

FACULTE DE MEDECINE

ANNEE 2003

N° SP20/03

**MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
BIOLOGIE MEDICALE**

Soutenu devant le Jury interrégional
Le 14 mai 2003
Par M. Franck YVERNOGEAU
Conformément aux dispositions de l'Arrêté
Du 10 septembre 1990 tient lieu de :

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE**

TOXOPLASMOSE CONGENITALE : APPORT DU DIAGNOSTIC
ANTE ET NEONATAL.
ETUDE RETROSPECTIVE SUR 2 ANS.

JURY

PRESIDENT : Monsieur le Professeur MARJOLET

MEMBRES : Madame le Professeur BILLAUDEL
Madame le Docteur GRAS

DIRECTEUR DE THESE : Madame le Docteur MORIN

**TOXOPLASMOSE CONGENITALE :
APPORT DU DIAGNOSTIC ANTE ET
NEONATAL.
ETUDE RETROSPECTIVE SUR 2 ANS.**

BU Santé
Nantes

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	2
LISTE DES ABREVIATIONS	5
INTRODUCTION	6
GENERALITES	7
1 HISTORIQUE	7
2 TAXONOMIE	8
3 GEOGRAPHIE	8
4 MORPHOLOGIE DU PARASITE	10
4 1 Le TACHYZOITE ou TROPHOZOITE (figure 1)	10
4 2 L'OOCYSTE: ou forme de résistance dans le milieu extérieur (53, 54)	12
4 3 Le KYSTE : ou forme de résistance dans le milieu intérieur.	12
5 LES CYCLES DU PARASITE : (figure 2)	13
5 1 Evolution chez l'hôte définitif	13
5 2 Evolution chez un hôte intermédiaire	15
6 LES MOLECULES DE TOXOPLASMA GONDII ET SON GENOME (figure 3)	16
6 1 Structure antigénique	16
6 2 Génome	17
7 MODES DE TRANSMISSION	19
8 FORMES CLINIQUES	20
8 1 La toxoplasmose de l'adulte sain	20
8 2 La toxoplasmose du malade immunodéprimé	20
8 3 La toxoplasmose congénitale	22
9 TOXOPLASMOSE CONGENITALE	22
9 1 Epidémiologie	22
9 1 1 Modes de contamination	22
9 1 2 Situation épidémiologique en France	22
9 2 Physiopathologie	23
9 3 Immunité anti-toxoplasme	25
9 3 1 Immunité humorale	25
9 3 2 Immunité cellulaire (figure 4)	26
9 4 CLINIQUE	28
9 4 1 Toxoplasmose congénitale grave : environ 10% des cas	28

9 4 1 1 Contamination précoce	29
9 4 1 2 Contamination plus tardive	30
9 4 2 Toxoplasmose congénitale bénigne	30
9 4 3 Toxoplasmose congénitale latente	30
9 5 Traitement	31
9 5 1 Les molécules	31
9 5 2 Les indications (Annexe 1)	32
9 6 Prévention	33
9 6 1 Prévention primaire (Annexe 2)	33
9 6 2 Prévention secondaire	33
9 6 3 Prévention tertiaire	34
10 DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE CONGENITALE	34
10 1 Diagnostic de la toxoplasmose maternelle	34
10 1 1 Les techniques	35
10 1 1 1 Techniques utilisant des antigènes figurés	35
10 1 1 2 Techniques utilisant des antigènes solubles	37
10 1 2 Cinétique des anticorps et interprétation des résultats sérologiques (figure 5)	38
10 2 Diagnostic anténatal	41
10 2 1 L'échographie	42
10 2 2 Les examens biologiques	42
10 2 2 1 La ponction de sang fœtal	42
10 2 2 2 Prélèvement de liquide amniotique (PLA) ou amniocentèse.	43
10 2 2 3 Signes spécifiques	43
a) IgM spécifiques	43
b) IgA spécifiques	43
c) Inoculation à la souris	44
d) Cultures cellulaires	44
e) Techniques de biologie moléculaire	44
10 2 2 4 Les signes non spécifiques	46
10 3 Diagnostic néonatal	47
10 3 1 Bilan clinique	47
10 3 2 Bilan para clinique	48
10 3 3 Bilan parasitologique	48
10 3 3 1 Etude du placenta	48
10 3 3 2 Etude du sang de cordon et du sang de bébé	49
10 3 4 Bilan sérologique	49
ETUDE PERSONELLE	50
I MATERIEL ET METHODES	50
I 1 Population étudiée	50
I 2 Diagnostic de toxoplasmose maternelle	50
I 2 1 Définitions	50
I 2 2 Techniques	51
I 2 2 1 Recherche d'IgG	51
I 2 2 2 Recherche d'IgM	51
I 2 2 3 Recherche d'IgA	51
I 3 Diagnostic anténatal	52

I 4 Diagnostic néonatal	52
II RESULTATS	53
II 1 Toxoplasmose maternelle	53
II 1 1 Date de séroconversion	53
II 2 Diagnostic anténatal	54
II 3 Diagnostic néonatal	57
II 3 1 Etude du placenta	57
II 3 2 Etude du sang de cordon	57
II 3 2 1 Inoculation à la souris	57
II 3 2 2 Sérologie des sangs de cordon.	58
III SUIVI DES NOUVEAUX NES	59
DISCUSSION	60
I DIAGNOSTIC ANTE NATAL	60
II DIAGNOSTIC NEONATAL	61
III SUIVI DES NOUVEAUX NES	64
CONCLUSION	65
ANNEXE 1	66
ANNEXE 2	67
ANNEXE 3	68
LISTE DES TABLEAUX	73
LISTE DES FIGURES	74
BIBLIOGRAPHIE	75

BU Santé
Nantes

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac	: Anticorps
ADN	: Acide désoxyribonucléique
Ag	: Antigène
CD	: Classe de différenciation
CIVD	: Coagulation intra-vasculaire disséminée
CTL	: lymphocytes cytotoxiques
ELIFA	: Enzyme Linked ImmunoFiltration Assay
ELISA	: Enzyme Linked ImunoSorbent Assay
Ig	: Immunoglobuline
IFI	: Immuno-Fluorescence-Indirecte
INF	: Interferon
ISAGA	: ImmunoSorbent Agglutination Assay
ITG	: Interruption thérapeutique de grossesse
KD	: Kilo dalton
LA	: Liquide amniotique
LCR	: Liquide céphalo rachidien
NaOH	: Soude
NK	: Natural killer cell
PCR	: polymerase chain reaction
PLA	: ponction du liquide amniotique
PSF	: ponction de sang fœtal
SA	: Semaines d'aménorrhée
SBB	: Sang de bébé
SC	: Sang de cordon
SF	: Sang fœtal
SIDA	: Syndrome d'immuno déficience acquise
TC	: toxoplasmose congénitale
Th	: H helper ; cellule T auxiliaire
VIH	: Virus d'immuno déficience humaine
VPN	: Valeur prédictive négative
VPP	: Valeur prédictive positive
WB	: Western Blot

INTRODUCTION

La toxoplasmose congénitale (TC) résulte de la transmission au fœtus par voie placentaire du parasite *Toxoplasma gondii* à la suite d'une toxoplasmose acquise pendant la grossesse. Cette infection contractée in utero peut entraîner une pathologie chez le fœtus ou secondairement chez le nouveau-né, l'enfant, l'adolescent et parfois l'adulte.

Le risque de contamination fœtale est globalement de 30% mais il varie avec la date de l'infection maternelle ; en effet il croît régulièrement du début à la fin de la grossesse. A l'inverse le risque de fœtopathie grave est d'autant plus faible que la séroconversion est tardive.

La TC du fait de sa fréquence (1 à 2 cas pour mille naissances) et la gravité des lésions oculaires ou neurologiques, constitue un réel problème de santé publique. En France, le risque de séroconversion chez les femmes enceintes séronégatives est compris entre 0.4 et 1.6%. La surveillance sérologique imposée par la législation permet le diagnostic d'une infection acquise pendant la grossesse, de déterminer la contamination maternelle, d'évaluer le risque fœtal et d'instituer un traitement précoce.

En cas de séroconversion confirmée pendant la grossesse, le diagnostic anténatal est entrepris, comprenant une surveillance échographique régulière et un bilan parasitologique et immunologique. Ce bilan est réalisé à partir des prélèvements de sang fœtal (de moins en moins pratiqués) et surtout maintenant de liquide amniotique permettant la mise en route des méthodes diagnostiques performantes notamment grâce aux techniques de biologie moléculaire.

Un diagnostic anténatal positif permet d'affirmer la fœtopathie et d'entreprendre un traitement parasiticide par l'association pyriméthamine - sulfamide, hormis dans les cas de malformations décelées à l'échographie pour lesquelles une interruption thérapeutique de grossesse (ITG) peut être proposée.

A la naissance, surtout lors de la négativité du diagnostic anténatal un bilan est nécessaire comprenant des examens cliniques, para-cliniques et biologiques. Il permet de dépister les formes infra-cliniques et les enfants infectés pour lesquels le diagnostic anténatal est négatif.

Le risque évolutif de la maladie, avec ses complications oculaires et neurologiques impose un suivi clinico-biologique de l'enfant.

Nous présenterons ici une étude rétrospective sur 2 ans de juillet 1994 à septembre 1996, de 95 dossiers de femmes ayant fait une séroconversion pendant la grossesse et pour lesquelles nous avons réalisé un bilan anténatal avec diagnostic par biologie moléculaire, un bilan néonatal et un suivi des enfants jusqu'en 2002.

GENERALITES

1 HISTORIQUE

En 1908, NICOLLE et MANCEAUX décrivent chez un rongeur sauvage, *Ctenodactylus gondii*, un protozoaire qu'ils nomment *Leishmania gondii*. La même année SPLENDORE l'isole d'un lapin au Brésil.

En 1909 le parasite est nommé *Toxoplasma gondii* sur des critères morphologiques (toxon = croissant ou arc).

Le premier cas humain est publié par WOLF, LOWEN et PAIGE en 1939, il s'agit d'un nouveau-né décédé d'une encéphalomyélite aiguë.

A posteriori, on sait que l'observation faite en 1923 de l'ophtalmologiste tchécoslovaque JANKU correspondait à des kystes toxoplasmiques décrits sur des coupes rétiniennes d'un nouveau-né présentant hydrocéphalie et rétinite.

En 1940 : premier cas rapporté chez un adulte par PINKERTON et WEINMANN, décrivant la mort d'un adolescent dans un tableau de maladie généralisée avec d'importantes adénopathies et des plages de nécrose dans plusieurs organes.

SABIN et FELDMAN en 1948, mettent au point le "dye-test" ou test de lyse des toxoplasmes qui reste aujourd'hui encore la méthode de référence de titrage des IgG anti-toxoplasmiques.

Il faut attendre 1968 pour la recherche des IgM en Immuno-Fluorescence Indirecte (Test de REMINGTON).

Au début des années 1970, de nombreux travaux (HUTCHINSON, WORK, FRENKEL) conduisent à l'identification de l'oocyste comme agent infectieux des fèces du chat, permettant de classer *T. gondii* parmi les coccidies ; le nom officiel devant être *Isopora gondii*.

FRENKEL en 1970 et MILLER en 1972 confirment le chat dans son rôle d'hôte définitif

2 TAXONOMIE

Toxoplasma gondii est une coccidie à multiplication intra-cellulaire obligatoire placée dans l'embranchement APICOMPLEXA regroupant les parasites à complexe apical.

LEVINE présente sa classification en 1988

Classe	: SPOROZOASIDA.
Sous-classe	: COCCIDIASINA.
Ordre	: EUCOCCIDIORIDA.
Sous-ordre	: EIMERIORINA.
Famille	: SARCOCYSTIDAE.
Sous-famille	: TOXOPLASMATINAE.

T. gondii est la seule espèce du genre TOXOPLASMA.

3 GEOGRAPHIE

La toxoplasmose est une parasitose cosmopolite mais sa prévalence est très variable selon les zones géographiques.

On explique habituellement ces différences par trois facteurs essentiels : les habitudes alimentaires, la présence de félinés dans l'environnement et les conditions d'hygiène.

Quelque soit le pays, la prévalence augmente avec l'âge:

- En AFRIQUE : la prévalence augmente dans les zones humides et en ville. De 4% en zone rurale et sahélienne au Niger, jusqu'à 70% dans les zones humides de Côte d'Ivoire.

- En ASIE : la prévalence est très faible.

- Dans le PACIFIQUE : on a peu de données et elles sont contrastées, de 0% en Nouvelle-Guinée à 90% en Polynésie.

- En AMERIQUE DU NORD : la prévalence va de 5% dans l'Oregon, à 30% dans l'état de New-York.

- En AMERIQUE DU SUD : la situation est également contrastée avec des chiffres allant de 10 à 90% ; la prévalence est de 63% en Guyane Française.

- En EUROPE : on distingue trois groupes de pays :

 - à prévalence élevée (50-75%) : Allemagne, Benelux, France.

 - à prévalence faible (<30%) : Scandinavie, îles britanniques.

 - à prévalence intermédiaire (30-50%) : Europe méditerranéenne.

- En FRANCE : les régions du centre et du sud ont les taux les plus élevés, alors que la Bretagne a une prévalence plus faible (13, 106)

4 MORPHOLOGIE DU PARASITE

Le toxoplasme existe sous trois formes :

4 1 Le TACHYZOITE ou TROPHOZOITE (figure 1)

Se présente sous forme d'une cellule asymétrique en forme de croissant ou d'arc, de 6 à 8 μm de long sur 3 à 4 μm de large, dépourvue d'appareil locomoteur. L'extrémité antérieure est effilée et mobile tandis que l'extrémité postérieure est plus large et plus arrondie. On peut observer, par des colorations pan-optiques, le noyau sphérique de 1 à 2 μm de diamètre.

En microscopie électronique, on observe le complexe apical situé dans la partie antérieure et comprenant un conoïde, des rhoptries, des micronèmes et des granules denses; les organites classiques sont répartis dans le parasite : une mitochondrie unique et ramifiée, un réticulum endoplasmique et de nombreux ribosomes ; en arrière du noyau, quelques grains d'amylopectine et en avant, l'appareil de Golgi.

Le trophozoïte se multiplie par endodyogénèse (deux cellules filles se forment à l'intérieur de chaque parasite) dans les cellules du système phagocytaire mononucléé ; il provoque des lésions nécrotiques dans les tissus où il se développe. Très fragile dans le milieu extérieur, sa diffusion dans l'organisme se fait par voie sanguine et lymphatique.

Chez la femme enceinte il peut atteindre le fœtus après une étape de multiplication au niveau du placenta.

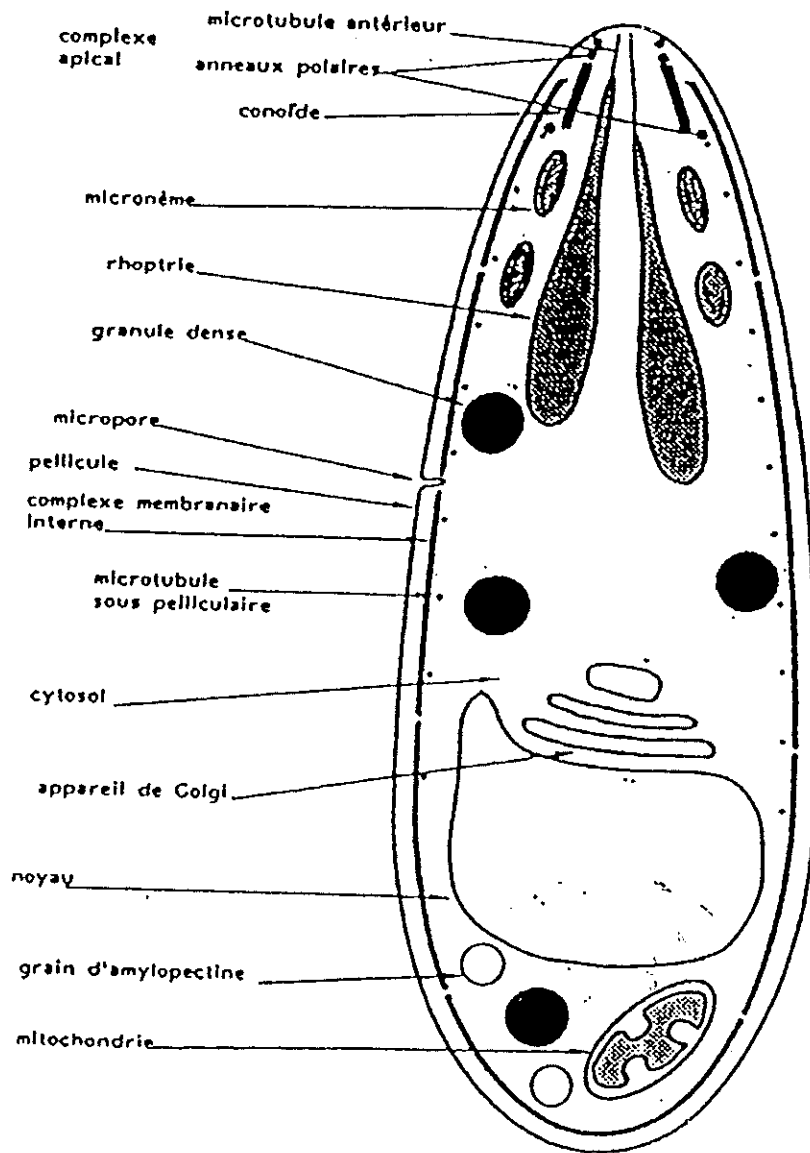


Figure 1 : *Toxoplasma gondii*, forme tachyzoïte (60).

4 2 L'OOCYSTE: ou forme de résistance dans le milieu extérieur (53, 54)

C'est un oeuf diploïde de 10 à 12 μm entouré d'une coque très résistante. Cette forme parasitaire résulte de la fusion d'un élément mâle (microgamète) et d'un élément femelle (macrogamète) c'est-à-dire d'une reproduction sexuée (gamogonie) qui se déroule dans l'intestin de l'hôte définitif, le chat.

L'oocyste est éliminé dans les fèces du chat et survit dans la terre et sur les végétaux, parfois plus de dix-huit mois. La température inférieure à 37° C et la présence d'oxygène entraînent la sporulation: trois divisions cellulaires aboutissent en un à cinq jours à la formation de deux sporocystes elliptiques de 6 à 8 μm de diamètre contenant chacun quatre sporozoïtes haploïdes.

Le sporozoïte ou forme infestante est morphologiquement comparable au tachyzoïte mais avec une abondance particulière de micronèmes et de rhoptries.

4 3 Le KYSTE : ou forme de résistance dans le milieu intérieur.

C'est une forme quiescente siégeant préférentiellement dans le système nerveux central et les muscles striés, y-compris le myocarde, mais qu'on peut retrouver au niveau des autres viscères ou de l'œil.

Il se développe à partir du cytoplasme de la cellule hôte et est entouré d'une membrane d'origine à la fois parasitaire et cellulaire imperméable aux anticorps et aux médicaments actifs sur les tachyzoïtes.

Il contient des bradyzoïtes, éléments morphologiquement très proches des tachyzoïtes mais plus petits, plus résistants et au métabolisme très ralenti.

La taille du kyste peut varier considérablement: de 12 μm contenant 2 à 6 bradyzoïtes jusqu'à plus de 100 μm contenant 3000 bradyzoïtes.

Les formes kystiques sont responsables d'infections chroniques et récidivantes par rupture de leur paroi qui libère les parasites.

5 LES CYCLES DU PARASITE : (figure 2)

Deux cycles sont connus en fonction de l'hôte chez lequel *T. gondii* se développe:

- Un cycle sexué, uniquement dans les cellules de l'épithélium intestinal d'un félin aboutissant à la production d'oocystes.
- Un cycle asexué, chez tous les animaux homéothermes avec deux formes parasitaires : le tachyzoïte et le kyste tissulaire.

5 1 Evolution chez l'hôte définitif

Les oocystes sont formés chez un hôte définitif qui est habituellement le chat (*Felis catus*). D'autres félins peuvent être impliqués : l'ocelot (*F. pardalis*), le puma (*F. concolor*) ou le tigre d'Asie (*Panthera tigris tigris*).

L'hôte définitif se contamine le plus souvent en chassant, donc en ingérant des kystes à partir de rongeurs sauvages ou d'oiseaux ; ou par contamination tellurique après ingestion d'oocystes mûrs souillant la terre et les végétaux. Le parasite (bradyzoïte ou sporozoïte) libéré de son enveloppe externe par les sucs digestifs pénètre dans une cellule épithéliale de l'iléon.

Dans une vacuole de cette cellule intestinale s'effectue la multiplication asexuée qui est une schizogonie durant quarante-huit heures aboutissant à la formation de nombreux mérozoïtes.

Après une ou plusieurs schizogonies la reproduction sexuée ou gamogonie commence par la différenciation de certains mérozoïtes en éléments sexuels :

- Les microgamétocytes mâles qui libèrent, après division de leur noyau, les microgamètes mobiles grâce à leur flagelle.
- Les macrogamétocytes femelles qui ne se divisent pas.

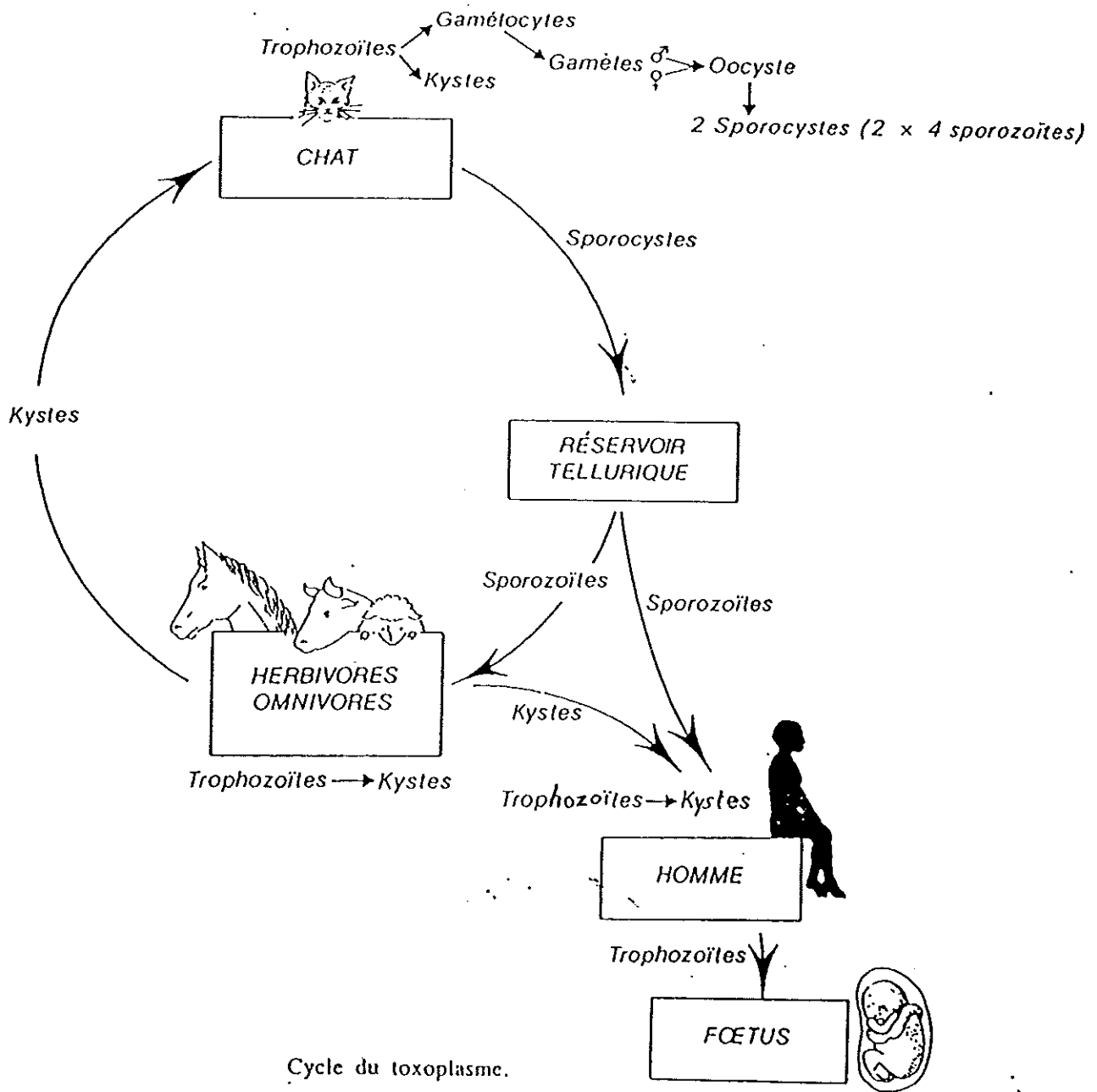


Figure 2 : cycle de transmission du toxoplasme (d'après Fortier et Coignard-1996).

La fusion d'un microgamète et d'un macrogamète est aussitôt suivie de la formation de la paroi de l'oocyste. Cet oocyste non sporulé, quand il est émis dans les fèces du chat représente le seul stade diploïde du cycle de *T. gondii*.

L'émission des oocystes par le chat commence douze jours après l'ingestion d'oocystes, dix-neuf jours après l'ingestion de tachyzoïtes et seulement trois à dix jours après l'ingestion de kyste qui est le cas le plus fréquent; l'émission ne dure qu'une à trois semaines mais la quantité émise est massive (53).

L'oocyste atteint sa maturité après la sporogonie dans le milieu extérieur.

5 2 Evolution chez un hôte intermédiaire

Il peut s'agir d'un oiseau ou d'un mammifère.

Après contamination, généralement par ingestion de kystes ou d'oocystes sporulés, ou plus exceptionnellement de tachyzoïtes (notamment par voie transplacentaire), les toxoplasmes libérés pénètrent dans les cellules du système réticulo-endothélial afin de s'y multiplier.

Cette pénétration est un phénomène actif par lequel le toxoplasme présente son extrémité apicale à un récepteur cellulaire encore non identifié, conduisant à la formation d'une vacuole parasitophore en avant du point d'entrée où se forme un anneau ou une jonction mobile.

La membrane de la vacuole parasitophore se constitue à partir de la membrane plasmique avec intégration d'éléments d'origine parasitaire. Elle joue probablement un rôle important dans les échanges entre le parasite et sa cellule hôte et empêcherait la fusion avec les lysosomes.

Les tachyzoïtes se multiplient par endodyogénèse ; le noyau reste différencié sans condensation des chromosomes à la métaphase ; chaque cycle de multiplication, synchrone au sein d'une même vacuole dure cinq à dix heures. Pour sortir de la cellule hôte, le parasite traverse successivement la membrane de la vacuole parasitophore, le cytoplasme puis la membrane de la cellule hôte.

Les altérations provoquées par la sortie de plusieurs parasites conduisent à des lésions irréversibles et à la mort de la cellule qui en quarante-huit heures aura produit soixante-quatre à deux-cent cinquante-six tachyzoïtes.

La dissémination par voie sanguine et lymphatique provoque une réponse immunitaire humorale et cellulaire qui en quelques semaines empêche la circulation des tachyzoïtes qui vont s'enkyster dans les tissus (en particulier les muscles striés et le cerveau) sous forme de bradyzoïtes.

L'immunité acquise est sans effet sur les kystes qui vont demeurer indéfiniment dans certains tissus ; on estime que la persistance des kystes permet le maintien d'une immunité durable non stérilisante mais protectrice contre toute nouvelle contamination.

6 LES MOLECULES DE TOXOPLASMA GONDII ET SON GENOME (figure 3)

6 1 Structure antigénique

C'est une véritable mosaïque composée de plus d'un millier de molécules dont quelques-unes sont connues, essentiellement au stade tachyzoïte. Les principales molécules de surface sont quatre protéines : P43, P35, P30 et P22.

La protéine majeure membranaire est la P30 : d'un poids moléculaire de 30 kD, elle est la plus abondante, représentant 5% des protéines totales du toxoplasme. Elle est spécifique du stade tachyzoïte et elle est remarquable par la constance et la rapidité de la réponse immunitaire qu'elle suscite au cours de la primo-infection et de la toxoplasmose

congénitale. il s'agirait d'une protéine servant de ligand vis-à-vis du récepteur membranaire de la cellule hôte (67) ; l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-P30 bloque la pénétration du tachyzoïte dans la cellule ; la P30 est utilisée dans de nombreuses méthodes de séro-diagnostic.

Les antigènes métaboliques ou Excreted-Secreted Antigens (ESA) sont sécrétés puis excrétés par le parasite et constituent 90% des antigènes circulants (19). On peut citer le Penetration Enhancing Factor (PEF) qui est une hyaluronidase participant à la pénétration du tachyzoïte dans la cellule hôte.

De nombreuses molécules sont exprimées aux différents stades évolutifs du parasite notamment à sa surface : on décrit actuellement les protéines spécifiques du stade tachyzoïte (P22, P30, P35), celles du stade bradyzoïte (P18, P21, P34, P36) et certaines propres au stade sporozoïte (P25, P67).

6 2 Génome

Le génome du toxoplasme est encore mal connu, mais ces dernières années plusieurs équipes ont publié des résultats sur sa constitution.

Tous les stades de *T. gondii*, sauf le macrogamète femelle fertilisé, contiennent un ADN haploïde (21).

SIBLEY et al. en 1992 estiment la taille du génome à 80 Méga bases réparties au sein de 10 chromosomes (97).

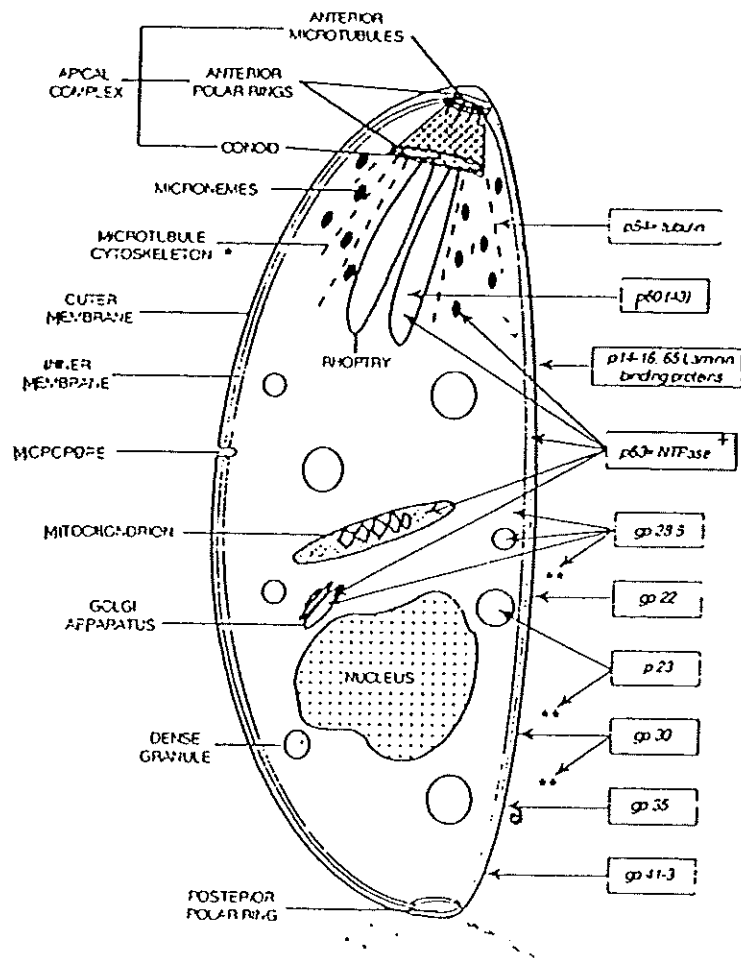


Figure 3 : représentation schématique de *Toxoplasma gondii* avec localisation des différentes protéines et glycoprotéines (MACLEOD-1991).

Les gènes connus :

- Le gène B1 est séquencé dans sa totalité mais sa fonction est inconnue ; il est présent et conservé dans toutes les souches testées et il est hautement spécifique de *T.gondii* (31), ne présentant pas de réaction croisée avec l'ADN humain ou murin ni les parasites proches.
- Le gène codant pour l'antigène majeur de surface (P30) a également une séquence entièrement connue ; il est présent et conservé dans treize souches testées et il est présent en copie unique et stable dans six souches différentes (96, 105).
- Les séquences TGR forment un système complexe de fragments d'ADN (30).
- Le gène rDNA est répété environ cent fois dans le génome (15).

Tous les gènes dont la séquence est connue, même partiellement peuvent servir de cible dans la technique d'amplification de l'ADN.

7 MODES DE TRANSMISSION

La contamination humaine est essentiellement alimentaire, soit par ingestion de viande contenant des kystes, consommée crue ou peu cuite ; soit par ingestion d'oocystes avec de l'eau ou des aliments souillés par les déjections du chat.

Les tachyzoïtes sont des formes fragiles détruites par le suc gastrique et n'entraînent donc pas de contamination orale. Ils sont responsables de la transmission trans-placentaire en cas de parasitémie chez la femme enceinte et des rares cas de transmission par greffe de moelle osseuse ou par transfusion sanguine.

La transmission est possible par greffe d'un organe contenant des kystes chez un receveur non immunisé.

Enfin, il faut signaler la contamination par inoculation directe accidentelle chez les personnels de laboratoire.

8 FORMES CLINIQUES

8 1 La toxoplasmose de l'adulte sain

Elle est en règle infra-clinique, décelée lors des examens sérologiques systématiques. Lorsqu'elle est symptomatique, elle réalise le plus souvent un tableau de lymphadénopathie.

Dans 90% des formes à expression clinique on retrouve des adénopathies occipitales et trapéziennes parfois disséminées en un ou plusieurs temps aux autres aires, cervicales surtout mais aussi axillaires, inguinales voire mésentériques, rétro-péritonéales ou médiastinales. Ces ganglions de taille moyenne, froids, indolores et mobiles peuvent durer très longtemps de quelques semaines à quelques mois et ne sont jamais suppurés.

L'histologie ganglionnaire absolument contingente au diagnostic montrerait une architecture conservée, l'existence d'une hyperplasie mixte, histiocytaire et folliculaire avec des cellules bigarrées (éosinophiles, épithélioïdes, nécrosées, immunoblastiques) et parfois le parasite.

Hormis les adénopathies, on retrouve dans 40 % des cas une asthénie parfois intense et durable et un épisode de fébricule éphémère.

D'autres signes sont plus rares : un exanthème maculo-papuleux, des myalgies, une céphalée, une myocardite et/ou une péricardite, des signes neurologiques, des arthralgies ; enfin exceptionnellement on peut voir une pneumonie interstitielle ou une atteinte hépatique.

Les examens biologiques peuvent indiquer dans un quart des cas une leucopénie avec granulopénie et syndrome mononucléosique ; rarement une monocytose et/ou une éosinophilie discrète ; exceptionnellement une anémie hémolytique et un purpura.

8 2 La toxoplasmose du malade immunodéprimé

La maladie est alors gravissime, le plus souvent due à une reviviscence d'une infection chronique elle peut également suivre une primo-infection et elle réalise une pathologie généralisée avec atteinte pluri-viscérale, pulmonaire, rénale, musculaire mais surtout encéphalitique.

La toxoplasmose représente une infection opportuniste majeure au cours du SIDA. Globalement, on estime que près de la moitié des sujets infectés par le VIH feront une toxoplasmose (73). Elle est la manifestation inaugurale du SIDA dans environ 2 % des cas mais peut être aussi une complication évolutive (100). La fréquence de la toxoplasmose chez ces malades atteint 37% si l'on tient compte des études autopsiques, et la forme cérébrale, localisation la plus fréquente de la maladie, est la première cause de lésion intra-cérébrale au cours du SIDA.

On décrit différentes formes cliniques :

- Toxoplasmose cérébrale ou encéphalite toxoplasmique dont le tableau clinique le plus classique comporte des abcès cérébraux et des signes neurologiques focaux survenant dans un contexte fébrile avec troubles de la conscience. Les lésions sont le plus souvent multiples et disséminées dans le parenchyme cérébral et les images scannographiques associent au sein d'une hypodensité une prise de contraste annulaire ou nodulaire.

L'encéphalite diffuse est plus rare et son diagnostic plus difficile ; le syndrome méningé est plus fréquent sans traduction tomodensitométrique.

- La rétinite toxoplasmique est la deuxième localisation viscérale en fréquence parfois inaugurale du SIDA, elle survient le plus souvent au cours de l'évolution quand le déficit immunitaire est très sévère.

- La toxoplasmose pulmonaire est moins fréquente (2 à 3%), elle ressemble cliniquement à la pneumocystose et présente un tableau de pneumopathie interstitielle diffuse fébrile ; le diagnostic s'attache à mettre en évidence des trophozoïtes dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA).

- La toxoplasmose disséminée survient lors des déficits immunitaires très profonds.

- D'autres localisations sont exceptionnelles et de découverte autopsique : atteintes gastriques, testiculaires, surrénaliennes, hépatiques, myocardiques. (80)

8 3 La toxoplasmose congénitale

L'infection par le toxoplasme d'une femme non immunisée en cours de grossesse expose au risque de transmission materno-foetale avec possibilité d'atteinte congénitale grave.

9 TOXOPLASMOSE CONGENITALE

9 1 Epidémiologie

9 1 1 Modes de contamination

Pendant la grossesse, la mère se contamine le plus souvent:

- Par ingestion de kystes vivants contenus dans la viande insuffisamment cuite ; viande de porc, de mouton et de bœuf mais aussi cheval voire lapin ou volaille. Les kystes sont très résistants, ne sont pas détruits par les sucs gastriques et restent viables après deux mois à 4⁰C ; en revanche, ils perdent leur pouvoir infestant en 30 mn à 50°C ou 24 mn à 56⁰C ainsi qu'après congélation et décongélation à – 20°C durant 24 heures. (44)

Il faut insister en France sur le grand nombre de contaminations dues aux viandes de mouton et d'agneau souvent consommées saignantes

- Par ingestion d'oocystes avec de l'eau ou des aliments (fruits ou crudités) souillées par des déjections félines (57). Les oocystes résistent à la digestion chlorhydropeptique, aux désinfectants chlorés habituels ; ils sont tués par le formol, l'ammoniac à 3%, la dessiccation et la chaleur à 60⁰C.

- Le risque de contamination augmente avec la présence d'un chat dans le foyer, surtout en cas de manipulation de la litière dans laquelle des oocystes ont pu sporuler.

- Les mains sales et les ustensiles de cuisine peuvent véhiculer des kystes ou des oocystes. (53)

9 1 2 Situation épidémiologique en France

La séro-prévalence pour la toxoplasmose est de 50 à 70%.(3, 13) On estime le taux de séroconversion chez les femmes enceintes non immunisées de 0,4 à 1,6%.

Le parasite est transmis dans environ 30% des cas, ce qui prédit 1 à 3 cas pour 1000 naissances, soit 700 à 3000 cas par an de toxoplasmose congénitale en France, dont 150 cas graves. (26, 84)

Dans l'étude du Réseau National de la Santé Publique T. ANCELLE a regroupé 13631 dossiers d'enfants nouveaux nés correspondant à 13459 mères ayant accouché pendant la semaine du 30/01/1995 au 05/02/1995 : 54.3% étaient immunisés, la séro-prévalence augmentant de 43 à 66% selon les tranches d'âge et variant de 38 à 68% selon les régions d'habitation.

Un total de 89 séroconversions a été observé (32 cas certains et 57 cas probables), soit 0,66%.

Ces chiffres confirment la baisse de la séro-prévalence générale dans la population des femmes en âge de procréer depuis les premières mesures du programme de prévention décidé en 1978.

9 2 Physiopathologie

Chez un sujet immunocompétent l'infection fœtale résulte du passage du toxoplasme sous la forme tachyzoïte de la mère à l'enfant par voie sanguine à travers le placenta.

La fréquence et la gravité de l'atteinte fœtale dépendent de différents facteurs:

- La virulence de la souche (35, 36)
- L'importance de la parasitémie maternelle et donc de son immunité humorale et cellulaire : au cours de la primo-infection, la parasitémie est précoce, antérieure à l'apparition des anticorps et transitoire, ainsi il est classique de dire que la toxoplasmose acquise avant la conception n'est pas transmise au fœtus pendant la grossesse.
- Le passage trans-placentaire d'anticorps maternels qui ont une double action (23, 46) ; ils limitent l'infection en lysant les parasites extra-cellulaires et en freinant leur dissémination, mais ils favorisent l'enkystement ; d'autre part, ils inhibent l'immunisation cellulaire et humorale du fœtus car les complexes immuns formés entre les antigènes toxoplasmiques et les IgG maternelles empêchent la bonne reconnaissance de ces antigènes par le fœtus.

- La barrière placentaire dont l'efficacité dépend du terme, sa perméabilité augmentant avec l'avancement de la grossesse.
- La résistance du fœtus à l'infection et son aptitude à synthétiser des anticorps.
- Le traitement institué permettant de ralentir l'évolution ou d'empêcher l'apparition de phénomènes aigus : le traitement anténatal par la spiramycine diminue de moitié l'infection placentaire, donc la transmission du parasite au fœtus (25, 49, 83) mais ne réduit pas la proportion des fœtopathies patentes.

En fait le facteur essentiel est la date de contamination maternelle.

La contamination placentaire n'est possible que pendant la phase parasitémique de la mère qui dure sept à dix jours, donc sauf cas exceptionnels, ne peuvent être transmises au fœtus que les toxoplasmoses maternelles contractées après la conception.

Il faut savoir que des récurrences parasitémiques au cours de toxoplasmoses chroniques ont été observées, de façon inexpliquée, chez des femmes immunocompétentes (88). Certaines mères immunodéprimées (VIH, traitement corticoïde) ont présenté des réactivations de kystes quiescents également responsables de toxoplasmose congénitale (50, 59, 72, 74, 87).

Une patiente dont la sérologie indique une immunisation peut être réinfestée par un inoculum massif parasitaire entraînant une infection fœtale ce qui montre la possibilité d'une nouvelle contamination par des oocystes mais ces cas sont rares (59).

Les différentes enquêtes montrent que la fréquence de transmission est d'autant plus grande que la grossesse est plus avancée au moment de la contamination maternelle.

Globalement le risque est de 30% (23, 49, 70). Pour une infection antéconceptionnelle, le risque de contamination est exceptionnel ; lors d'une contamination périconceptionnelle, le risque est évalué de 0.7 à 1.5 % (34, 49, 66). Le risque au premier trimestre est évalué à 5% avec traitement maternel et 15% sans traitement (100) ; au deuxième trimestre il atteint 25%, et au troisième 75% (26, 88).

2 études montrent le risque de transmission fœtale en fonction de la date d'infection maternelle :

Tableau I : risque de contamination selon la date de la séroconversion.

	Premier trimestre	Deuxième trimestre	Troisième trimestre
ABBOUD (1) (%) 211 cas	4.8	13.8	50
PRATLONG (89) (%) 286 cas	11	26	32

En revanche l'atteinte fœtale est d'autant plus grave que la contamination maternelle est précoce : 83% des enfants contaminés au premier trimestre ont une forme patente contre 10% au troisième trimestre.

La période à risque majeur pour le fœtus, conjuguant fréquence et gravité se situe entre la dixième et la vingt-quatrième semaine d'aménorrhée.

La durée du délai placentaire est un facteur primordial dans la genèse de la toxoplasmose congénitale : le parasite s'il est transmis tôt provoque une fœtopathie grave, alors que s'il est transmis avec retard, le délai aura permis à la mère de compléter sa réponse humorale et de transmettre des IgG spécifiques au fœtus lequel bénéficie d'une immunité humorale passive avant contamination, ce qui influe sur l'évolution de son infection comme sur sa réponse immunitaire.

9 3 Immunité anti-toxoplasme

Les mécanismes immunitaires impliqués dans la toxoplasmose tant humaine qu'expérimentale reposent sur des facteurs humoraux et cellulaires.

9 3 1 Immunité humorale

La réponse anticorps présente l'intérêt majeur d'aider au diagnostic en tant que marqueur de l'infection. Les anticorps circulants n'en restent pas moins la première barrière

de défense de l'organisme ; ils sont capables de lyser les tachyzoïtes extra-cellulaires en présence de complément; ils sont également actifs par opsonisation, en recouvrant les parasites, ce qui augmente la phagocytose par les macrophages. Chez l'homme, on note une forte réponse IgA anti-protéine P30, précoce mais de courte durée, d'un grand intérêt puisque l'infection se transmet habituellement par voie orale.

Chez le fœtus, les anticorps ont une double origine :

Les anticorps maternels transmis ont un effet protecteur limité, en effet ils favorisent l'enkystement et induisent une tolérance spécifique en masquant les antigènes toxoplasmiques.

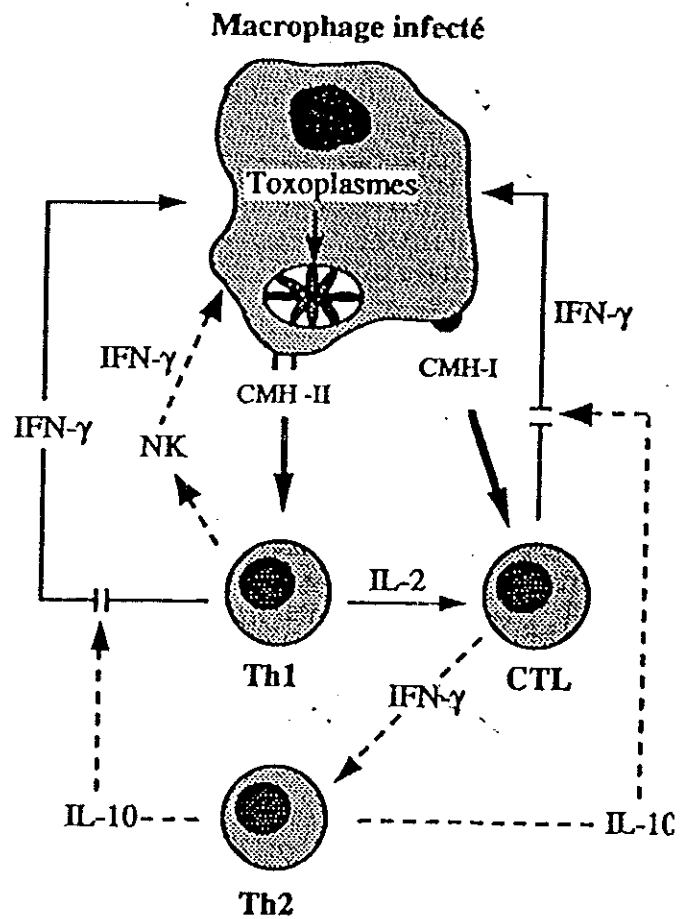
Les anticorps synthétisés par le fœtus sont la résultante de deux facteurs contraires : la tolérance induite et la stimulation antigénique provoquée par les toxoplasmes.

Les IgM et IgA ne franchissent pas la barrière placentaire et leur présence chez le fœtus correspond donc à une synthèse effectuée par ce dernier. La production des IgM débute à la onzième semaine et est continue tout au long de la grossesse. La synthèse des IgA ne débiterait que vers la trentième semaine (22).

Les IgG du fœtus et du nouveau-né sont essentiellement d'origine maternelle ; leur passage trans-placentaire augmente avec l'âge de la grossesse ; une faible quantité est due à une synthèse fœtale débutant vers douze semaines de grossesse (22).

9 3 2 Immunité cellulaire (figure 4)

Elle est le facteur majeur de résistance dans la lutte contre le toxoplasme et fait intervenir les lymphocytes T, les macrophages, et les cellules natural-killer (NK) (42).



Régulation de l'activation des macrophages infectés par *T. gondii*.

Figure 4 : schéma de l'immunité (94).

Les antigènes parasitaires sont présentés par les macrophages aux lymphocytes T auxiliaires (Th, CD4+) et aux lymphocytes cyto-toxiques (CTL, CD8+) ; les cellules Th1 produisent l'interféron gamma (IFN gamma) qui active directement les macrophages et les NK ainsi qu'une interleukine, l'IL2, qui active les CTL.

Les CTL sécrètent à leur tour l'INF gamma qui renforce l'activation des macrophages et stimule également l'activité des Th2. Les cytokines, en particulier IL4 et IL10, produites par les Th2 assurent une rétro-inhibition de l'activation des macrophages par IFN gamma.

Le macrophage est la principale cellule à l'intérieur de laquelle se multiplient les toxoplasmes qui résistent à la destruction en inhibant la fusion phagosome/lysosome ; activé par l'IFN gamma, il devient capable de détruire les tachyzoïtes ou de diminuer leur multiplication par différentes enzymes, le Tumor Necrosis Factor (TNF), des ions super oxydes et des dérivés nitrés (40).

Chez le fœtus cette réponse à médiation cellulaire est partiellement fonctionnelle à la fin du premier trimestre.

9 4 CLINIQUE

La toxoplasmose congénitale est une maladie très polymorphe tant par sa clinique que par sa gravité et elle se présente actuellement sous un aspect très différent de ce qui était observé il y a une trentaine d'années.

9 4 1 Toxoplasmose congénitale grave : environ 10% des cas

La triade historique regroupe l'hydrocéphalie, les calcifications intra-crâniennes et la chorio-rétinite.

9 4 1 1 Contamination précoce

Dans le cas d'une contamination précoce au premier ou au début du deuxième trimestre, on observe une maladie polysymptomatique chez un nouveau-né souvent prématuré et hypotrophique présentant un tableau neuro-oculaire qui associe deux ou plusieurs des signes suivants, par ordre décroissant de fréquence:

Une chorio-rétinite pigmentaire, uni ou bilatérale dont le diagnostic est ophtalmologique.

Des modifications biologiques du LCR dont l'hyperalbuminorachie est le signe le plus habituel.

Des convulsions avec perturbations des tracés électro-encéphalographiques.

Une microphthalmie avec ou sans strabisme, une endophtalmie ou une cataracte.

Des calcifications intra-crâniennes caractéristiques isolées ou multiples dont le diagnostic est maintenant échographique et scannographique ; de tels examens montrant éventuellement les dilatations des cavités ventriculaires.

Des modifications du volume crânien avec rarement une microcéphalie mais beaucoup plus souvent une hydrocéphalie, visible à la naissance ou d'apparition retardée et dépistée grâce à la mesure régulière du périmètre crânien.

Un retard psychomoteur plus ou moins profond et plus ou moins évolutif : retard aux premières acquisitions, persistance de réflexes archaïques.

Plus rarement, des troubles neurologiques variés éventuellement associés : troubles du tonus (plus souvent hypotonie) et troubles végétatifs.

La toxoplasmose congénitale peut aboutir à des fausses-couches spontanées dans environ 2% des cas, principalement pendant le premier trimestre.

9 4 1 2 Contamination plus tardive

Dans le cas d'une contamination plus tardive on peut observer un syndrome infectieux néo-natal sévère et une atteinte multi-viscérale avec ictère et hépato-spléno-mégalie, tableau hémorragique avec stigmates de CIVD, accompagnés ou non de certains signes neurologiques ou ophtalmologiques décrits ci-dessus.

Beaucoup plus rarement on assiste à la naissance d'enfants morts-nés, en général atteints d'hydrocéphalie.

9 4 2 Toxoplasmose congénitale bénigne

Elle réalise dès la naissance une forme atténuée oculaire ou neurologique. Le tableau peut être celui d'une microphthalmie isolée, d'un strabisme ou d'une chorioretinite peu étendue. On peut assister à des troubles du tonus ou des convulsions et mettre en évidence des calcifications intra-cérébrales.

L'association de différents symptômes est possible ainsi qu'un ictère passager, une hépatomégalie isolée ou un purpura thrombopénique.

9 4 3 Toxoplasmose congénitale latente

La maladie ne s'exprime que sérologiquement à la naissance, voire seulement par le non-fléchissement de la courbe des IgG, ce qui indique l'absolue nécessité de surveiller cliniquement et sérologiquement jusqu'à un an tous les enfants dont la mère a été suspecte de séroconversion pendant sa grossesse.

On peut voir dans la petite enfance: hydrocéphalie, comitialité, retard psychomoteur de plus en plus manifeste.

L'atteinte oculaire est la plus fréquente : pour DESMONTS et COUVREUR (46) l'incidence de la chorio-rétinite est de 27% au cours de la première année et de 50% chez les enfants de plus de dix ans ; mais elle peut se manifester tardivement à l'adolescence ou chez l'adulte jeune. Le fond d'œil montre des foyers de nécrose et un oedème en périphérie de kystes toxoplasmiques réiniens fissurés entraînant douleurs, photophobie, baisse de l'acuité visuelle, vision floue ou scotome. Ces lésions sont souvent bilatérales mais asymétriques. Chaque poussée de rétinite peut durer une à plusieurs semaines et les poussées itératives sont possibles.

Les complications secondaires sont le glaucome, les problèmes vasculaires, l'atrophie du nerf optique, une iridocyclite chronique ; près de la moitié des patients ont une perte séquellaire d'acuité visuelle allant parfois jusqu'à la cécité.

Le traitement anténatal ou néonatal réduit considérablement le nombre et la gravité des événements cliniques ultérieurs.

9 5 Traitement

9 5 1 Les molécules

- Les inhibiteurs de la Dihydrofolate Réductase

Parasitocides par inhibition de synthèse des bases puriques, ils sont sans effet sur les kystes. Leur chef de file est la pyriméthamine (MALOCIDE®). Leur toxicité hématologique impose de contrôler l'hémogramme et d'adjoindre du folinate de sodium (99)

- Les sulfamides et sulfones

Parasitostatiques en agissant sur le métabolisme de l'acide folique par inhibition de la déhydroptéroate-synthétase. Une synergie est obtenue par association avec la pyriméthamine et en pratique, on utilise cette dernière avec la sulfadiazine ou la sulfadoxine (FANSIDAR®) l'association triméthoprime - sulfaméthoxazole étant moins efficace.

- Les macrolides et apparentés

Parasitostatiques par un mode d'action inconnu, la spiramycine (ROVAMYCINE®) est le plus utilisé et leur faible toxicité permet un emploi large et prolongé ; de ce fait c'est le traitement de première intention de la toxoplasmose aiguë bénigne et en cas de séroconversion de la femme enceinte.

On signale toutefois des souches mutantes de *T. gondii* qui sont résistantes à la spiramycine (83).

On cite également au nombre des traitements disponibles les cyclines et l'atovaquone ou hydroxynaphtoquinone.

9 5 2 Les indications (Annexe 1)

- Chez la mère

Séroconversion confirmée ou fortement suspectée chez la femme enceinte spiramycine (ROVAMYCINE®) à raison de 3 g par jour, prescrite jusqu'à la fin de la grossesse (47).

En cas de diagnostic anténatal positif, un traitement parasiticide est entrepris, en effet la spiramycine est inactive sur l'infection fœtale ; on associe le plus souvent, pyriméthamine MALOCID® 50mg (100 le premier jour) et sulfadiazine 4 à 6 g/jour sous forme de cure de 21 jours en alternance avec la spiramycine (28). En cas de séroconversion du troisième trimestre il n'est pas réalisé d'amniocentèse mais on administre une bithérapie.

- Chez le nouveau-né

La bithérapie est administrée en cas de TC patente ainsi qu'en cas de diagnostic anténatal positif. En revanche en cas de bilan anténatal négatif il est maintenant de règle d'attendre les résultats du bilan néonatal (sérologie, placenta) pour traiter ; si le bilan est négatif un suivi sérologique est pratiqué à un mois pendant trois mois puis tous les deux à trois mois jusqu'à la négativation totale des IgG vérifiée sur deux examens.

9 6 Prévention

9 6 1 Prévention primaire (Annexe 2)

Les femmes séronégatives pour la toxoplasmose doivent être informées des risques de la maladie et appliquer les mesures hygiéno-diététiques visant à éviter tout contact avec le parasite:

Les habitudes alimentaires sont éventuellement modifiées en augmentant la cuisson des viandes, en évitant la consommation de fruits ou légumes crus ou mal lavés. La congélation industrielle des aliments semble être efficace dans la destruction du parasite, mais ne peut constituer à elle seule une mesure prophylactique efficace.

L'hygiène des mains sera renforcée, notamment après manipulation de viande crue ou de terre et avant chaque repas.

L'environnement doit être protégé des déjections de chat. On évitera de changer la litière ou l'on se protégera avec des gants et on désinfectera le bac à l'eau de Javel.

Dans les laboratoires, le personnel féminin en âge de procréer ne devra manipuler les toxoplasmes que s'il s'agit de sujets immunisés.

En cas de grossesse on pratique chez ces femmes séronégatives une sérologie mensuelle avec un dernier examen au moment de l'accouchement, voire 15 jours à 3 semaines après la naissance pour prévenir des séroconversions très tardives.

9 6 2 Prévention secondaire

Elle est représentée par le traitement préventif d'une infection fœtale par la spiramycine en cas de séroconversion d'une femme enceinte.

9 6 3 Prévention tertiaire

Un diagnostic anténatal positif impose un traitement par l'association parasiticide pyriméthamine-sulfamide.

10 DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE CONGENITALE

Le diagnostic doit mettre en évidence la séroconversion maternelle et chercher à prouver une infection de l'enfant, dans la période néonatale, à la naissance ou pendant les premiers mois de la vie.

10 1 Diagnostic de la toxoplasmose maternelle

Il est essentiellement sérologique, la synthèse des Ac, leur ascension définissant la séroconversion et leur cinétique permettant de la dater avec plus ou moins de précision.

La démarche diagnostique s'inscrit en France dans un cadre légal ; en effet, depuis le Décret du 17 mars 1978, le sérodiagnostic de la toxoplasmose est obligatoire avant la délivrance du certificat prénuptial et on établit l'obligation de la surveillance sérologique mensuelle pendant toute la grossesse des femmes enceintes séronégatives ; les examens sont remboursés par la sécurité sociale sans entente préalable et le biologiste doit conserver les sérums douze mois. Le suivi est arrêté si la sérologie montre un taux suffisant d'IgG, en l'absence d'IgM et ceci à deux reprises.

La Circulaire du 27 septembre 1983 définit les mesures prophylactiques dont les femmes enceintes non immunisées doivent être informées ; le dépistage est rendu obligatoire pendant la grossesse par l'Arrêté du 19 avril 1985.

La Nomenclature des Actes de Biologie Médicale publiée au Journal Officiel du 7 avril 1985, impose un diagnostic sérologique avec titrage (en Unités Internationales pour les IgG) et par au moins deux techniques, dont la cotation est de B60. Si l'examen est prescrit pendant la grossesse, une des techniques doit permettre de déceler les IgM.

10 1 1 Les techniques

10 1 1 1 Techniques utilisant des antigènes figurés

L'antigène est constitué du parasite entier vivant ou fixé, la technique détectera donc des anticorps dirigés contre des antigènes membranaires, en particulier la protéine P30.

* Test de lyse des toxoplasmes, "Dye-Test" de SABIN et FELDMAN (1948):

Technique historique qui reste pratiquée dans quelques laboratoires de référence, elle consiste à mettre en présence des toxoplasmes vivants avec le sérum à tester et un sérum humain n'ayant jamais contracté la toxoplasmose servant de complément, afin de numérer les formes lysées par les Ac du patient (43).

Dans la méthode originale, c'est un colorant vital : le bleu de méthylène qui permettait de déterminer le pourcentage de formes vivantes afin de déduire le taux de lyse ; dans la technique modifiée par DESMONTS en 1953, la lecture par microscopie en contraste de phase remplace la coloration vitale, en effet seuls les toxoplasmes vivants sont réfringents.

La réaction est positive quand 50% des toxoplasmes sont lysés et le titre est exprimé en UI/ml par comparaison avec un sérum étalon de l'OMS.

Ce test présente de grandes spécificité et sensibilité dans la détection des IgG spécifiques.

* L' Immuno-Fluorescence-Indirecte (IFI)

C'est une méthode très utilisée dans laquelle l'antigène est un dépôt de toxoplasmes formolés sur une lame à revêtement hydrophobe. Elle permet le titrage des IgG en UI/ml par utilisation d'une globuline anti-IgG humaine marquée à la fluorescéine et la détection des IgM par utilisation d'une globuline anti-IgM également fluorescente (test de REMINGTON-1968).

Cette méthode est sensible, spécifique, assez simple bien que requérant un microscope à fluorescence. Il faut noter un aspect examinateur-dépendant quant à l'interprétation et l'existence de quelques faux-positifs en IgM dus à la présence d'un facteur rhumatoïde ou d'un anticorps anti-nucléaire et quelques faux négatifs par saturation des sites antigéniques par des IgG positives à des titres élevés.

* Les techniques d'agglutination

- Agglutination directe (FULTON-1969)

Méthode simple pratiquée sur plaque de micro-titration par mise en contact d'une suspension de toxoplasmes formolés et de dilutions croissantes du sérum à tester. La lecture est visuelle, la présence d'anticorps formant un voile, et la technique est effectuée avant et après traitement du sérum par le 2-mercaptoéthanol (2 ME) qui détruit les IgM (82): On note un manque de sensibilité pour les faibles titres d' IgG.

- Agglutination sensibilisée

Les toxoplasmes sont sensibilisés par la trypsine ce qui libère des sites antigéniques, avant leur fixation au formol et ne sont testés qu'après traitement au 2 ME. Cette méthode de détection des IgG est simple et d'une grande sensibilité. Elle est commercialisée par Bio Merieux (Toxo-Screen®).

- Agglutination "AC" (AgAc)

L'antigène est fixé à l'acétone ou au méthanol permettant de libérer des sites antigéniques spécifiques du stade aigu de la toxoplasmose. Cette méthode sensible et précoce ne s'effectue qu'en laboratoire spécialisé.

- Immuno-capture-agglutination ou ISAGA® (ImmunoSorbent Agglutination Assay):

La première étape constitue l'immuno-"capture" par une globuline anti-chaînes lourdes (alpha ou μ selon que l'on dose les IgA ou les IgM), les anticorps spécifiques sont révélés par agglutination en présence de suspensions de toxoplasmes formolés à trois

concentrations différentes. La réalisation est simple et la sensibilité très grande, en revanche la lecture est difficile et le résultat est semi-quantitatif, coté de 0 à 12 (45). De plus sa sensibilité aux IgM résiduelles entraîne une assez longue persistance de positivité, en effet on retrouve les anticorps à 6, 12 et 18 mois après séroconversion, respectivement dans 95, 67 et 37% des cas.

10 1 1 2 Techniques utilisant des antigènes solubles

Elles utilisent des extraits antigéniques composés d'antigènes somatiques ou mixtes (somatiques et membranaires).

- * La réaction de fixation du complément, que les problèmes d'interprétation ont fait tomber en désuétude.

- * L'hémagglutination passive met en évidence les IgG d'un sérum préalablement traité au 2 ME grâce à une suspension d'hématies de mouton sur lesquelles sont fixés des antigènes solubles (69).

- * Le test au latex utilise le même principe, les hématies étant remplacées par des particules de latex. (72)

- * Les méthodes immuno-enzymatiques dont l'ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), ne diffèrent pas dans leur principe des réactions utilisées dans le diagnostic d'autres infections (79). Les anticorps spécifiques de l'échantillon sérique se fixent sur le support sensibilisé par l'antigène ; ils sont ensuite mis en évidence par des antiglobulines anti IgG ou IgM marquées par une enzyme de type peroxydase ; celle-ci, en présence d'un substrat spécifique (H_2O_2) et d'un chromogène (orthophénylène diamine) provoque une réaction colorée (jaune) dont l'intensité est quantifiable au spectrophotomètre :

- Technique ELISA indirecte classique : elle permet la recherche et le titrage des IgG ; ses avantages sont la lecture objective, la bonne reproductibilité et l'automatisation possible ; en revanche la nature de l'antigène conditionne totalement la qualité de la réaction et la conversion des densités optiques n'est valable qu'entre 10 et 300 unités (au delà, on utilise des dilutions de sérum).

→ Technique ELISA reverse: où la réaction est précédée d'une immuno-capture, elle est adaptée à la recherche des IgM et des IgA (61). Ses avantages sont l'absence de compétition avec les IgG et la non-interférence avec les facteurs rhumatoïdes.

10 1 2 Cinétique des anticorps et interprétation des résultats sérologiques (figure 5)

Le laboratoire doit préciser les techniques utilisées, les valeurs-seuils, pour l'ELISA l'échelle d'interprétation chiffrée de la gamme de positivité du kit employé.

Le biologiste doit élaborer une conclusion argumentée à partir des résultats chiffrés et la connaissance du contexte clinique lui permet d'effectuer les meilleurs choix techniques et d'affiner cette conclusion (58, 77).

Les anticorps de type IgM sont les premiers à apparaître, au plus tard à la fin de la première semaine suivant la contamination; ils atteignent un maximum à la fin du premier mois et disparaissent en trois mois dans 50% des cas (79). La réponse anticorps IgM est très variable en intensité et en durée selon les individus, de plus avec les techniques récentes, notamment d'immunocapture, les IgM persistent souvent plus de six mois et peuvent être détectées un an après la séroconversion (9).

La cinétique des IgG est différente selon la technique employée pour leur détection: avec les méthodes utilisant des antigènes figurés (Dye-Test, IFI), elles apparaissent vers le huitième jour et atteignent leur maximum à deux mois, puis elles diminuent lentement sans jamais disparaître et la persistance de taux résiduels habituellement faibles témoigne de l'immunité. Les IgG détectées par les techniques manuelles utilisant des antigènes solubles (ELISA) apparaissent plus tardivement (à trois semaines ou un mois) et atteignent leur maximum à trois ou six mois. Les automates actuellement mis sur le marché permettent d'observer une synthèse précoce des IgG identique à celle du dye-test (AXSYM®) ou plus tardive (ACCESS®, VIDAS®).

Les anticorps de type IgA détectés par technique ELISA (Platelia IgA Biorad®), apparaissent après 15 jours de séroconversion, sont à leur titre maximum après deux mois avec une stabilité entre 2 et 4 mois, puis ils diminuent et disparaissent après 5 à 6 mois de séroconversion, ils sont donc de bons marqueurs d'infection récente. (4, 37, 86)

L'avidité des IgG a été mesurée par un test ELISA (PLATELIA TOXO BIO-RAD®) et le calcul de son indice est un apport dans la datation de l'infection, en effet un indice d'avidité >0.5 permet d'exclure une toxoplasmose évoluant depuis moins de 5 mois ; à l'inverse, un indice d'avidité <0.5 n'est pas toujours corrélé à une toxoplasmose évoluant depuis moins de 5 mois (20). Actuellement ce test a pu être automatisé sur le VIDAS BIO-MERIEUX® et un indice >0.3 élimine une séroconversion de moins de 4 mois.

DIFFERENTES SITUATIONS CLINIQUES

* Chez la femme enceinte immuno-compétente:

→ Une sérologie positive à des taux résiduels avant la grossesse indique une protection assurée et dispense d'une surveillance ultérieure après une vérification.

→ Une sérologie négative oblige à une surveillance mensuelle et au respect des conseils prophylactiques.

→ En cas de statut sérologique inconnu avant la grossesse et selon les résultats du premier bilan:

.Absence d'IgG et d'IgM: la femme n'est pas immunisée et la surveillance doit se poursuivre, comprenant idéalement une dernière sérologie quelques jours après la délivrance pour ne pas méconnaître une infection survenue dans les derniers jours de la grossesse.

.Présence d'IgG et absence d'IgM : les IgG à taux faible ou modéré indiquent une immunité ancienne ; le titre est élevé et peut être en faveur d'une toxoplasmose de début de grossesse si le prélèvement a été tardif exigeant un contrôle sur un deuxième prélèvement avec recherche d'IgA et étude d'avidité des IgG.

.Absence d'IgG, présence d'IgM : peut être en faveur d'une infection au tout début, et on doit explorer un deuxième sérum 5 ou 10 jours plus tard ; l'absence de synthèse d'IgG permet d'éliminer une séroconversion, de conclure à une sérologie négative avec présence d'IgM non spécifiques et exige de poursuivre la surveillance sérologique.

.Présence d'IgG et d'IgM : les IgG sont à titrer sur deux prélèvements et plusieurs cas se présentent :

taux stable, faible ou modéré : infection ancienne avec persistance d'IgM

taux stable mais élevé : séroconversion de plus de deux mois avant le premier sérum

ascension du titre des IgG : en faveur d'une toxoplasmose récente et une datation plus précise demande de "croiser" les techniques en comparant les cinétiques des anticorps selon différentes méthodes.

* Chez la femme enceinte immunodéprimée:

En cas de déficit immunitaire modéré, la conduite à tenir rejoint celle décrite ci-dessus.

En cas de déficit immunitaire marqué (lymphocytes T CD4+ < 100), on craint une possible réactivation d'une toxoplasmose ancienne et la sérologie positive devient paradoxalement un facteur de risque.

10 2 Diagnostic anténatal

Dans le cas d'une séroconversion chez une femme enceinte, le but du diagnostic anténatal est de prouver une éventuelle infection fœtale et de pratiquer un bilan lésionnel le plus précis possible afin de choisir l'attitude thérapeutique adaptée, en décidant notamment d'instituer un traitement parasiticide (28, 33, 34, 41).

Pour cela on dispose de deux types d'investigations :

- l'échographie,
- la ponction de sang fœtal (PSF), souvent remplacée par la ponction du liquide amniotique (PLA).

10 2 1 L'échographie

Les anomalies échographiques reconnues comme spécifiques de la toxoplasmose congénitale sont les dilatations ventriculaires, les calcifications cérébrales, l'hépatomégalie, l'ascite et les images placentaires (hyperéchogénicité et augmentation de l'épaisseur) chez des fœtus dont l'atteinte est prouvée par PSF et/ou PLA. Une échographie normale n'élimine pas le diagnostic (34, 67).

10 2 2 Les examens biologiques

10 2 2 1 *La ponction de sang fœtal*

Technique:

- En 1983 DAFFOS met au point une technique de ponction de sang de cordon échoguidée permettant d'obtenir quelques ml de sang fœtal à partir de la 20^{ème} semaine d'aménorrhée (31) ; l'opérateur exécute le geste dans des conditions chirurgicales et sous contrôle échographique, en introduisant une aiguille de 10 à 13 cm à travers la paroi abdominale maternelle et le muscle utérin ; grâce à son écho nettement visible cette aiguille est guidée vers la veine ombilicale.

On peut utiliser la technique de DAFFOS en prélevant au niveau de l'insertion (32), ou une variante consistant à prélever le cordon dans sa partie mobile, ce qui est plus difficile mais diminue considérablement le risque de contamination par le sang maternel. (7)

Incidents et contaminations du prélèvement :

- DAFFOS, sur 606 PSF entre 17 et 38 SA décrit 5% d'accouchements prématurés, 8% de retards de croissance intra-utérin, 1% de mort in-utéro et 3% de cas de dilution du liquide amniotique (32).

On peut vérifier l'absence de dilution par du LA en mesurant l'hématocrite, l'hémoglobine ou les facteurs de la coagulation. Et on peut vérifier l'absence de contamination par du sang maternel par divers moyens :

- La courbe de distribution du VGM : les hématies fœtales montrant une nette macrocytose.
- Le test de Kleihauer.
- L'agglutination des Ag érythrocytaires par un anti i et un anti I.
- Le dosage de la BHCG plasmatique fœtale.

10 2 2 2 Prélèvement de liquide amniotique (PLA) ou amniocentèse.

30 ml de LA sont prélevés lors de la PSF, mais actuellement la recherche du parasite dans le LA par PCR apparaissant la méthode la plus performante (66), on a abandonné la PSF dans le diagnostic de TC. De nombreuses équipes, comme à Nantes, ne pratiquent plus que la PLA.

On réalise la PLA vers la 18^{ème} – 20^{ème} SA et au plus tôt 3 semaines après la date de séroconversion.

10 2 2 3 Signes spécifiques

a) IgM spécifiques

La présence d'IgM fœtales signe le contact avec le parasite. Les techniques très sensibles par immunocapture de type ISAGA trouvent ici particulièrement leur place. Il est bien sûr indispensable de s'assurer de l'absence de la moindre contamination du prélèvement par du sang maternel (17).

En outre, la synthèse des IgM par le fœtus est lente et faible et les études prospectives montrent qu'on ne les retrouve que chez ¼ des fœtus infectés (34) ; pour Thulliez la fréquence de détection des IgM augmente avec l'âge gestationnel au moment du prélèvement (100).

b) IgA spécifiques

Comme les IgM, elles ne traversent pas la barrière placentaire, elles sont également dosées par des techniques d'immuno-capture et on peut les retrouver à partir de la 23ème semaine (10, 71).

Ce test serait plus sensible que le dosage des IgM et l'association des deux paramètres permettrait d'aider à affirmer le diagnostic de TC (10, 38).

c) Inoculation à la souris

Cette méthode permet d'injecter tous les produits biologiques par voie intrapéritonéale à une souris séronégative pour le toxoplasme. On traite et on inocule les culots de centrifugation du sang fœtal et du LA. Elle est simple et sûre mais nécessite une animalerie et impose des délais de réponse. En effet la souris développe rarement une ascite toxoplasmique dans le 4 à 5 jours suivants. Il faudra le plus souvent attendre la réponse de la sérologie chez la souris à 3 et 6 semaines pour observer la formation d'Ac IgG.

En cas de séropositivité les kystes seront recherchés dans les cerveaux des souris. Cette technique est positive dans 50 à 70% des cas de TC (34, 89).

d) Cultures cellulaires

La technique est délicate et les risques de contamination sont patents. Elle est moins sensible que l'inoculation mais les résultats sont rendus plus rapidement (j4-j7) (48). Le liquide amniotique ou le sang fœtal sont mis en culture sur des lignées cellulaires de type monocyttaire non adhérentes (THP1) (103) ou de type fibroblastique adhérent (MRC5) (42).

La lecture s'effectue par une coloration au MGG et/ou par un marquage avec un Ac monoclonal fluorescent. En raison du manque de sensibilité de la technique (<50%), la plupart des équipes l'ont actuellement abandonnée.

e) Techniques de biologie moléculaire

La polymérase chain reaction (PCR), décrite par SAIKI en 1985 (96), est fondée sur la propriété d'hybridation spécifique de l'ADN ; en effet la connaissance d'une séquence nucléotidique spécifique d'un gène ou d'un agent pathogène permet de la mettre en évidence par hybridation moléculaire au moyen d'une sonde complémentaire. (16, 55, 66).

Dans la technique d'amplification génique ou PCR le principe d'hybridation moléculaire est utilisé à l'aide de 2 sondes de petite taille (amorces) qui s'apparient à 1 des 2 brins de l'ADN délimitant un segment spécifique de la cible choisie. La réaction est complétée par la réplication des 2 brins d'ADN à l'aide d'une polymérase thermostable, la Taq polymérase. Plusieurs cycles de réaction aboutissent à l'amplification exponentielle de l'ADN compris entre les deux amorces.

Les séquences cibles utilisées sont celles décrites dans le génome du toxoplasme : gène B1 (14, 66), gène rADN (16), p30 (55), TGR1E (2, 30). A Nantes on utilise 2 couples d'amorces spécifiques du gène B1 afin d'augmenter la sensibilité de détection ;

.couple d'amorce B22-B23

B22 5' –AAC GGG CGA GTA GGA CCT GAG GAG A-3'

B23 5' –TGG GTT CTA CGT CGA TGG CAT GAC AAC-3'

.couple d'amorces B26 – B 27

B26 5' –AAA TGT GGA ATG AAA GAG ACG CTA ATG T-3'

B27 5' –GCG ACC AAT CTG CGA ATA CAC CAA AGT-3'

La réaction de PCR se déroule en 3 étapes successives :

. Extraction de l'ADN

Réalisée sur culot de centrifugation auquel on ajoute un tampon d'extraction composée d'eau distillée, de NaOH, de Nodinet P40 (tensioactif) et de tween 80 (tensioactif). Le mélange est chauffé 5 mn à 100°C puis centrifugé 5 minutes à 14000 tours /mn. L'ADN extrait est amplifié dans un mélange réactionnel de 25µl des 4 desoxyribonucléotides en proportions équimolaires et de la Taq polymérase.

La spécificité est assurée par la destruction avant PCR de l'ADN contaminant éventuellement présent par l'UNG (Uracil – N – glycosylase).

. Phase d'amplification :

L'amplification comporte 3 étapes :

- Dénaturation de l'ADN par action de la chaleur permettant d'obtenir de simples brins.
- Hybridation des amorces sur la séquence complémentaire.
- Extension à partir des amorces, en présence des nucléotides, de la séquence complémentaire de chaque brin d'ADN, grâce à une ADN polymérase thermostable.

L'amplification est poursuivie pendant 43 cycles avec dénaturation de 30 secondes à 60°C et extension 1 minute à 72°C. La dernière étape d'extension se prolonge 7 minutes à 72°C.

Toutes les étapes sont réalisées dans un amplificateur automatisé : OMNIGENE® de chez HYBAID®.

. Phase de révélation

Le produit d'amplification est soumis à une électrophorèse en gel de polyacrylamide. L'ADN est alors révélé sous lumière ultraviolette après passage dans un bain de bromure d'éthidium. Les poids moléculaires des fragments amplifiés sont déterminés par comparaison à un marqueur de taille.

Actuellement une révélation par technique ELISA après hybridation permet d'améliorer la sensibilité de la technique.

Cette technique permet de détecter directement l'ADN correspondant à 1 seul parasite contenu dans l'échantillon et le temps total d'analyse n'excède pas 6 heures. Tous les travaux montrent sa grande sensibilité, mais celle-ci varie en fonction des séquences cibles utilisées. Sa spécificité est bonne et on n'observe pas de réaction croisée entre les ADN génomiques humains ou murins.

En revanche l'application aux liquides biologiques se heurte à certaines difficultés car il convient d'éviter les faux positifs par contamination croisée par du matériel d'analyse au sein du laboratoire (2, 16). Les règles de procédure sont donc très strictes (décontamination, réaction témoin pour chaque test) et les moyens à mettre en œuvre sont importants quant aux locaux et aux différentes protections. Il faut connaître également l'existence de faux négatifs par la présence d'inhibiteurs de la réaction d'amplification dans l'échantillon (protéines, anticoagulants)

10 2 2 4 Les signes non spécifiques

Ce sont des signes généraux d'infection fœtale qui prennent toute leur valeur dans le contexte d'une toxoplasmose per-gravidique. L'absence de signes ne permettant pas de conclure certainement à la non contamination, la recherche de ces signes a permis de définir une population à haut risque d'atteinte congénitale (6, 34).

Ces modifications biologiques doivent être interprétées en fonction des valeurs de référence au même terme. (5)

Classiquement on décrit les signes principaux suivants ; l'hyperleucocytose, la thrombopénie, l'hyperéosinophilie, l'augmentation des enzymes hépatiques (TGO, TGP, GGT, LDH), l'élévation des IgM totales non spécifiques et l'augmentation de la fraction C4 du complément.

Pour BERREBI en 1992, en absence de signes spécifiques d'infection, l'élévation d'un des trois paramètres non spécifiques majeurs suivants (GGT, IgM tot., fraction C4) suffit pour suspecter une TC (6).

Conclusion :

Parmi ces signes ou techniques, on note l'intérêt majeur de la PCR qui permet un résultat rapide et fiable.

L'association de la PCR, des cultures cellulaires et l'inoculation à la souris permet d'augmenter la valeur prédictive positive du diagnostic anténatal sur amniocentèse.

Il apparaît également de plus en plus légitime d'abandonner la ponction de sang fœtal au profit du seul prélèvement de liquide amniotique, ce qui est le cas actuellement.

10 3 Diagnostic néonatal

Il est impératif pour les enfants dont la mère a eu pendant la grossesse une infection toxoplasmique certaine ou suspectée, car il permet de détecter les formes infra cliniques. Dans un tiers des cas, la toxoplasmose congénitale infra-clinique non traitée se complique de chorioretinite à moyen ou à long terme et parfois de troubles neurologiques. Les complications ultérieures peuvent donc être diminuées si ces enfants apparemment sains bénéficient d'un traitement approprié.

10 3 1 Bilan clinique

On recherche des signes non spécifiques : prématurité, ictère, hépatosplénomégalie, des signes spécifiques : hydrocéphalie, microcéphalie, signes neurologiques, retard psychomoteur, microphthalmie, strabisme, chorioretinite uni ou bilatérale.

10 3 2 Bilan paraclinique

Il comprend systématiquement (7, 88) :

- une échographie transfontanellaire

- un fond d'œil

- on peut également pratiquer un scanner et un examen du liquide céphalo-rachidien à la recherche d'une hyperalbuminorachie $> 1\text{ g/l}$ et une pleiocytose (>100 éléments /mm³)

A noter que le LCR montre parfois une production locale d'anticorps et peut permettre également l'isolement du toxoplasme.

Un bilan biologique est pratiqué, comprenant un hémogramme, un dosage de bilirubine, des GGT et de la LDH.

10 3 3 Bilan parasitologique

Il confirme le diagnostic étiologique des formes et différencie les enfants présentant une toxoplasmose infra-clinique des enfants non infectés.

10 3 3 1 Etude du placenta

Elle nécessite 200 g de placenta frais, ni formolé ni congelé. Un broyat du placenta est inoculé par voie péritonéale à un lot de 10 souris qui seront suivies à 3 et 6 semaines ; l'inconvénient majeur de la méthode étant son délai de réponse. Il existe des faux négatifs : quantité insuffisante de placenta, délai de conservation trop long ou dans de mauvaises conditions , traitement prolongé de la mère après contamination au premier trimestre, à l'origine d'une stérilisation du placenta.

10 3 3 2 Etude du sang de cordon et du sang de bébé

La recherche de toxoplasmes dans le sang de cordon et dans le sang du bébé repose sur l'inoculation à l'animal. Cette étude est complémentaire de l'étude parasitologique du placenta mais la sensibilité en est moins bonne. Elle permet d'affirmer le diagnostic dans le cas de stérilisation du placenta par le traitement de la mère ou lorsque l'examen du placenta est impossible.

10 3 4 Bilan sérologique

Il est effectué sur le sang de la mère, le sang de cordon et le sang du bébé. Les IgG, IgM et IgA spécifiques sont recherchés par différentes techniques afin d'améliorer la sensibilité de la détection.

Les IgG détectées chez le nourrisson sont des Ac transmis par la mère. La détection d'IgM et ou d'IgA spécifiques affirme le diagnostic de TC. Les IgM sont retrouvées à la naissance dans 48 à 72% des TC. Les IgA sont plus fréquemment retrouvées (75 à 89% selon les études) (10, 37, 39). Un contrôle sérologique doit être effectué au dixième jour pour confirmer la présence d'IgM et/ou d'IgA, afin d'exclure une contamination par les Ac maternels suite à une effraction placentaire pendant l'accouchement.

Ce bilan sérologique peut être complété par l'étude des profils comparés mère-enfant IgG IgM par technique ELIFA (Enzyme Linked ImmunoFiltration Assay) : elle consiste à réaliser une électrosynérèse d'un antigène soluble de *T. gondii* suivie d'un marquage immuno-enzymatique qui révèle les arcs de précipitation ; cette méthode est appliquée à la recherche de néo-anticorps (anticorps néonataux par les Profils Immunologiques Comparés (PIC)(86) afin de mettre en parallèle sur un même support les arcs de précipitation du sérum de la mère et de celui du nouveau-né pour les IgG, IgM, IgA et IgE.

Actuellement pour améliorer la sensibilité et la spécificité des techniques sérologiques à la naissance on peut appliquer la technique du Western-Blot (WB), permettant d'étudier les profils comparés IgG et IgM dans le couple mère-enfant (75, 103).

ETUDE PERSONELLE

I MATERIEL ET METHODES

I 1 Population étudiée

Au laboratoire de parasitologie du CHU de Nantes, nous avons reçu de juillet 1994 à septembre 1996 128 prélèvements de liquide amniotique et 320 placentas , nous avons voulu exploiter 95 dossiers que nous appellerons “ complets ” comprenant :

- a) Un diagnostic de toxoplasmose maternelle au moins probable.
- b) Un bilan anténatal effectué au CHU et incluant une technique de biologie moléculaire par PCR.
- c) Un bilan néonatal, pratiqué au CHU, comportant une étude parasitologique du placenta.

Les 95 patientes sont nées entre 1950 et 1976 dont 49 d'entre elles (51.6%) entre 1965 et 1972, elles ont de 22 à 44 ans au moment de l'étude.

89 grossesses se sont poursuivies dont deux gémellaires et nous avons pu obtenir des informations sur 58 de ces enfants, nous renseignant sur leur état clinique et / ou sérologique entre 9 et 36 mois pour les grossesses les plus anciennes.

I 2 Diagnostic de toxoplasmose maternelle

I 2 1 Définitions

En étudiant les dossiers anté ou néonataux de la période de référence, nous avons classé les séroconversions maternelles en probables ou certaines et nous les avons regroupées selon la date du terme en périconceptionnelle, du premier, du deuxième ou du troisième trimestre.

Nous considérons une séroconversion certaine dans le cas d'une femme ayant successivement présenté pendant sa grossesse un résultat sérologique négatif, suivi d'un résultat positif avec présence d'anticorps spécifiques antitoxoplasmes (IgG, M ou A). Ces résultats doivent avoir été documentés par la notification de deux dates.

Une séroconversion est probable ou suspectée chez toute femme traitée pour une toxoplasmose après séroconversion mais sans précision de dates d'examens, ou bien toute femme traitée pour une toxoplasmose suspectée par une ascension des taux d'IgG ou la présence d'IgM.

La séroconversion est dite périconceptionnelle quand elle survient dans le mois précédant ou suivant la conception.

Séroconversion du premier trimestre : survenant entre la 6^{ème} SA et la 15^{ème} SA.

Séroconversion du deuxième trimestre : survenant entre la 16^{ème} et la 28^{ème} SA

Séroconversion du troisième trimestre : survenant entre la 29^{ème} et la 38^{ème} SA

I 2 2 Techniques

I 2 2 1 Recherche d'IgG

Elle s'effectue par une technique MEIA sur automate IMX (ABBOTT®) version 1 jusqu'en juin 1995 puis version 2 jusqu'en mars 1996 puis sur automate AXSYM (ABBOTT®), complétée par une technique manuelle ELISA sur billes (ABBOTT®).

I 2 2 2 Recherche d'IgM

Elle s'effectue par une technique MEIA complétée par une technique ISAGA et par une technique ELISA sur billes (ABBOTT®)

I 2 2 3 Recherche d'IgA

Les IgA ont été étudiées par technique CLONATECH® puis sur IMX (ABBOTT®) et à partir d'avril 1996 par technique PLATELIA BIORAD®.

Ces techniques sont appliquées à tous les prélèvements : sang maternel, sang de cordon, sang du bébé et éventuellement liquide amniotique. Pour les sangs de cordon et les sang de bébés, seules les techniques manuelles (ISAGA IgM, recherche d'IgA) peuvent être appliquées, les sérums sont alors dilués au 1/20^{ème} ; seules les IgM sont recherchées dans le liquide amniotique par test ISAGA (dilution au 1/20^{ème}).

I 3 Diagnostic anténatal

Le diagnostic anténatal comporte :

- * Bilan échographique répété tous les mois.
- * Prélèvement de liquide amniotique (la PSF a été abandonnée à Nantes du fait d'un mauvais rapport bénéfice/risque) : il doit être pratiqué après la 18^{ème} SA et 3 semaines après la synthèse des IgG spécifiques.

30 ml de LA sont prélevés stérilement : 10 ml pour les techniques de biologie moléculaire (PCR) qui permettent un résultat en 24 à 48 heures, 20 ml pour les techniques parasitologiques : cultures cellulaires sur MRC5 et surtout inoculation intra-péritonéale à la souris qui constitue la technique de référence mais dont le résultat n'est donné qu'après 3 et 6 semaines.

On pratique de plus l'étude sérologique d'1 ml de surnageant du LA à la recherche d'IgM.

I 4 Diagnostic néonatal

A la naissance, le bilan anténatal est obligatoirement complété par :

L'examen parasitologique du placenta (au minimum 200 g) et du sang de cordon (5 ml) par inoculation à la souris : résultat en 3 et 6 semaines.

L'examen sérologique du sang de cordon complété à J4 et J10 par la sérologie du nouveau-né à la recherche d'IgM et d'IgA (les IgA sont synthétisées après les IgM) ; les IgG ne sont généralement que des Ac maternels transmis qui inhibent en partie la synthèse propre du fœtus. Le suivi de la courbe des IgG est à effectuer tous les 2 mois jusqu'à la négativation contrôlée deux mois plus tard. L'étude des profils comparés n'a pas été utilisée dans cette

cohorte de patients, les tests WB LD Bio® utilisés actuellement n'étant pas encore commercialisés à cette date.

II RESULTATS

II 1 Toxoplasmose maternelle

Séroconversions certaines 60/95 (63.1%)

Séroconversions probables 35/95 (36.9%)

La date de la séroconversion par rapport à l'âge de la grossesse est présentée dans le tableau II.

Tableau II : Répartition des séroconversions en fonction du moment de la contamination.

Trimestre	Périconceptionnel	Premier	Deuxième	Troisième
% de l'effectif	26.3%	29.5%	35.8%	8.4%
Nombre	25	28	34	8

II 1 1 Date de séroconversion

Le début des investigations biologiques est déterminé par les résultats de sérologie. Les dates de séroconversion sont ainsi réparties en quatre périodes chronologiques qui déterminent nos quatre groupes. Le tableau III ci-dessous indique les pourcentages de toxoplasmoses congénitales cliniques par rapport au taux de séroconversion biologique. Le résultat global du risque de transmission est de 22.1% dans cette étude.

Tableau III : incidence de la TC selon la date de la séroconversion.

Date de séroconversion	Nombre de TC/nombre de séroconversions	Incidence en %
Périconceptionnelle	0/25	0
Premier trimestre	4/28	14.3
Deuxième trimestre	14/34	41.2
Troisième trimestre	3/8	37.5
Total	21/95	22.1

II 2 Diagnostic anténatal

Un diagnostic anténatal est considéré comme positif si un signe est présent parmi les suivants : anomalie échographique, PCR sur LA positive, inoculation du LA au souris positive, culture cellulaire positive.

Les résultats sont présentés dans le tableau IV :

16 résultats de PCR / LA positif

15 inoculations de LA positives

9 cultures cellulaires positives

8 fœtus présentent des signes échographiques dont 2 sans rapport avec une TC.

7 ITG ont été pratiquées dont 5 pour TC.

Tableau IV : résultats du diagnostic anténatal selon la date de la séroconversion.

Résultats Age gestationnel	LA			Echographie +	ITG	Enfants TC +
	PCR +	Cultures +	Souris +			
Péri C n = 25	0/0	0	0	2 + (2 non toxo)	2 (2 non toxo)	0
1 ^{er} T n = 28	4/4	3/4	3/4	2	3	1
2 ^{ème} T n = 34	10/14	5/14	10/14	4	2	12
3 ^{ème} T n = 8	2/3	1/3	2/3	0	0	3
Total	16/21	9/20	15/21	8 (2 non toxo)	7 (2 non toxo)	16

Les résultats du diagnostic anténatal sur ponction de liquide amniotique par technique de PCR montrent une sensibilité de 76.2% et une spécificité de 100% ce qui fait une valeur prédictive positive de 100% et une valeur prédictive négative de 88.9%.

Pour l'inoculation à la souris la sensibilité est de 71.4%, avec une VPP de 100% et la spécificité est de 100% avec une VPN de 85.7%.

Pour la culture, la sensibilité est de 45% avec une VPP de 100% et la spécificité est de 100% avec une VPN de 77.6%.

Ces résultats sont repris dans le tableau V.

Tableau V : performances des différents tests.

	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
PCR	76.2 (16/21)	100 (40/40)	100 (16/16)	88.9 (40/45)
Inoculation	71.4 (15/21)	100 (42/42)	100 (14/14)	85.7 (42/49)
Cultures cellulaires	45 (9/20)	100 (38/38)	100 (9/9)	77.6 (38/49)

L'association des techniques anténatales de PCR et d'inoculation dans le cadre des TC + permet d'obtenir les résultats suivants :

Tableau VI : association des techniques.

Résultat PCR	Résultat Inoculation	nombre
+	+	14
+	-	2
-	+	0
-	-	5

II 3 Diagnostic néonatal

II 3 1 Etude du placenta

Les inoculations des placentas ont été positives dans 18 observations/20 TC
(un dossier est incomplet par oubli de prélèvement). Le tableau VII retranscrit ces résultats.

Tableau VII: pourcentage d'inoculations positives en fonction de la date de la séroconversion.

Age gestationnel	Périconceptionnel	1 ^{er} trimestre	2 ^{ème} trimestre	3 ^{ème} trimestre
Nombre d'enfants TC +	0	4	14	3
Nombre de placentas +	0	3	13 + 1 nf	2
% de placentas +	0%	75%	100% des placentas techniqués	66.7%

Au total l'inoculation du placenta donne un résultat positif dans 85.7% des cas de TC.

Avec une sensibilité de 90%, une spécificité de 100% ; ainsi qu'une VPP de 100%(18 /18) pour une VPN de 95.5%(42/44).

II 3 2 Etude du sang de cordon

II 3 2 1 Inoculation à la souris

L'inoculation est positive dans 6 cas des 13 SC prélevés chez des nouveaux-nés TC + (46.1%).

Tableau VIII : pourcentage de résultats positifs en fonction de la date de la séroconversion lors de l'inoculation de SC aux souris dans 13 cas TC+.

Age gestationnel	Périconceptionnel	1 ^{er} trimestre	2 ^{ème} trimestre	3 ^{ème} trimestre
Nombre d'inoculations	0	2	10	1
Nombre de SC +		1	4	1
Résu. en %		50%	40%	100%

Les résultats des inoculations montrent une sensibilité de 40% et une spécificité de 100% ce qui représente une VPP de 100% et une VPN de 78.6%.

II 3 2 2 Sérologie des sangs de cordon.

9 sérologies sur 16 pratiquées chez des enfants TC sont positives en IgM et/ou IgA avec la répartition suivante :

Tableau IX : répartition des résultats sérologiques en fonction de l'âge de la grossesse.

Age Marqueurs sérologiques	1er trimestre (TC+=1)	2 ^{ème} trimestre (TC+=12)	3 ^{ème} trimestre (TC+=3)
IgM + IgA+	0	4	1
IgM + IgA-	0	1	1
IgM - IgA+	0	2	0
total	0	7	2
IgM - IgA-	1	5	1

III SUIVI DES NOUVEAUX NES

Au total dans notre série, 16 enfants sont nés avec une toxoplasmose congénitale.

1 ITG a eu lieu pour signes échographiques majeurs sans rapport avec la toxoplasmose (cas n°6).

1 jumeau anencéphale est décédé in utero sans lien avec une toxoplasmose (cas n°9)

5 ITG ont été pratiquées en rapport avec la toxoplasmose dont 4 sur des résultats de signes échographiques majeurs (cas n° 40, 46, 48, 61 et 83).

89 grossesses ont été poursuivies dont 2 gémellaires et pour 58 de ces 91 nouveaux nés, nous avons pu obtenir des renseignements cliniques et ou biologiques.

La plupart des données ont été recueillies en juillet 1997 par téléphone auprès des pédiatres et des médecins traitants.

14 cas de TC ont été traités dès la naissance par pyriméthamine/sulfadiazine.

2 enfants ont été traités avec retard à 4 et 7 mois en raison de la négativité du diagnostic ante et/ou néonatal (cas n° 42 et 88).

En juillet 1997, aucun des 16 enfants (9 mois – 36 mois) ne présentait de signes graves de TC : pas de foyer de chorioretinite, pas de retard psycho-moteur.

Les 43 enfants pour lesquels les diagnostics ante et neo étaient négatifs ne présentaient à l'époque aucun signe clinique et/ou sérologique de TC.

DISCUSSION

I DIAGNOSTIC ANTENATAL

Dans les séroconversions périconceptionnelles (n=25) aucun cas de TC n'a été observé après recul d'un an pour les enfants les plus jeunes, permettant de rassurer les parents dont les réactions sérologiques correspondent à cette situation.

En cas de séroconversions du premier trimestre (n=28) on observe 4 TC (cas n° 40, 42, 46, 48,) avec 3 ITG pour des signes échographiques majeurs de fœtopathie (cas n°40, 46, 48). Dans toutes les équipes ces signes échographiques majeurs conduisent à une proposition d'ITG (67).

Les 34 séroconversions du deuxième trimestre ont été à l'origine de 14 TC (cas n°54, 56, 59, 61, 64, 68(gémellaire), 69, 73, 75, 76, 78, 83, 85) dont 2 ITG (avec également existence de signes échographiques majeurs) mais 10 seulement ont été diagnostiquées en prénatal (inoculation et/ou PCR) bien que l'amniocentèse ait été pratiquée dans de bonnes conditions, l'étape placentaire ayant été anormalement prolongée dans ces observations, ce qui justifie la pratique de l'amniocentèse à distance des signes sérologiques. Cette période du deuxième trimestre reste celle au cours de laquelle la fréquence et la gravité sont réunies. Les auteurs considèrent que la période intermédiaire comprise entre 8 et 20 semaines est la plus dangereuse, associant transmission fréquente du parasite (17%) et atteint fœtale grave (27, 100).

Au cours du troisième trimestre le diagnostic anténatal est moins souvent pratiqué ce qui est dommageable puisque le diagnostic positif permet un traitement précoce du fœtus. On note 3 TC avec 2 diagnostics anténataux positifs (inoculation et PCR) ; dans la troisième observation l'amniocentèse a été pratiquée trop précocement après le diagnostic de séroconversion, quelques jours seulement après l'apparition des IgG. Le risque d'accouchement prématuré explique le faible nombre d'amniocentèses réalisées à ce stade de la grossesse.

Pratlong (88), en cas de TC, isole le toxoplasme dans 38% des liquides amniotiques (par inoculation à la souris) un pourcentage plus faible que ceux des autres études qui observent des résultats dans 55 à 72% des cas selon les auteurs (8, 18, 34, 48, 55, 66, 68). Ces derniers chiffres sont comparables à ceux de l'expérience nantaise qui retrouve le toxoplasme dans 45% des cas par culture et dans 67% par inoculation.

Pour Pratlong la PCR augmente la détection du parasite à 60%. Cette méthode est d'un grand intérêt par sa rapidité de réponse et sa grande sensibilité (14, 18, 66, 9, 97) permettant d'atteindre 100% de mise en évidence du toxoplasme (18, 68). La sensibilité de notre étude atteint 76%. Les différences s'expliquent par le laps de temps entre séroconversion et prélèvement et par les conditions techniques (volume d'échantillon, transport, inhibiteurs).

Actuellement les protocoles techniques ont été perfectionnés permettant une sensibilité et une reproductibilité optimales.

Enfin, un diagnostic anténatal négatif ne doit pas faire écarter le diagnostic de TC. Pour Pratlong 7 cas de TC se sont déclarés parmi les 211 diagnostics anténataux négatifs (88). Dans notre étude 5 fœtus (cas n°59, 68(gémellaire), 76, 82) au diagnostic anténatal négatif étaient contaminés d'où l'importance du diagnostic néonatal et du suivi des enfants.

II DIAGNOSTIC NEONATAL

La synthèse d'anticorps par le nouveau-né au cours de la période post-natale constitue le critère de base pour exclure ou confirmer une TC et une sérologie à un an prouve l'absence d'infection. C'est dire l'intérêt du diagnostic néonatal combinant la détection du parasite dans le placenta et/ou le SC

Ce diagnostic est réalisé par l'inoculation des placentas et des SC et les sérologies faites sur SC et sur le sang du nouveau-né.

Dans cette étude l'inoculation du placenta est positive au total dans 85.7% des cas de TC ; les inoculations de SC sont positives dans 46.1% des cas de TC ; la sérologie sur le SC montre des marqueurs dans 56.2% des cas avec égale répartition entre IgM et IgA.

Les parasites ont été isolés dans 85.7% des cas de TC avec une VPP de 100%, tous les enfants étant TC+. Il existe en effet une corrélation étroite entre l'isolement du parasite dans le placenta et la TC, comme cela a été démontré par Desmonts et al. (49). Cependant quelques auteurs rapportent des isolements de *T. gondii* dans le placenta sans contamination fœtale. Ces cas restent exceptionnels et dans notre expérience nous ne l'avons pas observé (12, 34, 62). Les deux placentas dont l'inoculation est négative correspondent d'une part à une séroconversion du premier trimestre (cas n°42) pour laquelle l'amniocentèse positive a entraîné la mise en route d'un traitement par pyriméthamine-sulfadiazine dont l'influence sur les tests néonataux a été rapportée (12), et d'autre part à une séroconversion du troisième trimestre (cas n°88) pour laquelle le poids de placenta technique a selon toute vraisemblance été insuffisant pour isoler le parasite. Ces cas illustrent la nécessité d'un suivi sérologique de l'enfant. Les résultats donnés par l'inoculation placentaire sont nettement supérieurs en terme de sensibilité à ceux donnés dans trois études récentes (12, 63, 77) qui signalent respectivement une sensibilité de 60%, 51.5% et 45%. Mais un résultat positif nécessite une analyse pratiquée dans des conditions techniques rigoureuses : poids de placenta inoculé (200 g), nombre de souris inoculées (n=10), entretien des animaux, prévention d'infection bactérienne chez l'animal par l'injection prophylactique d'antibiotiques. Ces conditions sont chargées de contrainte à respecter par le personnel technique.

L'amélioration de la sensibilité de la placentoculture pourrait bénéficier de la mise en application de techniques de biologie moléculaire (PCR) dont les résultats en terme de sensibilité ont fait leur preuve dans le diagnostic anténatal de la TC. Une étude réalisée publiée montre une augmentation de la sensibilité par rapport à l'inoculation à l'animal de 51.5% à 60.9% mais accompagnée d'une chute de la spécificité avec 9.5% de faux résultats positifs.

Dans différentes études, le pourcentage d'enfants contaminés est généralement supérieur à celui que nous avons observé. Il est évalué à 30% (12, 63, 77). Dans notre étude 22.11% des enfants ont été infectés. Ce résultat serait majoré si nous avions exploité toutes les observations de séroconversion du 3^e trimestre, le risque de transmission étant élevé à cette date de la grossesse. Mais nous n'avons pris en compte que les observations pour lesquelles le diagnostic anté et néonatal et le suivi des enfants ont été réalisés dans notre laboratoire. Or, l'amniocentèse en cas de séroconversion tardive n'est que rarement effectuée en raison du risque d'accouchement prématuré et généralement de l'infection plus minime chez le nouveau-né.

L'inoculation du SC à la souris est moins contributive au diagnostic que celle du placenta comme cela a déjà été remarqué par plusieurs auteurs (12, 92). Néanmoins, l'isolement de toxoplasme à partir du SC constitue une preuve irrévocable de TC. Certains auteurs ont également signalé la possibilité d'inoculation placentaire négative mais d'inoculation de SC positive justifiant la pratique de cette technique (12).

L'étude sérologique de 16 SC montre la présence de marqueurs dans 9 observations, répartis IgA et IgM (n=7) ; dans tous les cas la présence d'IgA ou d'IgM doit impérativement être contrôlée au 8^e ou 10^e jour. La performance relativement faible de mise en évidence des IgA dans ce travail peut être en rapport avec la mauvaises techniques utilisées au cours de l'étude et actuellement des résultats plus performants sont obtenus avec le test Platelia-IgA (BIORAD®) avec une sensibilité de 82.1% dans les premiers jours de vie (75).

Certaines équipes rapportent des résultats plus souvent en faveur des IgA (10, 77), alors que d'autres signalent le manque de valeur de la recherche des IgA à la naissance (56). En fait les résultats seraient sous la dépendance de la date de la contamination maternelle ; ainsi les IgM apparaissent plus facilement détectées lorsque la séroconversion a eu lieu au cours du 3^e trimestre et les IgA lorsque celle-ci s'est produite au cours des 1^{er} et 2^e trimestres. Les IgM des séroconversions du 1^{er} trimestre peuvent en effet avoir disparu à la naissance, alors que les IgA produites plus tardivement sont encore présentes (77).

Dans un travail plus récent à Nantes la méthode des profils immunologiques comparés IgG et IgM en WB a été appliquée à 33 couples mère/enfant (sang de cordon). Dans les 13 cas de non atteinte de l'enfant, les profils sont identiques alors que la technique IgM-ISAGA était positive dans 4 cas. Sur les 20 cas de TC, des différences de profils ont été mises en évidence dans 14 cas alors que la technique IgM-ISAGA était positive dans seulement 9 cas. Cette méthode s'est donc montrée d'une sensibilité et d'une spécificité supérieures aux techniques sérologiques classiques (103).

III SUIVI DES NOUVEAUX NES

Comme nous l'avons dit, c'est la synthèse d'anticorps au cours de la période post-natale qui confirme ou infirme définitivement une TC chez le nouveau-né. Cela nécessite une surveillance sur une période de 12 mois, les anticorps IgG transmis passivement disparaissant dans un délai de 7 à 9 mois. Une sérologie négative à un an prouve l'absence d'infection, c'est dire si au delà de la nécessité du diagnostic néonatal il est très important d'assurer ce suivi.

Pour notre part, nous avons pu obtenir des informations sur 58 des 91 nouveaux-nés (63.7%) qu'elles soient cliniques et/ou sérologiques, et entre l'âge de 9 et 36 mois ; dans 53 cas nous avons des résultats sérologiques, notamment car les sérums de certains de ces enfants sont adressés au Service de Parasitologie.

Cependant ce suivi est difficile et ici le caractère parcellaire du recueil des données est dû au phénomène des " perdus de vue " et à une certaine dilution de l'information. Pujol en 1992 à Caen (90) montre que 41% des enfants d'un groupe de 326 suspects de TC n'étaient pas suivis au delà de 6 semaines.

Il est pourtant essentiel d'assurer le suivi sérologique des enfants jusqu'à la négativité totale sur deux prélèvements, seul critère permettant d'éliminer définitivement une TC.

Il est admis la nécessité du suivi des enfants à 1 ,2, 3 mois (90) par des techniques de sérologie classique comprenant une recherche d'IgM en ISAGA et une recherche d'IgA et/ou par des méthodes de WB qui sont désormais de pratique courante dans notre CHU (75, 103).

L'application du WB dans le suivi des nouveaux-nés jusqu'à l'âge de 3 mois apparaît nécessaire en particulier dans les séroconversions des 1^{er} et 2^e trimestres. Ainsi, Robert-Gangneux et al. Dans une étude portant sur 17 enfants TC+ dont 7 présentent un WB négatif dans le SC observent une positivation de 6 WB dans un intervalle de 3 mois réalisant donc un gain de sensibilité de 58.8% à 94% (93). Les auteurs insistent ainsi sur la nécessité de renouveler les WB tous les mois jusqu'à 3 mois en cas de séroconversion précoce des mères, en raison du manque de maturation du système immunitaire du fœtus avant la 20^e semaine ou au contraire en cas de séroconversion très tardive, le délai n'ayant pas été suffisant entre l'infection et la naissance pour observer une synthèse d'anticorps.

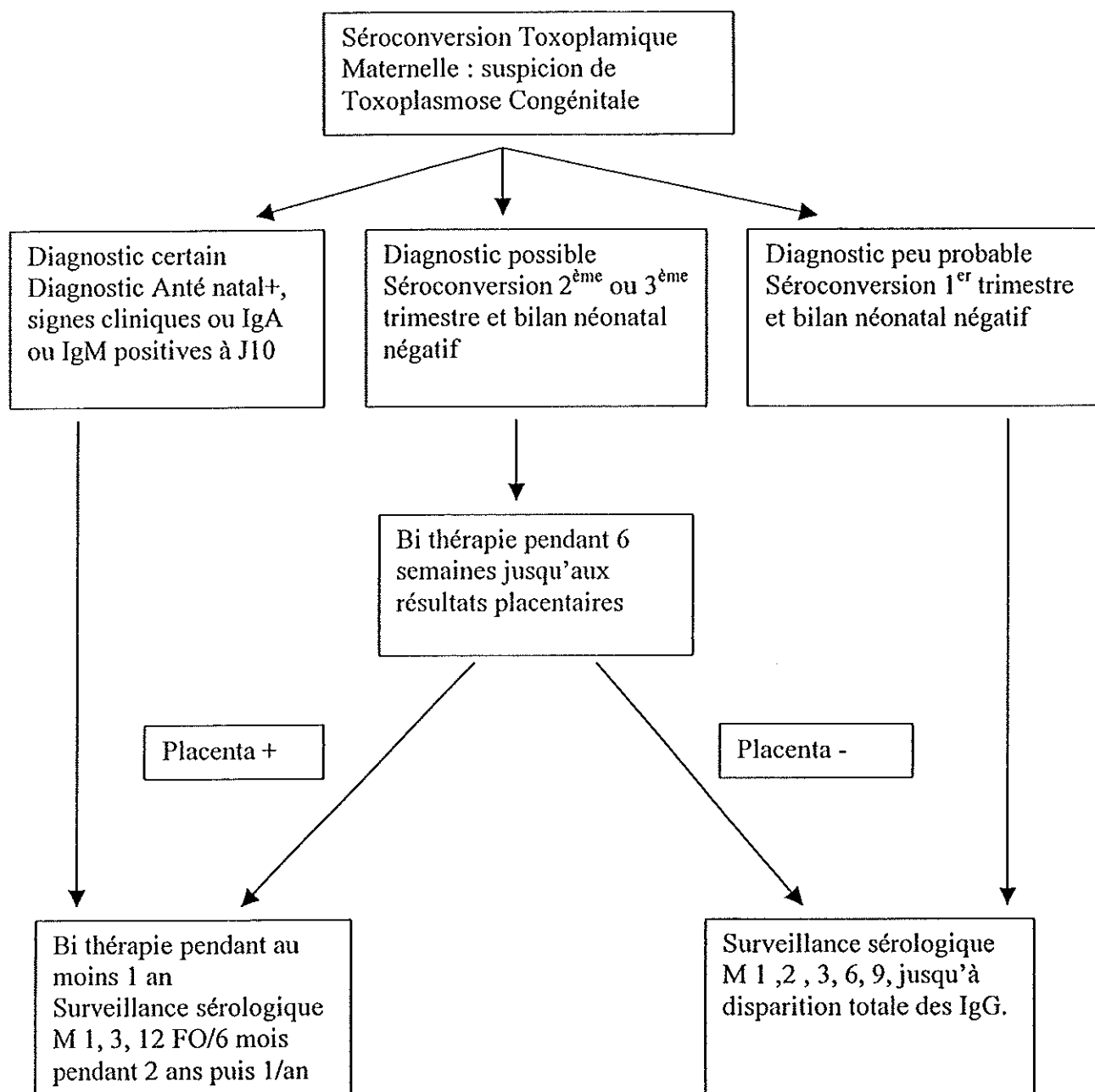
La technique du WB constitue donc en gain de sensibilité incontournable actuellement dans le diagnostic précoce de la TC. Cependant le coût de la réaction constitue un handicap à l'extension de la technique en test de routine de diagnostic de la TC. Il semble bien réservé à des indications précises de diagnostic, en cas de négativité du diagnostic anténatal, de négativité des tests classiques de recherche d'IgM et d'IgA, de suivi des enfants nés de mère ayant contracté la toxoplasmose au cours du 1^{er} trimestre ou en fin du 9^e mois de grossesse.

CONCLUSION

A partir des 95 dossiers de TC étudiés entre 1994 et 1996 recensés dans ce travail, l'étude diagnostique complète avec le bilan biologique anténatal, néonatal, ainsi que le suivi de ces enfants après l'accouchement sur des périodes plus ou moins longues ont permis d'évaluer les risques de TC en cas de séroconversion maternelle pendant la grossesse. Ce travail a aussi montré les limites du travail rétrospectif pour le recueil d'information post natal malgré une bonne collaboration avec les cliniciens. En effet il est noté une absence ou une mauvaise compliance des parents pour le suivi clinique et biologique de leurs enfants par le pédiatre après l'accouchement. Cette étude de synthèse permet d'évaluer les différentes techniques mises à notre disposition pour une information claire et contributive au clinicien quant au devenir des ces enfants, les techniques classiques exposées ici étant actuellement complétées par des techniques nouvelles de diagnostic (WB).

ANNEXE 1

Conduite à tenir thérapeutique – service de pédiatrie CHU Nantes



Bi thérapie = Malocide° (1 cp = 50 mg) 1 mg/kg/j + Adiazine° (1 cp = 500 mg) 100 mg/kg/j

Durée du traitement des formes confirmées : Adiazine° pendant 1 an et Malocide° tous les jours pendant 2 à 6 mois puis 3 jours par semaine jusqu'à 1 an.

Associer systématiquement de l'acide folinique Osfolate° ou Folnoral° (1 gel = 5 mg) 10 mg 3 fois par semaine.

ANNEXE 2

Circulaire relative à la prévention de la toxoplasmose (27/09/1983)

"MODELE LETTRE INFORMATION"

Madame,

L'analyse de votre sang a montré que vous n'étiez pas protégée contre la Toxoplasmose et il faut éviter de contracter cette infection en cours de grossesse, ce qui serait sans gravité pour vous-même mais pourrait être dangereux pour l'enfant.

Le parasite se rencontre:

- soit dans la viande,
- soit dans la terre souillée par les déjections de chat.

Afin de protéger votre futur enfant, et pour éviter d'être contaminée par le toxoplasme prenez chaque jour les précautions suivantes.

1. Lavez - vous les mains soigneusement après avoir manipulé de la viande saignante ou de la terre et avant chaque repas.

2. Mangez de la viande très cuite. Ne mangez pas de la viande saignante : beefsteak, tartare, fondue bourguignonne, brochettes, méchouis, côtelettes ou un quelconque morceau de viande crue.

3. Lavez à grande eau tous les aliments souillés de terre, surtout s'ils doivent être consommés crus, en particulier salade verte et fraises.

4. Evitez les contacts avec les chats. Ne leur donnez pas de viande crue. Faites nettoyer, tous les jours, par une autre personne, avec de l'eau bouillante ou un désinfectant, les récipients qui recueillent leurs excréments.

En conclusion, surtout:

- lavez - vous les mains avant les repas et cuisez bien la viande.

En liaison avec votre médecin et votre laboratoire, continuez à surveiller les réactions sérologiques de la Toxoplasmose toutes les 4 semaines. Si l'infection se produisait, ces examens la détecteraient et le traitement qui protège l'enfant pourrait être entrepris sans retard.

ANNEXE 3

Séroconversions périconceptionnelles

N = 25	Signes écho	LA			PLA	SC	SBB organes	Absence de signes cliniques
		PCR	culture	Inoc				
1	0	0	0	0	0	0		oui
2		0	0	0	0	0		
3	0	0	0	0	0	0	0	
4		0	0	0	0		0	oui
5	0	Inh	0	0	0	0		
6	+	0	0	0	0	0	Ascite fœtal cultures PCR 0	ITG sans rapport avec la toxó
7	0	0	0	0	0	0		
8	0	0	0	0	0	0	0	oui
9	+	0	0	0	0	0		Oui 1 jumeau anencéphale DCD non toxó
9								
10		0	0	0	0	0		oui
11	0	0	0	0	0			oui
12	0	0	0	0	0			
13	0	0	0	0	0	0		
14		0	0	0	0			
15	0	0	0	0	0	0		
16	0	0	0	0	0	0		oui
17		0	0	0	0	0		
18	0	0	0	0	0	0		
19		0	0	0	0	0		
20	0	0	0	0	0	0		
21	0	0	0	0	0	0		
22	0	0	0	0	0	0		oui
23		0	0	0	0	0		oui
24		0	nf	0	0	0		oui
25		0	nf	0	0	0		oui

ANNEXE 3 (suite)

Séroconversions du premier trimestre

N = 28	Signes écho	LA			PLA	SC	SBB organes	Absence de signes cliniques
		PCR	culture	Inoc				
26	0	0	0	0	0	0		oui
27	0	0	0	0	0	0	0	
28		0	0	0	0	0		
29		0	0	0	0	0	0	
30		0	0	0	0	0		oui (rova 2 mois)
31	0	0	0	0	0			
32	0	0	0	0	0	0		
33	0	0	0	0	0			oui
34	0	0	0	0	0			oui
35		0	0	0	0	0		
36	0	0	0	0	0			
37	0	0	0	0	0			oui
38	0	0	0	0	0	0		oui
39	0	0	0	0	0	0		
40	0	+	+	+	+		Foie rate cerveau +	ITG 21.5 SA
41		0	0	0	0	0	0	oui
42	0	+	0	0	0	0	+	oui
43 et	0	0	0	0	0	0	0	oui 3s. pyri- adia
43	0	0	0	0	0	0	0	
44		0	0	0	0	0		
45		0	0	0	0	0		oui
46	+	+	+	+	+		0	ITG
47		0	0	0	0	0		oui
48	+	+	+	+	+		Sang et cerveau du BB :+, foie et poumons -	ITG
49		nf	0	0	0	0		
50		0	0	0	0	0		
51		nf	0	0	0	0		
52		0	0	0	0	0		
53		0	0	0	0	0		

ANNEXE 3 (suite)

Séroconversions du second trimestre

N = 34	Signes écho	LA			PLA	SC	SBB organes	Absence de signes cliniques
		PCR	culture	Inoc				
54	0	+	0	+	+			BB traité oui
55	0	0	0	0	0			oui
56	0	+	+	+	+	Sero + Inoc +		oui
57		0	0	0	0			oui
58		0	0	0	0	0		3 semaines pyri Adia rova
59	0	0	0	0	+	0	0	
60		0	0	0	0	0	0	
61	+	+	0	0	+	+	0	ITG
62	0	0	0	0	0	0		oui
63		0	0	0	0	0	0	
64	0	+	+	+	+	0	0	BB traité oui
65		0	0	0	0	0		
66		0	0	0	0	0	0	
67	0	0	0	0	0			oui
68	0	0	0	0	+	+		oui
68	0	0	0	0	+	+		oui
69	+	+	0	+	+	+	0	
70	0	0	0	0	0	0		
71	0	0	0	0	0	0	0	
72		0	0	0	0	0	0	
73	0	+	+	+	+	0		3 s de ttt oui
74		0	0	0	0	0		oui
75	0	+	+	+	+	0		BB traité/5 cures ; oui à 1 an
76	0	0	0	0	+	+	+	BB traité
77		0	0	0	0	0		
78	0	+	0	+	oubli	0		BB traité
79	0	0	0	0	0	0		oui

ANNEXE 3 (suite)

Séroconversions du second trimestre (suite)

	écho	PCR	culture	inoc	PLA	SC	SBB	Abs. Signes clin.
80	0	0	0	0	0	0		oui
81	0	0	0	0	0	0		
82		0	0	0	+	0		BB traité/1 cure
83	+	+	+	+	+		+	ITG
84		nf	0	0	0			
85	douteux	+	0	+	Souris DCD	+		
86		0	nf	0	0	0		
87		0	nf	0	0	0		

ANNEXE 3 (suite)

Séroconversions du troisième trimestre

N = 8	Signes écho	LA			PLA	SC	SBB organes	Absence de signes cliniques
		PCR	culture	Inoc				
88	0	0	0	0	0	0	+	oui
89		0	0	0	0	0		
90	0	0	0	0	0	0	0	oui
91	0	0	0	0	0	0		
92	0	+	nf	+	+	+	+	Traité/5 cures ; oui à 1 an
93		0	0	0	0	0	0	
94	0	+	+	+	+	0		BB traité ; oui
95	0	0	0	0	0	0		

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : risque de contamination selon la date de la séroconversion (p.25)

Tableau II : répartition des séroconversions en fonction du moment de la contamination (p.53)

Tableau III : incidence de la TC selon la date de la séroconversion (p.54)

Tableau IV : résultats du diagnostic anténatal selon la date de la séroconversion (p.55)

Tableau V : performances des différents tests (p.56)

Tableau VI : association des techniques (p.56)

Tableau VII: pourcentage d'inoculations positives en fonction de la date de la séroconversion (p.57)

Tableau VIII : pourcentage de résultats positifs en fonction de la date de la séroconversion lors de l'inoculation de SC aux souris dans 13 cas TC+ (p.58)

Tableau IX : répartition des résultats sérologiques en fonction de l'âge de la grossesse (p.58)

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : *Toxoplasma gondii*, forme tachyzoïte (p.11)

Figure 2 : cycle de transmission du toxoplasme (p.14)

Figure 3 : représentation schématique de *Toxoplasma gondii* et localisation des différentes protéines et glycoprotéines (p.18)

Figure 4 : schéma de l'immunité (p.27)

Figure 5 : cinétique des Ac. (p.39)

BIBLIOGRAPHIE

1 ABBOUD P., VILLENA I., CHEMLA C., LEROUX B., TALMUD M., BEDNARCZYK L., PINON J.M., QUREUX C.

Dépistage de la toxoplasmose congénitale : devenir des grossesses après diagnostic anténatal. A propos de 211 cas.

J. Gynecol. Obst. Biol. Reprod., 1997, 26, 40-46.

2 AMBROISE-THOMAS P., CRISTINA N.

Résultats et perspectives apportés par les sondes moléculaires et par l'amplification génique in vitro (PCR) dans la toxoplasmose.

Bull. Acad. Nat. Med., 1991, 175, 39-49.

3 ANCELLE T.

La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995.

R.N.S.P., 1996

4 BARANGER F.

Toxoplasmose congénitale: intérêts et limites du dépistage des immunoglobulines A dans le sang du cordon. Comparaison de quatre techniques sérologiques.

Thèse médecine, 1996, Nantes.

5 BERREBI A., BENICHOU A.C., SARRAMON M.F., BESSIERES M.H., ROLLAND M., KOBUCH W.E., DEMUR C., SOLERA M.L., SIE P., AMOUROUX J., FOURNIE A.

Valeurs biologiques de référence chez le fœtus humain. A propos de 106 ponctions de cordon in utero.

J. Gynecol. Obst. Biol. Reprod., 1992, 21, 355-359.

6 BERREBI A., COHEN-KHALAS Y., BESSIERES M.H., ROLLANO M., SARRAMON M.F., FOURNIER A.

Valeur prédictive des signes non spécifiques d'infection fœtale dans la toxoplasmose congénitale.

J. Gynecol. Obst. Biol. Reprod., 1992, 21, 791-794

7 BERREBI A., BESSIERES M.H., COHEN-KHALAS Y., BLOOM M.C., ROLLAND M., SARRAMON M. F., ROQUES C., AMOUROUX J., FOURNIE A.

Diagnostic anténatal de la toxoplasmose. A propos de 176 observations,

J. Gynecol. Obst. Biol. Reprod., 1993, 22, 261-268.

8 BERREBI A., KOBUCH W.E., BESSIERES M.H., BLOOM M.C., ROLLAND M., SARRAMON M.F., ROQUES C., FOIYRNIE A.

Termination of pregnancy for maternal toxoplasmosis.

Lancet, 1994, 344, 36-39.

9 BESSIERES M.H., SEGUELA J.P., ROQUES C.

Etat actuel des techniques de diagnostic de la toxoplasmose acquise.

L'Eurobiologiste, 1989, 23, 213-219.

- 10 BESSIERES M.H., ROQUES C., BERREBI A., BARRE V., CAZAUX M., SEGUELA J. P. IgA antibody response during acquired and congenital toxoplasmosis. J. Clin. Pathol., 1992, 45, 605-608.
- 11 BESSIERES M. H., BERREBI A., CASSAING S., ROQUES C., ROLLAND M., SEGUELA J.P.
Diagnostic anténatal de la toxoplasmose.
Rev. Fr. Lab., 1998, 301, 53-57.
- 12 BESSIERES M.H., BERREBI A., ROLLAND M., BLOOM M.C., ROQUES C., CASSAING S., et al. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests.
Eur. J. Obst. Gynecol. Reprod. Biol. 2001, 94, 37-45.
- 13 BOUGNOUX M.E., HUBERT B.
Toxoplasmose congénitale. Bilan de la prévention primaire en France.
B.E.H., 1990, 4, 13-14.
- 14 BURG J.L., GROVER C.M., POULETTY P., BOOTHROYD J.C.
Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction.
J. Clin. Microbiol., 1989, 27, 1787-1792.
- 15 CAZENAVE J.
Détection de toxoplasmes dans les liquides biologiques par amplification enzymatique d'ADN. Application au diagnostic anténatal.
Mémoire de DEA de Biologie Moléculaire, BORDEAUX 11, 1989.
- 16 CAZENAVE J., BESSIERES M.H., SOURRUE D., CHEYROU A., BEGUERET J.
Détection de toxoplasmes par amplification d'ADN. Un exemple d'application des techniques de biologie moléculaire au diagnostic parasitaire.
Rev. Fr. Lab., 1990, 209, 118-126.
- 17 CAZENAVE J., BESSIERE M.H.
Le diagnostic anténatal de toxoplasmose. Aspects récents de la biologie.
Rev. Fr. Lab., 1992, 240, 95-100.
- 18 CAZENAVE J., FORESTIER F., BESSIERES M.H., BROUSSIN B., BEGUERET J.
Contribution of a new PCR assay to the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis.
Prenatal Diagnosis, 1992, 12, 119-127.
- 19 CESBRON-DELAU, A. CAPRON.
Excreted/secreted antigens of *Toxoplasma gondii*. Their origin and role in the host-parasite interaction,
Res. Immunol. 1993, 144, 11-44.

20 CHAILLE C.

Intérêt et limite de la détermination de l'avidité des immunoglobulines G dans le diagnostic de toxoplasmose maternelle.

Thèse Pharma. Nantes, 1997.

21 CORNELISSEN A.W.C.A , OVERDULVE J.P., VAN DER PLOEG M.

Determination of nuclear DNA of five Eucoccidian parasites, *Isospora* (*Toxoplasma*) *gondii*, *Sarcocystis cruzi*, *Eimeria tenella*, *E. acervulina* and *Plasmodium berghei*, with special reference to gamontogenesis and meiosis in *T gondii*.

Parasitol., 1984, 88, 531-553.

22 COURJAULT C.

Diagnostic néonatal de la toxoplasmose congénitale : à propos de 165 cas.

Thèse Pharm. Toulouse, 1996.

23 COUVREUR J., NOTTIN N., DESMONTS G.

La toxoplasmose congénitale traitée. Résultats cliniques et biologiques.

Ann. Pédiatr., 1980, 27, 647-652.

24 COUVREUR J., DESMONTS G., TOURNIER G., SZUSTERKAC M.

Etude d'une série homogène de 210 cas de toxoplasmose congénitale chez des nourrissons âgés de 0 à 11 mois et dépistés de façon prospective.

Ann. Pédiatr., 1984, 31, 815-819.

25 COUVREUR J., DESMONTS G., THULLIEZ P.

Prophylaxis of congenital toxoplasmosis. Effects of spiramycin on placental infection.

J. Antimicrob. Chemother., 1988, 22 (suppl. B), 193-200.

26 COUVREUR J., THULLIEZ P.

Devenir des toxoplasmoses congénitales.

Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 1989, 2, 80-88.

27 COUVREUR J.

Prise en charge thérapeutique de la femme enceinte ayant une séroconversion de la toxoplasmose.

In Réunion des pédiatres de l'Est et du Nord, 1990 Besançon, Faculté de Médecine.

28 COUVREUR J., THULLIEZ P., DAFFOS F., AUFRANT C., BOMPARD Y., GESQUIERE A., DESMONTS G.

Fœtopathie toxoplasmique traitement in utero par l'association pyriméthamine - sulfamide.

Arch. Fr. Pédiatr., 1991, 48, 397-403.

29 CRISTINA N., LIAUD M.F., SANTORO F., OURY B., AMBROISE-THOMAS P.

A family of repeated DNA sequences in *Toxoplasma gondii* cloning, sequence analysis, and use strain in characterization.

Experimental Parasitology, 1991, 71, 73-81.

30 CRISTINA N., DEROUIN F., PELLOUX H., PIERCE R., CESBRON-DELAUWN M.F., AMBROISE-THOMAS P.

Détection de *Toxoplasma gondii* chez des patients sidéens par la technique de "polymerase chain reaction" à l'aide de la séquence répétée TGR1E.

Path. Biol., 1992, 40, 52-55.

31 DAFFOS F., CAPELLA-PAVLOVSKY M., FORESTIER F.

Fetal blood sampling via the umbilical cord using a needle guided by ultrasound. Report of 66 cases.

Prenat. Diagn., 1983, 3, 271-277.

32 DAFFOS F., CAPELLA-PAVLOVSKY M., FORESTIER F.

Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound. A study of 606 consecutive cases.

Am. J. Obstet. Gynecol., 1985, 153, 655-660.

33 DAFFOS F., FORESTIER F.

Médecine et biologie du fœtus humain

(vol I) Maloine Edit., Paris, 1988.

34 DAFFOS F., FORESTIER F., CAPELLA-PAVLOVSKY M., THULLIEZ P., AUFRANT C., VALENTI D., COX W.L.

Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis.

N. Engl. J. Med., 1988, 318, 271-275.

35 DARDE M.-L., BOUTEILLE B., PESTRE-ALEXANDRE M.

Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates.

J. parasitol., 1992, 78, 786-794

36 DARDE M.-L., BOUTEILLE B., PESTRE-ALEXANDRE M.

Study of genetic polymorphism of *Toxoplasma gondii* through isoenzyme analysis, in Toxoplasmosis (Springer Verlag-Berlin).

NATO ASI series, 1993, 78, 9-17.

37 DECOSTER A., DARCY F., CARON A., CAPRON A.

IgA antibodies against P30 as markers of congenital and acute toxoplasmosis.

Lancet, 1988, 12, 1104-1106.

38 DECOSTER A., SLIZEWICZ B., SIMON J., BAZIN C., DARCY F., VITTU G., BOULANGER C., CHAMPEAU Y., DEMORY JL., DUHAMEL M., et al.

Platelia-Toxo IgA, a new kit for early diagnosis of congenital toxoplasmosis by detection of anti-P30 immunoglobulin A antibodies.

J. Clin. Microbiol., 1991, Oct, 29(10), 2291-5

39 DECOSTER A., DARCY F., CARON A., VINATIER D., HOUZE DE L'AULNOIT D., VITTU G., NIEL G., HEYER F., LECOLIER B., DELCROIX M., MONNIER J.C., DUHAMEL M., CAPRON A.

Anti-P30 IgA antibodies as prenatal markers of congenital toxoplasma infection.

Clin. Exp. Immunol., 1992, 87, 310-315.

- 40 DENKERS E.Y., SHER A., GAZZINELLI R.T.
CD8 + T-cell interaction with *Toxoplasma gondii* : implications for processing of antigen for class -I - restricted recognition.
Res. Immunol. 1993, 144, 51-57.
- 41 DEROUIN F., CHASTANG C.
In vitro effects of folate inhibitors on *Toxoplasma gondii*.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1989, 33 (10), 1753-1759.
- 42 DEROUIN F., GARIN J.F.
Isolement de *Toxoplasma gondii* par culture cellulaire chez les sujets infectés par le VIH.
Presse Méd., 1994, 23, 573-574.
- 43 DESMONTS G.
Sur la technique de l'épreuve de lyse des toxoplasmes. Réaction de Sabin et Feldman.
Sem. Hôp. Paris., 1955, 31, 193-198.
- 44 DESMONTS G., COUVREUR J., ALISON F., BAUDELLOT J., GERBEAU J., LELONG
Etude épidémiologique sur la toxoplasmose : de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la fréquence de l'infection humaine.
Rev. Fr. Etud. Clin. Biol., 1965, 10, 952-958.
- 45 DESMONTS G.
Les recherches d'anticorps IgM spécifiques par immuno-adsorption (immunosorbent assay ou I.S.A.).
Lyon Méd., 1982, 248, hors-série, 115-124.
- 46 DESMONTS G., COUVREUR J.,
Histoire naturelle de la toxoplasmose congénitale.
Ann. Pediat., 1984, 31, 799-802.
- 47 DESMONTS G.
Prévention de la toxoplasmose : remarques sur l'expérience poursuivie en France. In : Marois M. (Ed.), Prevention of physical and mental congenital defects, part B. Epidemiology, early detection and therapy, and environmental factors : Proceeding of an International Conference of the « Institut de la Vie » held in Strasbourg, France.
October 10-17, 1982 - Liss AR, New York, 1985(a), 333-339.
- 48 DESMONTS G., DAFFOS F., FORESTIER F., CAPELLA-PAVLOVSKY M., THULLIEZ P., CHARTIER M.
Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis.
Lancet, 1985, 1, 500-504.
- 49 DESMONTS G., COUVREUR J.
Toxoplasmose congénitale. Etude prospective de l'issue de la grossesse chez 542 femmes atteintes de toxoplasmose acquise en cours de gestation.
Sem. Hôp. Paris, 1986, 62, 1418-1422.

50 DESMONTS G., COUVREUR J., THULLIEZ P.

Toxoplasmose congénitale: cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse.

Presse Méd., 1990, 19, 1445-1449.

51 DUBEY J.P., FRENKEL J.K.

Cyst-induced toxoplasmosis in cats.

J Protozool., 1972, 19, 155-177.

52 DUBEY J.P.

Toxoplasma, *Hammondia*, *Besnoitia*, *Sarcocystis* and other tissue cyst-forming coccidian of man and animals.

Parasitic Protozoa, Kreier J.P. ed., Academic press, New York, 1977, 3, 101-237.

53 DUBEY J. P.

Toxoplasmosis.

J.A.V.M.A., 1986, 189, 166-170.

54 DUBEY J. P., BEATTIE C.P.

Toxoplasmosis of animals and man.

CRC Press Ed, Boca Raton Florida (USA), 1988.

55 DUPOUY-CAMET J., BOUGNOUX M.E., LAVAREDA DE SOUZA S., YHULLIEZ P., DOMMERGUES M., MANDELBROT L., ANCELLE T., TOURTE-SCHAEFER C., BENAROUS R.

Comparative value of polymerase chain reaction and conventional biological tests for the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis.

Ann. Biol. Clin., 1992, 50, 315-319.

56 FAURE A. K., FRICKER-HIDALGO H., PELLOUX H., BOST-BRU C., GOULLIER-FLEURET A., AMBROISE-THOMAS P.,

Lack of value of specific IgA detection in the postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis.

J. Clin. Lab. Anal., 1999, 13, 27-30.

57 FELDMAN H.

Epidemiology of toxoplasmosis infections.

Epidemiol. Rev., 1982, 4, 204-213

58 FORTIER B., AJANA F., CAMUS D.

La toxoplasmose en 1990: Diagnostic biologique de la toxoplasmose.

Infectiologie du Praticien, 1990, 6/7, 46.

59 FORTIER B., AISSI E., AJANA F., DIEUSART P., DENIS P., MARTIN DE LASSALE E., LECOMTE-HOUCKE M., VINATIER D.

Spontaneous abortion and reinfection by *Toxoplasma gondii*.

Lancet, 1991, 338, 444.

- 60 FORTIER B., DUBREMETZ J.F.,
Structure et biologie de *T. gondii*.
Méd. Mal. Inf., 1993, 23, 148-153.
- 61 FRANCO EL., WALLS KW., SULZER AJ.
Reverse enzyme immunoassay for detection of specific anti- *Toxoplasma* immunoglobuline
M antibodies.
J. Clin. Microbiol., 1981, 13, 859-864.
- 62 FRICKER-HIDALGO H., PELLOUX H., BOST M., GOULLIER-FLEURET A.,
AMBROISE THOMAS P.
Toxoplasmose congénitale : apport du suivi biologique post-natal.
Presse méd., 1996, 25, 1868-72.
- 63 FRICKER-HIDALGO H., PELLOUX H., RACINET C., GREFFENSTETTE I., BOST-
BRU C., GOULLIER-FLEURET A., et al.
Detection of *Toxoplasma gondii* in 94 placentae from infected women by polymerase chain
reaction, in vivo and in vitro cultures.
Placenta, 1998, 19, 545-9.
- 64 GOULET V., LE MAGNY F., IBORRA M.
Enquêtes sur la connaissance des mesures préventives contre la toxoplasmose auprès des
femmes venant d'accoucher.
B.E.H., 1990, 4, 14-15.
- 65 GRIMWOOD J., SMITH J.E.
Toxoplasma gondii : the role of a 30 kDA surface protein in host cell invasion.
J. Parasitol., 1992, 74, 106-111.
- 66 GROVER C.M., THUILLIEZ P., REMINGTON J.S., BOOTHROYD J.C.
Rapid prenatal diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection by using polymerase chain
reaction and amniotic fluid.
J. Clin. Microbiol., 1990, 28, 2297-2301.
- 67 HOHLFELD P., MAC ALEESE J., CAPELLA-PAVLOVSKI M., GIOVANGEANDI Y.,
THULLIEZ P., FORESTIER F., DAFFOS F.
Foetal toxoplasmosis : ultrasonographic signs.
Ultrasound Obstet. Gynecol., 1991, 1, 241-244.
- 68 HOHLFELD P., DAFFOS F., COSTA J.M., THULLIEZ P., FORESTIER F., VIDAUD
M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on
amniotic fluid.
N. Engl. J. Med., 1994, 331, 695-699.
- 69 JACOBS L., LUNDG MN.
Hemagglutination test for toxoplasmosis.
J. Parasitol., 1957, 43, 308-314.

- 70 JEANNEL D., COSTAGLIOLA D., NIEL G., HUBERT B., DAMS M.
What is known about the prevention of congenital toxoplasmosis.
Lancet, 1990, 336, 359-361.
- 71 LE FICHOUX Y., MARTY P., CHAN H.
Specific serum IgAs in the diagnosis of toxoplasmosis.
Ann. Pédiatr., (Paris) 1987, mai, 34(5), 375-9
- 72 LE PAPE P., MIEGEVILLE M., MORIN O.
Intérêt d'une nouvelle technique d'agglutination indirecte au latex dans le diagnostic de la toxoplasmose. Etude comparative vis-à-vis du Dye-test.
Feuillets de Biologie, 1985, 26(142), 35-38.
- 73 MARTY P., BONGAIN A., RAHAL A., THULLIEZ P., WASFI D., LAMBERT J.C., LE FICHOUX Y., GILLET J.Y.
Prenatal diagnosis of severe fetal toxoplasmosis as a result of toxoplasmic reactivation in an HIV- 1 séropositive woman.
Prenat. Diagn., 1994, 14, 414-415.
- 74 MARTY P., LE FICHOUX Y., DEVILLE A., FOREST R.
Toxoplasmose congénitale et toxoplasmose ganglionnaire maternelle pré-conceptionnelle.
Presse Méd., 1991, 20, 387.
- 75 MORIN O.
Diagnostic néonatal de la toxoplasmose congénitale. Apport des nouvelles techniques de diagnostic.
Imm. Ana. et Bio. Spécial., 2002, 17, 231-7.
- 76 MORLAT P., RAGNAUD J.-M., GIN H., LACOSTE D., BEYLOT J., AUBERTIN J..
La toxoplasmose cérébrale au cours du sida.
Méd. Mal. Infect., 1993, 23, n. spec., 183-189.
- 77 NAESSENS A., JENUM P.A., PÖLLAAK A., DECOSTER A., LAPPALAINEN M., VILLENA I., et al.
Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period : a multicenter évaluation.
J. Pédiatr., 1999, 135, 714-9.
- 78 NAOT Y., REMINGTON J.S.
An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* : use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis.
J. Infect. Dis., 1980, 142, 757.
- 79 NAOT Y., DESMONTS G., REMINGTON J.S.
IgM-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection.
J. Pédiat., 1981, 98, 32-36

- 80 OKSENHENDLER E., MATHERON S.
Toxoplasmose : nouveaux aspects, diagnostic et traitement.
Rev. Prat., 1992, 42, 155-159.
- 81 PAVIA C.S.
Protection against experimental toxoplasmosis by adoptive immunotherapy.
J. Immunologie., 1986, 137, 2985-2990.
- 82 PELOUX Y., COUZINEAU P., BAUFINE-DUCROCQ H., TAYOL J. L., JACQUOT D.
La réaction d'agglutination directe des toxoplasmes.
Ann. Biol. Clin., 1973, 31, 185-192
- 83 PFEFFERKORN E.R., BOROTZ S.E.
Comparaison of mutants of *T. gondii* selected for resistance to azithromycin, spiramycin or clindamycin.
Agent Chemther., 1993, 37, 2571-2577.
- 84 PHILIPPE F., LEPETIT D., GRANCHER M.F., MOREL A., HENOCQ A.
Pourquoi surveiller les enfants dont les mères ont eu une séroconversion de toxoplasmose pendant la grossesse ? Réalité et risque de l'infection toxoplasmique congénitale infraclinique de l'enfant. (Enquête portant sur 30768 naissances).
Ann. Pédiatr. PARIS, 1988, 35(1), 5-10.
- 85 PINON J.M., THOANNES H., POULETTY P.H., POIRRIEZ J., DAMIENS J., PELLETIER P.
Detection of IgA specific for toxoplasmosis in serum and cerebrospinal fluid using a non-enzymatic IgA-capture assay.
Diagn. Immunol., 1986, 4, 223-227.
- 86 PINON J.M., POIRRIEZ J., LEROUX B., DUPOUY D., QUEREUX C., GARIN J.-P.
Diagnostic précoce et surveillance de la toxoplasmose congénitale. Méthode des profils immunologiques comparés.
Presse Méd., 1987, 16 n 10, 471-474.
- 87 PONS J.C., SIGRAND C., GRANGEOT-KEROS L., FRYDMAN R., THULLIEZ P.
Toxoplasmose congénitale: transmission au fœtus d'une infection maternelle antéconceptionnelle.
Presse Méd., 1995, 24, 179-182.
- 88 PRATLONG F., BOULOT P., ISSERT E., MSIKA M., DUPONT F., BACHELARD B., SARDA P., VIALA J.L., JARRY D.
Antenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis concerning 190 observations.
Prenat. Diagn., 1994, 14, 191-198.
- 89 PRATLONG F., BOULOT P., VILLENA I., ISSERT E., TAMBY I., CAZENAVE J., DEDET J.P.
Antenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis : evaluation of the biological parameters in a cohort of 286 patients.
British J. of Obst. and Gynaecol., June 1996, Vol. 103, 552-557.

- 90 PUJOL M., MALBRUNY B., MOREL C., EXMELIN L.
Rappel de l'importance du suivi sérologique des enfants suspects de toxoplasmose congénitale.
Pathol. Biol. Paris., 1992, mar, 40(3), 238-241.
- 91 REMINGTON JS., MC LEOD R., DESMONTS G.
Toxoplasmosis. In : Remington JS, Klein JO, editors. 4th ed. Infectious diseases of the fetus and newborn.
Philadelphia, PA: WB Saunders. 1995, 140-267.
- 92 ROBERT-GANGNEUX F., COMMERE V., TOURTE-SCHAEFFER C., DUPOUY-CAMET J.
Value of prenatal diagnosis and early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Retrospective study of 110 cases.
J. Clin. Microbiol., 1999, 37, 2893-8.
- 93 ROBERT-GANGNEUX F., COMMERE V., TOURTE-SCHAEFFER C., DUPOUY-CAMET J.
Performance of a Western-Blot assay to compare mother and newborn antitoxoplasma antibodies for the early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis.
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1999, 18, 648-64.
- 94 RIZVI F. S., AUTHEMAN J. F., FRACHETTE M. J., CAILLET C.
Mécanismes de l'immunité dans la toxoplasmose humaine et expérimentale.
Méd. Mal. Inf., 1993, 23, 154-161.
- 95 ROUSSEAU C., LEPORT J.L., VILDE.
Prévention de la toxoplasmose chez les immunodéprimés.
Med. Mal. Inf., 1993, 23 : n. spec., 201-210.
- 96 SAIKI R.K., SCRARF S., FALOONA F., MULLIS K.B., RORN G.T., ERLICR H.A., ARNREIM N.
Enzymatic amplification of B globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia.
Science, 1985, 230, 1350-1354.
- 97 SAVVA D., MORRIS J.C., JORNSON J.D., HOLLIMAN R.E.
Polymerase chain reaction for detection of *Toxoplasma gondii*.
J. Med. Microbiol., 1990, 32, 25-31.
- 98 SIBLEY L.D., BOOTHROYD J.C.
Construction of a molecular karyotype for *Toxoplasma gondii*.
Molecular and Biochemical Parasitology, 1992, 51, 291-300.

99 SWITALA I., DUFOUR P., DUCLOY AS., VINATIER D., MONNIER JC., PLANTIER I., FORTIER B.

Aplasia médullaire au cours du traitement d'une toxoplasmose congénitale lors d'une grossesse gémellaire.

J Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. Paris., 1993, 22(5), 513-516.

100 THULLIEZ PH., DESMONTS G.

Toxoplasmose et grossesse.

Concours Méd., 1988, 110, 3320-3326.

101 THULLIEZ P.

Toxoplasmose congénitale résultats de 105 diagnostics prénatals positifs.

Bull. Soc. Fr. Parasitol., 1990, 8, 1001.

102 TIRARD V., NIEL G., ROSENHEIM M.

Diagnosis of toxoplasmosis in patients with AIDS by isolation of the parasite from the blood.

N. Engl. J. Med., 1991, 324-634.

103 TIRAVY C.

Apport de la technique du Western-Blot dans le diagnostic de la toxoplasmose congénitale. A propos de l'étude de 33 couples mère-enfant. Thèse Pharm. Nantes, 1999.

104 WALLON M., GANDIHON F., PEYRON F., MOJON M.

Toxoplasmosis in pregnancy.

Lancet, 1994, 344, 541.

105 WEISS L.M., UDEM S.A., SALGO M., TANOWITZ H.B., WITTNER M.

Sensitive and specific detection of *Toxoplasma* DNA in an experimental murine model : use of *Toxoplasma gondii* - Spécific cDNA and the polymerase chain reaction.

J. Infect. Dis., 1991, 163, 180-186.

106 ZUBER P., JACQUIER P.

Epidemiology of toxoplasmosis : worldwilde status.

Schweiz Med., Wochenschr. Suppl., 1995, 65, 19S, 22S.

BU Santé
Nantes

Nom-Prénom : YVERNOGEOU Franck

Titre de la thèse : TOXOPLASMOSE CONGENITALE : APPORT DU DIAGNOSTIC ANTE
ET NEONATAL. ETUDE RETROSPECTIVE SUR 2 ANS.

Résumé de la thèse : La Toxoplasmose Congénitale, par sa fréquence et la gravité des éventuelles lésions oculaires ou neurologiques chez l'enfant constitue un réel problème de santé publique. Ce travail a eu pour objectif l'étude de 95 dossiers de séroconversions réunissant bilan anténatal (PCR, inoculation aux souris), bilan néonatal (étude parasitologique du placenta et du sang de cordon) et bilan postnatal des enfants au cours de la première année (étude sérologique et clinique). 16 enfants ont été atteints de TC. Dans le diagnostic anténatal, la PCR a une sensibilité de 76.2%, et les inoculations de 71.4%, en néonatal l'étude parasitologique du placenta montre une sensibilité de 90% et celle du sang de cordon de 40%. La présence de marqueurs sérologiques IgA et/ou IgM (ISAGA) a été notée dans 9 observations. Ainsi les différentes techniques à notre disposition permettent de poser le diagnostic de TC dans un pourcentage élevé de cas en anté et/ou en néonatal mais le critère absolu d'absence de TC reste encore la négativité des tests sérologiques à 12 mois de vie.

MOTS CLES : Toxoplasmose congénitale-Diagnostic anténatal-PCR-Diagnostic néonatal.

JURY :

PRESIDENT : Monsieur Michel MARJOLET, Professeur des Universités, Praticien hospitalier (UFR, Nantes).

MEMBRES : Madame Sylviane BILLAUDEL, Professeur des Universités, Praticien hospitalier (UFR, Nantes).

Madame Christelle GRAS, Praticien hospitalier (UFR, Nantes).

DIRECTEUR DE THESE : Madame Odile MORIN, Maître de conférence des Universités, Praticien hospitalier (UFR, Nantes).

Adresse de l'auteur : 10 Quai Besnard, 44610 BASSE-INDRE.