



République Algérienne Démocratique et Populaire

*Université Abou Bekr Belkaid
Faculté de Médecine « Dr. Benzerdjeb »*

5^{ème} Année pharmacie



**Mémoire pour l'obtention du diplôme de
pharmacie**

Thème :

**Diagnostic de la
toxoplasmose chez la
femme enceinte**

Effectué par :
Chikhi Manel
Slimani Fatima

Encadré par : -Dr.Benyahia Djamila

Dr BENYAHIA .D
*Maître Assistante en
Parasitologie - Mycologie
C.H.U de Nemcen*

Service de : Microbiologie

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2012/2013

REMERCIEMENTS

La finalisation de ce mémoire d'obtention de diplôme de pharmacie n'a été rendue possible que grâce à la collaboration et au soutien de plusieurs personnes à qui nous tenons à exprimer nos sincères remerciements.

On voudrait tout d'abord remercier notre encadreur, le Docteur Benyahia pour nous avoir donné l'opportunité de travailler sur ce thème sous sa supervision et d'avoir fait preuve de compréhension, de patience et d'une attention particulière à notre égard.

Nous exprimons toute notre gratitude à l'endroit de nos chers parents : Moradj, Safia, Djamel, Naima pour leur tendre affection, leurs encouragements et leur soutien permanent et leur pertinence de nos conseils, et notre appui constant.

Ainsi nos frères et sœurs : Soria, Ahmed, Mouloud, Abdelrazak ,Rabie, Abdenasser, Farah, Fattoum et Asmaa sans oublier ses petits enfants Abdelkhalek, Widad, Abdelbarie, Sara, et Aroua.

Fatima et Manel
Fatima et Manel

Liste des abréviations

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

DO : Densité Optique.

ELIFA : Enzyme Linked Immuno Filtration Assay.

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.

ETF : Echographie Transfontanellaire.

FNS : Formule et numération sanguine.

HAP : Hémagglutination Passive.

HAS : Haute autorité de santé.

IFI : Immuno Fluorescence Indirecte.

Ig A, E, G, M : Immunoglobuline A, E, G, M.

Ig_m : Immunoglobuline maternel.

Ig_f : Immunoglobuline fœtale.

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique.

ISAGA : Immuno Sorbent Agglutination Assay.

LA : Liquide Amniotique.

LCR : Liquide Céphalo-rachidien.

PCR : Polymérase Chain Réaction.

T.gondii : *Toxoplasma gondii*.

UI : Unité Internationale.

SOMMAIRE

Remerciement	
La liste des abréviations	
Sommaire	
La liste des figures	
La liste des tables	
Résumé	
Introduction	
Partie théorique	
1-Définition.....	02
2-Epidémiologie.....	02
2-1-Historique.....	02
2-2-Agent pathogène	03
2-2-1- Classification	03
2-2-2- Morphologie.....	03
2-2-2-1- Le tachyzoïte (ou trophozoïte ou forme végétative).....	04
2-2-2-2- Le bradyzoïte.....	04
2-2-2-3- Le sporozoïte	04
2-2-3- Cycle évolutif du parasite	04
2-2-3-1-Phase sexuée : Cycle chez l'hôte définitif (chat ou félin)	04
2-2-3-2- Phase libre : Maturation des oocystes dans le milieu extérieur	08
2-2-3-3- Phase asexuée : Cycle chez l'hôte intermédiaire (mammifères ou oiseaux).....	08
2-2-4- Modes de contamination de l'Homme	08
2-2-4-1- Transmission par les kystes.....	09
2-2-4-2- Transmission par les oocystes.....	09
2-2-4-3- Transmission par les tachyzoïtes.....	09
2-3- Répartition géographique et prévalence.....	09
3-Clinique.....	10
3-1-Toxoplasmose acquise de l'immunocompétent	10
3-1-1-Asymptomatiques ou sérologiques.....	10

3-1-2-Symptomatique	10
3-2-Toxoplasmose acquise de l'immunodéprimé	11
3-3 -Toxoplasmose congénitale.....	11
3-3-1-définition, risque	11
3-3-1-1-La contamination précoce (1 ^{er} trimestre de grossesse).....	13
3-3-1-2-La contamination intermédiaire	14
3-3-1-3-Les formes inapparentes ou infra clinique à la naissance.....	14
4-Diagnostic.....	14
4-1-Diagnostic direct.....	14
4-1-1-Inoculation à l'animal.....	16
4-1-2- La culture cellulaire.....	16
4-1-3- La Polymérase Chain Réaction PCR.....	16
4-2-Diagnostic indirect.....	17
4-2-1-Techniques utilisée.....	18
4-2-1-1-Test de Sabin et Feldman (le Dye Test).....	18
4-2-1-2- L'agglutination.....	18
4-2-1-3- Réaction ISAGA (Immuno-Sorbent Agglutination Assay).....	19
4-2-1-4- L'Immunofluorescence Indirecte = IFI.....	19
4-2-1-5- L'hémagglutination passive = indirecte.....	20
4-2-1-6- ELISA (Enzyme Linkeg Immuno Sorbent Assay).....	20
4-2-1-7-Agglutination différentielle	21
4-2-2- Cinétique des anticorps au cours da la toxoplasmose acquise.....	21
4-2-2-1- Les IgM	21
4-2-2-2- Les IgG.....	23
4-2-2-3-Les IgA.....	23
4-2-2-4-Les IgE.....	24
4-2-3-datation de la contamination.....	24
4-2-3-1-Test d'avidité	24
4-2-3-2-Agglutination différentielle.....	24
4-2-3-3-Dosage des IgA.....	24
4-3-Démarche diagnostic.....	24
4-3-1-Diagnostic de toxoplasmose acquise.....	24

4-3-2-Diagnostic de toxoplasmose congénitale.....	24
4-3-2-1-diagnostic anténatal.....	24
a- Le suivi échographique.....	25
b- Le diagnostic biologique	25
c- Le suivi de la grossesse.....	27
4-3-2-2-diagnostic néonatal	28
a- L'examen clinique	29
b- L'imagerie cérébrale.....	29
c- Examen du placenta.....	30
4-3-2-3- Le diagnostic biologique post natal.....	30
a- Le diagnostic sérologique	30
b- cinétique des anticorps ou cours de la toxoplasmose congénitale	31
5- Le traitement.....	31
5-1-Médicament utilisées.....	31
5.1.1 Les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique.....	32
5.1.2 Les macrolides et les molécules apparentées.....	32
5-2-Conduite thérapeutique.....	31
6-Prévention.....	33
Partie pratique.....	
1-Les objectifs.....	35
1-1-Objectif général.....	35
2-Méthodologie.....	35
2-1- Présentation du cadre d'étude : laboratoire de microbiologie CHU Tlemcen	
2-2- Echantillonnage.....	35
2-2-1- La population étudiée.....	35
2-2-1-1- Les prélèvements	36
3- Matériels et Méthodes.....	36
3-1-Matériels.....	36
3-1-1-matériel biologique.....	36
3-1-2-matériels de laboratoire.....	36
3-1-2-1-Matériel proprement dit.....	36
3-1-2-2-les solutions et réactifs.....	37
3-2- Méthodes.....	38
3-2-1- Le test d'ELISA.....	38

3-2-1-1- Principe (IgM ; IgG).....	38
3-2-1-2- Procédure.....	38
3-2-1-3- Procédure de lavage.....	39
3-2-1-4- Dosage des IgM avec le kit Toxo IgM ELISA Human	39
3-2-1-5- Dosage des IgG avec le kit Toxo IgG Human.....	41
3-3-Détermination quantitative (la courbe).....	44
4-Résultats et interprétations.....	49
Discussion.....	62
Conclusion.....	64
Références bibliographiques	

Liste des figures

Figure N°01 : Pénétration de tachyzoïtes dans une cellule.....	05
Figure N°02 : Ultrastructure de <i>Toxoplasma gondii</i> (bradyzoïte).....	06
Figure N°03 : Oocyste sporulé de toxoplasme observé en microscopie électronique.....	06
Figure N°04 : Cycle évolutif du parasite.....	07
Figure N°05 : Toxoplasme cérébrale. Examen par imagerie par résonance magnétique (IRM)	12
Figure N°06 : atteintes multiples de la toxoplasmose congénitale (tétrade de Sabin). ...	15
Figure N°07 : Cinétique des immunoglobulines (Bessières, 2006).....	23
Figure N°08 : La courbe d'étalonnage des IgG	45
Figure N°09 : La fiche de renseignement.....	47
Figure N°10 : La répartition des prélèvements	48
Figure N°11 : Les résultats des prélèvements	49
Figure N°12 : La répartition des malades selon l'âge	50
Figure N°13 : La répartition des malades selon le sexe	51
Figure N 14 : La répartition des femmes	52
Figure N°15 : Les résultats des femmes enceintes	53
Figure N°16 : La répartition des femmes enceintes selon l'âge de grossesse	54
Figure N°17 : Les résultats des femmes enceintes selon l'âge de grossesse	55
Figure N°18 : Distribution de la séroprévalence des IgM selon l'âge de la grossesse	56
Figure N°19 : Algorithme décisionnel devant une sérologie toxoplasmique chez la femme enceinte	58
Figure N°20 : Le résultat de sérodiagnostic.....	60
Figure N°21 : La liste des conseils	61

La liste des tableaux

Tableau N°01 : Thérapeutique des toxoplasmoses maternelles et congénitales.....	32
Tableau N°02 : La répartition des prélèvements.....	49
Tableau N°03 : Les résultats des prélèvements.....	50
Tableau N°04 : La répartition des malades selon l'âge.....	51
Tableau N°05 : La répartition des malades selon le sexe	52
Tableau N°06 : La répartition des femmes	53
Tableau N°07 : Les résultats des femmes enceintes	54
Tableau N°08 : La répartition des femmes enceintes selon l'âge de grossesse.....	55
Tableau N°09 : Les résultats des femmes enceintes selon l'âge de grossesse.....	56
Tableau N°10 : Distribution de la séroprévalence des IgM selon l'âge de la grossesse... 	57

Résumé :

De nombreuses infections peuvent compromettre l'évolution normale du fœtus, parmi les infections les plus graves qui touchent le fœtus, on retrouve la toxoplasmose congénitale. Elle est consécutive à la toxoplasmose acquise contractée par la femme enceinte durant la grossesse.

Notre étude a pour but de déterminer la séroprévalence de la toxoplasmose chez la femme enceinte. Où la méthode sérologique utilisée était la technique ELISA (Laboratoire HUMAN) à la recherche des IgM et des IgG.

Cette étude a porté sur un échantillon représentatif de femmes enceintes relevant du CHU de Tlemcen durant une période de trois mois (Février 2013 à Avril 2013), et elle concerne 338 femmes enceintes. Pour le recueil des informations, des fiches de renseignements individuelles ont été établies. Chacune d'elles comportaient l'identité, l'âge, le lieu de résidence, l'âge de la grossesse, la présence d'un chat, et la consommation de viande mal cuite.

Parmi les 338 sérums examinés, les résultats sérologiques ont montré 126 sérums positifs et 210 sérums négatifs. Soit la séroprévalence de la toxoplasmose chez la femme enceinte au niveau de la région de Tlemcen est de 37.28%, et donc ce n'est pas une maladie rare comme l'ont peut le croire dans la littérature.

Enfin on peut conclure que le risque encouru par cette maladie au cours de la grossesse est assez inquiétant vu que plus de tiers des femmes l'ont contracté. D'autres facteurs de risque importants peuvent être ajoutés à ceux cités dans la littérature, notamment la consommation d'eau et de crudités souillées.

Mots clés : Toxoplasmose congénitale, Femme enceinte, facteurs de risque, Tlemcen.

Summary:

Many infections can affect the normal development of the fetus, among the most serious infections that affect the fetus, there is congenital toxoplasmosis. It is secondary to acquired toxoplasmosis contracted by a pregnant woman during her pregnancy.

Our study aimed to determine the séroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women. Where the serological method used was to research HUMAN ELISA IgM and IgG. This study was conducted we have representative sample of pregnant women within the medical Tlemcen University Hospital during a period of three months (February 2013-April 2013). And for 338 pregnant women. For the collection of information, individual information sheets have been established. Each contained the identity, age, place of residence, age of pregnancy, the presence of a cat, and consumption of undercooked meat.

Of the 338 sera tested, serological results showed 126 positive samples and 210 negative . Either the séroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women at Tlemcen (Tlemcen University Hospital) is 37.28%, so it is not a rare disease as may have believed in the literature.

Finally we can conclude that the risks for this disease is quite disturbing since more than third of the subjects were infected. Other important risk factors can be added to those cited in the literature, including the consumption of contaminated water and vegetables.
Keywords: congenital toxoplasmosis, pregnant woman, risk factors, Tlemcen

ملخص:

الكثير من الاصابات يمكن ان تؤثر على التطور الطبيعي للجنين و من بين هذه الاصابات الخطيرة يوجد داء المقوسات الحلمي و نقصد به داء المقوسات الذي يصيب النساء الحوامل. دراستنا تهدف الى معرفة نسبة وجود المضادات المناعية في امصال النساء الحوامل. هذه الدراسة اجريت على مجموعة نساء حوامل حضرن الى المستشفى الجامعي بتلمسان خلال ثلاثة اشهر (فيفري 2013-افريل 2013) و هي تخص 338 امرأة حامل. و من اجل الحصول على اكثر معلومات هناك استمارة خاصة تملئ تحتوي على الهوية, العمر, مكان الاقامة, عمر الحمل, وجود قط, استهلاك لحوم غير ناضجة.

من بين 338 مصل محلل اظهرت النتائج 126 مصل ايجابي و 210 مصل سلبي ' و منه نسبة وجود المضادات المناعية عند النساء الحوامل في تلمسان هي 37,28. و منه فهو ليس مرض نادر مثلما هو معتقد .

و في الاخير نستنتج ان خطر المرض يفوق الثلث في العينة المدروسة .

عدة اسباب مهمة اخرى يمكن ان تسبب المرض مثل استهلاك ماء و خضر ملوثة.

INTRODUCTION :

La toxoplasmose est une zoonose cosmopolite, dont l'agent pathogène, *Toxoplasma gondii* est un protozoaire qui appartient au phylum des *Apicomplexa*. Ce phylum, regroupe d'autres Pathogènes d'incidence majeure sur le plan médical.

Infection habituellement sans gravité pour l'adulte immunocompétent, elle peut se montrer redoutable chez l'immunodéprimé ou en cas d'atteinte fœtale lors de la séroconversion chez une femme enceinte. Le risque de contamination fœtale augmente avec l'âge de la grossesse. Elle peut alors être responsable de sévères complications cérébrales (calcifications Intracrâniennes, hydrocéphalie), oculaires (chorio-rétinite, atrophie optique) et viscérales (atteintes fœtales, ictère).

Si une séroconversion toxoplasmique per gravidique est objectivée, la prise en charge du couple mère-enfant est aujourd'hui bien codifiée et correspond, outre l'instauration d'une chimio prophylaxie secondaire (Rovamycine), à la recherche d'une atteinte fœtale par l'imagerie obstétricale, couplée au diagnostic anténatal biologique.

Cette parasitose constitue un réel problème de sante publique, le défi posé par la prise en charge de cette infection est de plusieurs ordres. Le premier est d'en établir un diagnostic sérologique bien codifié des femmes enceintes et de pouvoir faire un suivie sérologique chez elles. Le deuxième est poser un diagnostic précoce chez le fœtus ou le nouveau-né, afin de pouvoir traiter l'infection à temps et de prévenir les séquelles.

Il s'avère important de réaliser un état des lieux académique et pratique de la toxoplasmose congénitale au sein de notre laboratoire (CHU de Tlemcen, Service de Microbiologie, unité de parasitologie mycologie) afin de connaitre la situation actuelle chez les femmes de la région de Tlemcen.

Partie théorique

1-Définition :

La toxoplasmose est une maladie cosmopolite due à un protozoaire, parasite opportuniste, *Toxoplasma gondii*. Son cycle fait intervenir le chat comme hôte définitif, l'homme s'infectant le plus souvent par ingestion de viande contaminée par la forme kystique du parasite. *Toxoplasma gondii* est responsable de 2 types d'atteintes cliniques, la toxoplasmose congénitale (transmise de la mère au fœtus en cas de primo infection maternelle pendant la grossesse) et la réactivation d'une infection ancienne chez les patients immunodéprimés (localisation le plus souvent cérébrale).

Le diagnostic de ces différentes formes se base sur un faisceau d'arguments (clinique, radiologique et biologique). La biologie constitue une étape importante dans ce diagnostic et de laquelle dépend la prise en charge des femmes enceintes et de leurs enfants.

2-Epidémiologie :

2- 1-Historique :

Les données sur le toxoplasme et son épidémiologie ont été acquises très progressivement :

- ❖ **En Tunisie (Nicolle, 1908)** : Le parasite a été d'abord découvert uniquement sous sa forme tachyzoïte dans les tissus d'un rongeur (*Ctenodactylus gondii*), et simultanément **au Brésil** chez un lapin. Toute notion concernant son cycle et son importance en pathologie humaine et animale est alors inconnue.
- ❖ **Dans les années 1920-1930** : Apparaissent les premières descriptions de cas de toxoplasmose humaine (toxoplasmose congénitale avec manifestations oculaires en **1923**, un cas d'encéphalite chez un enfant en **1939**) et les transmissions possibles entre hôtes intermédiaires par inoculation de tachyzoïtes.
- ❖ **En 1940** : C'est la mise au point des premiers tests sérologiques dans ces années qui ont permis de révéler l'importance de la prévalence de la toxoplasmose humaine.
- ❖ **Dans les années 1960** : A été clairement identifié le rôle de la consommation de viande insuffisamment cuite dans la transmission (et notamment de viande de mouton).

- ❖ **Ce n'est enfin qu'en 1969** que le rôle du chat comme hôte définitif et l'existence des oocystes ont été démontrés, permettant alors de comprendre les circonstances de contamination des herbivores et de décrire le cycle de ce parasite.

2- 2-Agent pathogène: Toxoplasma gondii:

2-2-1- Classification :

Toxoplasma gondii est un Protozoaire intracellulaire obligatoire dont la position taxonomique définie en 1980 par Levine et coll. est la suivante :

- **Règne** des Protistes
- **Sous-règne** des Protozoaires
- **Embranchement** des Apicomplexa
- **Classe** des Sporozoaires
- **Sous-classe** des Coccidies.
- Genre** toxoplasma
- Espèce** gondii. (07)

2-2-2- Morphologie :

Au cours de son cycle biologique, *Toxoplasma gondii* se présente sous trois formes évolutives distinctes :

2-2-2-1- Le tachyzoïte (ou trophozoïte ou forme végétative) :

En forme d'arc, il mesure de 6 à 8 μm de long sur 3 à 4 μm de large. L'extrémité postérieure, près de laquelle se trouve le noyau, est arrondie ; l'extrémité antérieure où est situé le complexe apical (appareil de pénétration) est effilée. Le tachyzoïte peut parasiter n'importe quel type de cellule mais essentiellement les macrophages de tous les animaux à sang chaud. C'est la forme parasitaire que l'on trouve au stade aigu de l'infection chez l'hôte intermédiaire.(05)

Le tachyzoïte est rapidement détruit par l'acide chlorhydrique gastrique et son ingestion ne peut donc pas entraîner la contamination. **(Figure N°01)**

2-2-2-2- Le bradyzoïte :

Les bradyzoïtes se trouvent à l'intérieur des kystes présents au stade chronique de l'infection chez l'hôte intermédiaire. Morphologiquement très proches des tachyzoïtes, ils se distinguent par un métabolisme ralenti. Les kystes mesurent de 50 à 200 μm et se localisent surtout dans les neurones, les astrocytes, les cellules musculaires, les cellules rétinienne.(05) **(Figure N°02)**

2-2-2-3- Le sporozoïte :

Les sporozoïtes se trouvent à l'intérieur des oocystes issus de la reproduction sexuée dans les cellules de l'épithélium intestinal de l'hôte définitif. Ils sont morphologiquement très proches des deux formes parasitaires précédentes.

Les oocystes mesurent en moyenne 14 μm sur 9 μm et renferment à maturité deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes. Ils peuvent survivre plus de un an dans un sol humide. (05) **(Figure N°03)**

2-2-3- Cycle évolutif du parasite :

Particularités du cycle : cycle hétéroxène avec pour hôte définitif le chat ou un félin sauvage, et pour hôte intermédiaire un mammifère ou un oiseau. Ce cycle passe par les trois phases suivantes : **(figure N°04)**

2-2-3-1-Phase sexuée : Cycle chez l'hôte définitif (chat ou félin) :

Le cycle se déroule dans l'intestin grêle de l'hôte définitif. Celui-ci se contamine par ingestion de kystes contenus dans les tissus de petits mammifères ou oiseaux. Il peut également se contaminer en ingérant des végétaux souillés d'oocystes. Les bradyzoïtes libérés

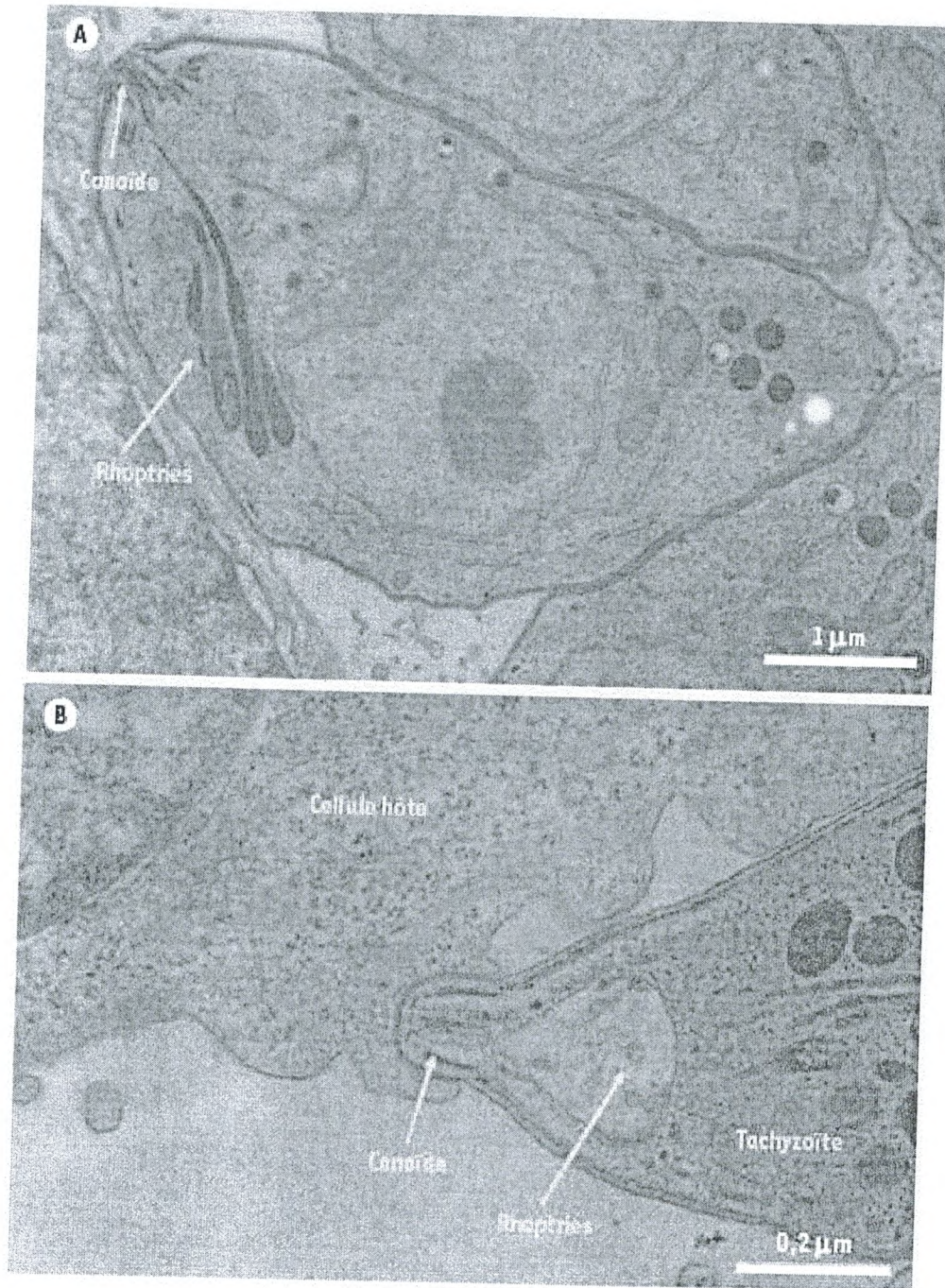


Figure N°01: Pénétration du tachyzoites dans une cellule (d'après Anofel)



Figure N°02 : Ultrastructure de *Toxoplasma gondii* (bradyzoïte)

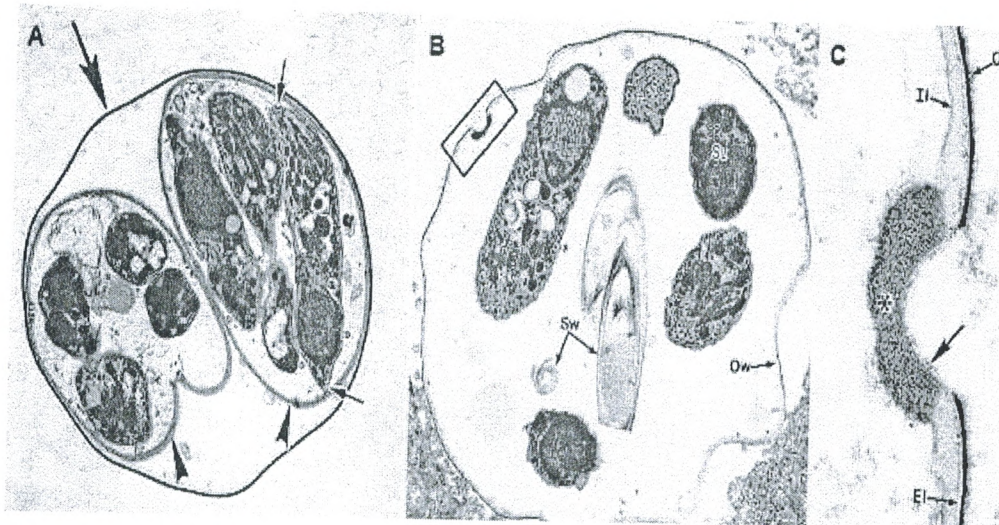


Figure N° 03 : Oocyste sporulé de toxoplasme observé en microscopie électronique.

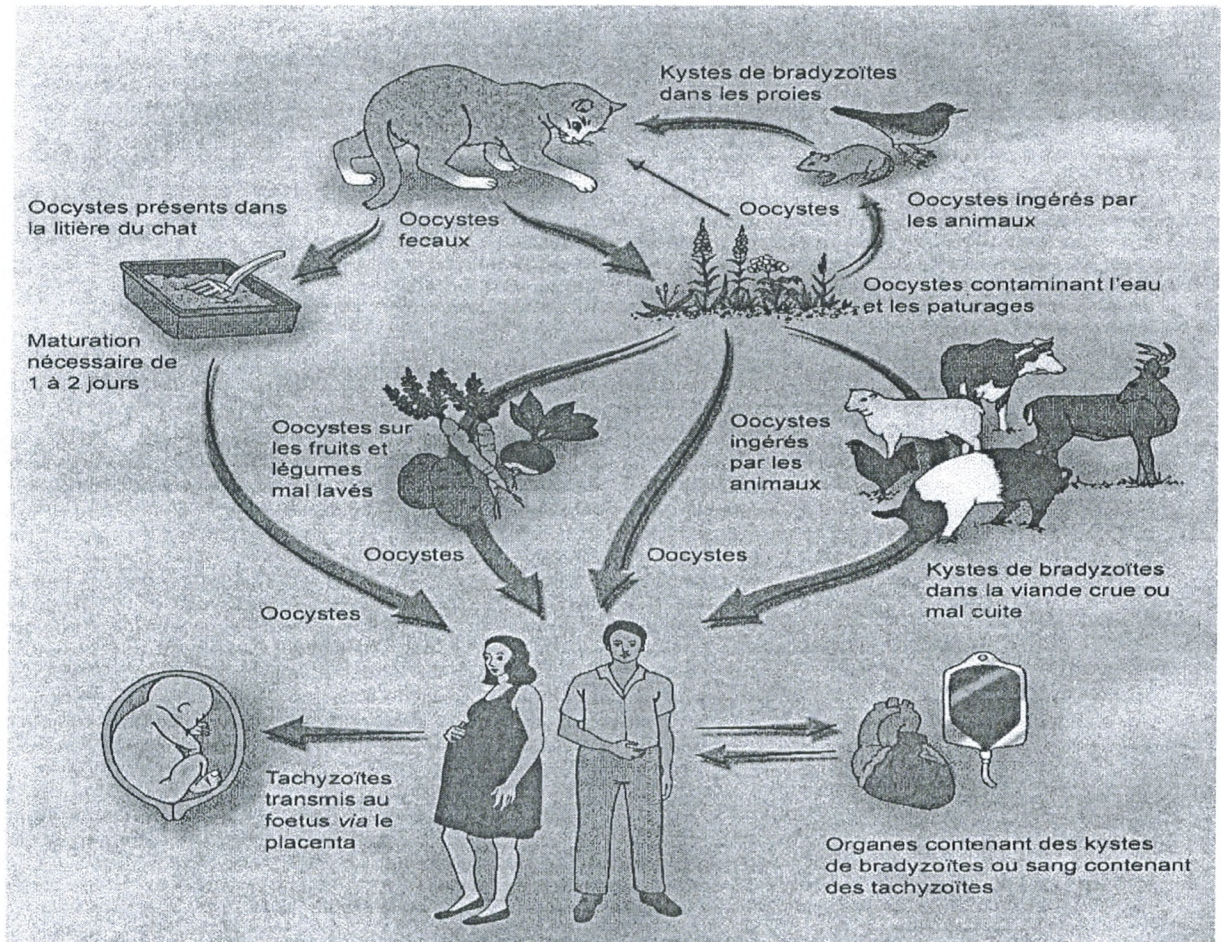


Figure N°04 :Le cycle évolutif de parasite *Toxoplasma gondii*

des kystes par les sucs digestifs, ainsi que les sporozoïtes issus des oocystes, pénètrent dans les cellules de l'épithélium intestinal. Ils vont subir une **multiplication asexuée ou schizogonie**.

Après une ou plusieurs schizogonies va survenir une **reproduction sexuée ou gamogonie**. Au cours de la gamogonie, il y a formation de gamètes mâles et femelles, fécondation et formation d'un œuf, entouré d'une coque résistante, appelé oocyste. L'oocyste est éliminé dans le milieu extérieur avec les fèces du chat ; il est alors immature et non infestant. L'élimination des oocystes est transitoire : quelques millions en quelques jours.

Le chat peut également faire une infection avec phase aiguë et phase chronique comme l'hôte intermédiaire.

2- 2-3-2- Phase libre : Maturation des oocystes dans le milieu extérieur :

Selon les conditions de température et d'humidité, la maturation des oocystes dans le milieu extérieur nécessite de un à cinq jours. Dans l'oocyste se forme deux sporocystes dans lesquels se formeront à leur tour quatre sporozoïtes. Les sporozoïtes sont les formes infestantes.

2-2-3-3- Phase asexuée : Cycle chez l'hôte intermédiaire (mammifères oiseaux) :

L'hôte intermédiaire se contamine soit par ingestion de kystes à partir de la chair de divers animaux, soit à partir des oocystes provenant d'aliments souillés de terre.

Les toxoplasmes issus de kystes ou d'oocystes vont pénétrer et se multiplier sous forme de tachyzoïtes essentiellement dans les cellules du système des phagocytes mononucléés.

Le parasite diffuse par voie sanguine ou lymphatique dans l'ensemble de l'organisme. Il se multiplie par endodyogenèse, schizogonie particulière où deux toxoplasmes-fils prennent naissance à l'intérieur d'un toxoplasme-mère. C'est la phase aiguë de l'infection.

Sous l'influence du système immunitaire, et essentiellement de l'immunité cellulaire, il y a transformation des tachyzoïtes en bradyzoïtes en quelques semaines. La formation des kystes correspond à la phase chronique de l'infection. Les kystes siègent principalement dans le cerveau, les muscles et l'œil. La longévité des kystes est très grande, égale à celle de l'hôte.

Le cycle peut être complet avec passage d'hôte définitif à hôte intermédiaire, ou bien incomplet avec passage d'hôte intermédiaire à hôte intermédiaire, ne faisant pas intervenir d'hôte définitif.(08)

2- 2-4- Modes de contamination de l'Homme :

L'homme peut s'infester par les différentes formes parasitaires **suivantes** :

2- 2-4-1- Transmission par les kystes :

La contamination peut se faire de deux façons, soit par consommation de viandes insuffisamment cuites ou fumées, soit par transmission à partir de transplantation d'organes (donneur séropositif et receveur séronégatif pour la toxoplasmose).

2- 2-4-2- Transmission par les oocystes :

Cette dernière peut se faire par consommation de fruits et de légumes crus mal lavés, l'eau de boisson contaminée ou l'hygiène insuffisante des mains notamment après contact avec la terre.

2-2-4-3- Transmission par les tachyzoïtes.

La voie transplacentaire est responsable de cette transmission qui est à l'origine de la toxoplasmose congénitale.

2- 3- Répartition géographique et prévalence :

Cette maladie est cosmopolite avec quelques variations concernant sa prévalence. L'estimation de la séroprévalence de la toxoplasmose chez l'être humain est très hétérogène et varie énormément d'un pays à l'autre, mais aussi d'une région à l'autre dans le même pays et entre différents groupes ethniques vivants dans une même région (05).

Ces variations sont essentiellement fonction de :

- Conditions d'hygiène, des habitudes alimentaires (consommation de viande crue)
- Conditions climatiques (les pays chauds et humides sont propices aux infections alors que la prévalence est faible voir quasi nulle dans les pays froids et secs)
- L'importance de la population féline
- Méthodes d'élevage des animaux domestiques.

En Afrique :

En règle générale la prévalence est très élevée dans les régions humides que dans les régions sèches, et plus élevée en ville qu'en zone rurale. Les chiffres les plus faibles concernent les zones rurales et sahéliennes (4% en zone rurale de Niger).

Dans le reste de l'Afrique de l'Ouest, les taux s'élèvent jusqu'à des chiffres de l'ordre de 30 à 35 % au Mali au Sénégal ou en zone pré-sahélienne de cote d'Ivoire 55-70% dans les régions humides. En Afrique centrale et de l'Est, les règles générales sont les mêmes avec des prévalences plus élevées dans les régions rurales.

Peu de données existent pour le Maghreb mais on dispose probablement une bonne évaluation de la situation en suivant en France la sérologie des femmes enceintes originaires

d'Afrique du Nord chez qui, selon les enquêtes, la prévalence de la toxoplasmose varie entre 56 et 61%.

En Asie :

Les quelques enquêtes faites en Asie de Sud-est mettent en évidence une prévalence très faible de la toxoplasmose 0,7% en Chine. En Thaïlande 1,2 à 4,6% et des chiffres de l'ordre de 15,2 à 40,1% au Pakistan .En fin en Japon la prévalence irait de 4 à 36%.

En Amérique :

L'Amérique de Nord anglophone connaît des très faibles taux de prévalence (5-10%) dans les zones rurales de l'Oregon jusqu'à 30% à New York. Au Québec francophone des prévalences plus élevées 40%.

En Europe :

On a trois ensembles géographiques :

La prévalence de la toxoplasmose est très élevée (50-75%) dans l'ensemble comprenant l'Allemagne le Bénélux et la France. Elle est inférieure à 30% en Scandinavie et les îles Britanniques. Avec une situation intermédiaire (20-50%) prévaut en Europe méditerranéenne.

3-Clinique :

L'expression clinique de la toxoplasmose est liée aux interactions hôte-parasite et sera différente en fonction de l'état immunitaire du patient et de la souche de parasite en cause. On distingue trois grandes entités cliniques :

- 1. La toxoplasmose acquise post-natale du sujet immunocompétent**
- 2. La toxoplasmose du sujet immunodéprimé.**
- 3. La toxoplasmose congénitale**

3-1-Toxoplasmose acquise de l'immunocompétent :

La contamination se fait après la naissance, souvent chez l'adulte jeune et peut être soit :

3-1-1-Asymptomatiques ou sérologiques : ces formes sont fréquentes et découvertes par une sérologie positive lors d'examen systématiques.

3-1-2-Symptomatique :

- Toxoplasmose bénigne

Au cours de cette forme le malade peut présenter des adénopathies cervicales fermes mobiles, qui persistent très longtemps (plusieurs mois, voire une année), un rash cutané, une

fébricule (environ 38⁰c) et une asthénie. Les examens biologiques objectivent un syndrome mononucléosique ou neutropénie.

- Toxoplasmose oculaire isolée : C'est une situation plus rare.

3-2-Toxoplasmose acquise de l'immunodéprimé :

C'est une forme grave, elle peut être observée chez les sidéens, les greffés d'organes, dans certaines hémopathies malignes et les immunodépressions iatrogènes (corticoïdes, immunosuppresseurs)...

Elles correspondent le plus souvent à une réactivation d'infection acquise antérieurement.

- La toxoplasmose localisée : c'est la forme la plus fréquente, elle peut être soit:
 - Cérébrale : cette dernière est caractérisée par des signes neurologiques (crises comitiales, signes déficitaires), accompagnée d'une fièvre.

L'examen tomodensitométrique objective un ou plusieurs abcès cérébraux.

(Figure N°05)

- Pulmonaire : se voit sous forme de pneumopathie interstitielle,
 - Oculaire : sous forme d'une chorioretinite et qui peut être associée dans la plus part des cas aux signes neurologiques.
- La toxoplasmose disséminée : qui se manifeste par une atteinte poly viscérale.(12)

3-3 -Toxoplasmose congénitale :

3-3-1-définition, risque :

Elle résulte de la contamination du fœtus au cours de la grossesse. La circonstance la plus habituelle est la survenue d'une primo-infection chez la femme enceinte, mais la transmission peut également se produire lors d'une récurrence parasitémique chez une femme enceinte immunodéprimée (toxoplasmose de réactivation).

Le risque de transmission verticale est globalement de l'ordre de 30%, sans traitement; il augmente avec le terme, à l'inverse de la gravité de l'atteinte fœtale qui diminue.(06) Il faut également savoir qu'il existe un risque de transmission en cas de contamination

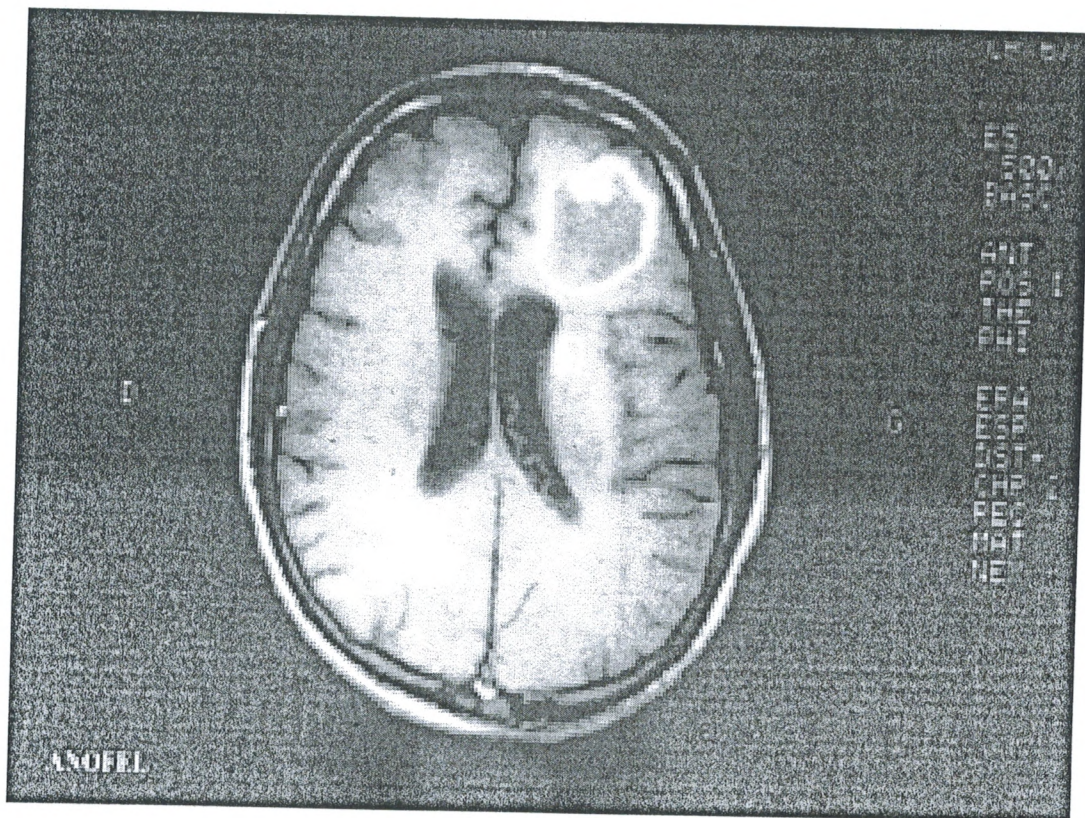


Figure N°05 : Toxoplasme cérébrale. Examen par imagerie par résonance magnétique (IRM)

périsconceptionnelle (même antérieure à la conception) car la parasitémie initiale peut persister plusieurs semaines.

En cas de séroconversion en cours de grossesse, si la mère n'est pas traitée, le risque de transmission verticale est grossièrement de 15% au premier trimestre, 30% au second et 60% au troisième trimestre. Si la mère est correctement prise en charge et traitée le risque est de l'ordre de 1% dans la période périsconceptionnelle, inférieur à 4% avant la dix septième semaine d'aménorrhée et de 20 à 100% entre la 17^{ème} semaine et le terme selon l'âge de la grossesse.(06).

Les formes graves de toxoplasmose congénitales sont observées principalement pour des séroconversion du début de la grossesse ; plus le terme est avancé lors de la contamination de la mère, plus le risque de forme grave diminue au profit des formes bénignes ou latentes. Ce risque peut varier en différents stades selon l'âge gestationnel :

3-3-1-1-La contamination précoce (1er trimestre de grossesse) :

Elle est responsable de la toxoplasmose congénitale majeure.

Cette forme grave est actuellement rarement observée en France, compte tenu des modalités modernes de prise en charge de la séroconversion chez les femmes enceintes. Elle entraîne soit la mort in utero, soit une encéphalomyélite toxoplasmique chez l'enfant à naître.

On décrit classiquement 4 groupes de signes cliniques :

- Aspect et volume du crane : macrocéphalie avec hydrocéphalie externe, augmentation du périmètre crânien qui dès la naissance est supérieur à la normale mais

Surtout augmente ultérieurement plus vite que la normale.

- Signes neurologiques : ils peuvent se voir soit sous forme de :
 - Convulsions généralisées.
 - Troubles du tonus avec soit hypertonie ou hypotonie.
 - Modification des reflexes.
 - Troubles végétatifs (déglutition altérée, irrégularité respiratoire, déséquilibre thermique).
- Des calcifications intracrâniennes presque pathognomoniques.

Des signes oculaires : sous forme de microphthalmie, strabisme, nystagmus décelé à l'inspection du visage et une chorioretinite pigmentaire maculaire unie ou bilatérale. Cette dernière est classiquement sous forme d'une lésion jaunâtre qui peut être paramaculaire ou parapapillaire qui évolue vers une cicatrisation pigmentée.

Devant un tel tableau clinique, la mort du nouveau né se fait dans les premiers mois de vie. En cas de survie, l'enfant est atteint de retard psychomoteur considérable.

La figure N°06 regroupe l'ensemble des signes cliniques liés à une toxoplasmose chez un nouveau-né. (07)

3-3-1-2-La contamination intermédiaire :

2 formes cliniques sont possibles :

- Les formes viscérales : Elles se caractérisent soit par :
 - Un ictère néonatal avec hépato-splénomégalie et hémorragies muqueuses.
 - Une atteinte digestive aiguë à type d'œsophagite ou de colite ulcéro-hémorragique.

Ces formes sont à la limite des possibilités thérapeutiques.

- Les formes dégradées ou retardées : Elles sont reconnues dès la naissance ou ne sont dépistées quelque fois qu'après plusieurs années. Elles comportent les signes suivants (un ou plusieurs) :
 - Retard psychomoteur.
 - Périmètre crânien augmentant plus rapidement que la normale.
 - Crises convulsives.
 - Apparition souvent tardive d'un foyer de chorioretinite pigmentaire.(07)

3-3-1-3-Les formes inapparentes ou infra clinique à la naissance :

On ne dénote aucun signe clinique d'infection chez 80% des enfants atteints à la naissance. Le diagnostic est purement biologique. En effet porteur d'anticorps spécifiques, les IgM néosynthétisées par l'enfant sont le seul témoin de l'infection. Cependant le potentiel évolutif de cette maladie est incertain avec risque de lésion oculaire survenant ou récidivant pendant l'enfance, l'adolescence voir l'âge adulte.

En effet, plus de 40 % des enfants non traités présenteront des atteintes oculaires type chorioretinite avec diminution permanente de l'acuité visuelle. C'est pourquoi une surveillance au long cours est indispensable.

4-Diagnostic :

4-1-Diagnostic direct :

Lorsque survient une séroconversion maternelle en cours de grossesse, le diagnostic direct a pour but de déterminer l'éventuelle infection du fœtus après transmission transplacentaire de *T. gondii*. La mise en évidence du parasite constitue la preuve formelle

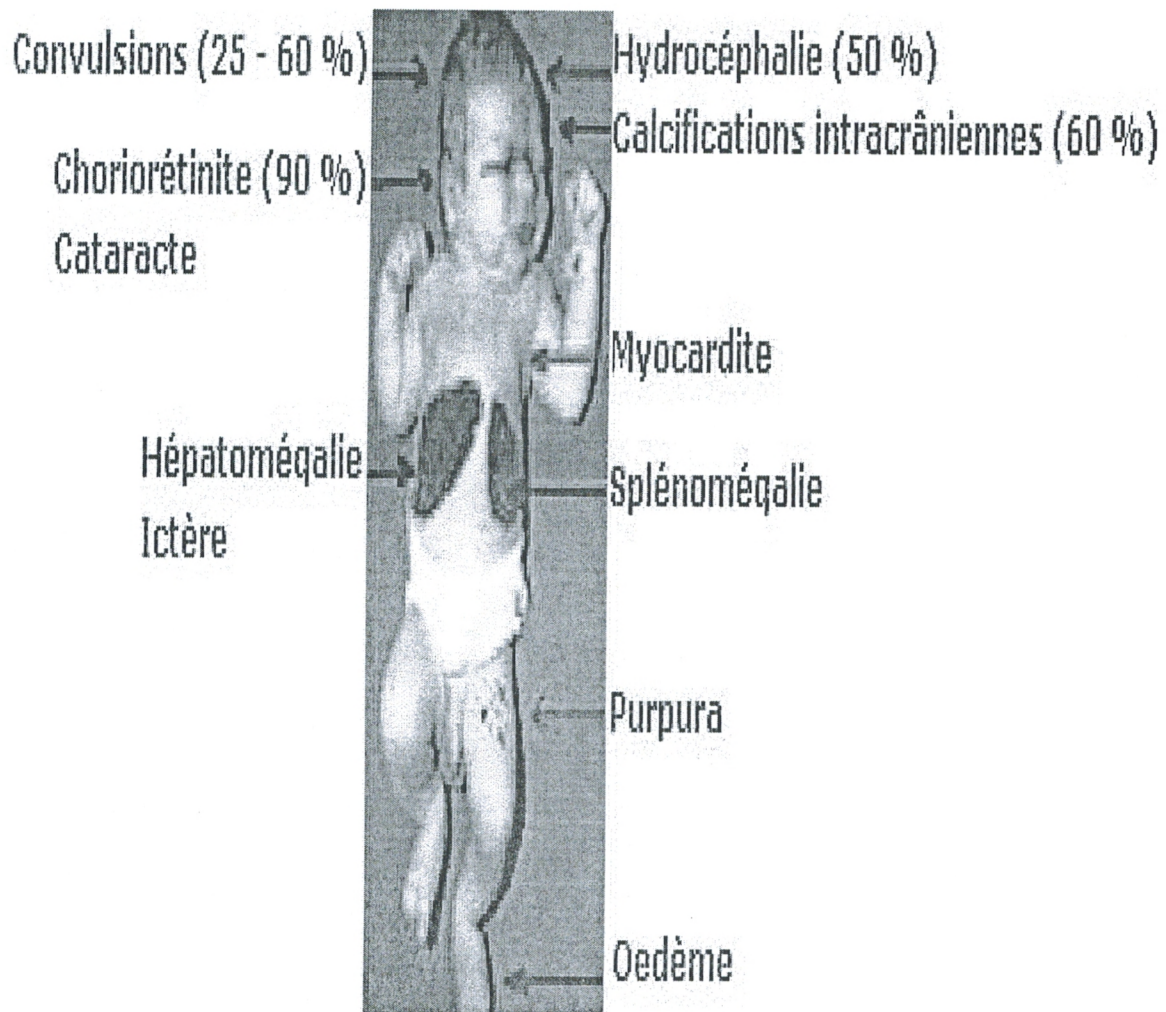


Figure N°06 : atteintes multiples de la toxoplasmose congénitale (tétrade de Sabin)

d'une infection fœtale. Une amniocentèse avec, si possible, ponction du cordon ombilical est réalisée au delà de la 18^{ème} semaine de gestation, et un minimum de 4 semaines après la date présumée d'infection maternelle afin d'éviter les résultats faux négatifs liés au temps requis pour le passage transplacentaire.

4-1-1-Inoculation à l'animal :

Plusieurs souris séronégatives pour la toxoplasmose (environ 10) sont inoculées en intra péritonéal avec un échantillon de liquide amniotique. Une surveillance sérologique antitoxoplasmique est effectuée après trois à six semaines. Le sang est prélevé au niveau du cœur. La recherche d'anticorps spécifiques antitoxoplasmiques est généralement effectuée par des techniques d'agglutination utilisant des conjugués anti Ig de souris. Les souris, qui présentent un test positif, sont sacrifiées et l'infection est confirmée par la mise en évidence de kystes intracérébraux à l'examen microscopique. L'existence de faux négatifs est tout de même possible. Plusieurs circonstances l'expliquent :

- Une faible charge parasitaire dans le liquide amniotique.
- Un nombre trop important de parasite peut inhiber la réponse immunitaire chez la souris.
- Des toxoplasmes altèrent lors de la préparation des échantillons.

L'inoculation à la souris reste la méthode de référence. Elle présente des avantages majeurs comme une sensibilité, une spécificité de 100%, une confirmation objective des résultats de la biologie moléculaire voire une complémentarité des résultats de la PCR. En effet l'association des deux techniques permet d'obtenir une sensibilité de l'ordre de 80%, d'isoler la souche de toxoplasme et de les conserver pour des études épidémiologiques.(08)

4-1-2- La culture cellulaire :

La recherche du toxoplasme se pratique également sur culture cellulaire, technique permettant la détection rapide du parasite après trois ou cinq jours de culture sur des cellules fibroblastiques type MRC5 ainsi que sur d'autres types cellulaires type hela THP1, TG180, la croissance du parasite est visualisée par révélation immunoenzymatique ou immunofluorescence.

Cette technique est assez difficile à réaliser du fait des contraintes imposées : entretien des lignées cellulaires au laboratoire, obtention d'un tapis cellulaire de bonne qualité. Sa sensibilité est inférieure à celle de l'inoculation à la souris et de la PCR. Cette technique est actuellement abandonnée au profit des techniques de biologie moléculaire(12).

4-1-3- La Polymérase Chain Réaction PCR :

Des progrès considérables en matière de diagnostic de la toxoplasmose ont été faits avec la PCR (Polymérase Chain Réaction) et elle est applicable sur tous types de prélèvements

(sang, liquide amniotique, LCR, LBA, etc.). Plusieurs gènes cibles ont été utilisés pour la détection d'ADN de *T. gondii*. Les principales régions cibles sont la séquence B1 (gène répété 35 fois dans le génome de *T. gondii*) ou le gène codant pour la sous-unité 18S de l'ADN ribosomal (gène répété 110 fois), et plus récemment la séquence REP529, répétée 200 à 300 fois dans le génome, ce qui augmente largement sa sensibilité.

La mise au point de la technique de PCR doit être effectuée dans chaque laboratoire, en l'absence de kit spécialisé pour ce diagnostic. La contamination par des produits d'amplification antérieurs est maintenant un écueil bien maîtrisé par les laboratoires de référence qui utilisent une décontamination préalable par l'uracile-DNA-glycosylase.

La présence d'inhibiteurs de la Taq polymérase, à l'origine de faux négatifs, est plus difficile à circonvier. Une nouvelle approche, la PCR en temps réel, permet de suivre instantanément la quantité d'amplicons générés au cours du temps sans manipulation post-amplification, ce qui réduit la contamination décrite précédemment et réduit le délai de réponse. Comparée aux techniques conventionnelles, cette technique moléculaire est la seule où la présence d'un seul parasite dans le liquide biologique soit théoriquement suffisante pour "positiver" directement la réaction, après un temps d'analyse de six heures.

La sensibilité de la PCR en temps réel est nettement supérieure à l'inoculation à la souris et permet la quantification de l'ADN présent dans les échantillons par comparaison avec une gamme étalon. Les résultats posent malheureusement des problèmes de reproductibilité pour les valeurs faibles.

Les applications de la PCR pour le diagnostic d'une infection toxoplasmique concernent le diagnostic anténatal et le diagnostic de toxoplasmose chez les patients immunodéprimés. En revanche, elle n'a pas d'indication dans le cadre de la toxoplasmose chez le patient immunocompétent. (06).

4-2-Diagnostic indirect :

La toxoplasmose est bénigne voire asymptomatique dans la plus part des cas. Elle est néanmoins responsable dans sa forme congénitale d'atteintes fœtales et néonatales parfois sévères justifiant ainsi l'intérêt, d'un diagnostic précoce. Les techniques les plus utilisées pour déterminer le statut sérologique d'une femme enceinte sont les techniques immunoenzymatiques, d'immunocapture et l'immunofluorescence.

Les isotypes d'immunoglobulines recherchés sont les IgG et les IgM, parfois les IgA.

4-2-1-Techniques utilisées :

4-2-1-1-Test de Sabin et Feldman (le Dye Test) :

Le Dye Test est un test de lyse des parasites reposant sur le principe de la cytotoxicité médiée par des anticorps et le complément. Cette technique était mise au point depuis 1948 par Sabin et Feldman, elle n'est disponible que dans les centres spécialisés, vu la nécessité de disposer d'organismes vivants. Le test révèle principalement les anticorps dirigés contre les antigènes de surface. (06)

- **Le principe**

La technique utilise des tachyzoïtes de toxoplasmose virulents, un facteur complémentaire provenant de sérums de donneurs sains et le sérum à tester.

Lorsque les anticorps antitoxoplasmiques se fixent à la surface des *T gondii*, ils sensibilisent la paroi cellulaire à l'action du complément et entraînent alors, une fuite du contenu du toxoplasme.

- **La lecture :**

On peut lire les résultats de la technique soit au :

- Microscope classique (photonique) après addition de bleu de méthylène, les toxoplasmes altérés ne prennent plus le colorant,
- Microscope à contraste de phase, ou une sérologie négative se traduit par des toxoplasmes réfringents alors que la présence d'anticorps lysant les toxoplasmes les fait apparaître noirâtres.

La réaction est positive quand 50% des toxoplasmes sont lysés. Le seuil de positivité est à 2 UI/ml. (05).

4-2-1-2- L'agglutination

Le principe des réactions d'agglutination est de co-incuber des dilutions de sérums avec des suspensions de toxoplasmes fixes.

- **L'agglutination directe classique**

Décrite initialement par Fulton et Turk en 1959. Cette technique montre qu'une suspension pure de *T gondii*, peut être agglutinée directement par les anticorps antitoxoplasmes.

- **Le principe**

Des dilutions du sérum du patient sont incubées avec des suspensions de toxoplasme. La présence d'anticorps spécifiques entraîne l'agglutination des toxoplasmes. Cette dernière visible à l'œil nu, se matérialise par un voile. En revanche, une réaction négative se caractérise par une sédimentation en bouton au fond de la cupule.

A noter, la réaction se fait sur un sérum traité au 2 mercaptoéthanol afin de dénaturer les IgM et d'apprécier uniquement le titre des IgG, et sur un sérum non traité afin de détecter IgG et IgM. Il s'en suit la détermination d'un titre en fonction de la dernière dilution positive. La différence permet d'avoir une estimation de la présence d'IgM.(05).

- **L'agglutination directe sensibilisée IgG**

Proche de la précédente, elle gagne en sensibilité (2 à 4 UI/ml).

En effet, cette technique utilise des toxoplasmes traités par la trypsine (enzyme qui augmente le nombre de sites antigéniques), ce qui amplifie donc la réaction antigènes/anticorps.

Méthode de base pour la détection des IgG, elle en demeure pas moins très coûteuse et non automatisable. (06)

4-2-1-3- Réaction ISAGA (Immuno-Sorbent Agglutination Assay)

Initialement proposée par Desmont en 1981, cette réaction qui utilise des toxoplasmes formoles repose sur le principe d'immuno-capture des anticorps.

Elle est appliquée pour la mise en évidence des anticorps IgM, IgA, IgE.

- **Principe**

La recherche des IgM spécifiques comporte deux étapes.

La première correspond à l'immuno-capture des IgM du sérum par une anti-globuline antichaine humaine fixée sur un support.

Les IgM capturés sont ainsi séparés des autres composants du sérum donc des IgG.

Dans la 2^{ème} étape, l'antigène toxoplasmique est rajouté. Une réaction antigènes/anticorps se produit. Une réaction positive se traduit par une agglutination des toxoplasmes qui forment un voile le long de la paroi des cupules.

De réalisation simple, l'ISAGA est actuellement la méthode la plus sensible pour détecter les anticorps IgM.

C'est une méthode qui évite les phénomènes de compétition entre les IgG et les IgM spécifiques, ainsi que les interférences dues au facteur rhumatoïde et à l'anticorps antinucléaire(06)

4-2-1-4- L'Immunofluorescence Indirecte = IFI

Découvert par Goldman en 1957. Cette technique dose les mêmes anticorps que le Dye Test mais présente sur lui quelques avantages techniques puisqu'elle utilise un antigène lyophilisé. Sa spécificité et sa sensibilité sont comparables à celles du Dye Test.

- **Principe**

La technique utilise des tachyzoïtes formoles et fixes sur une lame à puits auxquels on ajoute le sérum à tester à différentes dilutions.

On révèle ensuite les anticorps fixes sur cet antigène grâce à l'ajout d'anti globuline anti IgG ou anti IgM marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine

- **La lecture :**

Se fait au microscope à fluorescence qui permet d'établir un titre correspondant à la dernière dilution pour laquelle, l'intégralité de la membrane des parasites apparaît bien fluorescente. Le seuil de positivité des IgG est à 8 UI/ml. (06)

4-2-1-5- L'hémagglutination passive = indirecte

Test a été utilisé pour la première fois en 1957 par Jacob et Lunde.

Basée sur l'agglutination d'hématies de mouton sensibilisées par l'antigène toxoplasmique, cette technique a l'avantage de ne pas faire intervenir d'antigènes vivants.

- **Principe**

L'antigène issu de *T gondii* est fixé sur des globules rouges de moutons traités par l'aldéhyde pyruvique. Ces hématies sont mises en présence de dilution sérique et incubées pendant 2 à 8h. La présence d'anticorps spécifiques se traduit par la formation d'un voile.

Cette technique permet de détecter les immunoglobulines totales ou de différencier les IgG et les IgM en utilisant du 2 mercaptoéthanol.

Le seuil de positivité correspond à une dilution du sérum au 1/40.(05).

- Agglutination de particules de latex sensibilisées

Basée sur le même principe que l'hémagglutination passive, on remplace ici les hématies par des particules de latex sensibilisées. Cette technique permet de mettre en évidence les immunoglobulines totales mais ne différencie pas les isotopes. D'exécution simple et rapide, elle se heurte tout de même au risque de faux négatif par phénomène de zone.

4-2-1-6- ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

Appliquée par Voller en 1976, cette technique est aujourd'hui très répandue du fait de sa simplicité de mise en place. Elle permet la recherche des IgG et des IgM (en première intention) et des IgA (en deuxième intention).

- **Principe**

Cette technique est un dosage immuno enzymatique sur phase solide dite technique ELISA indirecte, basée sur la spécificité du complexe antigène-anticorps. La phase solide (microplaque) est sensibilisée par un antigène recombinant de *Toxoplasma gondii* auquel se fixera l'anticorps correspondant. Un second anticorps monoclonal marqué à la peroxydase, spécifique au premier anticorps est utilisé comme conjugué. La présence du complexe immun

(Ag toxoplasmique-Ac sérique-Conjugué) est révélée par addition d'un substrat de la peroxydase engendrant une coloration. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre et est proportionnelle à la concentration en anticorps sériques fixés.(06)

Pour la recherche et le titrage des IgG, ELISA indirecte classique est utilisée.

Pour les IgM et les IgA, on utilise la technique d'Elisa inverse ou immunocapture. Ce volet va être donné en détail dans la partie pratique.

Test d'avidité des IgG :

Test complémentaire, qui permet de dater de façon plus précise la contamination. Le test d'avidité s'avère d'une grande utilité, lorsqu'il est prescrit avec une bonne indication. L'avidité exprime l'affinité des anticorps pour les antigènes. L'avidité des IgG augmente au fur et à mesure de la maturation de la réponse immunitaire humorale.

On admet donc qu'un indice élevé d'avidités des IgG réalisé au cours du 1^{er} trimestre permet d'encarter une infection récente et donc d'éliminer une contamination maternelle per gravidique. Par contre, un faible indice d'avidités n'est pas un critère absolu d'infection récente, car chez certains sujets l'augmentation de l'avidité reste lente.

C'est une technique simple, reproductible et transférable mais relativement coûteuse. (06)

4-2-1-7-Agglutination différentielle :

Mise au point par Thulliez en 1986, cette technique permet de dater les séroconversions par titrage comparatif des IgG agglutinant les toxoplasmes formoles et/ou les toxoplasmes traités à l'acétone.

- **Principe :**

Les sérums humains sont traités par le 2 mercaptoéthanol afin de supprimer l'interférence avec les IgM non spécifiques, puis ils sont testés successivement avec deux types de Suspensions antigéniques.

- _ L'une contenant des toxoplasmes formoles ;
- _ L'autre contenant des toxoplasmes traités par l'acétone.

Dans une infection aiguë, les sérums agglutinent de la même façon les deux types de suspensions antigéniques alors que dans une infection ancienne, ils agglutinent surtout les antigènes formoles. (06)

4-2-2- Cinétique des anticorps au cours de la toxoplasmose acquise : (Figure N°07)

4-2-2-1- Les IgM :

Les IgM antitoxoplasmiques sont les premières à apparaître dans les jours qui suivent l'infection (8 à 10 jours après contamination). Elles sont au maximum dans les premières

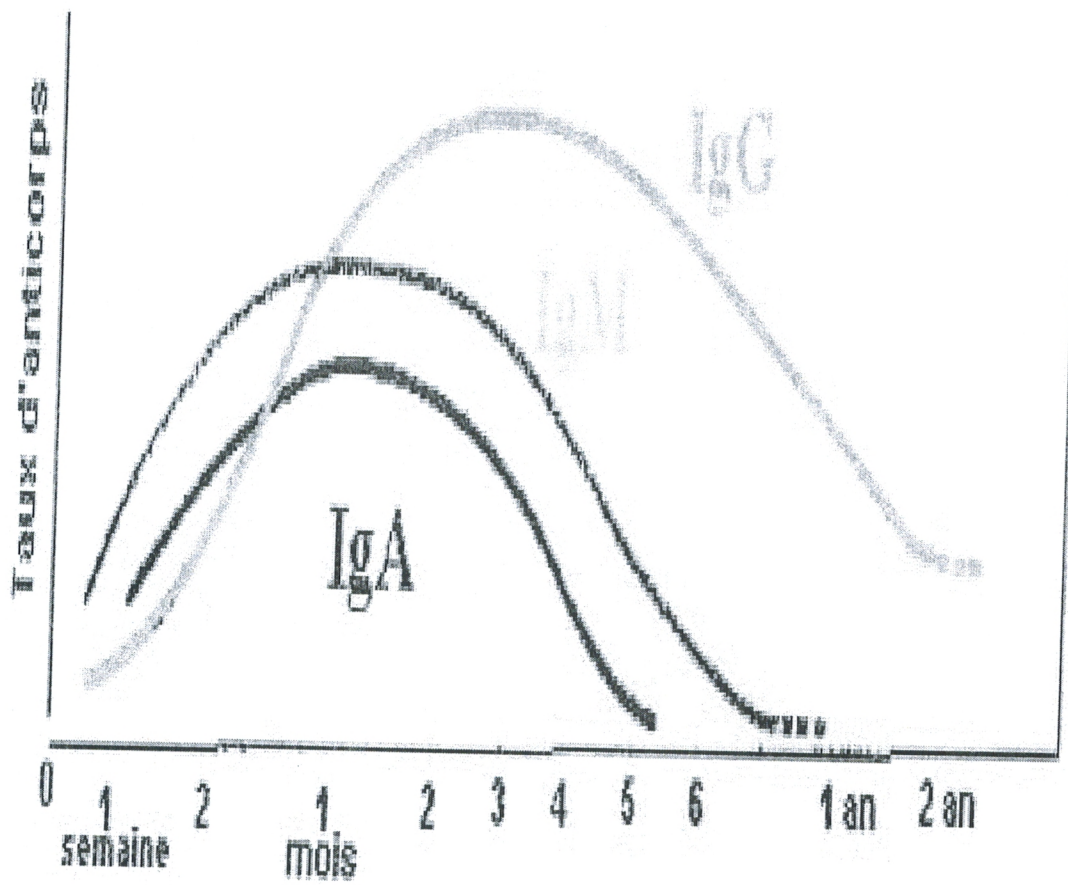


Figure N°07 : Cinétique des immunoglobulines (Bessières, 2006)

semaines, puis régressent classiquement en moins de 4 mois. Elles peuvent cependant rester présentes plusieurs mois, voire années. Cette situation est fréquente car plus d'un quart des individus garderaient des IgM antitoxoplasmiques plus de 2 ans.

Cette situation rend l'analyse des sérologies difficile en l'absence d'antériorité. De même les nouvelles techniques d'immunocapture (ISAGA ou ELISA de deuxième génération) détectent des IgM 6 mois, voire 1 an et plus après l'épisode infectieux initial. Contrairement à l'IFI, ou les IgM persistaient rarement au-delà de 3 mois. Le résultat de l'ISAGA est rendu en indice (de 0 à 12). La présence possible d'IgM naturelle nécessite la fixation d'un seuil de spécificité à 9. Quelque soit le test utilisé et en l'absence d'un sérum de référence, les résultats ne donnent qu'une évaluation semi quantitative des IgM sériques.(06)

4-2-2-2- Les IgG :

Les IgG apparaissent dans les 2 ou 3 semaines qui suivent l'infection. Leur taux va rapidement s'élever, atteindre un maximum en 2 à 3 mois et rester positif à vie. Ils donnent une immunité permanente en dehors des causes d'immunodépression que celles-ci soient innées, iatrogènes (corticoïdes) ou infectieuses.

Leur cinétique est variable selon l'âge et donc selon les techniques utilisées pour leur titrage. Ainsi les techniques qui utilisent le toxoplasme entier (Dye Test, IFI) dépistent plus précocement les anticorps que les tests qui utilisent un antigène soluble, extrait après lyse du parasite (ELISA, hémagglutination). En effet, lors d'une primo infection, la réponse humorale est d'abord dirigée contre les antigènes membranaires puis ensuite, contre les antigènes cytoplasmiques. Les résultats peuvent être exprimés en différentes unités (UI, indice, titre).

Seul le Dye Test et l'IFI bénéficient d'un sérum de référence et autorisent l'utilisation d'unités internationales. La standardisation des unités de toutes les techniques à l'aide de ce sérum de référence, se heurte à la difficulté de conversions des titres en UI, conversion plus ou moins fiable selon la nature de l'antigène.

4-2-2-3-Les IgA :

Les IgA ont une cinétique proche de celle des IgM. Elles apparaissent une quinzaine de jours après la contamination, atteignent leur maximum en 2 et 4 mois puis disparaissent rapidement. Elles constituent un bon marqueur d'infection récente. On sait qu'un taux élevé en IgA est en faveur d'une infection récente. Toutefois leur recherche n'est pas systématique en matière de diagnostic du fait de leur présence inconstante.

4-2-2-4-Les IgE :

Ils ont une cinétique proche de celle des IgM mais disparaissent quatre mois après le début de l'infection. L'absence d'IgA et d'IgE naturelles, et d'interférence classique avec le facteur rhumatoïde et les anticorps anti-nucléaires expliquent l'intérêt du dosage de ces isotypes qui constitue un plus pour le diagnostic d'une infection toxoplasmique.

4-2-3-datation de la contamination :

Dans tous les cas, il faut dater le plus précisément possible la contamination par rapport à la conception afin d'évaluer le risque de transmission et la gravité potentielle de l'atteinte fœtale. Pour cela il existe différents procédés, comme le test d'avidité, l'agglutination différentielle et le dosage des IgA.

4-2-3-1-Test d'avidité

L'avidité exprime l'affinité des anticorps pour les antigènes. L'avidité des IgG augmente au fur et à mesure de la maturation de la réponse immunitaire humorale.

4-2-3-2-Agglutination différentielle :

Dans une infection aiguë, les sérums agglutinent de la même façon les deux types de suspensions antigéniques alors que dans une infection ancienne, ils agglutinent surtout les antigènes formoles.

4-2-3-3-Dosage des IgA :

La présence d'IgA peut affiner la datation d'une séroconversion, puisqu'un taux élevé est lié à une infection récente. Toutefois, il faut nuancer cette corrélation. En effet la cinétique des IgA est variable d'un individu à l'autre.

4-3-Démarche diagnostic :

4-3-1-Diagnostic de toxoplasmose acquise :

Étant donné que la toxoplasmose est une parasitose généralement asymptomatique ou associée à des manifestations cliniques pouvant être modérées et non spécifiques, la démarche biologique, ainsi que les techniques utilisées pour le diagnostic sont différentes selon la situation clinique considérée. L'utilisation d'une méthode de dépistage donnée peut différer considérablement avec l'entité clinique, selon qu'il s'agisse d'une toxoplasmose acquise chez un patient immunocompétent ou immunodéficient, d'une femme enceinte, du fœtus ou d'un nouveau-né.

4-3-2-Diagnostic de toxoplasmose congénitale :

4-3-2-1-diagnostic anténatal :

Il n'est pas justifié de proposer systématiquement l'interruption de la grossesse à une

femme enceinte faisant une séroconversion toxoplasmique ou avec toxoplasmose évolutive dans la mesure où la majorité des enfants issus de ces grossesses seront indemnes. La prise en charge correcte de ces cas nécessite de faire le diagnostic de l'infection fœtale. Ce diagnostic anténatal repose sur la surveillance échographique et l'amniocentèse. L'échographie ne permettant que la visualisation d'anomalies déjà constituées c'est l'amniocentèse avec inoculation du liquide amniotique à la souris et la PCR qui permettent de confirmer l'atteinte fœtale.

De façon empirique on recommande un délai d'un mois entre la contamination maternelle et la date de la ponction (délai placentaire nécessaire au passage du parasite de la mère vers l'enfant) qui ne sera faite au plus tôt qu'à partir de la dix huitième semaine de grossesse. La positivité de l'une de ces deux méthodes permet d'affirmer le diagnostic de toxoplasmose congénitale. Par contre un résultat négatif n'exclut pas l'atteinte fœtale.

a- Le suivi échographique :

Lorsque l'infection fœtale est démontrée, la surveillance échographique doit être bimensuelle. Dans le cas contraire, une surveillance mensuelle suffit.

Les anomalies les plus fréquemment rencontrées sont :

- Les dilatations ventriculaires généralement bilatérales et symétriques.
- La présence de zones hyperechogènes dans le parenchyme cérébral.
- Les malformations cérébrales à type d'hydrocéphalie, de microcéphalie,

et des calcifications intracrâniennes.

d'autres signes moins fréquents peuvent être observés :

- hépatomégalie, splénomégalie, placentite, ascite, épanchement pleural ou péricardique

Par contre, les foyers de nécrose faiblement calcifiés et des chorioretinites sont souvent inaccessibles à l'examen échographique.

b- Le diagnostic biologique

Pour ce faire, deux types de prélèvements existent : la ponction du liquide amniotique et la ponction de sang fœtal. Ce dernier a été abandonné car peu fiable et plus risqué pour le fœtus (avec des accouchements prématurés...).

- **Prélèvement de liquide amniotique = amniocentèse**

Il s'agit d'un prélèvement d'une petite quantité du liquide qui entoure le fœtus dans l'utérus (le liquide amniotique) par ponction à l'aide d'une aiguille introduite dans la poche

des eaux a travers la paroi abdominale sous contrôle échographique. La ponction elle-même n'est pas plus douloureuse qu'une prise de sang.

La réalisation de cet examen soit apportée afin :

- d'évaluer le risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une maladie d'une particulière gravité, compte tenu des antécédents familiaux ou des constatations médicales effectuées au cours de la grossesse.
- d'informer la femme enceinte sur les caractéristiques de cette maladie, les moyens de la détecter, les possibilités thérapeutiques et sur les résultats susceptibles d'être obtenus au cours de l'analyse.
- d'informer la gestante sur les risques inhérents aux prélèvements, sur leurs éventuelles conséquences.

Il est demandé à la femme enceinte de signer une fiche de consentement indispensable pour l'analyse des prélèvements au laboratoire. Cet examen, même conduit dans des conditions de compétence et de sécurité maximale, comporte un risque d'avortement de 0.5% à 1%. Ce risque est maximum dans les 8 à 10 jours suivant l'amniocentèse. Elle peut se manifester par des douleurs, des saignements ou un écoulement du liquide. L'amniocentèse n'est réalisée qu'à partir de la 18^{ème} semaine d'aménorrhée et après un délai de trois semaines à un mois après la séroconversion maternelle.

En effet, la transmission de la mère au placenta se fait au moment de la parasitemie soit au tout début de l'infection. Le passage du parasite du placenta au fœtus peut être plus long et aléatoire, le placenta jouant le rôle de filtre en retardant ce passage. C'est pourquoi l'amniocentèse ne doit pas être trop précoce au risque de passer à côté d'une transmission materno-fœtale.

Pour ce faire le prélèvement de 20 à 30 ml de liquide amniotique est nécessaire. La recherche du parasite sur ce dernier peut se faire par inoculation à la souris, par culture cellulaire et enfin par PCR.(06)

c- Le suivi de la grossesse :

À l'issue de l'amniocentèse deux situations sont possibles :

- **Absence d'infection fœtale lors de l'amniocentèse :**

Le traitement par Rovamycine® (purement parasitostatique) est institué chez la mère pour diminuer le risque de transmission transplacentaire du parasite jusqu'à la naissance, associé à une surveillance échographique mensuelle spécialisée qui ne doit en aucun cas être interrompue.

- **Présence d'une infection fœtale :**

L'attitude actuelle en cas d'infection fœtale, diagnostiquée par une PCR positive sur le liquide amniotique, dépend d'une évaluation pronostique qui tient compte de l'âge gestationnel au moment de l'infection maternelle, de l'apparition de signes échographiques, de la charge parasitaire dans le liquide amniotique pour les infections avant 20 semaines, et éventuellement d'une IRM.

En dehors des avortements précoces dus au toxoplasme et lorsque la grossesse est poursuivie, le traitement par *spiramycine* est substitué par un traitement associant la *pyriméthamine* avec un sulfamide (*sulfadiazine* ou *sulfadoxine*) à partir du deuxième trimestre. Il s'agit d'un traitement parasiticide visant à limiter les signes d'infection et leurs futures séquelles chez le nouveau-né.

En cas d'intolérance, des fenêtres thérapeutiques peuvent être effectuées tous les mois avec un relais de 15 jours par *Spiramycine*. Ce traitement est associé à une supplémentation en *acide folique* pour limiter les effets toxiques hématologiques de la *Pyriméthamine*, et une numération de la formule sanguine doit être effectuée très régulièrement.

Tout retard doit être évité car il semble que le traitement diminue le taux de séquelles chez les nouveau-nés. Il existe en effet une relation entre la précocité du traitement *in utero* par *Pyriméthamine*/sulfamide et la diminution du risque de séquelles, en particulier sévères, pendant la première année de vie.

Comme pour le traitement préventif, la mise en route de ce traitement s'accompagne d'une surveillance. Celle-ci repose en général sur une échographie bimensuelle jusqu'à l'accouchement, avec la recherche des signes évocateurs d'atteinte fœtale.

4-3-2-2-diagnostic néonatal :

Les moyens biologiques du diagnostic néo-natal doivent être mis en route pour tous les nouveau-nés dont les mères ont une histoire sérologique suspecte en cours de grossesse, et quelque soit le résultat du diagnostic anténatal. Ces moyens associent la recherche du parasite et la sérologie.

La recherche du parasite est toujours pratiquée de façon directe, par inoculation à la

souris ou par PCR. Les produits biologiques étudiés sont le placenta, le sang du cordon et la LCR. La sérologie de l'enfant à la naissance (sang du cordon) n'est pas vraiment contributive car la détection d'IgM ou d'IgA peut être due à une effraction de sang maternel vers l'enfant lors de l'accouchement. A ce stade c'est le profil immunologique comparé mère/enfant (par western-blot ou la technique ELIFA) qui permettra d'évoquer le diagnostic par la présence de systèmes précipitant propres à l'enfant. Au-delà de quelques jours de vie, la présence d'IgM ou d'IgA spécifiques permettra d'affirmer la toxoplasmose congénitale. A l'inverse, l'absence de ces isotypes ne permet en aucun cas de récuser la toxoplasmose congénitale.

Dans environ 6% des cas c'est seulement le suivi sérologique au delà du troisième mois de vie qui conduira au diagnostic en raison de la persistance des IgG qui, en l'absence de toxoplasmose congénitale, disparaissent en moins d'une année.

a- L'examen clinique :

Il vise à rechercher des signes non spécifiques d'embryofoetopathie au stade évolutif (hépatomégalie, splénomégalie, ictère, purpura thrombopénie, anémie...) ou séquellaire (microcéphalie, hydrocéphalie, convulsions...). En pratique l'examen clinique est le plus souvent normal.

L'examen ophtalmologique à la recherche de lésions de chorioretinite est systématique à la naissance (2^{ème} ou 3^{ème} jour de vie) qu'il s'agisse d'une toxoplasmose congénitale certaine ou d'une séroconversion maternelle en cours de grossesse sans preuve de l'infection de l'enfant. De plus les atteintes visuelles étant de révélation tardive, cela impose un suivi ophtalmique au minimum jusqu'à la puberté. Un examen neurologique complet est également réalisé.

b- L'imagerie cérébrale

Elle met en évidence les anomalies cérébrales méconnues pendant la grossesse, et repose actuellement sur l'échographie transfontanellaire. Elle a l'avantage d'avoir une excellente sensibilité, d'être facilement disponible et de ne pas nécessiter d'irradiation. Elle recherche des calcifications cérébrales nodulaires de quelques millimètres de diamètre ou curvilignes et une hydrocéphalie.

Le scanner permet de visualiser des calcifications corticales proches de la voûte crânienne qui échappe à l'ETF. Néanmoins les calcifications sont exceptionnellement isolées en cortical.

L'IRM cérébrale n'apporte pas d'information supplémentaire par rapport à l'échographie.

c- Examen du placenta

La recherche du toxoplasme peut se faire à l'aide des 3 techniques citées pour le diagnostic anténatal (l'inoculation à la souris du placenta ou du sang du cordon, la culture cellulaire et la PCR). En pratique l'inoculation à la souris et la PCR sont les plus utilisées.

La sensibilité de cette recherche est de l'ordre de 50% par l'inoculation à l'animal et de 50 à 61% par PCR. Malgré son manque de sensibilité, cet examen mérite quand même d'être maintenu.

Le bilan néonatal est considéré comme positif lorsque :

- L'inoculation à la souris du placenta et / ou sang du cordon est positive.
- Et / ou détection d'IgM et ou IgA spécifique dans le sang du cordon vérifiée à J8-J10.
- Le profil comparés (mère /enfant) IgG et/ou IgM positifs.
- Lors de la persistance d'IgG spécifiques à l'âge de 1 an.(06).

4-3-2-3- Le diagnostic biologique post natal :

Il doit être pratiqué quelque soit le résultat des deux diagnostics précédents (l'anténatal et le néonatal). Ce diagnostic repose sur deux stratégies :

- La recherche chez l'enfant d'anticorps susceptibles de traduire une atteinte congénitale.

Pour ce faire, différents prélèvements sont utilisés : le sang du bébé et le sang maternel.

a- Le diagnostic sérologique :

Il repose classiquement sur la mise en évidence d'IgM, IgG et ou IgA dans le sérum du nouveau né par une technique d'immunocapture (ELISA ou ISAGA).

Toutefois 30 à 50 % des bébés ne présentent pas d'IgM antitoxoplasmique à la naissance en particulier lors de séroconversions maternelles tardives. De plus, la spécificité des IgA est contestée. Certains nouveaux-nés synthétisent déjà des IgG spécifiques dès la naissance.

Cependant cette néosynthèse d'IgG par l'enfant congénitalement infecté se superpose aux IgG maternelles transmises in utero, et est donc indiscernable par les techniques sérologiques habituelles. Il faut souvent attendre plusieurs mois avant de déceler une ascension du titre des IgG.

b- cinétique des anticorps ou cours de la toxoplasmose congénitale :

A coté du transfert passif d'Ig maternelles, il existe une production propre au fœtus dès le 5ème mois de la gestation (IgGf, IgMf, IgAf) ; seules les IgGm passent la barrière placentaire, les IgMm et les IgAm ne traversent pas le placenta.

La présence des IgM et des IgA dans le sérum du nouveau-né, signe une toxoplasmose congénitale.

Les IgGm peuvent être retrouvées dès le 3ème mois de la vie fœtale et disparaissent en règle au 9ème mois après la naissance chez le nouveau-né indemne d'infection toxoplasmique

5- Le traitement :

5-1-Médicament utilisés

5.1.1 Les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique

- **Les inhibiteurs de la déhydrofolate réductase**

La Pyriméthamine (Malocide®)

Cet antipaludéen de synthèse agit comme anti métabolite, sur la conversion endogène de l'acide folique en acide folinique par inhibition de la dehydrofolate réductase. Elle est utilisée en traitement curatif et prophylactique. Elle est caractérisée par une bonne diffusion tissulaire placentaire et méningée, ainsi qu'une bonne concentration cellulaire.(07)

- **Les sulfamides :**

Parasitostatique, ils inhibent la dehydrofolate synthétase et le dehydropterase synthétase, deux enzymes intervenant dans la synthèse d'acide folique.

Les sulfamides ont une excellente diffusion tissulaire placentaire et méningée. (07)

- **Les associations :**

Parmi les associations les plus actives figurent :

- *Pyriméthamine (Malocide®) +sulfadiazine (Adiazine®)* la plus utilisée en raison de sa bonne tolérance .

- *Pyriméthamine + Sulfadoxine (Fansidar®)* intérêt dans les traitements au long cours .

- *Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (Bactrim®)* activité réelle mais discutée.

Ces associations permettent de diminuer les doses de chaque molécule et d'en réduire ainsi la toxicité. Elles sont utilisées en priorité pour le traitement et la prophylaxie secondaire des formes graves de toxoplasmose.(06)

5.1.2 Les macrolides et les molécules apparentées

Les macrolides sont des antibiotiques avec un effet parasitostatique. *La Spiramycine* utilisée depuis plus de 30 ans relève d'un mode d'action imprécis évoquant toutefois une action sur les ribosomes. C'est le principal macrolide, utilisé dans le traitement de la toxoplasmose acquise et en cours de grossesse. Son effet parasitostatique, ne s'observe qu'à concentration élevée, or ces concentrations ne sont atteintes que dans certains tissus de l'organisme (foie ou le poumon) excluant ainsi le cerveau et l'œil ce qui limite leur intérêt dans les formes graves. Bien tolère avec peu d'effets indésirables, elle n'est ni tératogène, ni mutagène.(07)

5-2-Conduite thérapeutique

Tableau N°01 : Thérapeutique des toxoplasmoses maternelles et congénitales.

	Molécules	Posologie	Durée du traitement	Remarques
Mère : Séroconversion	Spiramycine	3 MU/8 heures	Dès l'apparition des anticorps, Arrêt à l'accouchement	Si intolérance : Roxithromycine (?) 1 cp/12 heures
Mère : Toxoplasmose évolutive sans notion de séroconversion	Spiramycine	3 MU/8 heures	Datation par cinétique des anticorps Arrêt si toxoplasmose anticonceptionnelle	Idem
Mère : Si fœtopathie	Pyriméthamine Sulfadiazine	0,5-1 mg/kg/j 100 mg/kg/j	Cures de 3 semaines par trimestre Dès le diagnostic, arrêt transitoire en per partum.	En alternance avec Spiramycine Surveillance cutanée et hématologique
Enfant : Suspicion de toxoplasmose congénitale	Spiramycine	50 000 U/kg/8 heures	De la naissance à la disparition des anticorps	
Enfant :				

Toxoplasmose congénitale confirmée	Pyriméthamine	0,75-1 mg/kg/j	Traitement continu	Supplémentassions
	Sulfadiazine	100 mg/kg/j	Dès la naissance,	en folates
	Pyriméthamine	1/2-1 cp/10 kg/10	arrêt si arguments	Surveillance
	Sulfadoxine	j	de guérison	clinique et hématologique

(07)

6-Prévention :

Ces mesures se déduisent aisément du cycle du parasite. La liste mise à jour des recommandations est la suivante :

- Bien cuire la viande (bœuf, mouton, porc, cheval) c'est à dire une cuisson d'au moins 65°C dans toute l'épaisseur de la viande. Eviter la consommation de viande marinée, fumée ou grillée (comme cela peut être le cas pour la viande de gibier).
- Lors de la préparation des repas : laver soigneusement les légumes et les plantes aromatiques surtout s'ils sont terreux et consommés crus.
- Laver soigneusement les ustensiles de cuisine, ainsi que le plan de travail. Se laver les mains après contact avec des légumes, des fruits ou de la viande crue et avant de passer à table.

Une bonne hygiène des mains et des ustensiles de cuisine est importante pour éviter la transmission de la toxoplasmose pendant la grossesse.

- Lors des repas pris en dehors du domicile (au restaurant ou chez des amis): éviter la consommation de crudités et préférer les légumes cuits. La viande doit être consommée bien cuite ou bien privilégier la consommation de volaille ou de poisson.
- Eviter les contacts directs avec les objets qui pourraient être contaminés par les excréments de chat (comme les bacs de litières, la terre) et porter chaque fois des gants en cas de manipulation de ces objets. Désinfecter les bacs des litières de chat avec de l'eau bouillante.
- Eviter le contact direct avec la terre et porter des gants pour jardiner. Se laver les mains après des activités de jardinage même si elles sont protégées par des gants.

Partie pratique

1- Les objectifs :

1-1- L'objectif général :

C'est l'évaluation de la prévalence de l'infection toxoplasmique chez des femmes enceintes en consultation anténatale au CHU de Tlemcen.

2- Méthodologie :

2-1- Présentation du cadre d'étude : laboratoire de microbiologie CHU Tlemcen :

Présente l'une des trois principales unités de laboratoire central, constitué de plusieurs unités (parasitologie, bactériologie, sérologie¹, sérologie² où on a effectué notre manipulation) encadré par une équipe d'une maitre assistante des résidents des biologistes et de personnel paramédical.

2-2- Echantillonnage :

2-2-1- La population étudiée :

Sur une période de trois mois s'étendant du 1^{er} Février au 30 Avril au sein de l'unité de parasitologie mycologie du laboratoire de microbiologie du CHU de Tlemcen. Nous avons collecté un total de 558 prélèvements appartenant à 501 patients ; sur l'ensemble de ces patients 57 ont bénéficié de contrôle.

Notre travail représente la première étude effectuée au laboratoire de microbiologie, unité de parasitologie mycologie, du CHU de Tlemcen. Il s'agit d'une étude prospective sur un groupe de 501 patients suspects de la toxoplasmose.

Dans notre étude nous nous sommes intéressés aux femmes enceintes.

2-2-1-1- Les prélèvements :

Nos données ont été obtenues à partir des prélèvements réalisés au laboratoire (Microbiologie). Nous rappelons que cet examen était demandé par les gynéco-obstétriciens pour un meilleur suivi de la grossesse.

La technique appliquée pour le diagnostic de la toxoplasmose chez les patients prélevés est représentée par le test ELISA, qui permet la détection et le dosage des anticorps anti *Toxoplasma gondii*.

3- Matériels et Méthodes :

3-1-Matériels

3-1-1-matériel biologique :

Les sérums manipulés ne doivent pas être lipémiques ni hémolytiques. Ils peuvent être stockés pendant 7 jours entre 2 et 8°C ou conservés à -20°C pour plus longtemps. La congélation et la décongélation des sérums doit être faite seulement une fois. Les échantillons dégelés doivent être homogénéisés avant utilisation.

3-1-2-matériels de laboratoire :

3-1-2-1-Matériel proprement dit :

- ✓ Eprouvette graduée.
- ✓ Pipette de précision (micropipette à volume réglable).
- ✓ Gants.
- ✓ Tubes sec.
- ✓ Portoirs.
- ✓ Papier hygiénique.
- ✓ Chronomètre.
- ✓ Seringues stériles de 10ml, coton, alcool à 60°, garrot.
- ✓ Cahier, stylos.
- ✓ Poubelle de table.
- ✓ Etuve.
- ✓ centrifugeuse
- ✓ Laveur semi-automatique.
- ✓ Papier adhésif.
- ✓ lecteur ELISA.

3-1-2-2-les solutions et réactifs :

Les réactifs se présentent sous forme de la trousse ELISA Human

✓ Kit Toxo IgM

- **Réactifs :**

- ❖ **MIC** Barrettes de microtitration à 8 puits enduites d'anti-IgM humaines spécifiques (souris)
- ❖ **NC** Contrôle négatif (capuchon vert)
- ❖ **CC** contrôle seuil (capuchon blanc)
- ❖ **PC** Contrôle positif (capuchon rouge)
- ❖ **DIL** Diluant d'échantillon (capuchon bleu) coloré en vert
- ❖ **CON** Conjugué d'enzyme (capuchon jaune) coloré en jaune
- ❖ **C-DIL** Diluant de conjugué (capuchon blanc) coloré en jaune
- ❖ **WS** Solution de lavage (capuchon blanc)
- ❖ **SUB** Réactif de substrat (capuchon noir)
- ❖ **STOP** Solution d'arrêt (capuchon rouge)
- ❖ Feuilles adhésives

✓ Kit Toxo IgG

- **Réactifs :**

- ❖ **MIC** Barrettes de microtitration à 8 puits enduites d'antigènes toxoplasma gondii (produit de sonification)
- ❖ **NC** Contrôle négatif TOXO IgG (capuchon vert)
- ❖ **CC** contrôle valeur seuil TOXO IgG (capuchon blanc)
- ❖ **PCL** contrôle positif TOXO IgG (capuchon rouge) BASSE
- ❖ **PCM** contrôle positif TOXO IgG (capuchon rouge) MOYENNE
- ❖ **PCH** contrôle positif TOXO IgG (capuchon rouge) HAUTE
- ❖ **DIL-G** tampon diluant IgG (capuchon blanc) coloré en vert
- ❖ **CON** Conjugué anti IgG (capuchon blanc) coloré en rouge
- ❖ **WS** Solution de lavage (capuchon blanc)
- ❖ **SUB** Réactif de substrat (capuchon noir)
- ❖ **STOP** Solution d'arrêt (capuchon rouge)
- ❖ Feuilles adhésives

3-2- Méthodes :

3-2-1- Le test d'ELISA :

3-2-1-1- Principe (IgM ; IgG) :

Cette technique est un dosage immuno enzymatique sur phase solide dite technique ELISA indirecte, basée sur la spécificité du complexe antigène-anticorps. La phase solide (microplaque) est sensibilisée par un antigène recombinant de *T. gondii* auquel se fixera l'anticorps correspondant. Un second anticorps monoclonal marqué à la peroxydase, spécifique au premier anticorps est utilisé comme conjugué.

La présence du complexe immunitaire (Ag toxoplasmique-Ac sérique-Conjugué) est révélée par addition d'un substrat de la peroxydase engendrant une coloration. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre et est proportionnelle à la concentration en anticorps sériques fixés.

3-2-1-2- Procédure :

- Peu avant l'emploi, les réactifs, les sérum sont sortis de leurs emballages et ramenés à la température ambiante.
- Ne pas confondre les capuchons des flacons.
- Ne pas utiliser des réactifs éventuellement contaminés.
- Enregistrer tous les échantillons et contrôles dans la fiche de travail fournie avec le kit.
- Sélectionner le nombre MIC requis.
- Appliquer les contrôles en double.
- Toujours ajouter les réactifs dans le même ordre afin d'éviter des écarts en l'intervalle de réaction entre les puits et afin d'obtenir des résultats reproductibles.
- Eliminer les bulles d'air avant l'incubation et avant la lecture.
- Incuber SUB a labris de la lumière. La solution SUB lance la réaction enzymatique qui est terminée par l'addition de la solution STOP.

3-2-1-3- Procédure de lavage :

Le procédé de lavage est critique. Un lavage insuffisamment va donner des résultats moins précis et une absorbance faussement élevée.

- L 1 : enlever le feuillet adhésif, aspirer le contenu (dans un récipient contenant une solution d'hypochlorite de sodium à 5%), ajouter WASH aspirer après 30 sec. De trempage et répéter le lavage.
- L2 : si un laveur automatique est utilisé, le remplir et rincer avec WASH et ensuite laver les barettes. faire attention que tous les puits sont remplis complètement et aspirés soigneusement après 30 sec.
- L3 : le lavage terminer, éliminer le fluide résiduel en frappant la plaque sur du papier absorbant, le coté supérieur en bas.

3-2-1-4- Dosage des IgM avec le kit Toxo IgM ELISA Human :

- **Principe :**

Le TOXO IgM μ -ELISA de HUMAN est destiné à l'usage professionnel. L'ELISA μ -capture pour la détection directe des anticorps IgM utilise des anticorps anti-IgM humaines (souris) enduits sur des puits de microtiltration. Tous les anticorps de classe IgM si présents dans l'échantillon du patient ou des contrôles sont fixés aux anticorps immobilisés. Suite à l'incubation, des composants d'échantillon non –fixés sont éliminés par lavage.

Dans la 2^{ème} phase d'incubation, de l'antigène toxoplasma marqué à la peroxydase est ajouté, qui se fixe spécifiquement aux anticorps anti toxoplasma IgM capturé par les anticorps anti-IgM humaines immobilisés. Après un cycle de lavage éliminant le surplus de conjugué, de TMB/substrat est ajouté (phase 3). Une couleur bleue se développe qui vire au jaune après l'arrêt de la réaction enzymatique. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration des anticorps anti toxoplasma IgM dans l'échantillon.

L'absorbance des contrôles et des échantillons est déterminée avec un lecteur ELISA ou des systèmes ELISA complétement automatisés. Les résultats sont déterminés par

comparaison avec la valeur seuil. Ce dosage a été calibré par rapport à des étalons de l'entreprise

- **Mode opératoire :**

Solution de conjugué prête à l'emploi WCON : diluer CON au 1+ 50 avec C-DIL selon les besoins.

Solution de lavage prête pour l'emploi WASH : diluer 1 partie de WS avec 24 parties d'eau déminéralisée fraîche dans un récipient approprié.

Diluer les sérums des patients au 1+100 avec DIL, contrôle négatif, les standards, contrôle positif.

Phase1 :

- Déposer 100µl des contrôles en doubles dans les puits de la microplaque et puis les échantillons dilués en laissant le 1^{er} puits pour le blanc
- On mélange prudemment (5sec).
- Recouvrir la plaque avec du papier adhésif et incuber pendant 60mn à 37° c.
- Laver 4 fois avec 300µl de la solution de WASH dans tous les puits.

Phase2 :

- Introduire 100µl de la solution de WCON dans tous les puits à part le 1^{er} de blanc
- On mélange prudemment (5sec).
- Recouvrir avec le papier adhésif et incuber 30mn à 37 °C.
- Laver 4 fois. Avec 300µl de la solution de WASH.

Phase3 :

- Introduire 100µl de la solution de substrat dans tous les puits.
- Incuber 30mn à 17_25°C.
- Introduire 100µl de la solution d'arrêt.
- On mélange prudemment.
- Lire l'absorbance à 450 nm dès que possible ou dans 10 mn.

Condition de validité du test :

Prendre en considération le DO du blanc(A1) et calculer les valeurs moyennes d'absorbance de NC dans les puits B1 et C1(MNC), CC dans les puits D1 et E1 (MCC) dans les puits F1 et G1 selon :

$$MNC=A_{450}(B1) + A_{450}(C1) / 2$$

$$MCC=A_{450}(D1) + A_{450}(E1) / 2$$

$$MPC=A_{450}(F1) + A_{450}(G1) / 2$$

$$\text{Valeur seuil VS} = MCC$$

$$\text{Blanc: } A_{450} \leq 0.1$$

$$MNC < 0,150.$$

$$MCC > 0.200$$

$$MPC/VS \geq 2.0$$

Interprétation des résultats :

Résultats	Interprétations
A450 (échantillon) <VS -10%	Non réactif pour Ac-toxo-IgM
A450 (échantillon) >VS+10%	Réactif pour Ac-toxo-IgM
A450 (échantillon) ≥VS-10% A450 (échantillon) ≤VS+10%	Equivoque : réanalyser en cas des résultats équivoques en répétition (surveillance de patient).
Niveau inattendu de contrôles ou d'échantillons connus	Non valable (erreur de procédure réanalyser)

Les valeurs obtenues de ce dosage sont prévues seulement comme une aide pour le diagnostic

3-2-1-5- Dosage des IgG avec le kit Toxo IgG Human :

- **Principe :**

Le test ELISA HUMAN TOXO IgG est basé sur le principe classique ELISA. Les puits de barrettes de microtitration sont enduits d'antigènes *Toxoplasma gondii* (Ag TOXO) dérivés de parasite entiers de *Toxoplasma gondii* (tachyzoïtes) traités par sonification. Dans le 1^{er} pas d'incubation, les anticorps anti-TOXO de l'échantillon ou du contrôle sont fixés d'une manière spécifique aux antigènes immobilisés.

A la fin de l'incubation, l'excédent des composantes est lavé. Avant la 2^{ème} incubation, on ajout le conjugué anti-IgG (anticorps IgG anti-humains, marqué à la peroxydase) qui s'attache spécifiquement aux anticorps IgG en formant des immunocomplexes typiques. Ces complexes sont détectés après un 2^{ème} cycle de lavage éliminant le surplus de conjugué et après l'addition d'une solution de TMB/substrat (phase 3) lançant le développement d'une couleur bleue qui vire au jaune après l'arrêt de la réaction enzymatique. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration d'anticorps IgG anti TOXO dans l'échantillon.

L'absorbance des contrôles et des échantillons est déterminée avec un lecteur ELISA ou des systèmes complètement automatisés (comme des appareils des séries HUMAREADER ou ELISYS de HUMAN). Les résultats sont déterminés par comparaison avec une valeur seuil ou exprimés en unité HUMAN ou UI/ml définies par une courbe de calibration établie à l'aide du contrôle valeur seuil et des trois contrôles positifs.

- **Mode opératoire :**

Solution de lavage prête pour l'emploi WASH : diluer 1 partie de WS 5102 avec 20 parties d'eau déionisée fraîche.

Diluer les sérums des patients au 1+100 avec DIL-G, contrôle négatif, les standards, contrôle positif.

Phase1 :

- Déposer 100µl des contrôles en doubles dans les puits de la microplaque et puis les échantillons dilués en laissant le 1^{er} puits pour le blanc.
- Recouvrir la plaque avec du papier adhésif et incuber pendant 30mn à 17-25° c
- Laver 4 fois avec 350µl du WASH dans tous les puits.

Phase2 :

- Introduire 100µl de la solution de CON dans tous les puits à part le 1^{er} de blanc
- On mélange prudemment (5sec).
- Recouvrir avec le papier adhésif et incuber 30mn à 17-25°C.
- Laver 5 fois. Avec 350µl de la solution de WASH.

Phase3 :

- Introduire 100µl du substrat dans tous les puits.
- Incuber 15mn à 17_25°C.
- Introduire 100µl de la solution d'arrêt.
- On mélange prudemment.
- Mettre à 0 le lecteur ELISA en utilisant le substrat de 1^{er} puits

Lire l'absorbance à 450 nm dès que possible ou dans 30 mn.

Condition de validité du test :

Selon l'exemple ci-dessous afin de calculer les moyennes de l'absorbance des NC (MNC), CC (MCC), PCL(MPCL), PCM(MPCM), PCH(MPCH).

$$MCC = A_{450}(D1) + A_{450}(E1) / 2$$

$$\text{Blanc: } A_{450} \leq 0.150$$

$$MNC < MCC$$

$$MPCM < 0.750$$

$$MPCM: MNC \geq 5$$

Interprétation des résultats :

Résultats	Interprétations
A450 (patient) \geq MCC+15%	Positif aux ac IgG anti-TOXO
A450 (patient) < MCC- 15%	Négatif aux IgG anti-TOXO

A cause de variations physiologiques et analytiques, les résultats sont équivoques s'il se trouve à 15% au dessus ou au dessous de la valeur seuil déterminée. En ces cas nous recommandons de répéter le test en double avec des spécimens séries recueillis à 7 à 14 jours d'intervalle.

La modification de la concentration des anticorps spécifiques doit être jugée éventuellement. Compte tenue de l'anamnèse du patient ainsi que des investigations additionnelles. des échantillons équivoques en répétition peuvent être soumis au test de confirmation.

3-3-Détermination quantitative (la courbe) :

Pour la détermination quantitative des niveaux des anticorps IgG antitoxoplasmiques des échantillons positifs, exprimée en UI / ml, dessiner MCC, MPCL, MPCM, MPCH sur l'ordonnés d'un diagramme contre les concentrations correspondantes d'IgG antitoxoplasmiques de 5, 30,100 et 200 UI/ml (abscisse). Tracer une ligne à travers les points ainsi définis.

Retrouver les concentrations des échantillons dans le diagramme à l'aide des valeurs des absorbances y appliquées. Tous les échantillons dont la valeur d'absorbance est plus haute que la valeur de contrôle positif PCH (200 UI/ml) devraient être dilués avec du tampon diluant IgG. Répéter le test avec les échantillons dilués avant d'établir une évaluation définitive du niveau d'anticorps.

Le soin le plus grand possible devrait être appliqué à l'interprétation d'un tel changement de niveau d'IgG spécifique à la toxoplasmose et son importance médicale.

La figure N°08 représente la courbe d'étalonnage d'IgG

Généralement, chaque femme a répondu volontairement à au questionnaire de la fiche (fiche de renseignement) portant sur l'âge, consommation de viande male cuite, profession, le contact avec la terre (jardinage) et les chats (**Figure N°09**).

11104/13

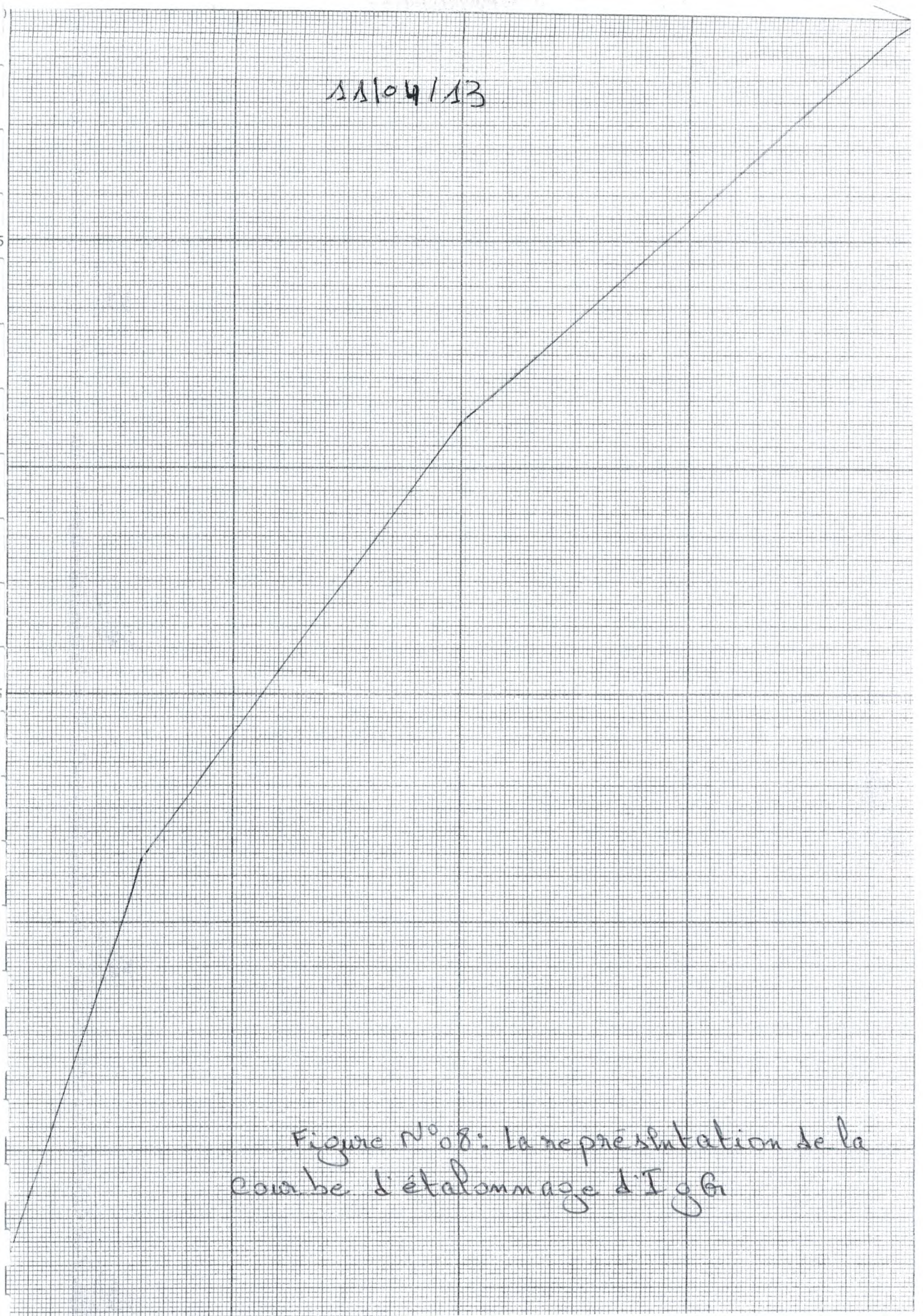


Figure N° 08: la représentation de la courbe d'étalonnage d'IgG

Paramètres de mesure

Toxo IgG

SUNRISE

Numéro de série de l'instrument: 704000042

Mode de mesure: Absorbance

Longueur d'onde de mesure: 450 nm

Longueur d'onde de référence: 620 nm

Mode de lecture: Normal

Unité: OD

Date: 11/11/13, Heure: 11:09:10 AM

Données différence

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.007	1.111	0.147	0.053	0.057	0.598	0	0	0	0	0	0
			695	703	711	720						
B	0.049	1.593	0.179	0.068	0.039	0.413	0	0	0	0	0	0
			696	704	712	721						
C	0.073	1.656	0.038	0.051	0.069	0.092	0	0	0	0	0	0
			697	705	713	722						
D	0.212	0.034	0.964	0.049	0.066	0.062	0	0	0	0	0	0
		636	698	706	714	723						
E	0.216	1.17	0.142	1.548	0.06	0.048	0	0	0	0	0	0
		636	699	707	727	724						
F	0.58	1.154	0.732	1.434	0.051	0.04	0	0	0	0	0	0
		627	700	708	716	725						
G	0.654	0.044	1.409	0.086	1.058	0.1	0	0	0	0	0	0
		717	701	709	718	728						
H	1.158	0.774	0.987	1.195	0.084	1.053	0	0	0	0	0	0
		694	702	710	719	729						

$$MCN = 0,061$$

$$MCC = 0,214 \rightarrow 05 \rightarrow 4$$

$$MCP_L = 0,617 \rightarrow 30 \rightarrow 11,4$$

$$MCP_M = 1,134 \rightarrow 100 \rightarrow 21$$

$$MCP_H = 1,624 \rightarrow 200 \rightarrow 30$$

$$MCP_H / MCN = 18,59$$

$$MCC + 0,15 = 0,364 >$$

$$MCC - 0,15 = 0,064 <$$

Paramètres de mesure

Toxo Igm

SUNRISE

Numéro de série de l'instrument: 704000042

Mode de mesure: Absorbance

Longueur d'onde de mesure: 450 nm

Longueur d'onde de référence: 620 nm

Mode de lecture: Normal

Unité: OD

Date: 6/12/13, Heure: 10:59:48 AM

Données différence

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.006	0.197 ¹ 643 → 712	0.225 ¹ 712 → 721	0.132 ¹ 721	0	0	0	0	0	0	0	0
B	0.072	0.218 ¹ 627 → 713	0.235 ¹ 713 → 722	0.143 ¹ 722	0	0	0	0	0	0	0	0
C	0.038	0.177 ¹ 717 → 744	0.181 ¹ 744 → 723	0.164 ¹ 723	0	0	0	0	0	0	0	0
D	0.198	0.087 ¹ 707 → 727	0.145 ¹ 727 → 724	0.108 ¹ 724	0	0	0	0	0	0	0	0
E	0.225	0.237 ¹ 703 → 716	0.142 ¹ 716 → 725	0.096 ¹ 725	0	0	0	0	0	0	0	0
F	1.269	0.072 ¹ 709 → 718	0.275 ¹ 718 → 526	0.228 ¹ 526	0	0	0	0	0	0	0	0
G	1.318	0.072 ¹ 710 → 719	0.173 ¹ 719 → 728	0.122 ¹ 728	0	0	0	0	0	0	0	0
H	0.302	0.061 ¹ 642 → 711	0.127 ¹ 711 → 720	0.162 ¹ 720 → 729	0	0	0	0	0	0	0	0

$$MCN = 0,055$$

$$MCC = 0,209$$

$$MCP = 1,293$$

$$MPC / MCC = 6,12$$

$$MCC + 0,1 = 0,309 >$$

$$MCC - 0,1 = 0,109 <$$

**CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE TIDIJINI DAMARDJI
TLEMCEN
SERVICE DE MICROBIOLOGIE
UNITE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE**

FICHE DE RENSEIGNEMENT DE TOXOPLASMOSE

N° Enregistrement :

Nom : Epouse : Hôpital :
 Prénom : Sexe : Service :
 Age : Salle :
 Origine : Lit N° :
 Profession : Médecin Traitant :
 Adresse : Nature du Prélèvement :

Elément Motivant le Demande d'Analyses

1 – Bilan Prénuptial

2 – Bilan Prénatal

- Age de la Grossesse
- Nombre de Grossesses

3 – Signes Cliniques Evoquant la Toxoplasmose

Ganglions

Fièvre

Hydrocéphalie

Signes Oculaires

Retard Psychomoteur

Autres

-Date du Début ou durée d'Evolution de la Malade

-Traitement Eventuel

- Examens sérologiques antérieurs : date (s) N° : Résultats.....

Données Epidémiologiques :

-Présence d'un chat

-Consommation de viande

-Bien Cuite

-Peu Cuite

-Travaux de jardinage

Figure N°09 : La fiche de renseigneme

4-Résultats et interprétations :

D'après nos résultats, on a constaté que la sérologie antitoxoplasmique n'est pas systématiquement demandée en consultation prénatale par les médecins traitants. Pour simplifier la séroprévalence de la maladie surtout chez les femmes enceintes, on a essayé de répartir nos résultats comme suite :

Le tableau N°02 et la figure N° 9 représentent la répartition des prélèvements selon le nombre de sérologie effectués

Tableau N°02 : La répartition des prélèvements

prélèvements	Nombre	Pourcentage
Une seule sérologie	444	88 ,63
contrôles	57	11,37

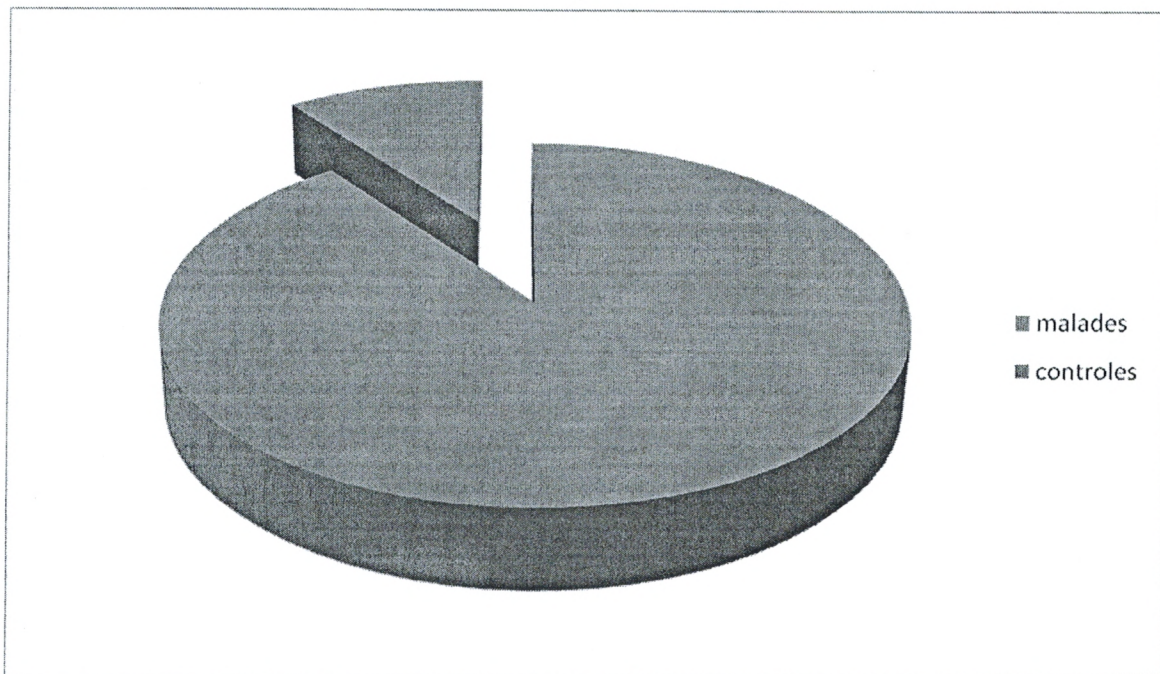


Figure N°10 : La répartition des prélèvements

Parmi les 501 patients recruté 57 ont bénéficié d'un contrôle et représentent un pourcentage de 11 ,37%.

D'après les données des fiches de renseignements des 501 patients on a pu établir les répartitions suivantes selon :

Les résultats de la sérologie effectuée y compris ceux des contrôles sont représentés par le tableau suivant et la figure N°10 :

Tableau N°03 : Les résultats des sérologies.

Résultats	Nombre	Pourcentage
Résultats +	225	40,33
Résultats -	333	59,67

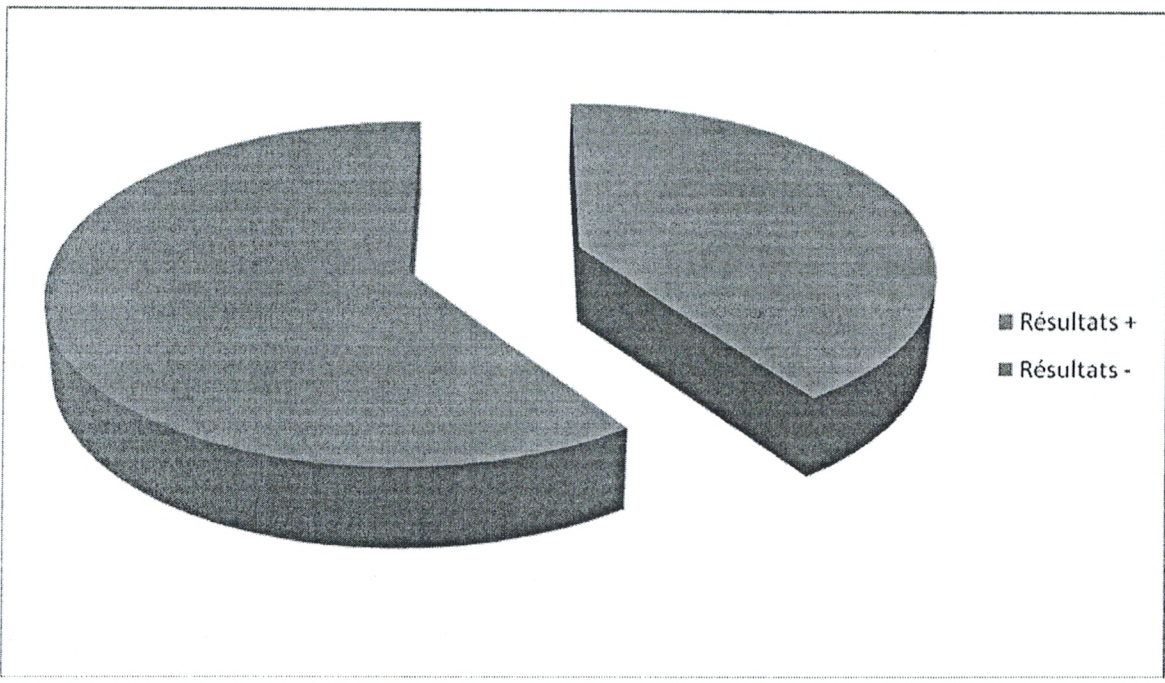


Figure N°11 : Les résultats des prélèvements

Ces résultats montrent que la sérologie négative représente la majorité des cas soit un pourcentage de 59,67%.

Le tableau N°04 et le cercle suivant représente la répartition des patient selon leur âge.

Tableau N°04 : La répartition selon l'âge.

Age	Nombre	Pourcentage
Adultes	481	96
Enfants	19	04

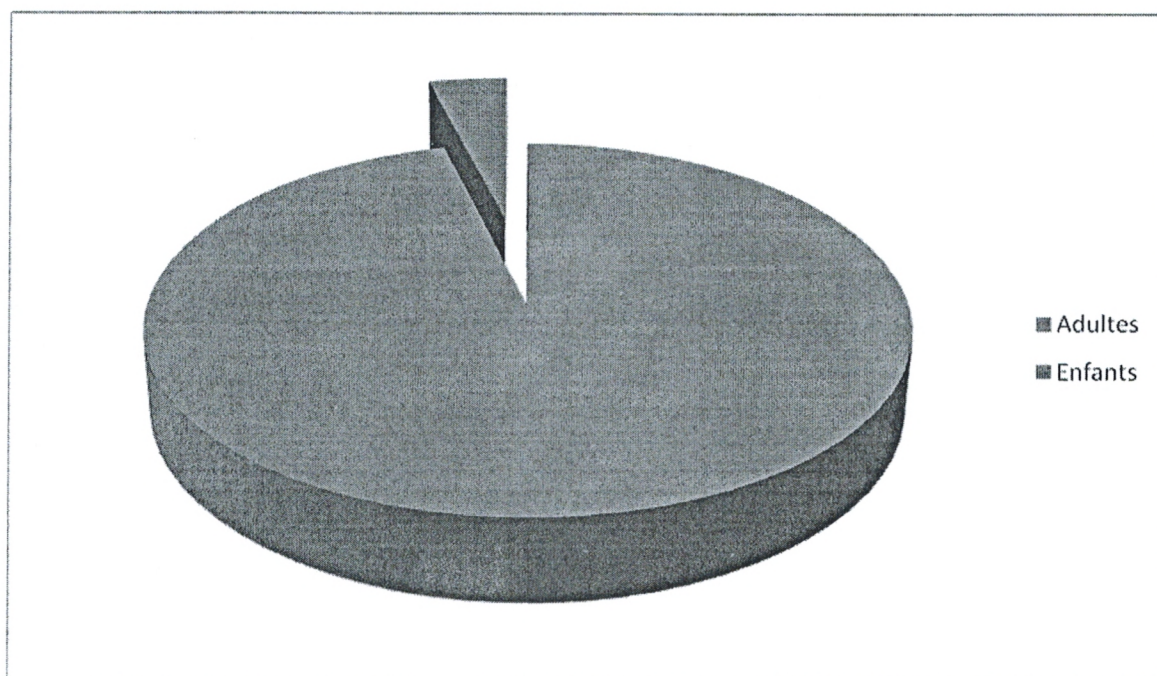


Figure N°12 : La répartition des malades selon l'âge

Pour l'ensemble de nos patients, on constate que la demande de la sérologie toxoplasmique concerne beaucoup plus les adultes avec un pourcentage de 96% des cas.

La répartition de nos malades selon le sexe est mentionnée sur le tableau N°05 et la figure N°12 :

Tableau N°05 : La répartition selon le sexe.

Sexe	nombre	Pourcentage
Hommes	26	5,39
Femmes	474	94,61

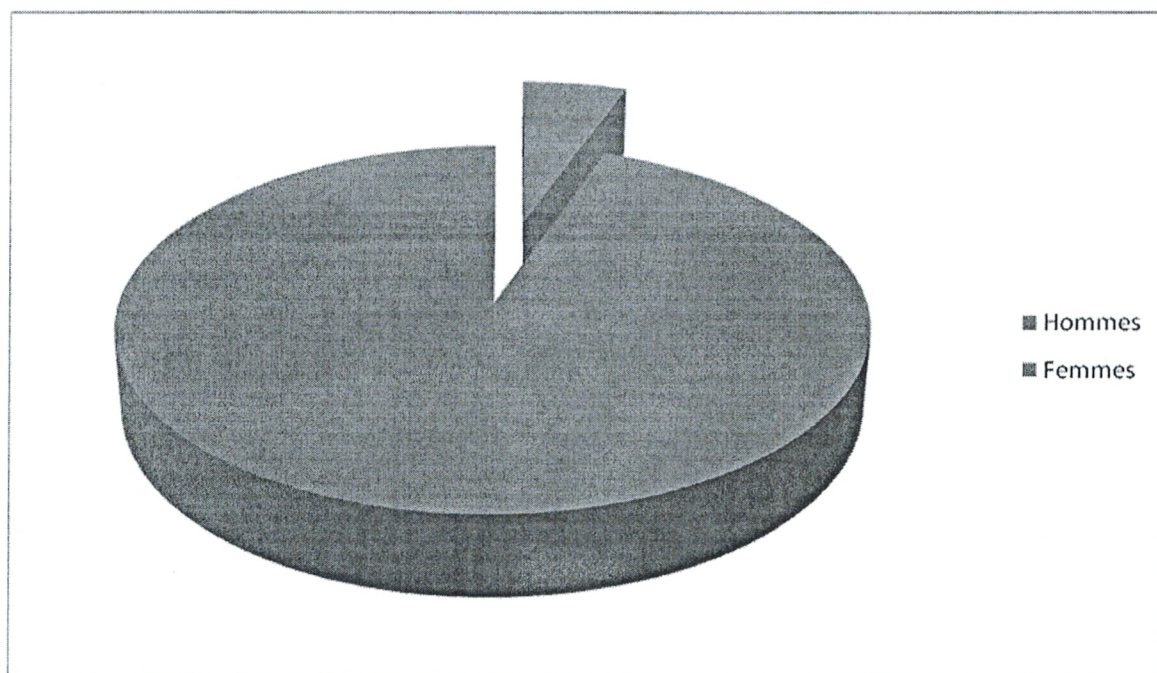


Figure N°13 : La répartition des malades selon le sexe

D'après les résultats mentionnés sur le cercle précédent, on note que le pourcentage des femmes (94,61%) était le plus élevé par rapport à celui des hommes.

La répartition des femmes enceintes parmi l'ensemble des femme prélevées est représentée par le tableau suivant :

Tableau N°06 : La répartition des femmes.

Femmes	Nombre	Pourcentage
Enceintes	338	72,37
Non enceintes	129	27,63

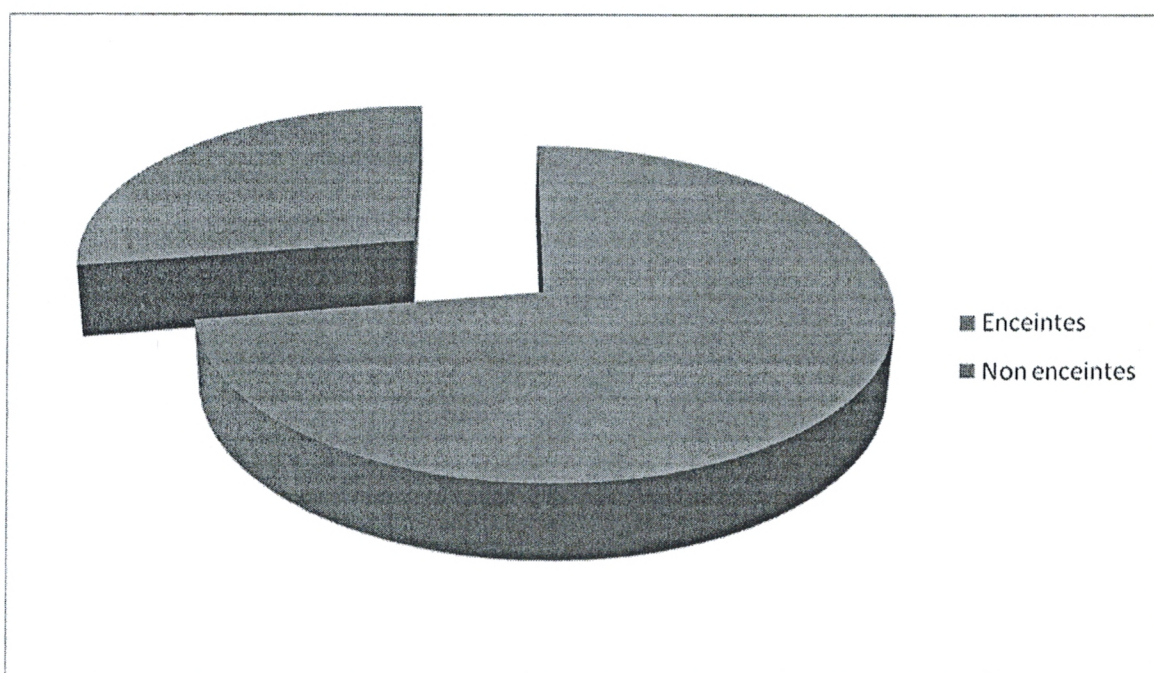


Figure N° 14 : La répartition des femmes

Parmi les 474 femmes recrutées, il y a 338 femmes enceintes avec un pourcentage de 72,37% et donc on constate que cette catégorie de femme a plus de demande de sérologie toxoplasmique.

Le tableau N°07 ainsi le cercle N° 14 représente les résultats de la sérologie des femmes enceintes.

Tableau N°07 : La répartition selon les résultats des femmes enceintes.

Résultats	Nombre	Pourcentage
Résultats positifs	126	37,28
Résultats négatifs	210	62,72

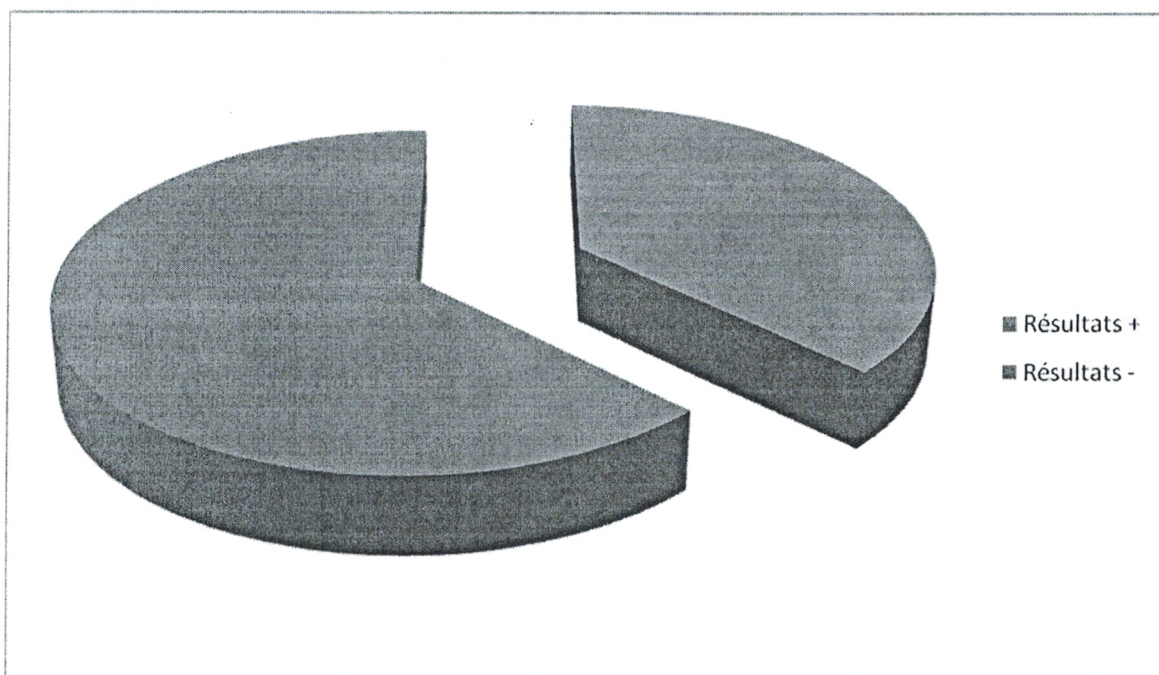


Figure N°15 : Les résultats des femmes enceintes

Parmi les 338 femmes enceintes il y'a 126 qui représentent une sérologie positif (37,28%) pour le test ELISA HUMAN.

La répartition des femmes enceintes selon l'âge de grossesse est représentés dans le tableau N°08 et par l'histogramme suivant :

Tableau N°08 : La répartition selon l'âge de grossesse.

L'âge de grossesse	Nombre	Pourcentage
1 ^{er} trimestre	163	48,22
2 ^{eme} trimestre	128	37,86
3 ^{eme} trimestre	27	7,98
Non mentionnés	18	5,91

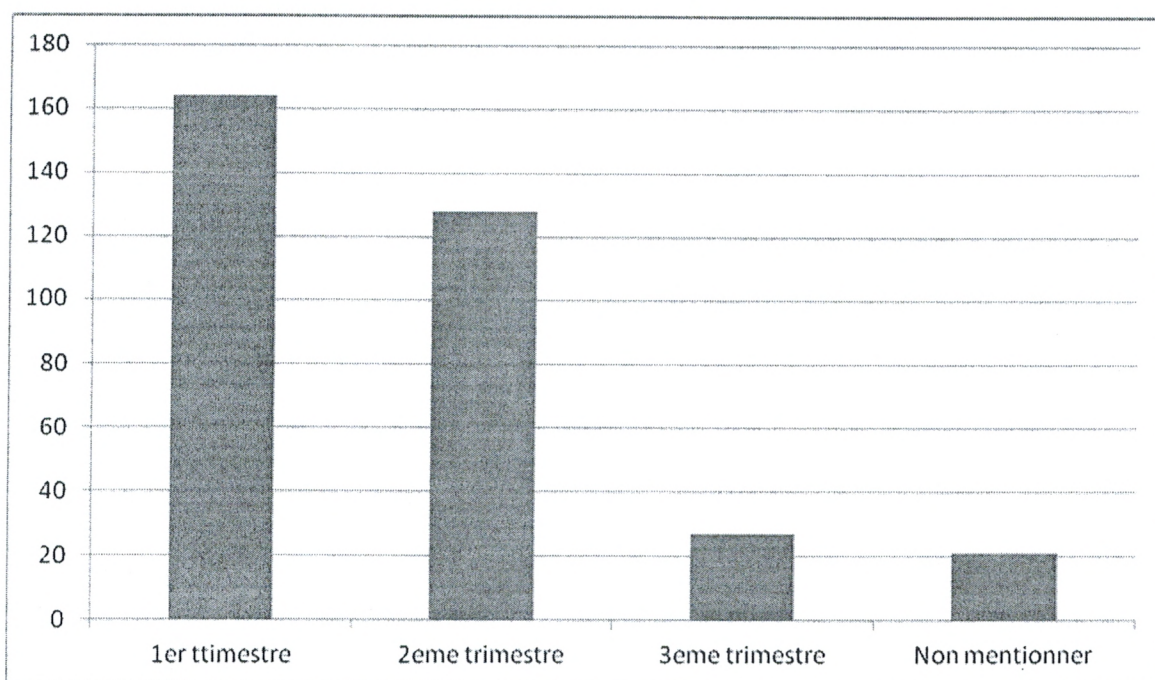


Figure N° 16 : La répartition des femmes enceintes selon l'âge de grossesse

Cet histogramme montre que la sérologie toxoplasmique était demandée de façon plus importante durant le premier et le deuxième trimestre avec les pourcentages de 48,22% et 37,86% respectivement.

Le pourcentage de 5,91% représente le nombre de femmes enceintes dont l'âge de grossesse n'était pas mentionné sur le registre de la sérologie toxoplasmique.

N.B : Ces derniers sont en nombre de 20 avec 02 prélèvements coagulés donc on fait notre étude statistique sur 18.

Le tableau N°09 et l'histogramme qui l'accompagne représentent les résultats de la sérologie des femmes enceintes selon leurs âges de grossesse.

Tableau N°09 : La répartition des résultats selon l'âge de grossesse.

L'âge de grossesse	Nombre des résultats positifs	Pourcentage des résultats positif	Nombre des résultats négatifs	Pourcentage des résultats négatifs
1 ^{er} trimestre	69	42,33	94	57,67
2 ^{eme} trimestre	41	32,03	87	67,97
3 ^{eme} trimestre	10	37,03	17	62,97
Non mentionnés	06	33,33	12	66,67

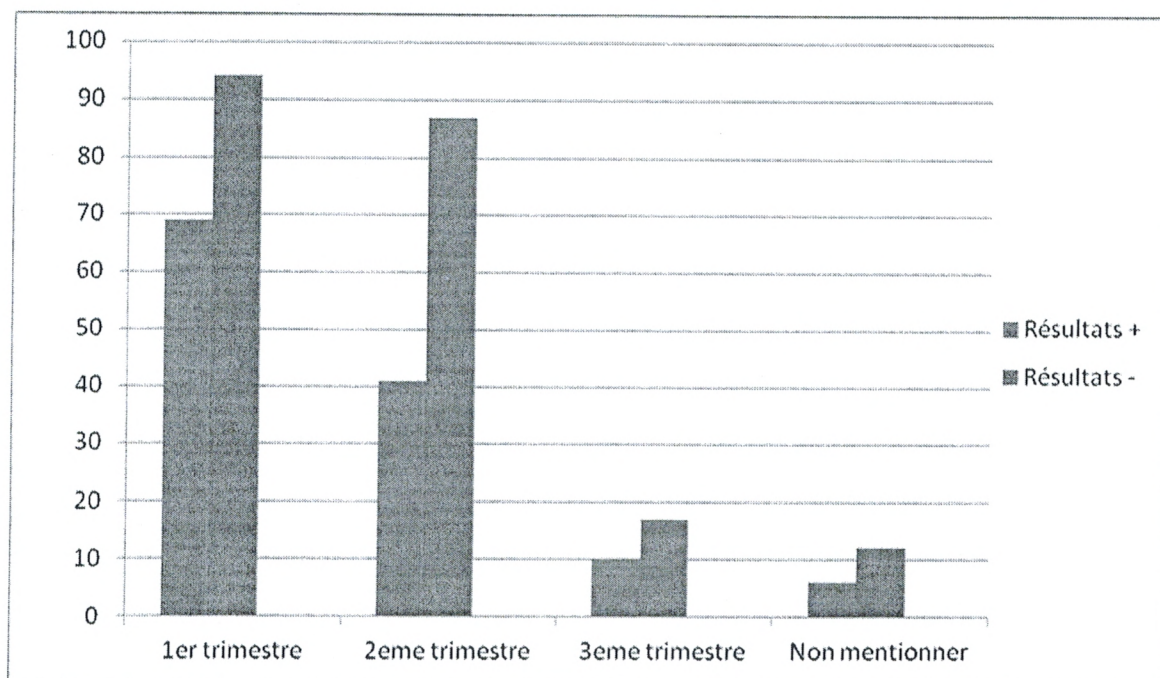


Figure N°17 : Les résultats des femmes enceintes selon l'âge de grossesse

On répartit les résultats de test ELISA selon l'âge de grossesse, on déduit que les sérologies négatives sont les plus impotentes quelque soit l'âge de la grossesse c'est-à-dire que les femmes séronégatives représentent le nombre le plus élevé et cela coïncide avec les résultats donné par la figure N°14.

NB : les résultats des sérologies positives ne concernent que les femmes avec immunité ancienne.

Les données du tableau N°10 et son histogramme représentent les résultats du dosage des anticorps IgM chez les femmes enceintes en fonction de leurs âges de gestation.

Tableau N°10 : La répartition des résultats les IgM selon l'âge gestationnel.

L'âge de grossesse	IgM positif	IgM négatif	IgM douteux
1 ^{er} trimestre	00	156	07
2 ^{eme} trimestre	00	126	02
3 ^{eme} trimestre	00	27	00
Non mentionné	00	18	00

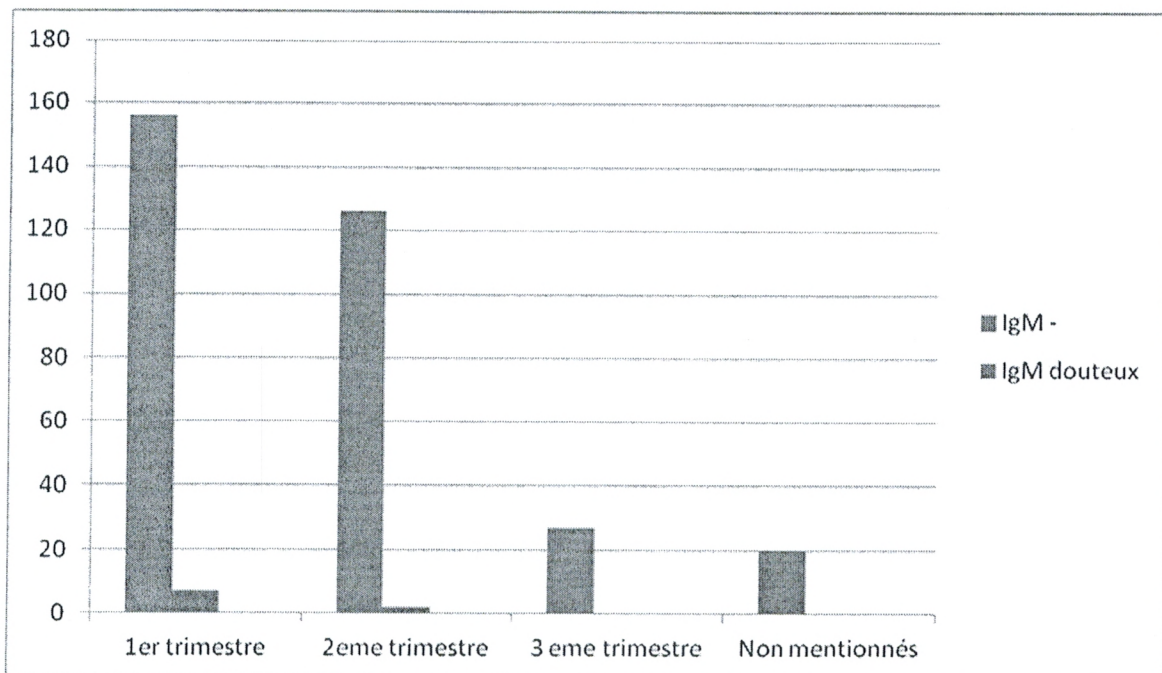


Figure N°18 : Distribution du dosage des IgM selon l'âge de la grossesse

Aucune femme enceinte ne présente des IgM positif quelque soit l'âge de la grossesse avec seulement un nombre de sept et deux femmes parmi l'ensemble qui représente un résultat douteux des IgM pour le 1^{er} et le 2^{eme} trimestre respectivement. Ce résultat peut être en rapport avec des IgM résiduels témoignant d'une immunité ancienne.

Interprétation général :

Pour mieux comprendre le suivie sérologique chez une femme enceinte il faut d'abord doser au même temps les deux classes d'immunoglobulines IgG et IgM pour pouvoir bien interpréter les résultats d'une sérologie toxoplasmique sans omettre l'âge de la gestation. Pour une bonne interprétation il faut suivre les données résumées sur le schéma suivant :

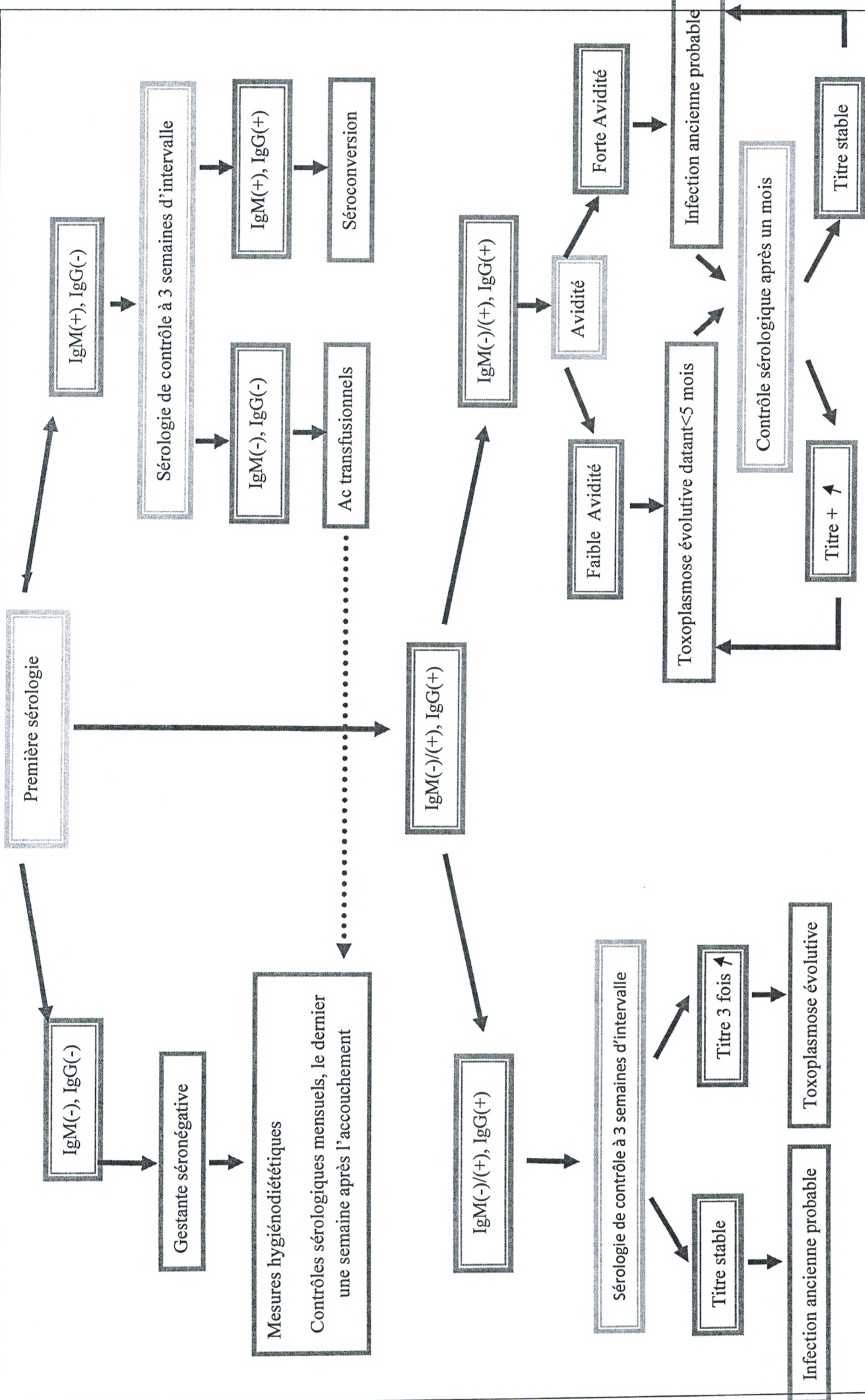


Figure N°19 : Algorithme décisionnel devant une sérologie toxoplasmique chez la femme enceinte

Chacune de ces femmes va recevoir son résultat avec interprétation (**Figure N°20**).

Pour les femmes séronégatives pour la toxoplasmose c'est-à-dire non immunisées une liste des conseils hygiéno-diététiques doit accompagner la fiche des résultats où elle doit la suivre pour éviter la séroconversion au cours de la grossesse (**Figure N°21**).

**CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE TIDIJINI DAMARDJI
TLEMCEN
SERVICE DE MICROBIOLOGIE
UNITE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE**

SERODIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE

N° d'enregistrement :

- Nom :
- Prénom :
- Age :
- Analyse demandée par :

Prélèvements	Méthode Immuno-Enzymatique (ELISA)			MEIA Microparticule Enzym Immuno Assay	
	N° d'ordre	Ig G	IgM	IgG	IgM
Date de réception					
Rappel des sérologies précédentes :					

Seuil de positivité (ELISA) : 3UI/ml.

Seuil de positivité (MEIA) : 6UI/ml.

Interprétation:

Remarque :

- Une deuxième détermination après un délai de 3 à 4 semaines serait souhaitable pour une interprétation convenable du test.
- Veuillez rappeler la date et le numéro d'ordre des sérologies effectuées antérieurement

Date :

Figure N°20 : La fiche de résultat de sérodiagnostic

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE TIDIJINI DAMARDJI
TLEMCEN
SERVICE DE MICROBIOLOGIE
UNITE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE

TOXOPLASMOSE

Madame,

سيدتي

Le résultat de votre analyse montre que vous n'êtes pas protégée contre la toxoplasmose, et pour cela, il faut éviter de contracter cette affection en cours de grossesse car elle peut présenter :

نتائج التحليلات المجرات لك تعني انك لست محمية ضد هذا المرض و تهذا يجب أن تتجنبه خلال الحمل لأنه

قد يشكل خطرا علي طفلك

UN DANGER POUR VOTRE BEBE

_نصائح و إرشادات

Recommandation à suivre :

-تجنب الكاشير و المرقاز

-Ne pas consommer de merguez et de cacher,

-الطهي الجيد و التام للحم

-Bien cuire la viande,

-تنظيف الخضروات قبل استهلاكها

-Laver soigneusement les fruits et légumes avant consommation,

-نظافة اليدين في حالة لمس القطط

-Se laver les mains après contact avec les chats,

-تجنب خدمة الأرض.

-Eviter le contact avec la terre (jardinage)

Figure N°21 : La liste des conseils

Discussion :

Cette étude prospective exhaustive analytique a été effectuée dans le but d'étudier la séroprévalence de la toxoplasmose dans la wilaya de Tlemcen. Elle a été réalisée au niveau du service de microbiologie de CHU dont la parasitologie vient occuper une place importante dans ses tâches.

Il s'agit de la première étude qui traite la question de la toxoplasmose dans ce laboratoire d'où son originalité.

L'étude a été réalisée de manière prospective c'est-à-dire un suivi réel et personnel des patients et de tout le travail et non pas à partir des dossiers ce qui est un point fort et renforce la fiabilité et la précision de nos résultats.

Malgré la limite du temps de l'étude (3 mois) que nous avons souhaité l'élargir sur toute l'année, on a pu tirer quelques conclusions sur cette maladie au niveau de la wilaya de Tlemcen.

Nous exposerons en un premier temps les résultats des prélèvements accompagnés d'une comparaison avec les différents travaux menés par certains auteurs.

Nous remarquons dans notre étude que l'infection par *Toxoplasma gondii* chez les femmes enceintes de la région de Tlemcen représente une séroprévalence de 37,28%. Ce qui souligne l'importance de cette maladie (séroprévalence >5%).

On comparant avec les autres études, et commençant par ceux de notre pays :

On remarque que nos résultats sont légèrement inférieurs à ceux de Fendri et al en 1999 dans la région de Constantine et qui est de 50,10 % poursuivi par ceux de Hamrioui et al en 2009 à Alger avec un taux de 49%.

Concernant la région de Sétif, une étude faite par Chouchane et al en 2006 et qui donne une séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes presque égale à celle de notre étude et elle voisine les 32,6 %.(11)

Pour les pays voisins, on remarque que l'étude faite par El mansouri et al en 2007 au Maroc et plus précisément à Rabat montre que le taux des femmes enceintes séropositif pour la toxoplasmose est de 50,6 % et donc il dépasse le notre par à peu près 13 %. Et selon l'étude de Franck Berger en 2003 elle est de 43,8 % en France cette prévalence est diminuée de 10% par rapport à une enquête nationale périnatale faite en 1995 avec 54,3% grâce au programme de prévention qui est suivi en France.(03).

Nosais et al en 1975 à Abidjan donne un pourcentage 78% de séropositifs (10), K.D.Adoubryn en 2004 à Yopougon (Abidjan, Cote d'Ivoire) donne une séroprévalence de 60 % sur une population comparable (10) ainsi qu'une étude faite en Afrique subsaharienne en 2007 qui donne le même taux (INVS) (11). Ces trois études montrent que la séroprévalence de la toxoplasmose reste très importante en Afrique de sud et est supérieure à celle de notre étude.

Dans les autres continents par exemple au Québec (Canada) elle est de 50% d'après Angela Davys Ndasseebe en 2007 (04) et d'autre étude faite par Doria Grinard au niveau de Saguenay donne une séroprévalence de 11.2%(09).

Ces données montrent la variabilité de la séroprévalence en fonction des régions (niveau de vie, habitudes alimentaires et climat.)

Concernant le pourcentage des cas positifs en fonction de l'âge de grossesse on peut comparer notre étude avec celle de Chouchane et all (Sétif) (06) et qui permet de dire que nos conclusions rejoignent celles de la région de Sétif, avec un pourcentage élevé des cas (51 % versus 42 %) au cours de 1^{er} trimestre par rapport à l'ensemble des positifs. Concernant le 2^{ème} et le 3^{ème} trimestre, notre étude montre le contraire retrouvé par Chouchane où on objective que la positivité au 3^{ème} trimestre fait suite à celle du premier trimestre.

Les femmes séronégatives restent exposées au risque de séroconversion, dans notre étude cette catégorie est plus importante selon nos résultats au premier trimestre avec un taux de 58 %. Ce qui objective la gravité de la maladie et le risque de malformations chez le fœtus s'il aura séroconversion au cours des premiers mois de la grossesse.

On note à travers la littérature que la séroprévalence de la toxoplasmose diffère d'une étude à une autre avec des variations au sein d'une même population. Rappelons également que les méthodes d'échantillonnage utilisées, les techniques de diagnostic et leurs seuils de spécificité proposés sont d'une grande variabilité. Ainsi, le caractère hétérogène des protocoles utilisés et des populations enquêtées suggère une certaine prudence dans l'interprétation et la comparaison des résultats des sérologies entre les études.

Conclusion :

La toxoplasmose est une infection parasitaire bénigne, sauf dans deux situations: lorsqu'elle survient chez des personnes immunodéprimées et au cours de la grossesse en raison du risque de transmission du parasite au fœtus.

La sérologie de la toxoplasmose consiste à rechercher la présence d'anticorps antitoxoplasmique, témoins d'une réaction de l'organisme contre le parasite. Cet examen permet donc d'établir le diagnostic de cette infection. Il permet aussi de déterminer le statut immunitaire d'une femme en âge de procréer. Cette sérologie doit être pratiquée de préférence en début de grossesse, si elle revient négative, la femme doit être suivie tous les mois, jusqu'à la fin de la grossesse. Une sérologie positive signifie une immunité ancienne ce qui veut dire qu'il n'y a plus de risque pour le fœtus de contracter la toxoplasmose.

Cette étude nous a permis d'introduire pour la première fois le diagnostic de la toxoplasmose et le suivi sérologique des femmes enceintes au CHU de Tlemcen. Ce suivi était basé sur le dosage simultané des anticorps IgM et IgG par une technique ELISA manuelle (Laboratoire HUMAN). Les résultats étaient donnés en détectant la présence ou l'absence des IgM et en unité internationale par titrage des IgG. Quelques femmes ont bénéficiées de sérologie de contrôle permettant de conclure soit à une immunité ancienne et donc arrêt du suivi soit à une absence de l'immunisation et donc femme à contrôler mensuellement.

Malgré la courte durée de l'étude et le faible échantillonnage, on a pu avoir des résultats permettant de tirer des conclusions concernant la maladie et sa séroprévalence.

Dans notre étude nous remarquons que la séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes dans notre région représente un pourcentage de 37,28% du total des femmes étudiées ce qui signifie que ceux dites séronégatives représentent une partie non négligeable dans notre série (près des deux tiers de l'ensemble des prélèvements). Ce pourcentage de la séronégativité montre que le risque de contracter la maladie au cours de la grossesse est important et par conséquent le passage du parasite chez le fœtus.

La séroconversion n'était objectivée en aucun cas et par conséquent toutes les femmes sont restées séronégatives. Ce qui souligne l'importance du dépistage anténatal d'une éventuelle conversion au cours de la grossesse. De ce fait un débat international sur la politique de Santé publique est mené pour la prévention de la toxoplasmose congénitale afin de diminuer l'incidence et la gravité de la maladie par le dépistage anténatal et la prise en charge thérapeutique des femmes enceintes avec séroconversion et par la suite de leurs enfants après la naissance.

En France, la Haute Autorité de Sante (HAS) a été saisie pour faire de nouvelles recommandations sur le dépistage prénatal de la toxoplasmose congénitale. Ainsi, un programme hospitalier de recherches cliniques à débiter en 2010. Un traitement par *Pyriméthamine*-sulfamide de trois mois est initié dès la naissance en cas de diagnostic anténatal positif ou dès la confirmation de l'infection en cas de diagnostic post natal. Celui-ci est suivi soit d'un traitement par Fansidar® pendant neuf mois, soit d'une abstention thérapeutique.

Enfin nous souhaitons élargir ce travail dans l'avenir sur un échantillon plus grand et une période plus longue permettant de connaître la vraie incidence de la toxoplasmose chez la population des femmes enceintes et par conséquent celle de la toxoplasmose congénitale.

Nos perspectives est d'atteindre les mêmes recommandations.

Référence bibliographique :

- 01- Bachi .F, Gourbdji.E, Taourirt .L , Boudhane.L & Lazizi .L. Toxoplasmose congénitale: Bilan du CNR Centre National de Référence Toxoplasmose.2010.
- 02- Beldjehem.I. Mise au point et application de Western Blot au diagnostic de la toxoplasmose oculaire et congénitale. Promotion 2008-2009.
- 03- Berger F, Goulet V, Le Strat Y, de Valk H, Désenclos JC. La toxoplasmose en France chez la femme enceinte en 2003 : séroprévalence et facteurs associés. Institut de veille sanitair. 2007.p :11.
- 04- Davys Ndassebe. A. Prévalence et incidence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes du Nunavik 1994-2003. 2007.
- 05- Derouin. F, Dorchies. P, Darde. M, Goulet. V, Peyron. F, Thulliez P, Villena. I. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation Rapport du groupe de travail « *Toxoplasma gondii* » de l'AFSSA Décembre 2005. P : 40-43,50-52, 70-71, 198,252-255.
- 06- El Bouhali. L . Toxoplasmose et grossesse 2012 .p :09-13, 22-23, 26-29, 40-43, 46-48.
- 07- Fortier .B, Dao Ajana .A, Toxoplasme et toxoplasmose. EMC infectieux.8-509-A-10 4- 330-A-10 .2000.p : 01-13.
- 08- Golvan. Y.Elément de Parasitologie médicale 4^{ème} édition. p : 320-334.
- 09- Grinard. D. Prévalence et incidence de la Toxoplasmose chez les femmes enceintes de la région du Saguenay.1998.
- 10- K. D. Adoubryn, J. Ouhon, J. Nemer, C. G. Yapo & A. Assoumou Dépistage sérologique de la toxoplasmose acquise chez les femmes en âge de procréer dans lacommune de Yopougon (Abidjan, Côte d'Ivoire). 2004.p : 97, 5, 345-348. Manuscrit n° 2603. "Santé publique". Reçu le 22 juillet 2004. Accepté le 28 avril 2004.
- 11- M. Chouchane, C.Abaki, A.Touabti, S.Laouarmi La toxoplasmose chez la femme enceinte à Sétif étude préliminaire.
- 12- Nozais . J, Datry. A et Danis. M Traité de Parasitologie médicale 1996.p :147-167.
- 13- Onadja.M. Co-infection de toxoplasma gondii et du virus de l'immunodéficience humaine HIV chez les femmes enceintes au centre médical Saint Camille.Burkina Faso.2008-2009.p :26, 37.

14-Sanah. I, Teyar.S, Bencharif. M, Sersar.I, Bouchedja.N. 30^{èmes} Journées Scientifiques du Centre Hospitalo-universitaire Dr Benbadis Constantine, le 25 et 26 Mai 2011. La toxoplasmose chez la femme enceinte.

15-. Toumi .A Tunis Prise en charge de la toxoplasmose, 2009.

16- Surveillance sérologique et prévention de la Toxoplasmose et de la rubéole au cours de la grossesse. Haut autorité de santé.2009.p :11-13.