

I - Application:

Lorsque le récepteur antigénique d'une lymphocyte T reconnaît un antigène spécifique d'une substance lié à une molécule HLA de Classe I ou II, cette cellule T répond de différentes manières (par exemple en sécrétant des cytokines inflammatoires et/ou en se divisant). Chaque lymphocyte T n'exprime qu'un seul récepteur antigénique spécifique. Lorsqu'un nombre suffisant de cellules T sont présentes (en général supérieur à 1/10000), la réponse des lymphocytes T spécifique peut être détectée expérimentalement par des tests in-vitro ou in-vivo. In-vivo, la réponse des cellules T est généralement mesurée par le test cutané d'hypersensibilité retardée. In-vitro, la réponse des lymphocytes T est normalement mesurée par l'enregistrement de la prolifération de ces cellules. En clinique, un individu pour lequel a été mesurée une réponse positive à un antigène spécifique, est dit sensibilisé ou hypersensibilisé à cet antigène.

Le béryllium peut être un composant d'antigène. Chez un petit nombre d'individus (5%) d'une population exposé au béryllium, il est associé à des symptômes d'hyper-sensibilisation de type granulômes. En fait, un grand nombre de lymphocytes T CD4+ s'accumulent dans le poumon chez les individus atteints de CBD (Chronic Beryllium Disease) (Rossman et al, 1988 and Saltini et al, 1989). La réactivité de ces lymphocytes fournit un moyen spécifique et sensible de différencier en laboratoire une sensibilisation au béryllium d'une sarcoïdose (Rossman et al, 1988). Apparemment, seuls les lymphocytes T CD4+ réagissent au béryllium (Saltini et al, 1989). Dans des cas de CBD, la réactivité des cellules T au béryllium obtenues par des lavages broncho-alvéolaires est généralement plus forte que celle de cellules périphériques. Mais en mesurant la réponse lymphocytaire obtenues par du sang périphérique, la sensibilisation au béryllium peut également être détectée chez des travailleurs qui n'ont pas développé la maladie (Kreiss et al, 1993). Quelques-uns des travailleurs qui ont été identifiés positifs par un test BeLPT (Beryllium Lymphocyte Prolifération Test) ont par la suite développés la maladie.

Le test de prolifération des lymphocytes périphériques en réponse au béryllium (BeLPT) est utilisé comme outil de dépistage d'une possible CBD, comme outil de surveillance dans des milieux de travail exposés et comme partie des critères de diagnostic dans le cas de maladie. Ce test n'est pas indiqué comme test de dépistage de la maladie, il fait référence à la sensibilisation au béryllium de l'individu testé et par ce fait peut se révéler un outil diagnostique déterminant.

II- Principe:

Lors du test BeLPT, les lymphocytes sont tout d'abord isolés à partir du sang périphérique. L'isolement est réalisé grâce à une centrifugation du sang sur un gradient de Ficoll, qui sépare les éléments du sang suivant leur densité. Les lymphocytes et monocytes, de densité proche, se retrouvent en une couche intermédiaire blanche. Ces cellules sont alors prélevées et sont ensuite resuspendues et mises en culture à une concentration prédéterminée de 1.25 cellules/ml, en présence ou non de différentes concentration de béryllium. Pour chaque échantillon sanguin, la stimulation est réalisée en duplicata afin d'être mesurée sur deux périodes d'incubation de 4 jours et 6 jours. Chacun de ces duplicata comprend un contrôle négatif (cellules dans le milieu seul) et un contrôle positif de prolifération qui est réalisée par :

- une stimulation avec le PHA (agent mitogène) pour une incubation de 4 jours.
- une stimulation par des antigènes de *Candida albicans* pour 6 jours d'incubation.

La mesure de la prolifération est réalisée par l'utilisation de thymidine méthyl-tritiée. La thymidine, précurseur de l'ADN s'insère dans la chaîne de nucléotides au moment de la phase S (réplication) du cycle de division cellulaire. Détecter l'incorporation de thymidine radiomarquée dans les lymphocytes mis en culture, revient à évaluer la prolifération qui a eu lieu sur un temps donné (en présence ou non d'un agent de stimulation). La thymidine est donc ajoutée au milieu de culture après 3 et 5 jours d'incubation. Puis, après 18 à 24h d'incubation en présence de thymidine tritiée, les cellules sont récoltées de manière automatisée sur un filtre de fibre de verre. La radioactivité est ensuite comptée pour chacun des échantillons pendant 1 minute à l'aide d'un compteur à scintillation. Les résultats exprimés en cpm sont ensuite transformés pour être exprimés en index de stimulation qui correspond au rapport de prolifération entre les échantillon stimulés et non-stimulés.