

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid
Blancan Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

FACULTE DE MEDCINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Les infections toxoplasmiques

Préparé par :

- ✦ Laïssouf Sihem
- ✦ Merah Fatima
- ✦ Lahssaini Nour El Houda

Encadré par :

Mr BENABADJI Bakir

Service de : Microbiologie

Année universitaire

2011/2012

Introduction

Introduction :

Certaines maladies d'origine infectieuse sont méconnues de la population ; bien quelles soient à l'origine de maladies graves ou de malformations, cela est dû en grande partie au manque d'information concernant les causes de ces maladies. Parmi ces dernières on va étudier une maladie parasitaire qui varie essentiellement en fonction du niveau d'hygiène de la population et des habitudes alimentaires, sa prévalence est très hétérogène selon les pays, elle dépend beaucoup du mode de vie de la population et des conditions géo-climatiques c'est la **toxoplasmose**. Cette maladie qui peut être définie comme étant une zoonose cosmopolite due à un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire, *Toxoplasma gondii*, Son nom provient de sa morphologie (**toxon=arc et plasma=forme**) et de l'espèce chez laquelle il a été découvert, *Ctenodactylus gundi* (« **le gondi** », **rongeur sauvage**). Ce parasite infecte tous les animaux à sang chaud y compris l'homme.

En *médecine humaine*, cette maladie existe sur le plan clinique, sous trois formes : la toxoplasmose **acquise** habituellement bénigne et très souvent inapparente, la toxoplasmose de **l'immunodéprimé** que ce soit dans le cadre des sidéens ou dans le cadre des transplantés et greffés, et la toxoplasmose qui survient au cours de la grossesse et qui est transmissible au fœtus et responsable de foetopathies graves dite : **toxoplasmose congénitale**.

En *médecine vétérinaire*, la toxoplasmose représente également un impact économique important puisqu'elle est à l'origine de nombreux avortements chez les petits ruminants d'élevage. Ces animaux infectés représentent de plus un réservoir pour le parasite, source de l'infection de l'homme suite à la consommation de viande mal cuite d'animaux infectés.

Le toxoplasme est donc à la fois un problème de santé publique et vétérinaire, ce qui justifie la mise en œuvre de recherches consacrées à cette infection.

Résumé :

La toxoplasmose est une maladie cosmopolite due à un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire opportuniste, *Toxoplasma gondii*. Pour étudier ce parasite nous proposerons un plan de travail qui comporte une aperçu théorique sur l'épidémiologie analytique, la clinique, essentiellement le diagnostic biologique et enfin on aborde le traitement et la prophylaxie.

En général, l'homme s'infectant le plus souvent par ingestion de viande contaminée par la forme kystique, forme de résistance du parasite, le cycle de développement est particulièrement complexe et l'hôte définitif est systématiquement un félin (sauvage ou domestique), L'infection par *T. gondii* est le plus souvent bénigne chez l'homme, la multiplication du parasite est limitée par la réponse immunitaire mais celui-ci persistera dans certains tissus (muscles et cerveau) durant toute la vie de l'hôte. L'infection peut être grave chez les malades immunodéprimés (sidéens ou greffés) ou lors d'une transmission transplacentaire (toxoplasmose congénitale) donc il s'agit d'une zoonose qui présente un risque sérieux pour les femmes enceintes séronégatives et les sujets immunodéprimés. Le diagnostic des différentes formes de toxoplasmose fait intervenir la clinique, l'imagerie et plusieurs types de techniques biologiques : sérologies, cultures, biologie moléculaire. Les protocoles de traitement sont différents selon les tableaux cliniques de la maladie, même si les médicaments disponibles sont peu nombreux. Cette parasitose majeure est cosmopolite et on estime qu'un tiers de la population mondiale est infectée par *Toxoplasma gondii*.

Partie Théorique

I-Epidémiologie :

I-1.Historique :

Le parasite est décrit pour la première fois en **1908** à l'Institut Pasteur en Tunisie par deux médecins français, **Charles Nicolle** et **Louis Herbert Manceaux**, mais uniquement sous sa forme tachyzoite sur un rongeur sauvage d'Afrique du Nord, le ***Ctenodactylus gundi***. Ils isolent un protozoaire de forme arquée qu'ils nomment ***Toxoplasma gondii***, toxoplasma venant des mots grecs toxon (arc) et plasma (forme).

Au même moment, l'italien **Alfonso Splendore** trouve ce même parasite après la mort des lapins de son laboratoire à Sao Paulo au Brésil. Nicolle et Manceaux présentent le genre *Toxoplasma* et *T. gondii* devient l'espèce type du genre. Par la suite, ce parasite sera isolé chez de nombreuses autres espèces animales, et à chaque fois une nouvelle espèce est proposée, nommée d'après l'espèce hôte chez qui elle avait été détectée. Ce n'est qu'en **1939** que **Sabin** apporte la preuve que ces différentes espèces n'en sont en fait qu'une seule *T. gondii*.

La classification reste cependant incertaine et seuls les stades asexués, mérozoïtes et kystes tissulaires, sont alors connus. C'est dans les années **1960** que les preuves de la nature coccidienne de *T.gondii* arrivent, et dans les années **1970** que l'on décrit le cycle parasitaire de type coccidien de *T. gondii* et l'existence de stades sexués dans l'intestin grêle de chats par **Hutchinson et Frenket**.

En **1923**, l'ophtalmologiste tchèque **Josef Jankù** décrit la maladie humaine, un cas de toxoplasmose congénitale chez un enfant atteint d'une chorioretinite.

Ce n'est qu'en **1939** que la toxoplasmose est reconnue comme une maladie congénitale par **Wolf et al.** chez un enfant atteint d'encéphalite.

En **1937**, **Sabin** décrit les signes cliniques de la toxoplasmose humaine.

En **1948**, **Sabin** et **Feldman** mettent au point un test immunologique, le "Dye test", qui permet le diagnostic sérologique de la maladie.

En **1957**, **Goldman** et **Kelen** utilisent l'immunofluorescence microscopique pour explorer l'immunité humorale chez l'homme.

Dans les années **1960**, le rôle de la consommation de la viande insuffisamment cuite dans les infections humaines a été clairement identifié. Et ce n'est qu'en **1969** que l'identification du chat comme hôte définitif abritant les oocystes a permis de reconstituer le cycle du parasite pour comprendre ainsi le cycle d'infection des herbivores.

Depuis, les recherches pour reconstituer la constitution antigéniques du parasite permettent de mieux comprendre les réactions immunitaires de l'homme et de mieux choisir les différents tests biologiques.

I-2.Classification - Phylogénie :

Toxoplasma gondii, seul représentant du genre ; Appartenant au règne des **protistes**, *T. gondii* est un *protozoaire unicellulaire obligatoire*.

I-2.1.Critères d'appartenance à l'embranchement des Sporozoa :

T.gondii possède un complexe apical complet, son cycle de développement ne montre pas de stade endo-érythrocytaire et il ne peut être transmis par pique d'arthropodes hématophages.

Ces caractéristiques le font appartenir à la classe des *Coccidea*. De plus, comme toutes les coccidies, *T.gondii* est caractérisé par :

- Une reproduction sexuée de type gamétogonie suivie d'une sporogonie.
- Une reproduction asexuée de type schizogonie et endodyogénie.

La classe des *Coccidea* est subdivisée en deux ordres distincts : l'ordre des *Eimeriida* et celui des *Adeleida*.

I-2.2.Critères d'appartenance à l'ordre des Eimeriida :

Comme tout organisme appartenant à l'ordre *Eimeriida*, *T. gondii* produit de nombreux gamétocytes lors de la gamétogonie.

Cet ordre abrite quatre familles principales. Les Toxoplasmatidés et les Sarcocystidés suivent un cycle de développement hétéroxène.

I-2.3.Critères d'appartenance à la famille des Toxoplasmatidés :

La sporogonie a ensuite lieu dans le milieu extérieur, et le développement dans l'hôte intermédiaire fait intervenir successivement une phase de prolifération et une phase kystique. Cette famille des *Toxoplasmatidés* est scindée en quatre genres principaux qui se différencient par la localisation des parasites dans l'hôte intermédiaire.

I-2.4.Critères d'appartenance au genre Toxoplasma :

Les tachyzoïtes et les kystes à bradizoïtes de *T. gondii*, peuvent se retrouver dans des tissus très variés de l'hôte intermédiaire.

I-3.Caractérisation :

T. gondii est un protozoaire appartenant à l'ordre des *coccidies*, phylum des *apicomplexes*, responsable d'une infection très répandue dans le règne animal chez tous les animaux homéothermes, y compris l'Homme. C'est un parasite intracellulaire obligatoire.

Outre les organites cellulaires communs aux autres cellules eucaryotes (noyau, mitochondrie, appareil de Golgi et réticulum endoplasmique), *T. gondii* possède des organites impliqués dans le processus d'invasion cellulaire et deux organites originaux, l'**apicoplaste** et l'**acidocalcisome**.

- L'**apicoplaste** aurait été acquis par un ancêtre du phylum des apicomplexes par double endosymbiose d'une algue verte. Son rôle exact est encore mal connu. Il serait le siège de certaines voies de synthèse vitales pour le parasite, comme la biosynthèse d'acides gras.

Des parasites modifiés, ne possédant plus d'apicoplaste, se répliquent normalement lors du premier cycle cellulaire mais meurent au cours du deuxième cycle de division.

- La différenciation de *T. gondii* et de pathogènes apparentés passe non seulement par la reconnaissance des ookystes lors de coprocultures, mais aussi par la différenciation des kystes tissulaires. Ainsi lors de coprocultures, on différencie les ookystes de *T. gondii* de ceux des représentants du genre (*Eimeria*) par le **nombre de sporocystes** et de **sporozoïtes** qu'ils contiennent. Alors qu'une fois sporulé, l'ookyste de *T. gondii* montre **deux** sporocystes contenant chacun **quatre** sporozoïtes, celui d'*Eimeria* sp. Présente **quatre** sporocystes contenant chacun **deux** sporozoïtes.

I-4. Une organisation structurale en fonction du degré d'évolution: 3 formes :

I-4.1. Le tachyzoïte :

Il a une forme de croissant et mesure **6 à 8 μm** de long sur **3 à 4 μm** de large. C'est la forme de multiplication rapide du toxoplasme et la seule forme capable de traverser la barrière placentaire. Il possède un complexe apical qui participe à la mobilité du parasite et à sa pénétration dans les cellules.

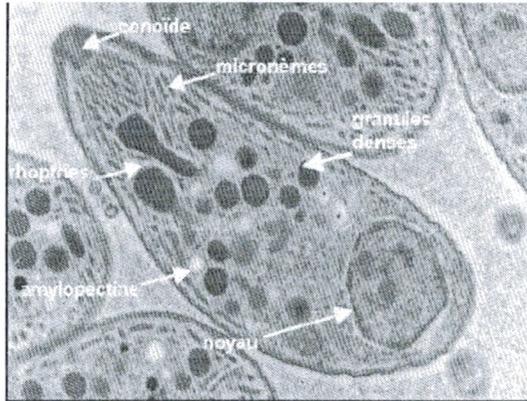


Fig 1: Ultrastructure de *T. gondii* (bradyzoïtes), d'après le rapport du groupe de travail de l'AFSAA- 2005

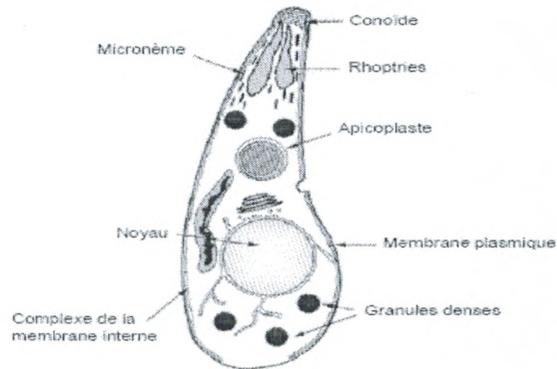


Figure 2. Structure du tachyzoïte de *T. gondii*. Adaptée de Black & Boothroyd, 2000.

I-4.2. Le bradyzoïte :

Semblables aux tachyzoïtes, ils sont contenus dans des kystes toxoplasmiques de **5 à 100 μm** de diamètre. Ils se forment au cours de l'évolution de la réponse immunitaire de l'organisme dans tous les types cellulaires mais persistent préférentiellement dans les neurones, les astrocytes, les cellules musculaires et les cellules rétinienne. Ces kystes peuvent persister pendant toute la vie de l'hôte et libérer leurs bradyzoïtes à la mort de la cellule. Dans ce cas, les toxoplasmes peuvent aller s'enkyster dans d'autres cellules ou être détruits par le système immunitaire selon le statut immunitaire de l'hôte.

I-4.3. Le sporozoïte :

Ce sont les éléments infectants présents dans les oocystes sporulés et issus de la reproduction sexuée du parasite chez l'hôte définitif. Les Félinés, seuls hôtes définitifs connus, excrètent dans leurs fèces des oocystes non sporulés contenant un seul sporoblaste qui, après sporogonie, formera **deux** sporocystes contenant chacun **quatre** sporozoïtes.

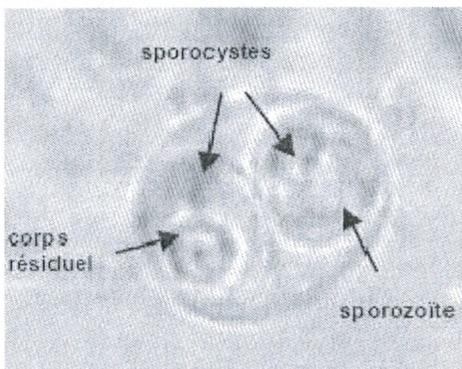


Figure 3 : Oocyste sporulé infectant (MO contraste de phase x1000)



Figure 4: Oocyste non sporulé à frais.

Remarque :

Pseudokystes ; kystes et ookystes :

✚ **Pseudokystes et kystes (formes groupées) :**

a-Les pseudokystes sont des formations intracellulaires (**15-30 μm**) qui résultent de la multiplication rapide du parasite sous forme tachyzoïtique. Les tachyzoïtes (jusqu'à deux cents par pseudokyste) sont situés dans une vacuole parasitophore (= phagosome) ; on les observe au cours de la phase aiguë de l'infection. Chez un hôte immunocompétent, les pseudokystes se transforment en kyste sous l'action de la réponse immunitaire.

b-Les kystes : (**60-100 μm**) sont des formations intracellulaires contenant des bradyzoïtes, forme quiescente du parasite, à multiplication lente (jusqu'à plusieurs milliers dans un kyste). Ils occupent la quasi-totalité de la cellule hôte qui est alors déformée. On peut les retrouver dans tous les tissus mais surtout dans les tissus musculaires (muscles lisses, striés squelettiques et myocarde), intraoculaires et nerveux (notamment dans les astrocytes). Leur durée de vie peut être très longue (certains peuvent persister jusqu'à la mort de l'hôte).

✚ **Les ookystes (formes exogènes) :**

Ce sont les zygotes enkystés (**10-13 μm \times 12-15 μm**) issus de la reproduction sexuée du parasite. Après la fécondation, ils sont immatures, diploïdes, avec une double paroi (endokyste + ectokyste) lisse et épaisse (**0,5 μm**). Ils contiennent un unique sporonte.

Après sporulation dans des conditions environnementales particulières, les ookystes deviennent matures : ils contiennent alors deux **sporocystes** (**6-8 μm \times 9-12 μm**), abritant chacun quatre **sporozoïtes** (**2 \times 6-8 μm**), éléments infectieux, peu différents en microscopie optique et électronique des autres stades infectants.

I-4.4. Aspects génétiques :

Trois génotypes principaux (I, II et III) ont été identifiés en Europe et en Amérique du Nord.

I-4.4.1. Caractéristiques de la souche I :

C'est une souche très virulente pour la souris. La **DL₁₀₀** (c'est-à-dire la dose nécessaire pour obtenir 100% de mortalité) est égale à **1 tachyzoïte**. La souris meurt en moins de 10 jours avec une parasitémie élevée (pas de formation de kystes). En revanche cette souche n'est pas virulente chez le rat. Chez l'Homme elle est responsable d'atteintes congénitales sévères.

I-4.4.2. Caractéristiques de la souche II :

C'est la souche la plus fréquemment isolée chez l'Homme et l'animal. En France, elle représente **80%** des souches humaines.

Elle est non virulente chez la souris avec une **DL₁₀₀ \geq 1000**. C'est une souche kystogène. Chez l'Homme, elle est responsable de toxoplasmoses congénitales plus ou moins sévères. Chez l'immunocompétent, elle provoque des formes **lymphadenopathiques** classiques.

I-4.4.3. Caractéristiques de la souche III :

Il s'agit d'une souche dont la virulence chez la souris est intermédiaire. Chez l'Homme, elle a été isolée lors de toxoplasmose congénitale.

Remarque : A ces trois souches, il faut rajouter l'existence de génotypes recombinants ou atypiques. Ils sont très rares et ont été isolés dans des biotopes sauvages en Amérique du Sud par exemple (**Guyane française**). Leur particularité est d'être à l'origine d'atteintes sévères chez des sujets immunocompétents.

I-5. Une multiplication et un développement en fonction de l'environnement:

I-5.1. cycle évolutif :

I-5.1.1. Pénétration cellulaire par endocytose (la phase libre) :

Les formes libres du parasite peuvent réaliser des mouvements de rotation, de glissement, et d'ondulation des parois. Ceci leur permet de pénétrer dans les cellules hôtes. La pénétration intracellulaire des sporozoïtes, bradyzoïtes et tachyzoïtes se fait par endocytose.

↓ Déroulement de l'endocytose :

-fixation du pôle apical du toxoplasme en un point de la cellule hôte déterminé par l'affinité de certaines protéines de surface (glycoprotéine gp30 = SAG1, SAG 3, laminine et ses récepteurs : intégrines, lectines et glycoprotéines de la membrane cellulaire). Le rôle principal dans la fixation du parasite à la cellule hôte est dévolu à la glycoprotéine **gp30**.

-pénétration active du parasite : protrusion du conoïde, exocytose des micronèmes et des rhoptries qui sécrètent de la myosine (protéine contractile) propulsant le parasite dans la cellule hôte et intervention du **PEF** (Penetration Enhancing Factor, antigène parasitaire cytoplasmique) élaboré par les rhoptries, facilitant cette pénétration.

Au moment de l'endocytose, les tachyzoïtes abandonnent l'antigène de surface gp30, qui passe dans la circulation.

Après cette pénétration très rapide (**15 à 40 secondes**), le parasite est abrité par une **vacuole parasitophore** limitée par une membrane qui s'accroît progressivement grâce à la sécrétion des granules denses parasitaires. Les tachyzoïtes se multiplient toutes les **5 à 10 heures** selon les souches, puis leur sortie hors de la vacuole et de la cellule fait aussi intervenir un phénomène actif.

I-5.1.2. Multiplication asexuée :

Chez les hôtes intermédiaires, les bradyzoïtes et tachyzoïtes se multiplient dans la cellule hôte par **endodyogénie** (ou endogénie) : c'est un bourgeonnement interne du noyau du parasite, qui aboutit à la formation de deux noyaux fils puis la cellule scinde son cytoplasme pour donner deux cellules filles.

Cette multiplication entraîne rapidement une destruction des cellules parasitées. Une cellule hôte peut produire plus de **200 tachyzoïtes** en **2 jours**, capables d'infester de nouvelles cellules hôtes.

L'**endodyogénie** se déroule en deux phases successives :

- ❖ une **phase aiguë** de multiplication rapide, très active (tachy-endogénie) aboutissant à la formation de tachyzoïtes au sein des **pseudokystes**,
- ❖ si l'hôte intermédiaire (HI) est immunocompétent, commence alors une **phase endogénique lente** : il y a multiplication du parasite sous forme de bradyzoïtes dans des

kystes. L'infection devient chronique (ou latente car les kystes peuvent être réactivés lors d'immunodépression).

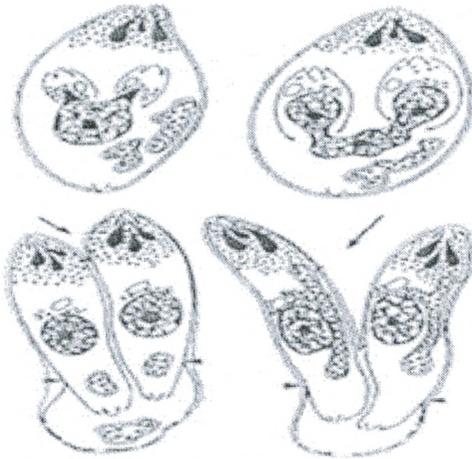


Figure 5 : multiplication endodyogénique de *Toxoplasma gondii* (Euzéby 1993).

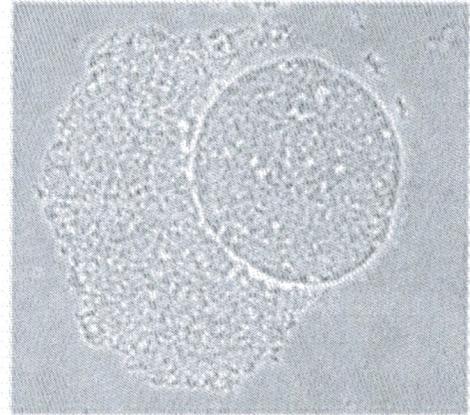


Figure 6 : rupture de la paroi d'un kyste et libération de centaines de bradyzoïtes sous l'action des sucs digestifs ; d'après l'AFSAA-Décembre 2005.

1-5.1.3. La reproduction sexuée:

Cycle intestinal de type coccidien chez le chat (ou « coccidiose toxoplasmique »)

La multiplication sexuée n'a lieu que dans les entérocytes de l'HD, après pénétration d'un bradyzoïte.

Trois étapes se succèdent:

✓ La schizogonie :

Il y a pénétration active des bradyzoïtes dans les entérocytes et transformation en trophozoïtes. Les trophozoïtes se divisent ensuite et forment des schizontes qui donnent naissance à de nombreux schizozoïtes. La cellule hôte est détruite lors de la libération des schizontes.

✓ La gamétogonie (transformation en éléments mâles ou femelles)

Certains schizozoïtes se transforment en gamétocytes. Les microgamétocytes réalisent des divisions nucléaires et donnent **12 à 32 microgamètes** (= gamètes mâles).

Les macrogamétocytes ne réalisent pas de division nucléaire, ils donnent les **macrogamètes** (= gamètes femelles).

Lorsque les cellules hôtes des microgamétocytes éclatent, les microgamètes rejoignent les macrogamètes, il y a alors fécondation et formation d'un ookyste immature qui est éliminé dans le milieu extérieur, **15 à 20 jours post-infection**.

✓ La sporulation

Si les conditions environnementales sont favorables, l'ookyste immature sporule. La durée de la sporulation varie de **2 jours à 15 jours** ou **plus** selon la température (24 à 48h à 25°C en milieu humide et aéré).

Trois facteurs principaux importent au bon déroulement de la sporulation :

- **la température** : la température optimale étant comprise entre **28 et 30°C**,
- **l'humidité** : l'hygrométrie optimale est de **80%**,

- **l'oxygénation.**

Ce processus aboutit à la formation de deux sporocystes renfermant chacun 4 sporozoïtes, infectants pour les hôtes intermédiaires.

I-5.2. Les différents types de cycles possibles :

Le cycle évolutif du toxoplasme est complexe. Il est facultativement **dixène**, peut se faire uniquement chez le chat : cycle **monoxène**, ou même entre hôtes intermédiaires (tous les animaux à sang chaud), et sont parfois très nombreux à intervenir dans un cycle. Le toxoplasme est un des parasites les plus **polyxènes** connu à ce jour.

I-5.2.1. Cycle HD-HD :

Le cycle se déroule uniquement chez le chat, HD. On parle également de cycle **monoxène** ou « **cycle court** »= « **phase sexuée** ».

Le chat se contamine par ingestion de terre (géophagie), d'eau (hydropinie) ou de végétaux souillés (phytophagie) par des ookystes sporulés. Dans l'intestin grêle, des sporozoïtes sont libérés par les ookystes. Ils ne peuvent pas envahir directement les entérocytes (seuls les bradyzoïtes le peuvent). Ils traversent donc la muqueuse intestinale et sont distribués par voie sanguine ou lymphatique dans les divers tissus de l'organisme puis se déroule la phase sexuée avec ses 3 étapes.

La période **prépatente** (c'est-à-dire le temps entre l'infestation et la production des premiers oeufs) est de **15 à 20** jours.

I-5.2.2. Cycle HI-HD :

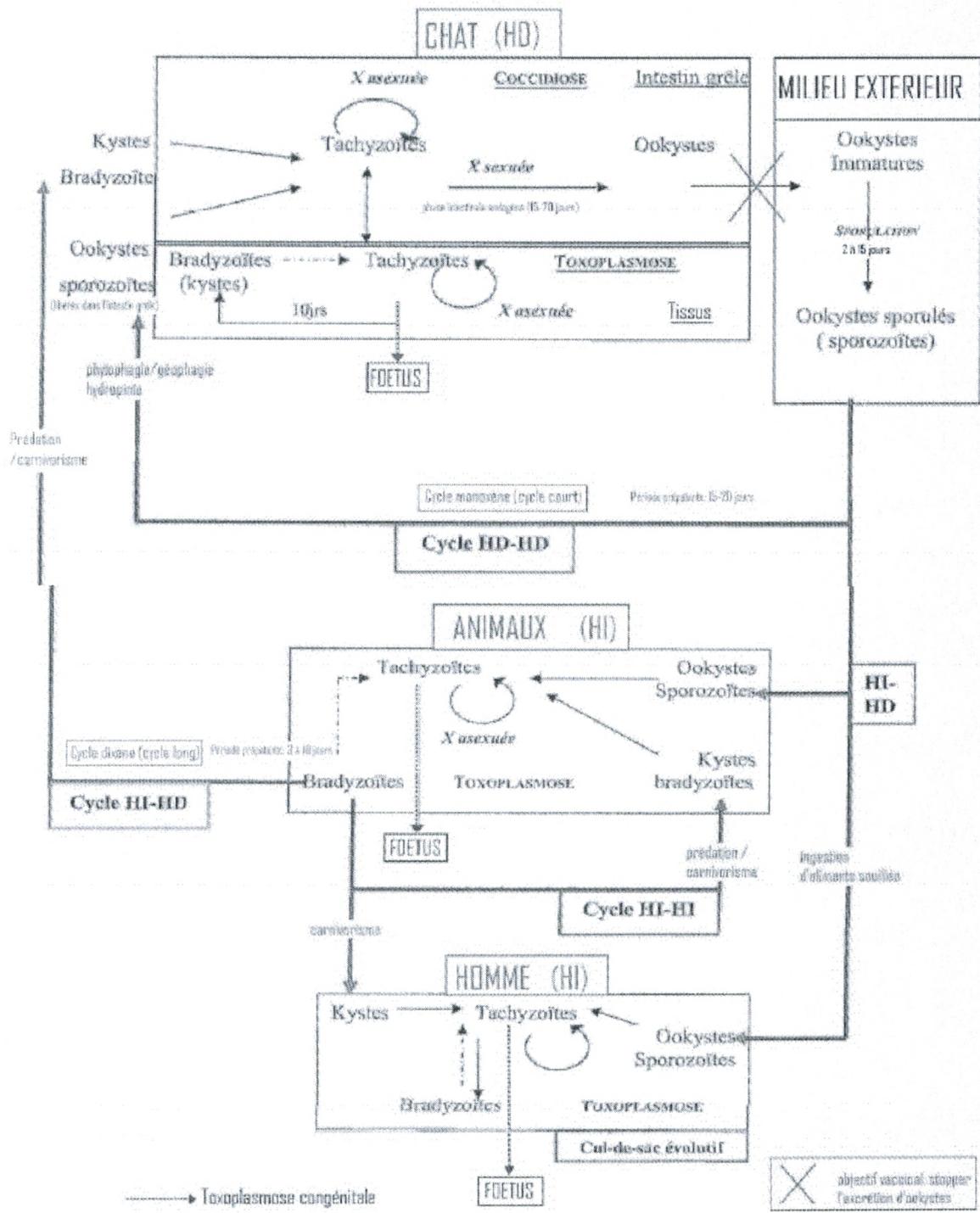
Il s'agit du cycle de base faisant intervenir un HD: le chat, et un HI quel qu'il soit. On peut parler de cycle **dixène** (ou « **cycle long** »).

Le chat s'infecte par ingestion de kystes formés chez un HI, ce qui implique donc le carnivorisisme. Le chat développe alors une coccidiose toxoplasmique (phase endogène) à l'issue de laquelle des ookystes immatures sont évacués dans les fèces. Il y a sporulation (phase **exogène**) si les conditions extérieures sont favorables (**48h à 5 jours** en moyenne). Les ookystes sporulés, très résistants dans le milieu extérieur sont alors infectants pour les hôtes intermédiaires. La période prépatente est ici de **3 à 10 jours**.

L'HI se contaminera ensuite par ingestion d'aliments souillés par des ookystes sporulés. Il développe une toxoplasmose au sens strict : les sporozoïtes libérés dans l'intestin grêle traversent la muqueuse intestinale et sont véhiculés par voie sanguine et lymphatique par les lymphocytes intraépithéliaux, puis ils envahissent les cellules des divers tissus. Il y a alors multiplication par **endodyogénie**.

L'infection devient chronique, il y a formation de **kystes**. L'HI porteur de kystes est à son tour source de parasite pour l'HD (le chat) ou pour un autre HI et le cycle se poursuit.

Dans les deux types de cycles précédemment décrits, le chat, HD, rejette des ookystes dans l'environnement, source de contamination de tout hôte intermédiaire potentiel, y compris l'homme=**phase libre**.



I-5.2.3. Cycle HI-HI :

La possibilité de transmission du parasite par **carnivorisme** entre hôtes intermédiaires par un processus de multiplication asexuée est une des particularités du toxoplasme au sein des coccidies.

Le cycle se déroule **sans intervention du chat et donc sans reproduction sexuée**. On parle d'une évolution de type **auto-hétéroxène** : si un HI ingère un autre HI porteur de kystes, les bradyzoïtes libérés gagnent une localisation exentérale, se multiplient dans l'organisme sous forme de tachyzoïtes qui forment des pseudokystes. Ces pseudokystes se transforment en kystes à bradyzoïtes, à nouveau infectants pour d'autres HI.

Les carnivores non félidés comme le chien ou l'homme constituent donc des **culs-de-sac épidémiologiques** car ils ne sont pas ingérés par d'autres carnivores.

1-5.3. Multiplication intravacuolaire de *Toxoplasma gondii* :

Le toxoplasme reste dans la vacuole parasitophore, mais l'exocytose du contenu des organites de son complexe apical dans cette vacuole permet une modification de la composition de la membrane vacuolaire qui n'est alors plus reconnue par les lysosomes cellulaires. Ce phénomène met en jeu, dans un premier temps les rhoptries. En effet, dans les premières étapes de l'invasion cellulaire, **Nichols et coll.** observent une modification du contenu résiduel de certaines rhoptries après sécrétion partielle. Les auteurs décrivent alors dans les organites, de petits amas de tubules d'un diamètre de **20 nm**. Ces tubules s'élargissent avec le temps pour atteindre un diamètre de **35-45 nm**. Après l'invasion cellulaire, ces tubules sont retrouvés dans la vacuole parasitophore, en continuité avec la membrane vacuolaire. Celle-ci est alors constituée, d'une part, de composants de la cellule hôte, d'autre part, de composants du parasite. Sa nature hybride la protège alors de l'action des lysosomes cellulaires.

Le parasite peut donc se multiplier à l'abri des défenses de l'hôte. Deux cellules filles se forment par **endodyogénie** à l'intérieur même de chaque parasite. Au cours des cycles de multiplication, le noyau demeure différencié et les chromosomes ne se condensent pas au stade de la métaphase. Après cette phase de multiplication active, les tachyzoïtes peuvent retrouver une motilité leur permettant de sortir dans un premier temps de la vacuole, puis de la cellule hôte et d'infester les cellules voisines. Si les conditions ne sont pas favorables à une réinfestation, les tachyzoïtes évoluent en bradyzoïtes, restent dans la vacuole parasitophore transformée en kyste, et entrent finalement dans une phase de latence.

Cette **interconversion** se manifeste lors de **stress environnemental**, comme, in-vitro, une **augmentation de la température ou du pH**, et in-vivo, une **augmentation de la concentration en monoxyde d'azote** produit lors d'une stimulation des macrophages. L'augmentation de la concentration en monoxyde d'azote entraîne en effet un ralentissement de la multiplication des tachyzoïtes, favorisant l'interconversion tachyzoïte-bradyzoïte. Le processus de conversion est réversible et est responsable de l'établissement de la phase chronique de la maladie.

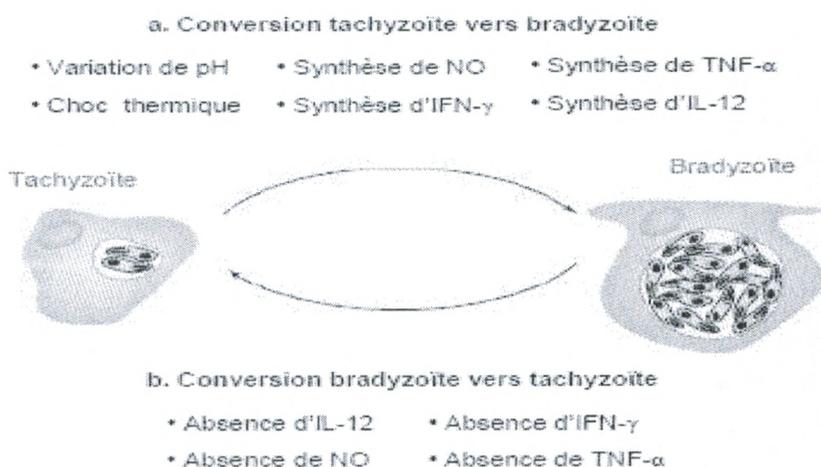


Figure 7. Facteurs associés à l'interconversion des formes tachyzoïte-bradyzoïte.
Adaptée de Lyons, 2002.

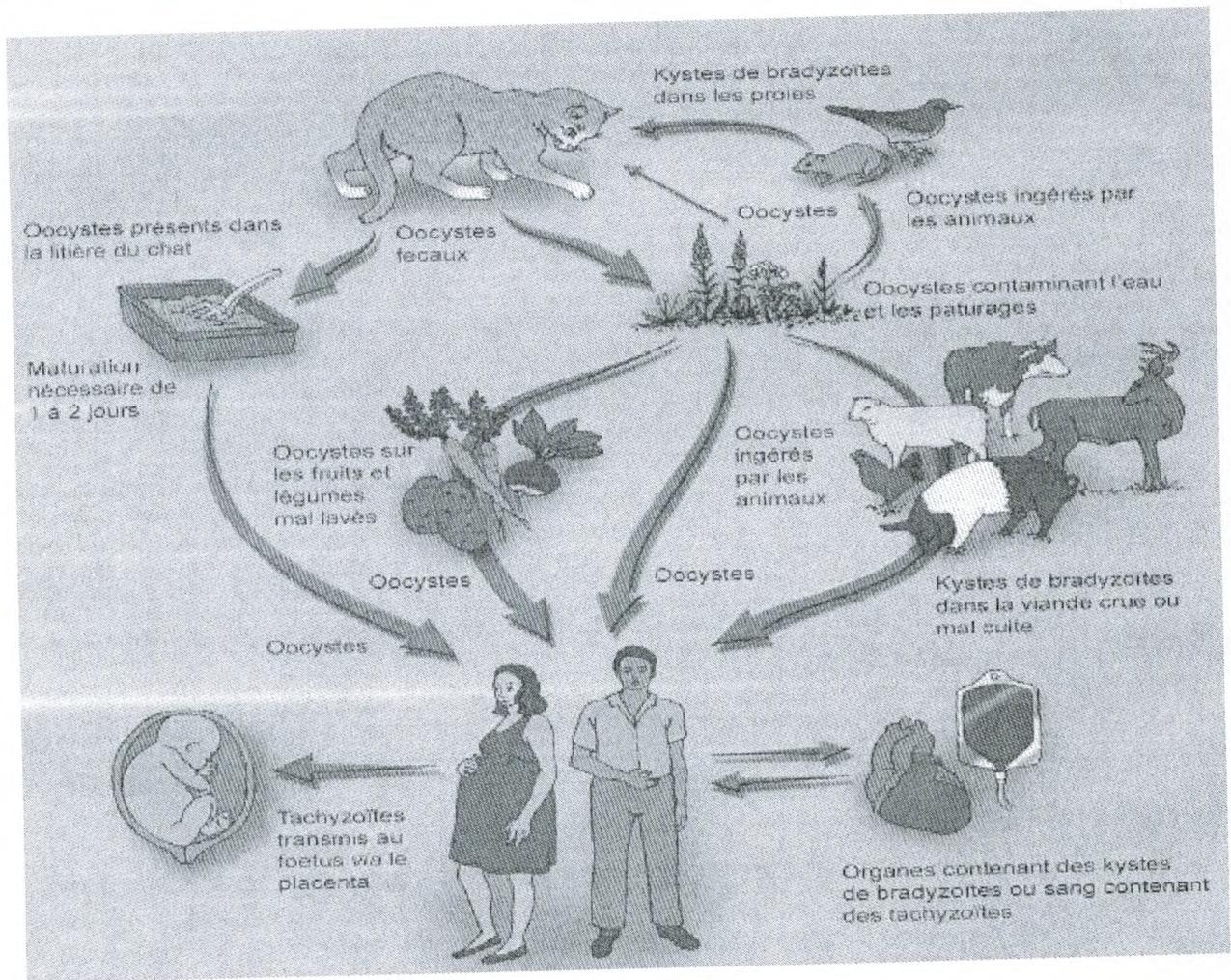


Fig. n°08 : Sources et mode d'infection humaine par *Toxoplasma gondii*

I-6. Importance :

I-6.1. Importance économique :

L'impact économique de la toxoplasmose est manifeste chez les ovins. Les pertes ne sont pas engendrées dans ce cas par la mortalité des adultes (pratiquement nulle), mais plutôt par la mortalité périnatale. En effet, la maladie est responsable de près de **30%** des avortements observés en élevage de moutons. Dans les élevages bovins, les pertes économiques engendrées par la toxoplasmose sont moindres. Il n'a en effet pas été décrit d'avortements toxoplasmiques, et la maladie n'est pas mortelle chez l'adulte ; de plus l'excrétion du parasite dans le lait est très exceptionnelle.

I-6.2. Importance en santé publique :

L'organisme pathogène s'avère être transmissible à l'homme. Mais la contamination par contact direct avec l'animal est rare : c'est la contamination par voie digestive qui reste prépondérante. Si l'ingestion d'aliments contaminés reste heureusement souvent sans conséquences majeures chez un homme en bonne santé, elle peut être dramatique pour un patient dont l'immunité est débilitee. Elle induit en effet parfois la manifestation clinique de la maladie, qui peut s'avérer mortelle.

Chez le fœtus et le nouveau-né, la toxoplasmose est plus préoccupante encore. Une primo-infection toxoplasmique passe souvent inaperçue chez la mère, mais le fœtus est contaminé lors de la **parasitémie maternelle**, et, si l'infection se généralise, l'avortement reste l'issue la plus commune.

La toxoplasmose congénitale est rarement mortelle, et seuls **10 à 15%** des individus infectés expriment des manifestations cliniques. Malheureusement, la gravité de certaines de ces manifestations cliniques (choriorétinite, hydrocéphalie, retard de développement mental...) handicape fortement les enfants contaminés lors de la grossesse.

I-7. Répartition géographique :

La maladie est **cosmopolite**. On la retrouve sur tous les continents.

I-7.1. Maladie animale :

La toxoplasmose a une distribution mondiale homogène. Selon **Bourdeau**, la toxoplasmose des carnivores aurait une prévalence plus élevée dans les zones rurales.

I-7.2. Maladie humaine :

La toxoplasmose est cosmopolite. On retrouve le parasite partout où ses hôtes définitifs (chats et félinés sauvages) sont présents. Cependant, la séroprévalence de la maladie tend à être plus élevée dans les régions à **climat chaud et humide**, que dans les régions montagneuses et les régions à climat hivernal rude. Il est intéressant ici de souligner que ce raisonnement peut être totalement transposé à la répartition de la séroprévalence d'une population spécifique, celle des femmes enceintes.

I-7.3. Incidence et prévalence des maladies :

I-7.3.1. Un portage élevé chez l'animal : Toxoplasmose animale :

La maladie est souvent cliniquement inapparente chez l'animal. Il est donc très difficile de se référer à des chiffres portants sur l'incidence de la maladie.

Le plus haut taux d'infection est observé chez les animaux domestiques. Dans certaines régions, de **25 à 45%** des chats sont séropositifs. Tous ces chats n'excrètent pas pour autant des ookystes dans leurs fèces. Selon des enquêtes menées sur le terrain, seuls **1%** des chats seraient concernés par ces excréments. La contamination humaine n'est donc pas importante par ce biais. La fréquence du parasitisme dans la viande destinée à la consommation humaine est bien plus inquiétante. Les viandes les plus souvent parasitées sont la viande de **mouton**, de **porc** et de **cheval**.

I-7.3.2. Une incidence faible chez l'homme : Toxoplasmose humaine :

Rappelons que la toxoplasmose clinique est très peu commune, mais que l'infection toxoplasmique est très fréquente. En effet, un **tiers** de la population mondiale possède des anticorps antitoxoplasmiques. La séroprévalence varie cependant selon le pays considéré. Ainsi, alors que dans les pays anglo-saxons, la séroprévalence est inférieure à **25%**, elle est comprise entre **20 et 40%** dans les pays méditerranéens et peut atteindre **70%** en France et en Allemagne. Aux Etats-Unis, la séroprévalence serait comprise entre **30 et 40%**.

Compte tenu de l'importance que peut avoir la maladie sur un fœtus, il est intéressant d'étudier la prévalence de l'immunité contre la toxoplasmose chez la femme enceinte, et la fréquence de séroconversions observées au cours de la grossesse. Notons que si le nombre de séroconversions diminue, le nombre de « **femmes à risque** », c'est à dire de femmes séronégatives avant leur grossesse augmente d'année en année.

I-8.- Espèces sensibles :

La toxoplasmose, elle, peut toucher presque toutes les espèces **homéothermes**. Un grand nombre de mammifères et d'oiseaux sont des hôtes intermédiaires potentiels. Les mammifères domestiques les plus souvent frappés par le parasite restent les **moutons**, les **chèvres**, les **porcs**, les **chevaux**, et plus rarement les **bovins**. De nombreux **gibiers** et **micromammifères** sont régulièrement porteurs de la toxoplasmose. Certains **amphibiens** et même certains **poissons** peuvent être hôtes intermédiaires du toxoplasme, si tant est que leur température corporelle est maintenue à 37°C.

Les **chats et les félidés sauvages** (ocelot, lynx, jaguar, tigre...) sont les seules espèces capables de jouer le rôle **d'hôte définitif**.

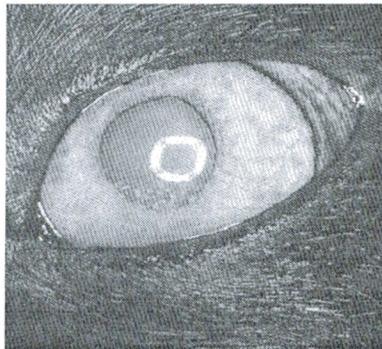


Photo 09: Lésions oculaires chez un chat atteint de toxoplasmose (source : S. Chahory)
On observe une uvéite antérieure avec altération de la transparence cornéenne (néovascularisation et précipités kératiques= dépôts endothéliaux).

II-EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE:

II-1-Des sources de contamination pour un danger omniprésent :

Les sources de contamination les plus importantes sont représentées par les animaux malades ou porteurs sains, et par l'environnement.

*** Partout où il y a chat, il y a toxoplasmose**

Des recherches entreprises sur des îles et des atolls ont permis de mettre en évidence une relation entre la présence de chats et l'infection toxoplasmique de l'homme et de divers animaux. Sur un atoll du Pacifique où aucune population féline n'est recensée, on remarque que l'infection toxoplasmique est pratiquement absente, alors qu'elle est observée de façon notable sur deux atolls voisins où vivent des chats.

Le chat représente donc une source de contamination non négligeable pour l'homme et pour l'animal, puisqu'il rejette dans ces fèces des ookystes, qui une fois sporulés dans le milieu extérieur, peuvent contaminer de nombreuses denrées alimentaires (eau, végétaux...) et deviennent donc infectants pour les hôtes intermédiaires.

***concernant le chien**

Une étude prospective effectuée à Panama montre que **12.6%** des enfants observés présentaient une séroconversion et que parmi ces enfants, la plupart sont beaucoup plus souvent en contact avec des chiens qu'avec des chats.

Notons que *T. gondii* ne présente pas de développement de type coccidien dans le tube digestif du chien ; ce dernier n'excrète donc pas d'ookystes.

Le chien, de par son comportement coprophage est un vecteur passif de *T. gondii*. En effet, l'étude de **Lindsay et coll** montre que des ookystes sporulés ingérés par un chien peuvent transiter le long du tube digestif et être retrouvé, toujours infectant potentiels, dans les matières fécales de ce chien. Un autre comportement du chien tend à augmenter les risques de transmission de la toxoplasmose. En effet, les chiens aiment à se rouler dans des substances étrangères ; or si un chien se roule dans des fèces de chat contenant des ookystes, il les portera sur son poil et les disséminera par simple contact. Il n'y aura aucun risque de transmission de la maladie si les ookystes portés sur la fourrure du chien ne sont pas préalablement sporulés ; en effet, les conditions de température et d'humidité offertes par la fourrure ne sont pas favorables à la sporulation. Par contre le risque reste réel quand les ookystes sont préalablement sporulés.

***viande d'animaux :**

La viande contenant des kystes à bradyzoïtes est une autre source de contamination. Elle serait même la source la plus importante de contamination des femmes au cours de la grossesse. Les viandes les plus concernées sont :

Source de viande	Fréquence de parasitisme en Europe
Mouton	50%
Porc	38
Cheval	35
Bœuf	inférieure à 30%

***milieu extérieur**

Le milieu extérieur constitue également une source d'ookystes, compte tenu de leur longue résistance. Les ookystes peuvent par ailleurs être disséminés par le vent et par divers invertébrés (mouches, blattes, coléoptères coprophages, vers de terre...). La transmission de *T. gondii* par la mouche domestique a d'ailleurs fait l'objet d'études expérimentales par **Wallace**.

II-2-Mode et voies de contamination :

II-2-1- Contamination par voie orale :

Que ce soit pour l'homme ou pour l'animal, le mode de contamination le plus fréquent est essentiellement d'origine alimentaire.

II-2-1-1-Chez l'animal :

Les herbivores contractent généralement la maladie en ingérant des végétaux ou de l'eau contaminés par des matières fécales de chats ou de félidés sauvages contenant des ookystes. Seule condition à la contamination, **la sporulation des ookystes**, qui a lieu dans le milieu extérieur en **2 à 5 jours**, lorsque les conditions d'hygrométrie et de températures sont favorables.

Les carnivores se contaminent en ingérant de la viande contenant des kystes à bradyzoïtes.

II-2-1-2- Chez l'homme:

La voie orale reste également la principale voie de contamination de l'homme. Celui-ci peut être contaminé par ingestion de :

- **tachyzoïtes**, l'ingestion de tachyzoïtes est rare. Elle n'est possible que chez le nouveau-né, lorsque sa mère est elle-même nouvellement infectée. Celle-ci peut en effet éliminer ces formes parasitaires dans le lait et contaminer ainsi son enfant lors de la tétée.

- **Bradyzoïtes**, l'homme ingère des bradyzoïtes lorsqu'il consomme de la viande contenant des kystes, et que celle-ci est crue ou insuffisamment cuite. Les viandes les plus souvent incriminées sont le mouton, le porc, dans certains pays la chèvre, et plus rarement le cheval ou le bœuf.

- **d'ookystes sporulés**, La toxoplasmose peut enfin être contractée lors d'ingestion d'aliments souillés par des matières fécales de félidés, contenant des ookystes sporulés. Notons enfin, qu'un manque d'hygiène après manipulation d'une litière de chat peut aussi favoriser l'ingestion d'ookystes sporulés.

II-2-2-Contamination par voie sanguine et placentaire :

Les voies sanguines et placentaires sont les voies de prédilection pour la contamination des fœtus par leur mère. L'infection fœtale fait suite à une légère parasitémie chez la mère atteinte de toxoplasmose aiguë.

Il est par ailleurs possible de contracter une toxoplasmose suite à une transfusion sanguine ou à une transplantation d'organes, ce mode d'infection, bien que moins fréquent, est souvent jugé comme particulièrement important. En effet, pour éviter le rejet des greffes, les personnes intéressées sont souvent soumises à des traitements immunosuppresseurs, et peuvent donc en conséquence facilement être victimes d'une manifestation clinique sévère de la maladie nouvellement contractée.

Enfin, il a été établi que des piqûres d'arthropodes hématophages, ou bien d'aiguilles ayant été en contact avec du sang contaminé par des tachyzoïtes, peuvent également être des vecteurs de contamination.

II-2-3- Contamination directe animal/homme :

A ce titre, il faut souligner que cette maladie est rarement une zoonose « vraie ». On la qualifie plutôt de **saprogénose**, puisque la contamination est provoquée essentiellement par des aliments.

La contamination de l'homme par contact direct avec un animal infecté demeure exceptionnelle. Chez le chien infecté, la salive contient des tachyzoïtes en quantité non négligeable. Il a été rapporté par **Bourdeau** une possibilité de contamination par morsure chez la souris. Des observations similaires ont été faites chez l'homme.

II-3-La résistance des germes, le danger renforcé :

II-3-1- Résistance aux conditions environnantes :

Les tachyzoïtes et les pseudokystes de *T. gondii* se révèlent être des formes « relativement » fragiles.

Alors que les ookystes et les kystes sont intrinsèquement des formes particulièrement résistantes du parasite.

- Les ookystes se montrent en effet très résistants dans le milieu extérieur, surtout après sporulation. Ils peuvent conserver leur pouvoir infestant **1 an à 1 an et demi à 20 °C**, à l'abri de la lumière (conditions réunies lors de l'enfouissement des fèces de chat par exemple). Ils sont peu sensibles aux agents chimiques puisque leur sporulation est possible dans un milieu contenant de l'acide chlorhydrique à 1%, de l'acide sulfurique à 5%, de l'alcool à 20%, ou du bicarbonate de potassium à 2,5%. Les ookystes supportent tout de même moins bien la dessiccation (ils sont détruits en 3 jours à 37% d'humidité ou en 7 jours à 58% d'humidité) et les trop fortes températures (ils sont détruits en 30 minutes à 55°C, et ne supportent pas la congélation). L'ammoniaque ou le formol à 0,3% les détruisent également. Par contre, les ookystes résistent aux actions enzymatiques telles celle de la pepsine, de la papaïne, ou encore de la trypsine...

- Les kystes eux, peuvent survivre **deux mois à 4°C** après la mort de l'hôte. Ils résistent à une digestion pepsique d'au moins trois heures, mais sont par contre sensibles à la congélation et à la cuisson (ils sont détruits en 30 minutes à 55°C, en 10 à 15 minutes à 56°C et en 10 minutes à 60°C).

- Les tachyzoïtes et les pseudokystes demeurent donc les formes les moins résistantes. En effet, ils sont sensibles en quelques minutes aux désinfectants (alcool à 70%, phénol à 5%, formol), sont détruits par la chaleur (5 minutes à 55°C) et ne résistent pas à l'action du suc gastrique.

II-3-2- Résistance par détournement des stratégies de défense de l'hôte :

Le pathogène a la capacité d'envahir les cellules eucaryotes ; on note **deux** mécanismes simples qui interviennent dans ce processus et permettent de franchir les premières barrières de l'hôte : la reconnaissance d'un récepteur se trouvant en surface d'une part, et la modification de

l'organisation du cytosquelette cellulaire d'autre part. De plus, le parasite a développé des mécanismes efficaces de résistance au système immunitaire de l'hôte.

T. gondii élabore des stratégies très différentes, mettant en jeu ses spécificités d'ultra-structure. Effectivement, lors de sa pénétration dans la cellule hôte, il excrète précocement le contenu de ses rhoptries, de ses granules denses et de ses micronèmes dans la vacuole qui l'entoure. Ceci aurait pour conséquence une modification de la composition de la membrane vacuolaire, qui empêcherait la fusion des lysosomes cellulaires à la vacuole, et donc l'acidification du contenu vacuolaire et la destruction du parasite.

De plus, selon **Nicolas et Pestre-Alexandre**, la membrane des kystes est imperméable non seulement aux anticorps, mais aussi aux médicaments (actifs seulement sur les tachyzoïtes). Le parasite est donc bien armé face aux défenses naturelles ou induites de l'hôte ; plus encore, la souplesse de son cycle de développement lui permet même d'échapper à la réponse immunitaire de son hôte, et ce, en passant du stade tachyzoïte au stade bradyzoïte. En effet, la moindre activation au sein de la cellule hôte des macrophages par l'INF- γ va induire une augmentation du taux de monoxyde d'azote (NO), qui lui-même peut être à l'origine d'une réduction de la réplication du parasite. Toutes ces manifestations aboutiront ensuite à la transformation des tachyzoïtes en bradyzoïtes, moins sensibles aux agressions du système immunitaire du sujet infecté.

II-4- Les facteurs de risque :

Certains facteurs augmentent de façon significative les risques de contraction de maladie.

II-4-1- Les facteurs de risque de la toxoplasmose animale :

Pour tous les hôtes intermédiaires, la présence d'hôtes définitifs (chats ou félinés sauvages) est un facteur de risque. Comme nous l'avons signalé auparavant, des recherches entreprises sur des îles et des atolls ont permis de mettre en évidence une corrélation entre la présence de chats et l'infection toxoplasmique de l'homme et de divers animaux. Ce ne serait pas le contact direct avec le chat qui serait dangereux, mais bien le contact avec ses matières fécales.

Notons également que la séro-prévalence de la toxoplasmose du chat lui-même varie en fonction du style de vie des individus. Il apparaît que le principal facteur de risque pour les félinés soit le comportement chasseur. En effet, celui-ci implique une ingestion des proies crues, et un risque d'ingérer des kystes potentiellement infectants.

Enfin, une étude effectuée à la Réunion par **Roger et coll.** montre que l'infection toxoplasmique est plus fréquente dans les zones bénéficiant d'un climat favorable à la sporulation des ookystes. La présence d'insectes coprophiles qui disséminent les ookystes est également un facteur de risque non négligeable en élevage.

II-4-2- Les facteurs de risque de la toxoplasmose humaine :

Selon une enquête effectuée en France sur une population de femmes enceintes sérologiquement négatives au début de leur grossesse, les principaux facteurs de risque sont :

- une consommation de viande de bœuf ou de mouton mal cuite.
- une hygiène incorrecte pour le lavage des mains et des instruments de cuisine.

- une consommation de crudités en dehors du foyer (dont la préparation a été faite par un tiers).

La présence de chats, de chiens (vecteur d'ookystes par leur pelage) et d'insectes coprophiles n'apparaît pas comme un facteur de risque puisque une hygiène irréprochable (lavage des mains régulier, après avoir caressé un animal ou changé sa litière, ou avant de manipuler de la nourriture) permet de réduire ce risque à zéro. Le facteur de risque est alors proportionnel aux bonnes pratiques d'hygiène. Pour exemple, le simple fait de manipuler des crudités après avoir manipulé de la viande crue ou insuffisamment cuite, sans se laver les mains entre temps et/ou sans changer d'instrument de découpe, peut-être indirectement considéré comme un facteur de risque non négligeable.

II-5-Réceptivité de l'hôte :

➤ Age :

Il existe peu de données sur le rôle de l'âge dans l'infection à *Toxoplasma gondii*.

Cependant, chez les chats, l'infection d'un jeune animal conduit plus fréquemment à une toxoplasmose aigue alors que chez un adulte sain elle reste asymptomatique.

➤ Espèce :

Toutes les espèces ne sont pas également sensibles à l'agent pathogène. Si tous les ruminants sont sensibles à la toxoplasmose, c'est chez le mouton que se manifeste le plus durement la maladie.

Chez les carnivores, les chats sont particulièrement réceptifs à *T.gondii*, mais y sont très peu sensibles, contrairement aux chiens qui, quand ils sont infestés, expriment fortement les signes cliniques de la pathologie.

➤ Immunodépression :

Au sein d'une même espèce, la réceptivité n'est pas la même chez tous les individus. En effet, si la majorité des infections toxoplasmiques passe inaperçue chez la plupart des individus dont le système immunitaire est pleinement actif, il n'en est pas de même chez les individus immunodéprimés. Tout état immunodéficient entraîne des manifestations cliniques graves voire mortelles de la toxoplasmose. Les personnes concernées sont les personnes atteintes du **SIDA**, les personnes **greffées** suivant une thérapie immunosuppressive, les personnes **âgées**, les **nouveaux-nés**... La maladie est donc particulièrement grave chez la femme enceinte, non pas pour la femme elle-même, mais pour son enfant, une infection au cours de la grossesse entraîne des manifestations cliniques graves chez le nouveau-né.

Ainsi, *Toxoplasma gondii* est adopté des stratégies biologiques particulières lui permettant d'infester, de survivre et de se multiplier dans des êtres vivants variés. Il provoque des maladies relativement fréquentes, dont les pandémies sont d'ordre mondial, et qui touchent de très nombreuses espèces. Cette maladie, le plus souvent d'origine alimentaire, a des conséquences particulièrement graves lorsqu'elle est contractée au cours de la grossesse.

III-Clinique :

III.1. Toxoplasmose acquise :

Elle est le plus souvent inapparente. Lorsque des symptômes cliniques sont présents, il s'agit de la **triade symptomatique** : fièvre, adénopathies (principalement cervicales) et asthénie.

Les formes cliniques graves sont extrêmement rares.

III.2. Toxoplasmose congénitale :

- **Forme majeure** : *encéphalo-méningo-myélite toxoplasmique*.

Elle est devenue très rare depuis la mise en place du dépistage au cours de la grossesse dans les années **70**. Elle associe une modification de la taille de crâne, des signes neurologiques, des calcifications intra-crâniennes et des signes oculaires (choriorétinite ++). L'évolution est sévère.

- **Formes viscérales** : ictère néo-natal, hépato-spléno-mégalie, anasarque.
- **Formes dégradées ou retardées** : les signes en sont un retard psycho-moteur, une macrocéphalie, des crises convulsives, une chorioretinite.

- **Formes inapparentes ou infra-cliniques** : ce sont actuellement les plus fréquentes (**80%** des cas). Elles sont aussi appelées « **formes sérologiques** » car seule la sérologie de l'enfant prouve qu'il est infecté.

Le risque clinique principal est l'apparition de chorioretinites dans l'enfance, l'adolescence ou à l'âge adulte.

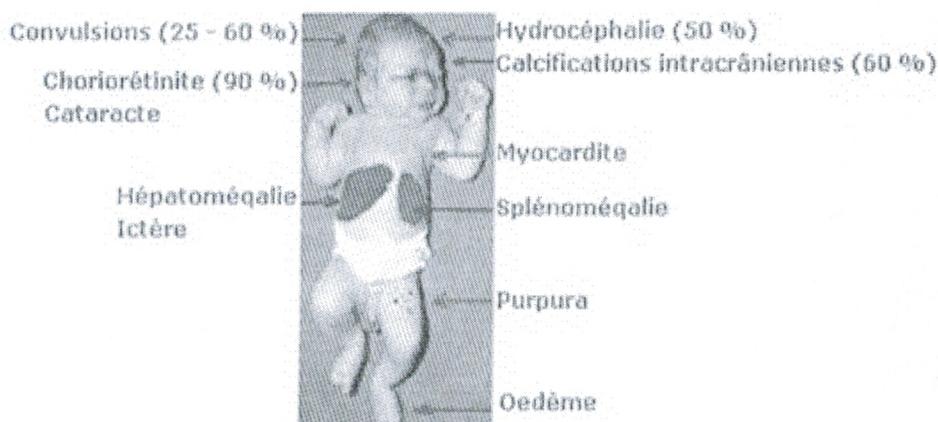


Figure10 : toxoplasmose congénital (Tétrade de Sabin)

III.3. Toxoplasmose de l'immunodéprimé :

Il s'agit le plus souvent d'une toxoplasmose ancienne qu'infection aiguë ; caractérisée par une Atteinte du SNC (**50%**), Abscès intracérébraux et le plus souvent une encéphalite (fièvre, céphalées, troubles de la conscience, signes de focalisation). La dissémination de *T. gondii*

(parasitémie) peut conduire à des localisations viscérales diverses (Myocardite, pneumopathie, chorioretinite, uvéite...).

III.4. Toxoplasmose oculaire :

Elle réalise le plus souvent une uvéite postérieure (choriorétinite), qui est la conséquence la plus fréquente de la toxoplasmose congénitale. Elle peut aussi survenir en cas de toxoplasmose chez les patients atteints de SIDA.



**Illustration 11: Rétinochoroïdite consécutive à une toxoplasmose congénitale
(Collection F. Peyron, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Lyon)**

Partie Pratique

Diagnostic biologique :

Suivant le contexte clinique, le diagnostic biologique de la toxoplasmose repose sur l'isolement du parasite ou de l'ADN parasitaire et/ou sur la mise en évidence des anticorps spécifiques. Les techniques basées sur l'immunité cellulaire n'ont pas d'application diagnostique courante. Nous exposerons successivement les principales techniques utilisées puis leurs applications dans différentes situations de diagnostic chez l'homme.

I. Examens d'orientation :

Ce sont les examens les plus faciles d'accès en routine, donc pratiqués en premier face à une symptomatologie variée et non spécifique comme celle de la toxoplasmose.

Analyse biochimique, hématologique et urinaire, Ces examens peuvent permettre d'orienter le diagnostic lors de toxoplasmose clinique mais *sont inutiles dans le cadre du dépistage des animaux asymptomatiques*. Les modifications observées sont très variables d'un individu à un autre et surtout peu spécifiques. Elles sont pour la plupart liées à une localisation viscérale du parasite (sous forme de pseudokystes en phase aiguë ou de kystes en phase chronique) : lésions hépatiques (hypertrophie, foyers de nécrose, cholangiohépatite) et parfois rénales (foyers de nécrose et d'hémorragies du parenchyme).

I.1.Hématologie : on observe une anémie normocytaire normochrome modérée et une leucopénie (chez environ 50% des animaux en phase aiguë). Dans les formes chroniques, on note surtout une leucocytose.

I.2.Biochimie : augmentation fréquente des enzymes hépatiques (**ALT** : alanine aminotransférase et **AST** : aspartate aminotransférase), bilirubine augmentée lors d'ictère, hypoalbuminémie (diminution de 40%), hypocalcémie modérée.

I.3.Analyse urinaire : protéinurie modérée chez un faible nombre d'individus, bilirubinurie lors d'ictère.

II. Examen d'imagerie :

Elle a surtout sa place dans la toxoplasmose congénitale et chez l'immunodéprimé.

⚡ En cas d'infection **congénitale**, l'échographie obstétricale permet de diagnostiquer les éventuelles lésions fœtales in utero, argument majeur dans la conduite à tenir en ce qui concerne la grossesse. Après la naissance, les techniques d'imagerie sont utiles pour évaluer les lésions neurologiques et la présence de calcifications cérébrales.

⚡ Chez les patients **immunodéprimés**, l'imagerie est, avec la clinique et l'évolution sous traitement, l'élément clé pour le diagnostic de la toxoplasmose cérébrale.

II.1. Radio de crâne :

Les médecins radiologues pensent que cet examen est moins pertinent que l'ETF (échographie transfontanellaire).

II.2. Echographie transfontanellaire

II.3. La radiographie thoracique :

Peut être intéressante surtout lors de forme pulmonaire : on observe une densification pulmonaire généralisée (souvent bilatérale et symétrique) de type interstitiel, alvéolaire et péribronchique. Le parenchyme pulmonaire a un aspect granulomateux, avec par endroit des images en « **flocons** ».

On peut aussi visualiser un épanchement pleural ou/et abdominal ainsi qu'une hépatomégalie.

II.4. Fond d'œil :

Permet a révélé une lésion de chorioretinite, lésion typique d'une toxoplasmose congénitale.

II.5. L'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) :

Pas d'IRM avant **28 semaines** soit pas avant le début de l'apparition de la scissure de **Rolando** ou mieux **32 semaines**. Confirme l'atteinte multifocale et recherche d'anomalie de la gyration type polymicrogyrie en plus ; peut être une aide au diagnostic surtout en cas de doute sur l'interprétation des images échographiques.

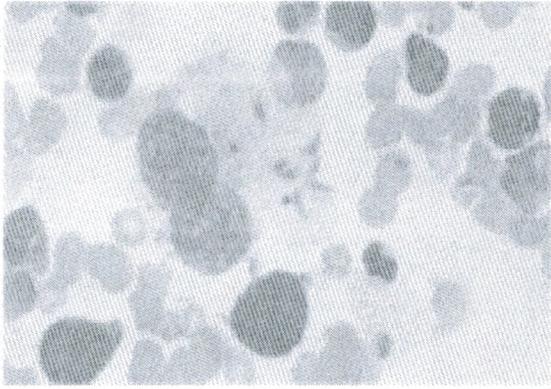
III. Diagnostic parasitologique :

III.1. Examen direct :

La recherche de tachyzoïtes ou de kystes sur frottis ou apposition est possible après coloration au May Grunwald Giemsa (MGG), immunofluorescence ou immunocytochimie, mais la détection des parasites s'ils sont peu nombreux est difficile.

Une étude histologique peut être réalisée sur des prélèvements de tissus pour mettre en évidence des tachyzoïtes ou des kystes. La qualité des anticorps a récemment été améliorée afin d'éviter les réactions croisées avec d'autres protozoaires comme *Neospora caninum*.

Sur ces coupes histologiques, on observe les caractères d'une nécrose de liquéfaction massive, le tissu nécrosé étant enveloppé par des macrophages et quelques polynucléaires et lymphocytes. De nombreux tachyzoïtes sont visibles à la limite des lésions.



Toxoplasme intracellulaire , moelle osseuse.
Coloration au Giemsa (x1000).
Coll. Pr. M. Huerre, Institut Pasteur, Paris.



kyste dans une fibre musculaire. Examen direct (MO x400)
Source : M-L. Dardé [1]

III.2. Inoculation à la souris :

Cette technique demeure aujourd'hui encore une technique de référence pour isoler les toxoplasmes viables. Des prélèvements pathologiques sont inoculés par voie intra péritonéale à des souris, la manifestation de cette infection est dépendante de la virulence de la souche (**Type I, II ou III**). Leur infection, témoin de la présence de toxoplasmes dans le produit inoculé, ne peut le plus souvent être détectée qu'après **3 à 4 semaines** par la mise en évidence d'une synthèse d'anticorps et confirmée par la présence de kystes dans leur cerveau. L'inoculation à la souris fournit donc des résultats tardifs, mais elle conserve des avantages majeurs : *une bonne sensibilité, *une spécificité de 100%, *une confirmation objective des résultats de la biologie moléculaire, voire une complémentarité des résultats de la PCR (notamment lorsque celle-ci détecte des inhibiteurs de la réaction).

En outre,*elle permet l'isolement des souches pour une caractérisation ultérieure.

III.3. Culture cellulaire :

La culture est habituellement effectuée sur des cellules fibroblastiques (**type MRC5**), mais d'autres types cellulaires peuvent être employés (**HeLa, THP1, TG180**, etc.).

La recherche du toxoplasme en culture cellulaire est une technique relativement rapide (**3 à 5 jours** au minimum) mais 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.



*Culture cellulaire sur fibroblastes (MRC5).
Mise en évidence des tachyzoïtes intracellulaires
par immunoperoxydase et contre coloration au
Giemsa (x 400)
Doct. F. Derouin*

III.4. Biologie moléculaire :

Des progrès considérables en matière de diagnostic de la toxoplasmose ont été faits avec la PCR et son application dans divers prélèvements (sang, liquide amniotique, LCR, LBA, humeur aqueuse, etc.). A l'heure actuelle, il n'existe aucune trousse commercialisée et cette technique comporte un certain nombre de difficultés technique et de limites, encore mal définies.

Chaque laboratoire applique sa propre technique :

- amplification du **gène B1** (gène répété 35 fois dans le génome du toxoplasme permettant d'augmenter la sensibilité de la détection).
- amplification du **gène SAG1** (codant pour l'antigène majeur du toxoplasme), très spécifique mais dont la présence dans le génome sous forme d'une copie unique est à l'origine d'une moindre sensibilité; d'autres gènes à copies multiples sont utilisés comme l'**ADN ribosomal 18S** et la séquence **AF146527**.

Actuellement, la PCR en temps réel se développe dans les laboratoires et permet la quantification de l'ADN présent dans les échantillons par comparaison avec une gamme étalon.

Les applications de la PCR pour le diagnostic d'une infection toxoplasmique concernent principalement 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, sauf dans de rares exceptions.

Types de prélèvements et méthodes utilisées

PRELEVEMENTS	
Toxoplasmose congénitale : liquide amniotique, sang fœtal, placenta, sang de cordon Toxoplasmose de l'immunodéprimé : sang, LCR, LBA, biopsies	
METHODE	FORME PARASITAIRE IDENTIFIEE
RECHERCHE DIRECTE - sur frottis : May-Grunwald-Giemsa ou immunofluorescence indirecte - sur coupe histologique : Giemsa ou hématoxyline ; immunofluorescence ; immunoperoxydase	Trophozoïtes intra- ou extracellulaires (4-7 microns, forme en croissant) Kystes (20 à 100 microns) et trophozoïtes
CULTURE CELLULAIRE - examen direct des cultures : effet cytopathogène tardif J+8 à J+30 après l'inoculation - mise en évidence rapide des toxoplasmes (J+4) : immunofluorescence indirecte	Pseudo-kystes arrondis (50-200 microns) granuleux, réfringents) trophozoïtes intra- ou extracellulaires
INOCULATION A LA SOURIS - sérologie 30 jours après l'inoculation - examen des cerveaux de souris à J+45	Kystes intracérébraux
BIOLOGIE MOLECULAIRE - PCR	ADN parasitaire

IV- Diagnostic sérologique :

Les techniques sérologiques, appliquées à la recherche d'anticorps spécifiques dans le sérum, le LCR ou l'humeur aqueuse sont nombreuses et chacune présente ses avantages et ses inconvénients. Leurs conditions d'utilisation pour le diagnostic, le dépistage sérologique ou le suivi anténatal font l'objet de dispositions légales, portant sur la tarification des examens (nomenclature des actes de biologie médicale) et sur leurs associations, notamment pour la femme enceinte.

Remarque :

-PRELEVEMENT SANGUIN :

Le prélèvement sanguin se fait chez les malades de préférence à jeun, au niveau de la veine superficielle du pli du coude.

Le sang est ensuite recueilli dans des tubes secs.

- ANALYSE SEROLOGIQUE :

La quantité du sang prélevée est centrifugée à 5000 tours/ min pendant 5 min, et le dosage sérologique se fait sur le sérum.

-On parle d'abord de l'évolution des anticorps puis les techniques sérologiques utilisées pour détecter et quantifier les anticorps toxoplasmiques.

IV -1-Évolution des anticorps :

a- Les IgM :

Ce sont les premiers anticorps synthétisés au cours de la primo-infection toxoplasmique. Ces immunoglobulines sont produites dès la première semaine, **8 à 10 jours** après la contamination. Elles vont augmenter pendant le **mois** suivant, puis diminuer plus lentement, mais vont tout de même persister pendant une période variable selon les individus.

Les IgM vont être largement détectées au delà du stade aigu de l'infection, très souvent encore un **an** après la contamination.

b- Les IgG :

Ce sont tout d'abord des IgG dirigées contre la membrane parasitaire qui sont synthétisées, elles sont détectées environ une **semaine** après les IgM.

Elles vont augmenter pour atteindre un taux maximal en **deux mois**. La persistance de taux élevés peut durer **quelques mois** puis ces taux vont ensuite diminuer après le **6^{ème} mois**.

Les IgG dirigées contre les antigènes solubles du parasite ne sont détectées que secondairement, jusqu'à **deux mois** après la contamination, et elles n'atteignent leur maximum que plus tardivement, d'où une cinétique des IgG en plateau pendant plusieurs mois suite à l'infection parasitaire, suivie d'une diminution et d'une persistance de ce taux faible.

Quel que soit le taux d'IgG détecté, on considère l'immunité contre la toxoplasmose acquise quand ce taux est associé à une absence d'IgM.

c- Les IgA :

Leur cinétique est proches de celle des IgG dans le premier mois, elles atteignent des titres maximaux entre **deux et trois mois** post-contamination et vont diminuer puis disparaître plus rapidement que les IgM. Leur recherche n'est pas systématique en matière de diagnostic, du fait de leur présence inconstante, mais peut être intéressante pour différencier une infection aiguë d'une infection chronique.

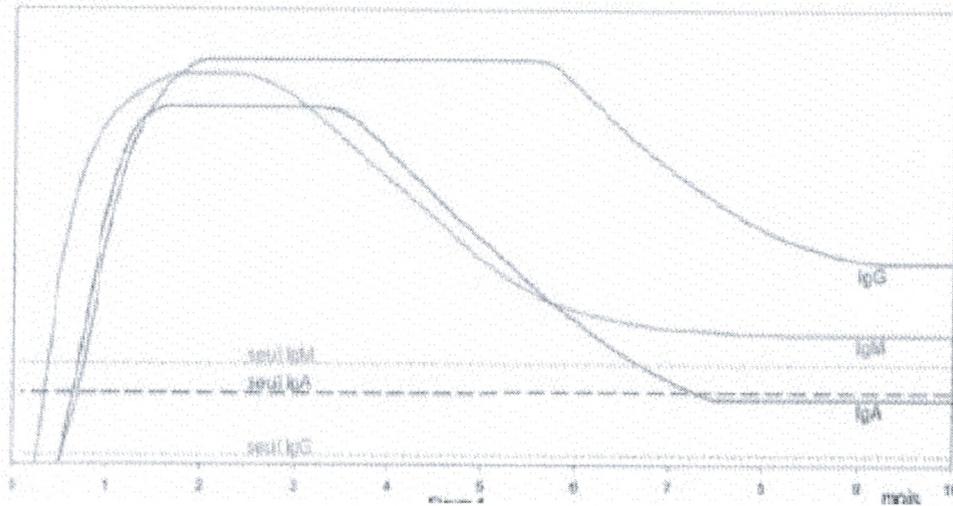


Figure04 : Schéma théorique de la cinétique des anticorps IgG, IgM et IgA au cours d'une toxoplasmose évolutive.

La maîtrise de cette cinétique est indispensable pour fournir une interprétation correcte des résultats d'examens sérologiques.

En effet, nous allons voir que les techniques sérologiques sont nombreuses et performantes pour détecter et quantifier les anticorps toxoplasmiques. Mais un résultat positif unique est inutilisable, seule la confrontation de sérologies successives afin de déterminer l'évolution des taux d'anticorps ainsi que la pratique de tests complémentaires permettront de dater plus précisément l'infection pour une conduite à tenir plus adaptée.

IV.2. Techniques quantitatives de « première intention » :

La plupart des laboratoires utilisent maintenant en routine des trousse commercialisées pour des réactions immunoenzymatiques (ELISA) ou d'immunochemiluminescence.

Ces trousse sont standardisées et offrent des réactifs de qualité pour la quantification des anticorps **IgG, IgM** ou **IgA**. Mais d'autres techniques restent indispensables pour répondre à certaines difficultés de l'interprétation sérologique toxoplasmique :

- contrôle de sérologies à des taux faibles.
- datation de l'infection,
- problème des IgM naturelles et des IgM persistantes,
- diagnostic de la toxoplasmose congénitale chez l'enfant.

L'association de plusieurs techniques est souvent nécessaire dans ces cas difficiles.

❖ **Pour la détection des IgG**, l'immunofluorescence indirecte et le test de lyse ou dye-test présentent l'avantage d'une grande spécificité et d'une détection des IgG plus précoce qu'en ELISA

après une séroconversion ; l'agglutination directe de haute sensibilité (ADHS) est particulièrement intéressante pour les sérums avec des taux faibles d'anticorps IgG.

❖ **Pour les IgM**, certaines techniques, telle que l'immunofluorescence indirecte, ne les détectent généralement que pendant les 2 à 3 premiers mois après l'infection alors que les techniques d'immunocapture, particulièrement l'Immuno-Sorbent Agglutination Assay (ou ISAGA), peuvent retrouver des IgM en moyenne 1 an après l'infection.

Aucune technique de détection des IgM n'échappe à la possibilité de faux positifs par mise en évidence d'anticorps de la classe des IgM dirigés contre des épitopes communs au toxoplasme et à d'autres substances encore non identifiées.

❖ **La détection des IgA et des IgE** repose aussi sur des méthodes d'immunocapture; leur cinétique est différente de celle des IgM avec généralement une apparition plus précoce (cas des IgE) et une durée de détection plus courte de l'ordre de quatre à six mois environ par immunocapture. Cependant, il existe de nombreuses variations individuelles pour ces isotypes.

***Les techniques sérologiques font appel à des antigènes entiers, vivants ou fixés, appelés **antigènes figurés**, ou à des extraits antigéniques plus ou moins purifiés, appelés **antigènes solubles**.

IV.2.1. Techniques utilisant des antigènes figurés:

IV.2.1.1-Dye test développé par Sabin et Feldman:

C'est un test de lyse des parasites reposant sur le principe de la cytotoxicité médiée par des anticorps et le complément. Le test se réalise en utilisant une suspension de parasites vivants incubés avec des dilutions du sérum décomplémenté auxquelles est ajoutée une source extérieure de complément.

Après incubation, la lecture se fait au microscope à contraste de phase.

Une réaction est positive quand 50 % des parasites sont lysés par les anticorps.

Donc ; il permet la mise en évidence des IgG dans le sérum du patient en utilisant des tachyzoïtes vivants. Ce test peut être utilisé pour différentes espèces et a longtemps été considéré comme le test de référence pour la toxoplasmose.

L'inconvénient de cette méthode est la nécessité de posséder et de manipuler des toxoplasmes vivants et très virulents. (*De plus, ce test est incapable de détecter les anticorps présents dans les sérums de certaines espèces d'oiseaux*).

IV.2.1.2 -Agglutinations :

Le principe des réactions d'agglutination est de co-incuber des dilutions de sérum avec des suspensions de toxoplasmes fixés. Ces réactions s'effectuent dans des plaques de microtitration à 96 cupules.

✚ **Agglutination directe classique :**

Dans cette réaction, l'antigène est constitué d'une suspension de toxoplasmes fixés par le formol et le sérum est étudié dans une série de dilutions avant et après traitement par le *2-mercaptoéthanol* (2-ME) qui détruit les IgM.

Une réaction positive se caractérise par un voile formé au fond de la cupule (agglutination).

Le titrage est effectué sur des sérums non traités et traités au **2 ME** :

- sur le sérum non traité, le titre obtenu correspond à la somme des anticorps IgG, IgM et des Ac naturels.
- Sur le sérum traité au 2-ME, le titre ne correspond qu'aux seules IgG.

La différence permet d'avoir une estimation de la présence d'IgM. Il faut cependant être très prudent car la présence d'IgM naturelles peut entraîner une modification importante du titre sans qu'il s'agisse d'IgM immunes.

Pour suspecter la présence d'IgM immunes, il faut exiger une différence d'au moins 3 titres entre l'agglutination sur sérum non traité et sur sérum traité au 2-ME.

✚ **Agglutination sensibilisée (IgG) :**

Cette réaction comparable à la précédente n'est réalisée que sur un sérum traité au 2-ME. Il utilise des antigènes trypsinés et formolés, mais d'une plus grande sensibilité que ceux de la réaction d'agglutination classique.

Le test est réalisé sur différentes dilutions de sérum et la lecture permet d'établir un titre uniquement en anticorps IgG.

✚ **Agglutination IgG "AC" :**

Cette réaction, utilise un antigène traité par le méthanol et ne met en évidence que les anticorps IgG produits au début de l'infection (**6 à 12 premiers mois**).

Elle représente un grand intérêt pour dater la contamination.

✚ **ISAGA (Immuno-Sorbent Agglutination Assay) :**

C'est une méthode utilisant des toxoplasmes entiers comme réactif. Elle repose sur le principe d'immunocapture préalable des anticorps IgM du sérum sur des plaques de microtitration sensibilisées avec des anticorps anti-IgM humaine (monoclonal).

L'incubation du sérum humain dans ces cupules permet une capture des IgM (spécifiques ou non de *T.gondii*).

Après lavage, une suspension de toxoplasmes est ajoutée dans les cupules.

- En cas de présence d'anticorps antitoxoplasme, les parasites sont retenus le long de la paroi des cupules et forment un voile.

- En l'absence d'IgM anti-toxoplasmes, les parasites sédimentent en bouton au fond de la cupule. C'est la taille du voile d'agglutination qui est mesurée.

✦ **L'agglutination directe haute sensibilité (ADHS):**

C'est la méthode la plus utilisée pour l'étude de séroprévalence. L'antigène utilisé est une suspension de tachyzoïtes tryptiques, puis formolés mis en contact avec des dilutions de sérums.

La positivité de l'échantillon est mise en évidence par l'agglutination que provoque la mise en contact de l'antigène (*Toxoplasma gondii*) et des anticorps spécifiques.

Ce test, fiable, présente l'intérêt de pouvoir être utilisé pour toutes les espèces avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité.

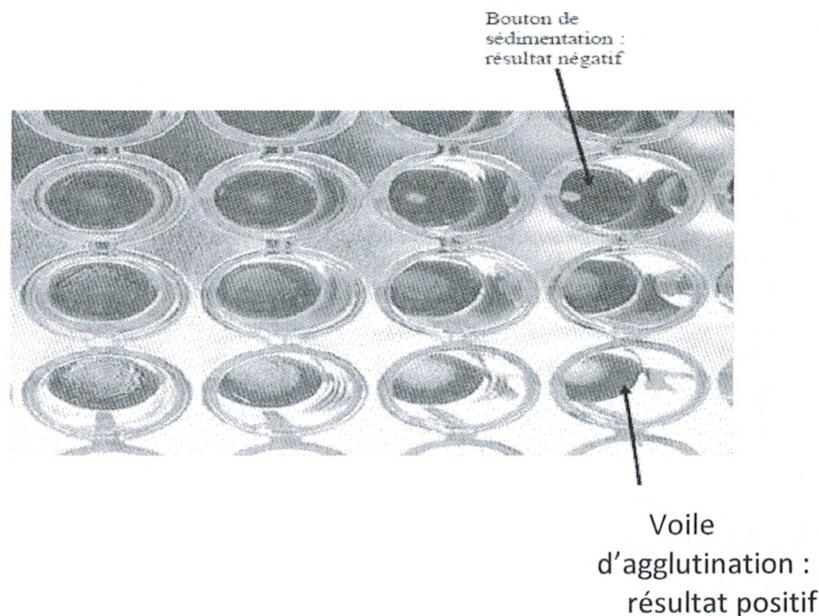


Figure05 : Illustration de la plaque ADHS après incubation

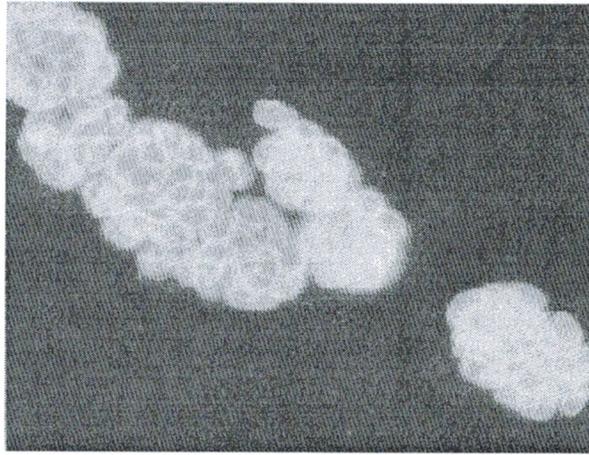
IV.2.1.3. L'immunofluorescence indirecte:

Cette réaction très classique utilise des trophozoïtes formolés et fixés sur une lame. Sur ces antigènes fixés, on fait agir différentes dilutions du sérum ; après lavage, on révèle la fixation des anticorps spécifiques par une anti-globuline marquée à la fluorescéine.

On établit un titre correspondant à la dernière dilution positive pour laquelle l'intégrité de la membrane des parasites apparaît bien fluorescente.

Un fort taux d'IgG peut rendre les sites antigéniques inaccessibles aux IgM, entraînant une réaction faussement négative.

Pour ces raisons, un traitement systématique des sérums par un absorbant des IgG est très recommandé.



*Figure06: T Gondii - Cellules MRC5 - mise en évidence des parasites par immunofluorescence indirecte
(x1000)*

IV.2.2. Réactions utilisant un antigène soluble :

Toutes ces réactions utilisent un antigène extrait de tachyzoïtes, et la qualité de la réaction sera entièrement dépendante de la qualité de l'antigène préparé.

L'antigène soluble fabriqué est constitué d'un mélange d'antigènes cytoplasmiques (en proportion plus grande) et d'antigènes membranaires.

IV.2.2.1. Fixation du complément :

C'est une des plus anciennes techniques employées, mais elle est de plus en plus abandonnée, car sa réalisation est délicate et de faible sensibilité.

IV.2.2.2. Latex :

Dans cette réaction, l'antigène parasite est fixé sur des particules de latex.

Pour réaliser le test, on mélange sur une plaque de verre une goutte de la suspension de latex sensibilisé à une goutte de la dilution de sérum ; on observe la formation d'agglutinats en présence d'anticorps (**réaction positive**).

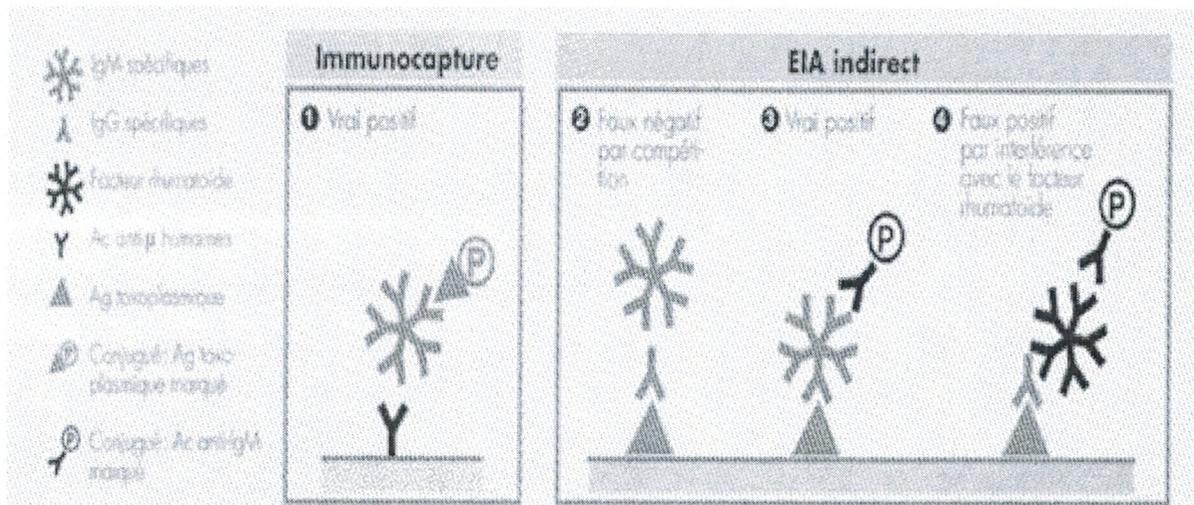
Il faut toutefois se méfier des phénomènes de zones : des réactions au latex peuvent être négatives en cas de présence d'une très forte quantité d'IgG (**faux négatifs**).

IV.2.2.3. Hemagglutination :

L'antigène est fixé sur des hématies de mouton ; la réaction est réalisée en ajoutant une suspension d'hématies sensibilisées dans des dilutions de sérum.

Le test est effectué dans des microplaques ; après une brève agitation suivie d'une sédimentation de **2 à 8 heures**, la réaction est lue à l'œil nu.

Une réaction positive est constituée d'un voile d'hématies agglutinées au fond de la cupule. Cette réaction est réalisée, tout comme l'agglutination classique, sur le sérum traité ou non au 2-ME. On peut suspecter la présence d'IgM spécifiques pour une différence **supérieure de 2 titres** entre le sérum non traité et le sérum traité au 2-ME.



IV.2.2.4- Elisa (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay):

⊕ **Technique ELISA indirecte "classique" : Recherche et titrage des IgG :**

Dans cette technique, l'antigène est fixé sur un support solide (microplaques, billes, microparticules) et une seule dilution du sérum du patient est incubée avec l'antigène immobilisé sur le support.

Après lavage, un conjugué anti-IgG couplé à une enzyme est ajouté. Après incubation et lavage, le substrat spécifique est ajouté, et la réaction est mesurée avec une courbe d'étalonnage.

⊕ **Technique ELISA inverse (immunocapture) recherche des anticorps IgM et IgA :**

Dans ces réactions, la première étape est une immunocapture comme pour l'ISAGA.

Le support est sensibilisé avec un anticorps anti-IgM ou Anti-IgA (mono ou polyclonal). Le sérum est ensuite ajouté et les anticorps des isotypes correspondants sont captés sur le support. Après lavage, un antigène est ajouté ; celui-ci peut être soit directement marqué par une enzyme, soit couplé avec un anticorps marqué avec une enzyme.

Après incubation et lavage, le substrat est ajouté. Il n'existe pas comme pour les ELISA indirects de relation linéaire entre les densités optiques et la quantité d'anticorps présents dans le sérum.

On obtient un index de fixation permettant d'avoir une évaluation **semi quantitative** de la présence des anticorps.

L'**avantage** de cette technique est qu'il n'y a pas de compétition avec les IgG et pas d'interférences avec le facteur rhumatoïde.



Schéma de l'ELISA indirecte :

L'antigène est fixé sur une phase solide.

1 Si des anticorps spécifiques recherchés sont présents dans le sérum testé, ils restent fixes après lavages.

2 Le conjugué, anticorps anti-immunoglobulines humaines couplé à un enzyme, se fixe sur les anticorps.

3 La dernière étape est la transformation par l'enzyme du conjugué d'un substrat incolore en un produit coloré dont la densité optique (D.O.) est mesurée.

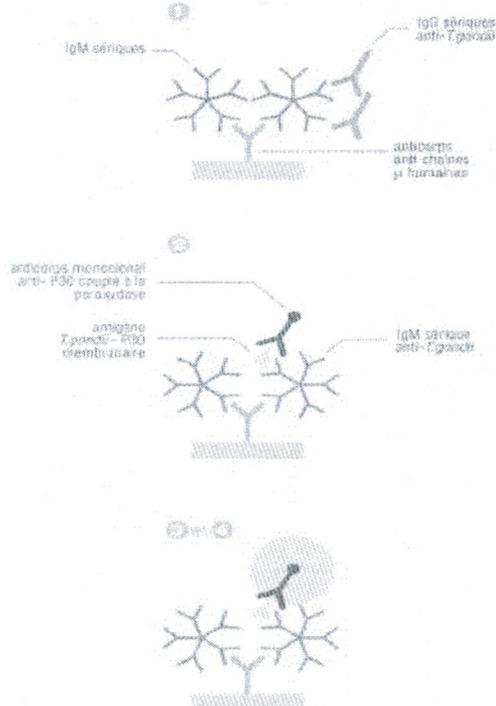


Schéma ELISA indirecte

schéma ELISA inverse

⚡ **Techniques d'avidité des IgG :**

L'avidité de sérums vis à vis d'agents infectieux peut être mesurée par une adaptation simple de tests immunoenzymatique sur phase solide (ELISA).

Il consiste à comparer la liaison du sérum à l'antigène avec et sans agent pouvant dissocier cette liaison. Un sérum de forte avidité n'est pas facilement dissociable, à l'inverse d'un sérum de faible avidité (détaille de la méthode dans le titre suivant).

Les réactifs utilisés dans le test ELISA sont des antigènes solubles cytoplasmiques, qui peuvent être enrichis par des antigènes membranaires (toxoplasmes entiers) pour améliorer leur sensibilité en début de séroconversion (en effet, les premiers anticorps synthétisés sont essentiellement dirigés contre la membrane du parasite). Ainsi, ces techniques vont permettre de détecter à la fois les anticorps dirigés contre la membrane du parasite, et ceux dirigés contre ses antigènes solubles.

IV.3. Techniques complémentaires :

Plusieurs autres techniques sont proposées pour l'analyse qualitative des anticorps, permettant de dater une infection et de mieux caractériser une réponse immunitaire dans des milieux biologiques différents.

IV.3.1. Le test d'avidité des IgG:

La mesure de l'avidité des IgG par méthode immunoenzymatique est utilisée pour distinguer une toxoplasmose récente d'une toxoplasmose chronique, dans le cas où les techniques de première intention ne permettent pas de trancher (en présence d'IgM ou quand les IgG sont présentes à un titre élevé > **150 UI/ml**). Cette distinction est possible car l'avidité des IgG pour les antigènes augmente au cours d'une infection.

Actuellement les méthodes les plus fréquemment employées sont basées sur une modification des techniques ELISA utilisées pour la détection des anticorps IgG.

C'est une technique utilisée fréquemment en complément de la quantification des anticorps pour dater la primo-infection.

Après une infection, les premiers anticorps sécrétés sont peu avides de l'antigène correspondant. Avec le temps, la force de liaison augmente c'est ce que l'on appelle **la maturation de l'avidité**.

Cette maturation est mise en évidence par une variante de la technique ELISA : Le même sérum est déposé sur 2 puits :

1^{er} puits : la réaction sérologique normale est effectuée

2^{ème} puits : le sérum est lavé avec une solution d'urée qui élimine les anticorps peu avides (faiblement fixés à l'antigène).

On mesure les densités optiques (DO) dans les 2 puits.

Les deux DO sont comparables : l'urée n'a pas décroché d'anticorps car ils étaient très matures donc l'infection est **ancienne**.

La DO dans le puits avec urée est plus bas : l'avidité des anticorps est faible, l'infection est **récente**.

Le rapport des 2DO donne l'**indice d'avidité** dont le seuil est fonction de la méthode.

Attention :

✓ Si un indice d'avidité élevé indique une affection ancienne, l'inverse n'est pas toujours vrai : certaines femmes peuvent présenter un indice d'avidité bas malgré une affection ancienne.

✓ L'avidité ne peut être mesurée en cas de taux trop faibles d'IgG.

✓ Un indice d'avidité élevé va exclure une infection acquise dans les **4 mois** précédents,

IgG Avidity for Toxoplasmosis on the Vidas

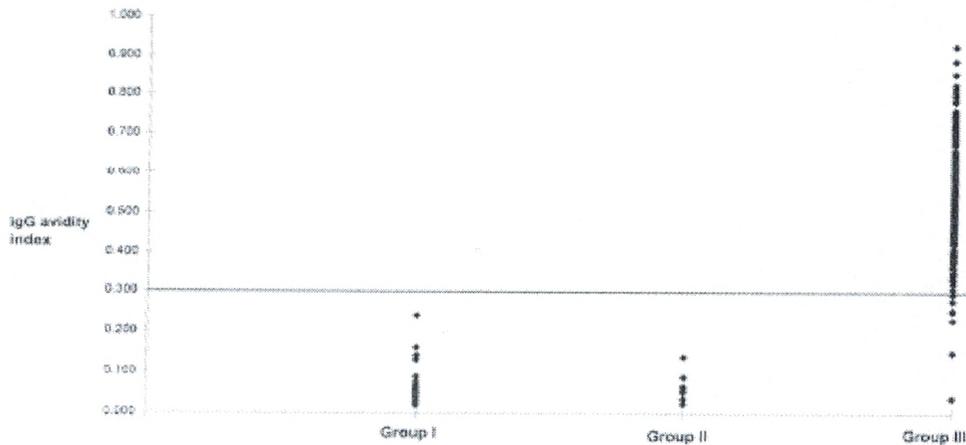


FIGURE Vidas toso IgG avidity evaluation (356 sera). Group I, toxoplasmic infection \leq 4 months (34 sera); Group II, toxoplasmic infection between 4 and 9 months (7 sera); Group III, toxoplasmic infection $>$ 9 months (315 sera).

IV.3.2. Le western blot, ou immunoblot:

N'est pas indiqué dans la sérologie courante chez le patient immunocompétent. Cette technique est intéressante pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale.

La comparaison des profils d'anticorps IgG et IgM chez la mère et chez l'enfant permet de mettre en évidence des anticorps néo-synthétisés chez le nouveau-né lorsqu'il est infecté.

Elle est également utilisée pour le diagnostic de la toxoplasmose oculaire par l'analyse comparative de la réponse anticorps dans l'humeur aqueuse et le sérum.

IV.3.3. La technique ELIFA (Enzyme Linked Immuno-Filtration Assay) :

Cette technique est également utilisée pour l'étude comparative de plusieurs échantillons appariés, par exemple: mère/enfant, mère/cordon, sérum de l'enfant à différentes dates : elle permet d'établir des profils immunologiques comparés (PIC-ELIFA) et d'identifier des néo-anticorps synthétisés chez le nouveau-né infecté.

La détermination de la charge immunitaire consiste à quantifier la part relative des anticorps spécifiques par rapport à la quantité totale d'IgG. Elle est utilisée pour comparer la production d'anticorps entre différents liquides biologiques (sérum, humeur aqueuse, LCR).

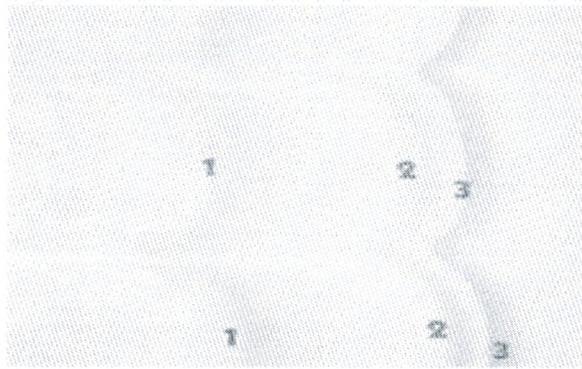


Figure08 : Méthode ELIFA diagramme de toxoplasmose congénitale après immunofiltration avec des anticorps anti-gamma ; comparant les sérums de la mère en haut ; du cordon au milieu et de l'enfant prélevé à j10 en bas

IV.3.4.Charge immunitaire :

Cette méthode permet de comparer la production d'IgG spécifiques anti *T-gondii* dans des milieux contenant des quantités d'immunoglobulines extrêmement différentes ; elle est basée sur le calcul du rapport :

IgG antiT-gondii / IgG totales dans chaque milieu étudié conjointement.

Les IgG spécifiques *antiT-gondii* sont titrées en *UI/ml* et les IgG totales dosées par néphélométrie ou immunodiffusion radiale sont exprimés en *mg/ml*.

Si la charge immunitaire (*UI/mg*) est plus de **trois fois supérieure** dans un milieu par rapport à l'autre on estime qu'il ya une synthèse locale d'anticorps.

Les principales applications sont la comparaison :

1. D'un LCR ou d'humeur aqueuse avec le sérum correspondant.
2. Du sérum d'un nouveau-né avec celui de sa mère à l'accouchement.
3. Des prélèvements mensuels d'un enfant suspect de toxoplasmose congénitale.

Remarque :

Sensibilité et spécificité des techniques :

- Sensibilité :

La sensibilité d'un test est la probabilité que ce test soit positif quand l'infection est présente. Plus elle est élevée, moins le nombre de faux négatifs est important.

- Spécificité :

La spécificité d'un test est la probabilité que ce test soit négatif quand l'infection est absente. Plus elle est élevée, moins le nombre de faux positifs est important.

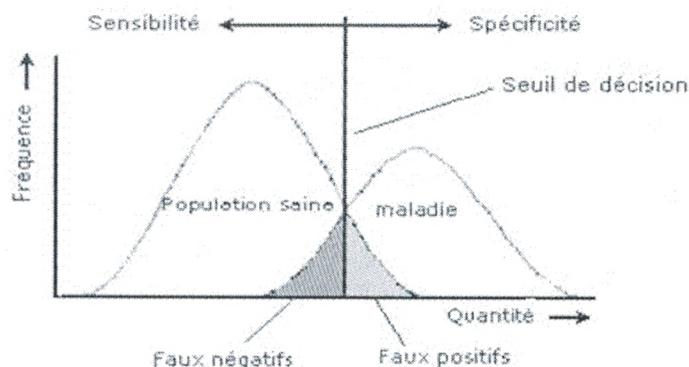


Figure 09. Evaluation de test: faux positif et faux négatif en fonction du seuil choisi pour un test quantitatif

Test method	Sensitivity	Specificity
At birth ^a		
Western blot (IgG, IgM, IgA)	65.2% (15/23)	96.1% (98/102)
IgM-ISAGA	60.9% (14/23)	93.1% (95/102)
Within 3 months ^b		
Western blot (IgG, IgM, IgA)	82.6% (19/23)	96.6% (87/90)
IgM-ISAGA	69.6% (16/23)	100% (92/92)
At birth and within 3 months		
Western blot (IgG, IgM, IgA)	86.9% (20/23)	96.1% (99/103)
IgM-ISAGA	69.6% (16/23)	92.2% (95/103)

^a Positive test result obtained at least from cord blood and neonate serum collected at day 0 or day 5

^b Positive test result obtained at least once within the first 3 months of life (birth excluded)

Tableau : sensibilité et spécificité de Western blot et IgM-ISAGA utilisée pour la détection de *T.gondii* à la naissance et au 3^{ème} mois de la vie.

Principales techniques utilisées dans le sérodiagnostic de la toxoplasmose

Techniques	Antigène	g globuline	Principe	Commentaires
Dye-test	figuré vivant	IgG	lyse parasitaire modifié par le complément et les anticorps spécifiques	réaction de référence, très sensible (<i>seuil=2 UI/ml</i>) positivation la plus précoce après primo-infection.
Immunofluorescence indirecte (IFI)	figuré formolé	IgG, IgM	trophozoïtes fixés sur lame, fluorescents par anti-globuline marquée	lecture délicate interférence avec le facteur rhumatoïde
Agglutination sensibilisée (HS)	figuré formolé	IgG	agglutination des trophozoïtes par les anticorps	réaction très sensible et spécifique mais non automatisable.

Agglutination différentielle (AC)	figuré méthanol	IgG phase précoce	agglutination des trophozoïtes par les anticorps	mise en évidence des IgG précoces. Intérêt pour la datation
ISAgA	figuré formolé	IgM, IgA	immunocapture des anticorps	pas d'interférence avec le facteur rhumatoïde. lecture délicate
Hémagglutination	soluble	IgG, IgM	antigène fixé sur hématies, agglutinées en présence d'anticorps spécifiques	sensibilité variable en fonction de l'antigène
Latex	soluble	Ig totales	antigène fixé sur particules de latex, agglutinées en présence d'anticorps	technique de dépistage.
ELISA	soluble	IgG, IgM, IgA	IgG : technique sandwich IgM, IgA : immunocapture	techniques automatisées. sensibilités variables en début d'infection.
ELISA / avidité	soluble	IgG	sérum traité à l'urée	mise en évidence des IgG précoces. Intérêt pour la datation

REMARQUE :

Récemment ; ROBERT et SENET ont rapporté les résultats d'une expérimentation effectuée avec un nouveau test au latex sur lame sensibilisé par un antigène toxoplasmique total permettant la détection des Ac IgG et IgM.

Cette technique d'agglutination sur lame avec agitation manuelle pendant **3 ou 4 minutes** apparues peu adaptée à l'étude de séries importantes de sérums donc ils ont proposé de réaliser le nouveau test au **latex sur plaque de Kline** avec agitation automatique par un mouvement orbital ; l'agitateur devant être équipée d'une minuterie ce qui permet une meilleure standardisation des temps de lecture.

Il est intéressant en routine de disposer d'un test simple ; capable de dépister rapidement à la fois les Ac IgG et IgM et d'orienter par une appréciation semi quantitative le choix des dilutions à pratiquer pour cela une étude comparative est faite entre cette méthode et l'immunofluorescence indirecte.

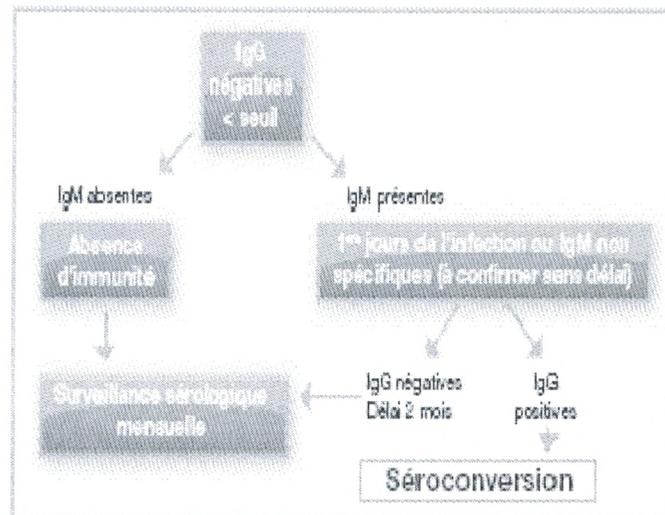
En conclusion l'étude met en évidence l'association privilégiée que constituent l'HAI et le Toxolates cependant ; ces techniques ne sauraient se substituer aux techniques de référence pour le titrage spécifiques des IgG et IgM.

V- L'algorithme décisionnel et les difficultés d'interprétation :

La cinétique des anticorps et les différentes techniques de mise en évidence ayant été exposées, il nous faut maintenant interpréter les résultats de la sérologie selon les différents cas de figure, avec toutes les difficultés que cela comporte.

Les figures suivantes illustrent les trois cadres de l'algorithme décisionnel du laboratoire de parasitologie du Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, adapté de Bessières.

V.1. En cas d'IgG négatives :



⚡ En cas d'IgG négatives, l'absence concomitante d'IgM objectivera une absence d'immunité contre la toxoplasmose.

⚡ La notion de valeur seuil et de zone équivoque et ces seuils de positivité ou négativité posent un **premier problème** d'interprétation. Ils imposent soit la mise en œuvre d'une autre technique (autre réactif) sur le sérum prélevé, soit de nouvelles investigations par la suite. Rappelons que les premiers anticorps IgG synthétisés sont dirigés contre la membrane parasitaire et qu'ils ne seront pas détectés si le réactif utilisé ne contient que des antigènes solubles cytoplasmiques du parasite. Le **second problème** rappelé dans ce cadre est la notion d'IgM non spécifiques dites **IgM « naturelles »** révélant des antigènes membranaires communs à *Toxoplasma gondii* et à d'autres substances. La présence de ces anticorps non spécifiques est une difficulté dans l'interprétation des sérologies, ainsi que la persistance d'IgM résiduelles, ce qui va limiter leur utilité dans la datation de l'infection. Nous avons vu que les IgM peuvent persister plus d'un **an** après la contamination, ce qui peut nous induire en erreur pour la datation de la contamination.

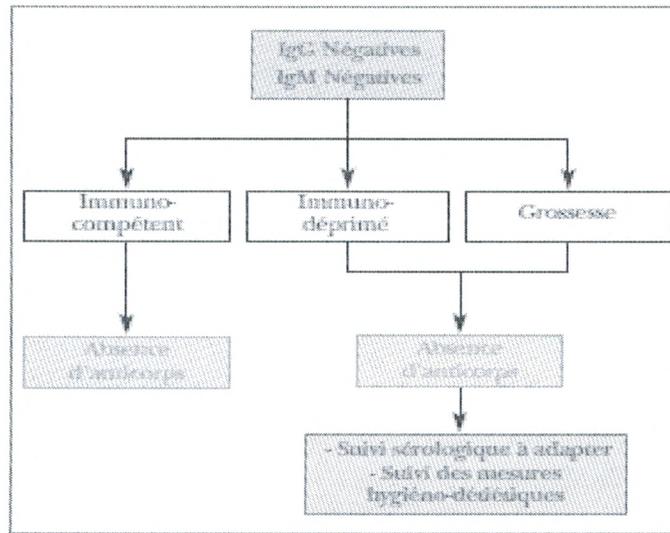


Fig.10 : Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgM et des IgG négatives.

Il ne faut donc jamais conclure trop rapidement à une primo-infection sur la seule présence d'IgM, il faut évaluer à la fois l'association ou non avec des IgG et l'évolution de leurs taux. En effet, dans cette situation, l'apparition secondaire d'IgG conclura à une **séroconversion toxoplasmique**.

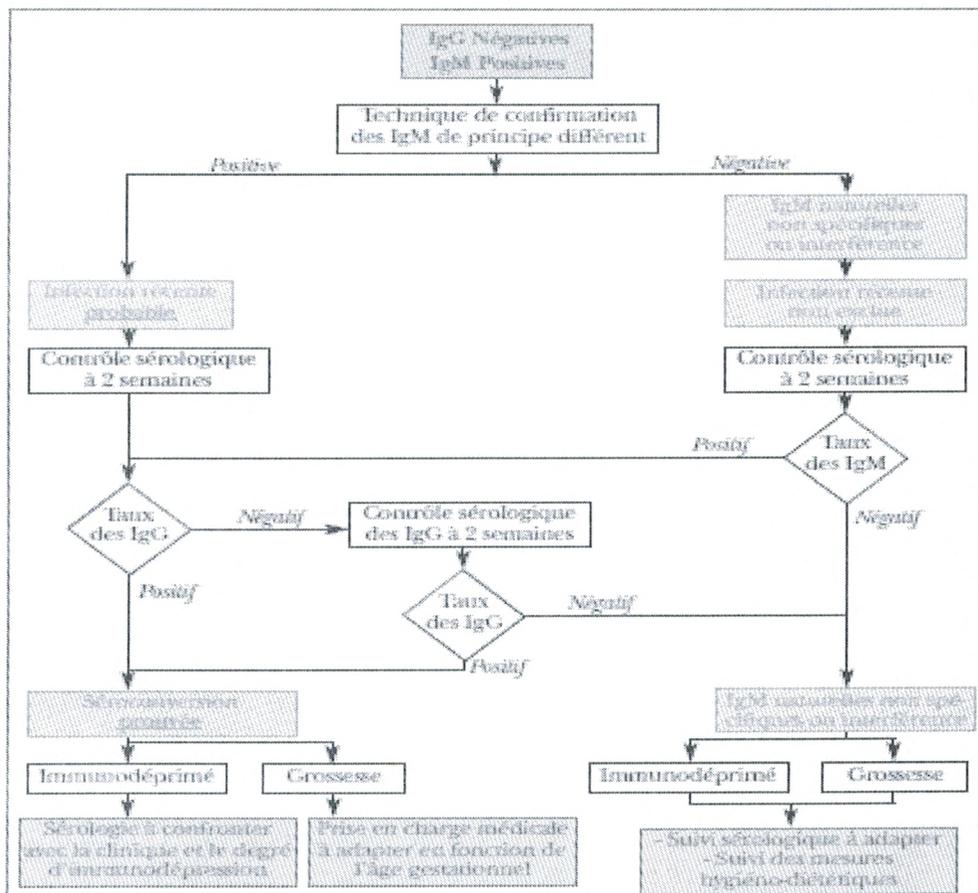
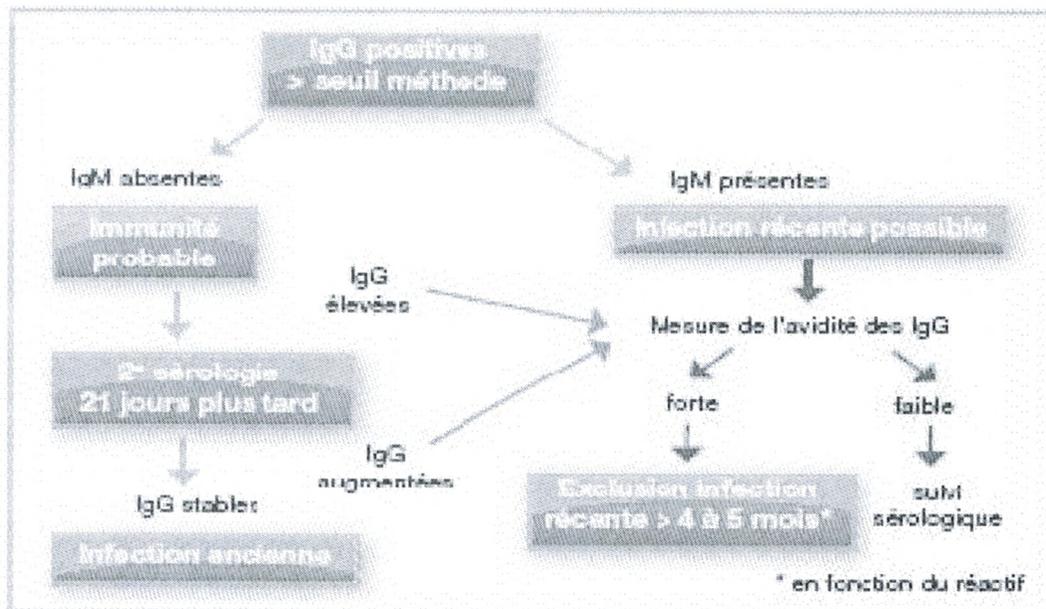


Figure11 : Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgM positives et des IgG négatives.

V.2. En cas d'IgG positives :



Si les IgG sont **positives**, on rappelle à nouveau le problème posé par la notion de valeur seuil de la méthode utilisée. En cas de taux stables des IgG sur deux résultats de sérologie concomitants avec une absence d'IgM, on pourra affirmer une infection toxoplasmique ancienne et une immunité acquise. Un résultat positif unique n'a aucun poids dans l'affirmation de ce diagnostic.

Une nouvelle difficulté d'interprétation du résultat est exposée dans ce cadre, dans le cas de titres d'IgG très élevés. En effet, les méthodes immunoenzymatiques imposent la prudence dans cette situation, la mesure n'étant valable que dans la phase ascendante de la courbe. Les valeurs doivent obligatoirement se situer dans la zone d'étalonnage du réactif par rapport au sérum étalon de l'OMS.

Aussi, en l'**absence d'IgM**, une valeur anormalement élevée des IgG ou augmentée à la seconde sérologie impose la réalisation d'un test complémentaire, le test d'avidité des IgG.

Dans le cas de seconde valeur augmentée des IgG associée à une absence d'IgM, une recherche d'IgA peut s'avérer utile. La présence d'IgA sans IgM objective pour une réactivation sérologique, normalement sans risque pour le fœtus. La réactivation peut être due à une stimulation antigénique liée à une rupture de kystes toxoplasmiques, ou à une stimulation polyclonale non spécifique du système immunitaire.

En cas d'**association d'IgG et d'IgM**, une infection récente est probable et le test d'avidité des IgG sera également pratiqué. Une avidité forte permettra d'exclure une infection de **moins de 4 mois** et une séroconversion per gravidique si la femme est au premier trimestre de sa grossesse.

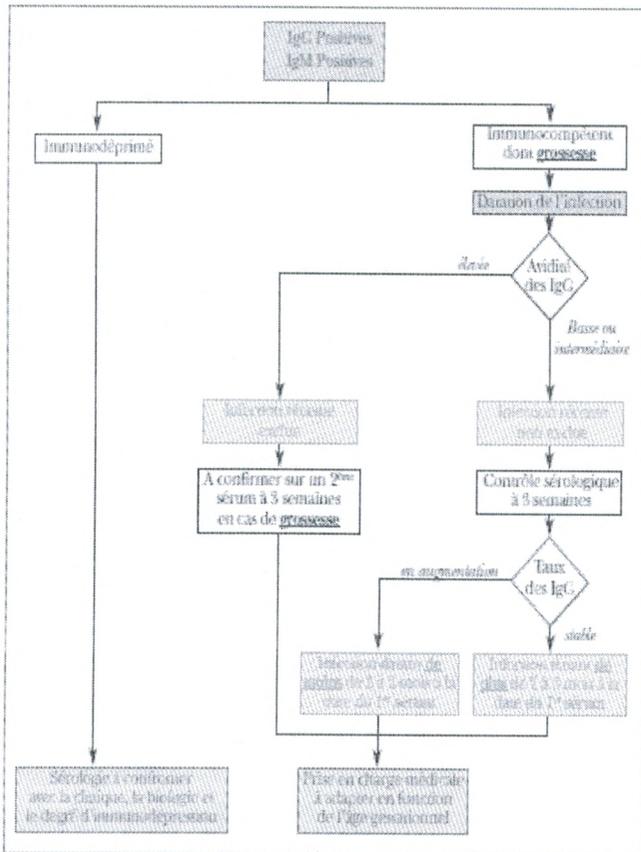


Fig.12 : Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgM et des IgG positives.

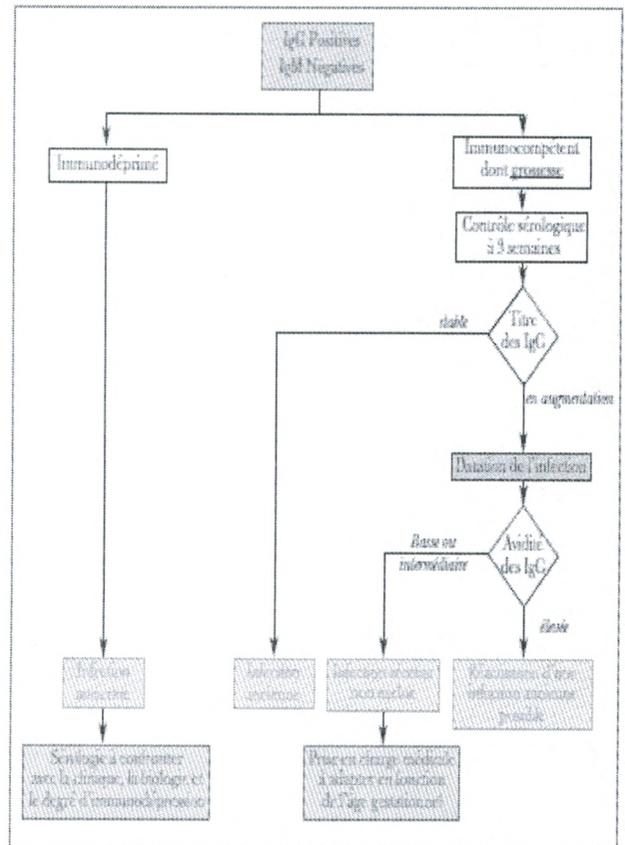
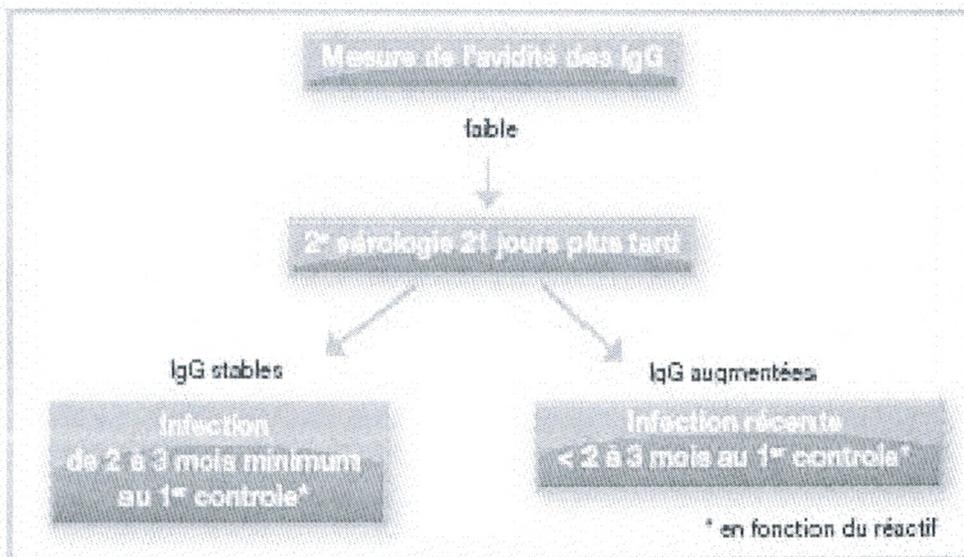


Fig.13 : Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgM négatives et des IgG positives.

V.3. En cas d'avidité faible des IgG :



En cas d'avidité faible, une infection de moins de 4 mois ne pourra pas être exclue, ce qui imposera la continuité du suivi sérologique pour affirmer ou non une séroconversion toxoplasmique per gravidique.

Une deuxième sérologie réalisée **3 semaines plus tard** montrant un taux d'IgG stable sera en faveur d'une séroconversion ayant eu lieu *2 à 3 mois minimum* avant le premier contrôle sérologique. Si le taux d'IgG augmente, on conclura à une infection récente, ayant eu lieu *moins de 2 à 3 mois* avant le début des contrôles sérologiques.

On datera l'infection toxoplasmique maternelle par rapport à la date présumée de conception et l'âge de grossesse. On pourra alors poser avec plus ou moins de certitude le diagnostic d'une séroconversion ante, per ou post conceptionnelle.

La répétition des sérologies, la confrontation des résultats et la réalisation de tests complémentaires vont permettre de dater le début de l'infection maternelle, per gravidique ou non, et d'adapter au mieux la prise en charge de cette femme enceinte.

En effet, en cas de séroconversion per gravidique, la femme enceinte va bénéficier d'une prise en charge spécifique :

- Un traitement pour limiter la transmission materno-foetale du parasite.
- Des examens complémentaires pour dépister une infection du fœtus.

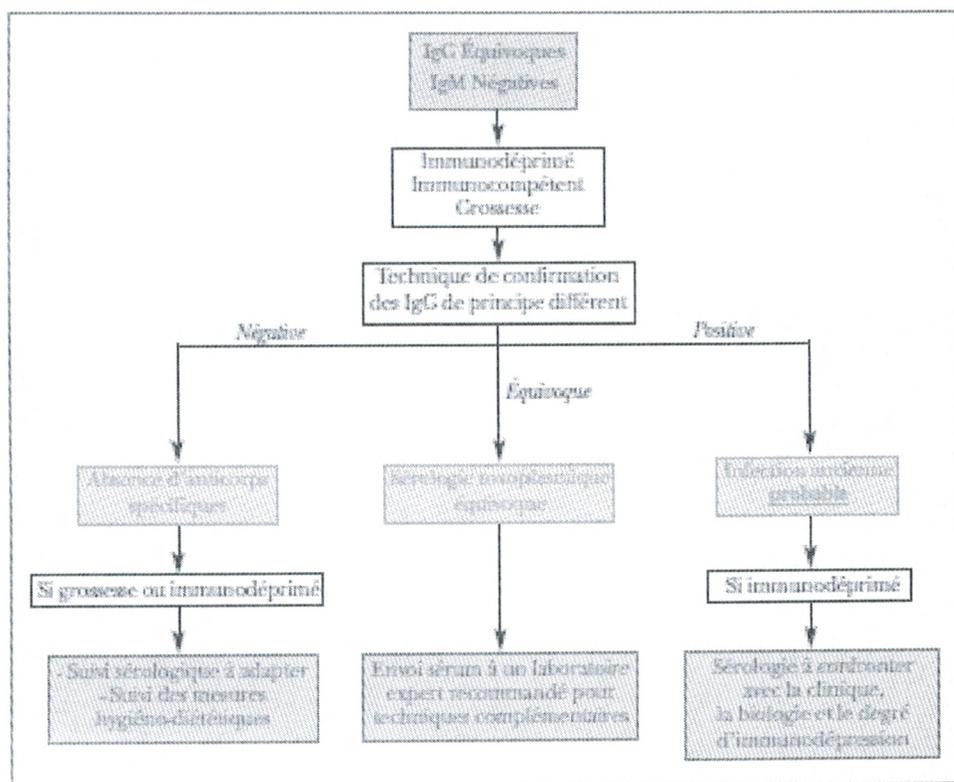


Fig14 - Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgM négatives et des IgG équivoques.

VI- Conduite du diagnostic de la toxoplasmose :

VI.1. Diagnostic de la toxoplasmose de l'adulte immunocompétent (en dehors de la grossesse ou d'un contexte d'immunodépression) :

Le diagnostic est **uniquement sérologique**. Le titrage des IgG et des IgM spécifiques permet de définir le statut immunitaire du patient (séropositif ou séronégatif) et éventuellement d'estimer la date de la contamination.

Les techniques complémentaires (immunoblot, avidité) et la recherche du parasite ne sont pas justifiées dans ce contexte.

VI.2. Diagnostic de la toxoplasmose chez la femme enceinte :

La sérologie de toxoplasmose a deux applications principales chez la femme enceinte:

✓ définir son statut immunitaire et assurer une surveillance sérologique en cas de séronégativité. Ceci repose sur un titrage des anticorps IgG et IgM.

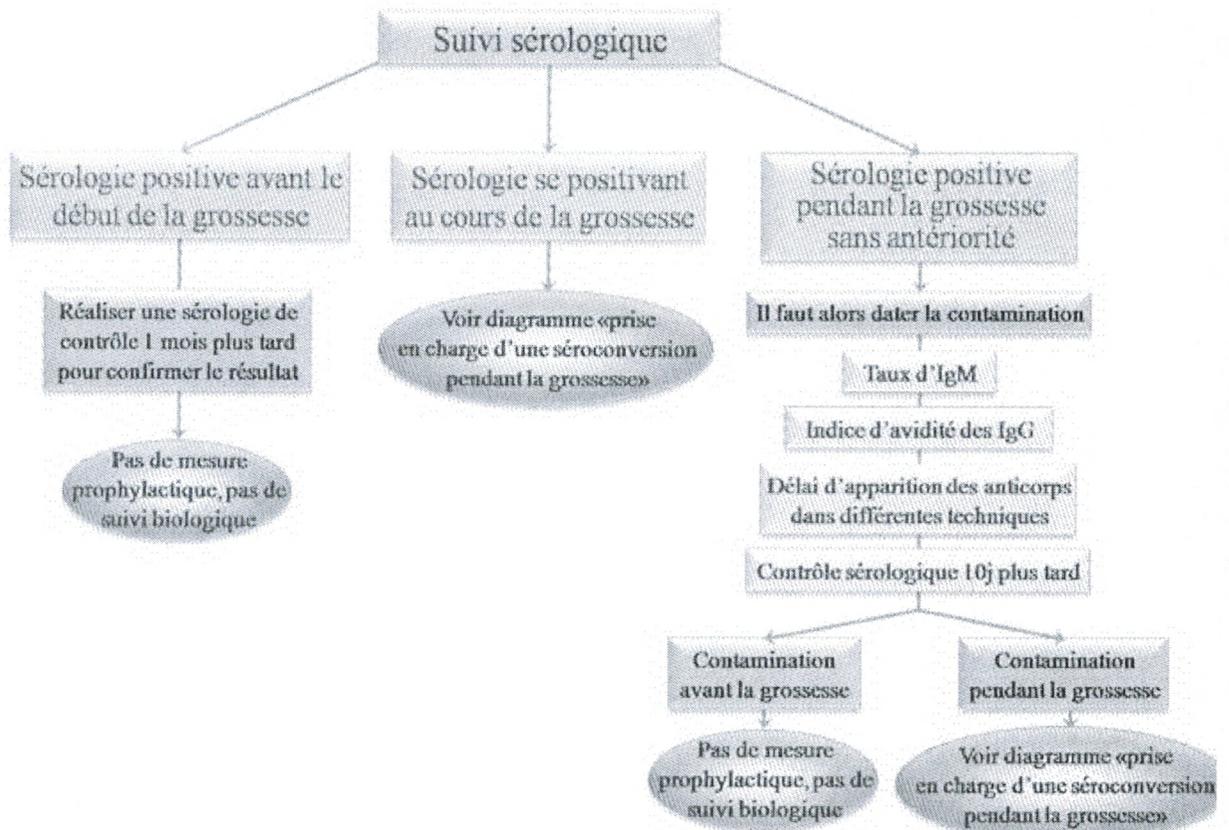
*L'absence d'immunité se traduit par l'absence d'anticorps spécifiques IgG.

*Une immunité ancienne se traduit par des taux faibles et stables d'IgG en l'absence d'IgM spécifiques.

✓ établir le diagnostic d'une toxoplasmose acquise en cours de grossesse. Dans ce cas, la datation de la contamination est essentielle pour apprécier le risque de toxoplasmose congénitale. Ceci est possible grâce à la sérologie en tenant compte de la présence ou non d'anticorps IgM, IgA (voire IgE), de la variation et de la valeur des titres des anticorps IgG entre deux prélèvements distants d'au moins **quinze jours à 3 semaines**.

Le diagnostic de certitude d'une toxoplasmose récente est porté sur la constatation d'une séroconversion, ou de l'ascension significative des titres d'IgG sur deux prélèvements associés à la présence d'IgM et éventuellement d'autres marqueurs d'infection récente (IgA/IgE), à condition que le titrage soit effectué :

- dans le même laboratoire,
- par la même technique
- et dans la même série de tests.



Pour dater l'infection, certains laboratoires disposent d'une technique reposant sur la différence dans les titres d'agglutination de toxoplasmes ayant subi des traitements différents (trypsine : ADHS ou méthanol : agglutination AC) ; cette technique n'est pas commercialisée.

Après une infection la réponse humorale et la cinétique des anticorps varie en fonction des isotypes étudiés mais également de la technique utilisée pour chaque isotype considéré.

Le titrage des anticorps IgG est déterminant pour l'interprétation d'un examen sérologique.

Cependant :

Pour un même sérum, un titrage d'anticorps, même exprimé en Unités Internationales par ml de sérum (UI/ml), varie sensiblement d'une technique à l'autre. Les résultats d'un même patient ne sont donc pas comparables d'une technique et d'un laboratoire à l'autre.

Les taux d'anticorps doivent être impérativement exprimés par rapport à une valeur seuil de la technique utilisée, déterminant l'absence ou la présence d'anticorps spécifiques.

La détermination de l'avidité des anticorps IgG est très utile lorsque sont détectés des IgG et des IgM sur un premier sérum prélevé vers 2 à 3 mois de grossesse, en permettant dans un grand nombre de cas de conclure au caractère anté-conceptionnel ou non de l'infection. En effet, l'index d'avidité des anticorps IgG est **bas** dans les infections **récentes** (3 à 6 mois selon les techniques) et **élevé** dans les **infections anciennes**.

Certains individus conservent cependant des index d'avidité bas lors des infections chroniques. Ainsi, l'observation d'un index bas ne permet pas d'exclure une infection récente, mais un index élevé signe une infection ancienne.

1^{er} prélèvement

1

IgG 0

IgM 0

- Non protégée,
- Surveillance mensuelle jusqu'à l'accouchement
- Conseils d'hygiène et de diététique

2^{ème} prélèvement

1a

IgG 0
IgM 0

- Non protégée
- Surveillance mensuelle jusqu'à l'accouchement
- Conseils d'hygiène et de diététique

1b

IgG +
IgM 0

- Erreur possible 1
- Prima-infection sans IgM (très rare)
- Anticorps passifs (transfusion, injection de gammaglobulines)
- Réaction sérologique (IgG non détectées sur le premier sérum)

Par prudence

Retester les 2 premiers sérums et étudier un 3^e prélèvement sans délai

1c

IgG +
IgM +

- Séroconversion

1d

IgG 0
IgM +

- Séroconversion très probable

Contrôler jusqu'à l'apparition des IgG qui peut exceptionnellement être retardée de plus de 2 semaines

Commentaires :

1b : Les séroconversions sans IgM sont très rares si elles sont recherchées par une technique sensible (immunocapture). En particulier, une acquisition passive d'anticorps (transfusion de plasma, injection d'immunoglobulines) doit être éliminée, avant d'admettre avec prudence, ce diagnostic.

1d : Dans certains cas, rares, les IgG apparaissent jusqu'à 2 mois après les IgM. Il faut alors utiliser différentes techniques de recherche des IgG. La mise en évidence des IgA est un argument en faveur d'une infection évolutive. Après 2 mois, l'hypothèse d'IgM non spécifiques peut être retenue.

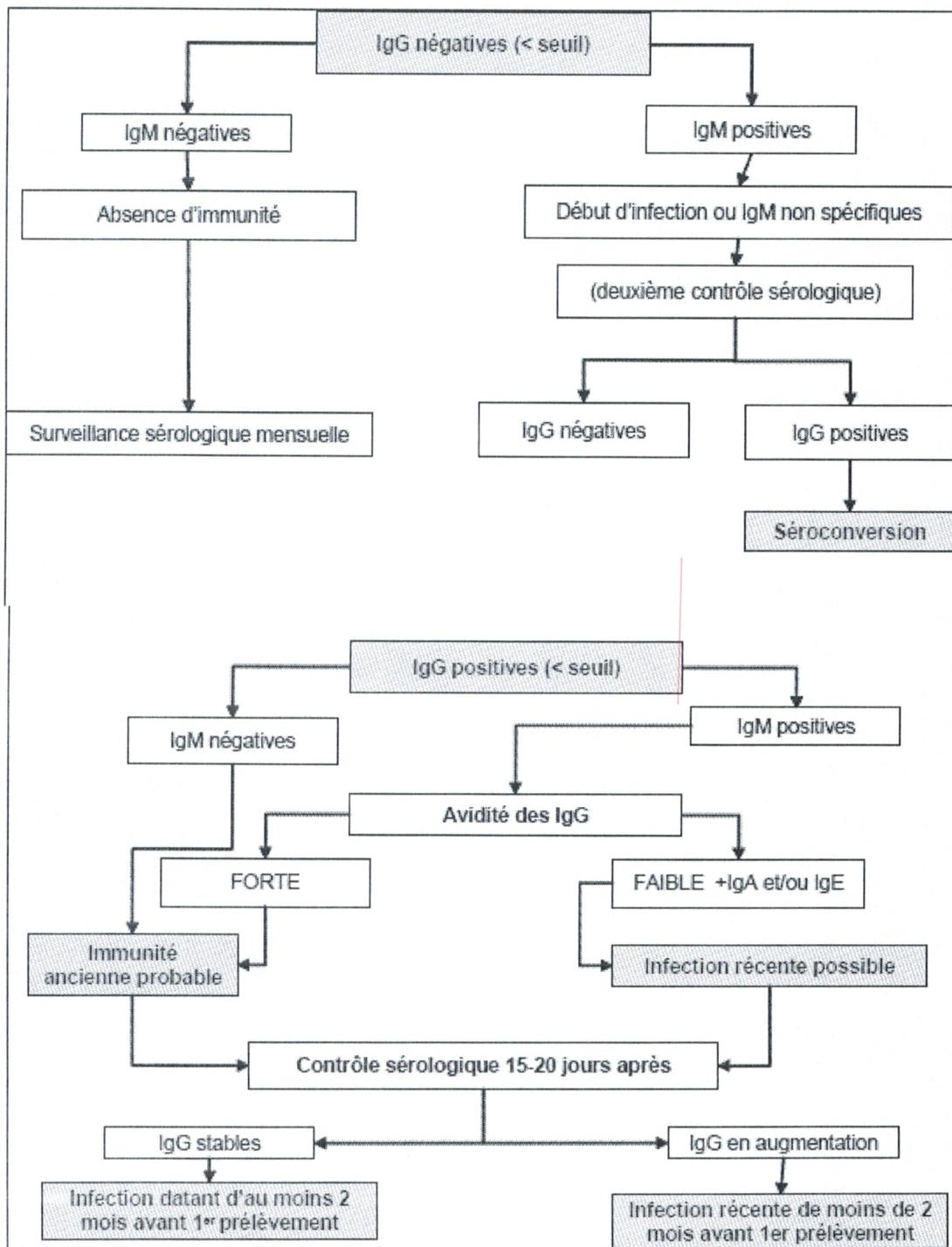


Figure15 : Schéma de conduite à tenir devant une sérologie toxoplasmique chez la femme enceinte Immunocompétente

VI.3. Diagnostic de la toxoplasmose congénitale :

Définition :

Selon le guide d'utilisation du système de « *Surveillance de la toxoplasmose congénitale* », élaboré par le Centre National de Référence pour la Toxoplasmose (CNR) :

“Un cas de toxoplasmose congénitale est défini comme un sujet faisant partie d’une population ciblée, composée de fœtus vivants, de produits d’avortement (fausse couche ou IMG/IVG), de nouveau-nés ou de nourrissons (jusqu’à 12mois) dont la mère a présenté une infection toxoplasmique, en cours de grossesse, ou dans les semaines précédant la grossesse”.

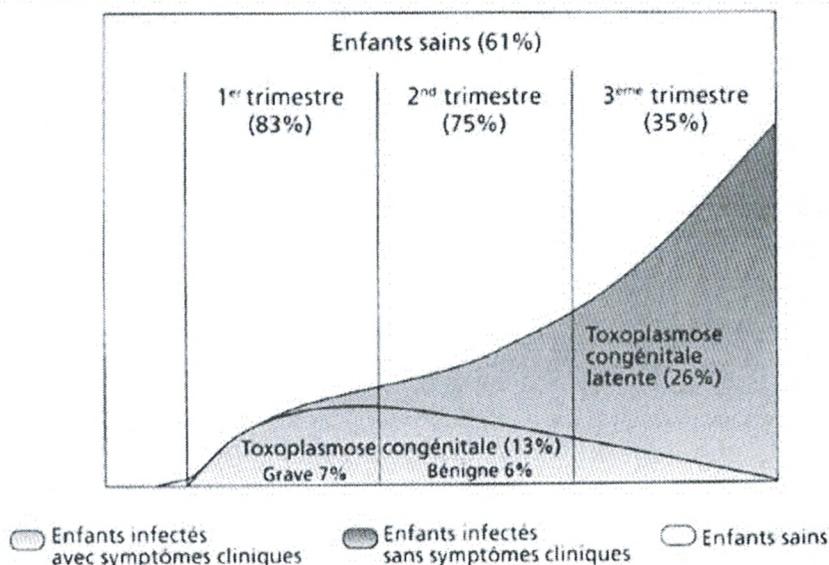
La toxoplasmose congénitale est le résultat de plusieurs évènements :

- Primo-infection maternelle
- Localisation placentaire du parasite (placentopathie)
- Passage du toxoplasme dans la circulation fœtale (fœtopathie)

La fréquence de la transmission de *Toxoplasma Gondii* de la mère au fœtus va dépendre de la date de contamination par rapport au stade de la grossesse.

L’infection de l’embryon en début de grossesse peut entraîner un avortement spontané ou une mort in utero.

Risque de transmission et gravité de la toxoplasmose congénitale en fonction du terme de la grossesse



Le tableau illustre parfaitement le fait que le taux de transmission maternofoetale augmente avec l’âge gestationnel.

La gravité des risques encourus par le fœtus étant maximale en début de grossesse et diminuant avec l’âge gestationnel, il en découle la notion de période dangereuse qui se situe entre la 10^{ème} et la 24^{ème} SA.

En effet, c’est la période où se cumule taux de transmission élevé – risque clinique foetal élevé.

Epoque de l'infection maternelle	Risque fœtal de transmission	Risque fœtal de gravité (si transmission)
Antérieure à la conception	Nul (sauf si déficit immunitaire)	Nul (sauf si déficit immunitaire)
Périconceptionnelle	Faible (environ 1%)	Risque maximal
Avant 16 semaines	Important mère traitée: 5% non traitée: 15%	Risque maximal
Après 16 SA	Maximal 20% entre 16 et 26 semaines Plus de 90% a terme	D'autant moindre que l'infection est plus proche du terme (mais enfant à traiter par spramycme)

Tableau: PRONOSTIC FŒTAL DE L'INFECTION TOXOPLASMIQUE MATERNELLE (d'après THULLIEZ ET DESMONTS)

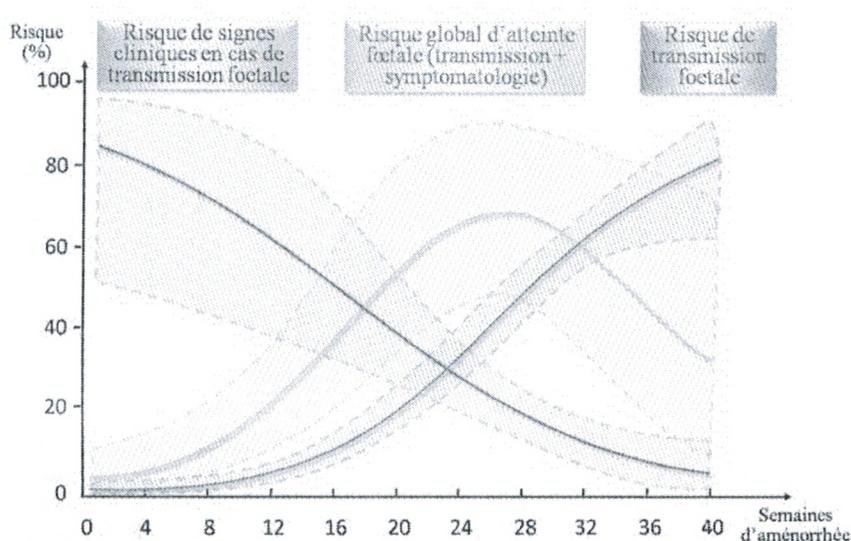


Fig16 : PRONOSTIC FŒTAL DE L'INFECTION TOXOPLASMIQUE MATERNELLE d'après Dunn et al, Lancet

Le diagnostic peut être fait en période anténatale, à la naissance et par un suivi de l'enfant.

VI.3.1. Diagnostic anténatal :

Le diagnostic anténatal sera proposé en cas de séroconversion maternelle ou de suspicion d'infection survenue en cours de grossesse.

Le diagnostic anténatal, mis au point par Desmots, Daffos, Forestier et coll. en 1985, repose sur trois éléments: *l'échographie, l'amniocentèse et l'analyse du sang fœtal.*

VI.3.1.1 .L'échographie de morphologie fœtale :

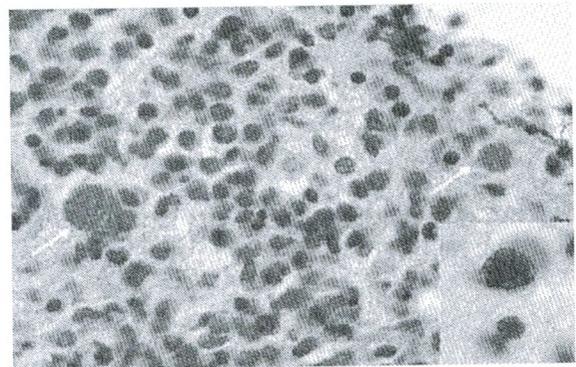
Cet examen, non invasif, permet de détecter les malformations fœtales à l'exception des atteintes oculaires ; il est très sensible surtout après la 20^{ème} semaine d'aménorrhée.

-Une surveillance échographique mensuelle est pratiquée à la recherche de signes évocateurs de toxoplasmose congénitale : dilatation des ventricules cérébraux, hépatomégalie fœtale, ascite fœtale, calcifications intracrâniennes.

Fig17 : Toxoplasmose cérébrale

- *Atteinte cérébrale :*

Les lésions les plus fréquemment visualisées à l'échographie sont corticales (le cervelet étant rarement atteint par le parasite), et ceci d'autant plus que la contamination a été précoce pendant la grossesse.



On peut observer **une dilatation ventriculaire**, habituellement bilatérale et symétrique qui peut

apparaître en l'espace de quelques jours, ainsi des **calcifications intracrâniennes** correspondant à **des foyers de nécrose du parenchyme cérébral** si une toxoplasmose fœtale contractée **avant 12 SA**.

Avant 16 SA, on verra apparaître une **hydrocéphalie** chez **50%** des fœtus qui est considérée comme un mauvais pronostic neurodéveloppemental.

Donc, les signes échographiques sont d'autant plus fréquents et importants que l'infection est survenue précocement. En cas de doute sur l'interprétation des images échographiques, l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) peut être une aide au diagnostic.



Aspect échographique



Aspect en IRM in utero

Illustration18 : Dilatation ventriculaire fœtale.
(Collection F. Peyron, Laboratoire de Parasitologie- Mycologie, Lyon)

- *Atteinte multisystémique:*

Images intestinales hyperdenses, augmentation de l'épaisseur du placenta, hépatomégalie et hyperdensités hépatiques, ascite, épanchement pleural ou péricardique peuvent également être observés.

L'absence d'anomalies échographiques ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic de toxoplasmose congénitale et des anomalies peuvent apparaître même tardivement, justifiant ce rythme mensuel de surveillance.

NB :

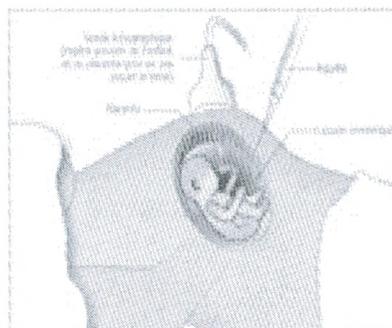
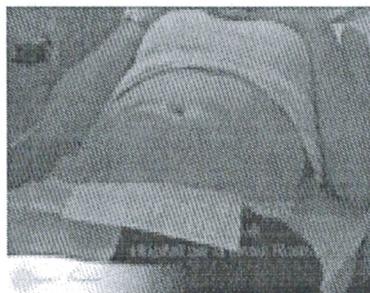
En plus des autres atteintes il existe ***l'atteinte oculaire*** mais cette atteinte ne pourra être mise en évidence qu'après la naissance, avec la réalisation d'un fond d'oeil (FO) puisqu'il n'existe pas de technique d'imagerie pour évaluer le niveau d'atteinte rétinienne anténatale. On ne peut se baser que sur les données anatomopathologiques après analyse des produits d'IMG (Interruption Médicale de Grossesse) et les constatations pédiatriques.

VI.3.1.2-L'amniocentèse : (ou ponction de liquide amniotique) :

Elle a constitué un progrès considérable dans le diagnostic anténatal de la toxoplasmose congénitale ; elle est réalisée en même temps que le prélèvement de sang fœtal.

Intérêt : Elle est pratiquée afin de prouver ou éliminer une contamination fœtale en mettant en évidence le parasite dans le liquide amniotique (LA).

Technique : Le prélèvement de liquide amniotique (de **10 à 20 ml**) peut être réalisé à partir de la **18^{ème}** semaine d'aménorrhée par ponction transpariétale sous contrôle échographique. Ce geste indolore est fait en ambulatoire avec un risque faible d'incident (**environ 0,5%**) ; il est recommandé de le pratiquer au moins **4 semaines** après la date estimée de l'infection maternelle pour éviter les faux négatifs dus à un retard dans la transmission du toxoplasme de la mère au fœtus.



NB :

La **colonisation du placenta**: c'est un préalable. Il y a toujours un délai entre l'infection placentaire et le passage au fœtus. Celui ci est plus fréquent en fin de grossesse quand l'organe est plus développé et mieux irrigué.

Sur ce prélèvement il est recommandé d'effectuer la recherche d'ADN toxoplasmique par **PCR** (avec un délai de réponse de 2 à 3 jours) et d'y associer systématiquement l'inoculation à la souris (délai 4-6 semaines), ces deux techniques sont parfois complétées par une recherche de parasites en **culture cellulaire** lorsque le liquide amniotique est hémorragique (la présence de sang peut inhiber la PCR).

Pour l'inoculation aux souris, une surveillance sérologique est instituée, trois et six semaines après l'inoculation, avec mise en évidence de kystes intracérébraux en cas de virage.

Pour la mise en culture sur cellules, la réponse est plus rapide que pour l'inoculation à la souris. Entre le 4^{ème} et le 7^{ème} jour, on peut mettre en évidence les parasites par une détection immunologique en immunofluorescence. Mais la sensibilité est inférieure à celle des techniques d'inoculation qui est de l'ordre de 75% pour le sang fœtal et 70% pour le liquide amniotique. Par contre, le délai de réponse de ces dernières est peu compatible avec l'angoisse des patientes.

L'association des 2 techniques (PCR et inoculation) permet d'obtenir **une sensibilité de l'ordre de 80% et d'isoler la souche de toxoplasme.**

L'existence de faux négatifs (liés notamment à des transmissions tardives du toxoplasme de la mère à l'enfant) justifie la surveillance de tout enfant à risque. Lorsque la contamination a lieu en fin de grossesse, certaines équipes préfèrent déclencher l'accouchement pour effectuer un diagnostic néonatal précoce.

Techniques de recherche de *Toxoplasma gondii* dans le liquide amniotique

Principe	Délai
<ul style="list-style-type: none">• amplification d'une séquence génomique de <i>T.gondii</i> (B1, P30, TGR1) après hybridation de l'ADN par une paire d'amorces spécifiques.• révélation des produits d'amplification après électrophorèse.	24 à 48 heures
<ul style="list-style-type: none">• mise en évidence de kystes toxoplasmiques dans le cerveau des souris inoculées.	6 semaines
<ul style="list-style-type: none">• inoculation sur fibroblastes embryonnaires humains (MRC5).• mise en évidence des parasites par immunofluorescence indirecte.	4 jours

VI.3.1.3- Le contrôle de pureté du sang fœtal :

Il convient, pour pouvoir interpréter convenablement l'analyse du sang prélevé sous guidage échographique (cordocentèse), de s'assurer qu'il s'agisse de sang fœtal pur.

Les principaux critères de pureté sont révélés par l'analyse hématologique et biochimique. En particulier :

- l'étude de la courbe de répartition de volume des hématies montre une *macrocytose* avec *anisocytose*.
- La formule leucocytaire est à forte dominante lymphocytaire.

- La positivité du test de Kleihauer, un taux faible de **13 HCG** et de **cholestérol**.

→ sont les **principaux marqueurs de pureté utilisés**.

En pratique le laboratoire doit être en mesure de vérifier ces critères très rapidement, dans l'heure qui suit le prélèvement, afin de les communiquer au préleveur.

Le contrôle immunologique du phénotype i des globules fœtaux peut être effectué extemporanément de même que la détermination du rhésus fœtal qui permet, dans le cas de rhésus maternel négatif, d'effectuer une injection de **gamma globulines antiD**.

✓ **La recherche de signes non spécifiques :**

Ce sont des signes généraux d'infection fœtale, qui prennent toute leur valeur dans le contexte bien précis d'une **toxoplasmose pergravidique**. Il s'agit de modifications biologiques qui doivent être interprétées en fonction des valeurs normales du laboratoire, calculées sur des sangs fœtaux de même terme.

Les principaux signes sont:

- Un *syndrome hématologique*, associant une *hyperleucocytose avec éosinophilie*, et une *thrombopénie*. La thrombopénie, même modérée, est de mauvais pronostic. Il convient à cet égard de s'assurer très particulièrement de la pureté du prélèvement de sang fœtal, car la présence d'une quantité minimale de liquide amniotique dans le prélèvement peut entraîner une fausse thrombopénie par agrégation.

- des signes de souffrance hépatique: élévation des gamma GT, de la lacticodéshydrogénase (LDH) et de la 50 nucléotidase, sont également élevés en cas d'infection fœtale;

- une hausse des IgM totales signe l'hyperactivité du système immunitaire humoral. Ce dernier signe est le plus fréquent avec l'élévation des enzymes hépatiques. L'étude des lymphocytes T (CD4/CD8), les dosages d'interféron gamma et du complément C4 peuvent compléter le diagnostic.

✓ **Les signes spécifiques indirects :**

Ce sont des signes sérologiques. On va rechercher plus particulièrement la présence d'IgM fœtales qui signe le contact avec le parasite. Les techniques ultrasensibles par immunocapture (ISAGA ou ELISA) trouvent ici une excellente application. Mais la synthèse d'IgM par le fœtus est lente et faible, et les études prospectives ont montré qu'elles n'étaient retrouvées que chez **25%** des fœtus infectés. La recherche d'IgA spécifiques peut apporter un complément. Les premières études ont montré leur présence avec ou sans présence d'IgM spécifiques, des IgE antitoxoplasmiques ont pu être également retrouvées → Ces dosages constituent une aide pour affirmer la contamination du fœtus. Toutefois, ici aussi il est indispensable de s'assurer de l'absence de la moindre trace de contamination du prélèvement par du sang maternel.

✓ **Les signes spécifiques directs :**

La PCR ; l'inoculation et la culture apportent la preuve formelle de l'infection foetale. Elles sont pratiquées sur sang foetal et liquide amniotique.

La PCR est plus rapide et plus sensible et peut détecter moins de 10 tachyzoites ; sa sensibilité est de **64%** ; la performance de cette technique dépend du moment de la contamination et de la date du prélèvement.

La présence d'ADN parasite n'indique pas forcément des lésions graves. Le diagnostic de toxoplasmose foetale est porté sur l'interprétation de l'ensemble des signes. Dans certains cas, ce diagnostic peut être fait en **24 heures**: une réaction PCR positive complétée par deux signes biologiques sanguins, même non spécifiques, Remontre, en effet, la présence du parasite et son pouvoir pathogène. La décision thérapeutique peut alors être prise immédiatement, sans attendre le résultat des cultures.

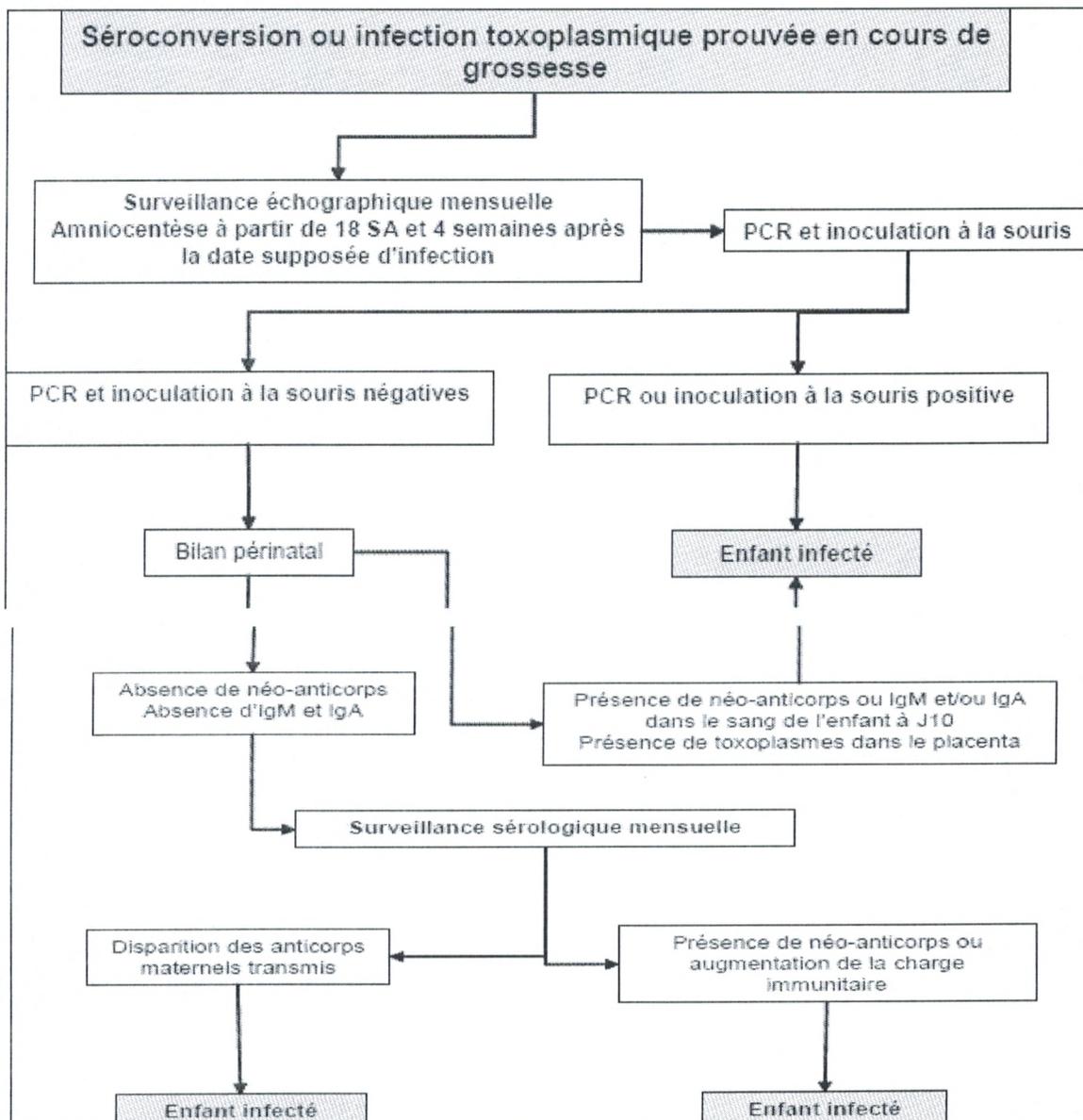


Figure 19 : Stratégie de diagnostic d'une toxoplasmose congénitale devant une séroconversion ou une infection toxoplasmique récente pendant la grossesse

VI.3.2. Diagnostic néonatal :

Il est effectué systématiquement ; quelque soit le résultat du diagnostic anténatal.

A la naissance, les prélèvements à effectuer systématiquement comprennent :

- d'une part, un fragment de placenta et du sang du cordon prélevé sur anticoagulant pour la mise en évidence du toxoplasme.
- et d'autre part, du sang de l'enfant et du sang de la mère pour la détection d'une synthèse d'anticorps spécifiques.

Le volume de placenta à prélever doit être suffisamment important pour assurer une bonne sensibilité de l'examen : un volume **de 100 à 200 g** est recommandé.

➤ Les diverses techniques de recherche du toxoplasme (PCR, inoculation à la souris) peuvent être appliquées à ce prélèvement, la sensibilité de la détection du parasite dans le placenta pour le diagnostic de toxoplasmose congénitale est de l'ordre de **60 à 70%**, elle diminue à **25%** lorsque les enfants ont été traités *in utero* par l'association *pyriméthamine + sulfamides*.

➤ Le diagnostic immunologique repose sur la détection d'anticorps synthétisés par l'enfant, témoin de son contact avec l'antigène toxoplasmique au cours de la vie intra-utérine.

Les anticorps de classe IgM ou IgA ne traversant pas la barrière placentaire, contrairement aux anticorps IgG ; ils sont les meilleurs témoins de l'infection congénitale. Leur recherche doit reposer sur des techniques très sensibles basées sur le principe de l'immunocapture.

La sensibilité de détection de ces isotypes est dépendante de la date de contamination maternelle. Généralement, la performance de détection des IgA paraît supérieure à celle des IgM (aux alentours de **70% et 65%**, respectivement).

➤ La recherche des IgG spécifiques néo-synthétisés par l'enfant repose sur des techniques qualitatives d'immunoblot ou d'ELISA avec comparaison des profils d'anticorps IgG de la mère et de l'enfant.

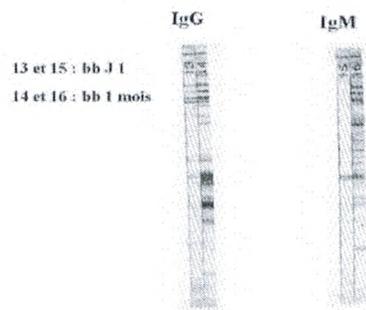
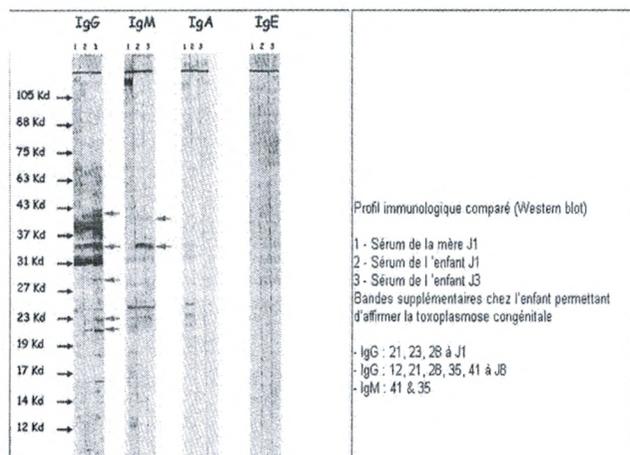


Fig20 : Profil immunologique comparé (sérum de la mère et de l'enfant) par Western blot.

Ces 2 techniques peuvent être aussi appliquées à la détection des IgM ou des IgA, voire des IgE. Elles ont une sensibilité supérieure aux techniques classiques.

En combinant les techniques détectant les différents isotypes spécifiques, le diagnostic de toxoplasmose congénitale est porté dans **96 à 98%** des cas au cours des trois premiers mois de vie.

- La comparaison de la charge immunitaire sérique du nouveau-né et de celle de sa mère permet également le diagnostic lorsque la charge immunitaire chez l'enfant est significativement supérieure (**3 à 4 fois**) à celle de la mère.

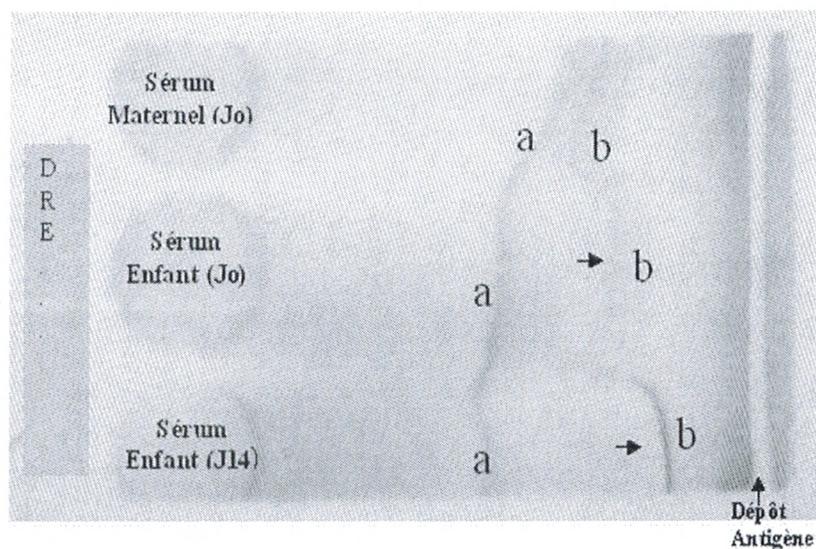


Figure21 : PIC ELIFA IgG Mère-Enfant - Enfant atteint

Donc ;

Le bilan néonatal de toxoplasmose congénitale comprend :

- ▶ Une **étude du placenta** avec recherche du parasite (technique PCR et inoculation à la souris). Si le diagnostic anténatal entrepris s'est révélé positif, on considère l'enfant comme atteint de toxoplasmose congénitale, l'étude placentaire est alors inutile.
- ▶ Une **sérologie de la mère** à la naissance.

► Une **sérologie de l'enfant à J3** au moment des examens systématiques de dépistage.

Seuls les IgG maternelles passent la barrière placentaire. La mise en évidence d'anticorps néo-synthétisés par l'enfant, IgM ou IgA signe une contamination du fœtus pendant la grossesse. Les techniques ELIFA et Western Blot permettent de différencier IgG maternelles et IgG produites par l'enfant.

La **sérologie au sang du cordon** n'est pas systématique car nous ne sommes jamais sûrs d'avoir uniquement du sang de l'enfant au prélèvement.

► Un **bilan clinique et neurologique complet** : L'examen clinique des premiers jours de vie permet d'exclure une toxoplasmose grave neurologique ou généralisée.

Pendant le séjour en maternité doivent être prévus :

- une **radiographie du crâne** à la recherche de calcifications intracrâniennes,
- une **échographie transfontanellaire (ETF)** à la recherche d'anomalies cérébrales,
- un **fond d'oeil (FO)** à la recherche d'une chorioretinite, qui est un élément capital du diagnostic et du pronostic de la toxoplasmose.

(**NB** : La rétine est le lieu d'élection des lésions toxoplasmiques, essentiellement dans la région maculaire (2/3 des cas). C'est la couche interne qui est le plus souvent le siège d'une nécrose importante dans laquelle des kystes sont retrouvés).

- Si les calcifications intracrâniennes sont nombreuses ou de grande taille, on peut envisager une **tomodensitométrie cérébrale (TDM)** pour un décompte exhaustif de ces lésions.

V.6.3.3. Diagnostic postnatal :

Même en cas de négativité du diagnostic à la naissance, la surveillance sérologique de l'enfant est poursuivie avec un contrôle mensuel.

Les éléments en faveur d'une toxoplasmose congénitale seront alors :

- 1) l'apparition d'IgG spécifiques néo-synthétisés par l'enfant (de façon qualitative par immunoblot ou ELIFA, ou quantitative par comparaison des charges immunitaires).
- 2) l'ascension ou l'absence de diminution du taux des anticorps IgG au cours de la première année de vie. En l'absence de toxoplasmose congénitale, les anticorps maternels disparaissent en **5 à 10 mois**, en fonction du taux initial.

VI.4. Diagnostic de la toxoplasmose chez l'immunodéprimé :

Le diagnostic de la toxoplasmose chez le patient immunodéprimé repose sur des arguments biologiques, cliniques, radiologiques et thérapeutiques.

Tomodensitométrie cérébrale : Le diagnostic d'abcès intracérébral à toxoplasme est posé par le scanner avec injection de produit de contraste et clichés tardifs (30 min.).

L'IRM est plus sensible que le scanner. Elle peut visualiser des images anormales (hypersignaux) non détectées en TDM : elle sera pratiquée en deuxième intervention en cas de normalité du scanner.



Fig22 : scanner crane TOXOPLASMOSE SUR VIH AVEC taux CD_4 à $20/mm^3$ et crise tonico-cloniques.

La **sérologie** permet d'orienter le diagnostic, mais n'apporte que rarement un argument décisif (ceci quelle que soit la méthode utilisée pour le titrage des anticorps).

- ✓ L'observation d'une sérologie **négative** permet d'exclure le diagnostic d'une toxoplasmose cérébrale sauf en cas d'immunodépression très profonde.
- ✓ L'observation d'une sérologie **positive** indique une infection toxoplasmique mais ne permet généralement pas de juger de son évolutivité, car les "marqueurs" habituels d'une infection aiguë tels que titre élevé d'IgG, présence d'IgM ou d'IgA, indice d'avidité bas, sont le plus souvent absents chez les malades immunodéprimés.

Seule la confrontation avec les données radiologiques et cliniques, voire thérapeutiques (traitement d'épreuve) permettra d'affirmer le diagnostic.

Il faut noter cependant que l'observation d'un titre élevé d'anticorps et/ou une réactivation sérologique (augmentation des IgG) chez les patients VIH+ ayant un taux de $CD_4 < 200/mm^3$ sont indicateurs d'un risque plus élevé de survenue ultérieure d'une toxoplasmose.

Il en est de même en cas de présence d'anticorps dirigés contre certains antigènes de *T. gondii* le titrage des anticorps dans le liquide céphalo-rachidien est peu contributif. Il doit obligatoirement être effectué parallèlement au titrage dans le sérum, avec détermination des charges immunitaires. Une charge immunitaire dans le LCR **3 à 4 fois** supérieure à celle du sérum permet

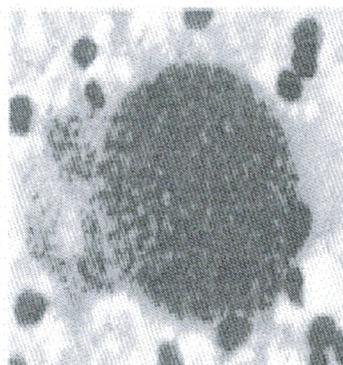
de conclure à une production locale d'anticorps spécifiques et donc de suspecter une atteinte cérébrale.

L'immunoblot peut être pratiqué pour mettre en évidence une production locale d'anticorps dans le LCR.

En l'absence d'argument sérologique fiable, **la mise en évidence de parasites** peut apporter la preuve formelle d'une toxoplasmose évolutive.

En pratique, elle est réalisée sur des prélèvements de sang périphérique, LBA, moelle osseuse pour le diagnostic d'une localisation de toxoplasmose extra-cérébrale.

Dans les cas de toxoplasmose cérébrale, la parasitémie est le plus souvent négative ; seule la recherche sur biopsie cérébrale peut être contributive mais elle est de moins en moins pratiquée, en raison du risque lié au prélèvement. Sur tous ces prélèvements, on privilégiera les techniques permettant un diagnostic rapide : examen direct après coloration (MGG, RAL) et PCR.



Biopsie cérébrale montrant la rupture d'un kyste de T. gondii. Coloration Giemsa, grossissement 1000. Coll. Pr. M. Huerre, Institut Pasteur, Paris.

La **PCR réalisée sur le LCR**, lorsqu'elle est positive, permet de poser le diagnostic de toxoplasmose cérébrale. En revanche, sa négativité ne permet pas d'infirmer le diagnostic.

	Toxoplasmose	
	Cérébrale	Extra-cérébrale
Sérologie positive*	100 %	90 %
Présence d'IgM	10-20 %	≈10-20 %
Isolement de <i>T. gondii</i> (biopsie, LBA, moelle, sang)		
-par examen direct	≈10 %	≈50 %
-par culture	≈10 %	90-100 %
-par PCR	20-40 %	90-100 %
Imagerie (scanner, IRM)	+++	±
Epreuve thérapeutique	+++	++

*(Données du Laboratoire de Parasitologie, Hôpital St-Louis, non publié)
quel que soit le titre

Tableau : Eléments du diagnostic de la toxoplasmose de l'immunodéprimé

*Dans les cas de **primo-infection** (contamination par le greffon) la sérologie reste contributive, toutefois avec un retard d'apparition des anticorps en rapport avec les traitements immunosuppresseurs, ce qui justifie la recherche directe en cas de signe clinique évocateur.

Par contre, chez **les greffés d'organe** plein séropositifs pour le toxoplasme en pré-greffe, une réactivation sérologique portant sur les IgG est possible en post-greffe, parfois accompagnée de la réapparition des autres isotypes, mais le plus souvent sans conséquence clinique.

Chez les patients immunodéprimés, il faut dans la mesure du possible récolter un sérum dès le diagnostic de l'immunodépression pour faire un dépistage. On **abaissera le seuil de positivité** (2 UI/ml pour le dye test) pour ne pas rater de patients présentant un risque de réactivation ou séroconversion.

Physiopathologie de la toxoplasmose chez les malades immunodéprimés :

- Primo-infection chez un sujet immunodéprimé.
- Réactivation d'une toxoplasmose acquise antérieurement.

Primo infection

Immunodépression

- Transfusion (très rare)
- Transplantation d'organe (cœur-rein)

Dissémination

Localisée

Primo-infection---Kystes---Rechute

Immunodépression

Généralisée

- Sida.
- Greffe de moelle allogénique.
- Maladie de Hodgkin.
- Déficit de l'immunité cellulaire.

En conclusion ; la sérologie de la toxoplasmose reste peu contributive au diagnostic d'une toxoplasmose évolutive chez les patients immunodéprimés mais elle est un élément essentiel du bilan et du suivi de ces patients car elle permet d'identifier le risque de survenue d'une toxoplasmose et de proposer les mesures préventives adaptées.

VI.5. Diagnostic de la toxoplasmose oculaire :

Le diagnostic de rétinohoroïdite toxoplasmique est à évoquer en cas de toxoplasmose congénitale, chez les patients immunodéprimés séropositifs pour la toxoplasmose et dans de rares cas de toxoplasmose récemment acquise.

Chez le sujet connu comme infecté *in utero*, l'apparition d'une rétinohoroïdite, même tardive, ne justifie généralement pas une confirmation biologique du diagnostic, car c'est avant tout un diagnostic ophtalmologique. Dans les autres cas, la preuve de l'origine toxoplasmique peut être fournie par la mise en évidence d'une synthèse locale d'IgA ou d'IgG spécifiques en comparant la charge immunitaire de l'humeur aqueuse avec celle du sérum correspondant ; calcul du **coefficient de Goldman-Witmer** ou en réalisant une analyse comparée des spécificités des anticorps **par immunoblot ou ELIFA**.

Le coefficient C de Desmots permet d'évaluer la production d'anticorps anti-toxoplasmiques dans l'humeur aqueuse, prélevée par ponction de chambre antérieure (pca).

$$C = \frac{\text{anticorps antitoxoplasmiques dans l'humeur aqueuse}}{\text{Immunoglobulines totales dans l'humeur aqueuse}} \div \frac{\text{anticorps antitoxoplasmiques sériques}}{\text{Immunoglobulines totales sériques}}$$

Il y a production locale d'anticorps si C est **supérieur à 3 et probable entre 2 et 3**.

La PCR pratiquée sur l'humeur aqueuse ou le vitré peut être positive même en l'absence de production locale d'anticorps.

La positivité de ces examens est un bon argument pour le diagnostic de la toxoplasmose oculaire; leur négativité ne permet pas de le récuser formellement.

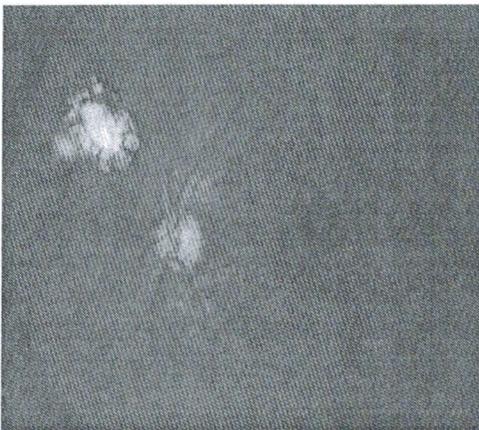
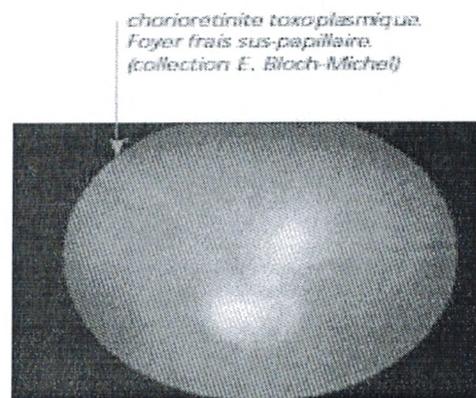


Fig23 : Lésion toxoplasmique cicatricielle périphérique
(Photo Pr André Mathis CHU Toulouse-France)



*chorioretinite toxoplasmique.
Foyer frais sus-papillaire.
(collection E. Bloch-Michel)*

Traitement et Prophylaxie

I-Le traitement :

Le schéma thérapeutique est différent selon les circonstances d'une toxoplasmose. Cette dernière n'est potentiellement grave que dans deux cas : la grossesse et les déficits profonds de l'immunité cellulaire.

Les choix thérapeutiques sont limités par le faible nombre de molécules actives sur *T. gondii* et le manque d'information sur leur efficacité ou leur tolérance chez la femme enceinte. De plus, les traitements sont essentiellement efficaces lors de la phase aiguë de la maladie et ils sont basés sur l'action de certains antibiotiques tels que :

- ✓ la **spiramycine**, macrolide dont l'activité sur le ribosome est avant tout *parasitostatique*;
- ✓ la **pyriméthamine**, inhibiteur de la synthèse de l'acide folique agissant sur la dihydrofolate réductase parasitaire (biosynthèse des nucléoprotéines).
- ✓ ou encore la **sulfadiazine** inhibant la déhydroptéroate synthétase, enzyme essentielle dans la synthèse des folates.

Parmi les différentes associations d'antibiotiques, seules :

- ✓ L'association **pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar®)**.
- ✓ L'association **pyriméthamine-sulfadiazine (Malocide®-Adiazine®)**.

Ont fait la preuve d'une grande efficacité sur *T. gondii*, cette efficacité est liée au fait que ces 2 médicaments (**pyriméthamine-sulfadiazine**) agissent en cascade sur la voie de synthèse des folates, produisant un effet synergique et permettant ainsi de potentialiser l'effet anti-parasitaire.

I-1. Traitement de la Toxoplasmose acquise :

La toxoplasmose acquise chez l'immunocompétent, hors grossesse ne nécessite généralement pas de traitement. La *Rovamycine*® peut être prescrite en cas de persistance de signes cliniques.

I-2. Traitement de la Toxoplasmose acquise pendant la grossesse:

En cas de séroconversion la *Rovamycine*® (9MUI/J) doit être prescrite, pour diminuer la transmission materno-foetale, pendant toute la grossesse, et au moins jusqu'à la discussion avec un centre spécialisé.

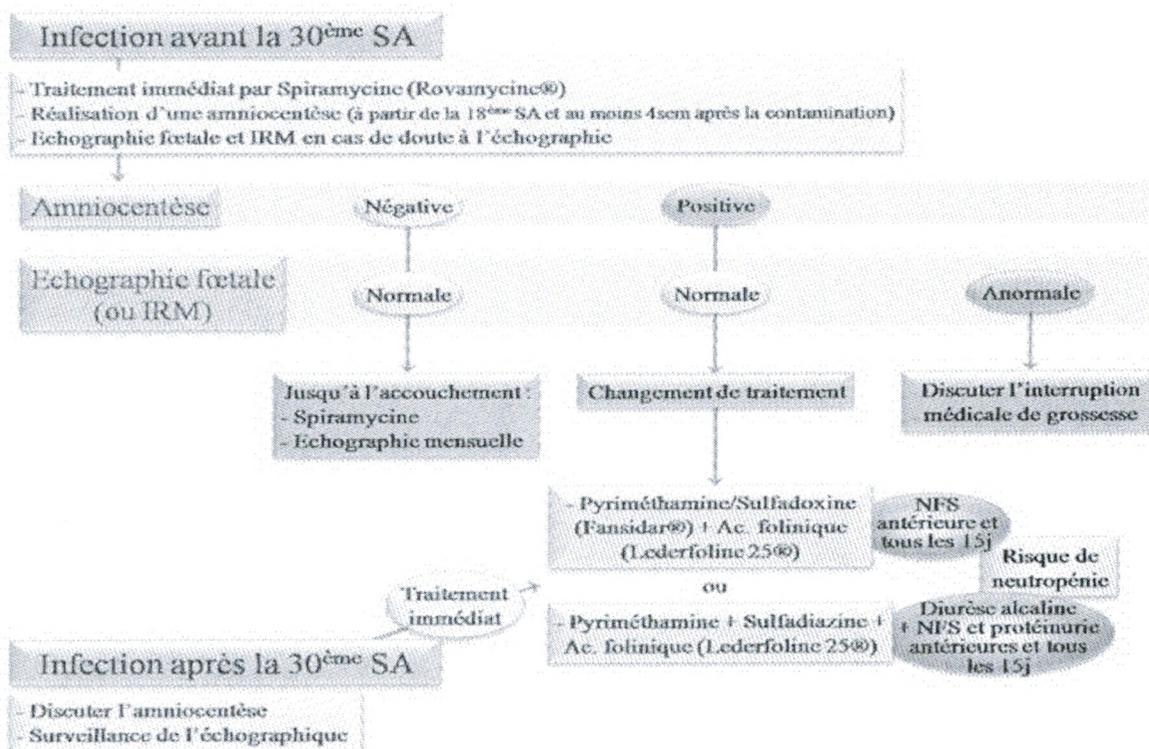
I-3. Traitement de la Toxoplasmose fœtale:

Si la séroconversion survient au 2^{ème} trimestre de grossesse, et si le résultat de l'amniocentèse est **négatif**, le traitement par *Rovamycine*® sera poursuivi.

S'il est **positif** (toxoplasmose congénitale prouvée), le traitement pourra être soit *Fansidar*[®], soit *Malocide*[®]-*Adiazine*[®] (associés à de l'acide folique –*Osofolate*[®]- per os) L'interruption médicale de grossesse n'est à discuter qu'en cas de lésions fœtales avérées à l'échographie.

Ses indications sont aujourd'hui très rares. Au 3^{ème} trimestre, le traitement peut d'emblée faire appel au *Fansidar*[®] ou à l'association *Malocide*[®]-*Adiazine*[®].

Prise en charge d'une séroconversion au cours de la grossesse

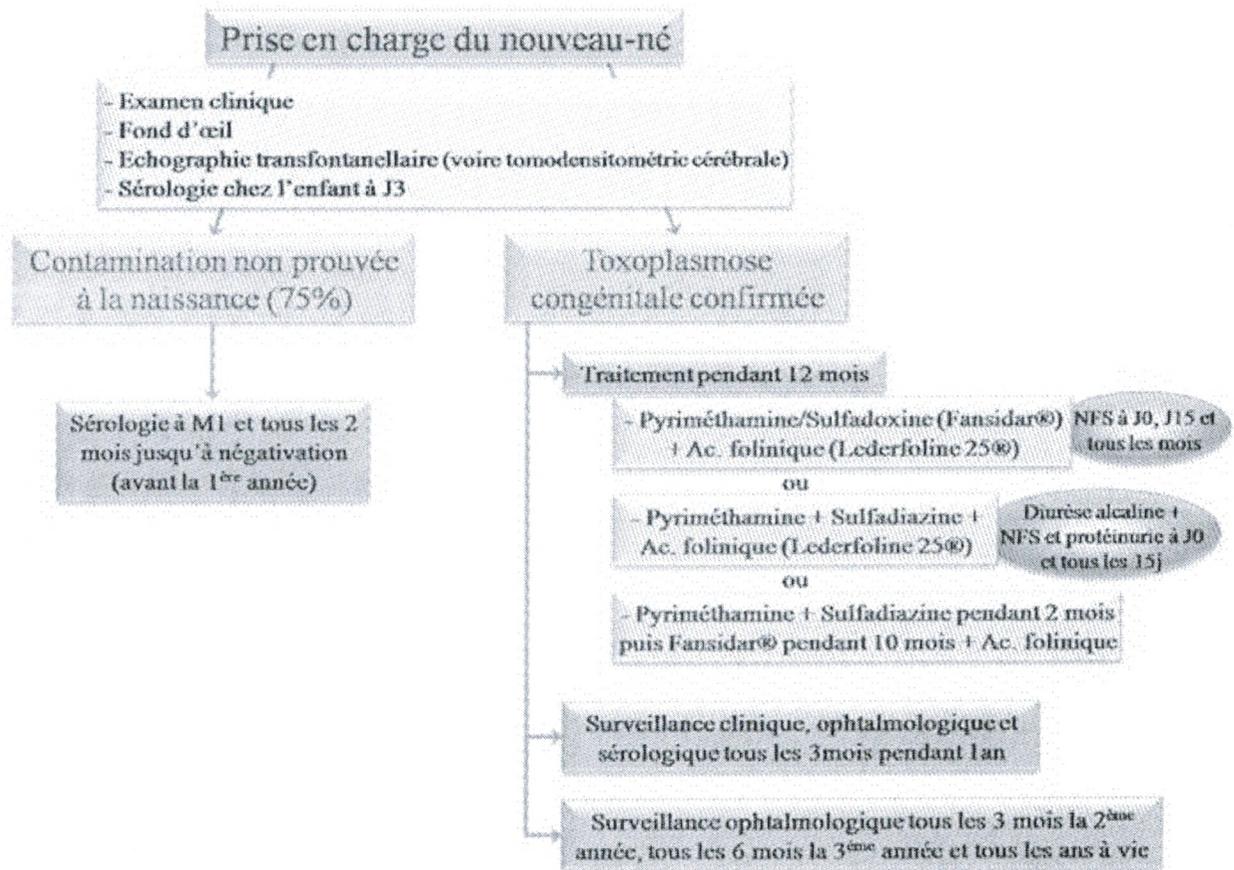


Traitement anténatal (ROMAND et THULLIRZ, 2003).

Indications	Médicaments	Posologie	Durée
Infection maternelle en cours de grossesse	Spiramycine (Rovamycine [®])	3 g / jour	Jusqu'à l'accouchement
Infection foetale ou infection maternelle tardive	Pyriméthamine (Malocide [®])	50 mg / jour 3 g / jour	Jusqu'à l'accouchement
	Sulfadiazine (Adiazine [®])	50 mg / semaine	
	Acide folinique (Lederfoline [®])		

I-4. Traitement A la naissance :

Si l'infection du nouveau-né n'est pas prouvée, aucun traitement n'est prescrit pendant la durée du suivi clinique et sérologique. En cas de toxoplasmose congénitale (clinique et/ou sérologique) un traitement par *Fansidar*[®] ou *Malocide*[®]-*Adiazine*[®] sera instauré pour un an (selon protocoles).



I-5. Traitement de la Toxoplasmose chez l'immunodéprimé et la toxoplasmose oculaire :

Les médicaments utilisés sont principalement le *Malocide*[®] et l'*Adiazine*[®] même si plusieurs autres sont évalués ou parfois utilisés chez les immunodéprimés (surtout les patients atteints de SIDA): *clindamycine*, *hydroxynaphtoquinone*, *clarithromycine*...

Le *Bactrim* est prescrit dans le cadre de la prophylaxie primaire des réactivations toxoplasmiques chez les patients VIH+. Le *Fansidar*[®] peut être utilisé pour le traitement des chorioretinites toxoplasmiques.

Traitements associés :

- Acide folinique (*Léderfoline*[®], *Osfolate*[®]) : 10 à 25 mg/j (réduit l'hématotoxicité de la pyriméthamine),
- Anti-oedémateux en cas d'hypertension intracrânienne (*Mannitol*[®], *corticoïdes*),
- Anticomitial : *Rivotril*[®] en cas de crise, *Dépakine*[®] en traitement de fond,

- une alcalinisation des urines (eau de Vichy) est nécessaire pour éviter la précipitation de la sulfadiazine dans les voies urinaires,
- le traitement antirétroviral est habituellement interrompu pendant la durée du traitement d'attaque pour limiter le cumul des toxicités.

● **Évolution :** Rechute fréquente dans la toxoplasmose du sujet immunodéprimé en cas d'arrêt du traitement, le traitement peut prévenir les séquelles des enfants symptomatiques ou asymptomatiques ayant une toxoplasmose congénitale.

I-6. Traitement chez les greffés d'organes et de moelle osseuse :

Le traitement préventif est indispensable lorsque le receveur de la moelle osseuse ou le donneur d'organes sont séropositif pour le toxoplasma.

Pour le receveur de la moelle osseuse le traitement préventif est débuté un **mois** après l'allogreffe et est maintenu pendant **six mois**.

Pour le receveur d'organes solide le traitement est maintenu au moins pendant les **trois premiers mois** poste greffe.

REMARQUE :

L'efficacité partielle des traitements disponibles, l'application aléatoire et non contrôlée des mesures de précautions recommandées, le suivi fastidieux qu'impose la menace toxoplasmique durant la grossesse...sont autant d'arguments en faveur de la mise en place **d'une vaccination** contre la toxoplasmose zoonose. *Mais quels en seraient les objectifs et les cibles : animaux destinés à la consommation, chat, homme... ?*

Le coût d'une vaccination systématique des animaux de boucherie serait très élevé, de plus, le vaccin vivant atténué existant chez les ovins prévient les avortements sans pour autant garantir une protection contre l'infection et son efficacité sur d'autres animaux reste à évaluer.

Aucun vaccin n'existe pour l'heure ni chez le chat, ni chez l'homme et les nombreuses études en cours sur animaux de laboratoire restent à un stade peu avancé du fait des contraintes éthiques qui s'appliquent en expérimentation humaine.

II-Prophylaxie :

II-1.Chez la femme enceinte :

Il y a des règles hygiéno-diététiques à suivre dont l'efficacité est prouvée telles que :

- Eviter les contacts avec les chats et leur litière.
- Si vous avez un chat à la maison, faites l'examiner et éventuellement traiter par votre vétérinaire.
- Bien cuire la viande (dans toute son épaisseur à une température de 67°C) ; éviter la consommation de viande fumée ou grillée, préférez le poisson et la volaille en cas de repas en dehors du domicile.
- Lavez-vous les mains soigneusement après avoir manipulé de la viande saignante, ou de la terre potentiellement souillée, ou bien porter des gants en cas de manipulation et se laver les mains avant chaque repas
- Lavez soigneusement les fruits et les légumes, privilégier les légumes cuits, éviter la consommation des crudités.
- Faire laver, le bac à litière du chat avec de l'eau bouillante, ou porter des gants.
- Porter des gants pour jardiner.
- Laver à grande eau les ustensiles de cuisine ainsi que les plans de travail.
- Congeler les denrées d'origine animale à des températures inférieures à **-18°C** (congélation pendant au moins 3 jours à -18°C).

À titre de précaution, sont déconseillés les aliments suivants :

- Lait de chèvre cru.
- Viande marinée, saumurée ou fumée.
- Huîtres, moules et autres mollusques
- consommés crus

Chez toutes les femmes, un examen sérologique est obligatoire avant la grossesse ou lors de l'examen prénuptial, en l'absence d'immunité, il sera refait dès que le diagnostic de grossesse est posé, et répété tous les mois afin de dépister une séroconversion dont la découverte trop tardive est cause de la plupart des échecs.

II-2.Chez l'immunodéprimé :

II-2.1.Pour l'immunodéprimé HIV positifs, séronégatif pour la toxoplasmose :

Les mêmes mesures hygiéno-diététiques leur sont conseillées avec un control du taux des **CD₄** tous les **trois mois**. Une sérologie toxoplasmique tous les **six mois**.

II-2.1Chez l'immunodéprimé séropositif :

Déjà contaminé par la toxoplasmose, on instaure une chimioprophylaxie par *Malocide*[®] ou *Bactrim*[®] lorsque le taux de lymphocytes **T CD₄** devient inférieur à **300/mm³**.

II-3.Chez les greffés allogéniques de moelle osseuse :

- Une PCR par semaine jusqu'au **100^{eme} j** puis tous les **15jours** jusqu'au **180^{eme} j** post greffe.
- Les patients non immunisés doivent suivre les mêmes mesures hygiéno-diététiques.

Conclusion

Conclusion :

Il ne fait aucun doute que, globalement, la toxoplasmose est très répandue dans l'ensemble de la population humaine avec de réelles différences d'exposition selon les pays et plus précisément selon les régions et les forts taux observés sont la conséquence du climat, du niveau socioéconomique de ces populations et des habitudes culturelles ; en plus ; la diversité génétique du toxoplasme qui semble au cœur de sa pathogénicité pour cela et en raison de l'importance de cette maladie en médecine humaine et vétérinaire, et de l'absence de vaccins adaptés ou qui protègent totalement contre cette maladie ; une meilleure connaissance de la diversité génétique de *Toxoplasma gondii* est une condition préalable afin d'élucider les caractéristiques biologiques, la structure de parasite et une meilleure compréhension de la dynamique des populations de *Toxoplasma gondii* qui est cruciale afin d'évaluer les risques en terme de santé publique et fondamentale pour la conception de nouvelles stratégies de contrôle et de surveillance de ce parasite et en fin de développée *une vaccin qui protège réellement contre la toxoplasmose.*

Liste des abréviations :

Ac : anticorps
ADHS : Agglutination directe haute sensibilité
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AG : Age Gestationnel
Ag : antigène
CIRMF : Centre International de Recherches Médicales de Franceville
ELIFA: Enzyme Linked Immuno Filtration Assay
ELISA: Enzyme Liked Immuno Sorbent Assay
ETF : Echographie Transfontanellaire
FO : Fond d'œil
HD : Hôte Définitif
HI : Hôte intermédiaire
Ig : Immunoglobuline
IgG, IgM, IgA, IgE : Immunoglobulines de type G, M, A, E
IMG : Interruption Médicale de Grossesse
IFN γ : interferon gamma
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
ISAGA : Immuno Sorbent Agglutination Assay
Kg : kilogramme
LA : Liquide Amniotique
LBA: Liquide Broncho-Alvéolaire
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien
mg : milligramme
mL : millilitre
MO: Microscope Optique
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PCR : « Polymerase Chain Reaction »
PLA : Ponction de Liquide Amniotique
SA : Semaines d'Aménorrhée
SIDA : Syndrome ImmunoDéficientaire Acquis
UI : Unités Internationales
VIH : Virus de l'immunodéficiencce humaine

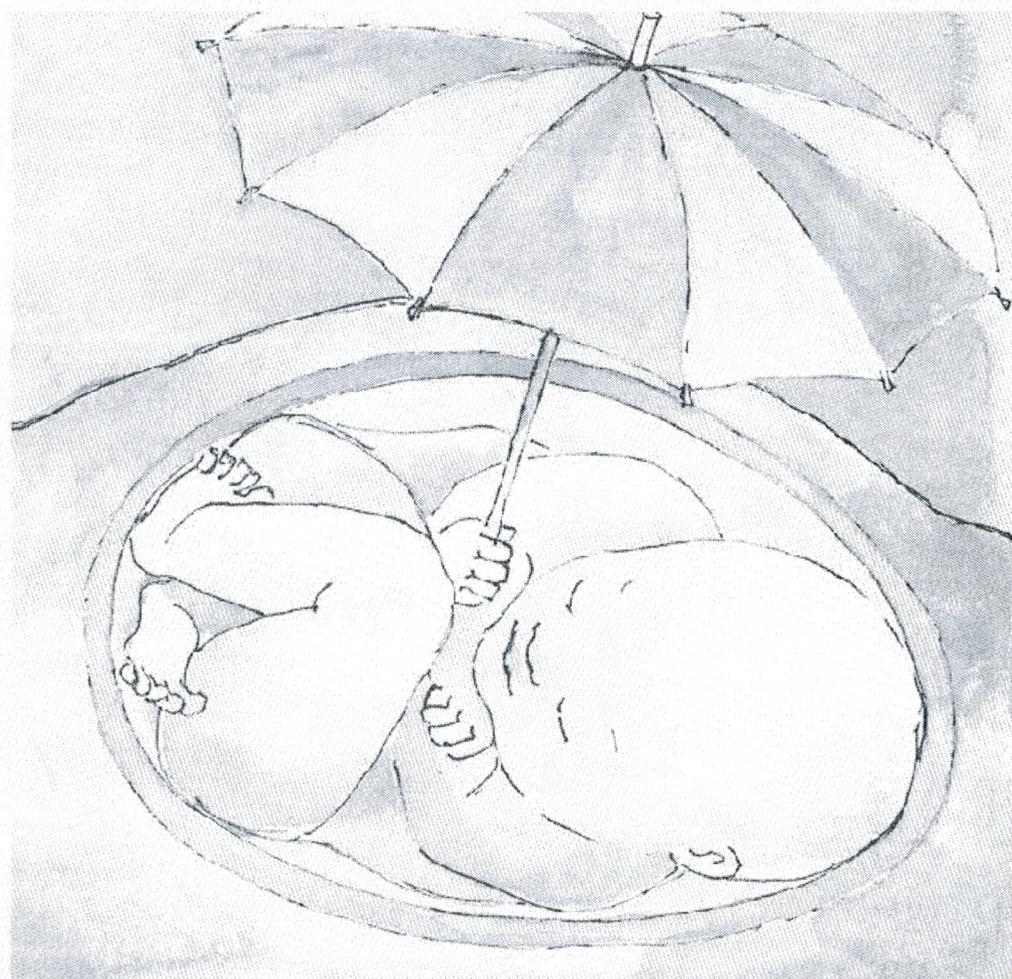
Dictionnaire :

- **APICOMPLEXA:** Phylum de protozoaires intracellulaires dépourvus d'organites locomoteurs, se déplaçant par glissement favorisé par l'actine.
- **BRADYSCHIZOGONIE:** Désigne la multiplication asexuée lente des protozoaires intracellulaires en localisations exentérales chez leurs hôtes intermédiaires. Ce processus fait suite aux *tachyschizogonies*. Il assure la formation de nombreux *bradyzoïtes*, contenus dans les kystes. La *bradyschizogonie* caractérise la phase chronique, non pathogène, du processus infectieux ; elle est liée à une réaction immunitaire de l'hôte. En cas de rupture de l'immunité, la *bradyschizogonie* fait place à une nouvelle *tachyschizogonie*.
- **Choriorétinite :** OEdème localisé dans la région maculaire, d'aspect pseudo-kystique aboutissant à un décollement de la rétine.
- **COMPLEXE APICAL:** Structure antérieure du germe infectieux des protozoaires parasites du phylum des Apicomplexa, jouant un rôle très important dans la pénétration dans la cellule hôte. Il montre, en microscopie électronique, diverses formations : *conoïde* (inconstant), *microtubules*, *anneau polaire antérieur*, *rhoptries*, *micronèmes*, *micropore*.
- **CYCLE DIXENE (HETEROXENE):** Le cycle évolutif comporte deux hôtes : l'hôte définitif et un hôte intermédiaire.
- **CYCLE EVOLUTIF:** Processus biologique suivi par un parasite depuis sa naissance jusqu'à sa maturité et au cours duquel il passe par plusieurs états morphologiques et biologiques. Le cycle évolutif s'accomplit chez un ou plusieurs hôtes selon différentes modalités.
- **CYCLE MONOXENE:** Absence d'hôte intermédiaire, le cycle évolutif ne comprend qu'un seul hôte. La transmission à l'hôte définitif se fait à partir de l'environnement.
- **déglutition :** Acte réflexe par lequel le bol alimentaire passe de la bouche dans l'oesophage, puis l'estomac.
- **Hydrocéphalie :** Augmentation du volume du liquide céphalo- rachidien, entraînant, chez l'enfant une augmentation du volume de la boîte crânienne et une insuffisance du développement intellectuel.
- **Ictère :** Coloration jaune de la peau, due à la présence dans le sang et dans les tissus, notamment dans la peau, de pigments biliaires (Jaunisse).
- **Macrocéphalie :** Augmentation du volume du crâne.
- **MACROGAMETOCYTE:** Schizozoïte subissant la méiose pour former le gamète femelle mature (ou MACROGAMETE) pendant la phase de reproduction sexuée du cycle de certains sporozoaires.
- **MICROGAMETOCYTE:** Schizozoïte subissant la méiose pour former le gamète mâle mature (ou MICROGAMETE) pendant la phase de reproduction sexuée du cycle de certains sporozoaires.
- **Méningo- encéphalite :** Inflammation simultanée de l'encéphale et des méninges.
- **Myélite :** Inflammation de la moelle épinière.
- **Purpura :** Petites hémorragies due à la rupture des capillaires dans l'épaisseur du derme et provoquant l'apparition de taches rougeâtres sur la peau
- **Splénomégalie :** Augmentation du volume de la rate.
- **Hypertonie :** Augmentation de la tonicité musculaire.
- **Hypotonie :** Diminution de la tonicité musculaire.

Références bibliographiques :

- **Ambroise Thomas P., Cristina N.** Résultats et perspectives apportés par les sondes moléculaires et par l'amplification (PCR) dans la toxoplasmose, Bull. Acad. Nat. 1991.
- **ANOFEL** · Toxoplasmose. Parasitologie-Mycologie, 6ème édition, 1998.
- **Bessièrès M-H, Berrebi A, Roques C, Cassaing S, Bloom MC, Rolland M.** Toxoplasmose et grossesse in : Maladies infectieuses courantes à transmission materno-fœtale et Règles d'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose acquise. **Éditions Doin, 2000.**
- **BOUGNOUX M.-E., HUBERT B. (1990):Toxoplasmose congénitale : bilan de la prévention primaire en France.**
- **Cazanave JBroussin BCambeilh .**Détection rapide de toxoplasmes par PCR: un apport au diagnostic anténatal. Presse Méd., 1992.
- **Couvreur J. Desmonts F. AronRosa D.** Le pronostic oculaire de la toxoplasmose congénitale, rôle du traitement. Ann. Pédiatr., 1984.
- **Fichoux Y., Marty P., Chan H.** Les IgA sériques spécifiques dans le diagnostic de la toxoplasmose. Ann. Pédiatr., 1987.
- **GUESSOUS-IDRISSI N, LAHLOU D, SEFIANI R & BENMIRA A –** La toxoplasmose et la rubéole chez la femme : résultats d'une enquête sérologique. Pathol Biol, 1984.
- **H. Pelloux.** Toxoplasmose congénitale : prévention chez la femme enceinte et prise en charge du nouveau-né. Archives de Pédiatrie 2002.
- **MEKOUAR A –** Contribution de l'épidémiologie de la toxoplasmose. Sérologie de la toxoplasmose. **Thèse (Bordeaux), 1972.**
- **REMINGTON JS, MCLEOD R & DESMONTS G –** Toxoplasmosis. Infectious diseases of the foetus and newborn infant. Philadelphia. WB Saunders, 1995.
- **ROBERT-GANGNEUX F, VIELJEUF C, TOURTE-SCHAEFER C & DUPOUY-CAMET J –** Apport de l'avidité des anticorps dans la datation d'une séroconversion toxoplasmique
- www.biokit.com.
- www.biolabo.fr.
- www.doctissimo.com.
- www-sante.ujf-grenoble.fr.

FUTURES MAMANS



**Vous devez protéger
votre enfant
contre la toxoplasmose**