

## Article original

# Impact Dépressif de l'Infection Tuberculeuse sur les Cellules Immunitaires de Défense.

Afane Ze E<sup>1</sup>, Guiedem E<sup>2</sup>, Okomo Assoumou MC<sup>2</sup>, Pefura Yone EW<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Service de Pneumologie de l'Hôpital Jamot de Yaoundé.

<sup>2</sup> Centre d'Etudes et de Contrôle des Maladies Transmissibles (CECMT), Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I.

**Corresponding author:** Emmanuel Afane Ze, B.P. 3729 Yaoundé.

*Email:* emmanuelafane@yahoo.fr

## Résumé:

### OBJECTIFS

La dépression de l'immunité cellulaire en relation avec la tuberculose est davantage évoquée au cours de ses rapports avec l'infection au VIH dont elle constitue l'infection opportuniste de première ligne. Dans le présent travail, nous avons voulu mettre en exergue la dépression de l'immunité causée par la tuberculose elle-même.

### MÉTHODES

A l'Hôpital Jamot, du 1er janvier au 30 mars 2013, nous avons recruté de façon consécutive 63 patients tuberculeux BK+. Nous avons inclus des patients des 2 sexes âgés de 18 ans au moins, VIH négatifs, en primo traitement et consentants.

A J0 et à J60 du traitement antituberculeux, nous avons prélevé 5 ml de sang à chaque patient pour le comptage par cytométrie de flux des cellules immunitaires. Deux appareils ont été utilisés: le CELL-DYN 3200 pour les leucocytes totaux, les lymphocytes totaux et les granulocytes et le BD FACS Count pour la numération des lymphocytes T: CD4 et CD8.

### RÉSULTATS

Le traitement de la tuberculose nous a permis d'observer une augmentation des cellules immunitaires du sang. La moyenne absolue des CD4 est passée de 537 à 957/mm<sup>3</sup> en 60 jours de traitement ( $p < 0,001$ ). La moyenne des CD8 quant à elle est passée de 288 à 412/mm<sup>3</sup> ( $p < 0,0039$ ). Le rapport CD4/CD8 est passé de 1,6 à 2,04 ( $p < 0,001$ ). Le taux moyen des lymphocytes totaux est passé de 1450 à 1960/mm<sup>3</sup> ( $p < 0,005$ ). Celui des monocytes est passé de 125 à 584/mm<sup>3</sup> ( $p < 0,001$ ). Le taux moyen des PNN et granulocytes a légèrement baissé.

### CONCLUSION

La tuberculose, infection mycobactérienne, détruit gravement les cellules de l'immunité cellulaire comme cela est observé au cours de l'infection à VIH. La malnutrition dans nos milieux serait un facteur aggravant.

### MOTS CLÉS

Tuberculose, immunité cellulaire, immunodépression.

## Abstract :

### PURPOSE / AIM

Cell immune depression related to tuberculosis (TB) infection is commonly linked to its relationship with HIV infection. In this condition, TB remains the most important opportunistic infection. The aim of this piece of work was to show the immunity depression due to tuberculosis itself.

### METHODS

From January 1st to March 30th 2013 in the Yaounde Jamot Hospital, we consecutively recruited 63 positive smear tuberculosis patients. Included in this study were males and females aged 18 and above. They were HIV negative and received TB treatment for the first time. They were also willing to participate in the study. At D0 and D60 of TB treatment, we collected 5 ml samples of blood from each patient for immune cells count, using two different machines: the CELL-DYN 3200 FACS cell count machine for total leucocytes, total lymphocytes and neutrophils; and the BD FACS cell count for T lymphocytes (CD4 and CD8).

### RESULTS

Tuberculosis treatment led us to observe an increase of blood immune cells. The mean CD4 count increased from 537 to 957 cells/mm<sup>3</sup> within 2 months of treatment ( $p < 0.001$ ). The mean CD8 cell count increased from 288 to 412 cells/mm<sup>3</sup> within the same period ( $P < 0.0039$ ). The CD4/CD8 ratio increased from 1.6 to 2.04 ( $p < 0.001$ ). The mean total lymphocytes count increased from 1450 to 1960 /mm<sup>3</sup> ( $p < 0.005$ ). The mean monocytes cells count increased from 125 to 584/mm<sup>3</sup> ( $p < 0.001$ ). The mean neutrophils cells count slightly dropped.

### CONCLUSION

Tuberculosis seriously destroys cellular immune response just like HIV does. Malnutrition in our milieu might be an aggravating factor.

### KEY WORDS:

Tuberculosis, cellular immunity, immunodepression

**INTRODUCTION**

La tuberculose est reconnue comme étant une affection chronique, causée par *Mycobacterium tuberculosis*. Cette infection peut survenir sur tout individu exposé au bacille tuberculeux. Une situation de compromission immunitaire de l’hôte (traitement immunosuppresseur, cancer, infection au VIH) favorise l’évolution rapide de l’infection. Beaucoup d’études se sont penchées sur la tuberculose comme infection opportuniste qui se greffe sur terrain immunodéprimé. Mais, peu d’études se sont intéressées à la dépression immunitaire induite par la tuberculose elle-même. L’immunité antituberculeuse est essentiellement à médiation cellulaire. Nous avons dans le présent travail étudié l’évolution des cellules immunitaires de défense antituberculeuse au cours du traitement antituberculeux en terrain immunocompétent.

**MÉTHODES**

Dans le service de Pneumophtisiologie de l’Hôpital Jamot de Yaoundé, et dans la période allant du 1er janvier au 30 mars 2013, nous avons diagnostiqué 98 cas de tuberculose à microscopie positive. Au moment de débuter le traitement antituberculeux standard à base de Rifampicine (RMP) + Isoniazide (INH) + Pyrazinamide (PZA) + Ethambutol (EMB), nous avons proposé aux patients volontaires de leur prélever 5 ml de sang en vue de procéder à un comptage de certaines cellules de défense immunitaire. Des 98 patients en échantillonnage consécutif, 65, après explication du déroulement des prélèvements de sang et de sa destination, ont librement accepté de participer à l’étude. Deux patients ont décidé d’interrompre leur participation et n’ont plus été prélevés à 1 mois de traitement.

**A. Sujets**

C’était des patients tuberculeux BK+, âgés de 18 ans au moins, VIH négatifs et consentants.

**Critère d’exclusion**

Étaient exclus de notre étude, les patients :

- Admis pour retraitement
- De moins de 18 ans, nécessitant l’accord de participation d’un tiers.

**Échantillon définitif** : 63 patients.

**Prélèvements de sang** : Ils ont été réalisés à J0 et à J60 de la prise d’antituberculeux.

**B. Matériel**

Les échantillons de sang total prélevés sur tube EDTA ont été immédiatement transportés dans une glacière au laboratoire du CECMT (Centre d’Études et de Contrôle des Maladies Transmissibles). Les analyses biologiques proprement dites étaient réalisées dans les 6 heures après le prélèvement.

Le comptage des cellules s’est fait par cytométrie de flux avec 2 types d’appareils :

- Le CELL-DYN 3200 pour compter les leucocytes totaux, les lymphocytes totaux et les granulocytes.
- Le BD FACS Count quant à lui pour la numération des lymphocytes T : CD4 et CD8.

Une autorisation du Comité National d’Éthique du Cameroun nous a été donnée pour la réalisation de ce travail.

Les résultats ont été analysés à l’aide du test de Chi<sup>2</sup> pour la comparaison des proportions et le test de Student modifié pour la comparaison des variables quantitatives dépendantes.

**RÉSULTATS**

Les paramètres cellulaires ont évolué au fil des 2 premiers mois dans le sens de l’amélioration (entre J0 et J60).

TABLEAU I : ÉVOLUTION CROISSANTE DES CELLULES IMMUNITAIRES ANTITUBERCULEUSES ENTRE J0 ET J60.

Paramètres	J0	J60	p
CD4/mm <sup>3</sup>	537	957	< 0,001
CD8/mm <sup>3</sup>	288	412	0,039
CD4/CD8	1,6	2,04	< 0,001
Lymphocytes totaux/ mm <sup>3</sup>	1450	1960	0,005
Monocytes/ mm <sup>3</sup>	125	584	< 0,001
Granulocytes/ mm <sup>3</sup>	4945	3960	0,097
Leucocytes/ mm <sup>3</sup>	6900	6680	0,098

Nous avons noté une augmentation des cellules lymphocytaires et monocytaires entre J0 et J60 (p < 0,001). Les PNN (Polynucléaires Neutrophiles) et les granulocytes tendaient à la régression (p > 0,05).

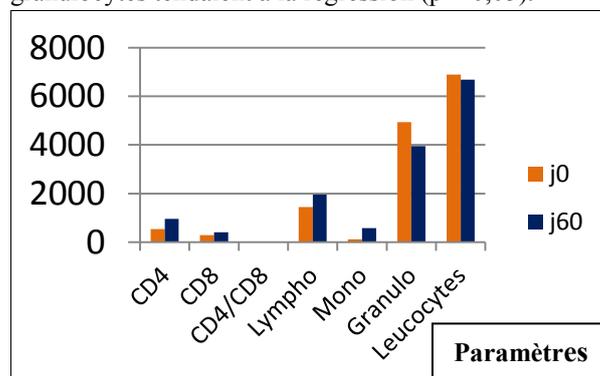


Figure 1 : Augmentation des principales cellules immunitaires de la tuberculose

Les CD4, CD8, Lymphocytes totaux et les monocytes sont en augmentation. Les CD4 et les monocytes ont

doublé à 2 mois de traitement. Le rapport CD4/CD8 n'est pas visible sur la figure en raison de sa valeur à J60 à peine au-dessus de 2. Les granulocytes étaient indifférents ou en régression.

## DISCUSSION

Les cellules immunitaires antituberculeuses que constituent le monocyte et les lymphocytes CD4 et CD8 ont sensiblement augmenté au cours du traitement antituberculeux. En raison d'un manque de réactifs spécifiques pour le macrophage, cellule phagocytaire antituberculeuse par excellence, cette cellule n'a pas été étudiée.

### A. Augmentation des monocytes

Les monocytes sont des cellules phagocytaires en nette augmentation. De J0 à J60, ils sont passés de 125 à 584 cellules /mm<sup>3</sup> ( $p < 0,001$ ). Les monocytes comme les macrophages participent à la réaction spontanée liée à la présence d'un antigène. Ce comportement constitue l'immunité innée qui repose sur l'activité phagocytaire (1).

Les monocytes, cellules issues de la moelle osseuse, sont des précurseurs du macrophage. La migration du monocyte du torrent sanguin à travers les cellules endothéliales vasculaires vers les tissus lui confère le statut de macrophage. Monocytes et macrophages sont ainsi des cellules phagocytaires par excellence qui distribuent les signaux relatifs à la plupart des infections dont la tuberculose. Ils ont pour rôle de phagocyter les microbes mais aussi les débris cellulaires (2). Leur durée de vie est longue (des mois, voire des années). Dans les conditions hors inflammation aiguë, le macrophage alvéolaire est la cellule de base de l'épuration par phagocytose des poussières, des germes et des déchets du surfactant. Le macrophage souvent vainqueur des phagosomes qu'il ingère et digère, a du mal à affronter une charge bactérienne élevée au cours de l'infection tuberculeuse. La digestion des phagosomes par le macrophage passe par la forte baisse du pH intramacrophagique qui constitue son arme redoutable. *Mycobacterium tuberculosis* qui est acido-résistant va survivre à l'intérieur du macrophage qui sera contraint à la mort par épuisement face à un germe trop virulent en raison de son épaisse enveloppe protectrice riche en substances lipoides. Le macrophage dans ces conditions ne pourra se limiter qu'à contenir l'agent infectieux (3). La phagocytose commence par l'attraction du macrophage vers la mycobactérie. L'endocytose qui s'en suit intègre le BK dans les vacuoles du macrophage pour former un phagosome auquel vient se fixer le lysosome pour former le phagolysosome. Avec la participation d'enzymes

lysosomiales et une acidification du phagolysosome à un pH de l'ordre de 4,5 le BK (*Bacille de Koch*) est affaibli (4). Le granulome tuberculeux attire les monocytes et engendre une baisse de son taux dans le sang périphérique (5). De même, *Mycobacterium tuberculosis* développe des mécanismes qui inhibent la production des monocytes, entraînant la baisse de leur taux dans le sang circulant (6).

### B. Augmentation des CD4

De J0 à J60, les CD4 sont passés de 537/mm<sup>3</sup> à 957/mm<sup>3</sup> ; soit une augmentation en valeur absolue de 420 CD4/mm<sup>3</sup> ( $p < 0,001$ ). Une telle augmentation des CD4 a été observée en 2011 par Afane Ze et al au Cameroun, en étudiant le profil des CD4 chez des patients coinfectés par la tuberculose et le VIH ne recevant exclusivement que des antituberculeux (7). Au cours de la coinfection Tuberculose & VIH, le patient est soumis à une double agression de son système immunitaire à médiation cellulaire. Les 2 infections ciblant les mêmes cellules de défense font de leur association un duo anti-immunitaire redouté.

### C. Augmentation des CD8

De J0 à J60, le taux des CD8 a augmenté en valeur absolue de 96 CD8/mm<sup>3</sup> ( $p < 0,039$ ).

L'augmentation des CD4 est plus perceptible que celle des CD8. Le rapport CD4/CD8 est ainsi en hausse ( $P < 0,001$ ). Les CD8 ont augmenté sensiblement dans notre étude. Par contre, ils semblent ne pas baisser au cours de l'infection au VIH qui favoriserait leur prolifération (5,8).

Les lymphocytes totaux étaient globalement en augmentation. Il s'agissait de l'effet d'entraînement induit par les CD4 et les CD8, principales cellules lymphocytaires concernées par l'immunité antituberculeuse.

### D. Le rôle des lymphocytes :

Le macrophage infecté, dans son fonctionnement, « présente » les antigènes bactériens aux lymphocytes Th (CD4, CD8). Ces antigènes sont des cytokines dont le TNF (Tumor Necrosis Factor), l'IL 12 (interleukine 12) et l'IL 6 pour stimuler via d'autres cellules de destruction, les CD4 jusque-là non encore sensibilisés. Il s'agit là d'une présentation antigénique destinée à créer chez les lymphocytes, une fonction immunitaire dite acquise. En réaction à la stimulation, les lymphocytes vont produire l'IFN- $\gamma$  (Interféron gamma) qui sera dirigé vers le macrophage pour activer la défense phagocytaire macrophagique (4). Dans le même temps, les CD4 et CD8 sensibilisés vont migrer vers les zones de présence du BK pour activer l'immunité à médiation cellulaire ainsi acquise et

participer à la formation des granulomes. Il existe ainsi une synergie de destruction microbienne qui part du macrophage infecté vers les lymphocytes CD4 et CD8 et la réponse de ces derniers en faveur du macrophage pour vaincre le BK (9).

Le profil des PNN

#### **E. La stagnation des PNN**

Le nombre de PNN (granulocytes) est resté stable dans ce travail ( $p > 0,05$ ). Leur éphémère participation à la résistance de l'organisme contre la tuberculose se manifeste par leur régression. La courte durée de vie de ces cellules (quelques jours) (10) ne leur concède pas les aptitudes nécessaires à résister aux mycobactéries. Les neutrophiles sont présents dans le granulome. Leur activité est moindre, malgré les enzymes qu'ils continuent de sécréter pour ramollir et liquéfier le caséum (3). Les polynucléaires neutrophiles ne semblent pas influencés par l'infection tuberculeuse.

#### **F. La mycobactérie**

*Mycobacterium tuberculosis* est un bacille Gram positif dont la paroi est très riche en lipides. Ces lipides sont des acides gras dont l'acide mycolique qui lui confère son caractère acido-alcool-résistant. Une telle paroi le rend peu perméable aux substances hydrophiles. (11)

Les nombreux acides gras de la paroi mycobactérienne constituent des substances antigéniques. Les anticorps produits par les lymphocytes B n'ont aucune action efficace contre le BK. En revanche, les lymphocytes joueraient un rôle de production de cytokines dont l'impact n'est pas encore clair (1).

#### **G. L'immunodépression due à la tuberculose**

Le combat des cellules phagocytaires, appuyées par les lymphocytes CD4 et CD8 face à la tuberculose entraîne un certain débordement de ces cellules face à la charge mycobactérienne (12). Ces cellules immunitaires semblent diminuer en nombre au cours de la tuberculose évolutive. En dehors de toute maladie ou médication immunodépressive, la tuberculose semble déprimer l'immunité cellulaire avec la destruction d'une certaine population de macrophages et de lymphocytes.

#### **H. Le rôle des antituberculeux**

Certains antituberculeux sont bactéricides (RMP, INH et PZA). D'autres sont bactériostatiques (EMB, Streptomycine). Le PZA et l'INH sont les meilleurs antibiotiques capables de traverser la membrane macrophagique et d'agir en son sein. L'INH inhibe la biosynthèse des acides mycoliques de la paroi mycobactérienne. Le PZA agit également sur la même membrane en inhibant sa fonction de transport et

d'échanges énergétiques (13). L'intérieur du macrophage ou du monocyte est un milieu acide. Ces caractères de l'INH et du PZA font d'eux, des antibiotiques majeurs à activité intracellulaire. Pénétrés à l'intérieur des cellules, l'INH et le PZA ont la faculté d'aller traquer le BK, de l'affaiblir et de favoriser la victoire du macrophage. Toutes les cellules phagocytaires mises à l'épreuve d'un phagosome tenace sont libérées par la pénétration en leur sein de ces 2 antibiotiques. Elles échappent à la mort programmée par les BK qui leur résistent au sein des phagolysosomes. Alors, commence l'augmentation significative du taux des monocytes et des macrophages. Quant aux lymphocytes CD4 et CD8, ils seraient en augmentation en raison de la levée de la stimulation macrophagique qui les sensibilise pour leur migration massive vers les zones d'infection par le BK où ils vont contribuer à la formation des granulomes et subir une destruction.

#### **I. Le rôle de l'alimentation**

La résistance à la tuberculose passe aussi par l'alimentation. La malnutrition est encore endémique en Afrique sub-saharienne. Elle participe à la prévalence encore élevée de la tuberculose au Cameroun où le RAI (Risque Annuel d'Infection) est de 1,5. Martin et al accusent la malnutrition d'immunodépressive. Il existe une relation malnutrition-infection qui passe par l'immunité et qui fonctionne comme un cercle vicieux. L'infection entraîne la malnutrition à travers la fièvre et l'anorexie qu'elle provoque. Les enfants sont particulièrement fragilisés par la malnutrition et sont les premières victimes face à l'infection (14).

### **CONCLUSION**

La tuberculose est une infection chronique immunodépressive. La chimiothérapie antituberculeuse devrait s'accompagner d'une alimentation adéquate en vue de favoriser une restitution immunitaire plus rapide. Seules 10% des personnes infectées par le BK vont développer la tuberculose maladie (15). Il existe donc une résistance naturelle de l'organisme qui, malheureusement est compromise par les facteurs environnementaux liés à la misère et aux habitudes toxiques (16). Cela explique la prévalence élevée de la tuberculose dans les pays en développement. Le contrôle des cellules de l'immunité antituberculeuse à la fin du traitement antituberculeux (à 6 mois) nous aurait montré la restitution totale de l'immunité déprimée par l'infection tuberculeuse.

**REFERENCES**

- [1] Neyrolles O, Volatron AC. Ce que l'on sait de la réponse immunitaire antituberculeuse chez l'homme. *Rev Mal Resp* 2008;25:27-30.
- [2] Tailleux L, Pham-Thi N, Bergeron-Lafaurie A, Hermann JL, Charles P, Schwartz O, Scheinmann P, Lagrange I, Blic J, Tazi A, Gicquel B, Neyrolles O. DC-SIGN induction in alveolar macrophage defines privileged target host for mycobacteria in patients with tuberculosis. *Plos Med* 2005;2:e38.
- [3] Chaparas SD. L'immunité dans la tuberculose. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*. 1982;60:447-62.
- [4] Marchal G. La réponse immunitaire au cours de la tuberculose. *Ann Inst Pasteur* 1993;4:216-24.
- [5] Ait Khaled N, Enarson D. Tuberculose: Manuel pour les Etudiants en Médecine. WHO/CDS/TB99.272.
- [6] Sarah M, Alejandra S. Mycobacterium tuberculosis Inhibits Macrophage Response to IFN- $\gamma$  through Myeloïd Differentiation Factor 88-Dependent and Independent Mechanisms. *J Immunol* 2004;172:6272-80.
- [7] Afane Ze E, Ekono Bitchong C, Pefura Yone E, Ngufack Tsague G, Njoya O, Njamnshi A. Co-infection tuberculose et VIH: hausse des CD4 avec le traitement par antituberculeux seuls. *Revue de Médecine et de Pharmacie* 2011;01:75-81.
- [8] Marchal G. Pathophysiologie et immunologie de la tuberculose. *Rev Mal Resp* 1997;14:5S19-5S26.
- [9] Guyot-Revoll V, Innes JA, Hanckforth S, Hinks T, Lalvani A. regulatory T cells are expanded in blood and disease site in patients with tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:803-10.
- [10] Contributeurs de Wikipédia. Granulocyte neutrophile [Internet]. Wikipédia, l'encyclopédie libre; 2013 juin 26, 22:35 UTC [cité 2013 août 6]. Disponible à l'adresse: [http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Granulocyte\\_neutrophile&oldid=94453263](http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Granulocyte_neutrophile&oldid=94453263)
- [11] Jones C, Whittaker E, Bamford A, Kampmann B. Immunology and pathogenesis of childhood tuberculosis. *Pediatr Respir Rev* 2011;12:2-8.
- [12] Reinert P. Immunité antituberculeuse. *Développement et Santé* 2008;190:10-12.
- [13] Zhang Y, Wade MM, Scorpio A, Zhang H, Sun Z. Mode of action of pyrazinamide: disruption of Mycobacterium tuberculosis membrane transport and energetics by pyrazinoic acid. *J Antimicrob Chemother* 2003;52(5):790-5.
- [14] Martin TR. La relation entre les infections de la malnutrition et du poumon. *Clin Chest Med* 1987 septembre;8(3):359-72.
- [15] Lioté H. Tuberculose, agents anti-TNF et autres immunosuppresseurs: évolution des stratégies de prévention. *Rev Mal Resp* décembre 2008;(25):1237-49.
- [16] Chaussade F. La tuberculose de nos jours: épidémiologie, menaces, enjeux et perspectives. *Ligue Médico-sociale luxembourgeoise* juin 2008:16.