié la littérature pour connaître l'incidence et les mutations en Espagne et en Italie. Le dépistage néonatal du SCID a été initié en Catalogne en janvier 2017. Sur les 222 857 nouveau-nés dépistés dans le cadre de cette initiative entre janvier 2017 et juin 2020, 3 patients ont été diagnostiqués avec SCID ([Argudo Ramírez et al. 2020](#)). Par conséquent, l'incidence est de 1,35/100 000 naissances vivantes. L'incidence du SCID en Italie est de 5,1/100 000 naissances vivantes. 8,5 % de ces patients ont reçu un diagnostic de SCID/CID. L'âge médian du diagnostic était de 0,4 an, avec une fourchette de 0 à 22 ans ([Lougaris et al. 2020](#)). Les mutations RAG1/2 suivies des mutations IL2RG étaient les mutations les plus courantes associées au SCID. Des mutations ADA ont également été observées fréquemment. Les mutations IL2RG et JAK3 étaient fréquemment associées à des SCID ou CID atypiques ([Cirillo et al. 2019](#)).

I.4 Pays scandinaves

Parmi les pays scandinaves, l'Islande, la Suisse et la Suède effectuent un dépistage néonatal du SCID depuis 2017, janvier 2019 et août 2019, respectivement. Dans une étude pilote de 2015, l'incidence du DIP en Islande a été déterminée comme étant de 18,8/100 000 naissances vivantes. 16,7 % des DIP ont été décrites comme des immunodéficiences variables communes, mais l'incidence du SCID n'a pas été fournie ([Ludviksson et al. 2015](#)). Dans une étude couvrant la période 1949-1979, il a été estimé que l'incidence du SCID en Suède était de 1,4/100 000 naissances vivantes ([Fasth 1982](#)). Dans une étude plus récente réalisée en Suède, 1 patient présentant la mutation Artémis/DCLRE1C a été détecté parmi un total de 58 834 patients dépistés sur une période de deux ans entre 2013 et 2015 ([Barbaro et al. 2017](#)). L'incidence du SCID en Suisse a été estimée à 24,3/100 000 naissances vivantes, ce qui est extrêmement élevé. Le dépistage du SCID est facultatif en Norvège. Dans un projet pilote en Norvège, 21232 nouveau-nés ont été dépistés et 3 patients ont été identifiés avec un SCID confirmé. Par conséquent, l'incidence peut être estimée à 14,1/100 000. Un patient présentait une mutation IL2RG et un autre RAG2, tandis que le troisième présentait une mutation rare RMPR ([Strand et al. 2020](#)). RMPR est un composant d'ARN non codant long (lnc) de l'endo ribonucléase de traitement de l'ARN mitochondrial précédemment associé à

l'hypoplasie du cartilage et des cheveux, un trouble autosomique récessif. Un autre patient avec un taux de TREC de 72/L à la naissance, s'est avéré avoir un taux de TREC de 12//L lorsqu'il a été testé à 12 mois. Ce patient présentait une mutation IKZF1 25. Un autre patient avec une mutation CHD7 a également été diagnostiqué avec un SCID potentiel. Sur la base de ~130 000 naissances pendant la période de l'étude pilote dans norway, l'incidence du SCID a été estimée à 1/26 000 naissances vivantes ou ~ 3,85/100 000 naissances vivantes ([Strand et al. 2020](#)).

I.5 Distribution de l'incidence et les gènes du SCID en Europe de l'Est et Turquie.

Le groupe de travail polonais sur les immunodéficiences a été créé en 2005 et a rapporté 4099 patients atteints de DIP en 2014. L'incidence était de 10,6/100 000 naissances vivantes ([Pac and Bernatowska 2016](#)). La Pologne est incluse dans l'ESIR. Les autres pays de l'ESIR sont le Bélarus, la Croatie, l'Estonie, la Serbie, la Slovaquie, la Hongrie, la Roumanie, la Lituanie, la Russie, la Slovénie et l'Ukraine. En outre, le Jeffrey Model Fondation Centers Network (JMFN) collecte également des données sur les pays d'Europe centrale et orientale depuis 2011 ([Sediva et al. 2019](#)). Certains des pays inclus dans ce réseau sont l'Azerbaïdjan, la Bulgarie, la Croatie, la République tchèque, l'Estonie, la Hongrie, la Lituanie, la Roumanie et la Slovaquie. Le nombre total de patients atteints de DIP suivis par ce réseau était de 11 631 à la fin de 2018 ([Modell et al. 2018](#)). Cela représentait une évolution de -2,1 % par rapport au nombre de patients identifiés en 2013. Le rapport 2018 répertorie 189 immunodéficiences affectant l'immunité cellulaire et humorale dont le SCID ([Modell et al. 2018](#)).

Une étude réalisée entre octobre 2015 et décembre 2016, a tenté de diagnostiquer le SCID en utilisant la formule sanguine complète du sang de cordon ([Can, Hamilçikan, and Can 2018](#)). La lymphopénie absolue (<2500/mm³) a été utilisée comme substitut du SCID 30. La formule sanguine complète du sang ombilical a été enregistrée pour 2 945 nouveau-nés 30. Neuf patients ont été identifiés comme ayant une lymphopénie, ce qui correspondrait approximativement à 30/100 000 naissances vivantes pour l'incidence du SCID ([Can, Hamilçikan, and Can 2018](#)). Étant donné que les nouveau-nés présentent

souvent une lymphopénie et que leur numération se normalise après environ un mois, il s'agit probablement d'une surestimation. Les auteurs suggèrent cette approche comme une méthode de dépistage préliminaire pour utiliser ultérieurement une méthodologie plus coûteuse telle que la numération TREC 30. Une étude indépendante portant sur l'incidence des DIP à Uludag et à la faculté de médecine de l'université d'Ege a estimé l'incidence des salpingites à 30,5/100 000 naissances vivantes. 2 % SCID (28 patients) ont été diagnostiquées. Il y avait un énorme biais sexuel, 75% des patients étant des hommes. 8 cas étaient des T-B-SCID de cause génétique inconnue. Un déficit en RAG1 a été noté chez 1 patient, un déficit en Artémis/DCLRE1C chez 2 patients et un déficit en CD3G chez 2 patients. 54,5 % des patients atteints de CID étaient nés d'un mariage consanguin (Kilic et al. 2013). Une autre étude a utilisé un panel de séquençage d'amplicons conçu sur mesure pour dépister les mutations chez les patients SCID 3. Un total de 40 patients a été étudié, dont 36 SCID typiques, 3 SCID atypiques et 1 patient atteint du syndrome d'Omenn. Des défauts d'ADA ont été identifiés chez 4 patients T-B-NK-. L'IL2RG a également été détecté chez 1 SCID T-B-NK- atypique. La mutation la plus fréquente des SCID T-B+NK- était JAK3 (4 patients), suivie de l'IL2RG (3 patients) 3. 2 patients SCID T-B-NK+ présentaient des mutations Artémis/DCLRE1C et 2 autres des défauts NHEJ1 3. Les patients SCID T-B+NK+ présentaient couramment des défauts CD3E (2 patients) ou des défauts IL7R (1 patient) 3. Des défauts de RAG1 (5 patients dont 3 T-B-NK+ SCID, 1 T-B-NK+ SCID atypique et 1 T-B-NK+ syndrome d'Omenn) et des défauts de RAG2 (2 patients T-B-NK+ SCID) ont également été détectés 3. Dans une autre étude de l'Université d'Hacettepe, des défauts moléculaires ont été identifiés chez 51 patients SCID sur 174 (Sanal and Tezcan 2011). 19 % présentaient des défauts IL2RG, 17 % des mutations Artémis/DCLRE1C, 16 % des défauts JAK3, 18 % des défauts RAG1 et 8 % des défauts RAG2 32. Les mutations d'ADA étaient également fréquentes (6 %). Des mutations IL7R ont été détectées chez 4 % des patients SCID. La consanguinité était associée à la forte incidence des formes autosomiques récessives de SCID (Sanal and Tezcan 2011). Une autre étude distincte impliquant huit centres et 234 patients a identifié RAG1 (9,8%), RAG2 (5,6%), JAK3 (6,8%), IL2RG (6,0%), Artémis/DCLRE1C (5,6%) et IL7R (1,7%) comme étant les mutations génétiques les plus fréquentes (Ikinciogullari, A., Cagdas, D., Dogu 2019). Une étude d'Erman et al. A utilisé le séquençage de nouvelle génération (NGS) et a identifié 7 patients - 3 avec des mutations dans RAG1 et 2 autres

avec des mutations dans JAK3. Un patient présentait une mutation de IL2RG ([Erman and Çipe 2020](#)).

I.6 Distribution de l'incidence et des gènes du SCID en Asie

I.6.1 Asie (Moyen-Orient)

Des registres de DIP sont disponibles pour des pays comme l'Iran, la Jordanie, le Koweït, Oman, le Qatar et l'Arabie saoudite. Le registre iranien des PID a été créé en 1999([Rezaei et al. 2006](#)). Sur un total de 440 patients atteints de DIP, 14 (3,18%) ont été identifiés comme SCID et 15 autres (3,4%) comme CID dans le premier rapport couvrant la période de mars 1999 à mars 2001. Les données du centre médical des enfants, un Center incluant 234 patients, dont 6 étaient SCID et 5 étaient CID ont indiqué 83,3 % et 80 % de consanguinité, respectivement ([Rezaei et al. 2006](#)). Dans un rapport actualisé en 2014 représentant 14 centres médicaux participants entre mars 2006 et mars 2013, un total de 731 cas de DIP a été rapporté. 154 cas de SCID ont été rapportés (21,1 %). Les auteurs ont rapporté une population estimée à 75 669 750 habitants en 2011, et 1 959 000 non-ressortissants supplémentaires. Le pourcentage de CID serait légèrement supérieur à celui du SCID seul (22,3 %). Par conséquent, l'incidence estimée est de 3,9/100 000 naissances vivantes pour le SCID et de 4,2/100 000 naissances vivantes pour le CID. La consanguinité a été identifiée chez les parents de 71,2 % des patients atteints de CID. La sex-ratio pour le SCID était orientée vers le sexe masculin (95 :59), même si le ratio de la population étudiée était de 1,65:1, ce qui indique la nature liée au chromosome X ([Aghamohammadi et al. 2014](#)).

Le premier rapport du Kuwait National primary Immunodeficiency Registry (KNPIDR) couvrant la période de 2004 à 2006 incluait 76 patients. 21% des cas ont été rapportés comme étant des immunodéficiences combinées des cellules T et B avec 3 SCID T-B+, 2 SCID T-B- et 6 syndromes d'Omenn . Les tests génétiques étaient rares mais 5 des 29 patients atteints de DIP testés ont été identifiés comme ayant des défauts de RAG1 ([Al-Herz 2008](#)). Une étude portant sur les causes génétiques de l'immunodéficiences primaire a inclus 264 patients entre janvier 2004 et décembre 2017 du KNPIDR. Un dépistage génétique a été effectué chez 83 patients identifiés comme SCID ([Aghamohammadi et al. 2002](#)) ([Al-Herz, Chou, et al. 2019](#)). Le nombre de patients correspondant à des défauts dans des gènes particuliers est le suivant : 9 RAG1, 6 RAG2, 7 Artemis/DCLRE1C, 5

JAK3, 5 AK2, 3 CD3D et 2 ADA ([Al-Herz, Chou, et al. 2019](#)). Une autre étude suivant prospectivement des patients entre janvier 2004 et décembre 2018 a inclus 314 patients SCID. Parmi les SCID T-B+, des défauts de JAK3 ont été détectés chez 5 patients et des défauts de CD3D chez 3 patients. Le déficit en RAG1 était le défaut le plus fréquent chez les SCID T-B- et a été observé chez 11 patients ([Al-Herz, Al-Ahmad, et al. 2019](#)). Le déficit en RAG2 a été observé chez 6 patients, le déficit en Artemis/DCLRE1C chez 7, le déficit en AK2 chez 5 et le déficit en ADA chez 2 patients ([Al-Herz, Al-Ahmad, et al. 2019](#)). Une autre étude portant sur 286 patients enregistrés dans le KNPIDR entre janvier 2004 et décembre 2019 a rapporté des défauts génétiques dans RAG1 (6 patients atteints du syndrome d'Omenn), RAG2 (4 patients), CD3 (2 patients atteints du syndrome d'Omenn) et Artemis/DCLRE1C (1 patient atteint du syndrome d'Omenn) ([Massaad, Zainal, and Al-Herz 2020](#)). Il existe une étude comparant directement les patients atteints de CID enregistrés entre 2004 et 2014 au KNPIDR (69 patients) ou au US registre de l'immunodéficience (98 patients). L'incidence du CID au Koweït a été estimée à 13,01/100 000 naissances vivantes, en comparaison avec 1,72/100 000 naissances vivantes aux États-Unis. Les autres différences majeures étaient un diagnostic précoce aux États-Unis (âge moyen de 3,06 mois) par rapport au Koweït (âge moyen de 20,71 mois), et un pourcentage plus élevé de patients ayant des antécédents familiaux et des parents consanguins au Koweït. La plupart des patients atteints de CID aux États-Unis présentaient des anomalies de l'ADA ou de l'IL2RG, tandis qu'au Koweït, les mutations de RAG1 et RAG2 étaient les plus fréquentes ([Al-Herz et al. 2015](#)).

L'incidence du CID en Arabie saoudite a été estimée à environ 4,3/100 000 naissances vivantes, sur la base de l'incidence rapportée du DIP à 7,2/100 000 naissances vivantes, le CID représentant 59,7% des DIP 43,44. Cependant, une étude de 2018 utilisant les TREC pour le dépistage a estimé l'incidence du SCID à 34,4/100 000 naissances vivantes en utilisant 36 copies/L comme seuil 2. Le SCID T-B- était le plus fréquent (17 %) parmi les patients atteints de SCID 43. Le SCID T-B+ a été diagnostiqué chez 5 % des patients atteints de CID et le syndrome d'Omenn chez 3,6 % d'entre eux. Le modèle d'héritage autosomique récessif a été observé chez 90 % des patients SCID ([Al-Saud et al. 2015](#)). Dans une étude indépendante portant sur 261 patients suspectés de PID, dont 34 patients avec des mutations connues du SCID, 27 SCID et 21 CID avec des changements génétiques inconnus ont été séquencés en utilisant le NGS. Des défauts AK2 ont été détectés chez 4 patients SCID et des défauts Artémis/DCLRE1C chez 5 patients SCID.

Des défauts RAG1 ont été détectés chez 1 SCID et 1 patient atteint du syndrome d'Omenn ([Al-Mousa et al. 2016](#)). Une mutation RAG2 et une mutation IL2RG ont également été détectées chez deux patients SCID indépendants 45. L'étude de 2018 sur les TREC a réalisé des NGS sur 16 patients présentant des TREC faibles. Une mutation AK2 et une mutation JAK3 ont été détectées 2. Une autre étude a examiné 20 SCID T-B-NK+ à la recherche de mutations RAG1/2 et Artémis/DCLRE1C. 9 défauts RAG1 et 4 RAG2 ont été identifiés chez 13 des 20 patients ([Al-Mousa et al. 2016](#)).

Dans un rapport d'Oman, un taux d'incidence de 4,5/100 000 naissances vivantes a été signalé pour le SCID. 91,7 % des SCID étaient associés à la consanguinité. Des anomalies de RAG1 ont été signalées chez 5 des 36 enfants (13,9 %). Des mutations de IL7R 4 ont été détectées chez 4 patients, des mutations de ADA chez 4 patients, JAK3 chez 3 patients, IL2RG chez 2 patients, CD3E chez 2 patients et NHEJ1 chez 1 patient ([Al Sukaiti et al. 2021](#)).

I.6.2 Asie (Asie de l'Est)

Le Japon dispose d'un registre central bien établi pour les PID, nommé PIDJ (<http://pidj.rcai.riken.jp>). La première enquête sur les PID au Japon a été rapportée en 1981([Hayakawa et al. 1981](#)). Sur un total de 628 patients signalés entre 1966 et 1975, 26 (3,8%) ont été diagnostiqués comme SCID. Un second questionnaire de suivi (incluant les cas jusqu'en 1979) a reçu 497 déclarants 48. 33 hommes et 13 femmes ont été répertoriés comme SCID. Cela représentait 9,3% du total des SCID, bien que 5 cas aient été classés comme douteux. Un patient a été diagnostiqué comme défectueux pour ADA ([Hayakawa et al. 1981](#)). Une autre enquête a été réalisée en 2011. Sur 1 240 cas de NID, 93 (7 %) ont été identifiés comme SCID. Parmi eux, 47 (50,5 %) étaient déficients pour IL2RG et 9 (9,7 %) étaient déficients pour ADA ([Ishimura et al. 2011](#)). Dans une étude portant sur 18 patients présentant un faible TREC et suivie d'un séquençage de l'ADN génomique, il a été constaté que 11 d'entre eux présentaient des défauts dans IL2RG. Des anomalies de JAK3 (2 patients), ADA (2 patients), LIG4 (2 patients) et RAG1 (1 patient) ont également été observées ([Morinishi et al. 2009](#)).

Un réseau de référence, Asian Primary Immunodeficiency Network ou APIN, a récemment été créé à Hong Kong pour effectuer des tests génétiques sur des patients d'Asie et d'Afrique 51. Dans un rapport de l'APIN, 88 mutations génétiques ont été identifiées chez des patients SCID. 55,68 % étaient des mutations dans IL2RG. Les mutations dans RAG1 (13,64 %) et RAG2 (9,09 %) étaient également fréquentes. Les

autres mutations fréquentes étaient JAK3 (7,95 %), Artémis/DCLRE1C (4,54 %), IL7R (4,54 %) et ADA (2,27 %) 51. Ces résultats étaient cohérents avec la prévalence du SCID lié à l'X ([Wai Luk et al. 2017](#)). 75,9% des patients étaient chinois et la consanguinité était très faible (4,8%) 51. Une autre étude indépendante identifiant des mutations chez 26 patients chinois et sud-asiatiques a trouvé 73,08% de mutations IL2RG. Les mutations les plus fréquentes étaient ensuite celles de IL7R (7,69%) et de JAK3 (7,69%), suivies de RAG1, RAG2 et Artémis/DCLRE1C (3,8% chacun) ([Lee et al. 2011](#)). Un examen rétrospectif de 44 patients à Shanghai, en Chine, a également révélé un rapport hommes/femmes de 10 :1, 25 % d'entre eux recevant un diagnostic de SCID lié à l'X. Les tests génétiques ont confirmé que 25 patients présentaient des mutations IL2RG (56,81 %) ([Yao et al. 2013](#)).

À Taiwan, on peut estimer que l'incidence du SCID se situe entre 1,88 et 3,76/100 000 naissances vivantes. Une étude de dépistage des nouveau-nés avec le nombre de copies TREC a identifié 3 SCID et 1 variante SCID/SCID atypique sur un total de 106 391 en 2012. Cependant, seuls 2 des 4 patients ont été confirmés comme ayant des défauts IL2RG et RAG1, respectivement. Les 2 autres patients ne présentaient pas de défauts dans ces gènes ou dans JAK3, IL7R, RAG2, CD3E, CD3D ou Artémis/DCLRE1C et les mutations causales restent non identifiées ([Chien et al. 2015](#)). Une autre étude du même groupe a identifié 7 cas de SCID et 8 variantes de SCID sur un total de 920 398 nouveau-nés en 2017. Par conséquent, l'incidence pourrait être aussi faible que 0,76 à 1,63/100 000 naissances vivantes. 3 patients présentaient des défauts dans IL2RG et 1 patient présentait une mutation dans RAG1 ([Chien et al. 2017](#)). Par ailleurs, la consanguinité n'est pas présente à Taïwan.

Dans une étude coréenne, 4 patients ont reçu un diagnostic de SCID parmi 152 patients atteints de PID ([Rhim et al. 2012](#)). Une méta-analyse de 101 rapports a identifié 398 patients atteints de DIP et 10 cas de SCID et 1 cas de DIC ([Son et al. 2021](#)).

I.6.3 Asie (y compris le Sud-Est et les autres)

Beaucoup de ces pays, contrairement au Japon, ne disposent pas d'un registre ou d'une base de données centrale sur les PID. Les données présentées ici sont basées sur des rapports de cohortes de patients atteints de DIP. Une étude de Singapour a rapporté 4 cas de SCID, dont 1 avec mutation IL2RG, parmi 39 patients atteints de PID. L'incidence de PID rapportée était de 2,65/100 000 naissances vivantes. Une étude thaïlandaise a

rapporté 12 SCID sur 67 cas de salpingite (17,9%) ([Benjasupattananan et al. 2009](#)). Un patient SCID avait un défaut IL7R tandis qu'un autre avait un défaut IL2RG. Une autre étude a identifié 7 cas de SCID parmi 72 patients atteints de salpingite (9,7%) ([Luecha et al. 2012](#))⁶⁰. Une étude de 2003 a rapporté que 24% des DIPs sont des SCID. Enfin, une autre étude poursuivant le diagnostic moléculaire sur 5 cas de SCID T- B+ NK+, a identifié un défaut IL7R chez 1 patient et des mutations IL2RG chez 2 autres patients. Une revue systématique de la littérature en Malaisie a identifié 119 patients SCID, dont 36 ont été identifiés comme SCID 63. 22 patients ont reçu un diagnostic de SCID. Trois patients ont été identifiés comme ayant des mutations IL2RG et un comme ayant un déficit en ADA ([Abd Hamid et al. 2020](#)). Une étude réalisée en 2019 en Inde a porté sur 57 patients SCID. 38 ont été diagnostiqués comme SCID typique et 19 ont été diagnostiqués comme SCID atypique. Il y avait une forte prédominance du sexe, 70% des patients étant des hommes, ce qui indique la prévalence du SCID lié au chromosome X. La consanguinité était présente dans 36% des cas. 25% des patients avaient un SCID T- B+ NK-, 21% un SCID T- B+ NK+, 17,5% un SCID T- B+ NK- et 3,5% un SCID T- B+ NK+. Les défauts génétiques ont été identifiés chez 41 patients SCID. IL2RG était l'allèle le plus fréquemment muté (21,95 % dans l'ensemble, 38,89 % dans le SCID T-/+ B+ NK-). La mutation de JAK3 était également fréquente (21,95 % dans l'ensemble, 50 % chez les patients T-/+ B+ NK- CID). Les défauts étaient ensuite le plus souvent trouvés dans RAG1 (19,51 %). On a également trouvé des défauts dans ADA (12,20 %), RAG2 (9,76 %), Artémis/DCLRE1C (4,88 %) et IL7R, AK2 et PRKDC (2,44 % chacun) ([Aluri et al. 2019](#)). Une autre étude réalisée en 2021 a rapporté des données sur 277 CID dont 208 SCID, 17 SCID atypiques et 26 syndromes d'Omenn. Le rapport hommes/femmes était de 196 :81. Un diagnostic moléculaire a été posé chez 162 patients. Le gène le plus fréquemment muté a de nouveau été identifié comme étant IL2RG (22,22%). Un défaut de RAG1 a été observé dans 16,05%, ADA dans 11,73%, RAG2 dans 10,50%, JAK3 dans 9,26%, Artémis/DCLRE1C dans 8,02%, IL7R dans 5,56%, NHEJ1 dans 1,23%, CD3E dans 1,23%, CD3D dans 1,23%, PRKDC dans 0,62% et CORO1A dans 0,62% ([Vignesh et al. 2021](#)).

I.7 Distribution de l'incidence et des gènes du SCID en Nort Afrique.

Bien qu'en Afrique, une étude sauvage basée sur des études épidémiologiques spécifiques indique que jusqu'à 902 631 cas de salpingite sont présents, alors que seulement 1016 ont été diagnostiqués dans les registres. Cela pourrait être dû au manque de ressources, de résultats et à l'absence de programmes de dépistage néonatal ([Barbouche et al. 2011](#)).

En 2018 un rapport actualisé du réseau des centres Jeffrey Model sur la classification des maladies, les tendances régionales, les modalités de traitement et les résultats déclarés par les médecins a déclaré que la prévalence des cas d'IPD en Afrique était de 1 836 patients par rapport à un total mondial de 94 024, ce qui devrait être beaucoup plus ([Modell et al. 2018](#)). Cela pourrait être dû aux programmes de sensibilisation lancés dans des pays comme l'Égypte, la Tunisie, l'Algérie, le Maroc et le Soudan ([El-Gamal et al. 2017](#))([El-Sayed and Radwan 2020](#)).

I.7.1 Afrique du Sud

La première étude de DIP en AFRIQUE a été enrôlée en Afrique du Sud entre (1983 - 1996) sur 93 patients DIP, l'incidence estimée est de 6,6 nouveaux patients par an, ce qui semble similaire à ce qui est trouvé dans les pays développés. Plus tard, entre (1983 et 2009), une autre grande étude rétrospective inclut 168 patients atteints de PID parmi 52260000 de la population (de 1983 à 2009) et (10,7%) d'entre eux étaient SCID ([Naidoo et al. 2011](#)). En 2020, dans le cadre du suivi des PID en sous Afrique, Moodley et ses collègues ont publié un rapport sur la plus grande description monocentrique des SCID chez les enfants sub-sahariens, il contient une étude descriptive complète des SCID diagnostiqués à l'hôpital pour enfants Red Cross War Memorial entre (1975 et 2017), dans lequel un total de 252 enfants mâles/femelles SCID (ratio 1. 5:1) ont été décrits et classés selon la classification de 2017 de l'Union internationale des sociétés d'immunologie ; seulement 1,2 % de mariages consanguins parentaux ont été détectés, 45 17,9 % étaient SCID ((16 (6,3 %) T-B+ SCID et 9 (3,6 %) T-B- SCID) ; le diagnostic moléculaire parmi les patients SCID ' a révélé 4 patients avec une mutation dans IL2R suivie de 3 patients avec une mutation dans CD40LG, et 1 patient avec une déficience RAG1 ([Moodley et al. 2020](#)). Tandis qu'en Somalie, des études ont identifié le SCID-ADA comme étant le plus fréquent chez les personnes déplacées, mais en raison des

carences socio-économiques et nutritionnelles, il est probable qu'il soit sous-diagnostiqué (Sanchez et al. 2007).

I.7.2 Afrique du Nord

Les pays d'Afrique du Nord présentent une incidence plus élevée de mariages consanguins elle varie entre 20 et 50% (Moodley et al. 2020). Pour cela de nombreux pays avaient établi leurs registres de DIP. En 2017, 2456 patients atteints de DIP ont été diagnostiqués parmi une population de 94 804 694, (Ahmed Aziz Bousfiha et al. 2013). Donc la prévalence du DIP a été estimée à 2,56/100 000, Les troubles d'immunodéficience combinée (CID) ont été suggérés comme les DIP les plus fréquents avec une prévalence de la forme autosomique récessive dans les pays nord-africains Égypte, Tunisie et Maroc,(Barbouche et al. 2011; Galal et al. 2016; Mellouli et al. 2015; A. A. Bousfiha et al. 2014) D'autre part, l'incidence des DIP dans l'ensemble du Maghreb est estimée à 9765 nouveaux patients par an selon l'incidence trouvée aux USA (Ahmed Aziz Bousfiha et al. 2013). Pour cela, nous avons passé en revue la littérature du Maroc, Tunisie, l'Algérie, et de l'Égypte comme pays représentatif de l'Afrique du Nord dans notre revue. La Société marocaine de l'immunodéficience primaire (MSPID) a diagnostiqué 421 patients atteints de DIP (228 patients masculins et 195 patients féminins) (ratio 1,17) ; dans le premier registre marocain d'une immunodéficience primaire dans une période de 14 ans entre (1998-2012) et cela donne une prévalence de 0,81/100000 habitants, parmi ces patients 20. 6% avaient un CID (37 cas de SCID et 26 de déficiences du CMH II) ,43,2% avaient une consanguinité parentale positive ; En 2012 une étude récente compare la prévalence et le taux de couverture dans les registres de DIP du Maghreb et a noté que la prévalence au Maroc a augmenté et a conduit à 2. 09/ 100 000 habitants (Ahmed Aziz Bousfiha et al. 2013). Dans la littérature, l'incidence exacte du SCID au Maroc n'est pas disponible, par contre, 8,74% des patients atteints de PID souffrent de SCID selon la classification IUIS des PID (A. A. Bousfiha et al. 2014). En outre, une étude rétrospective de 30 SCID a montré que le SCID autosomique récessif est plus fréquent 19 T- B- SCID avec une prédominance de T- B- NK+ (14), probablement en raison d'un déficit en RAG1/2 mais aucune analyse moléculaire n'a été faite pour confirmer cette. La même chose a été mentionnée dans une étude rétrospective de 75 patients algériens atteints de DIP collectés pendant sept ans (de janvier 2003 à

juillet 2010) avec une prévalence de 1,46/100 000 habitants ; le plus souvent, 40 % des descendants de patients atteints de DIP sont des enfants.

La prévalence des DIP en Algérie est estimée à 30 : agammaglobulinémie (30) et 13 avaient (SCID) (Kechout et al. 2011) tandis que le registre tunisien a rapporté 710 DIP entre (1988-2012) estimation d'une prévalence plus élevée (Mellouli al.2015). L'Égypte est le deuxième pays d'Afrique du Nord pour ce qui est de la prévalence de l'immunodéficience primaire, avec un taux de prévalence de 3,5 /100 000 habitants, où les DIP représentent la catégorie la plus courante (28,6 %), suivie par les anomalies congénitales des phagocytes (25,4 %), selon la classification de l'Union internationale des sociétés d'immunologie. L'Égypte est le deuxième pays d'Afrique du Nord à avoir mis en place un registre des PID en 2009, dans lequel 64 patients égyptiens atteints de DIP, H/F 42/22 (ratio 1,9:1) ont été recueillis entre 2004 et 2008, le délai de diagnostic était de 29,9 mois. Le DIP le plus fréquent était le déficit en anticorps (35,9 %), suivi du SCID (29,7 %), des mariages consanguins ont été relevés chez 62,5 % des patients, tandis que 23,4 % étaient issus d'un membre de la famille affecté (Reda, Afifi, and Amine 2009); Quelques années plus tard, une grande étude de risque de dépistage menée par l'hôpital pédiatrique de l'université du Caire a diagnostiqué 476 enfants avec des troubles de PID parmi 5000 enfants suspects recueillis entre 2010 et 2014 dans une population de 95690000 ; le SCID était le trouble le plus présent (130 cas), 46 (50,5%) T-B-SCID, 35 (38,5%) avec T-B + SCID, et (11%) syndrome d'Omenn. L'analyse moléculaire de tous les SCID a révélé une mutation de RAG1&2 chez 6 patients et une mutation d'Artémis chez 1 patient, (Galal et al. 2016). En outre, le séquençage de l'exome entier des patients T - B + SCID a révélé que la mutation dans JAK3 était la plus fréquente, suivie par des variantes dans IL2R γ (n = 6) (Galal et al. 2016).

I.8 Australie/Nouvelle-Zélande

Le premier registre national des DIP en Australie a été créé en 1990 par la Société australienne d'allergie et d'immunologie clinique (ASCIA) afin de déterminer la prévalence des DIP, d'améliorer le diagnostic de ces troubles et la thérapie de base, et de défendre les intérêts des patients. Entre 1990 et 1994, 500 patients (M/F) (1,8:1) ont été inscrits dans le registre avec un taux de prévalence national cumulé estimé pour toutes les formes 2,82/100000, il diffère selon l'état de la population, ainsi la prévalence minimale

était de 1,18/100000 dans le Queensland avec une population de 31,34,105 en 1993 et la supérieure est de 4,57/100000 en Australie occidentale dans 16,84. Le diagnostic moléculaire a montré qu'un patient était atteint d'un déficit en ADA et un autre d'un déficit en CMH de classe I ou II ([Baumgart et al. 1997](#)).

Plus tard en 2006, un nouveau registre ASCIA PID basé sur le web pour l'Australie et la Nouvelle-Zélande a été lancé. Il comprend 1209 patients atteints de salpingite provenant de 88 centres. M/F (Ratio 1.17:1) avec aucun sexe enregistré dans 9 cas, La gamme d'âge était (de l'enfance à 96 ans) sur les populations australiennes et néo-zélandaise ;20,6 millions, 4,1 millions respectivement Australien Bureau of Statistics. Statistiques de la population australienne : 3101.0 ; juin 2006. Statistiques de la Nouvelle-Zélande. National Population Estimates ; juin 2006. La prévalence des cas de DIP a été donnée comme suit : Prévalence des études australienne et néo-zélandaise : 4,9/10000 ; prévalence de l'étude australienne : 5,6/10000 ; prévalence de l'étude de l'Australie du Sud : 12,4/10000 ; estimation de la prévalence ajustée : 13,2-14,5/10000. Les troubles liés aux déficits en anticorps étaient présents chez 77,0 % des patients ; le SCID chez 6,3 % ; (SCID T-B- total 3,4 % ; déficit en adénosine désaminase 0,2 % ; SCID T-B+ total 0,7 % ; SCID lié à l'X 0,5 %) ([Kirkpatrick and Riminton 2007](#)). En outre, l'unité de surveillance pédiatrique australienne a mené une surveillance nationale mensuelle active des troubles rares avec des rapports de spécialistes de la santé de l'enfant, a identifié 33 cas de SCID au cours de la période de six ans, [incidence 1,8/105 naissances vivantes par an ; intervalle de confiance à 95% (IC) 1,2-2,5]. 26 enfants avaient un SCID classique H/F (20/6) ; cinq d'entre eux avaient une consanguinité positive et l'âge médian au diagnostic était de 6 mois, 7 enfants avaient un SCID atypique H/F (3/4), deux d'entre eux avaient une consanguinité positive et l'âge médian au diagnostic était de 16 mois. L'incidence nationale rapportée du SCID classique en Australie (1,45/105 ou 4 cas par an ou 1/69 000 naissances vivantes) Le diagnostic moléculaire a identifié 13 enfants avec un SCID lié au chromosome X, 4 enfants avec un déficit en ADA, un avec un déficit en chaîne alpha du récepteur de l'interleukine-7 et deux enfants avec un syndrome d'Ommen ([Yee et al. 2008](#)).

II. 3^{ème} Partie caractérisation et étude des patients SCID au Maroc

II.1 RÉSULTATS

II.1.1 Distribution des patients Analysés des patients de la base de données

En Bref 1040 patients suspecté d'avoir un déficit immunitaire Primitif enregistré dans la base de données informatisé du laboratoire d'immunologie cellulaire entre (2008-20018) ont été analysé par un expert en DIP les résultats de cette classification était présenté a **la (Figure 33)**, 185 patients on était analysé à voir souffrir du DIP ; 93 CID,66 DIH,26 DIP complexe. D'autre part 575 autres patients on était diagnostiqué comme ne pas avoir souffrir du déficit immunitaire bien que 235 d eux avaient des valeurs de sous typage lymphocytaire bases on les comparent aux valeurs normales.

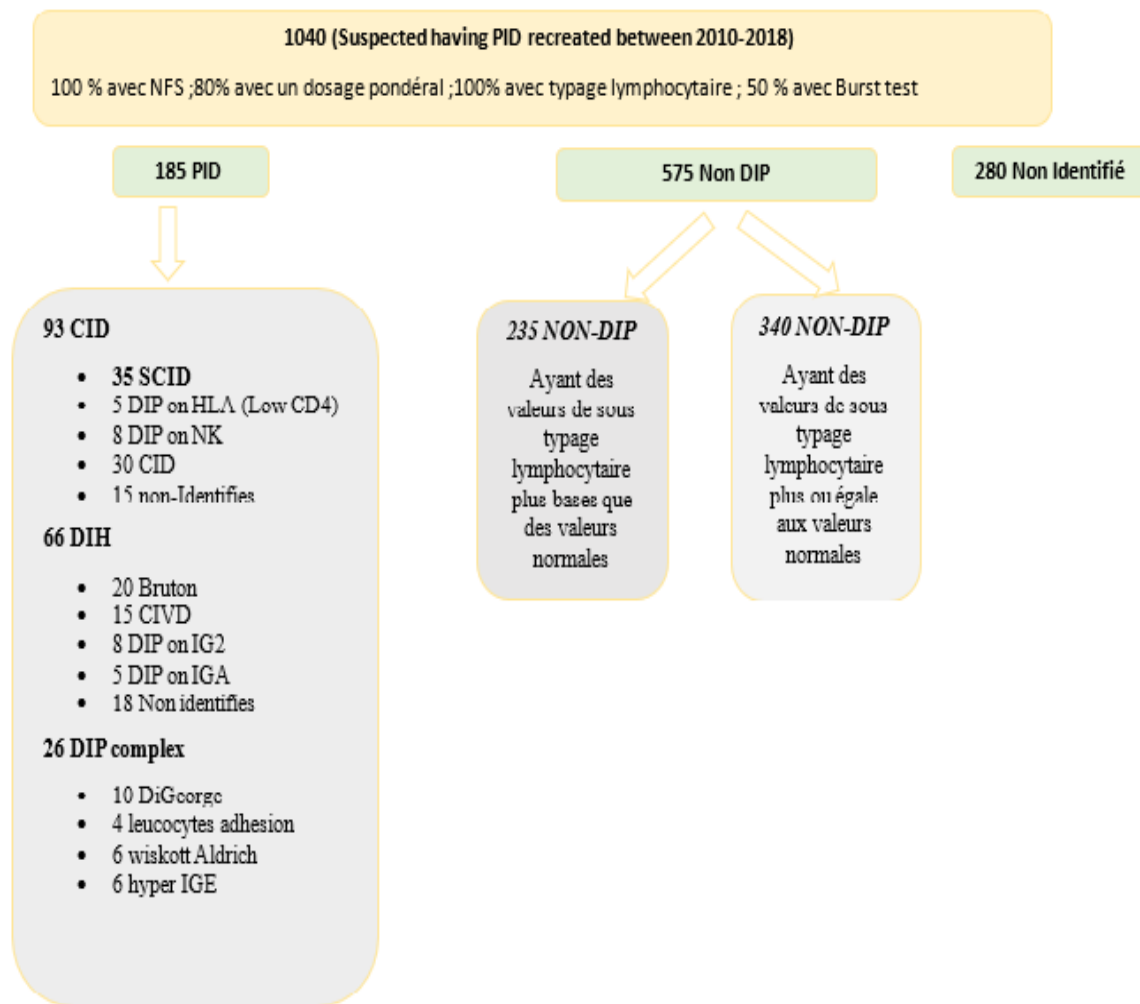


Figure 33. Distribution de 1040 patients analysé de la base de données

II.1.2 Caractéristiques démographiques des groupes SCID et non-SCID d'étudiés

Les informations démographiques collectées auprès des différents groupes SCID et du groupe de contrôle non-PID sont présentées dans le **tableau X**. Le rapport de masculinité dans notre groupe SCID (M/F) était inférieur à celui des enfants non-PID (1,19 contre 1,69, respectivement ; $p < 0,05$). La consanguinité était présente chez 39,5% des parents des patients SCID, alors qu'elle n'était que de 24% chez les parents des enfants non-PID. Le pourcentage d'antécédents familiaux de DIP dans le groupe SCID était également plus élevé par rapport au groupe non-PID (68,5% contre 9%, respectivement ; $p < 0,05$). Nous avons observé que l'âge médian de la première suspicion de SCID était significativement

plus bas chez les enfants avec SCID confirmé, comparé au groupe non-PID (90 jours contre 210 jours, respectivement ; $p < 0,05$). De plus, même dans le groupe SCID, cet âge était considérablement plus bas chez les 24 enfants ayant des antécédents familiaux de SCID, par rapport à ceux sans antécédents familiaux (75 jours contre 165 jours, respectivement ; $p < 0,05$) (données non présentées).

Tableau X : Données démographiques des patients atteints d'immunodéficiência combinée sévère et des enfants non atteints de DIP

	Nombre des patients	Sexe ratio (H/F)	Médian d'Age par mois (Min & max)	Consanguinité	Histoire familiale du SCID
Group des SCID	35	19/16 (1.19)	3 (0.2 - 24)	39.5%	68.5%
T-B+ SCID	10	4 /6 (0.6)	3 (1 - 24)	33%	50%
T-B- SCID	25	15/10 (1.5)	4 (0.2 - 24)	50%	63%
Group Non-PID	622	391/231 (1.69)	7 (0.53 - 24)	24%	9%

II.1.3 Caractéristiques immunologiques des patients SCID marocain

Les résultats du phénotypage des lymphocytes sont résumés dans le (Tableau XI) La répartition des patients en sous-types SCID a montré que les sous-types T-B-NK- et T-B-NK+ sont plus fortement représentés par rapport aux autres sous-types (T-B+NK+ et T-B+NK+). Dans le (Tableau XI) Les valeurs médiane, minimale (min) et maximale (max) sont représentées en x1000 cellules/uL.

Tableau XI : Comptage des sous-populations de lymphocytes dans les quatre sous-types de SCID

	Group Non-PID			Group du SCID											
				T-B-NK- N=11			T-B-NK+ N=14			T-B+NK- N=5			T-B+NK+ N=5		
Valeurs	Médian	Min	Max	Médian	Min	Max	Médian	Min	Max	Médian	Min	Max	Médian	Min	Max
Lymphocytes	5.9	0.4	22	0.22	0.07	0.58	0.61	0.04	4.06	1.72	0.74	4.10	1.58	0.30	2.48

CD3+	3.8	0.2	15.8	0.15	0.00	0.43	0.08	0.01	0.28	0.01	0.00	1.27	0.21	0.00	1.51
CD4+	2.1	0.08	7.4	0.03	0.00	0.29	0.03	0.00	0.17	0.01	0.00	0.88	0.11	0.00	1.17
CD8+	1.4	0.06	8.4	0.08	0.00	0.38	0.01	0.00	0.14	0.01	0.00	0.30	0.07	0.00	0.57
CD19+	1.06	0.09	11.4	0.02	0.00	0.17	0.03	0.00	0.24	1.27	0.54	3.77	0.71	0.34	1.28
CD56+16+	0.48	0.17	4.9	0.02	0.00	0.06	0.32	0.16	2.43	0.04	0.00	0.06	0.22	0.16	0.73

La distribution du nombre de cellules T, B et NK dans les patients Non-PID et les quatre sous-types SCID est présentée dans la **Figure 34**. Comme prévu, nous avons observé qu'en général, le nombre de sous-populations lymphocytaires est significativement plus faible chez les patients du groupe SCID que chez les patients non-PID. En fait, une lymphopénie (<1800 lymphocytes/ μ L) a été observée chez 77% des patients SCID, la médiane étant de 560 cellules/ μ L. Néanmoins, six patients non-PID (0,96 %) ont présenté des valeurs inférieures à la valeur moyenne (186 cellules/ μ L) d'un sous-ensemble de 24 patients SCID (68,6 %). Les 11 autres patients SCID présentaient un nombre extrêmement faible de cellules T (5 cellules/ μ L). Parmi les sous-types de SCID, le nombre de lymphocytes était inférieur dans le sous-type T-B- par rapport au sous-type T-B+ (médiane de 370 cellules/ μ L contre 1650 cellules/ μ L, respectivement ; $p < 0,05$).

Les patients atteints de SCID sont typiquement définis comme ayant un niveau très bas de cellules T (<300 cellules/L, et/ou avec une forte présentation clinique de SCID (infections récurrentes et retard de croissance), ainsi qu'une histoire familiale de SCID favorable. Comme prévu, dans notre étude, 30 patients SCID (85,7 %) présentaient un taux absolu de lymphocytes T < 300 cellules/ μ L. Fait remarquable, deux sujets du sous-type T-B-NK (5,7 %) avaient un nombre de lymphocytes T compris entre 300 et 500 cellules/ μ L. De plus, deux patients du sous-type T-B+NK+ (5,7 %) et un patient du sous-type T-B+NK- (2,85 %) avaient un nombre de cellules T > 500 cellules/ μ L.

Parmi les patients atteints du sous-type T-B-NK+, 52 % présentaient une absence totale de cellules T (nombre de cellules T = 0). De même, parmi les patients présentant le sous-type T-B+ NK-, 57 % avaient un nombre de cellules T égal à zéro. Les patients SCID de sous-type T-B-NK- et T-B-NK+ présentaient un pourcentage similaire de patients sans lymphocytes B. Le pourcentage de patients sans lymphocytes B était plus élevé dans le sous-type T-B-NK- que dans le sous-type T-B-NK+. Le pourcentage de patients sans

cellules B était de 37,5 % pour les T-B-NK- et de 35,3 % pour les T-B-NK+. Les patients atteints du sous-type T-B-NK- présentaient plus fréquemment une absence de cellules NK par rapport au sous-type T-B+⁺NK- (25 % contre 14 % respectivement, $p < 0,005$).

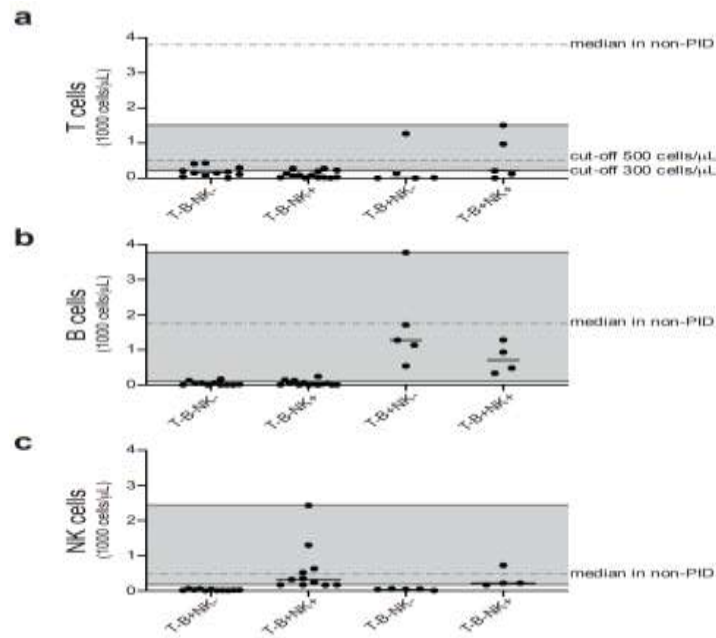


Figure 34. Numération des sous-populations lymphocytaires dans les sous-groupes SCID. Distribution des données indépendantes données indépendantes pour les cellules T (a), les cellules B (b) et les cellules NK (c) dans les quatre sous-groupes SCID sont représentées graphiquement avec les seuils ainsi que la médiane chez les patients non SCID (indiqués par des lignes pointillées). Représentés graphiquement avec les seuils ainsi que la médiane chez les patients non-PID (indiqués par des lignes pointillées). La zone grise représente l'intervalle où les valeurs mesurées chez les patients SCID et non-PID se chevauchent.

II.1.4 Caractéristiques cliniques des patients SCID Marocain en comparaison aux patients non-PID

La distribution des manifestations cliniques au sein des groupes de patients étudiés est représentée dans la **Figure 35**. En général, on a observé que les infections respiratoires, le retard de croissance et la diarrhée étaient les manifestations cliniques les plus fréquentes dans le groupe SCID, tandis que le groupe non-PID présentait le plus souvent des infections respiratoires et de la diarrhée. La méningite a été observée plus fréquemment chez les patients SCID par rapport aux non-PID. Les infections des voies urinaires, le muguet buccal, l'infection à CMV et l'infection disséminée par le BCG après la vaccination n'ont été observés que dans le groupe SCID et non dans le groupe non-PID. En revanche, la septicémie était plus fréquente dans le groupe non-PID.

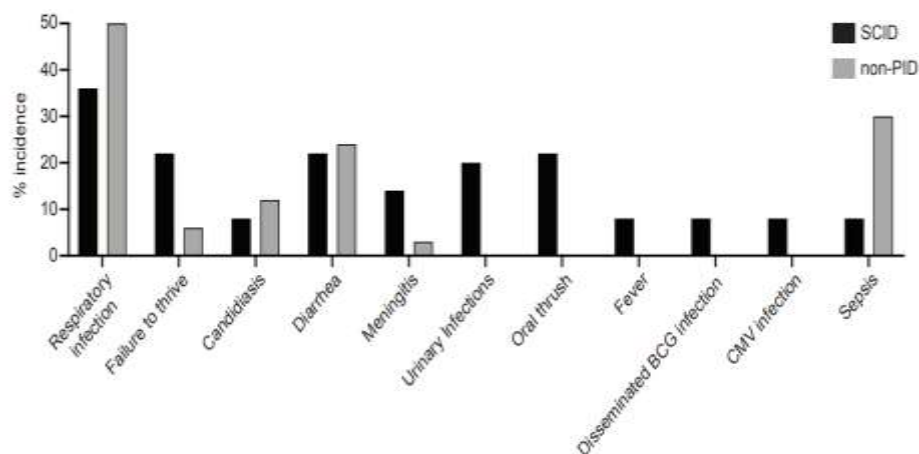


Figure 35. Manifestations cliniques chez les patients non-PID et SCID. Représentation graphique de la fréquence des différentes manifestations cliniques associées au SCID dans les groupes de patients SCID et non-PID. Test de Mann-Whitney, n.s. = non significatif, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ et **** $p < 0,0001$.

La distribution des manifestations cliniques dans les quatre sous-groupes de patients SCID est représentée dans la **figure 36**. Des infections respiratoires ont été observées dans tous les groupes SCID, à l'exception du T-B-NK+. Alors que les sous-groupes T-B-NK-, T-B-NK+ et T-B+NK+ présentaient un retard de croissance, un pourcentage plus élevé de patients du sous-type T-B-NK+ présentait cette manifestation clinique (34 % ; $p < 0,05$), par rapport aux autres sous-types. De plus, au sein des sous-groupes SCID, le sous-type T-B+NK+ présentait un pourcentage plus élevé de patients souffrant d'infections urinaires (50 % ; $p < 0,05$), par rapport aux autres sous-types. Un

pourcentage plus élevé de patients du sous-type T-B-NK- a souffert de diarrhée (40% ; $p<0,05$) par rapport aux autres sous-types.

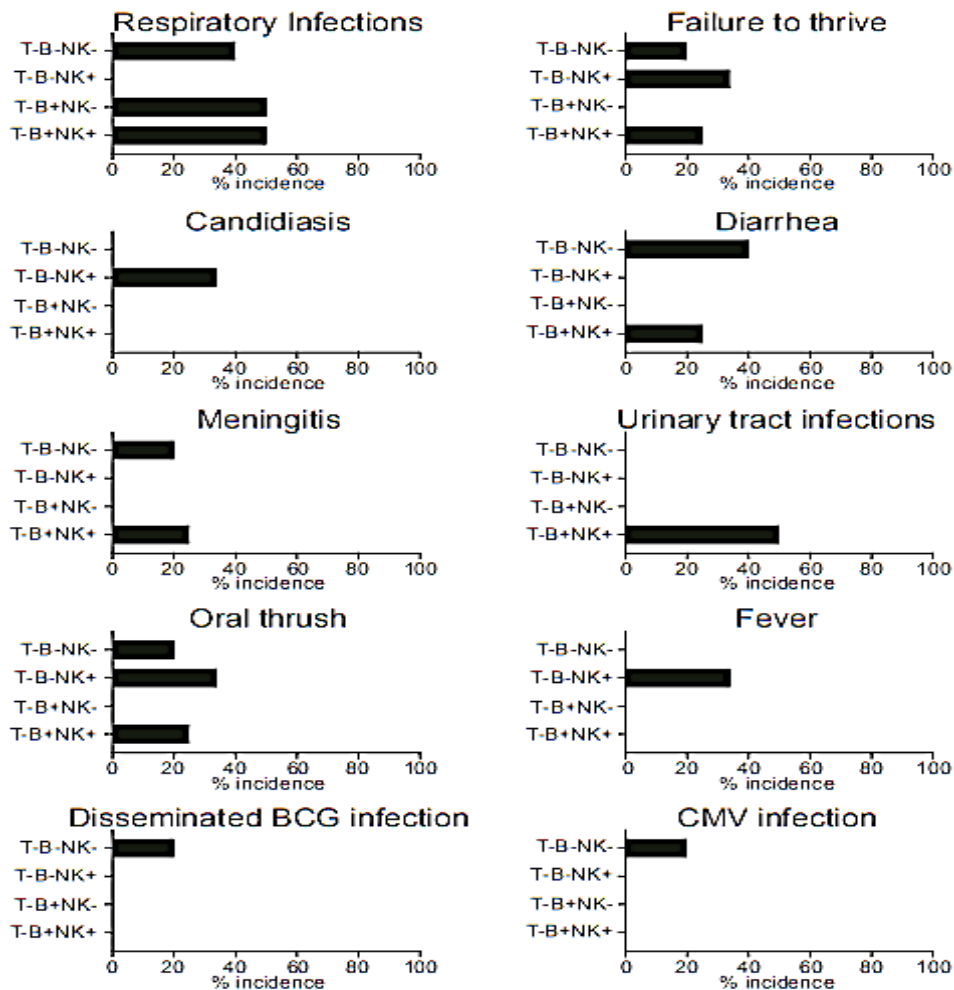


Figure 36. Distribution des manifestations cliniques dans les quatre sous-groupes de patients SCID. Représentation graphique de la fréquence des différentes manifestations cliniques associées au SCID dans les quatre sous-groupes de patients SCID.

II.2 DISCUSSION

II.2.1 Distribution des patients Analysés des patients de la base de données

L'analyse de notre base de données a démontré un nombre des patients souffrant d'un DIP cellulaire élevé par rapport aux ceux présentant un DIP humoral ce qui est généralement remarqué dans tous les pays de l'Afrique du nord pour la raison de la fréquence élevée des mariages consanguins noté dans ces pays comme dans d'autres pays asiatiques (El-Maataoui et al. 2011; A. A. Bousfiha et al. 2014; Al-Mousa et al. 2018). Parmi les patients suspects, 235 patients non DIP présentaient des valeurs de sous-populations lymphocytaires diminuées au moment du diagnostic et ont récupéré leurs valeurs normales quelques mois après ; cette diminution peut être causée par différentes infections respiratoires causées par de nombreux germes, même remarque était notée dans plusieurs études étudiant l'impact des infections sur l'état ainsi que sur le nombre des cellules immunitaires T ; B, NK des patients (Aldirmaz et al. 2014).

II.2.2 Caractéristiques démographiques des groupes SCID et non-SCID étudiés

Nous rapportons ici la fréquence des sous-types de SCID observés dans une population marocaine. Le sous-type de SCID le plus commun observé dans nos études était T-B-NK+, dont l'hérédité est autosomique récessive. Ce résultat est identique aux rapports précédents des pays méditerranéens tels que Michos et al. De Grèce (Michos et al. 2011), et El Maataoui et al. Du Maroc (El-Maataoui et al. 2011). Cependant, dans une étude australienne, le sous-type T-B+NK- était le plus répandu. Ce dernier est également autosomique récessif. Les mariages consanguins dans les populations augmentent la prévalence du SCID autosomique récessif (Tasher and Dalal 2012 ; Suliaman, Al-Ghonaïm, and Harfi 2006 ; Saleem et al. 2013). Dans notre étude, une consanguinité positive a été trouvée chez 34% des patients et l'information n'était pas disponible pour 14% des patients. Bien que nettement inférieure aux 80 % identifiés dans une étude iranienne (Yeganeh et al. 2008), la consanguinité dans notre cohorte est encore relativement élevée. Seulement 20,8% de consanguinité a été observée dans la population australienne (Yee et al. 2008). Notre cohorte est caractérisée par une consanguinité élevée

et la prévalence des SCID autosomiques récessifs, et non des SCID liés au chromosome X qui présentent un biais masculin plus important.

Le pourcentage de patients de notre étude ayant une histoire positive d'immunodéficience dans la famille était de 68.5 %. Ce chiffre est proche des 50% observés dans une étude iranienne (Aghamohammadi et al. 2014). Dans notre étude, les patients ayant des antécédents familiaux de SCID ont été diagnostiqués plus tôt par rapport aux autres patients SCID. Cela est probablement dû au fait que les familles ayant des antécédents de SCID sont plus conscientes de cet état pathologique en raison d'expériences antérieures. Un résultat similaire a été trouvé dans l'étude de Stephan et al. (Stephan et al. 1993). La sex-ratio dans notre cohorte était similaire à celui trouvé par El Maataoui et al. (El-Maataoui et al. 2011), mais était plus faible comparé à ceux décrits dans d'autres études (Yeganeh et al. 2008 ; Neven et al. 2009 ; Rebecca H. Buckley 2004; R. H. Buckley 2000).

II.2.3 Les caractéristiques immunologiques des patients SCID marocain

La lymphopénie, définie comme étant <1000 à 1500 cellules/ μL , est une caractéristique du SCID. Cependant, Gossage et Buckley avaient précédemment démontré que les nourrissons normaux ont un nombre de lymphocytes beaucoup plus élevé que les adultes (la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% est de 2000 à 4500 cellules/ μL) (Gossage, D., & Buckley 1990). Par conséquent, ils suggèrent que tout compte inférieur à 2000 cellules/ μL pourrait être considéré comme une lymphopénie chez les enfants. Dans notre étude, une lymphopénie sanguine marquée (<1000 cellules/ μL) a été notée chez la grande majorité de nos patients, à l'exception de trois d'entre eux qui présentaient des taux de lymphocytes plus élevés. Leur taux de lymphocytes était respectivement de $2\,700$ cellules/ μL , $2\,500$ cellules/ μL et $2\,300$ cellules/ μL . Le dosage des immunoglobulines était également faible chez la plupart des patients, à l'exception de cinq d'entre eux. Ces patients, qui étaient tous âgés de moins de 6 mois, ont très probablement conservé des immunoglobulines maternelles. Les enfants âgés de moins de 6 mois sont connus pour conserver les immunoglobulines maternelles (Winkelstein et al. 2006).

L'énumération des sous-populations lymphocytaires par cytométrie de flux est un test fondamental pour déterminer le nombre de cellules T, B et NK et identifier les cas

potentiels de SCID. Les critères diagnostiques du SCID mentionnent que le nombre de cellules T doit être inférieur au seuil de 300 cellules/ μ l ([Herbinger et al. 2013](#)). La majorité de nos cas (85,7%) correspondaient au critère de <300 cellules T/ μ l. Néanmoins, nous avons constaté que deux patients SCID (5,7%) de sous-type T-B-NK- avaient un nombre de lymphocytes T compris entre 300 et 500 cellules/ μ l. Ces deux patients ont été considérés comme SCID en tenant compte des autres critères cliniques. En effet, ces deux patients présentaient des infections respiratoires répétitives, un retard de croissance, une méningite et des infections urinaires depuis leurs premiers mois de vie. L'un de ces patients est décédé et le nombre de lymphocytes T de l'autre est tombé à moins de 300 cellules/ μ L lors d'un nouveau test 3 mois plus tard. Ce dernier patient avait des antécédents familiaux positifs de SCID et la famille était consanguine. Ces résultats sont cohérents avec la proposition de Roifman et al. Selon laquelle les patients atteints de SCID typique pourraient être mieux identifiés par un seuil de <500 cellules T CD3+ circulantes puisque les cellules T de ces patients avaient des réponses in vitro nettement diminuées à la phytohémagglutinine (PHA). De manière surprenante, nous avons également constaté que le nombre de cellules T de trois patients (8,7 %) était > 500 cellules/ μ L. L'un de ces patients était de sous-type T-B+NK-. Ce patient souffrait d'une infection respiratoire, de diarrhée et d'une infection des voies urinaires. Les deux autres patients étaient de sous-type T-B+NK+. Ils présentaient tous deux une infection respiratoire et une diarrhée. Bien que les valeurs des lymphocytes T de ces 3 patients soient atypiques pour le SCID, et plus proches de l'immunodéficience combinée (CID) ([Roifman et al. 2012](#)), des mutations dans des gènes qui fonctionnent après le développement des lymphocytes T tels que l'ADN ligase IV, CD3G, CD8, IL-2R, p56LCK, ZAP70, STAT5, FOXP1, DOCK8, CD40, CD40L ou des déficiences dans les gènes codant pour le CMH de classe I ou le CMH de classe II, en particulier en cas de fuite, peuvent donner lieu à un tel phénotype ([Tasher and Dalal 2012](#)). Les 3 patients des deux sous-types avaient tous des antécédents familiaux positifs de SCID. Lorsque les tests ont été refaits 6 mois plus tard, le nombre de lymphocytes T des 3 patients a chuté à moins de 300 cellules/ μ L. Par conséquent, il s'agit très probablement de SCID, ce qui correspond à leur diagnostic clinique. Les patients identifiés comme SCID ou PID subissent souvent des tests génétiques ultérieurs pour confirmation. Malheureusement, ni le diagnostic moléculaire ni la mesure des niveaux des cercles d'excision des récepteurs des cellules T (TREC) ([van der Spek et al. 2015](#)) n'étaient possibles pour la majorité des

patients de notre cohorte. Pour les rares patients non atteints de DIP présentant une faible numération lymphocytaire, la lymphopénie transitoire pourrait avoir été causée par des infections qui induisent l'activation des lymphocytes immunitaires et leur fixation sur l'endothélium (Herbinger et al. 2013). Elle pourrait également avoir été causée par les glucocorticoïdes qui induisent l'apoptose des lymphocytes (Smith and Cidlowski 2010).

II.2.4 Caractéristiques cliniques des patients SCID

Marocain en comparaison aux patients non-PID

Les patients SCID étudiés dans notre présentation également les symptômes classiques du SCID. Des infections respiratoires ont été observées dans tous les groupes SCID comme dans les patients non-PID, sauf dans le sous-type T-B-NK+. Cela était probablement dû à la taille de l'échantillon de l'étude. Comme le vaccin Bacillus Calmette-Guérin (BCG) contient du *Mycobacterium bovis* vivant atténué, il est contre-indiqué chez les patients atteints de SCID ou d'autres immunodéficiences car des infections disséminées peuvent survenir après la vaccination de ces patients (Marciano et al. 2014; Norouzi et al. 2012; Mazzucchelli, J. T. L., Bonfim, C., Castro, G. G., Condino-Neto, A. A., Costa, N. M. X., Cunha, L., ... & Costa-Carvalho 2014). Néanmoins, l'un de nos patients SCID a présenté des complications liées à la vaccination par le BCG. En fait, le respect de cette contre-indication est difficile dans notre pays puisque le BCG est administré à la naissance dans les pays endémiques de la tuberculose comme le Maroc.

CONCLUSION

Identifier la prévalence ou l'incidence du SCID dans un pays permet de confirmer l'état de santé de ses nouveau-nés et d'établir un protocole bien défini pour la gestion et le diagnostic précoce des enfants nés avec la maladie monogénique. Le dépistage néonatal (NBS) permet de déterminer l'incidence précise au sein d'une population et permet un diagnostic et un traitement précoces. Il est à noter que l'incidence de la maladie monogénique varie selon les régions. Ainsi la définition des variants pathogènes dans les gènes connus pour provoquer un déficit immunitaire combiné sévère aide à établir un diagnostic définitif à savoir que certaines formes et mutations génétiques du trouble immunologique combiné étant plus fréquentes dans certains groupes ethniques.

Notre étude quantifie l'évolution des numérations et des pourcentages de la sous-population des lymphocytes chez des enfants marocains en bonne santé de la naissance à l'âge adulte. Ces valeurs de référence devraient être utiles aux laboratoires marocains pour l'interprétation correcte de l'immunophénotypage des lymphocytes dans le diagnostic du VIH, de la PID et d'autres maladies caractérisées par une lymphocytose ou une lymphocytopénie chez les patients pédiatriques.

Les antécédents familiaux, la consanguinité des parents du patient, le profil clinique et une anomalie dans la numération des sous-populations de lymphocytes doivent être considérés ensemble pour le diagnostic de l'urgence pédiatrique du SCID, car seul un diagnostic précoce peut sauver la vie des patients. Les médecins doivent prendre en considération les signes susmentionnés même lorsque le critère de lymphopénie T inférieure à 300 cellules/ μ L est absent pour leur permettre de réagir rapidement, car 14,3% des cas de SCID ne présentaient pas de lymphopénie <300 cellules/ μ L. Le dépistage néonatal du SCID avant la vaccination pourrait également permettre d'éviter les complications cliniques liées à la vaccination BCG chez ces patients.

BIBLIOGRAPHIE

- A. Kakar, R. Beri, A. Gogia, S.P. Byotra, V. Prakash, S. Kumar, and M. Bhargava. 2011. "Absolute Lymphocyte Count: A Cost-Effective Method of Monitoring HIV-Infected Individuals." *Indian J Pathol Microbiol* 54 (2011), 107-111, 107-11.
- Abd Hamid, Intan Juliana, Nur Adila Azman, Andrew R. Gennery, Ernest Mangantig, Ilie Fadzilah Hashim, and Zarina Thasneem Zainudeen. 2020. "Systematic Review of Primary Immunodeficiency Diseases in Malaysia: 1979-2020." *Frontiers in Immunology* 11: 1979-2020. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01923>.
- Abolhassani, Hassan, Janet Chou, Wayne Bainter, Craig D. Platt, Mahmood Tavassoli, Tooba Momen, Marzieh Tavakol, et al. 2018. "Clinical, Immunologic, and Genetic Spectrum of 696 Patients with Combined Immunodeficiency." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 141 (4): 1450-58. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.06.049>.
- Aghamohammadi, Asghar, Mosafa Moein, Abolhasan Farhoudi, Zahra Pourpak, Nima Rezaei, Kamran Abolmaali, Masoud Movahedi, et al. 2002. "Primary Immunodeficiency in Iran: First Report of the National Registry of PID in Children and Adults." *Journal of Clinical Immunology* 22 (6): 375-80. <https://doi.org/10.1023/A:1020660416865>.
- Aghamohammadi, Asghar, Payam Mohammadinejad, Hassan Abolhassani, Babak Mirminachi, Masoud Movahedi, Mohammad Gharagozlou, Nima Parvaneh, et al. 2014. "Primary Immunodeficiency Disorders in Iran: Update and New Insights from the Third Report of the National Registry." *Journal of Clinical Immunology* 34 (4): 478-90. <https://doi.org/10.1007/s10875-014-0001-z>.
- Al-Herz, Waleed. 2008. "Primary Immunodeficiency Disorders in Kuwait: First Report from Kuwait National Primary Immunodeficiency Registry (2004-2006)." *Journal of Clinical Immunology* 28 (2): 186-93. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9144-5>.
- Al-Herz, Waleed, Mona Al-Ahmad, Ahmad Al-Khabaz, Ahmed Husain, Ali Sadek, and Yasmeen Othman. 2019. "The Kuwait National Primary Immunodeficiency Registry 2004-2018." *Frontiers in Immunology* 10 (July): 1-9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01754>.
- Al-Herz, Waleed, Janet Chou, Ottavia Maria Delmonte, Michel J. Massaad, Wayne Bainter, Riccardo Castagnoli, Christoph Klein, Yenan T. Bryceson, Raif S. Geha, and Luigi D. Notarangelo. 2019. "Comprehensive Genetic Results for Primary Immunodeficiency Disorders in a Highly Consanguineous Population." *Frontiers in Immunology* 10 (JAN): 1-11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03146>.
- Al-Herz, Waleed, Luigi D. Notarangelo, Ali Sadek, Rebecca Buckley, Javeed Akhter, Zuhair K. Ballas, Mark Ballow, et al. 2015. "Combined Immunodeficiency in the United States and Kuwait: Comparison of Patients' Characteristics and Molecular Diagnosis." *Clinical Immunology* 161 (2): 170-73. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.07.013>.
- Al-Mousa, Hamoud, Mohamed Abouelhoda, Dorota M. Monies, Nada Al-Tassan, Abdulaziz Al-Ghonaïum, Bandar Al-Saud, Hasan Al-Dhekri, et al. 2016. "Unbiased Targeted Next-Generation Sequencing Molecular Approach for Primary Immunodeficiency Diseases." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 137 (6): 1780-87. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.12.1310>.
- Al-Mousa, Hamoud, Ghadah Al-Dakheel, Amal Jabr, Fahd Elbadaoui, Mohamed Abouelhoda, Mansoor Baig, Dorota Monies, Brian Meyer, Abbas Hawwari, and Majed Dasouki. 2018. "High Incidence of Severe Combined Immunodeficiency Disease in Saudi Arabia Detected through Combined T Cell Receptor Excision Circle and next Generation Sequencing of Newborn Dried Blood Spots." *Frontiers in Immunology* 9 (APR): 1-8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00782>.
- Al-Saud, Bandar, Hamoud Al-Mousa, Sulaiman Al Gazlan, Abdulaziz Al-Ghonaïum, Rand Arnaout, Amal Al-Seraihy, Sahar Elshorbagi, et al. 2015. "Primary Immunodeficiency

- Diseases in Saudi Arabia: A Tertiary Care Hospital Experience over a Period of Three Years (2010–2013).” *Journal of Clinical Immunology* 35 (7): 651–60. <https://doi.org/10.1007/s10875-015-0197-6>.
- Aldırmaz, Sonay, Esra Yücel, Ayça Kıyıkım, Haluk Çokuğraş, Necla Akçakaya, and Yıldız Camcioğlu. 2014. “Profile of the Patients Who Present to Immunology Outpatient Clinics Because of Frequent Infections.” *Türk Pediatri Arsivi* 49 (3): 210–16. <https://doi.org/10.5152/tpa.2014.1810>.
- Aluri, Jahnvi, Mukesh Desai, Maya Gupta, Aparna Dalvi, Antony Terance, Sergio D. Rosenzweig, Jennifer L. Stoddard, et al. 2019. “Clinical, Immunological, and Molecular Findings in 57 Patients with Severe Combined Immunodeficiency (SCID) from India.” *Frontiers in Immunology* 10 (FEB). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00023>.
- Argudo Ramírez, Ana, Andrea Martín Nalda, José Luis Marín Soria, Rosa María López Galera, José Manuel González de Aledo Castillo, Sonia Pajares García, Jacques G. Rivière, et al. 2020. “Primer Programa Europeo de Cribado Neonatal Para La Inmunodeficiencia Combinada Grave: Experiencia de Tres Años En Cataluña.” *Revista Espanola de Salud Publica* 94: 1–13.
- Bahrami, A., S. Sayyahfar, Z. Soltani, M. Khodadost, B. Moazzami, and N. Rezaei. 2020. “Evaluation of the Frequency and Diagnostic Delay of Primary Immunodeficiency Disorders among Suspected Patients Based on the 10 Warning Sign Criteria: A Cross-Sectional Study in Iran.” *Allergologia et Immunopathologia* 48 (6): 711–19. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2020.03.005>.
- Barbaro, Michela, Annika Ohlsson, Stephan Borte, Susanne Jonsson, Rolf H. Zetterström, Jovanka King, Jacek Winiarski, Ulrika von Döbeln, and Lennart Hammarström. 2017. “Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden—a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study.” *Journal of Clinical Immunology* 37 (1): 51–60. <https://doi.org/10.1007/s10875-016-0347-5>.
- Barbouche, Mohamed Ridha, Nermeen Galal, Imen Ben-Mustapha, Leïla Jeddane, Fethi Mellouli, Fatima Ailal, Mohamed Bejaoui, Jeanette Boutros, Aisha Marsafy, and Ahmed Aziz Bousfiha. 2011. “Primary Immunodeficiencies in Highly Consanguineous North African Populations.” *Annals of the New York Academy of Sciences* 1238 (1): 42–52. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06260.x>.
- Baumgart, Karl W., Warwick J. Britton, Andrew Kemp, Martyn French, and Don Robertson. 1997. “The Spectrum of Primary Immunodeficiency Disorders in Australia.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 100 (3): 415–23. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(97\)70257-4](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(97)70257-4).
- Benjasupattananan, P., T. Simasathien, P. Vichyanond, V. Leungwedchakarn, N. Visitsunthorn, P. Pacharn, and O. Jirapongsananuruk. 2009. “Clinical Characteristics and Outcomes of Primary Immunodeficiencies in Thai Children: An 18-Year Experience from a Tertiary Care Center.” *Journal of Clinical Immunology* 29 (3): 357–64. <https://doi.org/10.1007/s10875-008-9273-5>.
- Berhan, Yifru. 2011. “Age and CD4 Count of Vertically HIV-Infected Children at the Time of Diagnosis: What Are Independent Predictors for Being Symptomatic and CD4 Counts Drop?” *Journal of Tropical Pediatrics* 57 (1): 14–23. <https://doi.org/10.1093/tropej/fmq032>.
- Bertrand, Yves, Frédéric Baleyrier, Jeremy Hughes, Ashley Jefferson, E. Raynaud De Mauverger, Gabriel Fernandez, I. Lowy, et al. 2010. “Diagnosis of Immune Deficiency in Childhood.” *Revue Francophone Des Laboratoires* 2010 (424): 53–58. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(10\)70609-2](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(10)70609-2).
- Bloomfield, S. F., R. Stanwell-Smith, R. W.R. Crevel, and J. Pickup. 2006. “Too Clean, or Not Too Clean: The Hygiene Hypothesis and Home Hygiene.” *Clinical and Experimental Allergy* 36 (4): 402–25. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2006.02463.x>.
- Bousfiha, A. A., L. Jeddane, N. El Hafidi, N. Benajiba, N. Rada, J. El Bakkouri, A. Kili, et al. 2014. “First Report on the Moroccan Registry of Primary Immunodeficiencies: 15 Years of Experience (1998-2012).” *Journal of Clinical Immunology* 34 (4): 459–68. <https://doi.org/10.1007/s10875-014-0005-8>.

- Bousfiha, Ahmed Aziz, Leila Jeddane, Fatima Ailal, Ibtihal Benhsaien, Nizar Mahlaoui, Jean Laurent Casanova, and Laurent Abel. 2013. "Primary Immunodeficiency Diseases Worldwide: More Common than Generally Thought." *Journal of Clinical Immunology* 33 (1): 1–7. <https://doi.org/10.1007/s10875-012-9751-7>.
- Bousfiha, Aziz, Leila Jeddane, Waleed Al-Herz, Fatima Ailal, Jean Laurent Casanova, Talal Chatila, Mary Ellen Conley, et al. 2015. "The 2015 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies." *Journal of Clinical Immunology* 35 (8): 727–38. <https://doi.org/10.1007/s10875-015-0198-5>.
- Bunker, Patricia A.R. 2012. "Immunology IV: Clinical Applications in Health and Disease." *Transfusion* 52 (8): 1836–1836. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03781.x>.
- Buckley, R. H. 2000. "Advances in the Understanding and Treatment of Human Severe Combined Immunodeficiency." *Immunologic Research* 22 (2–3): 237–51. <https://doi.org/10.1385/IR:22:2-3:237>.
- Buckley, Rebecca H. 2004. "Molecular Defects in Human Severe Combined Immunodeficiency and Approaches to Immune Reconstitution." *Annual Review of Immunology* 22 (2): 625–55. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104614>.
- Can, Ceren, Şahin Hamilçikan, and Emrah Can. 2018. "Early Diagnosis of Severe Combined Immunodeficiency (SCID) in Turkey: A Pilot Study." *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 31 (24): 3238–42. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1368075>.
- Carneiro-Sampaio, Magda, Cristina Miuki Abe Jacob, and Cléa Rodrigues Leone. 2011. "A Proposal of Warning Signs for Primary Immunodeficiencies in the First Year of Life." *Pediatric Allergy and Immunology* 22 (3): 345–46. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2010.01084.x>.
- Castro, Santiago Rodríguez, Sara Elva, and Espinosa Padilla. 2019. "Tamizaje de Inmunodeficiencia Combinada Grave y Su Oportunidad Para Implementarse En México." *Artículo de Revisión* 28: 51–57.
- Chen, Yequn, Yanhong Zhang, Guojun Zhao, Chang Chen, Peixuan Yang, Shu Ye, and Xuerui Tan. 2016. "Difference in Leukocyte Composition between Women before and after Menopausal Age, and Distinct Sexual Dimorphism." *PLoS ONE* 11 (9): 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162953>.
- Chien, Yin Hsiu, Shu Chuan Chiang, Kai Ling Chang, Hsin Hui Yu, Wen I. Lee, Li Ping Tsai, Li Wen Hsu, Min Huei Hu, and Wuh Liang Hwu. 2015. "Incidence of Severe Combined Immunodeficiency through Newborn Screening in a Chinese Population." *Journal of the Formosan Medical Association* 114 (1): 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2012.10.020>.
- Chien, Yin Hsiu, Hsin Hui Yu, Ni Chung Lee, Hui Chen Ho, Shu Min Kao, Meng Yao Lu, Tang Her Jaing, et al. 2017. "Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in Taiwan." *International Journal of Neonatal Screening* 3 (3). <https://doi.org/10.3390/ijns3030016>.
- Cirillo, Emilia, Caterina Cancrini, Chiara Azzari, Silvana Martino, Baldassarre Martire, Andrea Pession, Alberto Tommasini, et al. 2019. "Clinical, Immunological, and Molecular Features of Typical and Atypical Severe Combined Immunodeficiency: Report of the Italian Primary Immunodeficiency Network." *Frontiers in Immunology* 10 (AUG): 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01908>.
- Comans-Bitter, W. M., R. De Groot, R. Van den Beemd, H. J. Neijens, W. C.J. Hop, K. Groeneveld, H. Hooijkaas, and J. J.M. Van Dongen. 1997. "Immunophenotyping of Blood Lymphocytes in Childhood: Reference Values for Lymphocyte Subpopulations." *Journal of Pediatrics* 130 (3): 388–93. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(97\)70200-2](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(97)70200-2).
- Combined, Severe, and Immunodeficiency Acronym. 2020. "Disorder Name : Severe Combined Immunodeficiency," 1–11.
- Cook, Matthew C., and Stuart G. Tangye. 2009. "Primary Immune Deficiencies Affecting Lymphocyte Differentiation: Lessons from the Spectrum of Resulting Infections." *International Immunology* 21 (9): 1003–11. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxp076>.
- Deeks, Steven G., Julie Overbaugh, Andrew Phillips, and Susan Buchbinder. 2015. "HIV

- Infection.” *Nature Reviews Disease Primers* 1 (October). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.35>.
- Duramad, Paurene, Ira B. Tager, and Nina T. Holland. 2007. “Cytokines and Other Immunological Biomarkers in Children’s Environmental Health Studies.” *Toxicology Letters* 172 (1–2): 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.05.017>.
- Dvorak, Christopher C., Elie Haddad, Rebecca H. Buckley, Morton J. Cowan, Brent Logan, Linda M. Griffith, Donald B. Kohn, et al. 2019. “The Genetic Landscape of Severe Combined Immunodeficiency in the United States and Canada in the Current Era (2010–2018).” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 143 (1): 405–7. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.08.027>.
- Eckschlagel, T. 1992. “Lymphocyte Count as a Prognostic Factor in Childhood Cancer.” *Pediatric Hematology and Oncology* 9 (2): 99–105. <https://doi.org/10.3109/08880019209018325>.
- El-Gamal, Yehia M., Elham M. Hossny, Zeinab A. El-Sayed, and Shereen M. Reda. 2017. “Allergy and Immunology in Africa: Challenges and Unmet Needs.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 140 (5): 1240–43. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.09.004>.
- El-Helou, Sabine M., Anika Kerstin Biegner, Sebastian Bode, Stephan R. Ehl, Maximilian Heeg, Maria E. Maccari, Henrike Ritterbusch, et al. 2019. “The German National Registry of Primary Immunodeficiencies (2012–2017).” *Frontiers in Immunology* 10 (May): 1–25. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01272>.
- El-Maataoui, O., F. Ailal, H. Naamane, I. Benhsaien, L. Jeddane, B. Farouqi, A. Benslimane, N. Jilali, M. Oudghiri, and A. Bousfiha. 2011. “Immunophenotyping of Severe Combined Immunodeficiency in Morocco.” *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée* 26 (4): 161–64. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2011.05.002>.
- El-Sayed, Zeinab A., and Nesrine Radwan. 2020. “Newborn Screening for Primary Immunodeficiencies: The Gaps, Challenges, and Outlook for Developing Countries.” *Frontiers in Immunology* 10 (January): 1–6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02987>.
- Ermann, Baran, and Funda Çipe. 2020. “Genetic Screening of the Patients with Primary Immunodeficiency by Whole-Exome Sequencing.” *Pediatric, Allergy, Immunology, and Pulmonology* 33 (1): 19–24. <https://doi.org/10.1089/ped.2019.1097>.
- Fasth, Anders. 1982. “Primary Immunodeficiency Disorders in Sweden: Cases among Children, 1974–1979.” *Journal of Clinical Immunology* 2 (2): 86–92. <https://doi.org/10.1007/BF00916891>.
- Fischer, A, S Hachein-Bey, F Le Deist, and M Cavazzana-Calvo. 2000. “Traitement Du Déficit Immunitaire Combiné Sévère Lié à l’X Par Transfert Ex Vivo Du Gène Gamma C.” *Médecine/Sciences* 16 (5): 681. <https://doi.org/10.4267/10608/1710>.
- Fischer, Alain, Luigi D. Notarangelo, Bénédicte Neven, Marina Cavazzana, and Jennifer M. Puck. 2015. “Severe Combined Immunodeficiencies and Related Disorders.” *Nature Reviews Disease Primers* 1 (October). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.61>.
- Fleisher, Thomas A., Manisha Madkaikar, and Sergio D. Rosenzweig. 2016. “Application of Flow Cytometry in the Evaluation of Primary Immunodeficiencies.” *Indian Journal of Pediatrics* 83 (5): 444–49. <https://doi.org/10.1007/s12098-015-2011-0>.
- Frédéric Batteux, Bernard Weill. 2003. *Immunopathologie et Réactions Inflammatoires*. 1re Éditio.
- Freyer, David R., L. Kate Gowans, Michael Warzynski, and Wen I. Lee. 2004. “Flow Cytometric Diagnosis of X-Linked Hyper-IgM Syndrome: Application of an Accurate and Convenient Procedure.” *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 26 (6): 363–70. <https://doi.org/10.1097/00043426-200406000-00006>.
- Galal, Nermeen, Safa Meshaal, Rabab Elhawary, Dalia Abd ElAziz, Radwa Alkady, Sohilla Lotfy, Alia Eldash, Jeanette Boutros, and Aisha Elmarsafy. 2016. “Patterns of Primary Immunodeficiency Disorders Among a Highly Consanguineous Population: Cairo University Pediatric Hospital’s 5-Year Experience.” *Journal of Clinical Immunology* 36 (7): 649–55. <https://doi.org/10.1007/s10875-016-0314-1>.

- Gennery, A. R., and A. J. Cant. 2001. "Diagnosis of Severe Combined Immunodeficiency." *Journal of Clinical Pathology* 54 (3): 191–95. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.191>.
- Geovanna Saucedo Aparicio, Alma, Dra Sara Elva Espinosa Padilla, Dra María Edith González Serrano, and QFB Edgar Alejandro Medina Torres. 2018. "Inmunodeficiencias Combinadas Graves, ¿enfermedades Raras o Subregistradas?" *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas* 27 (2): 37–43.
- glycotope Biotechnology. 2012. "Phagoburst." *Institution Phagobursy*, no. 0: 1–9.
- Gossage, D., & Buckley, R. 1990. "Prevalence of Lymphocytopenia in Severe Combined Immunodeficiency." *The New England Journal of Medicine*, no. 323(20): 1422–1423.
- Gross, F, P Nusbaum, E Yvon, and A Fischer. 2001. "Thérapie Génique Du Déficit Immunitaire Combiné Sévère Lié à l' X (DICS-X1)" 8114 (00): 57–66.
- H. ELLEUCH ZGHAL. 2004. "La Cytométrie En Flux." *Centre Régional Du Transfusion Sanguin 1* (la cytométrie en flux): 1–7.
- Hague, R. A., S. Rassam, G. Morgan, and A. J. Cant. 1994. "Early Diagnosis of Severe Combined Immunodeficiency Syndrome." *Archives of Disease in Childhood* 70 (4): 260–63. <https://doi.org/10.1136/ad.70.4.260>.
- Hayakawa, Hiroshi, Tsutomu Iwata, Junichi Yata, and Noboru Kobayashi. 1981. "Primary Immunodeficiency Syndrome in Japan. I. Overview of a Nationwide Survey on Primary Immunodeficiency Syndrome." *Journal of Clinical Immunology* 1 (1): 31–39. <https://doi.org/10.1007/BF00915474>.
- Herbinger, Karl Heinz, Ingrid Hanus, Marcus Beissner, Nicole Berens-Riha, Inge Kroidl, Frank Von Sonnenburg, Thomas Löschner, et al. 2013. "Human Severe Combined Immunodeficiency: Genetic, Phenotypic, and Functional Diversity in One Hundred Eight Infants." *Journal of Clinical Immunology* 19 (4): 564–72. <https://doi.org/10.1007/s10875-014-0001-z>.
- Hermiston, Michelle L., Zheng Xu, and Arthur Weiss. 2003. "CD45: A Critical Regulator of Signaling Thresholds in Immune Cells." *Annual Review of Immunology* 21: 107–37. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.140946>.
- Ikinciogullari, A., Cagdas, D., Dogu, F. et al. 2019. "Clinical Features and HSCT Outcome for SCID in Turkey." *J Clin Immunol* 39: 316–23.
- Ishimura, Masataka, Hidetoshi Takada, Takehiko Doi, Kousuke Imai, Yoji Sasahara, Hirokazu Kanegane, Ryuta Nishikomori, et al. 2011. "Nationwide Survey of Patients with Primary Immunodeficiency Diseases in Japan." *Journal of Clinical Immunology* 31 (6): 968–76. <https://doi.org/10.1007/s10875-011-9594-7>.
- Jiao, Yang, Zhi Feng Qiu, Jing Xie, Dong Jing Li, and Tai Sheng Li. 2009. "Reference Ranges and Age-Related Changes of Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Chinese Healthy Adults." *Science in China, Series C: Life Sciences* 52 (7): 643–50. <https://doi.org/10.1007/s11427-009-0086-4>.
- Jirapongsananuruk, Orathai, Harry L. Malech, Douglas B. Kuhns, Julie E. Niemela, Margaret R. Brown, Mindy Anderson-Cohen, and Thomas A. Fleisher. 2003. "Diagnostic Paradigm for Evaluation of Male Patients with Chronic Granulomatous Disease, Based on the Dihydrorhodamine 123 Assay." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111 (2): 374–79. <https://doi.org/10.1067/mai.2003.58>.
- Kanegane, Hirokazu, Akihiro Hoshino, Tsubasa Okano, Takahiro Yasumi, Taizo Wada, Hidetoshi Takada, Satoshi Okada, et al. 2018. "Flow Cytometry-Based Diagnosis of Primary Immunodeficiency Diseases." *Allergology International* 67 (1): 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2017.06.003>.
- Kechout, Nadia, Nabila Attal, Fetouma Doudou, Rachida Boukari, Mohamed Ardjoun, and Mohamed Cherif Abbadi. 2011. "Study of Primary Immunodeficiencies in Algeria." *BMC Proceedings* 5 (S1): P35. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-5-s1-p35>.
- Kilic, Sara S., Mustafa Ozel, Demet Hafizoglu, Neslihan Edeer Karaca, Guzide Aksu, and Necil Kutukculer. 2013. "The Prevalences and Patient Characteristics of Primary Immunodeficiency Diseases in Turkeytwo Centers Study." *Journal of Clinical Immunology* 33 (1): 74–83.

- <https://doi.org/10.1007/s10875-012-9763-3>.
- Kirkpatrick, Philippa, and Sean Riminton. 2007. "Primary Immunodeficiency Diseases in Australia and New Zealand." *Journal of Clinical Immunology* 27 (5): 517–24. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9105-z>.
- Kopecký, O., and Š Lukešová. 2007. "Genetic Defects in Common Variable Immunodeficiency." *International Journal of Immunogenetics* 34 (4): 225–29. <https://doi.org/10.1111/j.1744-313X.2007.00681.x>.
- Kumari, Anita. 2017. "Mechanics of Antigen Extraction by B Cells Mécanique de Thèse 1 ' Extraction de l ' Antigène Par Les Cellules B."
- Kwan, Antonia, Roshini S. Abraham, Robert Currier, Amy Brower, Karen Andruszewski, Jordan K. Abbott, Mei Baker, et al. 2014. "Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in 11 Screening Programs in the United States." *JAMA - Journal of the American Medical Association* 312 (7): 729–38. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.9132>.
- Kwan, Antonia, and Jennifer M. Puck. 2015. "Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency." *Current Pediatrics Reports* 3 (1): 34–42. <https://doi.org/10.1007/s40124-014-0068-2>.
- Lee, Pamela P.W., Koon Wing Chan, Tong Xin Chen, Li Ping Jiang, Xiao Chuan Wang, Hua Song Zeng, Xiang Yuan Chen, et al. 2011. "Molecular Diagnosis of Severe Combined Immunodeficiency - Identification of IL2RG, JAK3, IL7R, DCLRE1C, RAG1, and RAG2 Mutations in a Cohort of Chinese and Southeast Asian Children." *Journal of Clinical Immunology* 31 (2): 281–96. <https://doi.org/10.1007/s10875-010-9489-z>.
- Lefranc M.-P. et Lefranc G. 2002. "Différenciation Des Lymphocytes B." *IMGT Education*.
- Lisse, I. M., P. Aaby, H. Whittle, H. Jensen, M. Engelmann, and L. B. Christensen. 1997. "T-Lymphocyte Subsets in West African Children: Impact of Age, Sex, and Season." *Journal of Pediatrics* 130 (1): 77–85. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(97\)70313-5](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(97)70313-5).
- Locke, Bradley A., Trivikram Dasu, and James W. Verbsky. 2014. "Laboratory Diagnosis of Primary Immunodeficiencies." *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 46 (2): 154–68. <https://doi.org/10.1007/s12016-014-8412-4>.
- Lougaris, Vassilios, Andrea Pession, Manuela Baronio, Annarosa Soresina, Roberto Rondelli, Luisa Gazzurelli, Alessio Benvenuto, et al. 2020. "The Italian Registry for Primary Immunodeficiencies (Italian Primary Immunodeficiency Network; IPINet): Twenty Years of Experience (1999–2019)." *Journal of Clinical Immunology* 40 (7): 1026–37. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00844-0>.
- Ludviksson, Bjorn R., Sigurveig T. Sigurdardottir, Johann Heidar Johannsson, Asgeir Haraldsson, and Thorger O. Hardarson. 2015. "Epidemiology of Primary Immunodeficiency in Iceland." *Journal of Clinical Immunology* 35 (1): 75–79. <https://doi.org/10.1007/s10875-014-0107-3>.
- Luecha, O., W. Kamchaisatian, S. Vilaiyuk, W. Manuyakorn, C. Sasisakunporn, W. Teawsomboonkit, and S. Benjaponpitak. 2012. "Primary Immunodeficiency Diseases; A 20 Years Experience in a Tertiary University Hospital at Ramathibodi." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 129 (2): AB158. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.12.352>.
- Lugada, Eric S., Jonathan Mermin, Frank Kaharuza, Elling Ulvestad, Willy Were, Nina Langeland, Birgitta Asjo, Sam Malamba, and Robert Downing. 2004. "Population-Based Hematologic and Immunologic Reference Values for a Healthy Ugandan Population." *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 11 (1): 29–34. <https://doi.org/10.1128/CDLI.11.1.29-34.2004>.
- Madkaikar, Manisha Rajan, Snehal Shabrish, Manasi Kulkarni, Jahnavi Aluri, Aparna Dalvi, Madhura Kelkar, and Maya Gupta. 2019. "Application of Flow Cytometry in Primary Immunodeficiencies: Experience from India." *Frontiers in Immunology* 10 (JUN): 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01248>.
- Mahlaoui, Nizar, Capucine Picard, Perrine Bach, Laurence Costes, Virginie Courteille, Anja Ranohavimparany, Alexandre Alcaïs, et al. 2019. "Genetic Diagnosis of Primary Immunodeficiencies: A Survey of the French National Registry." *Journal of Allergy and*

- Clinical Immunology* 143 (4): 1646-1649.e10. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.12.994>.
- Male, D., Brostoff, J., Roth, D. & Roitt, I. 2007. *Immunology*. Elsevier Books, Oxford. 7th ed.
- Marciano, Beatriz E., Chiung Yu Huang, Gyan Joshi, Nima Rezaei, Beatriz Costa Carvalho, Zoe Allwood, Aydan Ikinciogullari, et al. 2014. "BCG Vaccination in Patients with Severe Combined Immunodeficiency: Complications, Risks, and Vaccination Policies." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 133 (4): 1134-41. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.02.028>.
- Massaad, Michel J., Mohammad Zainal, and Waleed Al-Herz. 2020. "Frequency and Manifestations of Autoimmunity Among Children Registered in the Kuwait National Primary Immunodeficiency Registry." *Frontiers in Immunology* 11 (June): 1-8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01119>.
- Matamoros Florí, N., J. Mila Llambi, T. Español Boren, S. Raga Borja, and G. Fontan Casariego. 1997. "Primary Immunodeficiency Syndrome in Spain: First Report of the National Registry in Children and Adults." *Journal of Clinical Immunology* 17 (4): 333-39. <https://doi.org/10.1023/A:1027382916924>.
- Mazzucchelli, J. T. L., Bonfim, C., Castro, G. G., Condino-Neto, A. A., Costa, N. M. X., Cunha, L., ... & Costa-Carvalho, B. T. 2014. "Severe Combined Immunodeficiency in Brazil: Management, Prognosis, and BCG-Associated Complications." *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*.
- McCoy, J. Philip, and W. Roy Overton. 1994. "Quality Control in Flow Cytometry for Diagnostic Pathology: II. A Conspectus of Reference Ranges for Lymphocyte Immunophenotyping." *Cytometry* 18 (3): 129-39. <https://doi.org/10.1002/cyto.990180304>.
- McCusker, Christine, Julia Upton, and Richard Warrington. 2018. "Primary Immunodeficiency." *Allergy, Asthma and Clinical Immunology* 14 (s2): 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0290-5>.
- McGrath, C R, D C Hitchcock, and O W VanAssendelft. 1982. "Total White Blood Cell Counts for Adults Ages 25-74 Years: United States, 1971-75." *Vital Health Statistics* 11 (January 1982): 1-36.
- Mellouli, Fethi, Imen Ben Mustapha, Monia Ben Khaled, Habib Besbes, Monia Ouederni, Najla Mekki, Meriem Ben Ali, et al. 2015. "Report of the Tunisian Registry of Primary Immunodeficiencies: 25-Years of Experience (1988-2012)." *Journal of Clinical Immunology* 35 (8): 745-53. <https://doi.org/10.1007/s10875-015-0206-9>.
- Michos, Athanasios, Marianna Tzanoudaki, Anna Villa, Silvia Giliani, George Chrousos, and Maria Kanariou. 2011. "Severe Combined Immunodeficiency in Greek Children over a 20-Year Period: Rarity of γ c-Chain Deficiency (X-Linked) Type." *Journal of Clinical Immunology* 31 (5): 778-83. <https://doi.org/10.1007/s10875-011-9564-0>.
- Modell, Vicki, Jordan S. Orange, Jessica Quinn, and Fred Modell. 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." *Immunologic Research* 66 (3): 367-80. <https://doi.org/10.1007/s12026-018-8996-5>.
- Moodley, S., E. Goddard, M. Levin, C. Scott, A. Van Eyssen, A. Davidson, R. De Decker, J. M. Wilmschurst, A. Spitaels, and B. Eley. 2020. "A Retrospective Description of Primary Immuno-Deficiency Diseases at Red Cross War Memorial Children's Hospital, Cape Town, South Africa, 1975 - 2017." *South African Medical Journal = Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Geneeskunde* 110 (3): 197-203. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.2020.v110i3.14200>.
- Moraes-Pinto, Maria Isabel de, Erika Ono, Elisângela C. Santos-Valente, Liziane C. Almeida, Paula Rosemberg de Andrade, Maria Isabel Saraiva Dinelli, Amélia M. Nunes Dos Santos, and Reinaldo Salomão. 2014. "Lymphocyte Subsets in Human Immunodeficiency Virus-Unexposed Brazilian Individuals from Birth to Adulthood." *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 109 (8): 989-98. <https://doi.org/10.1590/0074-0276140182>.
- Morinishi, Yoichi, Kohsuke Imai, Noriko Nakagawa, Hiroki Sato, Katsuyuki Horiuchi, Yoshitoshi Ohtsuka, Yumi Kaneda, et al. 2009. "Identification of Severe Combined

- Immunodeficiency by T-Cell Receptor Excision Circles Quantification Using Neonatal Guthrie Cards.” *Journal of Pediatrics* 155 (6): 829–33. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.05.026>.
- Msd, L E Manuel, and Par James Fernandez. 2021. “Déficit Immunitaire Combiné Sévère SCID (Severe Combined ImmunoDeficiency),” 1–3.
- Muller, Christian D. 2020. *LA CYTOMÉTRIE*. 2 Edition.
- Naidoo, Reen , Lisa Ungerer, Margaret Cooper, Sandra Pienaar, and Brian S. Eley. 2011. “Primary Immunodeficiencies: A 27-Year Review at a Tertiary Paediatric Hospital in Cape Town, South Africa.” *Journal of Clinical Immunology* 31 (1): 99–105. <https://doi.org/10.1007/s10875-010-9465-7>.
- Nakajima, Masaru, Masafumi Yamada, Koji Yamaguchi, Yukio Sakiyama, Atsushi Oda, David L. Nelson, Yasutaka Yawaka, and Tadashi Ariga. 2009. “Possible Application of Flow Cytometry for Evaluation of the Structure and Functional Status of WASP in Peripheral Blood Mononuclear Cells.” *European Journal of Haematology* 82 (3): 223–30. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2008.01180.x>.
- Nephstar Catalog. 2007. “Nephelometrie Immunoglobulin A (IgA) Kit.” *Nephstar*, 9–10.
- Neven, Bénédicte, Sandrine Leroy, Hélène Decaluwe, Francoise Le Deist, Capucine Picard, Despina Moshous, Nizar Mahlaoui, et al. 2009. “Long-Term Outcome after Hematopoietic Stem Cell Transplantation of a Single-Center Cohort of 90 Patients with Severe Combined Immunodeficiency.” *Blood* 113 (17): 4114–24. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-09-177923>.
- Norouzi, Sayna, Asghar Aghamohammadi, Setareh Mamishi, Sergio D. Rosenzweig, and Nima Rezaei. 2012. “Bacillus Calmette-Guérin (BCG) Complications Associated with Primary Immunodeficiency Diseases.” *Journal of Infection* 64 (6): 543–54. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2012.03.012>.
- Notarangelo, Luigi D. 2010. “Primary Immunodeficiencies.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125 (2 SUPPL. 2): S182–94. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.07.053>.
- O’Gorman, Maurice R.G., Joshua Zollett, and Nicolas Bensen. 2011. “Flow Cytometry Assays in Primary Immunodeficiency Diseases.” *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 699 (2): 317–35. https://doi.org/10.1007/978-1-61737-950-5_15.
-  zkan, Hasan, Nur Olgun, Ergun  a maz, Hakan Abacio lu, Melahat Okuyan, and Necla  evik. 1993. “Nutrition, Immunity and Infections: T Lymphocyte Subpopulations in Protein - Energy Malnutrition.” *Journal of Tropical Pediatrics* 39 (4): 257–60. <https://doi.org/10.1093/tropej/39.4.257>.
- Pac, Ma gorzata, and Ewa Bernatowska. 2016. “Comprehensive Activities to Increase Recognition of Primary Immunodeficiency and Access to Immunoglobulin Replacement Therapy in Poland.” *European Journal of Pediatrics* 175 (8): 1099–1105. <https://doi.org/10.1007/s00431-016-2746-2>.
- Pour, These, Docteur De, Universite Paris, X I Champ, Renand Le, Olivier Hermine, Jury Jean, et al. 2011. “FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD La Neuropiline 1 et Le Récepteur Alpha   l ’ IL-2 (CD25) : Expression et Implication Dans l ’ Homéostasie Des Lymphocytes T Chez l ’ Homme Dans Un Contexte Normal Ou Pathologique .,” no. June 2011.
- Ravin, S. S. De, X. Wu, S. Moir, S. Anaya-O’Brien, N. Kwatema, P. Littell, N. Theobald, et al. 2016. “Erratum: Lentiviral Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy for X-Linked Severe Combined Immunodeficiency (Science Translational Medicine (2016) 8:341 (341er5)).” *Science Translational Medicine* 8 (341): 1–12. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aag1383>.
- Reda, Shereen M., Hanaa M. Afifi, and Mai M. Amine. 2009. “Primary Immunodeficiency Diseases in Egyptian Children: A Single-Center Study.” *Journal of Clinical Immunology* 29 (3): 343–51. <https://doi.org/10.1007/s10875-008-9260-x>.
- Reust, Carin E. 2013. “Disease in Children.”
- Rezaei, Nima, Asghar Aghamohammadi, Mostafa Moin, Zahra Pourpak, Masoud Movahedi, Mohammad Gharagozlou, Lida Atarod, et al. 2006. “Frequency and Clinical Manifestations of Patients with Primary Immunodeficiency Disorders in Iran: Update from the Iranian Primary

- Immunodeficiency Registry.” *Journal of Clinical Immunology* 26 (6): 519–32. <https://doi.org/10.1007/s10875-006-9047-x>.
- Rhim, Jung Woo, Kyung Hyo Kim, Dong Soo Kim, Bong Seong Kim, Jung Soo Kim, Chang Hwi Kim, Hwang Min Kim, et al. 2012. “Prevalence of Primary Immunodeficiency in Korea.” *Journal of Korean Medical Science* 27 (7): 788–93. <https://doi.org/10.3346/jkms.2012.27.7.788>.
- Rivers, Lizzy, and H Bobby Gaspar. 2015. “Severe Combined Immunodeficiency: Recent Developments and Guidance on Clinical Management,” 1–6. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2014-306425>.
- Roifman, Chaim M., Raz Somech, Fotini Kavadas, Linda Pires, Amit Nahum, Ilan Dalal, and Eyal Grunebaum. 2012. “Defining Combined Immunodeficiency.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 130 (1): 177–83. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.04.029>.
- Rouet, François, André Inwoley, Didier K. Ekouevi, Ida Viho, Renaud Becquet, Charlotte Sakarovich, Laurence Bequet, et al. 2006. “CD4 Percentages and Total Lymphocyte Counts as Early Surrogate Markers for Pediatric HIV-1 Infection in Resource-Limited Settings.” *Journal of Tropical Pediatrics* 52 (5): 346–54. <https://doi.org/10.1093/tropej/fml024>.
- Rozmus, Jacob, Anne Junker, Melanie Laffin Thibodeau, Danielle Grenier, Stuart E. Turvey, Wadieh Yacoub, Joanne Embree, et al. 2013. “Severe Combined Immunodeficiency (SCID) in Canadian Children: A National Surveillance Study.” *Journal of Clinical Immunology* 33 (8): 1310–16. <https://doi.org/10.1007/s10875-013-9952-8>.
- Sagnia, Bertrand, Francis Ateba Ndongo, Suzie Ndiang Moyo Tetang, Judith Ndongo Torimiro, Cristiana Cairo, Irenée Domkam, Geraldine Agbor, et al. 2011. “Reference Values of Lymphocyte Subsets in Healthy, HIV-Negative Children in Cameroon.” *Clinical and Vaccine Immunology* 18 (5): 790–95. <https://doi.org/10.1128/CVI.00483-10>.
- Sahmoudi, Karima, Aicha El Allam, Sara El Fakih, Hicham Tahoune, Abderrahim Sadak, Naima El Hafidi, Jamaledine Bourkadi, Rajae El Aouad, and Fouad Seghrouchni. 2020. “Moroccan Lymphocyte Subsets Reference Ranges: Age, Gender, Ethnicity, and Socio-Economic Factors Dependent Differences.” *Journal of Immunoassay and Immunochemistry* 41 (3): 281–96. <https://doi.org/10.1080/15321819.2020.1728543>.
- Saleem, Ali Faisal, Ranish Deedar Ali Khawaja, Abdul Sattar Shaikh, Syed Asad Ali, and Anita Kaniz Mehdi Zaidi. 2013. “Severe Combined Immune Deficiency Syndrome.” *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan* 23 (8): 570–73.
- Sanal, Ozden, and Ilhan Tezcan. 2011. “Thirty Years of Primary Immunodeficiencies in Turkey.” *Annals of the New York Academy of Sciences* 1238 (1): 15–23. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06242.x>.
- Sanchez, Juan J., Gemma Monaghan, Claus Børsting, Gail Norbury, Niels Morling, and H. Bobby Gaspar. 2007. “Carrier Frequency of a Nonsense Mutation in the Adenosine Deaminase (ADA) Gene Implies a High Incidence of ADA-Deficient Severe Combined Immunodeficiency (SCID) in Somalia and a Single, Common Haplotype Indicates Common Ancestry.” *Annals of Human Genetics* 71 (3): 336–47. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2006.00338.x>.
- Sauer, Aisha Vanessa, Immacolata Brigida, Nicola Carriglio, and Alessandro Aiuti. 2012. “Autoimmune Dysregulation and Purine Metabolism in Adenosine Deaminase Deficiency” 3 (August): 1–20. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00265>.
- Sawyer, D.W., Donowitz, G.R. & G.L. Mandell. 1989. “Polymorphonuclear Neutrophils: An Effective Antimicrobial Force.” *Rev. Infect.*
- Schatorjé, E. J.H., E. F.A. Gemen, G. J.A. Driessen, J. Leuvenink, R. W.N.M. van Hout, and E. de Vries. 2012. “Paediatric Reference Values for the Peripheral T Cell Compartment.” *Scandinavian Journal of Immunology* 75 (4): 436–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2012.02671.x>.
- Sediva, A., M. Bataneant, M. Belevtsev, A. Blaziene, P. Ciznar, E. Förster-Waldl, J. Kelecic, et al. 2019. “Primary Immunodeficiencies in Central and Eastern Europe—the Power of Networking Report on the Activity of the Jeffrey Modell Foundation Centers Network in

- Central and Eastern Europe.” *Immunologic Research* 67 (4–5): 358–67. <https://doi.org/10.1007/s12026-019-09093-9>.
- Shai, Sonu, Ruy Perez-Becker, Oliver Andres, Shahrzad Bakhtiar, Ulrich Bauman, Horst von Bernuth, Carl Friedrich Classen, et al. 2020. “Incidence of SCID in Germany from 2014 to 2015 an ESPED* Survey on Behalf of the API*** Erhebungseinheit Für Seltene Pädiatrische Erkrankungen in Deutschland (German Paediatric Surveillance Unit) ** Arbeitsgemeinschaft Pädiatrische Immunologie.” *Journal of Clinical Immunology* 40 (5): 708–17. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00782-x>.
- Shearer, William T., Elizabeth Dunn, Luigi D. Notarangelo, Christopher C. Dvorak, Jennifer M. Puck, Brent R. Logan, Linda M. Griffith, et al. 2014. “Establishing Diagnostic Criteria for Severe Combined Immunodeficiency Disease (SCID), Leaky SCID, and Omenn Syndrome: The Primary Immune Deficiency Treatment Consortium Experience.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 133 (4): 1092–98. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.09.044>.
- Shearer, William T., Howard M. Rosenblatt, Rebecca S. Gelman, Rebecca Oyomopito, Susan Plaeger, E.Richard Stiehm, Diane W. Wara, et al. 2003. “Lymphocyte Subsets in Healthy Children from Birth through 18 Years of Age.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 112 (5): 973–80. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.07.003>.
- Shillitoe, B., C. Bangs, D. Guzman, A. R. Gennery, H. J. Longhurst, M. Slatter, D. M. Edgar, et al. 2018. “The United Kingdom Primary Immune Deficiency (UKPID) Registry 2012 to 2017.” *Clinical and Experimental Immunology* 192 (3): 284–91. <https://doi.org/10.1111/cei.13125>.
- Smith, Lindsay K., and John A. Cidlowski. 2010. *Glucocorticoid-Induced Apoptosis of Healthy and Malignant Lymphocytes. Progress in Brain Research*. Vol. 182. Elsevier B.V. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(10\)82001-1](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(10)82001-1).
- Son, Sohee, Ji Man Kang, Younsoo Hahn, Kangmo Ahn, and Yae Jean Kim. 2021. “Systematic Review of Literature and Analysis of Big Data from the National Health Insurance System on Primary Immunodeficiencies in Korea.” *Clinical and Experimental Pediatrics* 64 (4): 141–48. <https://doi.org/10.3345/cep.2019.01347>.
- Spek, Jet van der, Rolf H.H. Groenwold, Mirjam van der Burg, and Joris M. van Montfrans. 2015. “TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review.” *Journal of Clinical Immunology* 35 (4): 416–30. <https://doi.org/10.1007/s10875-015-0152-6>.
- Stephan, J. L., V. Vlekova, F. Le Deist, S. Blanche, J. Donadieu, G. De Saint-Basile, A. Durandy, C. Griscelli, and A. Fischer. 1993. “Severe Combined Immunodeficiency: A Retrospective Single-Center Study of Clinical Presentation and Outcome in 117 Patients.” *The Journal of Pediatrics* 123 (4): 564–72. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(05\)80951-5](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(05)80951-5).
- Strand, Janne, Kiran Aftab Gul, Hans Christian Erichsen, Emma Lundman, Mona C. Berge, Anette K. Trømborg, Linda K. Sørgerd, et al. 2020. “Second-Tier Next Generation Sequencing Integrated in Nationwide Newborn Screening Provides Rapid Molecular Diagnostics of Severe Combined Immunodeficiency.” *Frontiers in Immunology* 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01417>.
- Suarez, Felipe. 2010. “Déficit Immunitaire.” *Revue Du Praticien* 60 (4): 551–58.
- Sukaiti, Nashat Al, Khwateer Ahmed, Jalila Alshekaili, Mahmood Al Kindi, Matthew C. Cook, and Tariq Al Farsi. 2021. “A Decade Experience on Severe Combined Immunodeficiency Phenotype in Oman, Bridging to Newborn Screening.” *Frontiers in Immunology* 11 (January). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.623199>.
- Suliaman, Fawzi, Abdulaziz Al-Ghonaum, and Harb Harfi. 2006. “High Incidence of Severe Combined Immune Deficiency in the Eastern Province of Saudi Arabia.” *Pediatric Asthma, Allergy and Immunology* 19 (1): 14–18. <https://doi.org/10.1089/pai.2006.19.14>.
- Tasher, Diana, and Ilan Dalal. 2012. “The Genetic Basis of Severe Combined Immunodeficiency and Its Variants.” *Application of Clinical Genetics* 5: 67–80. <https://doi.org/10.2147/tacg.s18693>.
- Thalhammer, JulianBoztug, Kaan et al. 2021. “Initial Presenting Manifestations in 16,486

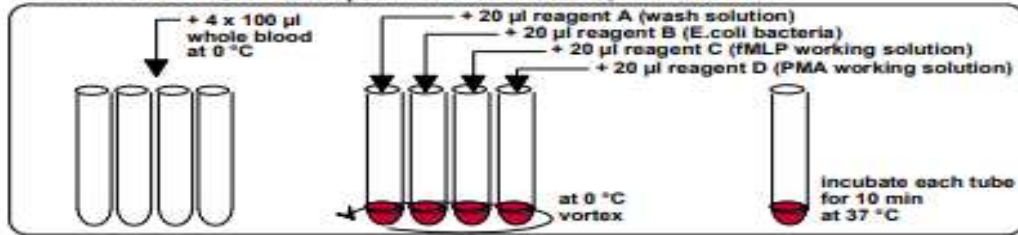
- Patients with Inborn Errors of Immunity Include Infections and Noninfectious Manifestations.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 0 (0).
- Thomas, C., and M. Audrain. 2019. “Exploration Des Déficits Immunitaires Primitifs.” *Journal de Pédiatrie et de Puericulture* 32 (3): 117–27. <https://doi.org/10.1016/j.jpp.2019.03.001>.
- Thomas, Caroline, Isabelle Durand-Zaleski, Jérôme Frenkiel, Sophie Mirallié, Alexandra Léger, David Cheillan, Capucine Picard, et al. 2019. “Clinical and Economic Aspects of Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency: DEPISTREC Study Results.” *Clinical Immunology* 202 (April): 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2019.03.012>.
- Tosato, F., G. Buccioli, G. Pantano, M. C. Putti, M. C. Sanzari, G. Basso, and M. Plebani. 2015. “Lymphocytes Subsets Reference Values in Childhood.” *Cytometry Part A* 87 (1): 81–85. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22520>.
- Ulijaszek, Stanley J. 1998. “Immunology and Growth Faltering of Anga Children, Papua New Guinea: Preliminary Work.” *American Journal of Physical Anthropology* 106 (4): 515–20. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-8644\(199808\)106:4<515::aid-ajpa6>3.3.co;2-w](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-8644(199808)106:4<515::aid-ajpa6>3.3.co;2-w).
- Vignesh, Pandiarajan, Amit Rawat, Rajni Kumrah, Ankita Singh, Anjani Gummadi, Madhubala Sharma, Anit Kaur, et al. 2021. “Clinical, Immunological, and Molecular Features of Severe Combined Immune Deficiency: A Multi-Institutional Experience From India.” *Frontiers in Immunology* 11 (February): 1–41. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.619146>.
- W.Q. Meeker, G.J. Hahn, and L.A. Escobar, , Wiley, Hoboken, New Jersey. 2017. “Statistical Intervals : A Guide for Practitioners and Researchers.”
- W J Leonard. 1996. “Dysfunctional Cytokine Receptor Signaling in Severe Combined Immunodeficiency.” *J Investig Med* 44 (6): 304–11.
- Wai Luk, Anderson Dik, Pamela P. Lee, Huawei Mao, Koon Wing Chan, Xiang Yuan Chen, Tong Xin Chen, Jian Xin He, et al. 2017. “Family History of Early Infant Death Correlates with Earlier Age at Diagnosis but Not Shorter Time to Diagnosis for Severe Combined Immunodeficiency.” *Frontiers in Immunology* 8 (JUL). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00808>.
- Wang, Lin Lin, Ying Ying Jin, Yi Qun Hao, Juan Juan Wang, Chun Mei Yao, Xi Wang, Rui Ming Cao, Hui Zhang, Yi Chen, and Tong Xin Chen. 2011. “Distribution and Clinical Features of Primary Immunodeficiency Diseases in Chinese Children (2004-2009).” *Journal of Clinical Immunology* 31 (3): 297–308. <https://doi.org/10.1007/s10875-010-9493-3>.
- Wentink, Marjolein W.J., Annechien J.A. Lambeck, Menno C. van Zelm, Erik Simons, Jacques J.M. van Dongen, Hanna Ijspeert, Elisabeth H. Schölvinck, and Mirjam van der Burg. 2015. “CD21 and CD19 Deficiency: Two Defects in the Same Complex Leading to Different Disease Modalities.” *Clinical Immunology* 161 (2): 120–27. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.08.010>.
- Wiener, Doris, David T. Rowlands, Nancy Lowell, Shirish Shah, John Malone, and Saul Lowitt. 1990. “Multiparametric Analysis of Peripheral Blood in the Normal Pediatric Population by Flow Cytometry.” *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 4 (3): 175–79. <https://doi.org/10.1002/jcla.1860040305>.
- Winkelstein, Jerry A., Mary C. Marino, Howard M. Lederman, Stacie M. Jones, Kathleen Sullivan, A. Wesley Burks, Mary Ellen Conley, Charlotte Cunningham-Rundles, and Hans D. Ochs. 2006. “X-Linked Agammaglobulinemia: Report on a United States Registry of 201 Patients.” *Medicine* 85 (4): 193–202. <https://doi.org/10.1097/01.md.0000229482.27398.ad>.
- Wondimeneh, Yitayih, Getachew Ferede, Gizachew Yismaw, and Dagnachew Muluye. 2012. “Total Lymphocyte Count as Surrogate Marker for CD4 Cell Count in HIV-Infected Individuals in Gondar University Hospital, Northwest Ethiopia.” *AIDS Research and Therapy* 9: 2–5. <https://doi.org/10.1186/1742-6405-9-21>.
- Wong, W. S., A. W.I. Lo, L. P. Siu, J. N.S. Leung, S. P. Tu, S. W. Tai, S. C. Lam, and K. F. Wong. 2013. “Reference Ranges for Lymphocyte Subsets among Healthy Hong Kong Chinese Adults by Single-Platform Flow Cytometry.” *Clinical and Vaccine Immunology* 20 (4): 602–6. <https://doi.org/10.1128/CVI.00476-12>.
- Xia, Yu, Tingyan He, Yin Luo, Chengrong Li, Che Kang Lim, Hassan Abolhassani, Jun Yang,

- and Lennart Hammarström. 2018. *Targeted Next-Generation Sequencing for Genetic Diagnosis of 160 Patients with Primary Immunodeficiency in South China. Pediatric Allergy and Immunology*. Vol. 29. <https://doi.org/10.1111/pai.12976>.
- Yao, Chun Mei, Xiao Hua Han, Yi Dan Zhang, Hui Zhang, Ying Ying Jin, Rui Ming Cao, Xi Wang, Quan Hua Liu, Wei Zhao, and Tong Xin Chen. 2013. "Clinical Characteristics and Genetic Profiles of 44 Patients with Severe Combined Immunodeficiency (SCID): Report from Shanghai, China (2004-2011)." *Journal of Clinical Immunology* 33 (3): 526–39. <https://doi.org/10.1007/s10875-012-9854-1>.
- Yee, Anthony, Suk See De Ravin, Elizabeth Elliott, and John B. Ziegler. 2008. "Severe Combined Immunodeficiency: A National Surveillance Study." *Pediatric Allergy and Immunology* 19 (4): 298–302. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2007.00646.x>.
- Yeganeh, Mehdi, Marzieh Heidarzade, Zahra Pourpak, Nima Parvaneh, Nima Rezaei, Mohammad Gharagozlou, Masoud Movahedi, et al. 2008. "Severe Combined Immunodeficiency: A Cohort of 40 Patients." *Pediatric Allergy and Immunology* 19 (4): 303–6. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2007.00647.x>.
- Zafrani, L., and G. Monneret. 2017. "Comprendre La Cytométrie En Flux." *Reanimation* 26 (6): 517–22. <https://doi.org/10.1007/s13546-017-1317-5>.
- Zelazko, Marta, Magda Carneiro-Sampaio, Monica Cornejo De Luigi, Diana Garcia De Olarte, Oscar Porras Madrigal, Renato Berrón Perez, Agueda Cabello, Marylin Valentin Rostan, and Ricardo U. Sorensen. 1998. "Primary Immunodeficiency Diseases in Latin America: First Report from Eight Countries Participating in the LAGID." *Journal of Clinical Immunology* 18 (2): 161–66. <https://doi.org/10.1023/A:1023255102170>.
- Zinzani, P. L., Broccoli, A., Kaushansky, K., Lichtman, M., Kipps, T., Prchal, J., ... & Burns, L. 2016. "Marginal Zone B-Cell Lymphomas." *Williams Hematology*. New York: McGraw-Hill, 1663-1669.

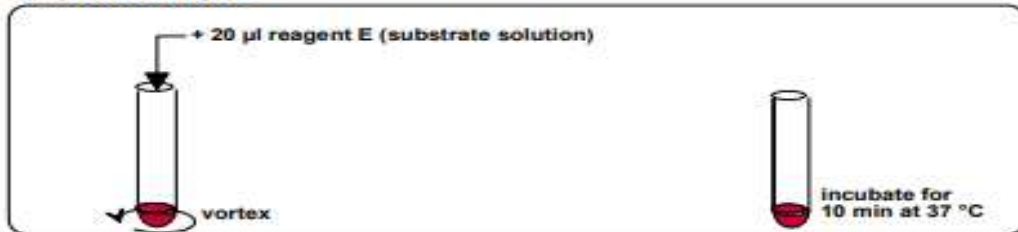
ANNEXES

Annexe 1

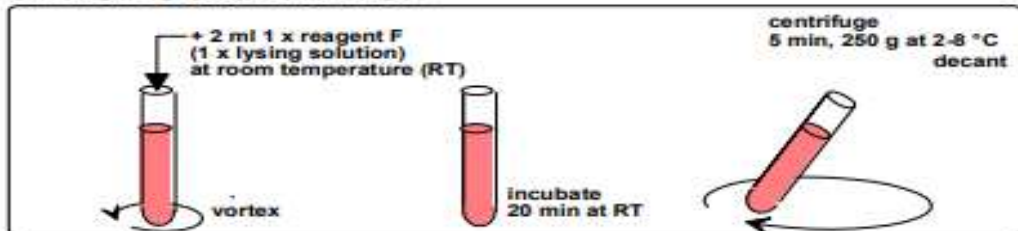
1. ACTIVATION with opsonized E.coli bacteria, PMA and fMLP



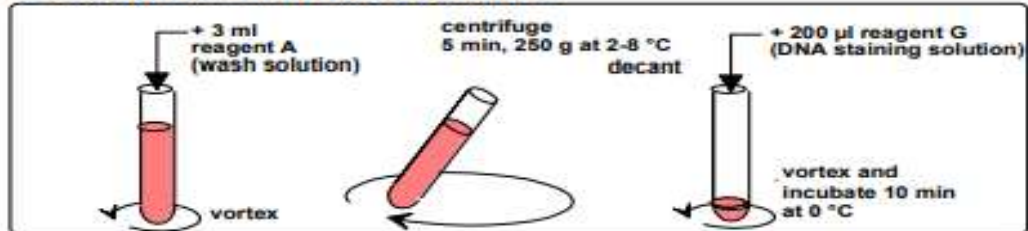
2. OXIDATION



3. LYSING and FIXATION



4. WASHING and DNA STAINING



5. SAMPLES READY FOR FACS ANALYSIS

store at 0 °C, protected from light!

Measure within 30 min!

Formulaire des renseignements pour les demandes d'explorations des déficits immunitaires primitifs

	Observations cliniques
☐ Consanguinité des parents	Degré :
☐ ATCD familiaux de DIP	Lien de parenté :
☐ Pathologie associées au DIP	☐ Lymphome
	☐ Cytopathies auto-immunes
	Autres :

- ☐ Syndrome d'Ataxie-telangiectasie
- ☐ Infections bactériennes fréquentes avec albinisme partiel oculo-cutané
- ☒ Eczéma avec ichtyose
- ☐ Oedèmes récidivants des extrémités, du tronc et de la face

Analyses biologiques préliminaires.

- ☐ NFS (récente) :
- | | | |
|------------------|-----|-----------------|
| GB | | mm ³ |
| Lymphocytes : | % = | mm ³ |
| Monocytes : | % = | mm ³ |
| Polynucléaires : | % = | mm ³ |

- ☐ Examen Bactériologique ☐ Négatif
- ☐ Positif : Germe :

- ☐ Sérologie HIV ☐ Positif
- ☐ Négatif

- ☐ Dosage pondéral des Ig :

Conditions des prélèvements

Examen demandé	Prélèvement	Flacon	Acheminement
Typage des sous-populations Lymphocytaire	5 mL de Sang total	Tube EDTA (bouchon violet)	Dans la journée du prélèvement
Exploration fonctionnelle	5 mL de Sang total	Tube héparine (bouchon vert)	Dans les 2h après le prélèvement

Renseignement :
 Dr. Fouad Seghrouchni
 Responsable de l'unité d'Immunologie Cellulaire
 Mail : fsegrouchni@yahoo.fr
 Tel : 06 64 78 51 30

PUBLICATIONS

Age-stratified pediatric reference values of lymphocytes in the Moroccan population

Aicha El Allam^{a,b}, Sara El Fakih^{a,c}, Hicham Tahoune^d, Karima Sahmoudi^{a,e}, Houria Bousserhane^{a,c},

Youssef Bakri^{b,f}, Naima El Hafidi^g and Fouad Seghrouchni^{a,g,*}

^aLaboratory of Cellular Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

^bLaboratory of Biology and Human Pathology, Faculty of Sciences, University Mohammed V, Rabat,

Morocco ^cMed Biotech Laboratory, Faculty of Medicine and Pharmacy, University Mohammed V,

Rabat, Morocco ^dDepartment of Biology, Faculty of Sciences, University Ibn Tofail, Kenitra, Morocco

^eDepartment of Biology, Faculty of Sciences, University Mohammed V, Rabat, Morocco

^fCentre of Human Pathology Genomic, Faculty of Medicine and Pharmacy, University Mohammed V, Rabat, Morocco

^gImmunology, Allergic and Respiratory Diseases Unit, Children's Hospital of Rabat, Ibn Sina University Hospital Centre, Rabat, Morocco

Abstract. The number of circulating lymphocytes is altered in a number of diseases including either increase (lymphocytosis) or decrease (lymphocytopenia). Therefore, the assessment of total blood lymphocyte numbers and the relative distribution of lymphocyte subsets is a critical front-line tool in the clinical diagnosis of a number of diseases, including pediatric diseases and disorders. However, the interpretation of this data requires comparison of patient's results to reliable reference values. Blood lymphocyte subpopulation numbers are also subject to genetic polymorphisms, immunogenic and environmental factors and vary greatly between populations. While the best practice reference values should be established within local representative populations of healthy subjects, to date, Caucasian reference values are used in Morocco due to the absence of indigenous reference values. Potential differences in blood lymphocyte subpopulation reference values between Caucasian versus Moroccan populations can adversely affect the diagnosis of pediatric and childhood diseases and disorders such as primary immunodeficiency (PID) in Morocco.

OBJECTIVE: The aim of this study was to establish the age-stratified normal reference values of blood lymphocyte subsets for the pediatric Moroccan population.

METHODS: We measured the concentration of lymphocyte subpopulations by flow cytometry from 83 Moroccan healthy subjects stratified into 5 age groups of 0–1, 1–2, 2–6, 6–12 and > 12–18 (adult).

RESULTS: The absolute and relative amounts of the main lymphocyte subsets of T-cells, B cells and Natural Killer (NK) cells were measured and compared to previously described reference values from Cameroonian, Turkish, American and Dutch populations. Additionally, we also observed an age-related decline in the absolute population sizes of lymphocyte subsets within our study group. Relative proportions of CD3⁺CD4⁺ helper T lymphocytes decreased with increasing age and by 12 years-adult age, both proportions of CD3⁺CD4⁺ helper T lymphocytes and CD3⁺CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes, as well as CD3⁺CD19⁺ B lymphocytes were also decreased. Finally, we compared the median values and range of our Moroccan study group with that of

published results from Cameroon, Turkey, USA and Netherlands and observed significant differences in median and mean values of absolute number and relative proportions of lymphocyte subsets especially at 0–1 years and 1–2 years age groups. Above age 12 years, the Moroccan values were lower. For NK cells, the Moroccan values are also lower.

CONCLUSIONS: The results of this study have a significant impact in improving the threshold values of the references intervals routinely used in the diagnosis of paediatric diseases such as PIDs or mother-to-child transmitted HIV within the Moroccan population.

Keywords: Primary immunodeficiency diseases, diagnosis, blood leucocytes, reference values, pediatric population

*Corresponding author: Fouad Seghrouchni, Laboratory of Cellular Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco.

E-mail:

fseghrouchni@yahoo.fr. ISSN 1093-2607/\$35.00 © 2021 – IOS Press. All rights reserved.

1. Introduction

Lymphocytes are a subset of white blood cells that constitute an integral part of the humoral and cellular immune defence against foreign proteins and pathogens. The number of circulating lymphocytes can either increase (lymphocytosis) during certain infections such as mononucleosis or in lymphoproliferative disorders such as acute or chronic lymphocytic leukemia, or decrease (lymphocytopenia) during viral infections such as human immunodeficiency virus (HIV) or in inherited diseases such as primary immunodeficiencies (PID) [11,13,17]. On one hand, many childhood and pediatric diseases and disorders can reduce lymphocyte counts and/or subsets. Examples include, PID, as well as mother-to-child transmitted HIV [21,28]. Pediatric cancers, on the other hand, can abnormally raise lymphocyte counts [8].

Flow cytometric determination of the total number of lymphocytes and/or lymphocyte subsets plays a particularly important role in the initial assessment and diagnosis of many clinical diseases and disorders, including autoimmunity, immunodeficiencies, infections, and malignancy [17,40]. The interpretation of routine immunophenotyping performed with flow cytometry is highly dependent on the comparison between measured laboratory values of the sample being tested and normal values obtained from healthy individuals [17,19]. The total number of white blood cells, including lymphocytes as well as the distribution of its subsets are highly variable in the population. The first National Health and Nutrition Examination Survey in the USA demonstrated that total leucocytes were different according to the age [22]. Other studies have also demonstrated the effect of age on peripheral blood lymphocytes [10]. Another study examined the total leukocyte counts between men and women all ages from 25 to 71 (at 5 year intervals) and concluded that this number was significantly different between men and women at all ages examined [3]. Similar differences were observed in monocytes, and eosinophils [3]. However, the neutrophil percentage dropped for women above 50, while lymphocyte numbers increased indicating the effect of female hormones on leucocyte counts [3]. Therefore, reference values should be age-stratified.

Other well-known regulators of the immune response include environmental exposure, including prenatal exposure [7], nutrition level [27,36] and also microbial exposure or the “hygiene hypothesis” [2,16,34]. Because total lymphocyte numbers, as well as its subsets, can differ between countries due to local variations in these

above-mentioned conditions, multiple studies have investigated ethnic populations to establish the reference laboratory values [14,18,24,29,33,35]. Use of domestic reference values is therefore expected to improve the accuracy of flow cytometry-based diagnosis. In a previous study, our group established the lymphocyte reference values for the adult Moroccan population [30]. The aim of this study was to establish the age-stratified normal reference values of blood lymphocyte subsets for the pediatric Moroccan population. Yet, a similar study has not been heretofore performed on this population.

2. Methods

2.1. Subjects and samples

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) preserved whole blood was obtained from healthy children at the Immunology, Allergic and Respiratory Diseases Unit, Children’s Hospital of Rabat in the period between October 2005 and March 2008. Samples were sent to Laboratory of Cellular Immunology in the National Institute of Hygiene for immunological analysis. Parental informed consent was obtained before assessing subjects for the study. Each individual was assessed clinically by a paediatrician to confirm if he/she was eligible to take part in the study. We also asked the parents if there were any histories of infectious diseases or immunologic and hematologic disorder in the child or in the family. Eighty-three blood samples were obtained by venipuncture and the samples were divided into 5 groups based on the age of the donor; Group I: from 0 to 1 year ($n = 12$), Group II: from > 1 to 2 years ($n = 13$), Group III: from > 2 to 6 years ($n = 17$), Group IV: from > 6 to 12 years ($n = 21$) and Group V: > 12 years ($n = 20$).

2.2. Immunophenotyping

Samples were analysed within 24 hr of collection by four-color flow cytometry immunophenotyping in the Laboratory of Cellular Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat). Absolute count and the percentage of the lymphocyte subsets were obtained after lysis of erythrocytes in whole blood using a single platform technology. Lymphocyte subsets investigated were CD3⁺/CD19⁺ B lymphocytes, CD3⁺ T lymphocytes, CD3⁺/CD4⁺ T helper cells, CD3⁺/CD8⁺ cytotoxic T cells, CD3⁺/CD16⁺ and/or CD56⁺ Natural Killer (NK) cells. Blood cells staining was performed in BD Bioscience true count[®] tubes using 2 separated com-

bination mixtures of labelled monoclonal antibodies (Multitest, BD Bioscience). Each mixture was added to 50 μ L of whole blood, vortexed gently and incubated for 10 min in the dark at room temperature (20–25 °C). The red blood cells were lysed by adding 1 ml of diluted FACS lysing solution (BD Biosciences) followed by 10 min incubation. Samples were analysed in a BD FACSCanto flow cytometer (BD Biosciences). The instrument was calibrated using Calibration Beads following the guidelines and the instructions of the manufacturer (Beckman Dickinson).

2.3. Gating strategy

Data were analyzed in FlowJo software (BD Biosciences). Cells were initially gated for lymphocytes (CD45 versus SSC-A). CD3⁺ surface expression was then determined. CD3⁺ cells were further analyzed for expression for CD4 versus CD8 expression. CD3[−] cells were examined for CD19, CD16 and CD56 expression. The numbers of following lymphocyte subpopulations were determined: lymphocytes (CD45⁺), T lymphocytes (CD3⁺), B lymphocytes (CD19⁺), NK cells (CD3[−], CD16⁺ and/or CD56⁺), helper T lymphocytes (CD3⁺CD4⁺), cytotoxic T lymphocytes (CD3⁺CD8⁺). Representative example of gating strategy and identification of specific lymphocytic subsets is shown in Fig. 1. The percentages of each gated lymphocyte subpopulation are directly given by the analysis software. The subpopulation absolute size was determined by reporting the acquired cells count by the volume calculated using a known concentration of True Count[®] beads.

2.4. Statistical analysis

Results (absolute counts) were calculated by Excel (Microsoft) and statistical testing for normality was performed using the Kolmogorov-Smirnov test and the Shapiro-Wilks test. For the data on absolute numbers, 40 % of the values were skewed. For the relative size, most of the data had normal distribution. Only 20 % were skewed. An algorithmic for transformation was performed using SPSS 20.0 to reduce the skewing. Following this correction, 100 % of the transformed data fitted a normal distribution ($\alpha > 0.05$). The distribution of patients by age groups varies between $n = 12$ and $n = 21$. Since this number is small for the determination of confidence interval, we chose to determine the tolerance interval [23]. We set the proportion to be included at 0.90 [two-sided, comparable to the percentile points (p) 5 and 95] with a confidence level of 0.95.

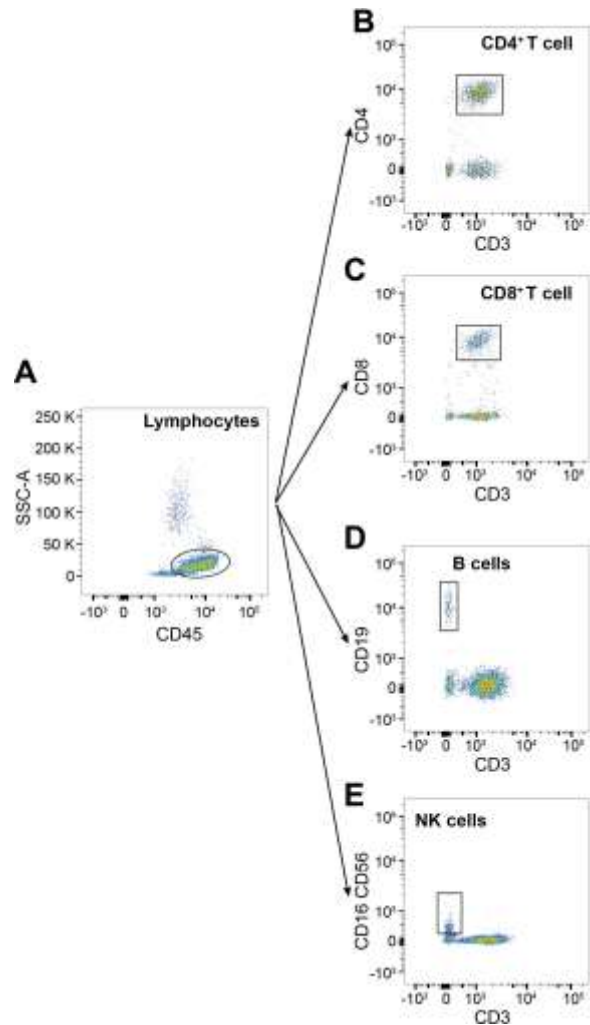


Fig. 1. Representative example of gating strategy and identification of specific lymphocyte subsets. Lymphocytes were selected based on their side-scatter and CD45 positive staining (A). Subsequently, T lymphocytes were identified as CD3⁺ and subdivided into CD4⁺CD8[−] or CD4[−]CD8⁺ cells (B) and (C). Non-CD3⁺ lymphocytes were identified as CD19⁺ B cells (D) or CD16⁺CD56⁺ NK cells (E).

The tolerance limits were calculated with Minitab 18 and the log-transformation values were retransformed to original values; all the values given in the table are original. Mean, Median, Maximum, Minimum values, as well as significant difference within lymphocyte subsets across different groups were calculated using Prism 8.0 (GraphPad).

3. Results

The absolute and relative values of the cytotoxic T

Table 1
Absolute count of lymphocyte subsets

Lymphocyte subsets	Age groups									
	Group I <i>N</i> = 11		Group II <i>N</i> = 13		Group III <i>N</i> = 17		Group IV <i>N</i> = 21		Group V <i>N</i> = 20	
	Median ($n \times 10^9/L$)	Mean (5 th to 95 th percentile) ($n \times 10^9/L$)	Median ($n \times 10^9/L$)	Mean (5 th to 95 th percentile) ($n \times 10^9/L$)	Median ($n \times 10^9/L$)	Mean (5 th to 95 th percentile) ($n \times 10^9/L$)	Median ($n \times 10^9/L$)	Mean (5 th to 95 th percentile) ($n \times 10^9/L$)	Median ($n \times 10^9/L$)	Mean (5 th to 95 th percentile) ($n \times 10^9/L$)
CD3+	6.30	6 (3.2–7.9)	5.90	6.22 (2.9–10.00)	2.90	2.69 (0.20–5.20)	2.80	2.43 (0.9–4.90)	0.81	1.058 (0.8–4.3)
CD4+	4.20	4.3 (2.0–6.1)	3.80	3.94 (1.9–6.3)	1.80	1.61 (0.50–2.1)	1.60	1.34 (0.8–2.1)	0.44	0.53 (0.13–1.45)
CD8+	1.25	1.35 (0.90–2.2)	2.10	2.40 (0.90–3.60)	1.10	0.95 (0.30–1.8)	0.90	0.87 (0.30–1.60)	0.24	0.31 (0.08–0.75)
CD19+	2.03	2.12 (0.46–3.63)	2.26	2.29 (0.95–3.72)	1.24	1.23 (0.54–2.03)	0.62	0.61 (0.21–0.98)	0.11	0.12 (0.05–0.22)
CD16+56+	0.44	0.64 (0.05–1.64)	0.48	0.62 (0.17–1.44)	0.53	0.48 (0.17–0.98)	0.26	0.33 (0.12–0.65)	0.095	0.11 (0.02–0.33)

Table 2
Relative size of lymphocytes subsets (%)

Lymphocyte subsets	Age groups									
	Group I <i>N</i> = 11		Group II <i>N</i> = 13		Group III <i>N</i> = 17		Group IV <i>N</i> = 21		Group V <i>N</i> = 20	
	Median % of lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % of lymphocytes	Median % of lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % of lymphocytes	Median % of lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % of lymphocytes	Median % of lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % of lymphocytes	Median % of lymphocytes	Mean (5 th to 95 th percentile) % of lymphocytes
CD3+	75.00	75.43 (54.4–92)	66.18	66.18 (51.50–80.00)	59.21	59.21 (38.70–76.90)	67.33	67.33 (44.44–86.67)	70.68	70.68 (46.03–81.90)
CD4+	50.60	57.39 (35.7–96.8)	41.38	42.27 (30.48–58.54)	36.36	35.20 (19.35–46.15)	36.96	36.84 (22.22–54.29)	36.58	35.91 (25.64–49.88)
CD8+	16.40	17.69 (9.40–26.20)	25.00	25.05 (16.36–37.80)	21.70	20.95 (11.36–30.23)	22.20	23.71 (15.00–35.56)	25.80	25.50 (10.90–41.12)
CD19+	23.30	27.34 (8.7–43.20)	27.56	26.63 (7.60–38.91)	29.77	28.03 (13.85–41.36)	19.50	19.25 (4.67–43.30)	10.28	11.11 (6.85–17.70)
CD16+56+	4.90	8.56 (0.94–21.86)	7.06	6.67 (1.39–12.00)	10.59	12.64 (2.83–33.04)	9.04	9.15 (3.75–20.00)	7.86	8.60 (2.43–16.18)

lymphocyte subset ($CD3^+$ T cell, $CD3^+CD4^+$ T helper cells, $CD3^+CD8^+$ cytotoxic T cells, $CD19^+$ B cells and $CD16^+$ and/or $CD56^+$ NK cells) including the median, mean and range are presented in Tables 1 and 2, respectively. The values provided in these tables represent a 90 percent chance that 90 percent of healthy children will fall within this range.

We also compared the changes in the numbers of lymphocytes and its subsets with age. Analyses of the changes in lymphocyte subpopulation numbers in peripheral blood with age showed no statistically significant differences in $CD3^+$ cells between group I and group II or between group III and group IV. Nevertheless, a significant age-associated reduction was observed when either group I or group II was compared to group III, group IV or group V and even when group III or group IV were compared to group V (Fig. 2A). Identical results were obtained for the $CD3^+CD4^+$ population (Fig. 2B). Numbers of $CD3^+CD8^+$ cells, showed a statistically significant increase of total numbers from group I to group II. However, there were no significant differences between groups I and III or between groups I and IV. Significant differences were again noted when group I was compared to group V. Group II was significantly different from groups III, IV and V. Groups III and IV also significantly differed with group V. These results indicate that $CD3^+CD8^+$ cell numbers temporarily rise between ages 1–2 years, before decreasing at ages more than 2 years (Fig. 2C). For $CD19^+$ B cells, we noted that except for between group I and group II, there were statistically significant differences. These results suggest that B cells decrease after age of 2 years (Fig. 2D). Finally, when NK cells number were compared across ages, we observed no significant differences between groups, except for group I versus group V, group II versus group V and group III versus group V. These results indicate that NK cell numbers decrease after 12 years age (Fig. 2E).

Comparing changes in proportions of lymphocytes and lymphocyte subsets, we did not observe any significant difference in proportions of $CD3^+$ lymphocytes between different age groups except for a decrease from group I (0–1 year) to group III (2–6 years) (Fig. 3A). The proportions, however, significantly increased between group III (2–6 years) to group V (12 years-adult) (Fig. 3A). These results indicate that the proportion of lymphocytes dipped slightly at ages 2–6 years before increasing back to earlier levels. In contrast, proportions of $CD3^+CD4^+$ helper T lymphocytes were significantly different in group I from the rest of the groups (Fig. 3B). These results indicate that proportions of

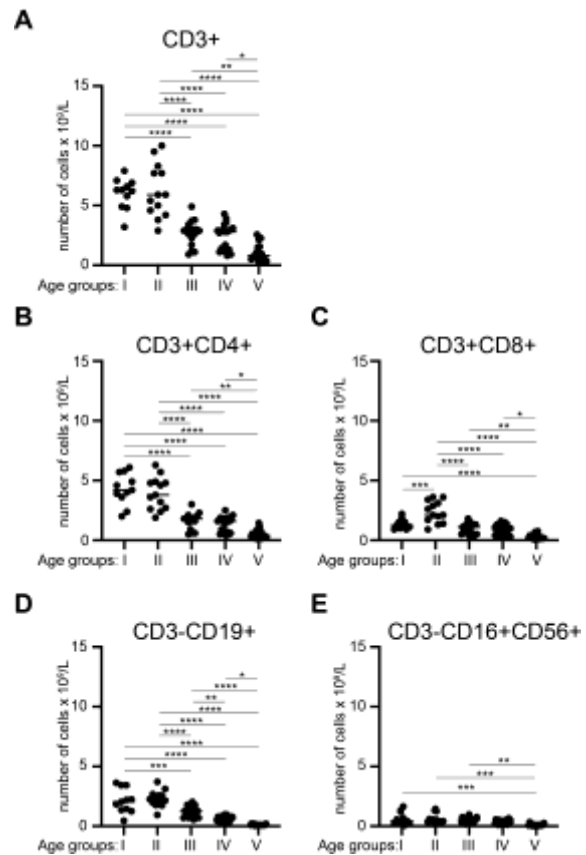


Fig. 2. Number of indicated lymphocyte subsets in the blood of Moroccan donors as a function of age. Median and independent data for the number of indicated lymphocyte populations across donors with different ages (A)–(E). Groups represent samples from donors with different ages as following, Group I: 0 to 1 year ($n = 12$), Group II: 1 to 2 years ($n = 13$), Group III: 2 to 6 years ($n = 17$), Group IV: 6 to 12 years ($n = 21$) and Group V: > 12 years ($n = 20$). One-way ANOVA, only significant differences are shown. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and **** $p < 0.0001$.

$CD3^+CD4^+$ helper T lymphocytes decreased between ages 0–1 years to 1–2 years. Subsequently, the proportions of this lymphocyte subpopulation did not change any further and remained constant. Relative amounts of $CD3^+CD8^+$ cytotoxic T lymphocytes did not appear to change with age except a significant increase in the 12 years-adult group (Fig. 3C). Examination of proportions of $CD3^-CD19^+$ B lymphocytes indicate significant differences between group I and group IV, as well as between group II and group V, group III with group IV and group V, and group IV with group V (Fig. 3D). These results indicate that there is a significant reduction in proportions of B cells around/after year 12. Proportions of NK cells showed no differences except for between group II and group III (Fig. 3E).

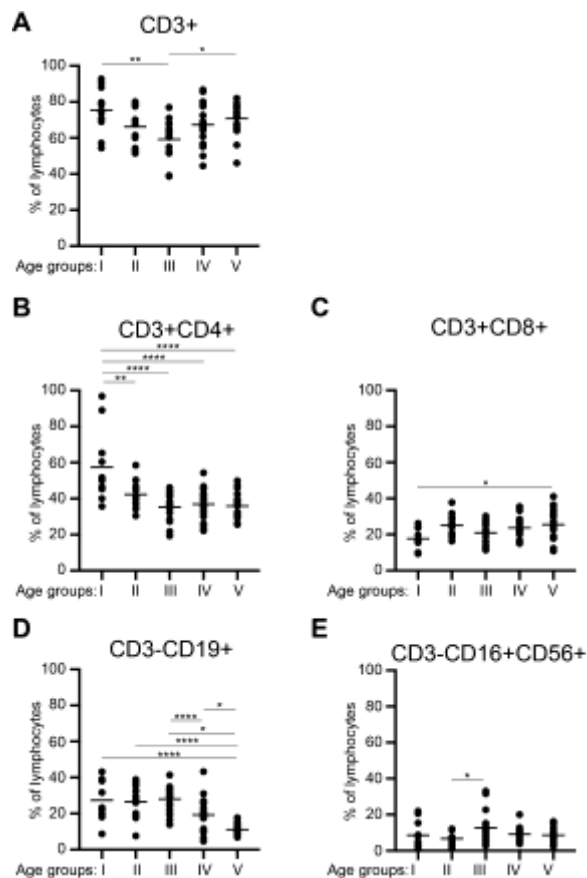


Fig. 3. Percentage of indicated lymphocyte subsets in the blood of Moroccan donors as a function of age. Mean and independent data for the percentage of indicated lymphocyte populations within CD45⁺ leukocytes across donors with different ages (A)–(F). Groups represent samples from donors with different ages as following, Group I: 0 to 1 year ($n = 12$), Group II: 1 to 2 years ($n = 13$), Group III: 2 to 6 years ($n = 17$), Group IV: 6 to 12 years ($n = 21$) and Group V: > 12 years ($n = 20$). One-way ANOVA, only significant differences are shown. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.0001$.

Finally, we compared our median reference values to that previously reported for studies performed in Cameroon, Turkey, USA and the Netherlands [9,29,31, 33]. We observed that the median value of CD3⁺ lymphocytes, as well as CD4⁺, CD8⁺ and CD19⁺ cells were higher in the Moroccan samples than the corresponding medians reported in the Cameroonian [29], Turkish [9] and USA [33] studies, especially in the age groups 0–1 years and 1–2 years (Table 3). For NK cells, the medians for the Moroccan population closely approximated that of Cameroon and USA at ages 0–1 years (Table 3). All three were lower than the Turkish population (Table 3). At 1–2 years the Moroccan population and the Turkish population were similar for median numbers of NK cells, and were higher than the

Table 3
Comparison between medians of the absolute count of lymphocyte subpopulation in different countries

Age groups (years)	Morocco ($n \times 10^9/L$)	Cameroon ($n \times 10^9/L$)	Turkey ($n \times 10^9/L$)	USA ($n \times 10^9/L$)
CD3				
0–1	6.30	3.12	3.80	3.93
1–2	5.90	2.64	3.70	3.55
2–6	2.90	2.29	2.40	2.39
6–12	2.80	n. a	2.00	1.82
> 12	0.81	n. a	1.80	1.48
CD4				
0–1	4.20	2.13	2.70	2.85
1–2	3.80	1.67	2.10	2.16
2–6	1.80	1.28	1.50	1.38
6–12	1.60	n. a	1.00	0.98
> 12	0.42	n. a	0.90	0.84
CD8				
0–1	1.25	0.72	1.11	1.05
1–2	2.10	0.82	1.00	1.04
2–6	1.10	0.77	0.70	0.84
6–12	0.90	n. a	0.80	0.68
> 12	0.24	n. a	0.60	0.53
CD19				
0–1	2.03	1.94	1.50	1.55
1–2	2.26	1.52	1.40	1.31
2–6	1.24	0.96	0.70	0.75
6–12	0.62	n. a	0.50	0.48
> 12	0.11	n. a	0.40	0.30
NK				
0–1	0.44	0.45	0.70	0.42
1–2	0.48	0.39	0.50	0.36
2–6	0.53	0.33	0.30	0.30
6–12	0.26	n. a	0.50	0.23
> 12	0.095	n. a	0.40	0.19

Cameroonian and the USA populations (Table 3). At age 2–6 years, the Moroccan median was the highest amongst the four groups, but again by 6–12 years it dropped below that of Cameroon and Turkey to a level similar to that of USA (Table 3). However, all parameters (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, as well as NK cells) were lower in the Moroccan population in comparison with Cameroonian, Turkish and USA populations, after age 12 years (Table 3). We also compared the tolerance intervals between our values with a study from the Netherlands [31] -the only one study that explored tolerance intervals-. Out of 50 parameters (10 parameters each for 5 age groups), 16 parameters (32%) showed more than 57% difference (57% to 476%) in the means (Table 4). Noticeably, means of absolute counts and relative proportions of B cells were consistently higher in all age groups in Morocco (55–79%), except > 12 years group (Table 4). The means of relative proportions of NK cells were higher in the Netherlands study across all age groups (Table 4). We observe also concordance of the means, 5th and 95th percentile values

Table 4
Comparison between tolerance interval of lymphocyte subsets from Moroccan and Netherlands

Lymphocyte subsets	Age groups														
	Group I			Group II			Group III			Group IV			Group V		
	Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th	Mean	5 th	95 th
CD3 (total) [$n \times 10^9/L$]															
Morocco	6.00	3.20	7.90	6.22	2.90	10.00	2.70	0.20	5.20	2.43	0.90	4.90	1.06	0.80	4.30
Netherlands (Schatorjé et al.)	4.00	1.40	11.50	2.50	0.70	8.80	1.90	0.85	4.30	1.80	0.77	4.00	1.50	0.78	3.00
d (1-2)%	33	56	-46	60	76	12	30	-325	17	26	14	18	-42	3	30
CD3 (%)															
Morocco	75.43	54.40	92.00	66.18	51.50	80.00	59.21	38.70	76.90	67.33	44.44	86.67	70.68	46.03	81.90
Netherlands (Schatorjé et al.)	68.00	49.00	95.00	60.00	36.00	100.00	69.00	52.00	92.00	73.00	55.00	97.00	67.00	50.00	91.00
d (1-2)%	10	10	-3	9	30	-25	-17	-34	-20	-8	-24	-12	5	-9	-11
CD4 (total) [$n \times 10^9/L$]															
Morocco	4.30	2.00	6.10	3.94	1.90	6.30	1.61	0.50	2.10	1.34	0.80	2.10	0.53	0.13	1.45
Netherlands (Schatorjé et al.)	2.70	1.00	7.20	1.60	0.40	7.20	1.10	0.50	2.70	1.00	0.40	2.50	1.00	0.50	2.00
d (1-2)%	37	50	-18	59	79	-14	32	0	-29	25	50	-19	-89	-285	-38
CD4 (%)															
Morocco	57.39	35.70	96.80	42.27	30.48	58.54	35.20	19.35	46.15	36.84	22.22	54.29	35.91	25.64	49.88
Netherlands (Schatorjé et al.)	46.00	25.00	86.00	39.00	16.00	91.00	40.00	25.00	66.00	40.00	26.00	61.00	42.00	28.00	64.00
d (1-2)%	20	30	11	8	48	-55	-14	-29	-43	-9	-17	-12	-17	-9	-28
CD8 (total) [$n \times 10^9/L$]															
Morocco	1.35	0.90	2.20	2.40	0.90	3.60	0.95	0.30	1.80	0.87	0.30	1.60	0.31	0.08	0.75
Netherlands (Schatorjé et al.)	1.10	0.20	5.40	0.70	0.20	2.80	0.60	0.20	1.80	0.60	0.20	1.70	0.50	0.20	1.20
d (1-2)%	18.52	77.78	-145.45	70.83	77.78	22.22	36.84	33.33	0.00	31.03	33.33	-6.25	-61.29	-150.00	-60.00
CD8 (%)															
Morocco	17.69	9.40	26.20	25.05	16.36	37.80	20.95	11.36	30.23	23.71	15.00	35.56	25.50	10.90	41.12
Netherlands (Schatorjé et al.)	16.00	6.00	41.00	16.00	7.00	40.00	21.00	9.00	49.00	25.00	13.00	47.00	22.00	12.00	40.00
d (1-2)%	10	36	-56	36	57	-6	0	21	-62	-5	13	-32	14	-10	3
B cells (total) [$n \times 10^9/L$]															
Morocco	2.12	0.46	3.63	2.29	0.95	3.72	1.23	0.54	2.03	0.61	0.21	0.98	0.12	0.05	0.22
Netherlands (Schatorjé et al.)	0.94	0.11	7.70	0.76	0.16	3.70	0.49	0.18	1.30	0.29	0.10	0.80	0.23	0.06	0.82
d (1-2)%	55.66	76.09	-112.12	66.81	83.16	0.54	60.16	66.67	35.96	52.46	52.38	18.37	-91.67	-39.13	-272.73
B cells (%)															
Morocco	27.34	8.70	43.20	26.63	7.60	38.91	28.03	13.85	41.36	19.25	4.67	43.30	11.11	6.85	17.70
Netherlands (Schatorjé et al.)	7.00	1.00	64.00	11.00	1.00	96.00	6.00	2.00	25.00	8.00	2.00	31.00	15.00	5.00	49.00
d (1-2)%	74	89	-48	59	87	-147	79	86	40	58	57	28	-35	27	-177
NK cells (total) [$n \times 10^9/L$]															
Morocco	0.64	0.05	1.64	0.62	0.17	1.44	0.48	0.17	0.98	0.33	0.12	0.65	0.11	0.02	0.33
Netherlands (Schatorjé et al.)	0.52	0.07	3.90	0.47	0.06	4.00	0.18	0.06	0.51	0.20	0.07	0.59	0.34	0.10	1.20
d (1-2)%	19	-36	-138	24	68	-178	63	64	48	39	42	9	-209	-456	-264
NK cells (%)															
Morocco	8.56	0.94	21.86	6.67	1.39	12.00	12.60	2.83	33.04	9.15	3.75	20.00	8.60	2.43	16.18
Netherlands (Schatorjé et al.)	15.00	3.00	77.00	19.00	8.00	45.00	18.00	8.00	39.00	12.00	4.00	33.00	10.00	4.00	28.00
d (1-2)%	-75	-219	-252	-185	-476	-275	-43	-183	-18	-31	-7	-65	-16	-65	-73

A. El Allam et al. / Age-stratified pediatric reference values of lymphocytes in the Moroccan population

between the two populations for relative proportions of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ as well as absolute counts of CD4⁺ (Table 4).

4. Discussions

The reference values of peripheral blood lymphocyte subsets were determined by flow cytometry immunophenotyping to aid in the diagnosis of the various immunological defects and dysfunction such as HIV infections [11,39] or PID [12,25,26] in the Moroccan population. Paediatric HIV patients have reduced CD4⁺ counts [1]. Untreated HIV causes progressive CD4⁺ loss [6]. PID encompasses heterogeneous, mostly inherited disorders that affect the development, function or both of several lymphocyte subsets [25]. For example, in PID, mutations may result in the loss of expression of markers such as CD19 [37]. Additionally, PID can be caused by mutations in genes, that affect the terminal differentiation of a specific lineage of lymphocytes, such as mutations in *BTK* that leads to the near complete loss of B cells [5,15]. Such changes can be revealed by flow cytometric analyses and careful comparison with reference values. Individuals affected by HIV can develop immunological diseases, infections and oncological complications, as well as several other common morbidities. PID patients are highly susceptible to routine and/or recurrent infections of a variety of organs including the skin, throat, ears, lungs, urinary or intestinal tracts [20]. These patients are also at a higher risk of failing to clear the infections or unusually severe degree of infection. An early diagnosis of HIV or PID by flow cytometry and comparison with reference values is critical for preventing dangerous disease-associated morbidity and mortality [20].

Since lymphocyte numbers and subsets are known to vary regionally, in a previous study our group established lymphocyte reference values for the adult Moroccan population [30]. In this study we established lymphocyte reference values for the children Moroccan population at ages 0–1 years, 1–2 years, 2–6 years, 6–12 years and > 12 years. Results of lymphocytes immunophenotyping with flow cytometry can be influenced by many variables such as the anticoagulant used, sample preparation, monoclonal antibodies used, selected staining protocol and technical platform. In this study, samples were treated according to the single platform method-lyse no-wash procedure and the gating strategy recommended by the manufacturer. Eighty-three individuals were carefully selected,

to meet the standards of healthy subjects. Our results demonstrate that the CD8⁺ T cell numbers increased after early infancy [16]. This may result from increased antigen exposure in the first months of life. The decreasing total numbers of T and B cells at adult age observed in our studies is also consistent with previous reports [4,9,32,38]. NK cell numbers, in contrast, appear to be stable from 0–1 year till 6–12 years, similar to that reported by Ikinciogullari et al. [9]. In contrast to total numbers, the percentage values of lymphocyte subsets did not change substantially with age. This result confirms previous reports that change in absolute count of lymphocytes are not consistent with the changes in their percentages [4].

Importantly, we observed increased median values of CD3⁺ and CD4⁺ cells at 0–1 years and 1–2 years of age in Moroccan population compared to that of Cameroon, Turkey and the USA [9,29,33]. These differences may be due to different antigen exposure. It has been reported that children who encounter more antigens in their environment present with a higher count of lymphocytes [24]. Alternatively, environmental factors, genetics and/or nutritional status may contribute to these differences [2,16,27,34,36].

5. Conclusion

Our study quantifies the changing counts and percentages of lymphocytes subpopulation in healthy Moroccan children from birth to adulthood. These reference values should be useful for Moroccan laboratories for the correct interpretation of lymphocytes immunophenotyping in the diagnosis of HIV, PID and other diseases characterized by lymphocytosis or lymphocytopenia in pediatric patients.

□ Acknowledgments

The authors thank the personnel of the Immunology, Allergic and Respiratory Diseases Unit, Children's Hospital of Rabat for their participation in the recruitment of study subjects and sample collections. We also thank Lindsey D. Hughes, Carla V. Rothlin and Sourav Ghosh for their help during preparation of the manuscript.

□ References

- [1] Y. Berhan, Age and CD4 count of vertically HIV-infected children at the time of diagnosis: what are independent predictors for being symptomatic and CD4 counts drop? *J Trop Pediatr* **57** (2011), 14–23.

- [2] S.F. Bloomfield, R. Stanwell-Smith, R.W. Crevel and J. Pickup, Too clean, or not too clean: the hygiene hypothesis and home hygiene, *Clin Exp Allergy* **36** (2006), 402–425.
- [3] Y. Chen, Y. Zhang, G. Zhao, C. Chen, P. Yang, S. Ye and X. Tan, Difference in leukocyte composition between women before and after menopausal age, and distinct sexual dimorphism, *PLoS One* **11** (2016), e0162953.
- [4] W.M. Comans-Bitter, R. de Groot, R. van den Beemd, H.J. Neijens, W.C. Hop, K. Groeneveld, H. Hooijkaas and J.J. van Dongen, Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations, *J Pediatr* **130** (1997), 388–393.
- [5] M.C. Cook and S.G. Tangye, Primary immune deficiencies affecting lymphocyte differentiation: lessons from the spectrum of resulting infections, *Int Immunol* **21** (2009), 1003–1011.
- [6] S.G. Deeks, J. Overbaugh, A. Phillips and S. Buchbinder, HIV infection, *Nat Rev Dis Primers* **1** (2015), 15035.
- [7] P. Duramad, I.B. Tager and N.T. Holland, Cytokines and other immunological biomarkers in children's environmental health studies, *Toxicol Lett* **172** (2007), 48–59.
- [8] T. Eckschlager, Lymphocyte count as a prognostic factor in childhood cancer, *Pediatr Hematol Oncol* **9** (1992), 99–105.
- [9] A. Ikinogullari, T. Kendirli, F. Dogu, Y. Egin, I. Reisli, S. Cin and E. Babacan, Peripheral blood lymphocyte subsets in healthy Turkish children, *Turk J Pediatr* **46** (2004), 125–130.
- [10] Y. Jiao, Z. Qiu, J. Xie, D. Li and T. Li, Reference ranges and age-related changes of peripheral blood lymphocyte subsets in Chinese healthy adults, *Sci China C Life Sci* **52** (2009), 643–650.
- [11] A. Kakar, R. Beri, A. Gogia, S.P. Byotra, V. Prakash, S. Kumar and M. Bhargava, Absolute lymphocyte count: a cost-effective method of monitoring HIV-infected individuals, *Indian J Pathol Microbiol* **54** (2011), 107–111.
- [12] H. Kanegane, A. Hoshino, T. Okano, T. Yasumi, T. Wada, H. Takada, S. Okada, M. Yamashita, T.W. Yeh, R. Nishikomori, M. Takagi, K. Imai, H.D. Ochs and T. Morio, Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases, *Allergol Int* **67** (2018), 43–54.
- [13] K. Kaushansky, *Williams hematology*, McGraw-Hill, New York, 2016.
- [14] R.S. Kibaya, C.T. Bautista, F.K. Sawe, D.N. Shaffer, W.B. Saterren, P.T. Scott, N.L. Michael, M.L. Robb, D.L. Bix and M.S. de Souza, Reference ranges for the clinical laboratory derived from a rural population in Kericho, Kenya, *PLoS One* **3** (2008), e3327.
- [15] O. Kopecky and S. Lukesova, Genetic defects in common variable immunodeficiency, *Int J Immunogenet* **34** (2007), 225–229.
- [16] I.M. Lisse, P. Aaby, H. Whittle, H. Jensen, M. Engelmann and L.B. Christensen, T-lymphocyte subsets in west african children: impact of age, sex, and season, *J Pediatr* **130** (1997), 77–85.
- [17] B.A. Locke, T. Dasu and J.W. Verbsky, Laboratory diagnosis of primary immunodeficiencies, *Clin Rev Allergy Immunol* **46** (2014), 154–168.
- [18] E.S. Lugada, J. Mermin, F. Kaharuza, E. Ulvestad, W. Were, N. Langeland, B. Asjo, S. Malamba and R. Downing, Population-based hematologic and immunologic reference values for a healthy Ugandan population, *Clin Diagn Lab Immunol* **11** (2004), 29–34.
- [19] J.P. McCoy, Jr. and W.R. Overton, Quality control in flow cytometry for diagnostic pathology: II. A conspectus of reference ranges for lymphocyte immunophenotyping, *Cytometry* **18** (1994), 129–139.
- [20] C. McCusker, J. Upton and R. Warrington, Primary immunodeficiency, *Allergy Asthma Clin Immunol* **14** (2018), 61.
- [21] C. McCusker and R. Warrington, Primary immunodeficiency, *Allergy Asthma Clin Immunol* **7**(Suppl 1) (2011), S11.
- [22] C.R. McGrath, D.C. Hitchcock and O.W. van Assendelft, Total white blood cell counts for persons ages 1–74 years with differential leukocyte counts for adults ages 25–74 years: United States, 1971–75, *Vital Health Stat* **11** (1982), 1–36.
- [23] W.Q. Meeker, G.J. Hahn and L.A. Escobar, *Statistical intervals: a guide for practitioners and researchers*, Wiley, Hoboken, New Jersey, 2017.
- [24] M.I. Moraes-Pinto, E. Ono, E.C. Santos-Valente, L.C. Almeida, P.R. Andrade, M.I. Dinelli, A.M. Santos and R. Salomao, Lymphocyte subsets in human immunodeficiency virus-unexposed Brazilian individuals from birth to adulthood, *Mem Inst Oswaldo Cruz* **109** (2014), 989–998.
- [25] L.D. Notarangelo, Primary immunodeficiencies, *J Allergy Clin Immunol* **125** (2010), S182–194.
- [26] M.R. O'Gorman, J. Zollett and N. Bensen, Flow cytometry assays in primary immunodeficiency diseases, *Methods Mol Biol* **699** (2011), 317–335.
- [27] H. Ozkan, N. Olgun, E. Sasmaz, H. Abacioglu, M. Okuyan and N. Cevik, Nutrition, immunity and infections: T lymphocyte subpopulations in protein-energy malnutrition, *J Trop Pediatr* **39** (1993), 257–260.
- [28] F. Rouet, A. Inwoley, D.K. Ekouevi, I. Viho, R. Becquet, C. Sakarovich, L. Bequet, B. Tonwe-Gold, M.L. Chaix, V. Leroy, C. Rouzioux, F. Dabis and A.D.P.S. Group, CD4 percentages and total lymphocyte counts as early surrogate markers for pediatric HIV-1 infection in resource-limited settings, *J Trop Pediatr* **52** (2006), 346–354.
- [29] B. Sagnia, F. Ateba Ndongo, S. Ndiang Moyo Tetang, J. Ndongo Torimiro, C. Cairo, I. Domkam, G. Agbor, E. Mve, O. Tocke, E. Fouda, O. Ouwe Missi Oukem-Boyer and V. Colizzi, Reference values of lymphocyte subsets in healthy, HIV-negative children in Cameroon, *Clin Vaccine Immunol* **18** (2011), 790–795.
- [30] K. Sahmoudi, A. El Allam, S. El Fakihi, H. Tahoune, A. Sadak, N. El Hafidi, J. Bourkadi, R. El Aouad and F. Seghrouchni, Moroccan lymphocyte subsets reference ranges: age, gender, ethnicity, and socio-economic factors dependent differences, *J Immunoassay Immunochem* **41** (2020), 281–296.
- [31] E.J. Schatorje, E.F. Gemen, G.J. Driessen, J. Leuvenink, R.W. van Hout and E. de Vries, Paediatric reference values for the peripheral T cell compartment, *Scand J Immunol* **75** (2012), 436–444.
- [32] S. Shahabuddin, I. Al-Ayed, M.O. Gad El-Rab and M.I. Qureshi, Age-related changes in blood lymphocyte subsets of Saudi Arabian healthy children, *Clin Diagn Lab Immunol* **5** (1998), 632–635.
- [33] W.T. Shearer, H.M. Rosenblatt, R.S. Gelman, R. Oyomopito, S. Plaeger, E.R. Stiehm, D.W. Wara, S.D. Douglas, K. Luzuriaga, E.J. McFarland, R. Yogev, M.H. Rathore, W. Levy, B.L. Graham, S.A. Spector and A.C.T.G. Pediatric, 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** (2003), 973–980.
- [34] D.P. Strachan, Hay fever, hygiene, and household size, *BMJ* **299** (1989), 1259–1260.
- [35] F. Tosato, G. Bucciol, G. Pantano, M.C. Putti, M.C. Sanzari, G. Basso and M. Plebani, Lymphocytes subsets reference values in childhood, *Cytometry A* **87** (2015), 81–85.

- [36] S.J. Ulijaszek, Immunology and growth faltering of Anga children, Papua New Guinea: preliminary work, *Am J Phys Anthropol* **106** (1998), 515–520.
- [37] M.W. Wentink, A.J. Lambeck, M.C. van Zelm, E. Simons, J.J. van Dongen, I.J. H. E.H. Scholvinck and M. van der Burg, CD21 and CD19 deficiency: two defects in the same complex leading to different disease modalities, *Clin Immunol* **161** (2015), 120–127.
- [38] D. Wiener, S. Shah, J. Malone, N. Lowell, S. Lowitt and D.T. Rowlands, Jr., Multiparametric analysis of peripheral blood in the normal pediatric population by flow cytometry, *J Clin Lab Anal* **4** (1990), 175
- Y. Wondimeneh, G. Ferede, G. Yismaw and D. Muluye, Total lymphocyte count as surrogate marker for CD4 cell count in HIV-infected individuals in gondar university hospital, north-west ethiopia, *AIDS Res Ther* **9** (2012), 21.
- [39] W.S. Wong, A.W. Lo, L.P. Siu, J.N. Leung, S.P. Tu, S.W. Tai, S.C. Lam and K.F. Wong, Reference ranges for lymphocyte subsets among healthy Hong Kong Chinese adults by single-platform flow cytometry, *Clin Vaccine Immunol* **20** (2013), 602–606.

- [40] Y. Wondimeneh, G. Ferede, G. Yismaw and D. Muluje, Total lymphocyte count as surrogate marker for CD4 cell count in HIV-infected individuals in gondar university hospital, north- west ethiopia, *AIDS Res Ther* **9** (2012), 21.
- [41] W.S. Wong, A.W. Lo, L.P. Siu, J.N. Leung, S.P. Tu, S.W. Tai, S.C. Lam and K.F. Wong, Reference ranges for lymphocyte subsets among healthy Hong Kong Chinese adults by single-platform flow cytometry, *Clin Vaccine Immunol* **20** (2013), 602–606.

Cytometric analysis and clinical features in a Moroccan cohort with severe combined immunodeficiency

Aicha El Allam^{a,b,*}, Sara El Fakih^{a,d}, Hicham Tahoune^e, Karima Sahmoudi^{a,f}, Houria Bousserhane^{a,d},

Youssef Bakri^{b,g}, Naima El Hafidi^{c,h} and Fouad Seghrouchni^{a,d,*}

^aLaboratory of Cellular Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

^bLaboratory of Biology and Human Pathology, Faculty of Sciences, University Mohammed V, Rabat, Morocco

^cDepartment of Immunobiology, Yale University School of Medicine, New Haven, CT, USA

^dMed Biotech Laboratory, Faculty of Medicine and Pharmacy, University Mohammed V, Rabat, Morocco

^eDepartment of Biology, Faculty of Sciences, University Ibn Tofail, Kenitra, Morocco

^fDepartment of Biology, Faculty of Sciences, University Mohammed V, Rabat, Morocco

^gCentre of Human Pathology Genomic, Faculty of Medicine and Pharmacy, University Mohammed V, Rabat, Morocco

^hImmunology, Allergic and Respiratory Diseases Unit, Children's Hospital of Rabat, Ibn Sina University Hospital Centre, Rabat, Morocco

Abstract. Severe combined immunodeficiency (SCID) is a form of primary immunodeficiency disease (PID). It is characterized by a serious abnormality of the cellular and sometimes humoral system due to a deficiency in development of T cells, B cells and/or NK cells. The early diagnosis of SCID improves the prognosis. Typically, the initial consideration of SCID is made based on low lymphocyte counts. Notwithstanding, the heterogeneity of lymphocyte count presentation makes the diagnosis of SCID a significant challenge. The objective of this cross-sectional retrospective study was to analyze the lymphocyte subpopulation counts along with clinical manifestations within a Moroccan cohort diagnosed as SCID compared to children diagnosed with non-PID diseases. Thirty-five SCID confirmed patients were selected in the period between 2008 and 2018 and compared with non-PID patients. Results of peripheral blood T, B, and NK lymphocyte subpopulation counts were measured by flow cytometry for each SCID subtype. As expected, T cell count was less than 300 cells/ μ L in most patients with SCID (85.5%). Unexpectedly, significantly higher T cell counts were detected in some patients with a confirmed clinical diagnosis and family history of SCID. 5.7% of our SCID Moroccan cohort had T cell numbers in the range between 300 and 500 cells/ μ L. 8.7% of our SCID Moroccan cohort had T cell numbers higher than 500 cells/ μ L. Of the SCID subtypes, the proportion of SCID with B cell deficiencies was highly represented in our cohort. 71.4% of Moroccan SCID patients (25 out of 35 patients) were of T-B-subtype. Furthermore, 40% of the patients (14 out of 35 patients) had a T⁺B⁺NK⁺ profile and 31.4% had a T⁺B⁺NK⁻ profile (11 out of 35 patients). The most common clinical manifestations observed in our SCID cohort were pneumonia, failure to thrive, candidiasis, diarrhea, bronchitis and urinary tract infections. Our results not only highlight the relatively frequent presence of atypical SCID in the Moroccan population with unexpectedly high T cell numbers, but also describes the incidence pattern of common SCID subtypes in Morocco. Physicians in Morocco may find this local region-specific difference in SCID important for making improved early diagnosis of this disease.

Keywords: Severe combined immunodeficiency, diagnosis, primary immunodeficiency, lymphocytes subpopulation counts, flow cytometry, Morocco

*Corresponding authors: Fouad Seghrouchni, Laboratory of Cellular Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco. E-mail: fseghrouchni@yahoo.fr. Aicha El Allam, Department of

Immunobiology, Yale University School of Medicine, 333 Cedar Street, TAC 610, New Haven, CT 06519, USA. E-mail: aicha.elallam@yale.edu.

ISSN 1093-2607/\$35.00 © 2022 – IOS Press. All rights reserved.

1. Introduction

Severe combined immunodeficiency (SCID) is a genotypically and phenotypically heterogeneous set of inherited primary immunodeficiencies (PID). SCID is considered a life-threatening pediatric emergency [16]. SCID kids are normal during childbirth and start suffering from severe infections in the first month of their life [6]. Transplantation of HLA-identical or T-cell-depleted haploidentical marrow from related donors is a life-saving treatment in patients with any type of SCID. SCID results in early death unless urgently treated by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, highlighting the critical importance of early diagnosis [7,16]. Respiratory infections, failure to thrive, chronic diarrhea, persistent oral candidiasis, pneumonia, and sepsis are the most common presentation in SCID patients [6,26].

SCID immunodeficiencies can be classified based on presence or absence of B and NK cells in the peripheral blood into $T^+B^-NK^-$ or $T^+B^-NK^+$ and $T^+B^+NK^-$ or $T^+B^+NK^+$. The different subtypes of SCID result from discrete mutations in genes essential for T cell differentiation, which are variably associated with abnormal development of B and/or NK cells [24,33]. Mutations in *ADA* (adenosine deaminase) or *AK* (2) (adenylate kinase) are most frequently associated with $T^+B^-NK^-$ SCID and are autosomal recessive [24,33]. Mutations such as in *RAG1* and *RAG2* that affect V(D)J recombination, critical for functional T cell receptors (TCRs), give rise to $T^+B^-NK^+$ SCID [24,33]. Mutations in *Artemis/DCLRE1C* and *DNA-PKcs (PRKDC)* also result in $T^+B^-NK^+$ SCID [24,33]. *NHEJ1* and *LIG4* deficiencies also give rise to $T^+B^-NK^+$ SCID [24,33]. Mutations affecting the common γ -chain of IL-2, 4, 7, 9 and 15 receptors that signals through JAK3 tyrosine kinase cause $T^+B^+NK^-$ SCID [24,33]. This is an X-linked inherited disease [24,33]. However, *JAK3* mutations can also give rise to a similar $T^+B^+NK^-$ disease, which is autosomal recessive [24,33]. IL2RG mutations give rise to $T^+B^+NK^-$ SCID. Mutations in *IL7R*, *CORO1A*, *CD45 (PTPRC)*, *CD3D*, *CD3E*, *CD3Z (CD247)* and *LAT* give rise to $T^+B^+NK^+$ SCID [24,33]. Finally, there are Combined Immunodeficiencies (CID) with residual T cells, which are less profound than SCID [24]. Mutations in genes such as *DOCK2*, *ICOS*, *CD40*, *CD40LG*, *CD3G*, *CD8A*, *ZAP70*, *TAP1*, *TAP2*, *TAPBP*, *B2M*, *C11TA*, *RFXANK*, *RFX5*, *RFXAP*, *DOCK8*, *RHOH*, *STK4*, *TRAC*, *p56/LCK*, *MALTI*, *CARD11*, *BCL10*, *BCL11B*, *IL21*, *IL21R*, *TNFRSF4*, *IKBKB*, *MAP3K14*, *RELB*,

MSN, and *TFRC* are associated with CID [24]. Other genetic defects such as mutations in *STAT5*, *FOXP1* or *IL2RA* can also decrease the number of T cells [24]. Because of this heterogeneity, the immunological and clinical presentations of SCID are diverse, making diagnosis a significant challenge. The knowledge of the characteristics of the regional presentation of SCID, including the range of lymphocyte counts, can help increase the awareness of local physicians and help in more rapid diagnosis. In the framework of its mission in the immunological exploration of PID in Morocco, our group recently published the normal reference values for lymphocytes populations within Moroccan children population [9]. Here we report our immunological findings on Moroccan patients clinically diagnosed as SCID from a group of total 657 patients suspected of PID during the last 10 years. We report that some patients have higher than expected T cell numbers.

We also describe the prevalence of SCID subtypes in Morocco and their clinical characteristics. The prevalence of SCID worldwide is estimated to be 1 in 40,000 to 75,000 live births [16]. Amongst Mediterranean populations, SCID represents 8.2% of PID in Tunisian Population [20], and 5.7% of PID in a Spanish study [18]. As indicated in the first report on the Moroccan registry, 8.74% of PID in the Moroccan population were diagnosed as SCID [4]. The distribution of various subtypes of SCID differs in different countries. In countries with consanguineous marriages, autosomal recessive SCID incidences can be higher [12,29,32,33], although X-linked SCID is the most common worldwide form [33]. The percentage of SCID is significantly higher (21.1%) in the Iranian population [1]. It was also reported that, in Iran, the prevalence of undiagnosed PID was extremely high [3]. El Maataoui et al. reported that in Morocco, the most common subtype of SCID was $T^+B^-NK^+$ [10]. We similarly observe more frequent T^+B^- SCID and its association with consanguinity, versus less consanguinity associated with T^+B^+ SCID.

2. Materials and methods

2.1. Subjects and samples

The study subjects were selected during a 10-year period from 2008 to 2018, from patients admitted to the Immuno-allergology and Respiratory Diseases unit of the Children's Hospital of Rabat and referred to the Cellular Immunology Laboratory of the National Institute of Hygiene for determination of the lymphocyte

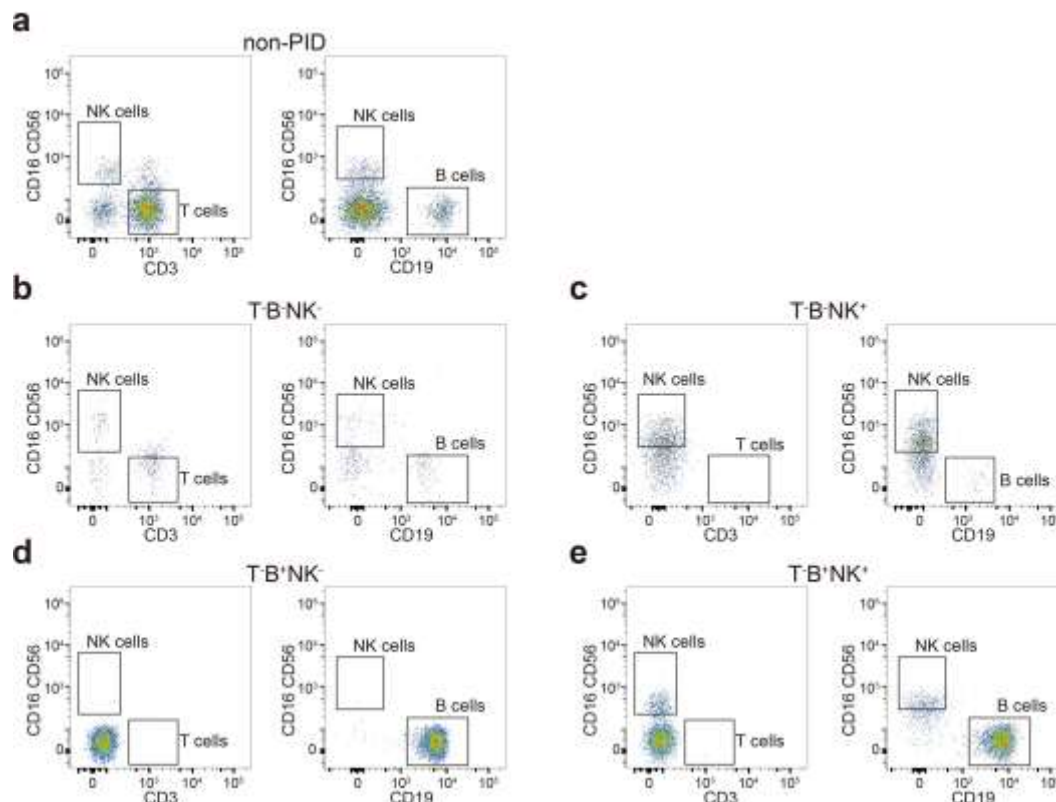


Fig. 1. Representative example of flow cytometry gating strategy and identification of specific lymphocyte subsets. Lymphocytes were selected based on their side-scatter and CD45 positive staining. Subsequently, T lymphocytes were identified as T cells (CD3⁺). Non-CD3⁺ lymphocytes were identified as B cells (CD19⁺) or NK cells (CD16⁺CD56⁺). Non-PID patients are shown in (b). The four SCID subgroups are shown in c–f.

subpopulations. Thirty-five patients were confirmed as SCID, while 622 young patients (< 2 years) who were initially suspected as suffering from PID were later confirmed to be affected by non-SCID diseases. Confirmed diagnoses of SCID were made by pediatricians based on the age < 2 years, low lymphocyte count and clinical profile suggestive of SCID. Patients with SCID are typically defined as with very low level of T cells (< 300 cells/ μ L) and/or with strong clinical presentation of SCID (recurrent infections and failure to thrive), as well as supportive SCID familial history. Clinical profile included failure to thrive, repetitive infections, oral thrush, pneumonitis and other clinical features characteristic of SCID. Information on clinical manifestations, familial history of SCID and consanguinity were collected from medical records. Blood samples were obtained by venipuncture.

2.2. Immunophenotyping

Lymphocyte subpopulations were determined from peripheral whole blood by lyse, no-wash flow cytometry

protocol [9]. Fluorochrome-labeled monoclonal antibodies were used to identify and estimate the percentage of CD4⁺ T and CD8⁺ T, B and NK lymphocyte subpopulations. The following antibodies were used: PerCP-CD45, FITC-CD3, PE-CD8, PE-CD56, PE-CD16, APC-CD19 and APC-CD4 (all from BD Sciences). Sample acquisition was performed using a FACS Canto II cytometer (BD Sciences) and data analysis was done using FlowJo software (Tree Star, Inc).

2.3. Gating strategy

Data were analyzed in FlowJo software (BD Biosciences). Cells were initially gated for lymphocytes (CD45 versus FSC-A). CD3⁺ surface expression was then determined. CD3⁺ cells were examined for CD19, CD16 and CD56 expression. The numbers of following lymphocyte subpopulations were determined: lymphocytes (CD45⁺), T lymphocytes (CD3⁺), B lymphocytes (CD19⁺), NK cells (CD3⁺, CD16⁺ and/or CD56⁺). Representative example of gating strategy and iden-

Table 1
Demographic data of patients with severe combined immunodeficiency and children with non-PID

	Cohort size	Sex ratio (M/F)	Median age in months (min & max)	Consanguinity	SCID familial history
All SCID group	35	19/16 (1.19)	3 (0.2–24)	39.5%	68.5%
T ⁺ B ⁺ SCID subtype	10	4/6 (0.6)	3 (1–24)	33%	50%
T ⁺ B ⁺ SCID subtype	25	15/10 (1.5)	4 (0.2–24)	50%	63%
Non-PID group	622	391/231 (1.69)	7 (0.53–24)	24%	9%

Table 2
Lymphocyte sub-population counts within the four SCID sub-types

VALUES	Non-SCID group			Phenotypes											
				T ⁺ B ⁺ NK ⁺			T ⁺ B ⁺ NK ⁺			T ⁺ B ⁺ NK ⁺			T ⁺ B ⁺ NK ⁺		
				n = 11			n = 14			n = 5			n = 5		
	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max
WBC (median-min-max)	9.86	1.74	18.11	1.88	0.40	5.13	3.13	0.10	6.98	6.41	2.88	1.13	9.20	0.83	1.76
Lymphocytes (median-min-max)	5.9	0.4	22	0.22	0.07	0.58	0.61	0.04	4.06	1.72	0.74	4.10	1.58	0.30	2.48
CD3 ⁺ (median-min-max)	3.8	0.2	15.8	0.15	0.00	0.43	0.08	0.01	0.28	0.01	0.00	1.27	0.21	0.00	1.51
CD4 ⁺ (median-min-max)	2.1	0.08	7.4	0.03	0.00	0.29	0.03	0.00	0.17	0.01	0.00	0.88	0.11	0.00	1.17
CD8 ⁺ (median-min-max)	1.4	0.06	8.4	0.08	0.00	0.38	0.01	0.00	0.14	0.01	0.00	0.30	0.07	0.00	0.57
CD19 ⁺ (median-min-max)	1.06	0.09	11.4	0.02	0.00	0.17	0.03	0.00	0.24	1.27	0.54	3.77	0.71	0.34	1.28
CD56 ⁺ 16 ⁺ (median-min-max)	0.48	0.17	4.9	0.02	0.00	0.06	0.32	0.16	2.43	0.04	0.00	0.06	0.22	0.16	0.73

Median, minimum (min) and maximum (max) values are represented as x1000 cells/ μ L.

tification of specific lymphocytic subsets in non-PID, T⁺B⁺NK⁺, T⁺B⁺NK⁺, T⁺B⁺NK⁺ and T⁺B⁺NK⁺

are shown in Fig. 1. The percentages of each gated lymphocyte subpopulation are directly given by the analysis software. The subpopulation absolute sizes were determined by multiplying the acquired cells count by the volume calculated using a known concentration of True Count[®] beads. Deficiencies in T, B or NK lymphocytes subpopulation were estimated using the minimal cutoff of normal values corresponding to 1-year-old children (T cell: 3.2–7.9 cells/ μ L, B cells: 0.46–3.63 cells/ μ L and NK cells: 0.05–1.64 cells/ μ L) or to 2 years old children (T cell: 2.9–10.00 cells/ μ L, B cells: 0.95–3.72 cells/ μ L, NK cells: 0.17–1.44 cells/ μ L) [9]. The hematological and serological assessment of the subjects also included complete blood count (CBC) and the levels of serum immunoglobulins (IgA, IgM, and IgG). Patients with HIV-positive serology, as well as those with DiGeorge syndrome, were excluded.

2.4. Statistical analysis

Cell counts were expressed as medians (min-max). Statistical analysis was performed using SPSS 20.0. The non-parametric Kruskal-Wallis test was used to determine differences in predominance, biological and clinical features across the study subjects' groups. $p < 0.05$ values were considered statistically significant.

2.5. Ethics

Permissions were obtained from the datasets owner

institutions for this retrospective study to use de-identified information from their databases.

3. Results

3.1. Characteristics of the study groups

Collected demographic information from different SCID groups and non-SCID control group is presented in Table 1. The sex ratio in our SCID group (M/F) was lower compared to non-SCID children (1.19 versus 1.69, respectively; $p < 0.05$). Consanguinity was present in 39.5% of SCID patient's parents, while it was 24% within non-SCID children's parents. The percentage of familial history of PID in the SCID group was also higher in comparison to the non-SCID group (68.5% versus 9%, respectively; $p < 0.05$). We observed that the median age at the time of the first suspicion of SCID was significantly lower in children with confirmed SCID compared to the non-SCID group (90 days versus 210 days, respectively; $p < 0.05$). Furthermore, even among the SCID group, this age was considerably lower in the 24 children with a familial history of SCID, in comparison to those without a family history (75 days versus 165 days, respectively; $p < 0.05$) (data not shown).

3.2. Laboratory findings

Results of lymphocyte phenotyping are summarized in Table 2. As was expected, in our study lymphocyte-

nia (< 1800 lymphocytes/ μL) was observed in 77% of SCID patients with the median being 560 cells/ μL . Lymphopenia, defined as < 1000 to 1500 cells/ μL , is a hallmark of SCID [13]. However, Gossage and Buckley had previously demonstrated that normal infants have much higher lymphocyte numbers than adults (lower limit of the 95% confidence interval is 2000 to 4500 cells/ μL) [13]. Therefore, they suggest that any count lower than 2000 cells/ μL could be considered as lymphopenia within kids. Regardless, a marked blood lymphopenia (< 1000 cells/ μL) was noted in the vast majority of our patients. The exception were three patients who had higher lymphocyte levels. Their lymphocyte counts were 2,700 cells/ μL , 2,500 cells/ μL and 2,300 cells/ μL , respectively. Lymphocyte subpopulation counts were significantly lower within patients of SCID group when compared to the non-PID patients. Only 30% of non-PID patients had lymphocyte numbers under normal range. Nevertheless, six non-PID patients (0.96%) showed values lower than the average value (186 cells/ μL) of a subset of 24 SCID patients (68.6%). The measurement of immunoglobulins was also low in most patients, with the exception of five patients. Kids younger than 6 months of age are known to retain maternal immunoglobulins [35]. These patients, who were all less than 6 months of age, most likely still retained maternal immunoglobulins. Among the SCID subtypes, lymphocyte counts were lower within $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ subtype compared to the $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtype (median of 370 cells/ μL versus 1650 cells/ μL , respectively; $p < 0.05$).

The remaining 11 SCID patients had extremely low number of T cells (5 cells/ μL). As expected, in our study, 30 SCID patients (85.7%) had an absolute count of T cells of < 300 cells/ μL . The partitioning of SCID patients into subtypes demonstrated that the $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ and the $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtypes are more highly represented in comparison with the other subtypes ($\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ and the $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$). The distribution of T, B and NK cells counts within the non-PID and the four SCID subtypes are shown in Fig. 2. Within the patients with $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ subtype, 52% of patients

showed a complete absence of T cells (T cell count = 0) (Fig. 2). Similarly, within the patients with $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtype, 57% had T cell count of zero. Both $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ and $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtype of SCID patients had similar percentage of patients with an absence of B cells. The

percentage of patients lacking B cells was 37.5% for $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ and 35.3% for $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$. Patients with $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ more frequently showed an absence of NK cells in comparison to $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtype (25% vs 14% respectively, $p < 0.005$). Remarkably, two sub-

jects from the $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ subtype (5.7%) had T cell counts in the range between 300 to 500 cells/ μ (Fig. 2). These two patients were clinically diagnosed as SCID taking into account other clinical criteria. In fact, these two patients manifested repetitive respiratory infection, failure to thrive, meningitis and urinary tract infections since their first months of life. One of these patients died and the T cell count in the other dropped to less than 300 cells/ μL when re-tested 3 months later. This later patient had positive familial history of SCID and the family was consanguineous. These findings are consistent with the proposal of Roifman et al. suggesting that patients with typical SCID could be better identified by a threshold of < 500 circulating $\text{CD}3^+$ T cells since T cells from such patients had markedly decreased *in vitro* responses to phytohemagglutinin (PHA) [28]. Moreover, two patients from the $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtype (5.7%) and one patient from the $\text{T}^-\text{B}^-\text{NK}^+$ subtype (2.85%) had T cell counts > 500 cells/ μ (Fig. 2). One of the patients was of $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtype. This patient suffered from respiratory infection, diarrhea and urinary tract infection. The other two patients were of $\text{T}^-\text{B}^+\text{NK}^+$ subtype. Both manifested respiratory infection and diarrhea. Although the T cell values for these 3 patients are atypical for SCID, and more similar to CID [28], all 3 patients across both subtypes had positive family history of SCID. When re-tested after 6 months, the T cell counts for all 3 patients dropped to less than 300 cells/ μL . The percent incidence of the SCID subtypes in Morocco (this study and [10]) is compared with percent incidence of SCID in Brazil [19], Greece [21], India [2], Iran [11] and Italy [8] in Table 3.

3.3. Clinical findings

The distribution of the clinical manifestations within the study patient groups is represented in Fig. 3. In general, respiratory infections, failure to thrive and diarrhea were observed to be the most frequently present clinical manifestation within the SCID group, while the non-PID group most commonly presented with respiratory infections and diarrhea. Meningitis was observed more frequently in SCID patients in comparison with non-PIDs. Urinary tract infections, oral thrush, CMV infection and disseminated BCG infection after vaccination was only observed in the SCID group and not in non-PID group. By contrast, sepsis was more prevalent in non-PID group.

Distribution of clinical manifestations within the four subgroups of SCID patients is represented in the Fig. 4. Respiratory infections were observed across all the

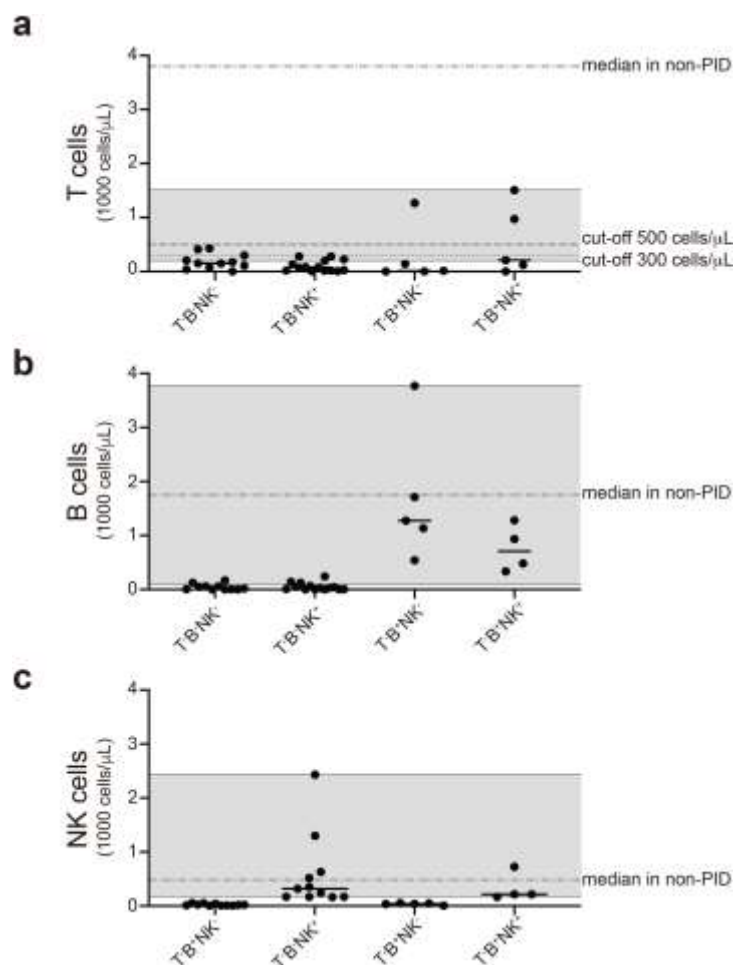


Fig. 2. Lymphocyte subpopulation counts within SCID subgroups. Distribution of independent data for T cells (a), B cells (b) and NK cells (c) counts in the four SCID subgroups are graphically represented with the cut-offs as well as the median in non-PID patients (indicated by dotted lines). Gray area represents the range where values measured within SCID and non-PID patients overlap.

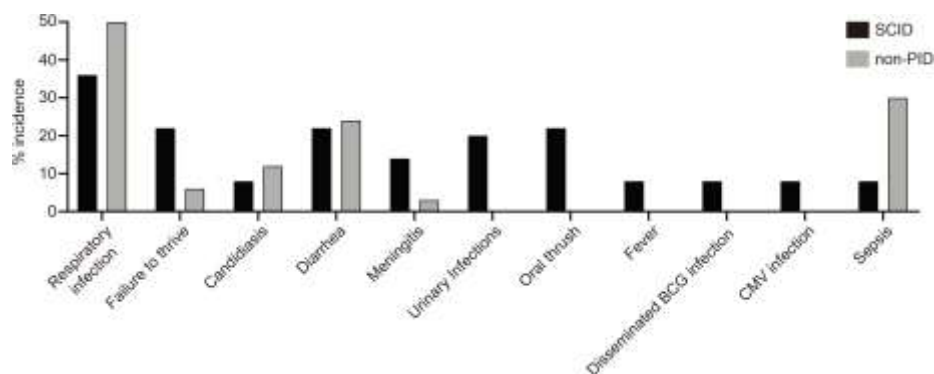


Fig. 3. Clinical manifestations in non-PID and SCID patients. Graphical representation of frequency of different clinical manifestations associated with SCID in SCID and non-PID patient groups. Mann-Whitney test, n.s. = non-significant, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and **** $p < 0.0001$.

Table 3
Comparison of incidence (%) of SCID subtypes in Morocco and other countries

Country	Total number of patients	Incidence of SCID subtypes <i>n</i> (%)				Sex ratio (M/F)
		T ⁺ B ⁺ NK ⁻	T ⁺ B ⁺ NK ⁺	T ⁻ B ⁺ NK ⁻	T ⁻ B ⁺ NK ⁺	
Morocco (this study)	35	11 (31.4%)	14 (40%)	5 (14.3%)	5 (14.3%)	19/16 (1.19)
Morocco (El Maataoui et al.) ³	30	2 (8%)	14 (56%)	3 (12%)	6 (24%)	17/13 (1.31)
Brazil (Mazzucchelli et al.) ⁵	70	17 (24.3%)	23 (33%)	8 (11.4%)	15 (21.4%)	49/21 (2.33)
Greece (Michos et al.) ⁶	30	2 (6.7%)	12 (40%)	6 (20%)	3 (10%)	19/11 (1.73)
India (Aluri et al.) ¹	57	10 (17.5%)	12 (21%)	14 (25%)	2 (3.5%)	40/17 (2.35)
Iran (Fazlollahi et al.) ⁴	63	15 (23.8%)	22 (34.9%)	9 (14.3%)	10 (15.9%)	43/20 (2.15)
Italy (Cirillo et al.) ²	111	13 (12%)	17 (15%)	18 (16%)	19 (17%)	63/48 (1.31)

Notes: ¹J. Aluri, M. Desai, M. Gupta, A. Dalvi, A. Terance, S.D. Rosenzweig, J.L. Stoddard, J.E. Niemela, V. Tamankar, S. Mhatre, U. Bargir, M. Kulkarni, N. Shah, A. Aggarwal, H.P. Lashkari, V. Krishna, G. Govindaraj, M. Kalra and M. Madkaikar, Clinical, Immunological, and Molecular Findings in 57 Patients With Severe Combined Immunodeficiency (SCID) From India, *Front Immunol* **10** (2019), 23. ²E. Cirillo, C. Cancrini, C. Azzari, S. Martino, B. Martire, A. Pession, A. Tommasini, S. Naviglio, A. Finocchi, R. Consolini, P. Pierani, I. D'Alba, M.C. Putti, A. Marzollo, G. Giardino, R. Prencipe, F. Esposito, F. Grasso, A. Scarselli, G. Di Matteo, E. Attardi, S. Ricci, D. Montin, F. Specchia, F. Barzaghi, M.P. Cicalese, G. Quaremba, V. Lougaris, S. Giliani, F. Locatelli, P. Rossi, A. Aiuti, R. Badolato, A. Plebani and C. Pignata, Clinical, Immunological, and Molecular Features of Typical and Atypical Severe Combined Immunodeficiency: Report of the Italian Primary Immunodeficiency Network, *Front Immunol* **10** (2019), 1908. ³A. El Maataoui and Z. Ouzzif, [Haemoglobin C/OArab: About a family], *Pathol Biol (Paris)* **60** (2012), 320–321. ⁴M.R. Fazlollahi, Z. Pourpak, A.A. Hamidieh, M. Movahedi, M. Houshmand, M. Badalzadeh, M. Nourizadeh, M. Mahloujirad, S. Arshi, M. Nabavi, M. Gharagozlou, A. Khayatizadeh, A. Dabbaghzadeh, L. Atarod, F. Zandieh, M. Sadeghi Shabestary, M. Mesdaghi, I. Mohammadzadeh, S.A. Mahdavian, M.H. Eslamian, F. Pesaran, E. Bahraminia, F. Abolnezhadian, Z. Arij and M. Moin, Clinical, Laboratory, and Molecular Findings for 63 Patients With Severe Combined Immunodeficiency: A Decade's Experience, *J Invest Allergol Clin Immunol* **27** (2017), 299–304. ⁵J.T. Mazzucchelli, C. Bonfim, G.G. Castro, A.A. Condino-Neto, N.M. Costa, L. Cunha, E.O. Dantas, V.M. Dantas, M.I. de Moraes-Pinto, J.F. Fernandes, H.C. Goes, E. Goudouris, A.S. Grumach, L.M. Guirau, G. Kuntze, M.C. Mallozzi, F.P. Monteiro, L.S. Moraes, V. Nudelman, J.A. Pinto, M.C. Rizzo, A.C. Porto-Neto, P. Roxo-Junior, M. Ruiz, V.E. Rullo, A. Seber, O.A. Takano, F.S. Tavares, E. Toledo, M.M. Vilela, and B.T. Costa-Carvalho, Severe combined immunodeficiency in Brazil: management, prognosis, and BCG-associated complications, *J Invest Allergol Clin Immunol* **24** (2014), 184–191. ⁶A. Michos, M. Tzanoudaki, A. Villa, S. Giliani, G. Chrousos and M. Kanariou, Severe combined immunodeficiency in Greek children over a 20-year period: rarity of gammac-chain deficiency (X-linked) type, *J Clin Immunol* **31** (2011), 778–783.

SCID groups, except T⁺B⁺NK⁺. While T⁺B⁺NK⁻, T⁺B⁺NK⁺ and T⁻B⁺NK⁺ subgroups presented with failure to thrive, a higher percentage of patients from T⁺B⁺NK⁺ subtype had this presentation (34%; *p* < 0.05), compared to other subtypes. Additionally, within the SCID subgroups, The T⁻B⁺NK⁺ subtype showed a higher percentage of patients suffering from urinary tract infections (50%; *p* < 0.05), compared to other subtypes. A higher percentage of patients from T⁺B⁺NK⁻ subtype had diarrhea (40%; *p* < 0.05) compared to other subtypes. Additionally, a comparison of the clinical manifestations in our cohort with that of studies from China [36], Egypt [25], France [31], India [2], Iran [11] and Italy [8] is presented in Table 4.

4. Discussion

The most intriguing finding in our study is that some SCID patients have unexpectedly high lymphocyte and T cell numbers. Diagnostic criteria of SCID mentions that T cell count should be lower than the cut off of 300 cells/ μ L [18]. The majority of our cases (85.7%) did match the criteria of < 300 T cells/ μ L. Nevertheless, two SCID patients (5.7%) of T⁺B⁺NK⁻ subtype had T cell counts between 300–500 cells/ μ L. Surprisingly,

we also found that the T cell counts of three patients (8.7%) were > 500 cells/ μ L. Leaky expression of the mutated genes or mutations in genes that function after the development of T cells can explain this surprisingly high number of T cells. Although our patients presented with the classical symptoms of SCID, patients identified with SCID or PID often undergo subsequent genetic testing for confirmation. Unfortunately, neither molecular nor T cell functional exploration [34] was possible for the patients in our cohort. We rarely detected non-PID patients with low lymphocyte counts. These could be transient lymphopenia caused by infections that induce immune lymphocyte activation and binding to endothelium [14]. Alternatively, it could be caused by glucocorticoids that induce apoptosis of lymphocytes [30]. Collectively, our studies indicate that future diagnosis of SCID in Morocco can be improved by not simply depending on < 300 T cells/ μ L or even < 500 T cells/ μ L. Instead, immunophenotyping should also include quantitation of naïve and activation markers. A recent paper from the EuroFlow consortium recommends using CD62L⁺CD45RO⁻HLA-DR⁻CD31⁺ for recent thymic emigrants, CD62L⁺CD45RO⁻HLA-DR⁻ for naïve CD8⁺ and CD4⁺ T cells while eliminating activated HLA-DR⁺ cells as well as TCR $\gamma\delta$ ⁺ cells, when assaying for functional T cell deficiencies [15]. *Ex vivo*

Table 4
Comparison of presentation (%) of clinical features of SCID in Morocco and other countries

Clinical manifestations	This study	China, 2013 ⁶	Egypt, 2009 ⁴	France, 1993 ⁵	India, 2019 ¹	Iran, 2017 ³	Italy, 2019 ²
Lung/respiratory infections	36%	86.36%	100%	58%	66%	77.80%	67%
Persistent diarrhea	22%	77.27%	89.74%	61%	35%	23.80%	24%
Failure to thrive	22%	38.64%	94.74%	NR	60%	20.6%	17%
Meningitis	14%	15.91%	10.53%	4.40%	NR	NR	3%
Candidiasis	8%	45.45%	94.74%	34%	21%	46%	17%
CMV infections	8%	4.55%	NR	NR	3.50%	NR	16%
Disseminated infection following BCG	8%	41.18%	21.05%	35.71%	12%	34.90%	4.50%

NR, not reported. Notes: ¹J. Aluri, M. Desai, M. Gupta, A. Dalvi, A. Terance, S.D. Rosenzweig, J.L. Stoddard, J.E. Niemela, V. Tamankar, S. Mhatre, U. Bargir, M. Kulkarni, N. Shah, A. Aggarwal, H.P. Lashkari, V. Krishna, G. Govindaraj, M. Kalra and M. Madkaikar, Clinical, Immunological, and Molecular Findings in 57 Patients With Severe Combined Immunodeficiency (SCID) From India, *Front Immunol* **10** (2019), 23. ²E. Cirillo, C. Cancrini, C. Azzari, S. Martino, B. Martire, A. Pession, A. Tommasini, S. Naviglio, A. Finocchi, R. Consolini, P. Pierani, I. D'Alba, M.C. Putti, A. Marzollo, G. Giardino, R. Prencipe, F. Esposito, F. Grasso, A. Scarselli, G. Di Matteo, E. Attardi, S. Ricci, D. Montin, F. Specchia, F. Barzaghi, M.P. Cicalese, G. Quaremba, V. Lougaris, S. Giliiani, F. Locatelli, P. Rossi, A. Aiuti, R. Badolato, A. Plebani and C. Pignata, Clinical, Immunological, and Molecular Features of Typical and Atypical Severe Combined Immunodeficiency: Report of the Italian Primary Immunodeficiency Network, *Front Immunol* **10** (2019), 1908. ³M.R. Fazlollahi, Z. Pourpak, A.A. Hamidieh, M. Movahedi, M. Houshmand, M. Badalzadeh, M. Nourizadeh, M. Mahloujirad, S. Arshi, M. Nabavi, M. Gharagozlou, A. Khayatzaadeh, A. Dabbaghzade, L. Atarod, F. Zandieh, M. Sadeghi Shabestary, M. Mesdaghi, I. Mohammadzadeh, S.A. Mahdavian, M.H. Eslamian, F. Pesaran, E. Bahraminia, F. Abolnezhadian, Z. Arij and M. Moin, Clinical, Laboratory, and Molecular Findings for 63 Patients With Severe Combined Immunodeficiency: A Decade's Experience, *J Invest Allergol Clin Immunol* **27** (2017), 299–304. ⁴S.M. Reda, H.M. Afifi and M.M. Amine, Primary immunodeficiency diseases in Egyptian children: a single-center study, *J Clin Immunol* **29** (2009), 343–351. ⁵J.L. Stephan, V. Vlekova, F. Le Deist, S. Blanche, J. Donadieu, G. De Saint-Basile, A. Durandy, C. Griscelli and A. Fischer, Severe combined immunodeficiency: a retrospective single-center study of clinical presentation and outcome in 117 patients, *J Pediatr* **123** (1993), 564–572. ⁶C.M. Yao, X.H. Han, Y.D. Zhang, H. Zhang, Y.Y. Jin, R.M. Cao, X. Wang, Q.H. Liu, W. Zhao and T.X. Chen, Clinical characteristics and genetic profiles of 44 patients with severe combined immunodeficiency (SCID): report from Shanghai, China (2004–2011), *J Clin Immunol* **33** (2013), 526–539.

assays such as PHA activation of T cells should also be performed along with immunophenotyping.

Consanguineous marriages in populations increase the prevalence of autosomal recessive SCID [12,29,32, 33]. In our study, positive consanguinity was found in 34% and information was not available for 14% of patients. Albeit significantly less than the 80% identified in an Iranian study [37], consanguinity in our cohort is still relatively high. The most common SCID subtype observed in our studies was $T^+B^-NK^+$, which is autosomal recessive. This finding is identical to previous reports from Mediterranean countries such as by Michos et al. [21] from Greece and by El Maataoui et al. [10] from Morocco. Sex ratio in our cohort was similar to the one found by El Maataoui et al. [10] but was lower compared to those described in other studies [17,18]. In summary, our cohort is characterized by high consanguinity and prevalence of autosomal recessive SCIDs, and not X-linked SCID that displays a more significant male bias.

The percentage of patients in our study with a positive history of immunodeficiency in the family was 68.5%. This number is near to the 50% observed in an Iranian study [1]. In our study, the patients with SCID familial history were diagnosed earlier in comparison to the other SCID patients. A similar result was found in the study by Stephan et al. [31]. This is probably

because families with history of SCID are more aware of this disease state through previous experiences. The majority of SCID infants in Morocco are diagnosed in a specialized pediatric medical center, often in a different city, after the family travels extensive distances to seek medical intervention. The understanding of SCID is generally poor without a family history and the symptoms are confused with repeated bouts of common infections. Albeit the diagnosis was earlier than SCID patients with no family history, it still took 75 days from time of birth. Brown et al. recently reported that detection of SCID at birth because of positive family history can improve outcome by over 90% [5]. Universal newborn screening could radically transform the outcome of SCID in Morocco, but in its absence, at the least Moroccan patients with positive family history should be tested at birth. Family history-based recommendation for testing at birth is likely to greatly increase the outcome in the interim, while we await universal newborn screening.

The clinical findings in the Moroccan cohort were mostly similar with other studies. For example, respiratory infection was the most frequent symptom across all the SCID groups, except in the $T^+B^-NK^+$ subtype, in our study. The exception was probably due to the sample size of the study. Previously, lung and upper airway infections were reported as the most common

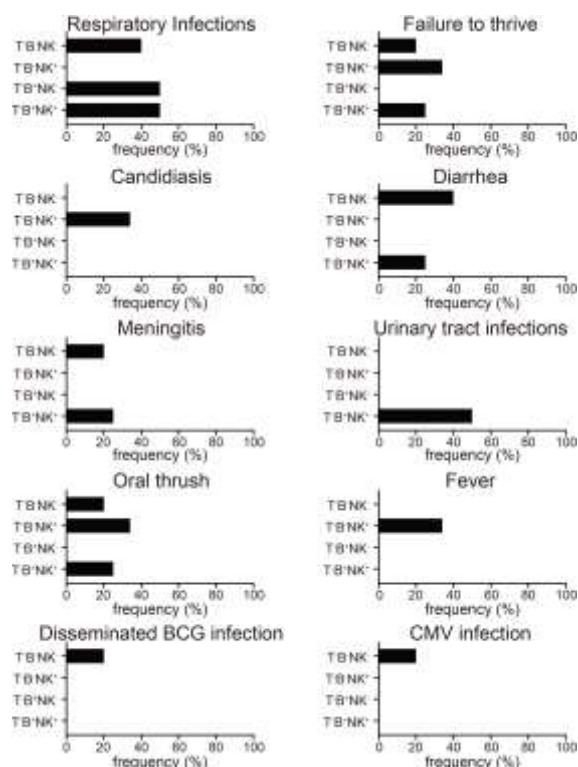


Fig. 4. Distribution of clinical manifestations within four subgroups of SCID patients. Graphical representation of frequency of different clinical manifestations associated with SCID in the four subgroups of SCID patients.

clinical finding in studies from France [31], Italy [8], Iran [11], and India [2]. Meningitis appears to be more common in the Moroccan cohort. Early hematopoietic stem cell transplant (HSCT) is crucial for improving the outcome in SCID. An age over 3.5 months and active infection at the time of HSCT drastically reduces the survival rate [23]. Given the preponderance of viral and fungal infections in SCID patients, it is imperative to contain infections while the patients await HSCT. For example, following the Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy (ASCI)-Transplantation and Primary Immunodeficiency (TAPID) consensus guideline for the use of co-trimoxazole and fluconazole for prophylaxis against *Pneumocystis* and fungal infections, respectively as well as acyclovir and palivizumab for prophylaxis against herpes simplex virus (HSV) and respiratory syncytial virus (RSV) infections may help improve outcome [27]. CMV infections were seen in 8% of Moroccan SCID patients. Since mothers who are breast feeding or who wish to breastfeed are not routinely checked for CMV in Morocco, breastfeeding should be stopped if SCID is suspected. Another recom-

mendation would be to screen for SCID before Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination. BCG, which contains live attenuated *Mycobacterium bovis*, is contraindicated in patients with SCID or with other immunodeficiencies as disseminated infections can occur following vaccination in these patients [17,19,22]. This was seen in 8% of our patients. Compliance with this contraindication is, however, difficult since BCG is given at birth in tuberculosis endemic countries such as Morocco.

5. Conclusion

Family history, consanguinity of patient's parents, clinical profile and an abnormality in lymphocytes subpopulation counts should be considered together for the diagnosis of SCID in Morocco. Physicians must take into consideration the above mentioned signs even when the criteria of T lymphopenia less than 300 cells/ μ L is absent since 14.3% of SCID cases in Morocco did not present with lymphopenia < 300 cells/ μ L. Inclusion of additional markers for immunophenotyping such as CD62L⁺CD45RO⁻HLA-DR⁻CD31⁺ for recent thymic emigrants, CD62L⁺CD45RO⁻HLA-DR⁻ for naïve CD8⁺ and CD4⁺ T cells and eliminating activated HLA-DR⁺ cells as well as TCR $\gamma\delta$ ⁺ cells, along with *ex vivo* functional T cell assays is recommended to improve the diagnosis of SCID. Screening of SCID at birth, at least in families with clinical history of SCID, together with prophylactic treatment with antifungals, delaying BCG vaccination and avoidance of breast feeding may help improve SCID outcome in Morocco.

Acknowledgments

The authors thank the personnel of the Immunology, Allergic and Respiratory Diseases Unit, Children's Hospital of Rabat for their participation in the recruitment of study subjects and sample collections. We also thank Lindsey D. Hughes for help in preparation of this manuscript, including critical reading. We thank Carla V. Rothlin and Sourav Ghosh for helpful discussions and critical reading of the manuscript.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

immunodeficiency and approaches to immune reconstitution, *Annu Rev Immunol* **22** (2004), 625–655.

Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Authors contributions

FS was responsible for the conception and design of the study. AEA, SEF, HT, KS and HB performed the acquisition and analysis of biological data. AEA and NEH were in charge of the collection of clinical features. NEH analyzed the clinical data. EAE, FS, NEH, and YB wrote and revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

References

- [1] A. Aghamohammadi, P. Mohammadinejad, H. Abolhassani, B. Mirminachi, M. Movahedi, M. Gharagozlou, N. Parvaneh, V. Zeiaee, B. Mirsaeed-Ghazi, Z. Chavoushzadeh, A. Mahdavi, M. Mansouri, S. Yousefzadegan, B. Sharifi, F. Zandieh, E. Hedayat, A. Nadjafi, R. Sherkat, B. Shakerian, M. Sadeghi-Shabestari, R.F. Hosseini, F. Jabbari-Azad, H. Ahanchian, F. Behmanesh, M. Zandkarimi, A. Shirkani, T. Cheraghi, A. Fayezi, I. Mohammadzadeh, R. Amin, S. Aleyasin, M. Moghtaderi, J. Ghaffari, S. Arshi, N. Javahertrash, M. Nabavi, M.H. Bemanian, A. Shafiei, N. Kalantari, A. Ahmadiafshar, H.A. Khazaei, L. Atarod and N. Rezaei, Primary immunodeficiency disorders in Iran: Update and new insights from the third report of the national registry, *J Clin Immunol* **34** (2014), 478–490.
- [2] J. Aluri, M. Desai, M. Gupta, A. Dalvi, A. Terance, S.D. Rosenzweig, J.L. Stoddard, J.E. Niemela, V. Tamankar, S. Mhatre, U. Bargir, M. Kulkarni, N. Shah, A. Aggarwal, H.P. Lashkari, V. Krishna, G. Govindaraj, M. Kalra and M. Madhakar, Clinical, immunological, and molecular findings in 57 patients with severe combined immunodeficiency (SCID) from India, *Front Immunol* **10** (2019), 23.
- [3] A. Bahrami, S. Sayyahfar, Z. Soltani, M. Khodadost, B. Moazami and N. Rezaei, Evaluation of the frequency and diagnostic delay of primary immunodeficiency disorders among suspected patients based on the 10 warning sign criteria: A cross-sectional study in Iran, *Allergol Immunopathol (Madr)* (2020).
- [4] A.A. Bousfiha, L. Jeddane, N. El Hafidi, N. Benajiba, N. Rada, J. El Bakkouri, A. Kili, S. Benmiloud, I. Benhsaien, I. Faiz, O. Maataoui, Z. Aadam, A. Aglaguel, L.A. Baba, Z. Jouhadi, R. Abilkassem, M. Bouskraoui, M. Hida, J. Najib, H.S. Alj, F. Ailal and I. Moroccan Society for Primary, First report on the Moroccan registry of primary immunodeficiencies: 15 years of experience (1998–2012), *J Clin Immunol* **34** (2014), 459–468.
- [5] L. Brown, J. Xu-Bayford, Z. Allwood, M. Slatter, A. Cant, E.G. Davies, P. Veys, A.R. Gennery and H.B. Gaspar, Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: The case for newborn screening, *Blood* **117** (2011), 3243–3246.
- [6] R.H. Buckley, Molecular defects in human severe combined

- [7] R.H. Buckley, Transplantation of hematopoietic stem cells in human severe combined immunodeficiency: Long-term outcomes, *Immunol Res* **49** (2011), 25–43.
- [8] E. Cirillo, C. Cancrini, C. Azzari, S. Martino, B. Martire, A. Pession, A. Tommasini, S. Naviglio, A. Finocchi, R. Consolini, P. Pierani, I. D'Alba, M.C. Putti, A. Marzollo, G. Giardino, R. Prencipe, F. Esposito, F. Grasso, A. Scarselli, G. Di Matteo, E. Attardi, S. Ricci, D. Montin, F. Specchia, F. Barzaghi, M.P. Cicalese, G. Quaremba, V. Lougaris, S. Giliani, F. Locatelli, P. Rossi, A. Aiuti, R. Badolato, A. Plebani and C. Pignata, Clinical, immunological, and molecular features of typical and atypical severe combined immunodeficiency: Report of the Italian primary immunodeficiency network, *Front Immunol* **10** (2019), 1908.
- [9] A. El Allam, S. El Fakihi, H. Tahoune, K. Sahmoudi, H. Bousserhane, Y. Bakri, N. El Hafidi and F. Seghrouchni, Age-stratified pediatric reference values of lymphocytes in the Moroccan population, *Hum Antibodies* (2020).
- [10] O. El-Maataoui, F. Ailal, H. Naamane, I. Benhsaien, L. Jed-dane, B. Farouqi, A. Benslimane, N. Jilali, M. Oudghiri and A. Bousfiha, Profil immunophénotypique des déficits immunitaires combinés sévères au Maroc, *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* **26** (2011), 161–164.
- [11] M.R. Fazlollahi, Z. Pourpak, A.A. Hamidieh, M. Movahedi, M. Houshmand, M. Badalzadeh, M. Nourizadeh, M. Mahlouljirad, S. Arshi, M. Nabavi, M. Gharagozlou, A. Khayat-zadeh, A. Dabbagh-zade, L. Atarod, F. Zandieh, M. Sadeghi Shabestary, M. Mesdaghi, I. Mohammadzadeh, S.A. Mahdavian, M.H. Eslamian, F. Pesaran, E. Bahraminia, F. Abolnezhadian, Z. Arij and M. Moin, Clinical, laboratory, and molecular findings for 63 patients with severe combined immunodeficiency: a decade's experience, *J Investig Allergol Clin Immunol* **27** (2017), 299–304.
- [12] H. Golan, I. Dalal, B.Z. Garty, M. Schlesinger, J. Levy, Z. Handzel, B. Wolach, M. Rottem, A. Goldberg, R. Tamir, A. Koren, Y. Levy, Y. Katz, J. Passwell and A. Etzioni, The incidence of primary immunodeficiency syndromes in Israel, *Isr Med Assoc J* **4** (2002), 868–871.
- [13] D.L. Gossage and R.H. Buckley, Prevalence of lymphocytopenia in severe combined immunodeficiency, *N Engl J Med* **323**(1990), 1422–1423.
- [14] K.H. Herbinger, I. Hanus, M. Beissner, N. Berens-Riha, I. Kroidl, F. von Sonnenburg, T. Loscher, M. Hoelscher, H.D. Nothdurft and M. Schunk, Lymphocytosis and lymphopenia induced by imported infectious diseases: A controlled cross-sectional study of 17,229 diseased German travelers returning from the tropics and subtropics, *Am J Trop Med Hyg* **94** (2016), 1385–1391.
- [15] T. Kalina, M. Bakardjieva, M. Blom, M. Perez-Andres, B. Barendregt, V. Kanderova, C. Bonroy, J. Philippe, E. Blanco, I. Pico-Knijnenburg, J. Paping, B. Wolska-Kusnierz, M. Pac, J. Tkaczyk, F. Haerynck, H.H. Akar, R. Formankova, T. Freiburger, M. Svaton, A. Sediva, S. Arriba-Mendez, A. Orfao, J.J.M. van Dongen and M. van der Burg, Euro flow standardized approach to diagnostic immunophenotyping of severe PID in newborns and young children, *Front Immunol* **11**(2020), 371.
- [16] R. Kumrah, P. Vignesh, P. Patra, A. Singh, G. Anjani, P. Saini, M. Sharma, A. Kaur and A. Rawat, Genetics of severe combined immunodeficiency, *Genes Dis* **7** (2020), 52–61.
- [17] B.E. Marciano, C.Y. Huang, G. Joshi, N. Rezaei, B.C. Carvalho, Z. Allwood, A. Ikinogullari, S.M. Reda, A. Gen-nery, V. Thon, F. Espinosa-Rosales, W. Al-Herz, O. Porras, A. Shcherbina, A. Szaflarska, S. Kilic, J.L. Franco, A.C. Gomez

- Raccio, P. Roxo, Jr., I. Esteves, N. Galal, A.S. Grumach, S. Al-Tamemi, A. Yildiran, J.C. Orellana, M. Yamada, T. Morio, D. Liberatore, Y. Ohtsuka, Y.L. Lau, R. Nishikomori, C. Torres-Lozano, J.T. Mazzucchelli, M.M. Vilela, F.S. Tavares, L. Cunha, J.A. Pinto, S.E. Espinosa-Padilla, L. Hernandez-Nieto, R.A. Elfeky, T. Ariga, H. Toshio, F. Dogu, F. Cipe, R. Formankova, M.E. Nunez-Nunez, L. Bezrodnik, J.G. Marques, M.I. Pereira, V. Listello, M.A. Slatter, Z. Nademi, D. Kowalczyk, T.A. Fleisher, G. Davies, B. Neven and S.D. Rosenzweig, BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: Complications, risks, and vaccination policies, *J Allergy Clin Immunol* **133** (2014), 1134–1141.
- [18] N. Matamoros Flori, J. Mila Llambi, T. Espanol Boren, S. Raga Borja and G. Fontan Casariego, Primary immunodeficiency syndrome in Spain: First report of the national registry in children and adults, *J Clin Immunol* **17** (1997), 333–339.
- [19] J.T. Mazzucchelli, C. Bonfim, G.G. Castro, A.A. Condino-Neto, N.M. Costa, L. Cunha, E.O. Dantas, V.M. Dantas, M.I. de Moraes-Pinto, J.F. Fernandes, H.C. Goes, E. Goudouris, A.S. Grumach, L.M. Guirau, G. Kuntze, M.C. Mallozzi, F.P. Monteiro, L.S. Moraes, V. Nudelman, J.A. Pinto, M.C. Rizzo, A.C. Porto-Neto, P. Roxo-Junior, M. Ruiz, V.E. Rullo, A. Seber, O.A. Takano, F.S. Tavares, E. Toledo, M.M. Vilela and B.T. Costa-Carvalho, Severe combined immunodeficiency in Brazil: Management, prognosis, and BCG-associated complications, *J Invest Allergol Clin Immunol* **24** (2014), 184–191.
- [20] F. Mellouli, I.B. Mustapha, M.B. Khaled, H. Besbes, M. Ouederni, N. Mekki, M.B. Ali, B. Lagueche, M. Hachicha, T. Sfar, N. Gueddiche, S. Barsaoui, A. Sammoud, K. Boussetta, S.B. Becher, A. Meherzi, N. Guandoura, L. Boughammoura, A. Harbi, F. Amri, F. Bayoudh, N.B. Jaballah, N. Tebib, A. Bouaziz, A. Mahfoudh, H. Aloulou, L.B. Mansour, I. Chabchoub, R. Boussoffara, J. Chemli, J. Bouguila, S. Hassayoun, S. Hammami, Z. Habboul, A. Hamzaoui, J. Ammar, M.R. Barbouche and M. Bejaoui, Report of the tunisian registry of primary immunodeficiencies: 25-years of experience (1988–2012), *J Clin Immunol* **35** (2015), 745–753.
- [21] A. Michos, M. Tzanoudaki, A. Villa, S. Giliani, G. Chrousos and M. Kanariou, Severe combined immunodeficiency in Greek children over a 20-year period: Rarity of gammac-chain deficiency (X-linked) type, *J Clin Immunol* **31** (2011), 778–783.
- [22] S. Norouzi, A. Aghamohammadi, S. Mamishi, S.D. Rosenzweig and N. Rezaei, Bacillus calmette-guerin (BCG) complications associated with primary immunodeficiency diseases, *J Infect* **64** (2012), 543–554.
- [23] S.Y. Pai, B.R. Logan, L.M. Griffith, R.H. Buckley, R.E. Parrott, C.C. Dvorak, N. Kapoor, I.C. Hanson, A.H. Filipovich, S. Jyonouchi, K.E. Sullivan, T.N. Small, L. Burroughs, S. Skoda-Smith, A.E. Haight, A. Grizzle, M.A. Pulsipher, K.W. Chan, R.L. Fuleihan, E. Haddad, B. Loechele, V.M. Aquino, A. Gillio, J. Davis, A. Knutsen, A.R. Smith, T.B. Moore, M.L. Schroeder, F.D. Goldman, J.A. Connelly, M.H. Porteus, Q. Xi, W.T. Shearer, T.A. Fleisher, D.B. Kohn, J.M. Puck, L.D. Notarangelo, M.J. Cowan and R.J. O'Reilly, Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000–2009, *N Engl J Med* **371** (2014), 434–446.
- [24] C. Picard, H. Bobby Gaspar, W. Al-Herz, A. Bousfiha, J.L. Casanova, T. Chatila, Y.J. Crow, C. Cunningham-Rundles, A. Etzioni, J.L. Franco, S.M. Holland, C. Klein, T. Morio, H.D. Ochs, E. Oksenhendler, J. Puck, M.L.K. Tang, S.G. Tangye, T.R. Torgerson and K.E. Sullivan, International union of immunological societies: 2017 primary immunodeficiency diseases committee report on inborn errors of immunity, *J Clin Immunol* **38** (2018), 96–128.
- [25] S.M. Reda, H.M. Afifi and M.M. Amine, Primary immunodeficiency diseases in Egyptian children: A single-center study, *J Clin Immunol* **29** (2009), 343–351.
- [26] C.E. Reust, Evaluation of primary immunodeficiency disease in children, *Am Fam Physician* **87** (2013), 773–778.
- [27] S. Richards, A.R. Gennery, E.G. Davies, M. Wong, P.J. Shaw, J. Peake, C. Fraser, P. Gray, S. Brothers, J. Sinclair, T. Prestidge, K. Preece, P. Quinn, S. Ramachandran, R. Loh, A. McLean-Tooke, R. Mitchell, T. Cole, I. Australasian Society of Clinical, T. Allergy and G. Immunodeficiency, Diagnosis and management of severe combined immunodeficiency in Australia and New Zealand, *J Paediatr Child Health* **56** (2020), 1508–1513.
- [28] C.M. Roifman, R. Somech, F. Kavadas, L. Pires, A. Nahum, I. Dalal and E. Grunebaum, Defining combined immunodeficiency, *J Allergy Clin Immunol* **130** (2012), 177–183.
- [29] A.F. Saleem, R.D. Ali Khawaja, A.S. Shaikh, S.A. Ali, and A.K. Mehdi Zaidi, Severe combined immune deficiency syndrome, *J Coll Physicians Surg Pak* **23** (2013), 570–573.
- [30] L.K. Smith and J.A. Cidlowski, Glucocorticoid-induced apoptosis of healthy and malignant lymphocytes, *Prog Brain Res* **182** (2010), 1–30.
- [31] J.L. Stephan, V. Vlekova, F. Le Deist, S. Blanche, J. Donadieu, G. De Saint-Basile, A. Durandy, C. Griscelli and A. Fischer, Severe combined immunodeficiency: A retrospective single-center study of clinical presentation and outcome in 117 patients, *J Pediatr* **123** (1993), 564–572.
- [32] F. Suliamann, A. Al-Ghonaïm and H. Harfi, High incidence of severe combined immune deficiency in the eastern province of Saudi Arabia, *Pediatric Asthma, Allergy & Immunology* **19** (2006), 14–18.
- [33] D. Tasher and I. Dalal, The genetic basis of severe combined immunodeficiency and its variants, *Appl Clin Genet* **5** (2012), 67–80.
- [34] J. van der Spek, R.H. Groenwold, M. van der Burg and J.M. van Montfrans, TREC based newborn screening for severe combined immunodeficiency disease: A systematic review, *J Clin Immunol* **35** (2015), 416–430.
- [35] J.A. Winkelstein, M.C. Marino, H.M. Lederman, S.M. Jones, K. Sullivan, A.W. Burks, M.E. Conley, C. Cunningham-Rundles and H.D. Ochs, X-linked agammaglobulinemia: Report on a United States registry of 201 patients, *Medicine (Baltimore)* **85** (2006), 193–202.
- [36] C.M. Yao, X.H. Han, Y.D. Zhang, H. Zhang, Y.Y. Jin, R.M. Cao, X. Wang, Q.H. Liu, W. Zhao and T.X. Chen, Clinical characteristics and genetic profiles of 44 patients with severe combined immunodeficiency (SCID): Report from Shanghai, China (2004–2011), *J Clin Immunol* **33** (2013), 526–539.
- [37] M. Yeganeh, M. Heidarzade, Z. Pourpak, N. Parvaneh, N. Rezaei, M. Gharagozlou, M. Movahedi, M.S. Shabestari, S. Mamishi, A. Aghamohammadi and M. Moin, Severe combined immunodeficiency: A cohort of 40 patients, *Pediatr Allergy Immunol* **19** (2008), 303–306.

Copyright of Human Antibodies is the property of IOS Press and its content may not be copied or emailed to multiple sites or posted to a listserve without the copyright holder's express written permission. However, users may print, download, or email articles for individual use.