

Pédiatrie

Dépistage des nouveau-nés en Suisse pour les déficiences sévères à lymphocytes T et B

Dre ATHINA FOURIKI^a, Dre CAROLINE SCHNIDER^a, Dre KATERINA THEODOROPOULOU^a,
Pr JANA PACHLOPNIK^b, Pr MICHAEL HOFER^a et Pr FABIO CANDOTTI^c

Rev Med Suisse 2021; 17: 68-76

Le déficit immunitaire combiné sévère (DICS) fait partie des formes sévères d'immunodéficience primaire (IDP) avec un tableau clinique fatal sans traitement précoce et définitif, comme la transplantation des cellules souches hématopoïétiques. Une prise en charge adéquate dès les premiers jours de vie va permettre d'améliorer le devenir des patients avec DICS. Une meilleure prise en charge est devenue possible grâce au dépistage néonatal basé sur la mesure des cercles d'excision des récepteurs des cellules T. Ce test a été introduit en Suisse dans une phase pilote à partir de janvier 2019, avec un dépistage supplémentaire via le dosage des cercles d'excision des recombinants Kappa, qui permet d'identifier des formes graves d'IDP se manifestant surtout par une lymphopénie B profonde.

Newborn screening for severe T and B lymphocyte deficiencies in Switzerland

Severe Combined Immunodeficiency (SCID) is one of the most severe forms of Primary Immunodeficiencies (PID) and leads to a potentially fatal course of disease without early and definitive treatment. Adequate management, from the first days of life, can improve the survival and outcome of patients with SCID. This can be achieved through newborn screening (NBS) based on the measurement of T-cell receptor excision circles (TREC). Already present in many countries, this NBS test was introduced in Switzerland in January 2019 on a pilot phase. In addition to the assessment of TRECs, the measurement of kappa recombinant excision circles (KREC) has also been introduced at the same time and allows the identification of severe forms of PID characterized by profound B cell lymphopenia.

INTRODUCTION

Les immunodéficiences primaires (IDP) constituent un groupe hétérogène de plus de 400 maladies, résultant d'erreurs innées de l'immunité.¹ Leur phénotype clinique est large, associant une susceptibilité aux infections, allergies, cancers,

maladies auto-immunes et inflammatoires. Elles sont associées à une morbidité et une mortalité importantes et sont classées en fonction de la partie du système immunitaire touchée, comme décrit dans le **tableau 1**.

Le déficit immunitaire combiné sévère (DICS), la forme la plus sévère d'IDP, comporte un groupe d'affections avec des défauts génétiques différents, mais un phénotype commun. Les nouveau-nés peuvent être asymptomatiques, mais développent durant les premiers mois de vie des infections à répétition (virales, bactériennes et fongiques) par des germes opportunistes, des atteintes respiratoires, des diarrhées et un retard de croissance. Ils sont également vulnérables aux infections secondaires induites par les vaccins vivants atténués² et à une dysimmunité. Le DICS est caractérisé par l'absence ou une diminution profonde des lymphocytes T, dues à une anomalie de leur développement dans le thymus. Les valeurs des cellules B et NK peuvent être normales,

TABEAU 1	Catégories d'immunodéficiences primaires
----------	--

GM-CSF: facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages; Ig: immunoglobuline; IL-17: interleukine 17; IL-22: interleukine 22; IDP: immunodéficience primaire.

- Immunodéficiences en cellules T et en anticorps
 - Déficit immunitaire combiné sévère (DICS), syndrome d'Omenn
- Immunodéficiences combinées associées avec/ou syndrome bien défini
 - Syndrome d'hyper-IgE autosomique dominant (AD-HIES), syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)
- Déficits principalement en anticorps
 - Agammaglobulinémie liée à l'X
 - Déficit immunitaire commun variable (DICV)
 - Déficit sélectif en IgA
 - Déficit en sous-classe d'IgG
- Maladies de dysrégulation immunologique
 - Lymphohistiocytose hémophagocytaire (LHH), syndrome lymphoprolifératif avec auto-immunité (ALPS)
- Défauts congénitaux du nombre ou de la fonction (ou des deux) des phagocytes
 - Granulomatose septique chronique
- Défauts de l'immunité innée
 - Susceptibilité pour: encéphalite à herpès simplex, infections mycosiques, parasitaires ou invasives à bactéries pyogènes
- Déficits en complément
 - Syndrome hémolytique urémique atypique, angioedème héréditaire
- Phénoopies des IDP
 - Immunodéficiences associées à des mutations somatiques (*NLRP3*, *TNFRSF6*) ou aux autoanticorps (anti-IL17, 22, interféron gamma, C1-inhibiteur, GM-CSF)

^aUnité d'immunologie, allergologie et rhumatologie pédiatrique, Service de pédiatrie, Département femme-mère-enfant, CHUV, 1011 Lausanne, ^bService d'immunologie pédiatrique, Hôpital universitaire pour enfants de Zurich, 8032 Zurich, ^cService d'immunologie et allergie, Département de médecine, CHUV et Université de Lausanne, 1011 Lausanne
athina.fouriki@chuv.ch | caroline.schnider@chuv.ch
aikaterini.theodoropoulou@chuv.ch | jana.pachlopnik@kispi.uzh.ch
michael.hofer@chuv.ch | fabio.candotti@chuv.ch

réduites ou absentes selon le défaut moléculaire. Par conséquent, les patients atteints n'ont pas d'immunité cellulaire et leur immunité humorale est fortement affaiblie.

La transplantation des cellules souches hématopoïétiques (TCSH) est un traitement efficace pour le DICS et permet de corriger la maladie à long terme. Pour certains patients, la thérapie génique est également une option lorsqu'il n'y a pas de donneur compatible pour une TCSH,³⁻⁶ en particulier dans deux formes de DICS (X-SCID, X-linked Severe Combined Immunodeficiency) et ADA-SCID (Adenosine Deaminase Severe Combined Immunodeficiency).⁷⁻¹⁰ La thérapie enzymatique substitutive est disponible pour l'ADA-SCID et est souvent utilisée comme mesure provisoire jusqu'à ce qu'une thérapie définitive par TCSH ou une thérapie génique soit disponible. Les IDP ne présentant pas de défauts intrinsèques des lymphocytes, mais des défauts thymiques, peuvent bénéficier d'une transplantation thymique.

Le DICS est considéré comme une «urgence pédiatrique et immunologique»,¹¹ car sans intervention efficace, il est associé à un taux de mortalité proche de 100% dans l'âge de 2 ans. Le diagnostic à la naissance par le biais du dépistage néonatal (DNN) permettrait d'éviter l'apparition d'infections et d'autres complications précoces potentiellement sévères et d'améliorer de manière significative le résultat d'une TCSH.¹²⁻¹⁴

Le déficit immunitaire humoral (DIH) est une pathologie caractérisée par un défaut de production des anticorps, qui a comme conséquence l'incapacité à produire une réponse immunitaire efficace, en particulier contre les agents pathogènes extracellulaires. Le DIH se présente par un spectre de symptomatologie clinique, allant des formes asymptomatiques (déficits sélectifs en immunoglobulines A (IgA)) aux agammaglobulinémies congénitales sévères dans lesquelles la production de toutes les immunoglobulines est fortement diminuée en raison du déficit de production des lymphocytes B.

L'incidence des lymphopénies sévères nécessitant une intervention immédiate est estimée à environ 1/50 000 naissances vivantes (NV) pour les DICS et 1/10 000 NV pour les lymphopénies T sévères toutes origines confondues.²

DÉPISTAGE NÉONATAL

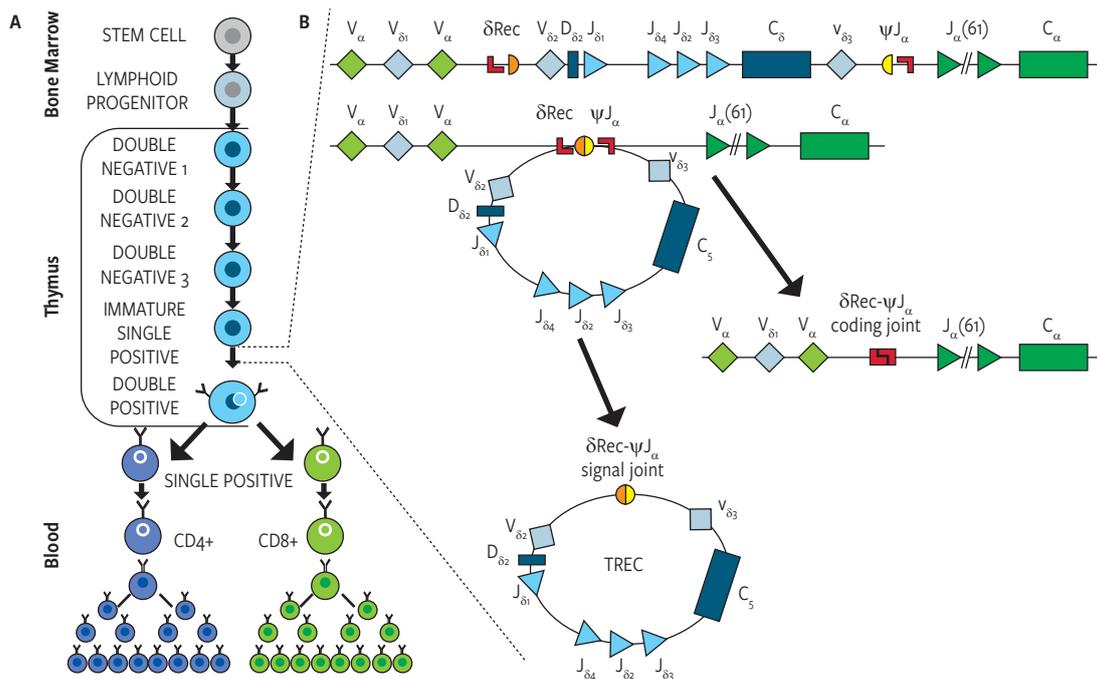
Le DNN est une pratique courante dans les pays développés. Son objectif est l'identification précoce des nouveau-nés asymptomatiques atteints de diverses maladies, pour lesquelles une intervention précoce permet d'éviter des séquelles graves et qui disposent d'un traitement efficace.¹⁵ L'ajout d'une nouvelle entité au test de DNN se base sur le respect des

FIG 1 Différenciation des lymphocytes T et formation des TREC

A. Les progéniteurs lymphoïdes, qui se sont développés à partir de cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse, migrent vers le thymus pour terminer leur maturation antigène indépendante en cellules T fonctionnelles. Dans le thymus, les cellules T développent leurs marqueurs spécifiques et sont soumises à une évaluation thymique par sélections positive et négative.

B. Comme les segments du gène *TCRD* sont insérés dans les segments du gène *TCRA* le long du chromosome 14q11 (locus *TCRAD*), suite à la recombinaison V(D)J du locus *TCRD*, le locus entier est supprimé de préférence par des réarrangements δ REC- ψ J α . Ce processus donne lieu à une jonction de signal δ REC- ψ J α sur un cercle d'excision (TREC) et à une jonction codante δ REC- ψ J α dans le génome.

TREC: cercles d'excision des récepteurs des cellules T; V(D)J: domaines variables, de diversité, et de jonction.



(Adaptée de réf.³⁷).

principes publiés par Wilson et Jungner en 1968. Les dix critères qui doivent être remplis sont présentés dans le **tableau 2**.¹⁶ Le DICS, qui répond à chacun de ces critères, est donc éligible pour les programmes de DNN.

L'impact potentiel d'un diagnostic précoce par le biais du DNN sur le traitement du DICS a été suggéré par de nombreuses études réalisées par le Primary Immune Deficiency Treatment Consortium (PIDTC) en Amérique du Nord¹⁷ et le registre SCETIDE en Europe. Le PIDTC a démontré dans une analyse rétrospective de 240 patients que les nourrissons transplantés à un âge supérieur à 3,5 mois et qui avaient une infection active n'avaient que 50% de survie, contrairement à ceux transplantés plus précocement qui avaient 94% de survie.¹⁸ Ces chiffres corroborent les données du registre SCETIDE et d'autres études.^{12,13,19}

SCREENING

Cercles d'excision des récepteurs des cellules T (TREC)

Durant leur maturation normale dans le thymus, les cellules T subissent un épissage et un réarrangement du gène de leur récepteur (T Cell Receptor (TCR)). Les TREC sont de petits

TABLEAU 2 Critères de Wilson et Jungner pour le dépistage néonatal

1. La condition recherchée doit être un problème de santé important
2. Il devrait y avoir un traitement accepté pour les patients atteints d'une maladie identifiée
3. Des moyens du diagnostic et de traitement devraient être disponibles
4. Il doit exister un stade symptomatique latent ou précoce identifiable
5. Il doit exister un test ou un examen approprié
6. Le test doit être acceptable pour la population
7. L'histoire naturelle de l'affection, y compris l'évolution de la maladie latente à la maladie déclarée, doit être bien connue
8. Il faudrait convenir d'une politique concernant les personnes à traiter
9. Le coût de la détection des cas (y compris le diagnostic) doit être économiquement équilibré par rapport aux dépenses possibles de soins médicaux dans leur ensemble
10. La recherche de cas devrait être un processus continu et non un projet «une fois pour toutes»
11. En outre: l'efficacité des programmes de dépistage doit être scientifiquement prouvée et les avantages du dépistage doivent être supérieurs aux inconvénients

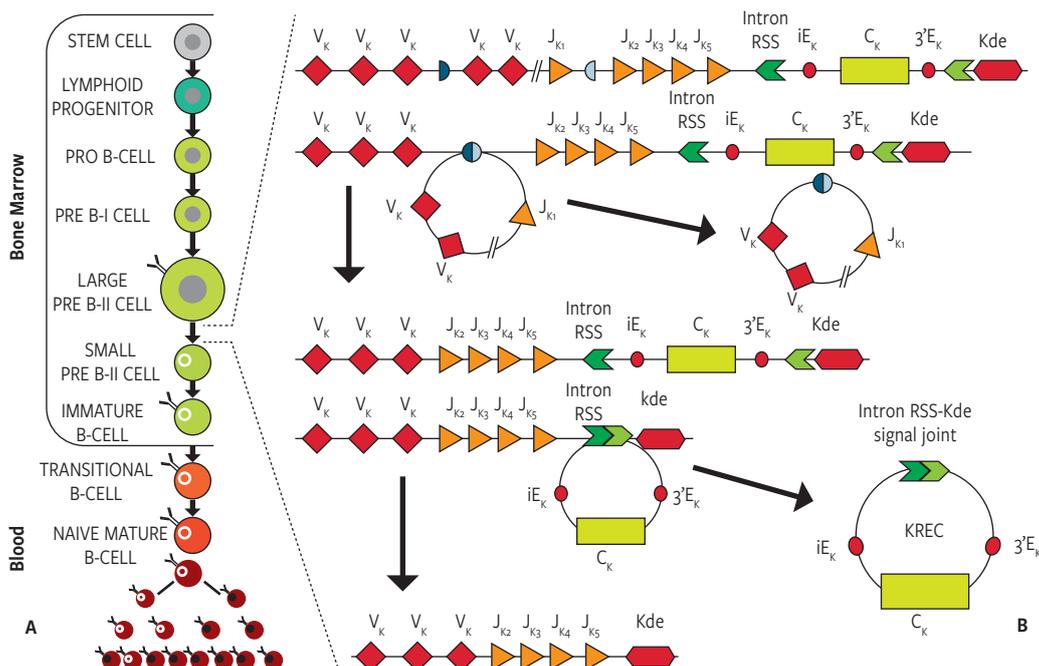
morceaux circulaires d'ADN épisomiques qui se forment lors du réarrangement du TCR (**figure 1**). Il est important de noter que les TREC sont stables. Ils ne se répliquent pas lorsque les cellules se divisent, mais sont dilués par la prolifération cellulaire et ne sont pas sujets à la dégradation, raison pour

FIG 2 Différenciation des cellules B et formation des KREC

A. Le développement des cellules B commence lorsque les cellules souches lymphoïdes se différencient en cellules B progénitrices (cellules pro-B), qui sont les premières cellules distinctes de lignée B. Au cours de la phase de maturation antigène indépendante, des cellules B immunocompétentes exprimant des IgM et des IgD membranaires sont générées dans la moelle osseuse. Seulement environ 10% des cellules B potentielles atteignent la maturité et quittent la moelle osseuse. Les cellules B naïves de la périphérie meurent en quelques jours, à moins qu'elles ne rencontrent un antigène protéique soluble et des cellules Th activées. Une fois activées, les cellules B prolifèrent dans les organes lymphoïdes secondaires.

B. La différenciation des cellules B du stade de cellules souches au stade de cellules plasmatisques est caractérisée par un réarrangement des Ig V(D)J, des mutations somatiques et un changement de classe d'Ig. La recombinaison V(D)J au sein du locus IGH aboutit à une jonction codante V_K-J_K, suivie d'un réarrangement des éléments RSS et Kde de l'intron avec suppression de l'exon C_K et des amplificateurs. Le joint codant reste présent dans le génome, tandis que le KREC avec le joint signal correspondant est exclu en tant que fragment d'ADN stable et circulaire.

Ig: immunoglobuline; KREC: cercles d'excision des recombinants Kappa; V(D)J: domaines variables, de diversité, et de jonction.



(Adaptée de réf.37).

laquelle ils sont considérés comme un marqueur idéal de détection des cellules T naïves.

Les TREC ont été visualisés pour la première fois au microscope électronique dans les thymocytes de souris en 1982. Il a ensuite été démontré qu'ils étaient le produit du réarrangement des TCR. Douek et coll. ont mis en évidence leur spécificité aux cellules T naïves et des taux réduits en cas d'infection par le VIH.¹⁵ En 2005, Chan et Puck ont décrit pour la première fois l'application du test TREC dans le dépistage à grande échelle des DICS et d'autres formes de lymphopénie à cellules T dans la population.²⁰ La première étude pilote de dépistage de DICS a débuté au Wisconsin en 2008, sous la direction de Routes et Verbsky.²¹ La même année, le premier enfant atteint de DICS est identifié par DNN et transplanté avec succès.

Le test TREC s'effectue à partir d'ADN extrait des gouttes de sang séché (GSS) prélevées à la naissance. Les niveaux de TREC sont quantifiés à l'aide d'une PCR quantitative.^{22,23} Différentes études ont démontré la fiabilité du test à quantifier les TREC et distinguer ainsi les personnes atteintes de DICS des individus sains.²²⁻²⁶ Vu que les cellules mémoires ne contiennent pas de TREC, ce test reste également fiable dans certains cas particuliers, comme le syndrome d'Omenn (DICS associé à une production oligoclonale de lymphocytes T autologues anormaux) ou dans les cas de greffe maternelle de lymphocytes T.²⁷⁻²⁹

L'objectif primaire des programmes de DNN basés sur le test TREC fut initialement l'identification des nouveau-nés atteints de DICS, qui se présentent avec des valeurs TREC très basses ou indétectables. Il permet toutefois également d'identifier les lymphopénies à cellules T dues à d'autres causes primaires et secondaires (**tableau 3**).³⁰

Cercles d'excision des recombinaisons Kappa (KREC)

Un deuxième test a été introduit dans le DNN, il s'agit du dosage des cercles d'excision des recombinaisons Kappa (KREC) permettant la quantification des cellules B récemment développées. Ce test est basé sur la mesure du nombre de KREC et permet le dépistage d'une absence ou d'un faible taux de lymphocytes B.²⁷ Comme les cellules T, les cellules B subissent durant leur maturation un mécanisme de recombinaison de l'ADN, appelé recombinaison domaines variables, de diversité, et de jonction (V(D)J) qui permet la production d'une très grande variété de récepteurs antigéniques à leur surface. Ce processus génère un ADN circulaire épisomique dénommé KREC (**figure 2**). En 2007, Van Zelm et coll. ont décrit l'exclusion des KREC et ont développé un test pour leur quantification basé sur la PCR.³¹ Ils ont démontré que les niveaux de KREC reflétaient l'histoire de la réplication des cellules B et avaient une utilité dans le dépistage des patients souffrant d'un DIH, ainsi que dans l'évaluation de la récupération des cellules B après une Haematopoietic Stem-Cell Transplantation (HSCT).³¹ En 2011, Nakagawa et coll. ont démontré l'utilité du test KREC dans l'identification des nouveau-nés atteints d'un déficit primaire en lymphocytes B.²⁷

La quantification des KREC est utile pour détecter certaines formes de DICS (déficit en ADA d'apparition tardive),³² des cas

de syndrome de cassure de Nijmegen et des formes primaires de DIH. Les mutations apparaissant dans les gènes clés du développement et de la maturation des cellules B donnent lieu à des troubles congénitaux de DIH, notamment l'agammaglobulinémie liée à l'X (X-linked Agammaglobulinemia (XLA)) et les troubles autosomiques récessifs de type XLA.^{22,27,33} Ces pathologies peuvent dès lors être reconnues précocement grâce à un résultat des KREC faibles ou indétectables (DNN positif).

Étant donné l'utilité du test KREC dans le dépistage d'IDP chez les nouveau-nés, un test TREC/KREC couplé a été instauré, permettant l'identification simultanée des nourrissons présentant des formes graves d'IDP se manifestant par une lymphopénie des cellules T et/ou B (**tableau 3**).²²

TABLEAU 3 Causes primaires et secondaires pour de taux bas des TREC/KREC

^aÀ l'exclusion du déficit ZAP70, du déficit MHCII et du déficit tardif en ADA;
^bFaible niveau de TREC et de KREC.
 CHARGE: colobome, malformations cardiaques, atrésie des choanes, retard de croissance, anomalies génitales, anomalies de l'oreille; CLOVES: congénital, lipomateux, excroissance, malformations vasculaires, naevus épidermiques, anomalies spinales/squelettiques et/ou scoliose; DOCK8: dédié à la cytokinèse 8; EEC: dysplasie ectodermique, ectrodactylie et fente; EDA-ID: immunodéficience associée à la dysplasie ectodermique; KREC: cercles d'excision des recombinaisons Kappa; TAR: thrombocytopénie et radius absent; TREC: cercles d'excision des récepteurs des cellules T.

Taux bas des TREC	Taux bas des KREC
<ul style="list-style-type: none"> Immunodéficience combinée sévère^a Syndrome de délétion 22q11 Immunodéficience combinée Ataxie télangiectasie Défaut DOCK8 EDA-ID Trisomie 21 Trisomie 18 Syndrome du Kabuki Syndrome CHARGE Syndrome de Noonan Syndrome de Jacobsen Syndrome de rupture de Nijmegen^b Syndrome de Fryns Dysplasie immuno-osseuse de Schimke Hypoplasie des poils du cartilage CLOVES EEC Défaut de Rac2 Le syndrome de renaissance TAR Autres anomalies cytogénétiques, y compris délétion 6p, chromosome 14 en anneau, chromosome 17 en anneau, duplication du chromosome 17p, microdélétion 14q 	<ul style="list-style-type: none"> Immunodéficience combinée sévère (T-B)^b Agammaglobulinémie liée au chromosome X (XLA) Troubles de type XLA Syndrome de rupture de Nijmegen^b
Causes secondaires	
<ul style="list-style-type: none"> Prématurité Maladie cardiaque congénitale Chylothorax Anomalies congénitales multiples Anomalies gastro-intestinales, y compris gastroschisis Troisième secteur Fuite vasculaire Hydrops Leucémie néonatale Maladie auto-immune maternelle Infection maternelle par le VIH Immunosuppression maternelle Autres médicaments maternels, incluant la ritodrine 	<ul style="list-style-type: none"> Immunosuppression maternelle Autres médicaments maternels, y compris ritodrine

SCREENING EN SUISSE

Le programme suisse de dépistage d'IDP des cellules T et B chez les nouveau-nés est actuellement dans une phase pilote qui a commencé en janvier 2019 et durera 5 ans. Les analyses pendant cette phase pilote sont basées sur un test disponible dans le commerce (TREC-KREC-ACTB, kit «SPOTit», ImmunolVD, Stockholm, Suède), qui quantifie les TREC et les KREC au moyen d'un test d'amplification par PCR à partir des GSS.^{26,27,34,35}

Les seuils recommandés par le fabricant pour les TREC et les KREC ont été adaptés par le DNN suisse, afin de permettre une bonne sensibilité en maintenant un faible taux de faux positifs:

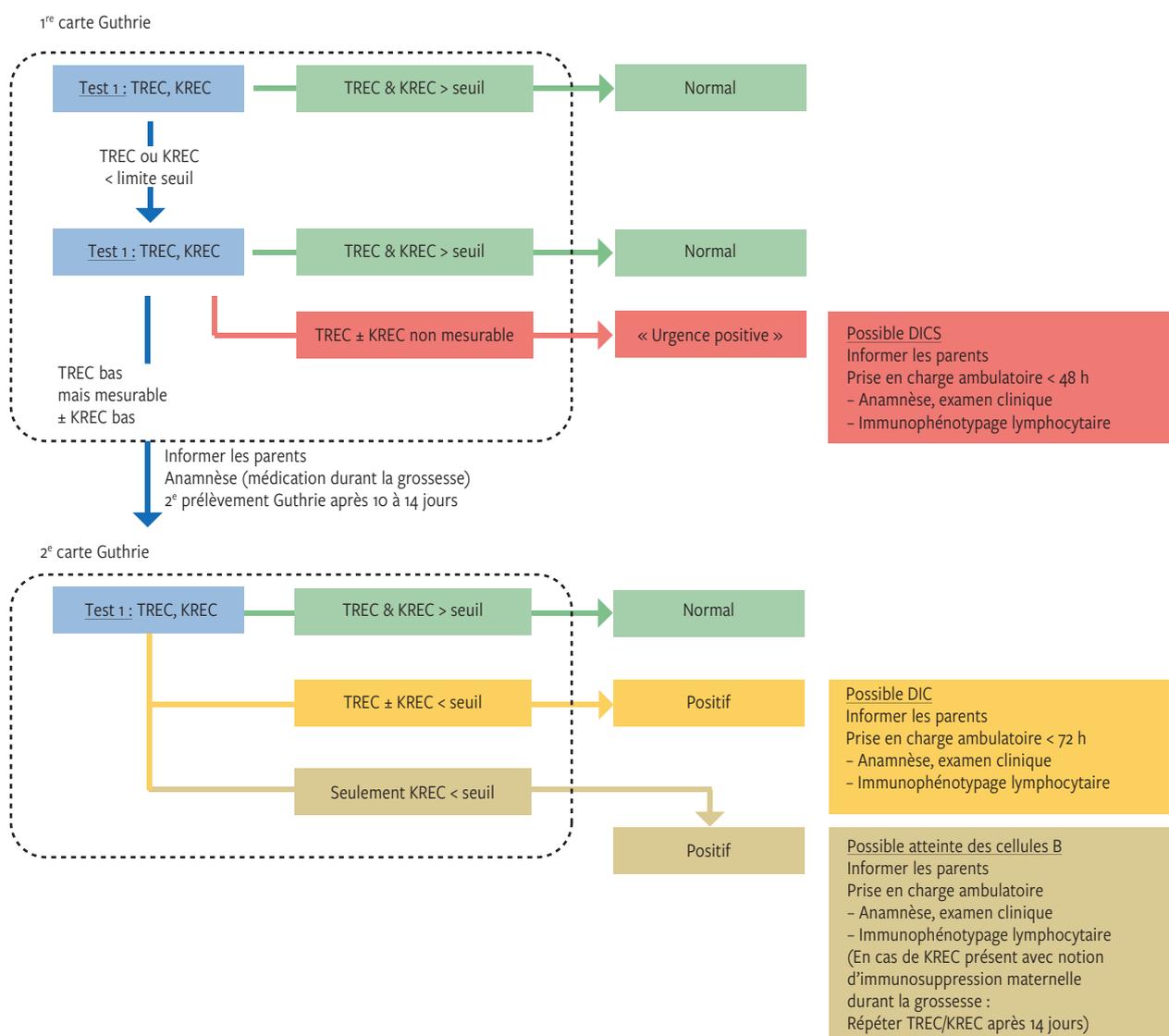
- TREC: anormal si < 10 copies/poinçon de GSS.
- KREC: anormal si < 6 copies/poinçon de GSS.³⁴

Comme tous les tests de dépistage, il renseigne sur la présence potentielle de la maladie, mais des tests de confirmation restent nécessaires. L'immunophénotypage lymphocytaire, un dosage pondéral des immunoglobulines et un test génétique sont indispensables pour établir le diagnostic du DICS. Les tests sont effectués par étape en fonction des résultats préliminaires et de la gravité potentielle (figure 3).

Les nouveau-nés prématurés peuvent avoir de faibles niveaux de TREC et/ou de KREC en raison de l'immaturité de leur système immunitaire.³⁰ Lorsqu'ils présentent des TREC faibles mais détectables, ils peuvent être suivis cliniquement avec répétition du dosage des TREC/KREC toutes les deux semaines jusqu'à normalisation des résultats ou à un âge gestationnel ajusté de 37 semaines, moment auquel la numération des lymphocytes par cytométrie en flux est effectuée.³⁶

FIG 3 Algorithme de dépistage – TREC/KREC dépistage et évaluation diagnostique initiale

DIC: déficit immunitaire combiné; KREC: cercles d'excision des recombinants Kappa; TREC: cercles d'excision des récepteurs des cellules T; DICS: déficit immunitaire combiné sévère.



(Adaptée de réf.³⁴).

TABLEAU 4 Suivi des nourrissons avec déficience primaire sévère des lymphocytes T et B

*Dans certains cas, le nombre total de cellules T peut être plus élevé (même normal) en raison de la greffe maternelle ou d'un SCID incomplet avec expansion périphérique des cellules T autologues.

ACD: acide-citrate-dextrose; ADA: adénosine désaminase; ALAT: alanine aminotransférase; ASAT: aspartate aminotransférase; BCG: bacille de Calmette-Guérin; CMV: cytomegalovirus; DIC: déficit immunitaire combiné; DICS: déficit immunitaire combiné sévère; DNN: dépistage néonatal; EDTA: acide éthylènediaminetétraacétique; FISH: hybridation in situ par fluorescence; FSC: formule sanguine complète; HbC: antigène de base du VHB; HbS: antigène de surface du VHB; HLA: antigène leucocytaire humain; Ig: immunoglobuline; NK: lymphocytes natural killers; PNP: purine nucléoside phosphorylase; PPJ: pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*; ROR: rougeole, oreillons, rubéole; TCSH: transplantation de cellules souches hématopoïétiques; TREC: cercles d'excision du récepteur des cellules T; VNTR: Variable Number of Tandem Repeats; VRS: virus respiratoire syncytial.

1. Bilan diagnostique initial

- Anamnèse médicale complète: expositions prénatales, maladies périnatales ayant un impact sur le dépistage (par exemple, médicaments pris pendant la grossesse, causes secondaires en lien avec une baisse des lymphocytes T comme expliquées au **tableau 3**).
- Antécédents familiaux et infectieux: décès dans la petite enfance ou pertes fœtales inexplicables.
- Examen clinique minutieux à la recherche de caractéristiques dysmorphiques, éruptions cutanées, hépatosplénomégalie, lymphadénopathie, absence de tissu lymphoïde et évaluation de la croissance staturo-pondérale.
- Hémogramme complet, immunophénotypage des lymphocytes, ADA/PPNP, répétition du DNN (carte Guthrie), prélèvement d'ADN (sang).
- Toujours ou au moins en cas d'aspects syndromiques connus: viser à effectuer une première consultation avec un généticien.

Définitions utilisées pour la classification des anomalies des cellules T

Cellules T CD3+ totales	Cellules T CD4+ naïves	Pathologie	Action
> 1500/µl et	> 200/µl	Sain	Pas de tests supplémentaires
≤ 1500/µl	> 200/µl	Suspicion de DIC	Bilan partiel en fonction des résultats (voir coche ci-dessous dans la colonne tout à droite)
≤ 1500/µl ^a	≤ 200/µl	Suspicion de DICS	Bilan complet (voir ci-dessous)

2. Bilan diagnostique des patients avec suspicion de DICS

Examen	Détails	Commentaires	CID
Étape 1			
Hématologie	Formule sanguine complète	Éosinophilie dans (certains) DICS; lymphopénie	x
Chimie	Électrolytes, y compris Ca ²⁺ ionisé, bilirubine totale, ASAT, ALAT, albumine	Hypocalcémie chez (certains) patients avec syndrome de DiGeorge	x
Immunophénotypage des lymphocytes	Cellules B, T, NK, sous-populations de cellules T	Cellules T ± cellules B/NK faibles dans le DICS classique; greffe maternelle probable si les cellules T sont plus nombreuses que prévu et/ou réserve de cellules T à mémoire amplifiée avec cellules T naïves faibles/absentes	x
Dosage pondéral des immunoglobulines	Concentrations totales d'IgA, IgG, IgM (et IgE)	Les IgG peuvent être normales (transfert de la mère au fœtus)	x
Étape 2			
ADA, PNP	Activité enzymatique	Faible déficit en ADA/PPNP	x
Fonction des lymphocytes T	Analyse in vitro de la prolifération des cellules T (mitogène)	Peut être normal en cas de DICS incomplet	x
Test Gamma-H2AX	Test de radiosensibilité	Anormale dans l'ataxie télangiectasie	
TCRvβ répertoire	Spectratypage CDR3 (ou cytométrie en flux)	Surtout en cas de DICS incomplet et de syndrome d'Omenn	
Groupe sanguin	Test de groupe sanguin ABO	En préparation pour la TCSH	
Typage HLA	Préférence aux cellules myéloïdes en cas de suspicion de greffe maternelle	Sur le patient et les frères et sœurs/parents; en préparation pour la TCSH	
Greffe maternelle	En cas de suspicion (par exemple, discrédence entre un taux des TREC faible et un nombre de lymphocytes T plus élevé que prévu ou un nombre faible/absent de lymphocytes T CD4 naïves combiné à un réservoir étendu des lymphocytes T à mémoire)	Phénotypage HLA par cytométrie en flux sur le binôme nourrisson/mère VNTR (filles) ou XY-FISH (garçons) sur des cellules du nourrisson et de l'ADN/cellules de la mère sélectionnées	
Génétique	Séquençage de l'exome entier ± puce à ADN ± autres tests ciblés	Consultation commune avec un généticien; sang/ADN également des parents (et des frères et sœurs si indiqué)	(x)
Recherches microbiologiques			
• Sérologie (sang maternel)	• Dépistage combiné pour VIH, du VHB (HbS, anti-HbS, anti-HbC)	Peut être obtenu à partir du sérum stocké et prélevé pendant la grossesse	x
• Statut CMV du nourrisson	• Dépistage VHC (anti-HCV IgG/M), CMV IgG CMV PCR	-	x

3. Prophylaxie recommandée pour les patients atteints de SCID

Objectif	Médicaments	Commentaires	
Prophylaxie PPJ	Cotrimoxazole 18 mg/kg toutes les 12 h (sur 3 jours par semaine) Leucovorine 15 mg/m ² 1 fois par semaine	Début lorsque la bilirubine totale est inférieure à 2 fois la limite supérieure de la valeur de référence Contrôle régulier de la FSC et des tests de la fonction hépatique, y compris la bilirubine totale	(x)
Prophylaxie fongique	Amphotéricine B PO 100 mg toutes les 8 h OU fluconazole PO 6 mg/kg (toutes les 48 h si âge < 1 mois, toutes les 24 h si ≥ 1 mois)	Amphotéricine B PO: peu ou pas d'absorption par le tractus gastro-intestinal	(x)
Prophylaxie RSV	Palivizumab 15 mg/kg IM toutes les 4 semaines	Prophylaxie pendant la saison du VRS	
Substitution des IgG	IgIV toutes les 3-4 semaines ou SC toutes les semaines	Adapté à la concentration des IgG dans le sérum	(x)

4. Vaccinations**Vaccins vivants (ROR, VZV, rotavirus, fièvre jaune, BCG, typhoïde orale, grippe nasale)**

Patient avec DICS	Contre-indiqué		(x)
Membres de la famille/ contacts proches	Vérification du statut de vaccination et test de la sérologie: si résultats pas clairs, un cycle complet de vaccination ROR et VZV est recommandé Le vaccin ROR peut être administré à tout moment; il ne doit pas y avoir de contact avec un patient atteint de DICS si une personne immunisée contre le VZV présente une éruption cutanée tant que celle-ci persiste		x

Vaccins inactivés

Patient avec DICS	Avantages peu probables - non recommandés		
Membres de la famille/ contacts proches	Vaccin annuel contre la grippe et autres vaccins de routine selon le calendrier national de vaccination		x

(Adapté de réf.34).

ATTITUDE À SUIVRE EN CAS DE DÉPISTAGE POSITIF (TREC OU KREC FAIBLES OU INDÉTECTABLES)

En cas de résultat de TREC indétectables (très forte suspicion de DICS) et pendant la phase pilote, une consultation dans le Service d'immunologie de l'Hôpital pour enfants à Zurich devrait avoir lieu dans un délai de 48 heures. En cas de valeur faible mais détectable, un délai plus long est acceptable mais ne devrait pas dépasser les 72 heures suivant la notification.³⁴

Chez les patients dont les KREC sont faibles ou indétectables, le prélèvement de GSS doit être répété 10 à 14 jours plus tard par la sage-femme, le pédiatre ou un hôpital proche. En cas de persistance d'un résultat anormal, une consultation dans un service d'immunologie doit être organisée. Si le risque de DIH est faible, comme dans le cas de KREC faibles mais détectables et d'immunosuppression maternelle pendant la grossesse, il est possible de discuter avec les parents de répéter le DNN avant de poursuivre les investigations.³⁴

L'évaluation d'un nourrisson présentant un résultat de TREC/KREC anormal comprend une anamnèse pour déterminer en particulier s'il y a eu des expositions prénatales ou des maladies périnatales ayant un impact sur le dépistage et vérifier les antécédents familiaux, ainsi qu'une éventuelle consanguinité. Les antécédents infectieux chez la fratrie et les membres de la famille proche sont également importants et un examen physique complet doit être effectué.³⁴ En plus de l'évaluation clinique, un bilan biologique élargi est nécessaire

pour affiner le diagnostic différentiel et déterminer la gravité de la maladie (tableau 4).

ALLAITEMENT MATERNEL

En cas de résultats anormaux de TREC, il est nécessaire de rapidement arrêter l'allaitement et d'évaluer le statut sérologique maternel pour le cytomégalovirus (CMV). Les recommandations du centre de référence suisse à Zurich suggèrent que l'allaitement est contre-indiqué si la mère est CMV positive (tableau 5). Cependant, les nouveau-nés prématurés dont les tests de TREC sont faibles mais détectables pourraient tout de même bénéficier du lait maternel pasteurisé, même en cas de séropositivité maternelle pour le CMV, en raison des bénéfices attendus du lait maternel en attendant la répétition du dosage des TREC.³⁴

LIMITES DES STRATÉGIES ACTUELLES DE DÉPISTAGE DE L'IMMUNODÉFICIENCE PRIMAIRE

Le test de dépistage TREC permet d'identifier la majorité des nourrissons atteints de DICS, sauf en cas de défaut moléculaire situé en aval du réarrangement des récepteurs des cellules T. Cela est le cas pour la déficience ZAP70, le déficit du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II et certains cas de déficit retardé de l'ADA. Les défauts de fonctionnement des cellules T associés à un taux quantita-

TABLEAU 5 Allaitement des nourrissons avec un dépistage anormal pour les immunodéficiences primaires sévères

^aLes parents doivent être informés de toutes les voies de transmission du CMV (par exemple, la salive) et des signes cliniques de l'infection à CMV; ^bPendant la phase d'évaluation, le lait maternel peut être jeté ou congelé; ^cLa réactivation CMV dans le lait maternel est haute chez les mères CMV IgG positives (IgM négatives); ^dLes parents doivent être informés des voies de transmission possibles du CMV et des précautions à prendre pour éviter l'infection par le CMV; un dépistage régulier du CMV par CMV-PCR dans les urines est recommandé pour ces enfants (par exemple, chaque semaine pendant les 4 premières semaines de vie et toutes les 2 semaines ensuite). La mère doit également être régulièrement testée pour le CMV si elle est initialement séronégative.

ADA: adénosine désaminase; CMV: cytomégalovirus; DICS: déficit immunitaire combiné sévère; KREC: cercles d'excision des recombinants Kappa; PNP: purine nucléoside phosphorylase; TREC: cercles d'excision des récepteurs des cellules T.

Investigations (dès que possible)

Mère: sérologie CMV à partir du sang périphérique (ou du sérum prélevé pendant la grossesse)
Nourrisson: CMV-PCR à partir de l'urine (ou du sang périphérique), pas de carte Guthrie

KREC faibles/indétectables et TREC normaux et ADA/PPN normale

Le lait maternel peut être donné (indépendamment du statut CMV de la mère et de l'âge gestationnel du nourrisson)

TREC faibles/indétectables

1. Phase d'évaluation

	Âge gestationnel	Mère CMV ^a séropositive	Mère CMV séronégative
TREC faibles mais mesurables	< 37 semaines d'aménorrhée	Pas d'allaitement, lait maternel pasteurisé possible (pasteurisation Holder 62,5 °C pendant 30 minutes)	Allaitement maternel possible ^d
	≥ 37 semaines d'aménorrhée	Pas de lait maternel ^b	
TREC non mesurables	Tout âge gestationnel	Pas de lait maternel ^b	Allaitement maternel possible ^d

2. DICS suspecté

	Nourrisson CMV positif	Nourrisson CMV négatif
Mère CMV positive	Pas de lait maternel ^c	Pas de lait maternel ^c
Mère CMV négative	Allaitement maternel possible	Allaitement maternel possible ^d

(Adapté de réf:³⁴).

tivement normal ne sont également pas détectés par le test TREC.

PRISE EN CHARGE DES NOURRISSONS ATTEINTS DE LYMPHOPÉNIE SÉVÈRE À CELLULES T (SUSPICION DE DICS)

Les nourrissons atteints de lymphopénie sévère à cellules T doivent être placés en isolement protecteur pendant leur séjour à l'hôpital et les produits sanguins, si nécessaire, doivent être débarrassés des leucocytes et irradiés.³³ Si le patient est à la maison, sa famille doit recevoir des instructions appropriées sur la manière de réduire le risque d'infection, notamment en ce qui concerne la bonne hygiène des mains et l'évitement des lieux publics et des garderies, la limitation des contacts avec les jeunes enfants et les personnes non vaccinées, et faire bouillir l'eau potable.³⁴

Pour réduire davantage le risque d'infection, les nourrissons peuvent bénéficier d'une prophylaxie (à noter que pour le choix de ce traitement il y a beaucoup d'approches différentes), une substitution par immunoglobulines et une prophylaxie au palivizumab pendant la saison du virus respiratoire syncytial (Respiratory Syncytial Virus (RSV)). Les vaccins vivants sont contre-indiqués pour les nourrissons atteints de lymphopénie sévère à cellules T et les vaccins inactivés ne sont pas recommandés (faibles probabilités d'être efficaces). Le statut vaccinal des membres de la famille doit cependant être activement évalué et en fonction un rattrapage vaccinal ou des rappels doivent être administrés (tableau 4).³⁴

CONCLUSION

Le nouveau test de dépistage néonatal TREC/KREC introduit dans le programme de dépistage néonatal en Suisse en janvier 2019 est en phase pilote; il permet d'identifier précocement

les nouveau-nés atteints de DICS et d'IPD se manifestant par une lymphopénie T et/ou B. Une prise en charge la plus précoce possible a en effet démontré un meilleur pronostic à court, moyen et long termes et la possibilité d'un traitement ciblé et possiblement curatif avec une TCSH notamment. Ce dépistage systématique des nouveau-nés permet également une meilleure connaissance épidémiologique de ces pathologies rares.

Conflit d'intérêts: Les auteurs n'ont déclaré aucun conflit d'intérêts en relation avec cet article.

IMPLICATIONS PRATIQUES

- Le dépistage néonatal (DNN), pratique courante dans les pays développés, a comme objectif principal l'identification précoce des nouveau-nés asymptomatiques atteints de diverses maladies sévères, pour lesquelles une intervention précoce permet d'éviter des séquelles à long terme
- Les déficits immunitaires combinés sévères (DICS) font partie des formes sévères d'immunodéficience primaire (IDP) et sont potentiellement fatals si le diagnostic et la prise en charge sont retardés
- Le diagnostic des DICS à la naissance par le biais du DNN permettrait d'éviter l'apparition d'infections et d'autres complications précoces, augmentant ainsi les chances de réussite d'une transplantation des cellules souches hématopoïétiques
- Le DNN basé sur la mesure des cercles d'excision des récepteurs des cellules T a été introduit en Suisse à partir de janvier 2019 dans une phase pilote, associé à un dépistage supplémentaire via le dosage des cercles d'excision des recombinants Kappa; il permet d'identifier des formes graves d'IDP se manifestant par une lymphopénie profonde des cellules T et B

1 Tangye S, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2020;40:24-64.

2 **Van der Burg M, Mahlaoui N, Gaspar HB, Pai SY. Universal newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID). *Front Pediatr* 2019;7:373.

3 Zhang L, Thrasher AJ, Gaspar HB. Current progress on gene therapy for primary immunodeficiencies. *Gene Ther* 2013;20:963-9.

4 Gaspar HB. Gene therapy for ADA-SCID: defining the factors for successful outcome. *Blood* 2012;120:3628-9.

5 Gaspar HB, Thrasher AJ. Gene therapy for severe combined immunodeficiencies. *Expert Opin Biol Ther* 2005;5:1175-82.

6 Rivat C, Santilli G, Gaspar HB, Thrasher AJ. Gene therapy for primary immunodeficiencies. *Hum Gene Ther* 2012;23:668-75.

7 Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S, et al. Gene therapy for immunodeficiency due

to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med* 2009;360:447-58.

8 Gaspar HB, Cooray S, Gilmour KC, et al. Long-term persistence of a polyclonal T cell repertoire after gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *Sci Transl Med* 2011;3:97ra79.

9 Gaspar HB, Cooray S, Gilmour KC, et al. Hematopoietic stem cell gene therapy for adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency leads to long-term immunological recovery and metabolic correction. *Sci Transl Med* 2011;3:97ra80.

10 Hacein-Bey-Abina S, Hauer J, Lim A, et al. Efficacy of gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2010;363:355-64.

11 *Van der Burg M, Gennery AR. Educational paper. The expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency. *Eur J Pediatr* 2011;170:561-71.

12 Antoine C, Muller S, Cant A, et al. Long-term survival and transplantation of haemopoietic stem cells for immunodeficiencies: report of the European

experience 1968-99. *Lancet* 2003;361:553-60.

13 Brown L, Xu-Bayford J, Allwood Z, et al. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening. *Blood* 2011;117:3243-6.

14 Buckley RH, Schiff SE, Schiff RI, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 1999;340:508-16.

15 **Jovanka R. King & Lennart Hammarström. Newborn Screening for Primary Immunodeficiency Diseases: History, Current and Future Practice. *J Clin Immunol* 2018;38:56-66.

16 Wilson J, Jungner G. The Principles and Practice of Screening for Disease. Geneva: World Health Organisation, 1968.

17 *Griffith LM, Cowan MJ, Notarangelo LD, et al. Primary immune deficiency treatment consortium (PIDTC) update. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:375-85.

18 Pai SY, Logan BR, Griffith LM, et al. Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000-2009.

N Engl J Med 2014;371:434-46.

19 Gennery AR, Slatter MA, Grandin L, et al. Transplantation of hematopoietic stem cells and long-term survival for primary immunodeficiencies in Europe: entering a new century, do we do better? *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:602-10. e1-11.

20 Chan K, Puck JM. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:391-8.

21 Routes JM, Grossman WJ, Verbsky J, et al. Statewide newborn screening for severe T-cell lymphopenia. *JAMA* 2009;302:2465-70.

22 Borte S, von Döbeln U, Fasth A, et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood* 2012;119:2552-5.

23 Borte S, Wang N, Óskarsdóttir S, von Döbeln U, Hammarström L. Newborn screening for primary immunodeficiencies: beyond SCID and XLA. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1246:118-30.

24 Gaspar HB, Hammarstrom L, Mahlaoui N, Borte M, Borte S. The case

- for mandatory newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID). *J Clin Immunol* 2014;34:393-7.
- 25 Baker MW, Grossman WJ, Laessig RH, et al. Development of a routine newborn screening protocol for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:522-7.
- 26 Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, et al. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *J Pediatr* 2009;155:829-33.
- 27 Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, et al. Quantification of kappa-deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:223-5.e2.
- 28 Denianke KS, Frieden IJ, Cowan MJ, Williams ML, McCalmont TH. Cutaneous manifestations of maternal engraftment in patients with severe combined immunodeficiency: a clinicopathologic study. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:227-33.
- 29 Villa A, Notarangelo LD, Roifman CM. Omenn syndrome: inflammation in leaky severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:1082-6.
- 30 *Mauracher A, et al. Causes of low neonatal T-cell receptor excision circles: A systematic review. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017;5:1457-60.e22.
- 31 Van Zelm MC, Szczepanski T, van der Burg M, van Dongen JJ. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *J Exp Med* 2007;204:645-55.
- 32 Speckmann C, Neumann C, Borte S, et al. Delayed-onset adenosine deaminase deficiency: strategies for an early diagnosis. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:991-4.
- 33 King JR, Hammarstrom L. Newborn screening for primary immunodeficiency diseases: history, current and future practice. *J Clin Immunol* 2018;38:56-66.
- 34 **Trück J, et al. Swiss newborn screening for severe T and B cell deficiency with a combined TREC/KREC assay – management recommendations. *Swiss Med Wkly* 2020;150:w20254.
- 35 www.sulm.ch/d/pipette/pipette-archiv/201905
- 36 *Thakar MS, Hintermeyer MK, Gries MG, Routes JM, Verbsky JW. A practical approach to newborn screening for severe combined immunodeficiency using the T cell receptor excision circle assay. *Front Immunol* 2017;8:1470.
- 37 Chiarini M, Zanotti C, et al. T-cell receptor and K-deleting recombination excision circles in newborn screening of T- and B-cell defects: review of the literature and future challenges. *Journal of Public Health Research* 2013;2:e3.

* à lire

** à lire **absolument**