

**UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DE PHARMACIE**

ANNEE 2004

N° 61

**MEMOIRE
DU DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISEES DE
BIOLOGIE MÉDICALE**

Soutenu devant le Jury interrégional le 15 Octobre 2004 par

Charlotte MARTIN

Née le 22 Juillet 1977 à Luçon

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 10 Septembre 1990 tient lieu de :

**THESE
POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN
PHARMACIE**

**Sérologie de la toxoplasmose.
Etude de l'avidité des Immunoglobulines G.
Comparaison de deux techniques : microplaque Platelia®
et automate Liaison®.**

Président : Madame le Professeur Berthe-Marie IMBERT

Membres du Jury : Monsieur le Professeur Dominique CHABASSE

Madame le Docteur Odile MORIN (Directeur de Thèse)
Monsieur le Docteur Philippe DOUET

**A Madame le Professeur Berthe-Marie Imbert,
Pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse.**

**A Monsieur le Professeur Dominique Chabasse,
Pour le remercier de faire partie de mon jury et d'avoir accepté de juger ce
travail,
Pour le remercier de son enseignement de la parasitologie au cours du DES.**

**A Madame le Docteur Odile Morin,
Pour m'avoir confié ce travail et guidé tout au long de sa réalisation,
Pour son dynamisme, son enthousiasme et sa disponibilité.**

**A Monsieur le Docteur Philippe Douet,
Pour le remercier de faire partie de mon jury.**

Aux laboratoires Biorad et DiaSorin, avec mes remerciements pour m'avoir permis de réaliser ce travail .

A mes parents, Philippe et Brigitte,

A ma sœur, Hélène-Sophie,

A Julien,

A ma famille,

A mes amis,

A tout le personnel du laboratoire de parasitologie du CHU de Nantes.

INTRODUCTION.....

GÉNÉRALITÉS.....

Premier chapitre : Toxoplasme et toxoplasmose.....

Introduction.....

I Historique.....

II Le parasite, l'agent pathogène : Toxoplasma gondii.....

III Epidémiologie.....

IV Aspects cliniques de la toxoplasmose.....

Deuxième chapitre : La toxoplasmose congénitale.....

I Données épidémiologiques.....

II Physiopathologie de l'atteinte fœtale.....

III Prévention de la toxoplasmose congénitale.....

Troisième chapitre : Diagnostic biologique de la toxoplasmose.....

I Diagnostic d'une toxoplasmose acquise.....

II Diagnostic de la toxoplasmose congénitale.....

MATERIEL & METHODES.....

I Matériel.....

II Méthodes.....

A. Liaison®.....

B. Platelia® Toxo IgG TMB et Platelia® Toxo IgM TMB.....

RESULTATS.....

I Sérums négatifs.....

II Toxoplasmoses chroniques sans IgM.....

III Toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM.....

IV Toxoplasmoses récentes avec présence d'IgA.....

VI Réactivations toxoplasmiques.....

VII Population totale.....

DISCUSSION.....

Sérologies IgG et IgM selon les automates.....

Avidité des IgG.....

CONCLUSION.....

ANNEXES.....

BIBLIOGRAPHIE.....

LISTE DES ABREVIATIONS

2-ME : 2-Mercapto-Ethanol
A : AxSYM®
AB, AE, AI : Avidité Basse, Elevée, Intermédiaire
Ac : Anticorps
Ag : Antigène
ADN : Acide Désoxyribo Nucléique
ARN : Acide Ribo Nucléique
C : Concordance
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CLIA : ChimiLuminescence Immuno Assay
DO : Densité Optique
ELFA : Enzyme Linked Fluorescent Assay
ELIFA : Enzyme Linked Immuno Filtration Assay
ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FN, FP : Faux Négatif, Faux Positif
 γ -GT : Gamma Glutamyl Transpeptidase
HAP : Hémagglutination Passive
IFI : Immuno Fluorescence Indirecte
IFN : Interféron
Ig A, E, G, M : Immunoglobuline A, E, G, M
ISAGA : Immuno Sorbent Agglutination Assay
L : Liaison®
LCR : Liquide Céphalo Rachidien
LDH : Lactico Déshydrogénase
MEIA : Microparticulaire Enzyme Immuno Assay
MU : Méthyl-4-ombelliférone
MUP : Phosphate de méthyl-4-ombelliférone
NFS : Numération Formule Sanguine
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
P : Platelia®
PAL : Phosphatase Alcaline
PCR : Polymerase Chain Reaction
RFV : Relative Fluorescent Value
RLU : Relative Light Unit
Se : Sensibilité
SIDA : Syndrome de l'Immuno Déficience Acquise
Sp : Spécificité
T.gondii : *Toxoplasma gondii*
TMB : Tétraméthyl Benzidine
UA : Unité Arbitraire
UI : Unité Internationale
V : Vidas®
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
VN, VP : Vrai Négatif, Vrai Positif

INTRODUCTION

La toxoplasmose est une anthroponose cosmopolite due à un protozoaire intracellulaire : *Toxoplasma gondii*. Cette infection parasitaire est généralement parfaitement bénigne chez l'immunocompétent. Elle peut par contre être redoutable chez la femme enceinte du fait de ses conséquences pour le fœtus, ainsi que chez l'immunodéprimé.

La primo-infection toxoplasmique pergravidique expose ainsi le fœtus à la toxoplasmose congénitale, dont les séquelles peuvent être gravissimes. La transmission du parasite de la mère au fœtus est prévenue par la mise en place d'un traitement adapté le plus précocement possible après la séroconversion chez la mère. Il est alors primordial de disposer de techniques sérologiques discriminantes permettant de dépister toute séroconversion chez la femme enceinte, et de contribuer à la datation de la contamination maternelle. Ce dépistage sérologique repose en première intention sur les dosages des IgG et des IgM. Mais dans certaines situations, ils ne suffisent pas pour une interprétation correcte de la sérologie, et ne permettent pas seuls de dater la séroconversion maternelle. D'autres techniques sont alors réalisées afin d'étayer le diagnostic : dosage des IgA, détermination de l'avidité des IgG.

Après un rappel sur le toxoplasme, la toxoplasmose congénitale et le diagnostic biologique de la toxoplasmose, nous comparerons deux techniques de dosage des IgG et des IgM, et de mesure de l'avidité des IgG avec deux techniques prises en référence.

GÉNÉRALITÉS

Premier chapitre : Toxoplasme et toxoplasmose.

Introduction

La toxoplasmose est une maladie parasitaire commune à l'homme et à plusieurs espèces animales. Cette anthroponose est due à un parasite intracellulaire obligatoire : *Toxoplasma gondii*. L'infection toxoplasmique est très fréquente et confère une immunité protectrice. L'affection est le plus souvent bénigne chez l'homme mais la séroconversion peut être redoutable chez la femme enceinte ou l'immunodéprimé.

I Historique

Toxoplasma gondii (*T.gondii*) a été découvert en 1908 à l'Institut Pasteur de Tunis par Nicolle et Manceaux, à la suite d'une épidémie de laboratoire chez un rongeur, *Ctenodactylus gondii* (Nicolle *et al*, 1908). Le protozoaire isolé se présentait sous forme arquée. Cette découverte fut présentée en octobre 1908 par Laveran à l'Académie des Sciences de Paris. La même année à Sao Paulo, Splendore isolait ce parasite d'un lapin (Splendore *et al*, 1908).

En 1937, le premier cas d'infection toxoplasmique est décrit par Wolf et son équipe chez un nouveau-né décédé des suites d'une encéphalomyélite aiguë (Wolf *et al*, 1937). Au cours des années suivantes, de nombreux cas de toxoplasmoses acquises et congénitales sont décrits.

En 1942, Sabin décrit pour la première fois les manifestations cliniques de la toxoplasmose (Sabin, 1942). Et en 1948, avec Feldman, il met au point le Dye-Test ou test de lyse des toxoplasmes. Ce test est le premier test de dépistage sérologique, qui a notamment permis d'évaluer l'incidence de la toxoplasmose (Sabin et Feldman, 1948).

Jusqu'à la fin des années 60, la toxoplasmose est considérée uniquement comme une infection due à l'ingestion de viande contaminée ou une infection transplacentaire.

En 1965, les formes de résistance du toxoplasme sont mises en évidence dans les fèces du chat (Hutchinson *et al*, 1966).

Frenkel montre ensuite que le chat et les félinés sont les hôtes définitifs naturels du toxoplasme (Frenkel *et al*, 1969).

La description du cycle sexué entéroépithélial chez le chat, avec émission d'oocystes, permet d'envisager un nouveau mode de contamination pour l'homme, l'ingestion d'oocystes. De cette découverte découle un certain nombre de mesures prophylactiques hygiéno-diététiques. Il faudra cependant attendre plusieurs années pour se rendre compte de l'importance de l'ingestion des oocystes dans la contamination.

Depuis, d'énormes progrès dans le diagnostic immunologique et parasitologique ont permis de préciser l'épidémiologie et le stade de l'infection. Aujourd'hui le problème majeur est représenté par la toxoplasmose chez la femme enceinte et l'atteinte congénitale par transmission materno-foetale. En outre, la fréquence accrue des immunodépressions exige une amélioration dans la précocité du diagnostic, les traitements curatifs et la prévention primaire et secondaire des réactivations toxoplasmiques.

II Le parasite, l'agent pathogène : *Toxoplasma gondii*.

1. Taxonomie.

Toxoplasma gondii est un protozoaire à multiplication intracellulaire obligatoire. Cette coccidie appartient au phylum des Apicomplexa qui regroupe les parasites avec un complexe apical (Levine, 1988). La position du genre *Toxoplasma*, ne comprenant qu'une seule espèce, a changé au gré des diverses classifications.

Johnson a réalisé le séquençage des ARN ribosomiaux du parasite afin de préciser sa position taxonomique (Johnson *et al*, 1987).

La position de *Toxoplasma gondii* dans la systématique est la suivante (Figure 1) :

Sous-règne	Protozoaires		
Embranchement	Apicomplexa		
Classe	Sporozoa		
Sous-classe	Coccidia		
Ordre	Eucoccidia		
Sous-ordre	Eimeriina	Haemosporina (<i>Plasmodium</i>)	
Famille	Sarcocystidae	Eimeriidae	Cryptosporidiidae
Genre	<i>Sarcocystis</i> <i>Toxoplasma</i>	<i>Eimeria</i> <i>Isospora</i>	<i>Cryptosporidium</i>
Espèce	<i>Toxoplasma gondii</i>		

Figure 1 : Position taxonomique de *Toxoplasma gondii*.

2. Morphologie.

Le toxoplasme peut se présenter sous trois formes évolutives :

- a. Le tachyzoïte.

Du grec tachos : rapide, le tachyzoïte était autrefois appelé trophozoïte. Il a l'aspect d'un croissant ou d'un arc et mesure de 6 à 8 µm de long sur 3 à 4 µm de large (Figure 2). C'est la forme proliférative de *Toxoplasma gondii*. L'extrémité antérieure est effilée tandis que l'extrémité postérieure est arrondie.

Le parasite est délimité par une pellicule trimembranaire composée d'un plasmalemme continu classique doublé en partie par un complexe membranaire interne formé de vésicules aplaties (Morrissette *et al*, 1997).

Comme tous les Apicomplexa, *T.gondii* possède un complexe apical situé dans la partie antérieure du tachyzoïte, comprenant un conoïde, des rhoptries, des micronèmes et des granules denses. Le conoïde, en forme de tronc de cône, est constitué de structures fibrillaires enroulées en spirale. Les rhoptries, au nombre d'une dizaine, ont une forme de massue de 1 à 4 µm de long. Les granules denses sont des organites de 200 nm de diamètre situés de part et d'autre du noyau. Leur contenu est homogène et dense aux électrons. Les micronèmes, plus petits, ont une forme de bâtonnet et sont localisés dans la moitié antérieure du tachyzoïte.

Le rôle du complexe apical n'est pas complètement connu mais il est très probablement associé à la pénétration du parasite à l'intérieur de la cellule hôte. En effet, le conoïde peut pivoter, s'incliner, s'étendre, se rétracter au contact de la cellule, jouant le rôle d'organe de reconnaissance (Chiappino *et al*, 1984). Les rhoptries ont une fonction sécrétoire, notamment d'enzymes protéolytiques dont le « Penetration Enhancing Factor » (Saffer *et al*, 1992). Le complexe apical permettrait de créer un environnement intracellulaire favorable au développement et à la croissance du parasite.

L'intérieur du tachyzoïte contient également des organites classiques disséminés dans le cytoplasme : un noyau, une mitochondrie, un appareil de golgi, un réticulum endoplasmique et de nombreux ribosomes. Quelques grains d'amylopectine sont localisés dans la partie postérieure du parasite. *Toxoplasma gondii* contient également un organite un peu particulier, l'apicoplaste, renfermant un ADN circulaire. Son rôle est inconnu mais sa structure est proche de celle de l'ADN des chloroplastes.

Les tachyzoïtes sont mobiles, mais aucun moyen de locomotion n'est visible, comme des cils, des flagelles ou des pseudopodes.

Le tachyzoïte pénètre dans la cellule hôte (en 15 secondes environ) de façon active ou passive par phagocytose (Bonhomme *et al*, 1992). La cellule peut contenir 8 à 32 tachyzoïtes, elle

devient alors globuleuse et prend le nom de pseudo-kyste. Une fois dans la cellule, le parasite devient ovoïde et s'entoure d'une vacuole parasitophore dérivée du plasmalemme et de la membrane cytoplasmique de la cellule hôte. A l'intérieur de la vacuole, un important réseau tubulo-vésiculaire se développe à la partie postérieure du tachyzoïte (Sheffield *et al*, 1968), structure déjà observée par Nichols sur des cultures de toxoplasmes (Nichols *et al*, 1983).

Le tachyzoïte est présent au stade aigu de l'infection. Il se multiplie rapidement par endodyogénie. Ce processus de reproduction asexuée se caractérise par l'individualisation de deux cellules filles à l'intérieur du parasite après division du noyau. De nouveaux tachyzoïtes sont alors libérés par éclatement de la cellule mère. L'invasion du parasite et sa croissance sont séparés par une période de latence dont la durée dépend de la virulence de la souche de toxoplasme. Parfois des divisions synchronisées de plusieurs groupes de tachyzoïtes donnent naissance à des rosettes (Bommer, 1969).

Le tachyzoïte est fragile dans le milieu extérieur. Il est rapidement détruit par l'acidité gastrique et les anticorps circulant au moment de son passage d'une cellule à l'autre. L'ingestion de tachyzoïtes par l'homme n'est donc pas considérée comme une source de contamination (Pettersen, 1979). Cette forme végétative est également sensible à la chaleur et à la congélation. En revanche, le tachyzoïte échappe à la digestion cellulaire, ce qui permet sa transformation en bradyzoïte.

b. Kyste et bradyzoïte.

Les bradyzoïtes (du grec brady : lent) ou cystozoïtes sont morphologiquement peu différents des tachyzoïtes mais ils sont légèrement plus petits (Figure 2). Leur noyau est plus postérieur et ils possèdent de nombreux granules cytoplasmiques d'amylopectine (Frenkel, 1973). Ce sont les formes végétatives des animaux chroniquement infestés. Leur métabolisme est réduit ainsi que leur pouvoir pathogène.

Ils s'accumulent par dizaines à centaines, formant des kystes entourés d'une membrane épaisse et résistante, d'origine mixte, parasitaire et cellulaire. Cette membrane périkystique est imperméable aux anticorps et aux médicaments actifs seulement sur les tachyzoïtes.

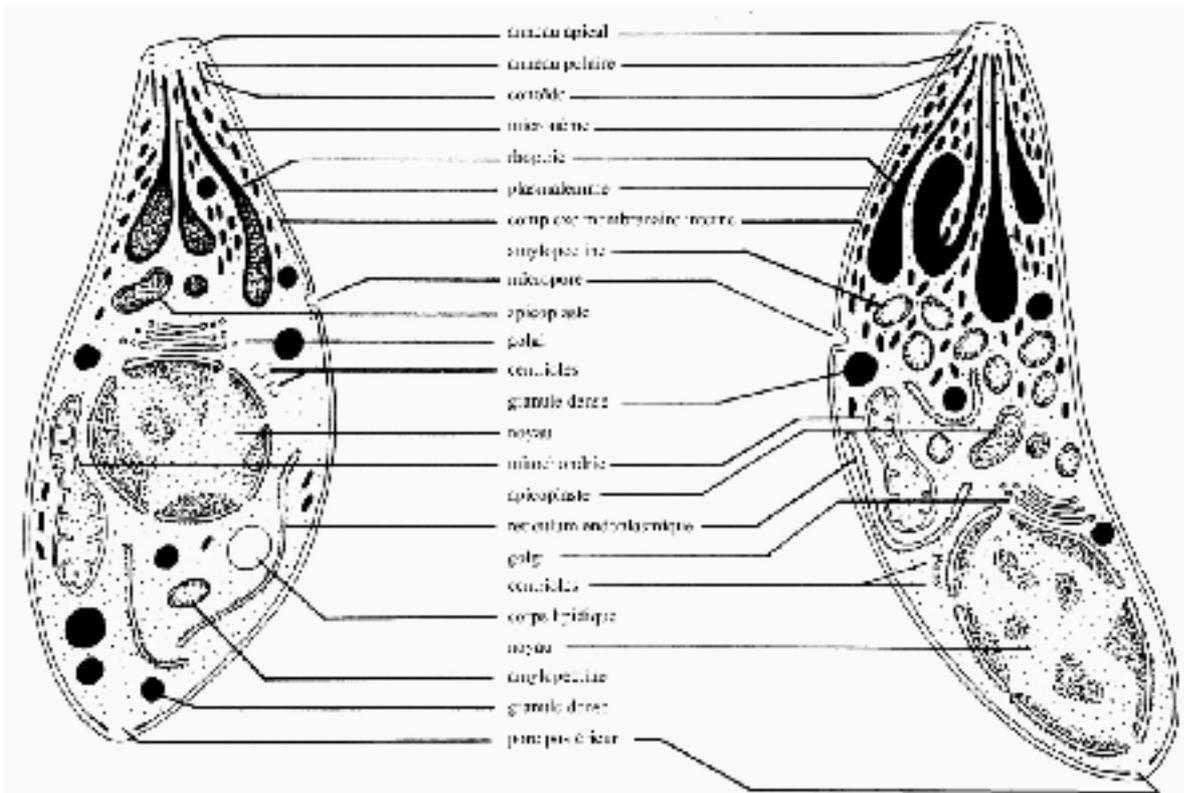
Ces kystes mesurent de 5 à 100 μm et sont de forme ovoïde ou arrondie. Ces kystes contenant jusqu'à 100 bradyzoïtes se localisent préférentiellement dans les tissus pauvres en anticorps : les muscles squelettiques et cardiaque, le cerveau et la rétine.

Les kystes peuvent persister tout au long de la vie sans causer de désordre cellulaire ou de réponse inflammatoire. Ils produisent des antigènes qui traversent la membrane périkystique et entretiennent l'immunité. Celle-ci est totale et définitivement protectrice chez le sujet immunocompétent.

Les kystes ont une grande longévité, comparable à celle des cellules qui les hébergent.

Les kystes ne sont pas affectés par des températures inférieures à 40°C, les enzymes protéolytiques et l'acidité gastrique (Jacobs *et al*, 1960). Mais une congélation brutale et prolongée à -20°C semble les détruire. Ils sont également très sensibles aux micro-ondes et aux rayons gamma.

Les kystes sont donc des formes de résistance et de dissémination permettant ainsi une contamination de l'homme par ingestion de viande infestée insuffisamment cuite.



c. Oocyste.

L'oocyste est issu de la reproduction sexuée dans l'intestin du chat. Ovoïde, il mesure de 9 à 11 μm de large sur 11 à 14 μm de long.

Après leur élimination à l'état immature dans les fèces de l'animal, ils doivent subir une sporulation dans le milieu extérieur pour devenir infestants. Leur sporulation nécessite de 1 à 5 jours et des conditions particulières d'oxygénation, de température et d'humidité. A l'intérieur de l'oocyste s'individualisent deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes haploïdes (Ferguson *et al*, 1978). Ceux-ci ont une structure comparable à celle du tachyzoïte.

L'oocyste est capable de demeurer infestant un an ou plus dans le sol, protégé par une membrane extérieure résistante. Il n'est pas détruit par le froid et l'acidité gastrique, mais il est sensible à la chaleur (température supérieure à 60°C) ainsi qu'à la dessiccation. Par contre, certains désinfectants sont actifs sur les oocystes : le formol et l'ammoniaque en solution à 0,3% (Nicolas *et al*, 1993).

3. Structure biochimique du parasite.

La structure biochimique de *Toxoplasma gondii* est complexe. Le tachyzoïte est le stade le mieux connu. Plusieurs molécules ont été identifiées à sa surface.

La protéine la plus abondante est la protéine P30, elle représente 5% des protéines totales. Elle joue un rôle important dans la réponse immunitaire, en effet cette protéine est très immunogène et entraîne une réponse humorale rapide.

Le complexe membranaire se caractérise par un très faible rapport cholestérol/phospholipides, la présence de glycophospholipides représentant un intérêt diagnostique.

Certaines protéines sont plus spécifiques d'un stade évolutif : P22, P30 et P35 pour le tachyzoïte, P18, P21, P34 et P36 pour le bradyzoïte et P25 et P67 pour le sporozoïte (Couvreur *et al*, 1988 ; Fortier *et al*, 1996).

4. Cycle évolutif.

Le cycle biologique de *Toxoplasma gondii* comprend deux modalités différentes produisant chacune un stade infestant particulier (Figure 3) :

- une phase coccidienne dans l'intestin de son hôte définitif : le chat.
- une phase proliférative chez l'hôte intermédiaire : les oiseaux, les mammifères dont l'Homme.

- a. Développement de *Toxoplasma gondii* chez son hôte définitif : le chat (cycle entéro-épithélial).

Le parasite présente une spécificité étroite pour son hôte définitif : elle est limitée au chat et à quelques rares autres félinés.

Le chat s'infeste par voie digestive, en ingérant des kystes, en dévorant des rongeurs ou des oiseaux parasités, ou des oocystes matures d'origine tellurique. Le premier mode de contamination correspond à un cycle hétéroxène (plusieurs hôtes successifs) et le second à un cycle monoxène (parasite évoluant chez un seul hôte).

Au niveau de l'iléon de l'animal, les kystes ou les oocystes matures libèrent les formes

végétatives. Les trophozoïtes pénètrent dans les cellules épithéliales et vont se multiplier par reproduction asexuée ou schizogonie et donner naissance à de nombreux schizozoïtes ou mérozoïtes (Ferguson *et al*, 1974). Après plusieurs cycles schizogoniques, dans certains entérocytes, quelques mérozoïtes vont se différencier en éléments sexués : les gamétocytes (microgamète mâle et macrogamète femelle). La fécondation ou gamogonie, conjugaison de deux gamétocytes, aboutit à la formation d'un œuf particulier : l'oocyste, qui tombe dans la lumière intestinale pour ensuite être éliminé dans le milieu extérieur.

Les premiers oocystes sont ainsi retrouvés dans les fèces du chat 3 à 10 jours après l'ingestion de kystes et plus de 18 jours après l'ingestion d'oocystes (Dubey, 1996).

L'élimination importante d'oocystes, non sporulés (environ un million par jour) est transitoire, elle ne dure que quelques jours. L'oocyste n'atteint sa maturité que dans le milieu extérieur après sporulation dans des conditions favorables de température, humidité et oxygénation : cette étape correspond à la sporogonie (Ferguson *et al*, 1978).

Le cycle peut se poursuivre longtemps chez le chat par schizogonie et gamogonie à la faveur de réinfestations fréquentes et répétées. Le chat représente ainsi un réservoir important et contribue à propager le parasite.

- b. Développement de *Toxoplasma gondii* chez les hôtes intermédiaires (cycle asexué extra intestinal).

Toxoplasma gondii ne présente pratiquement aucune spécificité pour son hôte intermédiaire : l'Homme et tous les homéothermes carnivores et omnivores.

L'infestation de l'hôte intermédiaire est essentiellement due à l'ingestion de kystes contenus dans la chair d'animaux aussi bien carnivores qu'herbivores, ou d'oocystes matures d'origine tellurique. Après digestion chlorhydro-peptidique de la coque kystique ou oocystique, les bradyzoïtes ou sporozoïtes sont libérés et pénètrent dans les cellules du système réticulo-histiocytaire digestif où ils se reproduisent par endodyogénie. Au bout d'un certain temps, les parasites sont libérés par éclatement de la cellule hôte.

L'atteinte des cellules nucléées sanguines favorise une dissémination générale dans l'organisme de l'hôte. Il en résulte une courte phase septicémique avant que les parasites ne pénètrent dans d'autres cellules.

Sept à dix jours après le début de l'infestation, des anticorps circulants spécifiques apparaissent.

Sous cette pression immunitaire, la dissémination est plus ou moins enrayée, selon la virulence des

souches.

La formation de kystes intra tissulaires est rapide, parfois en moins de dix jours (phase latente chronique).

En cas d'immunodépression, la membrane kystique se rompt et les bradyzoïtes peuvent redonner des tachyzoïtes. Les mécanismes exacts restent encore inexpliqués (Ferguson *et al*, 1989).

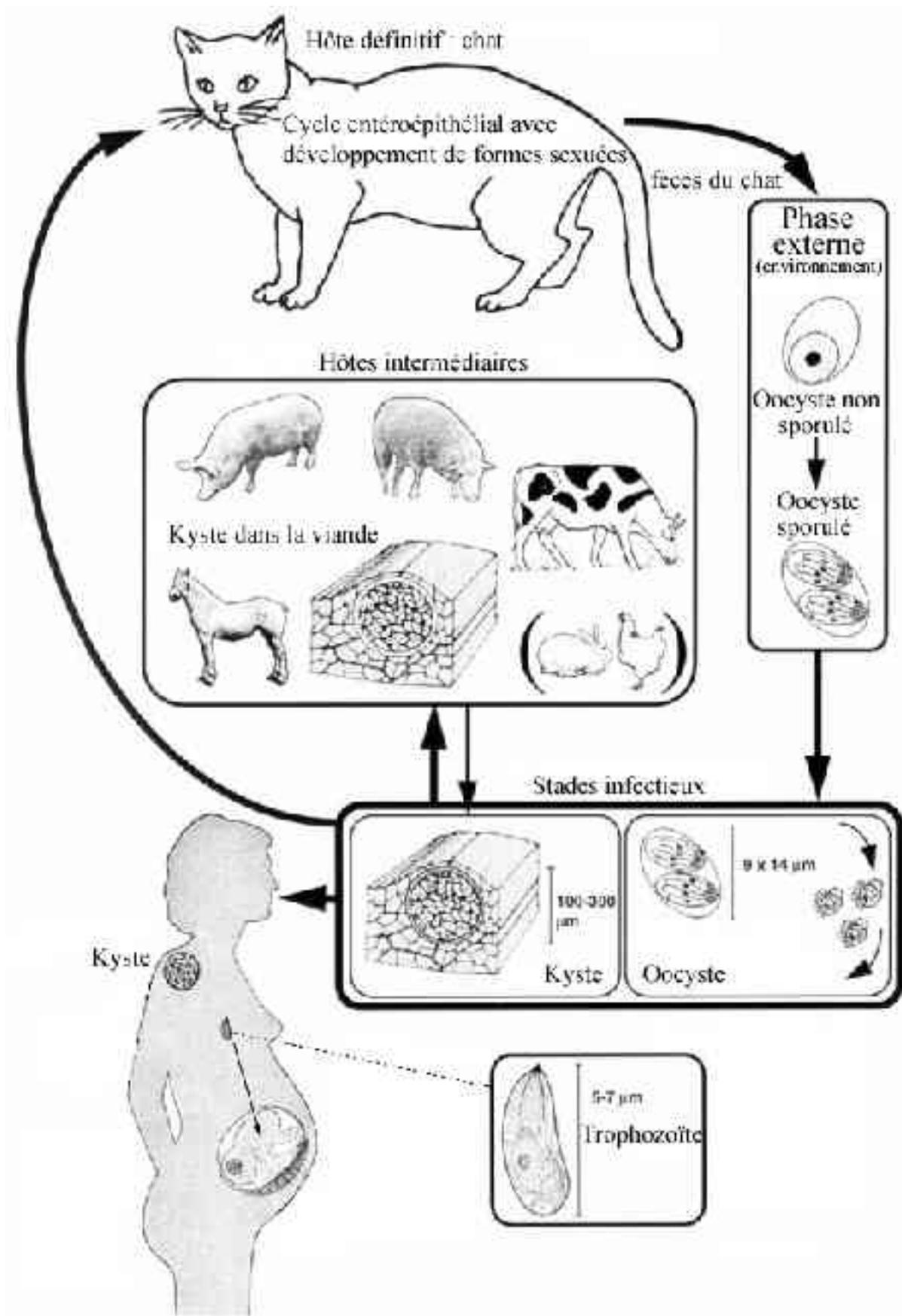


Figure 3 : Cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* (adapté de P.Jacquier 97).

III Epidémiologie

1. Répartition géographique de la toxoplasmose.

La toxoplasmose est une affection cosmopolite. Il existe des variations importantes dans sa répartition au niveau mondial. En Europe, on distingue trois zones de séroprévalence chez les femmes en âge de procréer (Zuber *et al*, 1995) :

- une zone à faible prévalence (< 30%) : les pays scandinaves et la Grande Bretagne,
- une zone à prévalence modérée (20 à 50%) : le bassin méditerranéen,
- une zone à prévalence élevée (50 à 75%) : la France et l'Allemagne.

L'incidence de la toxoplasmose est fonction d'un certain nombre de facteurs, parmi lesquels (Dupouy-Camet *et al*, 1993) :

- l'importance de la population féline,
- les conditions climatiques (les climats secs, très chauds ou au contraire très froids, ne sont pas propices au développement du toxoplasme),
- les méthodes d'élevage des animaux domestiques,
- les habitudes culturelles alimentaires (cuisson de la viande),
- les conditions d'hygiène.

2. Modes de contamination de l'homme.

L'homme peut se contaminer de différentes manières :

- a. Par les kystes.

L'homme se contamine par ingestion de viande parasitée crue ou insuffisamment cuite, ou non conservée par congélation brutale. Les viandes de mouton, agneau, bœuf et porc sont concernées, mais l'agneau est le plus fréquemment en cause du fait de son parasitisme important et prolongé. Dans les pays socio-économiquement les plus développés, c'est le mode de contamination de loin le plus fréquent.

Les kystes présents dans les greffons peuvent contaminer le receveur qui peut alors

développer une toxoplasmose grave, favorisée par le traitement immunosuppresseur.

b. Par les oocystes.

L'homme peut également se contaminer par ingestion d'aliments ou de boissons souillés par des oocystes : crudités, salades, fruits en contact avec le sol... ou en manipulant de la terre ou en nettoyant les litières souillées des chats.

Ce mode de contamination est moins fréquent et surtout retrouvé dans les populations à niveau d'hygiène plus bas.

c. Par les tachyzoïtes.

Le fœtus est contaminé par les tachyzoïtes. En effet, suite à la contamination de la mère, le parasite diffuse par voie hématogène et peut venir infester le placenta, qui à la faveur d'une lésion va permettre le passage de tachyzoïtes dans la circulation fœtale.

Une contamination accidentelle par des trophozoïtes est possible lors d'une transfusion sanguine ou d'un accident de manipulation au laboratoire. Ces contaminations accidentelles sont exceptionnelles.

IV Aspects cliniques de la toxoplasmose.

1. Toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent.

a. Forme asymptomatique.

Dans la plupart des cas, l'infection est inapparente. Seule la sérologie permet d'en poser le diagnostic, lors d'examens systématiques, prénuptiaux ou à l'occasion d'une grossesse.

b. Toxoplasmose aiguë bénigne.

Parmi les formes apparentes, la plus fréquente est la forme ganglionnaire caractérisée par une triade symptomatique : fièvre, adénopathies et asthénie. Ce tableau clinique ne concerne que 15 à 20% des toxoplasmoses acquises, généralement chez le grand enfant ou l'adulte jeune.

- La fièvre est modérée (38-38,5°C) et inconstante (moins de 50% des cas). Elle se présente sous forme d'un fébricule qui persiste plusieurs semaines et disparaît spontanément.
- Les adénopathies (90% des cas) sont presque toujours cervicales (chaîne moyenne ou postérieure), peu volumineuses, non empâtées et légèrement douloureuses. Elles peuvent atteindre d'autres territoires : aires axillaires ou inguinales, et parfois même des ganglions profonds (médiastinaux ou abdominaux). Ces ganglions peuvent persister pendant un an.
- L'asthénie, souvent profonde quand elle existe, persiste longtemps après la disparition des ganglions. Sa pathogénie est encore mal élucidée.

Généralement l'évolution est bénigne et la guérison sans complications se fait normalement de façon spontanée, sans traitement.

Les formes graves de toxoplasmose acquise sont très rares. Elles sont presque toujours

rencontrées dans les cas d'inoculation accidentelle de toxoplasmes (accidents de laboratoire) ou chez les sujets immunodéprimés.

2. Toxoplasmose congénitale.

La toxoplasmose congénitale se présente sous différents tableaux cliniques, de gravité variable, de l'absence de symptômes à la mort *in utero*.

La transmission materno-fœtale est d'autant plus fréquente que l'infection maternelle survient tard dans la grossesse, mais l'atteinte du fœtus est d'autant plus sévère que la transmission au fœtus est plus précoce.

a. Contamination du premier trimestre de grossesse.

Elle est responsable de la toxoplasmose congénitale majeure appelée encéphalo-méningo-myélite toxoplasmique. Cette forme est heureusement devenue très rare, mais elle est de pronostic redoutable.

Ce tableau est caractérisé par quatre groupes de signes :

- aspect et volume du crâne : macrocéphalie avec hydrocéphalie, bombement des fontanelles et des sutures, augmentation du périmètre crânien qui, dès la naissance, est supérieur à la normale mais surtout augmente plus vite que la normale.
- signes neurologiques avec :
 - . des convulsions généralisées
 - . des troubles du tonus, soit une hypertonie associée à des contractures, soit au contraire une hypotonie pouvant donner un aspect clinique dit en « poupée de chiffon »
 - . une modification des réflexes, exagérés ou abolis
 - . des troubles végétatifs (irrégularité respiratoire, déséquilibre thermique, troubles de la déglutition).
- calcifications intracrâniennes : parfois nodulaires, isolées ou groupées en amas, parfois curvilignes. Elles sont pathognomoniques de cette forme

clinique.

- lésions oculaires avec :

- . microphthalmie, strabisme, nystagmus
- . une chorioretinite pigmentaire majeure maculaire, découverte à l'examen du fond d'œil, très caractéristique. Elle peut être uni ou bilatérale et elle est évolutive.

L'évolution de cette forme majeure est sévère. Elle se fait habituellement vers la mort dans les premières semaines ou dans les premiers mois de vie. Rarement, l'affection évolue vers la chronicité avec des enfants présentant des retards psychomoteurs considérables.

b. Contamination du deuxième et troisième trimestres de grossesse.

Elle peut entraîner deux types de tableau clinique :

- Les formes viscérales.

Elles se présentent sous deux formes :

- . un ictère néonatal avec une hépatosplénomégalie et des hémorragies muqueuses,
- . une atteinte digestive aiguë à type d'oesophagite ou de colite ulcéro-hémorragique.

Leur évolution est habituellement mortelle.

- Les formes dégradées ou retardées.

Les signes cliniques peuvent être présents dès la naissance mais également apparaître seulement après quelques années de vie.

Il peut s'agir d'un retard psychomoteur, d'un périmètre crânien augmentant plus vite que la normale, de crises convulsives ou d'une chorioretinite pigmentaire d'apparition souvent tardive.

c. Formes inapparentes ou infracliniques.

La toxoplasmose s'exprime cliniquement à la naissance chez environ 15% des enfants contaminés *in utero*. Les symptômes présentés sont plus ou moins graves. Ainsi, plus de 80% des nouveau-nés sont asymptomatiques, d'autant plus que la contamination est proche du terme de la grossesse (Desmonts *et al*, 1982). Seule la mise en évidence d'anticorps anti-toxoplasmiques propres dans le sérum du bébé permet d'en faire le diagnostic. Ce dépistage systématique est primordial pour adapter la prise en charge et le traitement afin de prévenir les éventuelles formes retardées (choriorétinite pigmentaire à tendance récidivante). En effet, plus de 40% des enfants non traités présenteront des atteintes oculaires (type chorioretinite) avec diminution permanente de l'acuité visuelle (Couvreur *et al*, 1993).

3. Toxoplasmose de l'immunodéprimé.

a. Toxoplasmose et VIH.

L'encéphalite est la principale localisation de la toxoplasmose au cours du SIDA. Elle associe fièvre, céphalées et signes neurologiques : troubles de la conscience à des degrés divers, convulsions, hémiplégie, troubles du langage... Les troubles sont très polymorphes, dépendant de la localisation des abcès cérébraux. L'installation de ces manifestations peut être progressive ou aiguë.

D'autres localisations moins fréquentes peuvent se rencontrer : pulmonaire, oculaire, cardiaque... La principale est pulmonaire et se traduit par une pneumonie fébrile (comparable à la pneumocystose) pouvant évoluer vers l'insuffisance respiratoire aiguë.

Il peut s'agir d'une primo-infection, d'une réactivation ou éventuellement d'une réinfestation.

Chez les patients atteints du SIDA, la quasi-totalité des toxoplasmoses surviennent pour un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 100/mm³.

b. Toxoplasmose et transplantation.

La toxoplasmose chez le transplanté peut être due à la transplantation d'un organe infecté à un receveur non immunisé. Elle est alors cliniquement très similaire à une toxoplasmose congénitale. Le risque est accru chez les greffés cardiaques (supérieur à 50%), notamment du fait du tropisme particulier pour le muscle cardiaque.

L'immunodépression cellulaire induite par les traitements immunosuppresseurs utilisés dans les greffes et particulièrement les greffes de moelle, est responsable de réactivations toxoplasmiques. La symptomatologie ressemble à celle observée chez le patient VIH+. Après multiplication très

active, les tachyzoïtes induisent une toxoplasmose disséminée ou plus souvent des lésions du système nerveux central.

c. Toxoplasmose et hémopathie.

La toxoplasmose est une complication fréquente des hémopathies malignes. Elle est souvent sévère avec des complications neurologiques dans plus de la moitié des cas. Il s'agit le plus souvent de réactivations chez des patients immunisés contre la toxoplasmose (Beauvais *et al*, 1976).

4. Toxoplasmose oculaire.

Les lésions oculaires sont variées : chorioretinite, microphthalmies, nystagmus... La survenue d'une chorioretinite chez un enfant évoque d'emblée une infection congénitale. Les patients sont le plus souvent asymptomatiques pendant une longue période, les signes cliniques n'apparaissent souvent que dans la deuxième ou la troisième décennie de la vie. La chorioretinite peut également être le signe d'une infection acquise. Le patient consulte pour une baisse de l'acuité visuelle. L'aspect est le plus souvent typique à l'ophtalmoscope. Il existe une inflammation du vitré et un foyer chorioretinien, réalisant une plaque blanchâtre due à un processus nécrosant qui s'étend en profondeur au niveau de la choroïde.

Cependant, le polymorphisme clinique de cette atteinte nécessite parfois, devant un aspect atypique, le recours aux examens biologiques.

La gravité de l'atteinte réside dans sa localisation et dans sa propension à la récurrence. Un foyer maculaire ou papillaire retentira immédiatement sur l'acuité visuelle de façon souvent irréversible, contrairement aux foyers périphériques.

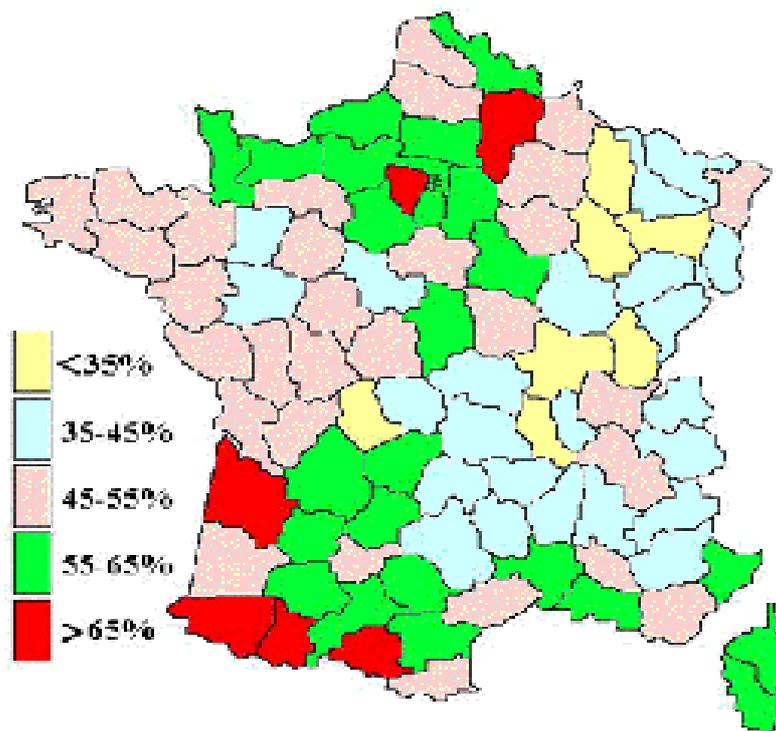
Deuxième chapitre : La toxoplasmose congénitale.

I Données épidémiologiques.

1. Séroprévalence chez la femme enceinte.

En France, il existe des disparités régionales pour la séroprévalence de la toxoplasmose (Figure 4) ; quatre zones sont ainsi individualisées :

- l'Est et le Centre-Est avec une prévalence basse (< 45%),
- le Centre-Ouest avec une prévalence intermédiaire (45 à 55%),
- le quart Nord-Ouest avec une prévalence supérieure à la moyenne (45 à 65%),
- le Sud-Ouest avec une prévalence élevée (>65%).



Les enquêtes épidémiologiques réalisées de 1965 à 1995 montrent une nette diminution de la séroprévalence de la toxoplasmose chez la femme enceinte. En effet, elle est estimée à 54.3% (Ancelle *et al*, 1996) contre 80% dans les années 60. Cette diminution s'explique par une prise de conscience collective de l'importance des mesures hygiéno-diététiques et par la généralisation de la congélation des aliments.

2. Taux de séroconversion au cours de la grossesse.

Le taux global de séroconversion pendant la grossesse est de l'ordre de 0,5 à 1,5%, soit 1600 à 4600 cas par an.

Les facteurs de risque les plus significativement associés à la survenue d'une toxoplasmose pendant la grossesse sont la consommation de viande saignante, l'ingestion de fruits et légumes non lavés et la présence d'un chat. Cependant, le rôle direct du chat semble moins déterminant.

3. Prévalence de la toxoplasmose congénitale.

Au cours d'une primo-infection toxoplasmique chez la femme enceinte, le parasite n'est pas transmis au fœtus de façon systématique, mais dans environ 30% des cas.

La fréquence des toxoplasmoses congénitales est de 0,65 à 1,88 cas pour 1000 naissances.

Elle concernerait 480 à 1480 enfants par an. Les cas de toxoplasmose congénitale grave seraient estimés à 150 par an en France (Dupouy-Camet *et al*, 1993).

II Physiopathologie de l'atteinte fœtale.

1. La transmission materno-fœtale : rôle du placenta.

La toxoplasmose congénitale est la conséquence de la transmission au fœtus du parasite, suite à une primo-infection maternelle au cours de la grossesse.

Le parasite se retrouve dans la circulation sanguine : cette phase parasitémique chez la mère est précoce, transitoire (10 à 15 jours) et antérieure à l'apparition des anticorps (Garin *et al*, 1984). La précocité de cette parasitémie explique en partie pourquoi les toxoplasmoses congénitales consécutives à une toxoplasmose maternelle périconceptionnelle sont rares.

Cependant, ces cas existent, notamment chez les immunodéprimées (SIDA, maladie de Hodgkin, corticothérapie au long cours dans les maladies auto-immunes sévères) (Desmonts *et al*, 1990 ; Marty *et al*, 1991). Des cas de toxoplasmose congénitale ont été constatés chez

des fœtus nés de mères ayant fait une séroconversion en phase périconceptionnelle, vraisemblablement du fait d'une parasitémie récurrente (Fortier *et al*, 1991 ; Hennequin *et al*, 1997). Deux recommandations résultent de ce constat (Couvreur, 1999) :

- le respect d'un délai de 6 mois avant toute grossesse, pour les femmes ayant fait une toxoplasmose acquise,
- une surveillance échographique et biologique accrue chez les femmes ayant fait une séroconversion périconceptionnelle.

La contamination du fœtus est due au passage transplacentaire du parasite. En effet, la placentopathie précède toujours la foetopathie. Criblé de micro-abcès, le placenta reste cependant un rempart au franchissement des toxoplasmes et entraîne un délai variable au passage, non obligatoire, du parasite de la mère au fœtus (Desmonts *et al*, 1984). La présence d'une parasitémie chez le fœtus est surtout conditionnée par la maturité du placenta : sa vascularisation et sa perméabilité sont majorées en fin de grossesse. Ainsi, le délai placentaire ou période d'incubation périnatale, est d'autant plus long que la contamination survient tôt dans la grossesse. Le risque de transmission materno-fœtale est donc d'autant plus important que le terme de la grossesse est proche.

2. L'infection fœtale.

Le fœtus est immunologiquement immature. Cette immaturité explique la gravité de la toxoplasmose congénitale.

a. Réponse humorale.

Le fœtus n'est capable de synthétiser ses propres anticorps qu'à partir de la 10^e semaine d'aménorrhée pour les IgM, la 11^e semaine pour les IgG et la 14^e pour les IgA et les IgE (Desmonts *et al*, 1985).

Seules les IgG maternelles peuvent franchir la barrière placentaire dès la 6^e semaine d'aménorrhée, pour atténuer la parasitémie fœtale (Pinon *et al*, 1983). Mais elles ne jugulent pas la prolifération intracellulaire et l'enkystement intra-tissulaire.

La durée du délai placentaire est un facteur primordial dans la génèse de la maladie (Desmonts *et al*, 1984). S'il est court, il provoque une foethopathie grave, alors que s'il est long, la réponse humorale chez le fœtus est complétée par les IgG spécifiques de la mère transmises passivement.

Ainsi, lors d'une toxoplasmose maternelle proche de la conception, le risque de transmission du parasite au fœtus est faible : moins de 2% (Desmonts *et al*, 1982). Si le passage du parasite du placenta au fœtus est rapide, les conséquences sur le fœtus seront gravissimes. En effet, à ce stade le fœtus est immunitairement immature. De plus, les IgG spécifiques d'origine maternelle n'ont pu encore être transmises passivement au fœtus.

Par contre, lorsque la séroconversion maternelle est proche du terme, le risque de transmission du parasite au fœtus est très important : de l'ordre de 90% (Desmonts *et al*, 1982). A ce stade de la grossesse, la placenta est perméable et très vascularisé, le parasite passe donc rapidement dans la circulation fœtale mais l'atteinte du fœtus est le plus souvent infra clinique.

Effectivement, le système immunitaire du fœtus est mature et efficace et il sera renforcé par les anticorps maternels spécifiques transmis.

La protection induite par les IgG maternelles transmises est partielle : les anticorps protecteurs sont lytiques pour le parasite, limitant ainsi sa survie extracellulaire et freinant sa dissémination. Par contre, ils n'agissent pas sur les formes intracellulaires. De plus, ils induisent une tolérance immunitaire fœtale. En retardant la reconnaissance des antigènes parasitaires par les cellules immunocompétentes du fœtus, ils retardent l'acquisition par le fœtus de son immunité propre. L'infection est ralentie, atténuée, mais elle sera prolongée et laissera l'enfant porteur d'un grand nombre de kystes (Desmonts *et al*, 1984).

Ainsi, en fonction de la quantité d'anticorps maternels transmis, apparaissent des tableaux cliniques très divers pour des séroconversions maternelles au même stade de la grossesse (Thulliez *et al*, 1988).

b. Réponse immunitaire cellulaire.

Sur le plan cellulaire, la coopération lymphocytaire T avec les macrophages et les cytokines

(interféron gamma) joue un rôle décisif dans le contrôle de l'infection (Denkers *et al* , 1998). Chez le fœtus, elle reste très incomplète jusqu'à la 12^e semaine de vie intra-utérine.

c. Pathogénèse des lésions cérébrales et oculaires.

Du fait de l'immaturation du système immunitaire, le parasite entraîne les premières lésions au niveau du foie et du poumon, qui représentent les organes de filtration toxoplasmique (Filice, 1988). Puis, le parasite pourra se localiser au niveau cérébral et oculaire.

- Localisation cérébrale.

Elle soulève plusieurs hypothèses : la barrière hémato-méningée pourrait diminuer la progression des cellules immunocompétentes et des cytokines (IFN gamma), indispensables à la destruction parasitaire. Outre la transformation progressive et lente en bradyzoïtes favorisée par une moindre pression immunitaire, la présence de kystes au niveau des neurones s'expliquerait par une diminution de l'expression des antigènes de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité du neurone (comme dans le paludisme ou les infections virales). Cette moindre expression aboutit à une absence de reconnaissance des cellules infectées par les lymphocytes cytotoxiques. En plus de ces phénomènes de tolérance immunitaire, il existe des réactions d'hypersensibilité de type III : le passage de toxoplasmes dans les cellules épendymaires et dans celles proches de l'aqueduc de Sylvius provoque une réaction inflammatoire méningée (O'Connor, 1974).

- Localisation oculaire.

La toxoplasmose oculaire peut être congénitale ou acquise.

La toxoplasmose oculaire congénitale serait due à une tolérance immunitaire développée par le fœtus infecté et une incapacité à contrôler la croissance parasitaire lors des manifestations oculaires tardives.

La toxoplasmose oculaire acquise serait elle, le résultat d'une réaction inflammatoire excessive entraînée par la présence d'antigènes parasitaires dans les tissus oculaires (Denkers *et al* , 1998).

3. Risques d'infection fœtale et facteurs influençant la gravité de l'atteinte.

Toute toxoplasmose évolutive au cours d'une grossesse est susceptible d'être transmise au fœtus. Le risque global de transmission materno-fœtale du parasite est estimé à 30%.

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

- la date de contamination maternelle.

La fréquence de l'atteinte fœtale dépend donc de la date de la contamination maternelle :

- périconceptionnelle (moins de 2 mois à 6 semaines) : 1%,
- entre la 6^e et la 17^e semaine d'aménorrhée : 4%,
- entre la 17^e et la 24^e semaine d'aménorrhée : 20%,
- après 24 semaines d'aménorrhée : jusqu'à 80 voire 90%.

- la maturité du placenta.

L'efficacité de la barrière placentaire dépend de sa structure, de sa vascularisation et de sa perméabilité, qui eux-même dépendent du stade de la grossesse : la transmission du parasite augmente avec l'âge de la grossesse.

- l'état immunitaire du fœtus.

Le fœtus ne sera capable de synthétiser ses propres anticorps qu'à partir de la 10^e semaine d'aménorrhée.

- le passage transplacentaire d'anticorps maternels.

Ces IgG maternelles ont une double action : d'une part elles limitent l'infection en lysant les parasites extracellulaires et en freinant leur dissémination, mais elles favorisent l'enkystement, et d'autre part, elles induisent un état de tolérance immunitaire chez le fœtus en inhibant l'immunisation humorale et cellulaire du fœtus.

- l'importance de la parasitémie maternelle et la capacité de réponse immunitaire humorale et cellulaire de la mère.

- la virulence de la souche de toxoplasme.

Le risque de transmission et d'infection fœtale pourrait varier selon les souches de toxoplasme en cause, mais aucune relation n'a été mise en évidence entre la souche (virulente ou non pour la souris) et la transmission au fœtus (Zenner *et al*, 1993).

- le type et la précocité du traitement mis en place.

Le risque de transmission materno-fœtale et la gravité de l'atteinte toxoplasmique fœtale sont les plus critiques pour une séroconversion maternelle entre la 10^e et la 24^e semaine d'aménorrhée.

III Prévention de la toxoplasmose congénitale.

La France est certainement l'un des pays où le dépistage de la toxoplasmose chez la femme enceinte est le mieux réalisé, en raison de l'application de textes législatifs.

La prévention de la toxoplasmose congénitale se fait à plusieurs niveaux.

1. Prévention primaire.

Elle consiste au dépistage des femmes à risque, à la surveillance des femmes enceintes séronégatives et à la diffusion des mesures prophylactiques hygiéno-diététiques.

a. Dépistage et surveillance sérologique : aspect législatif.

En France, les textes législatifs imposent un dépistage sérologique de la toxoplasmose lors de l'examen prénuptial des femmes non immunisées âgées de moins de 50 ans (décret n°78-396 du 17 mars 1978).

Cette mesure est étendue au cours de l'examen prénatal, avant la 15^e semaine de grossesse chez toute femme de statut sérologique inconnu ou ayant présenté une sérologie négative lors de l'examen prénuptial (arrêté du 19 avril 1985).

Une immunité anti-toxoplasmique confirmée élimine tout risque de transmission au fœtus et donc toute surveillance ultérieure.

En 1992, la législation française renforce la prévention en imposant un suivi sérologique mensuel jusqu'à l'accouchement chez toute femme enceinte non immunisée, dans le but de diagnostiquer le plus précocement possible une séroconversion maternelle et ceci afin de prévenir la transmission materno-fœtale par la mise en place rapide d'un traitement (décret n° 92-144 du 14 février 1992).

La nomenclature des actes biologie médicale impose au biologiste de titrer les IgG en UI/ml et de détecter les IgM. Le compte rendu des résultats doit absolument faire apparaître les techniques utilisées ainsi que le nom des automates et les unités avec les valeurs de référence. Les sérums doivent obligatoirement être conservés en sérothèque à -30°C pendant un an, dès lors que l'examen a été réalisé pendant la grossesse.

L'arrêté du 25 avril 1995 précise les conditions de travail du biologiste, l'obligeant à apporter une conclusion au médecin prescripteur de la sérologie, sur la présence ou l'absence d'une immunité anti-toxoplasmique spécifique et sur la datation de l'infection en cas de positivité. Cet arrêté oblige également le biologiste à proposer les modalités du suivi sérologique éventuel et à utiliser une troisième technique sérologique si nécessaire (avidité des IgG, dosage des IgA...).

Les anticorps anti-toxoplasmiques sont de bons marqueurs de l'infection et sont essentiels pour le dépistage d'une séroconversion et pour la surveillance des femmes enceintes non immunes.

b. Mesures hygiéno-diététiques.

Toute femme enceinte non immunisée doit être informée des moyens de prévention de la toxoplasmose. Ainsi, la circulaire ministérielle D.G.S / D.H du 27 septembre 1983 recommande aux médecins d'informer leurs patientes séronégatives de ces mesures préventives. Il a, de plus, été montré qu'une information écrite entraîne de bien meilleurs résultats qu'une simple communication orale.

Les recommandations à diffuser pour la prévention des cas de séroconversion toxoplasmique chez la femme enceinte non immunisée doivent être les suivantes :

- cuire suffisamment la viande (bœuf, mouton, porc, cheval...), c'est à dire une température de cuisson d'au moins 65°C dans toute l'épaisseur de la viande,
- éviter la consommation de viande marinée, fumée ou grillée,
- lors de la préparation des repas, laver soigneusement les légumes et les plantes aromatiques surtout s'ils sont terreux et consommés crus,
- laver soigneusement les ustensiles de cuisine, ainsi que le plan de travail,
- se laver les mains après contact avec des légumes, des fruits ou de la viande crue et avant de passer à table. Une bonne hygiène des mains et des ustensiles de cuisine est importante pour éviter la transmission de la toxoplasmose pendant la grossesse,
- lors des repas pris en dehors du domicile, éviter la consommation de crudités et préférer les légumes cuits,
- éviter les contacts directs avec les objets qui pourraient être contaminés par les excréments des chats (les bacs à litière, la terre...) et porter à chaque fois des gants en cas de manipulation de ces objets. Désinfecter les bacs de litière à l'eau de Javel. Si possible, faire nettoyer la litière du chat par une autre personne,
- éviter le contact direct avec la terre et porter des gants pour jardiner. Se laver les mains après des activités de jardinage même si elles sont protégées par des gants.

Le risque de séroconversion est multifactoriel. Ces facteurs sont complexes et variables : âge, milieu social ou ethnique, type d'alimentation, information sur les mesures préventives (Couvreur *et al*, 1999).

Le risque de séroconversion toxoplasmique pendant la grossesse est neuf fois plus élevé chez les

femmes n'ayant pas bénéficié d'une information correcte sur les mesures de prévention de la toxoplasmose (Baril *et al*, 1996).

2. Prévention secondaire.

La prévention secondaire de la toxoplasmose congénitale repose sur la mise en place précoce d'un traitement adapté chez la mère, qui a fait une séroconversion pendant sa grossesse : administration de spiramycine jusqu'à l'accouchement.

Puis, sont proposés le diagnostic anténatal et le dépistage post-natal, afin d'évaluer l'atteinte du fœtus puis du nouveau-né.

Si le diagnostic de toxoplasmose congénitale est posé en anténatal, le traitement par Rovamycine® sera remplacé par un traitement curatif associant pyriméthamine et sulfadiazine.

3. Traitement et suivi post-natal.

Le traitement de la toxoplasmose a plusieurs objectifs : prévenir ou éviter la transmission materno-foetale, diminuer les séquelles cérébrales et oculaires et justifier la politique de dépistage systématique.

Toxoplasma gondii est un parasite intracellulaire obligatoire dont la multiplication se fait à l'intérieur de vacuoles parasitophores de macrophages ou de kystes. Il est difficilement atteint par des médicaments ne pénétrant pas dans les structures intracellulaires ou intrakystiques.

a. Les médicaments.

i) Spiramycine = Rovamycine®.

Cet antibiotique appartient à la famille des macrolides à 16 atomes de carbone.

Cette molécule est bien supportée et présente peu d'effets indésirables, seulement quelques

troubles digestifs et cutanés mais pas d'hépatotoxicité, et elle n'a pas d'interaction particulière avec d'autres molécules. Elle n'est ni embryotoxique, ni tératogène, ni mutagène.

Elle présente une excellente diffusion tissulaire (notamment au niveau du placenta) et intracellulaire (sauf dans le cerveau, le LCR et les urines). C'est pourquoi elle est prescrite dans le traitement de la placentite maternelle.

Elle est efficace *in vivo* et *in vitro* contre *Toxoplasma gondii* et son activité est parasitostatique. Elle agit dans la prévention de la contamination fœtale. Par contre, elle n'a aucune action significative sur une foetopathie déclarée.

La posologie usuelle est de 50 à 100 mg/kg/j en 2 prises orales quotidiennes chez l'enfant, et 3 g/j chez la femme enceinte.

ii) Association pyriméthamine (Malocide®) – sulfadiazine (Adiazine®).

Cette association représente la thérapeutique la plus efficace. Ces deux molécules sont généralement toujours associées afin d'obtenir une bonne activité anti-toxoplasmique, car leur association est synergique.

La sulfadiazine appartient à la famille des sulfamides qui inhibent la déhydrofolate synthétase et la déhydroptéroate synthétase, deux enzymes intervenant dans la synthèse de l'acide folique. *In vitro* son activité est plutôt parasitostatique.

Les sulfamides ont une excellente diffusion tissulaire et méningée. Par contre, leurs effets indésirables ne sont pas négligeables : hématologiques, cutanés et rénaux. L'administration de cette molécule impose donc une surveillance hématologique hebdomadaire, au moins en début de traitement.

La pyriméthamine a une activité parasiticide par inhibition de la déhydrofolate réductase, entraînant secondairement une inhibition de la synthèse des bases puriques.

Cette molécule est également responsable d'effets indésirables hématologiques par son action sur la myélogénèse (anémie par carence en acide folique, granulopénie, thrombopénie). Son utilisation nécessite aussi une surveillance hebdomadaire de la NFS.

De plus, la pyriméthamine présente des effets tératogènes dose-dépendant chez l'animal, d'où sa contre-indication en début de grossesse (avant la 7^e semaine), mais aux doses usuelles cela n'a pas été vérifié chez l'homme.

La posologie habituellement prescrite est de 50 à 80 mg/kg/j en 2 à 3 prises quotidiennes avec un maximum de 4 g/j pendant 12 mois pour la sulfadiazine, et 1 mg/kg/j pendant 2 à 6 mois selon la sévérité de la toxoplasmose, puis 0,5 mg/kg/j pendant les mois suivants pour la pyriméthamine.

Il existe une autre spécialité : Fansidar®, qui associe la pyriméthamine à un sulfamide retard, la

sulfadoxine. Une surveillance hématologique est également préconisée. Cependant, le risque de syndrome de Lyell en limite son utilisation, et tout signe cutané, trouble hématologique ou aplasie médullaire doit faire interrompre le traitement.

Ces molécules agissant au niveau du métabolisme de l'acide folique, il est recommandé d'apporter une supplémentation en acide folique sous forme d'acide folinique : Lederfoline®.

iii) Autres molécules.

D'autres molécules peuvent être utilisées mais ne le sont guère en pratique.

Le Bactrim®, association triméthoprime-sulfaméthoxazole = cotrimoxazole, est nettement moins efficace. En effet, les concentrations requises pour un effet synergique *in vitro* restent trop élevées.

Deux antibiotiques de la famille des macrolides : la clarithromycine (Zeclar®) et l'azithromycine (Zithromax®) présentent une meilleure pharmacocinétique que la spiramycine : demi-vie plus longue, meilleures pénétration et concentrations sériques, tissulaires et macrophagiques, mais leur activité au niveau des parasites cérébraux reste faible.

La clindamycine (Dalacine®) de la famille des lincosamides est essentiellement utilisée dans les cas de toxoplasmose oculaire de révélation tardive, associée ou non à des corticoïdes (prednisone ou méthylprednisone) selon l'existence d'une inflammation locale.

b. Les indications.

i) Traitement *in utero*.

Dès le diagnostic de séroconversion toxoplasmique chez la femme enceinte, le traitement par spiramycine (3g/j) doit être instauré et poursuivi jusqu'à l'accouchement.

Le traitement doit être établi le plus précocement possible du fait de la physiopathologie de l'infection. En effet, il existe un temps de latence plus ou moins long entre la contamination de la femme et celle du placenta, et ensuite l'éventuel passage du parasite chez le fœtus.

a) Cas d'un diagnostic prénatal négatif.

Le traitement par spiramycine doit être poursuivi jusqu'à l'accouchement car le passage du toxoplasme du placenta au fœtus peut être retardé et survenir après les examens du liquide amniotique et échographiques.

b) Cas d'un diagnostic prénatal positif.

Si le diagnostic anténatal (échographie et examen du liquide amniotique) confirme l'infection fœtale, le traitement par spiramycine sera renforcé ou substitué par l'association pyriméthamine (50 mg/kg/j) et sulfadiazine (3g/j). Le protocole thérapeutique préconise des cures de 21 jours en alternance avec la spiramycine (Couvreur, 1991). De l'acide folinique, 50 mg deux fois par semaine, sera toujours associé.

Ce traitement n'est pas anodin : il est théoriquement contre-indiqué pendant la grossesse en raison de ses effets secondaires. Il doit donc être prescrit après consentement des parents, et requiert une surveillance hématologique régulière.

Parfois la séroconversion est très tardive au cours de la grossesse, le diagnostic anténatal n'est donc pas réalisé. Le traitement institué est alors la spiramycine ainsi que le déclenchement de l'accouchement.

ii) Traitement post-natal.

a) Nouveau-né.

- Infection congénitale non prouvée à la naissance.

L'absence d'argument formel en faveur d'une toxoplasmose congénitale (diagnostic anténatal négatif ou non réalisé, diagnostic néonatal négatif, examens clinique, échographique et ophtalmologique normaux) conduit à une abstention thérapeutique. En effet, la prescription systématique de spiramycine a été abandonnée.

Par contre, une surveillance sérologique, mensuelle au début, puis tous les deux à trois mois pendant un an, est recommandée. Effectivement, les IgG anti-toxoplasmiques synthétisées par la mère sont transmises passivement au fœtus au cours de la grossesse. Ces IgG maternelles vont persister chez l'enfant pendant les six à neuf premiers mois de la vie.

Donc seule l'absence d'IgG à un an permettra d'écarter définitivement une toxoplasmose congénitale. Cependant cette sérologie à un an n'est pas obligatoire.

Au contraire, la persistance d'IgG à un an signe l'atteinte fœtale. Les IgG dépistées à un an sont celles synthétisées par le nouveau-né lui-même et non celles reçues passivement de sa mère.

De la même façon, tout rebond sérologique avant l'âge de neuf mois doit être considéré comme une infection congénitale dépistée tardivement, en raison d'une synthèse différée des IgG spécifiques de l'enfant. Ces toxoplasmoses congénitales seront traitées comme des formes patentées.

- Toxoplasmose congénitale certaine.

Toute toxoplasmose congénitale doit être traitée à la naissance.

Le traitement post-natal a pour but de réduire la fréquence des séquelles à long terme (en particulier la chorioretinite).

La base du traitement reste toujours l'association pyriméthamine-sulfadiazine mais différents protocoles thérapeutiques sont proposés.

Ainsi, le traitement des formes patentées dès la naissance repose sur des cures répétées de pyriméthamine-sulfadiazine avec supplémentation en acide folinique dans la première année de vie et une administration de spiramycine de un à deux mois pendant les périodes intercalaires. Ce protocole a donné des résultats intéressants dans la prévention des lésions oculaires (Couvreur, 1993).

Le traitement des formes infracliniques se justifie par le risque de poussées évolutives secondaires à moyen et long terme.

Les travaux de Couvreur montrent que le traitement parasiticide pendant plus d'un an des enfants atteints diminue la fréquence des chorioretinites, réduit le pourcentage des évolutions défavorables et permet de stabiliser les formes graves (Couvreur, 1991).

Les enfants doivent être suivis à moyen et long terme pour surveiller les effets indésirables des traitements : complications hématologiques (anémie, thrombopénie, neutropénie) et troubles cutanés.

Un suivi ophtalmologique est également nécessaire tous les trois à quatre mois les deux premières années puis une fois par an ensuite, car des lésions de chorioretinite apparues à l'adolescence ont été décrites.

- Rebonds sérologiques.

Pendant le traitement par pyriméthamine-sulfadiazine les titres des IgG anti-toxoplasmiques diminuent pour devenir nuls ou quasi nuls au bout de neuf à douze mois.

Dans 90 à 97,8% des cas, à l'arrêt du traitement par pyriméthamine-sulfadiazine on observera des rebonds sérologiques mais la reprise du traitement ne semble pas justifiée (Wallon *et al*, 2001).

Cependant, s'ils sont plus tardifs, après trois ans, ces rebonds sérologiques peuvent évoquer une prolifération parasitaire et inciter à traiter par pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar®) pendant six mois.

- Poussées oculaires secondaires.

La rechute oculaire est une urgence qui impose un traitement immédiat par pyriméthamine et sulfadiazine. Ce traitement efficace permet d'obtenir la résolution des lésions actives dans les quatorze jours (Mets *et al*, 1997). Si l'inflammation locale est importante, des corticoïdes seront associés.

Ce traitement est à poursuivre quatre à huit semaines et peut nécessiter une cure de consolidation de six à douze mois.

Troisième chapitre : Diagnostic biologique de la toxoplasmose.

I Diagnostic d'une toxoplasmose acquise.

Le diagnostic d'une toxoplasmose acquise repose sur la sérologie. Elle permet de dépister les femmes non immunisées et donc exposées au risque de séroconversion toxoplasmique.

Cette surveillance sérologique mensuelle doit permettre de détecter le plus précocement possible une séroconversion et de la dater par rapport à la conception.

1. Techniques sérologiques.

Le biologiste dispose de nombreuses techniques pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose. Elles utilisent des antigènes de nature très différente : des antigènes figurés ou des antigènes solubles.

- Les antigènes figurés sont représentés par des toxoplasmes vivants ou fixés, entiers, intacts, obtenus à partir d'ascite de souris inoculées avec la souche RH ou à partir de cultures cellulaires sur fibroblastes. Les anticorps détectés par ces techniques sont dirigés contre des antigènes membranaires en particulier la P30 (protéine majeure de la

membrane du toxoplasme).

- Les antigènes solubles correspondent à des extraits antigéniques composés d'antigènes somatiques uniquement ou d'antigènes mixtes (membranaires et somatiques) obtenus par des traitements physico-chimiques des parasites (broyage, congélation, décongélation, ultrasonication et lyse osmotique des parasites).

a. Techniques utilisant les antigènes figurés.

i) Test de lyse ou Dye-Test.

C'est la méthode de référence, mise au point par Sabin et Feldman en 1948 (Sabin et Feldman, 1948).

Ce test repose sur la lyse de toxoplasmes vivants par des anticorps spécifiques en présence de complément. C'est un test de fixation du complément.

La technique utilise le sérum du patient, décomplémenté par chauffage à 56°C pendant 30 minutes ; il sera ajouté aux toxoplasmes vivants. Il faut également ajouter le facteur accessoire, indispensable à la réaction, représenté par une source de complément : un sérum humain négatif pour la toxoplasmose. Ainsi, quand l'anticorps se fixe sur l'antigène, cela forme un complexe qui peut fixer le complément. On observe alors la lyse des toxoplasmes. Cette lyse est visualisée en microscopie classique en présence de bleu de méthylène : le toxoplasme lysé apparaît non colorable.

En 1955, la technique évolue et est modifiée par Desmonts (Desmonts, 1955). Il utilise un microscope à contraste de phase. Ainsi, une sérologie négative se traduit par des toxoplasmes réfringents alors que la présence d'anticorps, qui entraînent la lyse des toxoplasmes, les fait apparaître noirâtres.

Le Dye-Test est positif lorsque 50% des toxoplasmes sont lysés. Le titre des anticorps correspond donc à l'inverse de la dilution qui permet d'obtenir 50% de toxoplasmes lysés. Ce titre est exprimé en UI/ml, toujours en parallèle avec un sérum de référence de l'OMS titré lui aussi en UI/ml.

Le seuil de positivité est à 2 UI/ml.

Les anticorps détectés par cette technique appartiennent à la classe des IgG et sont principalement dirigés contre des antigènes membranaires. La réponse décelée est précoce, 8 à 15 jours après le début de l'infection.

Cette technique reste la méthode de référence du fait de sa très grande spécificité et de sa très bonne sensibilité, mais en raison de sa complexité, elle est réservée à certains centres spécialisés.

ii) IFI : ImmunoFluorescence Indirecte.

Proposée par Goldman en 1957 (Goldman, 1957), elle fut mise en place en France par l'Ecole Lyonnaise de Garin et Ambroise-Thomas en 1963 (Garin et Ambroise-Thomas, 1963).

Cette technique utilise des toxoplasmes inactivés, formolés. Ces toxoplasmes sont fixés sur des lames de verre et mis en contact avec différentes dilutions du sérum. Les anticorps se fixent sur les antigènes membranaires et sont ensuite révélés par l'addition d'antiglobuline humaine, globale ou spécifique, anti-IgG ou anti-IgM, marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine. Les éléments non fixés sont éliminés par lavage. On obtient ainsi une fluorescence membranaire au microscope à fluorescence.

L'interprétation biologique de la cinétique des IgG est comparable au test de lyse (Niel *et al*, 1973). Légèrement moins sensible que le test de lyse, cette méthode présente l'avantage de pouvoir être standardisée, afin d'être commercialisée. Les résultats sont exprimés en UI/ml par rapport à un sérum étalon de l'OMS. Le seuil de positivité des IgG est à 8 UI/ml.

L'IFI permet également la détection des IgM : elle porte alors le nom de test de Remington (Remington, 1969).

Le seuil de positivité est à 40 (inverse de la dilution).

Cette technique présente l'inconvénient de donner des faux-positifs et des faux-négatifs.

Ainsi, des réactions faussement positives sont observées en présence de facteur rhumatoïde et d'anticorps anti-nucléaires. Les faux-négatifs résultent de la compétition entre les IgM et les IgG.

iii) Agglutination directe.

Décrite par Fulton et Turk en 1959 (Fulton et Turk, 1959), elle est introduite en France par Peloux en 1973 (Peloux *et al*, 1973).

Cette technique peut être réalisée avec ou sans 2-Mercapto-Ethanol (2-ME), pour différencier les IgG et les IgM.

Des toxoplasmes formolés sont agglutinés lorsqu'ils sont mis en présence de dilutions de sérums contenant des anticorps spécifiques.

En l'absence d'anticorps, les parasites sédimentent dans le fond de la cupule de microtitration et une réaction négative se traduit donc par un bouton de sédimentation.

Une réaction positive se présente sous forme d'un voile formé par les complexes antigène-anticorps. Cette technique peut être adaptée pour la différenciation des IgG et des IgM en utilisant le 2-ME. En effet, le traitement par le 2-ME entraîne la dénaturation des IgM, pentamère, en cinq sous-unités non agglutinantes. Ainsi la réalisation en parallèle des deux dosages, avec et sans 2-ME, permet de détecter la présence d'IgM, par l'existence d'un écart d'au moins deux dilutions entre les deux dosages. Le dosage avec 2-ME représente les seules IgG. La recherche des IgM spécifiques devra être réalisée par une autre technique.

Le seuil de positivité des IgG est à 8 UI/ml.

Cette technique est facile à réaliser mais manque de sensibilité et certaines agglutinines naturelles peuvent donner des faux-positifs.

L'agglutination directe sensibilisée est une agglutination directe modifiée par Desmonts et Remington (Desmonts et Remington, 1980).

Des toxoplasmes entiers inactivés sont soumis à un traitement par la trypsine. Cette enzyme démasque un plus grand nombre de sites antigéniques, ce qui augmente la sensibilité de la technique.

Le seuil de spécificité est à 4 UI/ml.

Cette technique est commercialisée par BioMérieux sous le nom de Toxoscreen® et, du fait de sa simplicité, sa sensibilité et sa spécificité, est proposée comme méthode de base pour la recherche des IgG lors des examens de dépistage.

L'agglutination directe différentielle HS/AC a été mise au point par Thulliez en 1986 (Thulliez *et al*, 1986).

Cette réaction utilise deux types de suspensions antigéniques : une suspension de toxoplasmes formolés (HS) et une suspension de toxoplasmes traités à l'acétone (AC). Les sérums traités au 2-Mercapto-Ethanol sont testés successivement avec les deux types de suspensions antigéniques.

Les sérums correspondant à une infection aiguë agglutinent de façon comparable les antigènes HS et AC tandis que les sérums correspondant à une infection ancienne agglutinent les antigènes HS mais très peu les antigènes AC.

Cette technique présente donc un intérêt tout particulier pour dater les séroconversions par titrage comparatif des IgG agglutinant les antigènes HS et/ou AC.

Le cut-off est à 2 UI/ml.

iv) ISAGA : ImmunoSorbent Agglutination Assay.

Proposée initialement par Desmonts en 1981 (Desmonts, 1982), l'ISAGA correspond à une immunocapture des IgM du sérum par une antiglobuline.

Les IgM humaines sériques de l'échantillon se fixent sur l'anticorps monoclonal anti-IgM humain adsorbé dans les puits de la barrette de microtitration. Les IgM spécifiques de la toxoplasmose sont ensuite révélées par fixation de toxoplasmes (suspension de toxoplasmes formolés à différentes concentrations). En effet, chaque sérum est testé avec une quantité croissante d'antigènes toxoplasmiques.

Une réaction négative est caractérisée par une sédimentation en bouton des toxoplasmes et une réaction positive par la formation d'un voile.

Cette technique peut être adaptée à la détection des IgA ou des IgE en utilisant des antiglobulines spécifiques, anti-chaînes α ou ϵ humaines.

La réaction est semi-quantitative et le résultat est rendu en indice ISAGA, fonction de la sédimentation observée.

Cette technique d'immunocapture présente l'avantage d'éliminer les interférences classiques de la détection des IgM : facteur rhumatoïde, anticorps anti-nucléaires, compétition IgG/IgM... Donc elle permet d'éviter les faux-positifs et les faux-négatifs. Les IgM naturelles entraînent cependant une réponse faussement positive.

L'ISAGA est ainsi une technique très sensible : les IgM sont détectées très précocement ; mais parfois difficile à interpréter. Elle a pour inconvénient de rester positive très longtemps. En effet, la positivité des IgM détectées par cette technique persiste plusieurs mois voire même plusieurs années.

b. Techniques utilisant les antigènes solubles.

i) HAP : Hémagglutination Passive.

Cette technique a été mise au point en 1972 par Thornburn et Williams (Thornburn et Williams, 1972).

Elle utilise des globules rouges de mouton stabilisés et sensibilisés par des antigènes

toxoplasmiques. Ces hématies sont mises en présence de dilutions du sérum.

La présence d'anticorps spécifiques se traduit par la formation d'un voile d'hémagglutination.

Cette technique permet de détecter les Ig totales ou de différencier IgG et IgM en utilisant du 2-Mercapto-Ethanol.

Le seuil de positivité généralement admis correspond à une dilution du sérum au 1/40.

ii) Agglutination de particules de latex sensibilisées.

Cette technique repose sur le même principe que l'hémagglutination passive, mais les globules rouges sont remplacés par des particules de latex sensibilisées.

Le seuil de spécificité varie avec le réactif utilisé.

Il s'agit d'une technique de dépistage qui permet de détecter uniquement les anticorps totaux.

iii) Dosages immunoenzymatiques.

a) ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay.

Les premières applications ont été réalisées par Voller en 1976 (Voller *et al*, 1976).

Cette méthode repose sur l'utilisation d'un support solide coaté par les antigènes. Ce support peut être représenté par des cupules de microplaque, des billes, des microparticules... Ces antigènes sont mis en contact avec une dilution du sérum. Les anticorps spécifiques se fixent sur l'antigène et sont révélés par des antiglobulines anti-IgG, anti-IgM ou anti-IgA humaines. Cette antiglobuline est marquée par une enzyme (peroxydase ou phosphatase alcaline) qui hydrolyse un substrat spécifique chromogène. La densité optique (DO) est mesurée par un spectrophotomètre UV. Le titre des anticorps est proportionnel à la DO.

Les techniques ELISA sont sensibles, spécifiques, reproductibles et automatisables. Par exemple, les kits Platelia® Biorad utilisent cette technique.

b) MEIA : Microparticular Enzyme Immuno Assay.

L'AxSYM® est un automate commercialisé par Abbott qui utilise AxSYM® Toxo IgG et AxSYM® Toxo IgM, des dosages immunoenzymologiques microparticulaires.

L'échantillon de sérum dilué est mis en présence de microparticules de latex en suspension

recouvertes d'antigènes de *Toxoplasma gondii* dans un puits d'incubation. L'anticorps anti-*T.gondii* se lie aux microparticules coatées pour former un complexe antigène-anticorps qui va se lier de façon irréversible à la matrice en fibre de verre. Pour le dosage des IgM, il existe une étape supplémentaire : après fixation irréversible des microparticules sur la matrice, celle-ci est lavée avec le tampon de neutralisation du facteur rhumatoïde pour éliminer les anticorps interférents du facteur rhumatoïde, si présents, du complexe antigène-anticorps.

La matrice est lavée afin d'éliminer le matériel non lié.

Le conjugué d'anticorps anti-IgG ou anti-IgM humaines marqué à la phosphatase alcaline (PAL) est distribué sur la matrice. Il se lie au complexe antigène-anticorps.

La matrice est de nouveau lavée pour éliminer le matériel non lié.

Le substrat, phosphate de méthyl-4-ombelliférone (MUP) est ajouté à la matrice. Le conjugué marqué à la PAL catalyse l'hydrolyse du MUP en méthyl-4-ombelliférone (MU).

Le système optique MEIA mesure la vitesse de formation de la MU, produit fluorescent, sur la matrice en fibre de verre. Elle est proportionnelle à la concentration en IgG ou IgM anti-*T.gondii* de l'échantillon.

Le titre des IgG est calculé par rapport à une courbe de calibration et le résultat est rendu en UI/ml (par rapport au 2^e étalon OMS).

- < 2 UI/ml : négatif
- $2 \leq \text{titre} < 3$: zone grise, équivoque
- ≥ 3 : positif.

Pour les IgM, l'AxSYM® calcule la valeur indice Toxo IgM en divisant la valeur de l'échantillon par la valeur moyenne du calibrateur indice :

$$\text{Valeur indice} = \frac{\text{Valeur de l'échantillon}}{\text{Valeur moyenne du calibrateur indice}}$$

- indice $\leq 0,499$: négatif
- $0,500 < \text{indice} < 0,599$: zone grise
- $\geq 0,6$: positif.

Il faut noter que la performance de ce test n'a pas été établie pour les échantillons provenant

de sang du cordon ombilical ou du nouveau-né.

De plus, des sérums traités par la chaleur, lipémiques ou fortement hémolysés ne devraient pas être testés par cette méthode.

c) ELFA : Enzyme Linked Fluorescent Assay.

Cette technique est utilisée par le Vidas®, automate commercialisé par BioMérieux.

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique, sandwich pour les IgG ou par immunocapture pour les IgM, à une détection finale en fluorescence : ELFA.

La phase solide est représentée par le cône à usage unique.

- Dosage des IgG.

Il utilise une technique immunoenzymatique sandwich couplée à une détection en fluorescence.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument.

Dans une première étape, l'échantillon est dilué, puis aspiré et refoulé à l'intérieur du cône. Les IgG anti-*T.gondii* présents dans l'échantillon vont se fixer aux antigènes toxoplasmiques fixés à l'intérieur du cône : antigène cytoplasmique et membranaire (souche RH Sabin).

Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

Au cours de la seconde étape, des IgG monoclonales de souris anti-IgG humaines conjuguées à la phosphatase alcaline (PAL) sont aspirées et refoulées à l'intérieur du cône et vont se lier aux IgG humaines fixées sur l'antigène.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (phosphate de méthyl-4-ombelliférone) est aspiré et refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit : méthyl-4-ombelliférone dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'anticorps présent dans l'échantillon. L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône. Le calcul de la RFV (Relative Fluorescent Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Les résultats sont calculés automatiquement par le Vidas® par rapport à une courbe de calibration mémorisée.

Les résultats des IgG sont rendus en UI/ml (par rapport au second étalon OMS) :

- < 4 UI/ml : négatif
- $4 \leq \text{titre} < 8$: équivoque

- ≥ 8 : positif.

Les échantillons dont la concentration est supérieure à 300 UI/ml sont mentionnés > 300 UI/ml.

- Dosage des IgM.

Ce dosage repose sur une technique immunoenzymatique par immunocapture couplée à une détection finale en fluorescence : ELFA.

Toutes les étapes sont réalisées automatiquement par l'appareil.

Après une étape de dilution du sérum, les IgM sont capturées par l'anticorps polyclonal présent sur la paroi du cône.

Les IgM spécifiques sont détectées par un antigène toxoplasmique inactivé (souche RH Sabin) lui-même révélé par un anticorps monoclonal murin anti-toxoplasmique (anti-P30) conjugué à la PAL.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (phosphate de méthyl-4-ombelliférone) est aspiré puis refoulé dans le cône. La PAL catalyse l'hydrolyse de ce substrat en un produit (méthyl-4-ombelliférone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration en anticorps de l'échantillon. Un indice est calculé automatiquement par rapport au standard mémorisé.

Comme pour le dosage des IgG, l'automate effectue deux mesures dont la différence représente la RFV (Relative Fluorescent Value). L'appareil calcule pour chaque échantillon une valeur de test (indice) qui est le rapport entre sa RFV et celle du standard mémorisé.

Aucun standard international n'étant disponible pour le dosage des IgM anti-toxoplasmiques, le réactif Vidas® Toxo IgM est calibré par rapport à des sérums de sérothèque.

Les résultats sont donc rendus en indice :

- $< 0,55$: négatif
- $0,55 \leq \text{indice} < 0,65$: équivoque
- $\geq 0,65$: positif.
- Détermination de l'avidité des IgG.

La détermination de l'indice d'avidité des IgG est un test complémentaire à la recherche des IgG et des IgM anti-toxoplasmiques.

L'introduction au cours d'un test ELISA d'un agent perturbant la liaison antigène-anticorps a peu d'effet sur la liaison antigène-anticorps de forte avidité mais beaucoup sur celle des

anticorps de faible avidité.

La comparaison des résultats obtenus avec et sans agent dissociant équivaut à une mesure d'avidité des IgG.

Le principe de ce dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en deux étapes à une détection finale en fluorescence : ELFA.

Les IgG anti-toxoplasmiques de l'échantillon forment des complexes avec l'antigène fixé sur la phase solide. Dans la cartouche référence, le lavage permet d'éliminer les anticorps non spécifiques, les anticorps spécifiques restant fixés à la phase solide. Dans la cartouche test, le lavage avec l'agent dissociant modifie les liaisons antigène-anticorps. Seuls les anticorps de forte avidité restent liés à la phase solide, alors que ceux de faible avidité sont éliminés.

Les anticorps anti-IgG humaines conjugués à la PAL sont ensuite aspirés et refoulés plusieurs fois à l'intérieur du cône, et se fixent ainsi aux IgG humaines éventuellement présentes sur la paroi du cône. Le conjugué non lié est éliminé par lavage.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (phosphate de méthyl-4-ombelliférone) est aspiré puis refoulé dans le cône. L'enzyme catalyse l'hydrolyse du substrat en méthyl-4-ombelliférone dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration des anticorps présents dans l'échantillon.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument. Le rapport entre la concentration en anticorps de forte avidité (cartouche test) et la concentration en anticorps totaux (cartouche référence) fournit un indice qui reflète l'avidité des anticorps présents dans l'échantillon testé.

L'automate effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacune des cartouches.

$$\text{Indice} = \frac{\text{RFV test (lavage avec agent dissociant)}}{\text{RFV référence (lavage sans agent dissociant)}}$$

L'interprétation de l'indice d'avidité est la suivante :

- indice < 0,200 : IgG de faible avidité
- $0,200 \leq \text{indice} < 0,300$: avidité intermédiaire
- indice $\geq 0,300$: IgG de forte avidité.

Un indice d'avidité supérieur ou égal à 0,300 permet d'exclure une toxoplasmose récente de moins de quatre mois.

Pour déterminer l'avidité des IgG d'un échantillon, il faut que celui-ci présente un titre d'IgG anti-

toxoplasmiques positif, c'est à dire supérieur ou égal à 8 UI/ml. La mise en œuvre du test nécessite une dilution préalable du sérum de manière à obtenir un titre de 15 UI/ml approximativement, soit une RFV égale à 1000.

d) Conclusion.

L'absence de standardisation des réactifs est source d'hétérogénéité des résultats. Ainsi, les résultats obtenus avec différents kits ne sont pas comparables entre eux, les antigènes utilisés étant différents et pouvant suivre une cinétique différente. Les techniques utilisant les antigènes solubles titrent des anticorps de spécificité différente qui apparaissent plus tardivement que ceux détectés par les techniques utilisant les antigènes figurés.

2. Cinétique des anticorps spécifiques.

La structure antigénique du toxoplasme est complexe : antigènes membranaires et antigènes cytoplasmiques. La réponse humorale et la cinétique des anticorps spécifiques varient en fonction des isotypes étudiés mais également de la technique utilisée pour le dosage de chaque isotype. En effet, les anticorps dirigés contre les antigènes membranaires sont synthétisés plus précocement que ceux dirigés contre les antigènes cytoplasmiques du parasite.

a. Les IgM.

Les IgM anti-toxoplasmiques, comme dans la majorité des infections, sont les premières à apparaître, dans les jours qui suivent la contamination. Leur taux s'élève rapidement jusqu'à atteindre leur maximum à la fin du premier mois puis, après un court plateau, il diminue jusqu'à disparaître, classiquement en quatre mois. Les anticorps détectés sont différents selon les antigènes et donc selon les techniques utilisées pour leur titrage. Ainsi la cinétique est variable.

Les méthodes les plus sensibles détectent les IgM dès la première semaine. Ces IgM sont dirigées contre des antigènes membranaires et sont détectées par IFI ou ISAGA.

Les techniques utilisant des antigènes solubles mettent en évidence des anticorps détectés plus tardivement : réactions d'agglutination avec et sans 2-ME, ELISA.

Les IgM disparaissent classiquement en trois à quatre mois si on utilise pour leur détection des techniques comme l'hémagglutination ou l'IFI. Par contre, elles persistent beaucoup plus longtemps si elles sont détectées par ELISA (6 à 12 mois) ou immunocapture (ISAGA : 12 à 18 mois).

Les IgM sont habituellement absentes, car fugaces, lors des phénomènes de rebonds sérologiques et lors des réinfections : leur synthèse est souvent réprimée par celle, très importante, des IgG.

b. Les IgG.

La cinétique des IgG est décalée par rapport à celle des IgM : les IgG apparaissent un peu plus tard. Leur cinétique est variable selon l'antigène contre lequel ces anticorps sont dirigés. Ainsi, les IgG anti-membrane apparaissent plus précocement que les IgG anti-cytoplasme.

Les IgG anti-membranaires apparaissent dès le dixième jour de l'infection. Leur taux augmente très rapidement et, en l'absence de traitement spécifique, atteint son maximum deux mois après la contamination. Des titres élevés persistent pendant plusieurs mois puis diminuent jusqu'à des taux résiduels variables, témoins d'une immunité ancienne.

Les anticorps mis en évidence par des techniques utilisant des antigènes cytoplasmiques sont détectés avec un retard de deux à quatre semaines et atteignent leur maximum en trois à six mois.

c. Les autres isotypes : IgA et IgE.

- Les IgA.

Elles apparaissent une quinzaine de jours après la contamination, atteignent leur maximum en deux mois puis disparaissent rapidement, le plus souvent avant les IgM.

Les IgA sont détectées un peu plus tardivement que les IgM mais disparaissent plus précocement et sont absentes en phase chronique. Dans de rares cas, elles apparaissent les premières. Elles constituent donc un bon marqueur d'infection récente. Cependant, il existe de nombreuses variations individuelles et des IgA peuvent persister plus longtemps, au-delà de six mois. De plus, 5% des sujets ne secrètent pas d'IgA en phase aiguë (Bessières *et al*, 1992).

- Les IgE.

Leur présence, associée à celle des IgM et des IgA, est en faveur d'une infection toxoplasmique évolutive. Leur détection est contemporaine de celle des IgA mais beaucoup plus fugace (quatre mois). Elles peuvent être utiles pour dater précisément la contamination (Villena *et al*, 1999). Comme les IgA, les IgE sont soumises à des variations individuelles compliquant leur interprétation (Wong *et al*, 1993).

3. Interprétation de la sérologie.

L'interprétation d'une sérologie anti-toxoplasmique doit tenir compte d'un certain nombre de paramètres. En effet, elle est fonction de :

- la présence ou l'absence d'IgG spécifiques,
- la présence ou l'absence d'IgM spécifiques,
- la présence ou l'absence d'IgA spécifiques,
- la cinétique d'évolution des anticorps spécifiques,
- des techniques utilisées pour le titrage (le biologiste doit mentionner sur le compte-rendu des résultats le type de technique utilisée, son nom commercial et ses références).

Ainsi, la cinétique des IgG et des IgM permet de préciser le stade évolutif de l'infection.

Cependant, pour un même sérum, le titre d'anticorps exprimé en UI/ml varie d'une technique à l'autre. Aussi pour être comparés, les titres doivent être obtenus par dosage dans le même laboratoire, par la même technique, dans la même série. Donc seule l'analyse en parallèle de deux sérums prélevés à trois semaines d'intervalle permet d'apporter une conclusion définitive sur l'évolution du titre des IgG.

Ce titre doit impérativement être rapporté à la valeur seuil de la technique utilisée. Cependant, il est important de rendre le titre obtenu et non exclusivement un titre exprimé par rapport à la valeur seuil, et ceci afin de pouvoir constater une ascension des IgG ou IgM même dans les valeurs basses inférieures au seuil, théoriquement négatives, mais témoignant néanmoins d'une synthèse d'Ig.

L'évolutivité ou l'ancienneté de l'infection est mise en évidence par le titrage de différents isotopes d'anticorps spécifiques, notamment par l'étude des IgG et des IgM.

On distingue donc schématiquement quatre situations.

i) Absence d'IgG et absence d'IgM.

Le patient n'est pas immunisé contre la toxoplasmose. Dans le cas d'un bilan préconceptionnel ou pergravidique, une telle sérologie impose une surveillance mensuelle pendant toute la durée de la grossesse et un contrôle à un mois de l'accouchement, pour ne pas méconnaître une infection des dernières semaines. Il convient également de préciser à la future maman l'importance du respect des mesures préventives hygiéno-diététiques afin de diminuer le risque de contamination.

ii) Présence d'IgG et absence d'IgM.

L'absence d'IgM dosées par une technique d'immuno-capture permet en pratique d'exclure une toxoplasmose récente. Ce profil sérologique est donc en faveur d'une immunité ancienne protectrice. Aucun contrôle ultérieur n'est donc nécessaire, sauf en cas d'immunodépression acquise. Ce résultat doit cependant être confirmé sur un deuxième sérum prélevé trois semaines plus tard et traité en parallèle avec le premier, afin de montrer la stabilité du taux des IgG spécifiques. Dans le cas où il existerait une ascension du titre des IgG entre les deux sérums, il faut penser à un rebond sérologique (réinfestation) ou à une réactivation toxoplasmique, théoriquement sans risque pour le fœtus. Toutefois, des cas de toxoplasmoses congénitales, suite à une réinfestation durant la grossesse chez des femmes apparemment immunocompétentes, ont été rapportés (Gavinet *et al*, 1997).

Plus rarement, une ascension significative du titre des IgG peut correspondre à une séroconversion toxoplasmique sans IgM. Il a été montré que dans ce cas une étude de l'avidité des IgG permettrait de différencier une réelle séroconversion d'une réactivation toxoplasmique (Cimon *et al*, 2002). Le biologiste est également souvent confronté à l'interprétation d'un taux limite ou très faible d'IgG spécifiques. Il faut alors confirmer ce titre par le dosage des IgG par une autre technique. Mais il n'y a pas de standardisation des réactifs commercialisés et le seuil varie d'une technique à l'autre, de même que la spécificité des IgG. Ainsi, si les deux tests se révèlent positifs, il convient de contrôler ce résultat sur un deuxième sérum prélevé trois semaines plus tard.

Dans certains cas (discordances entre les deux techniques par exemple) il n'est pas possible d'affirmer avec certitude qu'il s'agit d'une toxoplasmose ancienne conférant une immunité protectrice à la patiente. Elle est alors considérée comme à risque et doit suivre le protocole de

contrôles sérologiques mensuels et bénéficier de l'information sur les mesures prophylactiques (Cimon *et al*, 2002).

iii) Absence d'IgG et présence d'IgM.

Ce profil sérologique peut correspondre à deux situations :

- une séroconversion très récente
- et beaucoup plus fréquemment une réaction non spécifique des IgM.

Dans ce cas, il est nécessaire d'étudier en parallèle un second sérum prélevé une semaine après le premier, avant tout traitement par spiramycine. En effet, celui-ci pourrait entraîner un retard à l'apparition des IgG, ce qui constituerait un obstacle à la confirmation du diagnostic. Ainsi, l'absence d'ascension des IgG permet d'exclure une séroconversion.

La présence d'IgM naturelles de titre faible est parfois détectée chez la femme enceinte par toutes les techniques : IFI, ELISA, ISAGA (Garin *et al*, 1990). Un contrôle sérologique mensuel et le respect des mesures hygiéno-diététiques s'avèrent donc nécessaires, l'hypothèse infectieuse étant écartée.

Un début de synthèse des IgG peut être détecté, notamment par des techniques utilisant des antigènes figurés ou solubles enrichis en antigènes membranaires. On est alors en présence d'une infection débutante, tout près de la séroconversion.

iv) Présence d'IgG et d'IgM spécifiques.

C'est le profil sérologique auquel le biologiste est le plus fréquemment confronté et qui est le plus difficile à interpréter. Il convient en effet de dater l'infection puisqu'il peut s'agir d'une infection ancienne, parfois antérieure à la grossesse, ou d'une infection récente évolutive.

En présence d'une sérologie antérieure négative, la séroconversion est évidente. Elle est alors récente et doit être confirmée immédiatement sur un second prélèvement.

En l'absence de sérologie antérieure, un contrôle doit être réalisé sur un second sérum prélevé trois semaines plus tard, si possible en l'absence de traitement. En effet, la mise en place d'un

traitement par spiramycine peut bloquer ou retarder la synthèse des IgG et compromettre le diagnostic de certitude. Deux éventualités sont alors possibles :

- L'ascension des IgG entre les deux prélèvements : elle signe une toxoplasmose récente, évolutive datant de moins de deux mois.
- Le titre des IgG reste stable entre les deux prélèvements : cela permet de situer la séroconversion au moins deux mois avant le premier prélèvement.

Dans tous les cas, il faut dater le plus précisément possible la contamination par rapport à la conception afin d'évaluer le risque de transmission et la gravité potentielle de l'atteinte fœtale.

En cas de stabilité des IgG, la datation de la séroconversion maternelle par rapport à la conception devient difficile, surtout si le prélèvement est tardif, d'où l'intérêt de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques et la recherche d'IgA spécifiques.

- L'étude de l'avidité des IgG .

Elle permet d'optimiser la datation de la séroconversion. En effet, l'avidité des IgG, terme dérivé de l'affinité, correspond à l'intensité de la liaison des anticorps d'un sérum pour des antigènes complexes. L'avidité des IgG augmente au fur et à mesure de la maturation de la réponse immunitaire humorale.

Les IgG sont donc de faible avidité en début d'infection et d'avidité élevée dans les infections anciennes.

La détermination de l'avidité des IgG peut être réalisée par différentes techniques : ELISA, ELFA. Le principe de cette détermination repose sur la comparaison des taux d'IgG avec et sans traitement par un agent dissociant (urée, guanidine, sodium dodécyl sulfate, diéthylamine). Cet agent dénaturant détruit les liaisons antigène-anticorps de faible avidité.

L'avidité des IgG correspond au rapport taux des IgG du sérum traité sur taux des IgG du sérum non traité. Ainsi un indice d'avidité élevé permet d'exclure une toxoplasmose récente. Selon les techniques, les seuils sont différents (Vidas® : 0,3 – Platelia® Biorad : 0,5).

Cependant, il existe des toxoplasmoses anciennes sans IgG d'avidité élevée. En effet, certains individus ne synthétisent pas d'IgG de haute avidité.

- Dosage des IgA.

Les IgA anti-toxoplasmiques sont des anticorps spécifiques qui augmentent assez précocement et passent par un maximum au bout de deux mois et se négativent généralement en sept-huit mois.

Ainsi un taux élevé d'IgA est en faveur d'une toxoplasmose récente. Mais il est à noter qu'il existe des infections évolutives sans synthèse d'IgA.

- Agglutination différentielle.

Cette technique utilise donc deux types d'antigènes : des toxoplasmes formolés et des toxoplasmes traités à l'acétone.

Dans une infection aiguë, les sérums agglutinent les deux suspensions antigéniques alors que dans une infection ancienne, ils agglutinent surtout les antigènes formolés.

Ainsi la confrontation de l'ensemble de ces résultats va permettre de dater plus précisément la séroconversion toxoplasmique par rapport à la conception.

II Diagnostic de la toxoplasmose congénitale.

En cas de séroconversion toxoplasmique au cours de la grossesse, il est capital de poser le diagnostic de toxoplasmose congénitale chez le fœtus. Le diagnostic peut être anténatal et/ou postnatal.

1. Diagnostic anténatal.

Le but du diagnostic anténatal est de dépister *in utero* une éventuelle atteinte fœtale en cas de séroconversion maternelle.

Ce diagnostic anténatal est proposé à la mère dans la plupart des cas mais habituellement il n'est pas effectué lors des séroconversions tardives de fin de grossesse.

Il permet en outre d'éviter les avortements abusifs, de mettre en place un traitement actif chez

le fœtus et de poser une indication objective d'interruption thérapeutique de grossesse.

Le dépistage de toxoplasmose fœtale repose sur le suivi échographique et le diagnostic biologique de l'infection.

a. Suivi échographique.

Une échographie fœtale détaillée doit être réalisée une fois par mois au cours de la grossesse afin de mettre en évidence des signes évocateurs de toxoplasmose congénitale :

- des dilatations ventriculaires cérébrales, généralement bilatérales et symétriques,
- la présence de zones hyperéchogènes dans le parenchyme cérébral,
- des calcifications intracrâniennes,
- un épaissement placentaire,
- une hépatomégalie avec des zones hyperéchogènes,
- une splénomégalie,
- un épanchement pleural ou péricardique,
- une ascite.

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

b. Diagnostic biologique.

Il est réalisé sur des prélèvements de liquide amniotique (et éventuellement de sang fœtal).

i) Prélèvement de liquide amniotique.

Le diagnostic prénatal de toxoplasmose se fait par amniocentèse. En effet, la ponction de sang fœtal est extrêmement délicate et est donc généralement abandonnée aujourd'hui du fait des risques encourus par le fœtus : accouchement prématuré et atteinte à la vitalité fœtale.

Ce prélèvement de liquide amniotique est réalisé à l'aide d'une aiguille fine introduite dans la poche des eaux à travers la paroi abdominale sous contrôle échographique. Cet examen comporte des risques : déclenchement prématuré de l'accouchement et fausse couche tardive (1/200).

L'amniocentèse n'est réalisée qu'à partir de la dix-huitième semaine d'aménorrhée et après un délai de trois semaines – un mois après la séroconversion maternelle. En effet, elle ne doit pas être effectuée trop précocement après la séroconversion, en raison du délai de transmission du parasite à travers le placenta. Le toxoplasme peut effectivement passer tardivement chez le fœtus et ceci après l'amniocentèse si celle-ci est faite trop tôt.

Vingt à trente millilitres de liquide amniotique sont nécessaires afin de réaliser les différentes techniques. La recherche du parasite se fait sur le culot de centrifugation du liquide amniotique.

Le diagnostic d'atteinte fœtale repose sur l'inoculation à la souris, les cultures cellulaires et la PCR.

ii) Inoculation à l'animal.

La présence du parasite est mise en évidence par l'apparition d'une réponse humorale chez la souris. Des souris séronégatives pour la toxoplasmose sont inoculées en intrapéritonéal avec une suspension du culot de centrifugation (environ dix souris). Un contrôle sérologique est réalisé à trois et six semaines. La recherche des anticorps spécifiques anti-toxoplasmiques est généralement effectuée par des techniques d'agglutination utilisant des conjugués anti-Ig de souris.

En cas de sérologie positive, la souris est sacrifiée. Après dissection, des coupes de cerveau sont observées au microscope afin de mettre en évidence des kystes toxoplasmiques intracérébraux (Desmonts *et al*, 1974).

La sensibilité de la technique est assez faible : 53 à 74% selon les équipes (Hezard *et al*, 1997 ; Robert-Gangneux *et al*, 1999) ; par contre sa spécificité est de 100%. Une faible charge parasitaire dans le liquide amniotique peut entraîner un résultat faussement négatif et, un nombre trop important de parasites peut inhiber la réponse immunitaire chez la souris (Derouin *et al*, 1987). De plus, les parasites peuvent être altérés voire tués lors de l'acheminement du prélèvement au laboratoire, lors de la préparation des échantillons ou par un traitement antiparasitaire. Dans ces cas-là, la réponse se révélera négative (Jenum *et al*, 1998). Ainsi l'inoculation à la souris est toujours réalisée en parallèle de la PCR car elle constitue une seconde méthode de contrôle, essentiel du fait des conséquences d'un tel diagnostic.

Cette technique permet en outre d'isoler les souches de toxoplasmes et de les conserver.

L'inoculation à la souris reste la méthode de référence malgré sa sensibilité assez faible et son

délai de réponse très long : trois à six semaines.

iii) Les cultures cellulaires.

En routine, la culture du parasite peut être réalisée sur des cellules fibroblastiques type MRC5. Les toxoplasmes doivent être vivants pour pouvoir pénétrer dans les cellules.

Cette technique est assez difficile à réaliser du fait des contraintes imposées : entretien des lignées cellulaires au laboratoire, obtention d'un tapis cellulaire de bonne qualité.

Après trois à cinq jours de culture, la croissance du parasite est visualisée par révélation immunoenzymatique ou immunofluorescente.

Son interprétation est délicate et sa sensibilité est inférieure à celle de l'inoculation à la souris, mais elle permet un rendu des résultats plus rapide (Robert-Gangneux *et al*, 1999). Cette technique est actuellement abandonnée du fait de sa faible sensibilité.

iv) La PCR : Polymerase Chain Reaction.

La technique d'amplification génique *in vitro* ou PCR a été introduite en France au début des années 90. C'est aujourd'hui la méthode de choix pour la recherche de *T.gondii* dans le liquide amniotique, à condition de respecter un protocole rigoureux dans un laboratoire expérimenté.

La PCR permet la mise en évidence de l'ADN toxoplasmique. Elle consiste à amplifier électivement des régions du génôme de *T.gondii* très bien conservées : gène B1, gène P30, ADN ribosomal, TGR1E.

Cette technique de biologie moléculaire est intéressante par sa sensibilité accrue et surtout un gain de temps énorme dans le rendu des résultats : trois à vingt-quatre heures selon les techniques.

Plusieurs techniques de PCR ont été développées : la PCR simple, la PCR avec révélation des produits d'amplification par hybridation, la nested PCR et la PCR en temps réel.

Malgré ces innovations, la sensibilité globale de la PCR est de l'ordre de 70 à 85% (Cazenave *et al*, 1992 ; Pratlong *et al*, 1996 ; Hezard *et al*, 1997). Un passage transplacentaire tardif et une faible charge parasitaire du liquide amniotique peuvent expliquer les faux-négatifs. La spécificité est de 100% dans la plupart des études.

Un résultat négatif en PCR et par inoculation du culot cellulaire à la souris ne permet pas d'exclure formellement une toxoplasmose congénitale (retard au passage transplacentaire, faible charge parasitaire) : un suivi sérologique à la naissance et durant la première année de vie est indispensable.

2. Diagnostic néonatal.

La prise en charge du nouveau-né est capitale et le diagnostic postnatal est essentiel en cas de séroconversion maternelle au cours de la grossesse ou d'apparition de signes cliniques dans les premiers mois de vie des nouveaux-nés de mères dont le statut sérologique est inconnu.

Ce bilan est systématique, qu'il y ait eu ou non un diagnostic prénatal.

Le diagnostic s'appuie sur un faisceau d'arguments clinico-biologiques.

i) Examen clinique.

Il permet de mettre en évidence des signes non spécifiques d'embryofoetopathies : hépatomégalie, splénomégalie, ictère, purpura thrombopénique, anémie, microcéphalie, hydrocéphalie, convulsions...

Un fond d'œil est systématiquement effectué au deuxième ou troisième jour de vie, à la recherche de lésions de chorioretinite. Il sera réalisé que l'infection congénitale soit prouvée ou non.

Un examen neurologique complet est également réalisé.

ii) Imagerie cérébrale.

Elle est très importante pour visualiser l'étendue des lésions cérébrales. La radiographie standard du crâne montre les signes d'hydrocéphalie (amincissement de la calotte crânienne, distension des sutures) et les éventuelles calcifications intracrâniennes. L'échographie transfontanelle et le scanner permettent d'objectiver les lésions cérébrales.

iii) Diagnostic biologique néonatal.

Le diagnostic biologique de la toxoplasmose congénitale à la naissance repose sur l'analyse du placenta, du sang du cordon ou du sang du bébé, et du sang maternel.

a) Diagnostic parasitologique.

La recherche des toxoplasmes est réalisée sur le placenta et le sang du cordon.

- Examen du placenta.

Le placenta doit être prélevé et acheminé au laboratoire dans des conditions données, selon les recommandations de Desmonts (Desmonts *et al*, 1974). Deux cents grammes de placenta sont prélevés en différents endroits de l'organe puis broyés et traités selon un protocole particulier. Une suspension du culot sera injectée aux souris. Un dépistage sérologique sera effectué à trois et six semaines par la technique d'agglutination HS (Toxoscreen® BioMérieux).

Les souris dont la sérologie est positive sont sacrifiées pour la recherche microscopique des kystes toxoplasmiques sur des broyats de cerveau. Si aucun toxoplasme n'est mis en évidence, de nouvelles souris sont inoculées avec le broyat de cerveau des souris positives en sérologie. En effet, l'observation de ces kystes toxoplasmiques intra-cérébraux est indispensable au diagnostic.

L'inoculation du placenta à la souris possède une sensibilité différente selon les traitements instaurés. Ainsi, elle est positive chez 90% des enfants infectés lorsque la mère n'a pas été traitée, chez 75% lorsqu'elle a reçu de la spiramycine et chez 50% lorsqu'elle a été traitée par pyriméthamine-sulfadiazine (Costa *et al*, 1994).

Une autre étude rapporte une sensibilité de 94% sur 95 placentas, en insistant sur les conditions rigoureuses à respecter pour la réalisation de cette placentoculture (Morin *et al*, 2002).

La mise en évidence du parasite par des techniques de biologie moléculaire sur le placenta est au stade de recherche dans des laboratoires spécialisés. La complexité de la nature du placenta rend cette analyse encore difficile.

- Inoculation du caillot du sang du cordon.

A la naissance le sang du cordon est recueilli sur tube sec pour l'inoculation à la souris mais également pour l'étude sérologique du nouveau-né.

Toujours selon les recommandations de Desmonts, le caillot sera inoculé aux souris et les sérologies seront réalisées à trois et six semaines. De la même façon, on cherchera à mettre en évidence les kystes intra-cérébraux.

Cet examen présente une spécificité de 100% et une sensibilité de 61% (Morin et al, 2002).

b) Diagnostic sérologique.

L'isolement du parasite étant souvent pris en défaut, le bilan sérologique reste un élément essentiel du diagnostic néonatal de la toxoplasmose congénitale. La synthèse des IgM débute au deuxième trimestre de la vie fœtale. Seules les IgG franchissent passivement la barrière placentaire. Les IgM et les IgA maternelles peuvent contaminer le sang du nouveau-né par effraction durant l'accouchement.

Le diagnostic sérologique repose généralement sur la mise en évidence d'IgM et/ou d'IgA dans le sang du cordon ou dans le sang du bébé entre J5 et J10. Cette détermination sera réalisée par immunocapture (ISAGA le plus souvent).

Ce diagnostic n'est pas aisé du fait de la physiopathologie de l'infection. En effet, les anticorps maternels transmis passivement au fœtus vont entraîner une inhibition de sa réponse immunitaire propre. Ainsi, dans les séroconversions très tardives, proches du terme, la réponse immunitaire humorale du nouveau-né n'est pas forcément en place à la naissance et on note une absence d'Ig spécifiques anti-toxoplasmiques dans le sang du cordon ou du bébé dans 30 à 50% des cas (Fricker-Hidalgo *et al*, 1996 ; Robert-Gangneux *et al*, 1999).

La présence d'IgM et/ou d'IgA dans le sang du cordon pouvant résulter d'une contamination par le sang maternel, il est indispensable de confirmer une sérologie positive du sang du cordon sur un échantillon du sang du nouveau-né prélevé à J8-J10.

De nouvelles techniques sont aujourd'hui disponibles pour aider au diagnostic de toxoplasmose congénitale en période néonatale. Elles permettent l'étude qualitative des anticorps.

- Le Western Blot.

Cet immunoblot permet la comparaison des profils sérologiques mère-enfant. C'est une technique sensible, spécifique et accessible à tous les laboratoires bien équipés. Malgré une apparente simplicité de lecture, celle-ci se révèle assez ardue dans la pratique et nécessite un observateur exercé. Elle associe une électrophorèse des antigènes toxoplasmiques en

conditions dénaturantes, un électro-transfert sur membrane de nitrocellulose et une révélation immunoenzymatique. Des kits commerciaux sont maintenant disponibles.

Ce Western Blot est réalisé en parallèle sur un échantillon de sang du nouveau-né (sang du cordon ou sang du bébé) et un échantillon du sang maternel. Il permet la mise en évidence d'anticorps spécifiques de type IgG, IgM voire IgA. La synthèse d'anticorps spécifiques anti-toxoplasmiques par le nouveau-né est affirmée par l'existence de bandes additionnelles chez le bébé, non retrouvées sur le profil immunologique de la mère. Le diagnostic de toxoplasmose congénitale est donc confirmé.

En cas de profils sérologiques identiques entre le sang du cordon et le sang de la mère, il faut refaire l'examen avec le sang du bébé dans les mois qui suivent la naissance, pour ne pas méconnaître une synthèse retardée des anticorps.

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

Mise au point par Pinon, elle est actuellement la technique de référence pour les profils immunologiques comparés. Elle permet l'étude simultanée de la spécificité des anticorps par immunoélectrodifusion et la détermination de l'isotype par immunofiltration à l'aide d'antiglobulines humaines marquées par une enzyme. On peut ainsi différencier les anticorps maternels des anticorps fœtaux ou néonataux (Pinon *et al*, 1982).

Elle permet donc de comparer les anticorps anti-toxoplasmiques de la mère et ceux de son enfant par observation de profils d'arcs de précipitation des différents isotypes (IgG, IgM, IgA, IgE).

Malgré son intérêt la technique ELIFA reste lourde à mettre en œuvre. Sa réalisation est délicate et nécessite un appareillage spécialisé.

Sa sensibilité semble légèrement inférieure à celle du Western Blot (Pinon *et al*, 1996).

La transmission passive des anticorps maternels de type IgG et le délai de mise en place de la réponse immunitaire humorale chez le nouveau-né nécessitent de surveiller la sérologie chez le nouveau-né jusqu'à l'âge de un an. En effet, les IgG transmises passivement disparaissent en sept à neuf mois. Ainsi, une sérologie négative à un an prouve l'absence d'infection.

c) Bilan biologique non spécifique.

Des signes biologiques non spécifiques sont associés à la toxoplasmose congénitale. Il existe un syndrome hématologique associant une hyperleucocytose à une hyperéosinophilie et une thrombopénie, et des signes de souffrance hépatique : augmentation des LDH (lactico-déshydrogénases), des γ -GT (gamma glutamyl transpeptidases) et des transaminases. L'examen du LCR montre également certaines anomalies : une hyperleucocytose associée à une hyperprotéinorachie et parfois même à la production intrathécale d'anticorps dans les premiers jours de vie.

Le diagnostic néonatal de toxoplasmose congénitale est donc considéré comme positif :

- lorsque l'inoculation à la souris du placenta et/ou du sang de cordon est positive,
- en cas de détection d'IgM et/ou d'IgA anti-toxoplasmiques dans le sang de cordon vérifié sur le sérum du nouveau-né à J8-J10,
- lorsque les profils comparés des IgG et/ou IgM de la mère et de l'enfant sont positifs,
- lors de la persistance d'IgG spécifiques à l'âge de un an.

MATERIEL & METHODES

I Matériel

Nous avons étudié 393 sérums de sérothèque sélectionnés selon les résultats obtenus par les techniques de routine utilisées au laboratoire de parasitologie du CHU de Nantes. Ce laboratoire recrute ses prélèvements dans les services cliniques du CHU mais également dans les laboratoires d'analyses médicales privés, dans le cadre du relais Abbott notamment. La stratégie d'utilisation de ces techniques dépend des résultats obtenus au fur et à mesure des tests mis en œuvre selon un arbre décisionnel.

Certains tests sont de première intention et réalisés systématiquement sur tous les sérums reçus au laboratoire ; d'autres sont ajoutés en fonction des premiers résultats.

1. Screening des sérums.

Tous les sérums reçus au laboratoire sont analysés sur l'AxSYM®, automate commercialisé par Abbott, basé sur la technique MEIA (Microparticular Enzymo Immuno Assay).

Le seuil de positivité des IgG est de 3 UI/ml.

Il existe une zone grise entre 2 et 3 UI/ml.

Le résultat des IgM est exprimé en indice et non en unité internationale / ml comme les IgG. Cet indice est calculé à partir de la valeur de l'échantillon sur la valeur moyenne du calibrateur indice.

Le seuil de positivité des IgM est de 0,6.

La zone grise est comprise entre 0,5 et 0,6.

2. En deuxième intention.

Tous les sérums qui présentent des IgG positives sur l'AxSYM® seront testés en IgG sur le Vidas® (BioMérieux).

Les sérums positifs en IgM sur AxSYM® sont analysés sur le Vidas en IgG et IgM, ainsi qu'en ISAGA, technique commercialisée par BioMérieux.

Le résultat de cette technique est rendu en indice :

indice ≥ 9 : positif

$6 \leq$ indice < 9 : équivoque

indice < 6 : négatif

L'indice maximal des IgM pour cette technique est 12.

Sur le Vidas®, le seuil de positivité des IgG est de 8 UI/ml, la zone grise étant comprise entre 4 et 8 UI/ml.

Pour les IgM, le seuil de positivité est représenté par un indice de 0,65. La zone grise se situe entre 0,6 et 0,65.

Certains profils sérologiques seront complétés par le dosage des IgA, qui repose sur une technique immunoenzymatique en double sandwich, Platelia® Toxo IgA, commercialisée par Biorad.

Les résultats sont exprimés en index de fixation du sérum, après comparaison de la densité optique de l'échantillon à une valeur seuil et à un témoin positif.

Le seuil de positivité est de 2 et la valeur maximale est > 20 .

Il est parfois difficile de conclure, d'où la mise en œuvre de l'avidité des IgG sur le Vidas®, qui repose sur le traitement de l'échantillon par un agent dénaturant.

3. Sérums.

393 sérums ont été testés par différentes techniques ; ils sont répartis en 6 groupes.

a) Premier groupe : sérums négatifs, absence d'immunité.

Ce groupe est constitué de 100 sérums provenant de 100 patients différents, séronégatifs pour la toxoplasmose d'après les analyses effectuées au laboratoire de parasitologie du CHU de Nantes, c'est à dire le dosage des IgG et des IgM sur l'AxSYM®.

Ces sérums présentent un titre négatif en IgG : < 3 UI/ml

et un indice négatif en IgM : $< 0,60$.

b) Deuxième groupe : toxoplasmoses chroniques, anciennes.

Ce groupe est constitué de 80 sérums provenant de 80 patients.

Ces sérums présentent un titre positif en IgG sur AxSYM® ≥ 3 UI/ml

un indice négatif en IgM sur AxSYM® : $< 0,60$

et un titre positif en IgG sur le Vidas® : ≥ 8 UI/ml.

Il est à remarquer que les titres des IgG sur le Vidas® dans ce contexte sont toujours supérieurs à ceux de l'AxSYM®.

c) Troisième groupe : toxoplasmoses anciennes avec persistance d'IgM.

Ce groupe est constitué de 81 sérums provenant de 81 patients.

Ces sérums ont été sélectionnés car ils présentent des titres positifs d'IgG sur l'AxSYM® et le Vidas®. Comme pour le deuxième groupe, les titres d'IgG obtenus sur le Vidas® sont supérieurs à ceux observés sur l'AxSYM®. Cela permet de dire que le début de la synthèse des anticorps est déjà ancien et qu'il date au moins de 6 mois.

L'autre critère de sélection est la persistance d'IgM dans ces sérums de toxoplasmoses anciennes. Cette persistance d'IgM est évaluée par le dosage des IgM sur l'AxSYM®, le Vidas® et en ISAGA.

Ainsi, ont été sélectionnés les sérums présentant un ISAGA ≥ 9 ainsi qu'un indice positif sur les automates AxSYM® et/ou Vidas® soit : indice $\geq 0,60$ sur l'AxSYM®

indice $\geq 0,65$ sur le Vidas®.

De plus, les sérums ont été retenus quand l'indice d'IgA était < 2 c'est à dire négatif.

Les IgA disparaissant généralement en 6 à 8 mois, les sérums sélectionnés peuvent être considérés comme correspondant à des séroconversions toxoplasmiques datant de plus de 6 mois.

d) Quatrième groupe : séroconversions toxoplasmiques.

Ce groupe est constitué de 41 sérums provenant de 14 patientes qui sont toutes des femmes enceintes.

Ces 14 patientes ont été suivies sérologiquement au cours de leur grossesse et généralement traitées dès la découverte de la séroconversion, ce qui modifie généralement la cinétique d'évolution des anticorps.

Chaque séroconversion est représentée par un premier sérum négatif, au moins en IgG, et un ou plusieurs sérums montrant l'apparition et la présence des IgM et des IgG.

Les techniques sérologiques utilisées pour la sélection des sérums sont toujours les mêmes : l'AxSYM® et le Vidas® pour les IgG et les IgM, l'ISAGA pour les IgM et Platelia® Toxo IgA pour les IgA.

e) Cinquième groupe : réactivations toxoplasmiques.

Ce groupe est constitué de 28 sérums provenant de 17 patients.

Ces sérums ont été sélectionnés car ils présentent une ascension des IgG souvent à des titres élevés sur un profil de toxoplasmose ancienne.

Les IgM sont négatives sur l'AxSYM® et généralement aussi sur le Vidas® et en ISAGA.

Les IgA peuvent être négatives ou positives.

Les indices d'avidité sur le Vidas® sont élevés : $> 0,3$; ce qui permet d'exclure une toxoplasmose de moins de 4 mois.

f) Sixième groupe : toxoplasmoses récentes avec présence d'IgA.

Ce groupe est constitué de 63 sérums provenant de 30 patients.

Ce groupe est scindé en 3 sous-groupes en fonction de la date de séroconversion :

Sous-groupe 1 : séroconversions datant de moins de 2 mois

Sous-groupe 2 : séroconversions datant de 2 à 6 mois

Sous-groupe 3 : séroconversions datant de plus de 6 mois.

La datation des séroconversions tient compte du premier sérum retenu pour chaque patient.

Les IgA sont positives et l'indice d'avidité des IgG, quand il est déterminé, est faible : très inférieur à 0,3.

II Méthodes

A. Liaison®

Le Liaison® est un automate commercialisé par DiaSorin, qui permet de nombreux dosages selon les réactifs utilisés. Pour la toxoplasmose, il existe des kits pour la détection des IgG et des IgM anti-toxoplasmiques ainsi que pour la mesure de l'avidité des IgG.

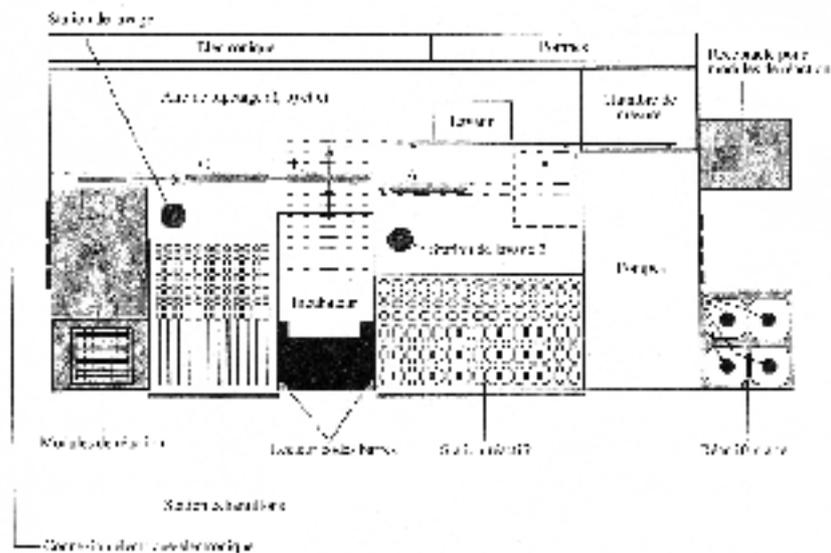
1. Principe

Le dosage des anticorps repose sur une réaction immunologique couplée à une réaction de chimiluminescence : réaction immunoluminométrique (CLIA).

Des billes magnétiques sont coatées par un antigène ou un anticorps selon le dosage désiré. Les immunoglobulines à doser sont reconnues par un conjugué : immunoglobuline anti-IgG ou M couplée à un traceur.

2. Appareillage – automate

- schéma de l'appareil (Figure 5)



- Différents réactifs nécessaires

- Modules réactionnels avec cupules

- Intégrale de réactifs comprenant :
 - Etalons 1 et 2
 - Diluant
 - Conjugué
 - Antigène pour les IgM
 - Tampon dénaturant pour la détermination de l'avidité des IgG
 - Particules magnétiques

Chaque intégrale autorise 100 déterminations pour le dosage des IgG et des IgM et 25 pour la mesure de l'avidité des IgG.

- Méthode de détection

La lumière émise est mesurée par un photomultiplicateur ultra-sensible.

L'intervalle de mesure linéaire du photomultiplicateur est 300-650 nm.

La lumière de chimiluminescence émise est mesurée à une longueur d'onde de 420 nm.

Le photomultiplicateur fonctionne comme un compteur de photons ultra-rapide.

Les impulsions sont amplifiées par un amplificateur électronique très rapide.

Le résultat brut est rendu en RLU : Relative Light Unit (Unité Relative de Luminescence).

Ces RLU sont transformées automatiquement en concentration par l'automate selon la courbe de calibration.

Ces données brutes sont multipliées par le facteur RLU, qui autorise une compensation des fluctuations inévitables de la sensibilité de la cathode du photomultiplicateur.

- Principe de la mesure.

Après les trois cycles de lavage, le module de réaction est transféré dans la chambre de mesure.

Si le module de réaction est dans la première position, le réactif starter 1 est injecté dans la première cupule. Après un délai de 2,55 secondes le réactif starter 2 est injecté dans la même cupule pour démarrer la réaction de chimiluminescence. Après un temps de latence de 0,1 seconde, le signal de mesure est obtenu et intégré après un période de mesure de 3 secondes.

3. Prélèvements et préparation des échantillons.

Le dosage peut être effectué sur du sérum ou du plasma humain. On peut employer des anticoagulants comme le citrate, l'EDTA ou l'héparine.

Nous avons travaillé sur 393 sérums prélevés sur tube sec, sans anticoagulant.

4. Etalonnage – Contrôle qualité.

La mesure des étalons contenus dans l'intégrale de réactifs permet l'ajustement de la courbe maîtresse prédéfinie dans l'automate d'immunoanalyse par le fabricant.

L'automate d'immunoanalyse doit être étalonné en triplets. Deux étalons sont utilisés, inclus dans l'intégrale, chacun mesuré trois fois.

La courbe de travail est ensuite recalculée à partir d'une courbe maîtresse en mémoire.

Cette calibration est valable quatre semaines mais doit être refaite pour chaque nouveau lot de réactifs.

5. Interférences analytiques.

Les caractéristiques du test ne sont pas modifiées par :

- les anticoagulants (citrate de sodium, EDTA, héparine)
- l'hémolyse (jusqu'à 1000 mg/dl d'hémoglobine)
- l'hyperlipémie (jusqu'à 3000 mg/dl de triglycérides)
- l'hyperbilirubinémie (jusqu'à 20 mg/dl de bilirubine)
- les cycles de congélation/décongélation des échantillons.

6. Dosage des IgG anti-toxoplasmiques.

La détection quantitative des anticorps spécifiques de classe IgG dirigés contre *Toxoplasma gondii* dans le sérum ou plasma humain repose sur l'immunoanalyse.

a. Principe du dosage.

Il s'agit d'un test indirect basé sur le principe de l'immunoluminométrie (CLIA) (Figure 6).

Les particules magnétiques qui constituent la phase solide sont revêtues par des extraits de *Toxoplasma gondii* inactivé (souche RH) obtenu à partir d'extraits de trophozoïtes.

Le conjugué anticorps-isoluminol est constitué d'un anticorps monoclonal de souris anti-IgG humaines lié à un dérivé de l'isoluminol.

Pendant la première incubation, les anticorps anti-*T.gondii* présents dans les étalons, les échantillons ou les contrôles se lient à la phase solide.

Pendant la deuxième incubation, l'anticorps conjugué réagit avec les IgG anti-*T.gondii* déjà liées à la phase solide.

Après chaque incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage.

Ensuite, la réaction de chimiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs starter dans les modules réactionnels.

Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU) et est indicatif de la concentration d'IgG anti-*T.gondii* présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

Figure 6 : Dosage des IgG avec Liaison®.

b. Procédure de dosage.

L'automate d'immunoanalyse exécute les opérations suivantes :

- 1) Distribution des étalons, contrôles ou échantillons dans le module réactionnel
- 2) Distribution des particules magnétiques coatées
- 3) Distribution du diluant pour échantillon
- 4) Incubation 10 minutes à 37°C
- 5) Lavage avec le liquide de lavage : séparation libre/lié
- 6) Distribution du conjugué dans le module réactionnel
- 7) Incubation 10 minutes à 37°C
- 8) Lavage avec le liquide de lavage
- 9) Ajout des réactifs starter et mesure de la luminescence.

La prise d'essai est de 120 µl.

c. Interprétation des résultats.

L'automate d'immunoanalyse calcule automatiquement les concentrations d'IgG anti-*T.gondii* exprimées en UI/ml.

L'intervalle de mesure est de 0 à 500 UI/ml d'IgG anti-*T.gondii*.

Les échantillons contenant des concentrations d'anticorps supérieures à celle de l'intervalle de mesure peuvent être dilués.

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

- < 6 UI/ml : négatif
- entre 6 et 8 UI/ml : douteux
- ≥ 8 UI/ml : positif

La limite de détection est 0,6 UI/ml.

7. Dosage des IgM anti-toxoplasmiques.

Le test Liaison® Toxo IgM utilise la technologie immunoluminométrique (CLIA) pour la détection quantitative des anticorps spécifiques de classe IgM dirigés contre *Toxoplasma gondii*, dans les échantillons de sérum ou de plasma humain.

a. Principe du dosage.

La détection quantitative des IgM spécifiques anti-*T.gondii* est un test de capture d'anticorps (test reverse) basé sur le principe de l'immunoluminométrie (Figure 7).

Des IgG monoclonales de souris anti-IgM humaines sont utilisées pour revêtir les particules magnétiques (phase solide) et un anticorps monoclonal de souris anti-*T.gondii* est lié à un dérivé de l'isoluminol (conjugué anticorps-isoluminol).

Pendant la première incubation, les anticorps de classe IgM présents dans les étalons, les échantillons ou les contrôles se lient à la phase solide.

Pendant la seconde incubation, l'anticorps conjugué réagit avec l'antigène ajouté auparavant.

L'antigène est constitué de *Toxoplasma gondii* inactivé (souche RH) obtenu à partir d'extraits de trophozoïtes.

Le complexe immun ainsi formé réagit avec les IgM déjà liées à la phase solide.

Après chaque incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage.

Ensuite, la réaction de chimiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs starter dans les modules réactionnels.

Le signal lumineux et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence et est indicatif de la concentration d'IgM anti-*T.gondii* présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

b. Procédure du dosage.

L'automate d'immunoanalyse exécute les opérations suivantes :

- 1) Distribution des étalons, contrôles ou échantillons dans le module réactionnel
- 2) Distribution des particules magnétiques revêtues
- 3) Distribution du diluant pour échantillon
- 4) Incubation 10 minutes à 37°C
- 5) Lavage
- 6) Distribution de l'antigène *T.gondii* dans le module réactionnel
- 7) Distribution du conjugué dans le module réactionnel
- 8) Incubation 10 minutes à 37°C
- 9) Lavage
- 10) Ajout des réactifs starter et mesure de la luminescence.

Le volume minimum d'échantillon nécessaire est de 120 µl (20µl d'échantillon + 100 µl de volume mort).

c. Interprétation des résultats.

L'automate d'immunoanalyse calcule automatiquement les concentrations d'IgM anti-*T.gondii*

exprimées en UA/ml (Unités arbitraires / ml).

L'intervalle de mesure est de 0 à 160 UA/ml d'IgM anti-*T.gondii*.

Les échantillons contenant des concentrations d'anticorps supérieures à celle de l'intervalle de mesure peuvent être dilués.

Les résultats sont interprétés comme suit :

- < 6 UA/ml : négatif
- entre 6 et 8 UA/ml : douteux
- \geq 8 UA/ml : positif

La limite de détection est de 1,3 UA/ml.

8 . Détermination de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques.

La mesure de l'avidité de la liaison des anticorps spécifiques de classe IgG dirigés contre *Toxoplasma gondii* dans les échantillons de sérum ou plasma humain utilise une technique d'immunoanalyse : l'immunoluminométrie.

a. Principe de la mesure.

Il s'agit d'un test indirect (Figure 8).

La phase solide est constituée de particules magnétiques revêtues de *Toxoplasma gondii* inactivé (souche RH) obtenu à partir d'extraits de trophozoïtes.

Le conjugué contient des anticorps monoclonaux d'origine murine anti-IgG humaines couplés à un dérivé de l'isoluminol (conjugué Anticorps-isoluminol).

On mesure la présence de liaisons fortes entre anticorps IgG et *T.gondii* (à savoir l'avidité des IgG) dans un échantillon positif vis à vis des IgG en comparant le signal d'un échantillon de référence (c'est à dire non traité) et le signal de ce même échantillon traité avec de l'urée, agent dénaturant qui dissocie les liaisons faibles entre IgG et *T.gondii*.

Pendant la première incubation, les anticorps anti-*T.gondii* présents dans les étalons, les

échantillons ou les contrôles se lient à la phase solide (échantillon de référence et traité).

Pendant la seconde incubation, l'agent dissociant (urée) modifie les liaisons entre antigène et anticorps (échantillon traité uniquement).

Seuls les anticorps de forte avidité restent liés à la phase solide alors que les anticorps de faible avidité se décrochent et sont éliminés.

Pendant la dernière incubation, l'anticorps conjugué réagit avec les IgG anti-*T.gondii* déjà liées à la phase solide (échantillon non traité et traité).

Après chaque incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage.

Ensuite, la réaction de chimiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs starter dans les modules réactionnels.

Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU) et est indicatif de la concentration d'IgG anti-*T.gondii* présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

L'indice d'avidité de la liaison des IgG est fourni par le rapport entre l'échantillon traité à l'urée et l'échantillon non traité ou échantillon de référence.

Figure 8 : Détermination de l'avidité des IgG avec Liaison®.

b. Procédure du dosage.

Pour obtenir le résultat final (indice d'avidité), les échantillons doivent être analysés selon les deux procédures.

L'automate d'immunoanalyse exécute les opérations suivantes :

- Procédure A :

- 1) Distribution des étalons, contrôles ou échantillons dans le module réactionnel
- 2) Distribution des particules magnétiques revêtues
- 3) Distribution du diluant pour échantillon
- 4) Incubation 10 minutes à 37°C
- 5) Lavage pour la séparation libre/lié
- 6) Distribution du conjugué dans le module réactionnel
- 7) Incubation 10 minutes à 37°C
- 8) Lavage

9) Ajout des réactifs starter et mesure de la luminescence.

- Procédure B :

- 1) Distribution des contrôles ou échantillons dans le module réactionnel (l'étalonnage n'est pas exécuté)
- 2) Distribution des particules magnétiques revêtues
- 3) Distribution du diluant pour échantillon
- 4) Incubation 10 minutes à 37°C
- 5) Lavage
- 6) Distribution du tampon dissociant : urée
- 7) Incubation 10 minutes à 37°C
- 8) Lavage
- 9) Distribution du conjugué dans le module réactionnel
- 10) Incubation 10 minutes à 37°C
- 11) Lavage
- 12) Ajout des réactifs starter et mesure de la luminescence.

Le volume minimum d'échantillon nécessaire est de 130 µl (30 µl d'échantillon + 100 µl de volume mort).

Seuls les échantillons positifs en IgG anti-*T.gondii*, c'est à dire avec un titre supérieur à 8 UI/ml, doivent être analysés pour l'avidité des IgG.

En effet, des échantillons possédant des concentrations inférieures peuvent induire une classification erronée des échantillons.

c. Interprétation des résultats.

Le Liaison® calcule automatiquement l'indice d'avidité de liaison des IgG spécifiques anti-

T.gondii. Cet indice correspond au rapport du nombre de RLU de l'échantillon traité à l'urée sur le nombre de RLU de l'échantillon non traité.

L'intervalle de mesure est de 0 à 1 d'indice d'avidité (Av) des IgG anti-*T.gondii*.

Les échantillons contenant des concentrations d'IgG anti-*T.gondii* supérieures à celle de l'intervalle de mesure sont à pré diluer avec le diluant pour échantillon. Le facteur de dilution recommandé est de 1/20 à 1/50.

Les résultats des échantillons doivent être interprétés de la manière suivante :

- indice d'avidité < 0,20 : avidité faible
- indice d'avidité entre 0,20 et 0,25 : avidité modérée
- indice d'avidité \geq 0,25 : avidité forte.

Un indice d'avidité élevé, \geq 0,25, permet d'exclure une toxoplasmose de moins de quatre mois.

B. Platelia® Toxo IgG TMB et Platelia® Toxo IgM TMB

Ces kits permettent une détection qualitative et/ou quantitative des immunoglobulines anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum ou le plasma humain par une technique immunoenzymatique.

La détection des IgG est qualitative et quantitative alors que celle des IgM est uniquement qualitative.

1. Principe.

Cette technique repose sur un dosage immunoenzymatique sur phase solide.

2. Appareillage.

- Microplaque de 12 barrettes sécables de 8 cupules sensibilisées avec les antigènes de *Toxoplasma gondii* ou un anticorps monoclonal anti-IgM humaines.
- Laveur de microplaque PW41.
- Lecteur de plaque LP400, spectrophotomètre UV à 450/620 nm.
- Réactifs fournis dans le kit :

- ✓ Diluant pour échantillon
- ✓ Etalons
- ✓ Tampon de lavage
- ✓ Conjugué
- ✓ Antigène pour les IgM
- ✓ Substrat
- ✓ Solution stop.

3. Prélèvements et préparation des échantillons.

Les tests sont effectués sur des échantillons de sérum ou de plasma humain.

Nous avons travaillé sur les 393 sérums obtenus sur tube sec, sans anticoagulant.

4. Interférences analytiques.

Les performances des tests peuvent être affectées par une hémolyse très prononcée, une contamination ou une hyperlipémie.

Il faut éviter les cycles de congélation/décongélation répétés.

De plus, un traitement par la chaleur trop important (> 56°C et > 30 minutes au bain-marie) pourrait entraîner une élévation des densités optiques.

5. Dosage des IgG anti-toxoplasmiques.

Le test Platelia® Toxo IgG TMB utilise une technique immunoenzymatique pour la détection qualitative et quantitative des IgG dirigées contre *Toxoplasma gondii* dans les échantillons de sérum ou plasma humain.

a) Principe du dosage.

Le principe de cette technique est un dosage immunoenzymatique sur phase solide dite technique ELISA indirecte (Figure 9).

L'antigène soluble de *T.gondii* utilisé pour sensibiliser la microplaque provient d'un ultrasonat de tachyzoïtes hautement concentré en protéines membranaires.

Un anticorps monoclonal marqué à la peroxydase, spécifique des chaînes gamma humaines (IgG) est utilisé comme conjugué.

- Première étape : dilution et distribution des échantillons et des étalons.

Les sérums à étudier ainsi que les étalons sont dilués au 1/101 puis déposés dans les cupules de la microplaque.

La prise d'essai est de 10 µl.

Durant cette incubation, une heure à 37°C, les IgG anti-*T.gondii* présentes dans l'échantillon se lient à l'antigène toxoplasmique fixé sur les cupules de la microplaque.

Les IgG sans spécificité anti-*T.gondii* et autres protéines sériques sont éliminées par lavage.

- Deuxième étape : ajout du conjugué.

Le conjugué (anticorps monoclonal d'origine murine, spécifique des chaînes gamma humaines, marqué à la peroxydase) est déposé dans toutes les cupules de la microplaque.

Durant cette deuxième incubation, une heure à 37°C, l'anticorps marqué vient se lier aux IgG sériques ayant réagi avec l'antigène toxoplasmique.

Le conjugué non lié est éliminé par lavage en fin d'incubation.

- Troisième étape : ajout du substrat.

La présence du complexe immunitaire (antigène toxoplasmique, IgG sériques anti-*T.gondii*, conjugué anti-IgG) est révélée par l'addition dans chaque cupule d'une solution de révélation enzymatique (tampon substrat + chromogène TMB = tétraméthyl benzidine).

- Quatrième étape : arrêt de la réaction et lecture de la densité optique.

Après une demi-heure d'incubation à température ambiante du laboratoire, la réaction enzymatique est stoppée par une solution d'acide sulfurique 1N.

La densité optique obtenue à 450/620 nm est proportionnelle à la quantité d'IgG anti-*T.gondii*.

La lecture sur une gamme de référence permet d'obtenir le titre du sérum en UI/ml.

Les sérums étalons (0, 6, 60 et 240 UI/ml) sont calibrés vis à vis de l'étalon OMS.

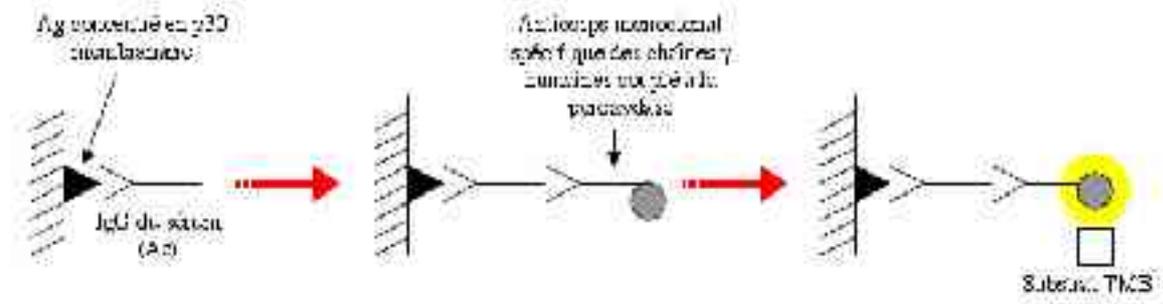


Figure 9 : Dosage des IgG avec Platelia®.

b) Procédure du dosage.

Il est recommandé de suivre strictement le protocole proposé et, comme pour toute technique, d'appliquer les bonnes pratiques de laboratoire.

- 1) Dilution des échantillons à tester et des étalons au 1/101
- 2) Distribution des étalons et échantillons dilués
- 3) Incubation une heure à 37°C
- 4) Lavage : ×3
- 5) Distribution du conjugué
- 6) Incubation une heure à 37°C
- 7) Lavage : ×4
- 8) Distribution de la solution de révélation
- 9) Incubation 30 minutes à température ambiante (+18-30°C) à l'abri de la lumière
- 10) Distribution de la solution d'arrêt
- 11) Lecture de l'absorbance au spectrophotomètre à 450/620 nm.

c) Etalonnage.

La présence et la quantité d'anticorps de classe IgG dirigés contre *T.gondii* dans l'échantillon testé sont déterminées en comparant la densité optique de l'échantillon à une gamme étalon (DO = fonction UI/ml).

Les sérums étalons sont calibrés par rapport à l'étalon OMS.

Bien que les sérums étalons utilisés dans cette trousse soient étalonnés vis à vis du sérum OMS, certaines discordances de titre pour un même sérum peuvent s'observer lorsqu'il est testé par différentes techniques sérologiques. Cette discordance est due au fait que les antigènes toxoplasmiques utilisés dans ces différentes techniques ont des proportions variables d'antigènes membranaires et solubles.

d) Interprétation des résultats.

Les résultats sont rendus en UI/ml.

L'intervalle de mesure est compris entre 0 et 240 UI/ml.

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

- a. < 6 UI/ml : négatif
- b. entre 6 et 9 UI/ml : douteux
- c. \geq 9 UI/ml : positif.

6. Dosage des IgM anti-toxoplasmiques.

Le test Platelia® Toxo IgM TMB utilise une technique immunoenzymatique pour la détection qualitative des IgM anti-*T.gondii* dans le plasma ou le sérum humain.

a) Principe du dosage.

Le principe du test est un dosage immunoenzymatique en double sandwich avec capture des anticorps IgM sériques sur la phase solide (microplaque recouverte d'anticorps anti-chaîne mu humaine) (Figure 10). L'anticorps monoclonal anti-*T.gondii* marqué à la peroxydase utilisé dans ce test est spécifique d'une protéine majeure de la surface des tachyzoïtes. Cette protéine de PM 30000 est une des cibles privilégiées de la réponse immunitaire humorale.

- Première étape : dilution et distribution des échantillons.

Les sérums témoin négatif, valeur seuil, témoin positif et échantillons à tester sont dilués au 1/101 puis déposés dans les cupules de la microplaque. La prise d'essai est de 10 µl. Durant cette incubation, une heure à 37°C, les IgM présentes dans l'échantillon sont captées par la phase solide. Les IgG et les autres protéines du sérum sont éliminées par lavage en fin d'incubation.

- Deuxième étape : ajout de l'antigène toxoplasmique.

Un mélange d'antigène toxoplasmique (antigène *T.gondii*) et d'anticorps monoclonal d'origine murine anti-*T.gondii* marqué à la peroxydase est déposé dans toutes les cupules de la microplaque.

Durant cette deuxième incubation, une heure à 37°C, si l'échantillon testé contient des IgM anti-*T.gondii*, ces IgM captées sur la phase solide fixent le complexe (antigène *T.gondii* / anticorps anti-*T.gondii*).

L'antigène *T.gondii* et l'anticorps monoclonal couplé à la peroxydase non fixés ou en excès sont éliminés par lavage.

- Troisième étape : ajout du substrat.

La présence du complexe immunitaire (phase solide anti-IgM, IgM anti-*T.gondii*, antigène *T.gondii*, anticorps monoclonal couplé à la peroxydase) est révélée par l'addition dans chaque cupule d'une solution de révélation enzymatique.

- Quatrième étape : arrêt de la réaction et lecture de l'absorbance.

Après 30 minutes d'incubation à température du laboratoire (18-30°C), la réaction enzymatique est stoppée par l'acide sulfurique 1N. La densité optique obtenue à 450/620 nm est proportionnelle à la quantité d'IgM anti-*T.gondii*.

La lecture des résultats en densité optique par rapport à une valeur seuil permet d'affirmer ou d'infirmer la présence d'anticorps de classe IgM anti-*T.gondii*.

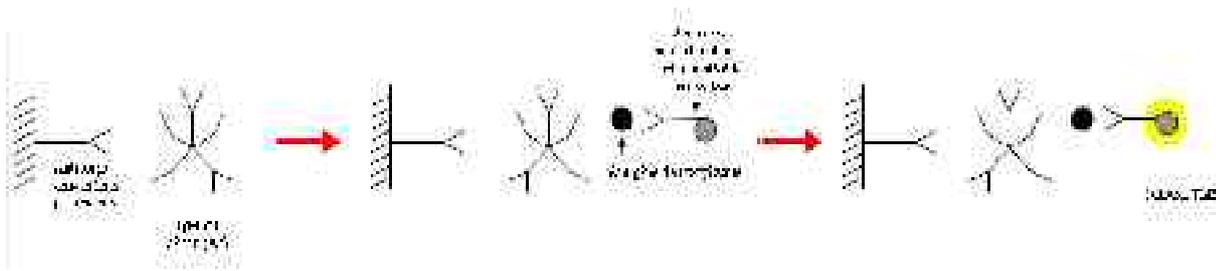


Figure 10 : Dosage des IgM avec Platelia®.

b) Procédure du dosage.

Les opérations sont à exécuter dans l'ordre suivant :

1. Dilution des échantillons à tester et des étalons au 1/101
2. Distribution des étalons et des échantillons dilués
3. Incubation une heure à 37°C
4. Lavages : ×3
5. Distribution du conjugué dans tous les puits
6. Incubation une heure à 37°C
7. Lavages : ×4
8. Distribution de la solution de révélation
9. Incubation 30 minutes à température ambiante (+18-30°C) à l'abri de la lumière
10. Distribution de la solution d'arrêt
11. Lecture de l'absorbance au spectrophotomètre à 450/620 nm.

c) Calcul et interprétation des résultats.

- Calcul.

La densité optique valeur seuil correspond à la moyenne des DO du sérum valeur seuil.

Quand la DO de l'échantillon est inférieure à la DO valeur seuil, le résultat est exprimé par le ratio :

$$\text{Ratio} = \text{DO échantillon} / \text{DO valeur seuil moyenne}$$

Si la DO de l'échantillon est supérieure à la DO valeur seuil moyenne, le résultat est exprimé en index de fixation :

Index de fixation du sérum =

- Interprétation.

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

- < 0,8 : négatif
- entre 0,8 et 1 : douteux
- ≥ 1 : positif.

L'index de fixation permet une approche semi-quantitative des résultats provenant de deux sérums du même patient.

7. Détermination de l'avidité des IgG.

La mesure de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques a recours au kit Platelia® Toxo IgG TMB qui repose sur une technique immunoenzymatique. En effet, la détermination de cette avidité utilise le principe du dosage des IgG. Le traitement par l'agent dénaturant est ajouté à cette technique.

a) Principe de la mesure.

La mesure de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques repose sur une technique immunoenzymatique sur phase solide.

L'antigène soluble de *T.gondii* utilisé pour sensibiliser la microplaque provient d'un

ultrasonat de tachyzoïtes hautement concentré en protéines membranaires.

Un anticorps monoclonal marqué à la peroxydase, spécifique des chaînes gamma humaines est utilisé comme conjugué.

L'agent dénaturant utilisé est une solution d'urée 6M qui permet une rupture de la liaison entre l'antigène et son anticorps spécifique si celui-ci est de faible avidité. Par contre l'urée n'a pas cet effet de décrochage sur les anticorps de forte avidité.

Le kit pour la détermination de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques n'étant pas commercialisé, on utilise le kit Platelia® Toxo IgG TMB et une solution d'urée 6M, selon le protocole de Bertrand Lecolier.

- Première étape : dilution et distribution des échantillons.

Le dosage des IgG aura été réalisé au préalable. En effet, le facteur de dilution de l'échantillon dépend de la concentration du sérum en IgG.

- ✓ Si le titre en IgG est inférieur à 15 UI/ml, le test avidité n'est pas réalisé.
- ✓ Si le titre en IgG est compris entre 15 et 240 UI/ml, on effectue une dilution au 1/1010 (soit une dilution au 1/10 à partir de la dilution au 1/101 du dosage des IgG).
- ✓ Si le titre en IgG est supérieur à 240 UI/ml, il faut diluer l'échantillon au 1/5050 (soit une dilution au 1/50 de la dilution initiale).

Durant cette incubation, une heure à 37°C, les IgG anti-*T.gondii* présentes dans l'échantillon se lient à l'antigène toxoplasmique fixé sur les cupules de la microplaque.

Les étalons sont utilisés à chaque mise en œuvre pour valider la qualité du test.

Les échantillons sont déposés en double : une cupule sera traitée à l'urée et l'autre non.

- Deuxième étape : traitement à l'urée.

A la fin de la première incubation, le contenu de toutes les cupules est éliminé par aspiration ou retournement.

Une des deux séries d'échantillons et d'étalons est traitée à l'urée et l'autre série par la solution contrôle. Chaque solution reste en contact dans la cupule pendant cinq minutes à température ambiante. Cette opération est répétée deux fois.

L'urée détruit les liaisons entre antigène et anticorps de type IgG de faible avidité, les anticorps de forte avidité restent liés à leur antigène malgré le traitement dénaturant.

Ainsi, les IgG de faible avidité sont éliminées par lavage.

- Troisième étape : ajout du conjugué.

Le conjugué (anticorps monoclonal spécifique des chaînes gamma humaines, marqué à la peroxydase) est déposé dans toutes les cupules de la microplaque.

Durant cette deuxième incubation, une heure à 37°C, l'anticorps marqué vient se lier aux IgG sériques ayant réagi avec l'antigène toxoplasmique.

Le conjugué non lié est éliminé par lavage.

- Quatrième étape : ajout du substrat.

La présence du complexe immunitaire est révélée par addition dans chaque cupule d'une solution de révélation enzymatique.

- Cinquième étape : arrêt de la réaction et lecture de la densité optique.

Après une demi-heure d'incubation à température ambiante à l'abri de la lumière, la réaction enzymatique est stoppée par une solution d'acide sulfurique 1N.

L'absorbance est lue à 450/620 nm au spectrophotomètre pour chacune des deux séries d'échantillons : celle traitée à l'urée et celle traitée avec une solution de contrôle.

b) Procédure de la mesure.

Le protocole doit être suivi rigoureusement.

1. Dilution des échantillons à tester au 1/1010 ou au 1/5050 selon le titre des IgG
2. Distribution des étalons et des échantillons dilués en double
3. Incubation une heure à 37°C
4. Distribution de la solution d'urée ou de la solution de contrôle dans les cupules concernées
5. Incubation 5 minutes à température ambiante
6. Recommencer 2 fois les opérations 4 et 5

7. Lavage : $\times 3$
8. Distribution du conjugué
9. Incubation une heure à 37°C
10. Lavage : $\times 4$
11. Distribution de la solution de révélation
12. Incubation 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière
13. Distribution de la solution d'arrêt
14. Lecture de l'absorbance au spectrophotomètre à 450/620 nm.

c) Calcul et interprétation des résultats.

L'avidité des IgG est exprimée par le ratio :

Ratio avidité =

L'interprétation du test utilise deux zones plus une zone grise :

- ratio avidité $< 0,40$: avidité faible
- entre 0,40 et 0,50 : zone grise
- ratio avidité $\geq 0,50$: avidité élevée.

Un indice d'avidité $\geq 0,50$ permet d'exclure une toxoplasmose de moins de 20 semaines.

RESULTATS

Nous avons donc étudié 393 sérums répartis en 6 populations : 100 sérums négatifs, 80 sérums de toxoplasmose chronique, 81 sérums de toxoplasmose chronique avec persistance d'IgM, 63 sérums de toxoplasmose récente avec présence d'IgA, 41 sérums de séroconversion et 28 sérums de réactivation toxoplasmique.

Ces sérums ont été testés en IgG et IgM par différentes techniques : IgG AxSYM®, Vidas®, Platelia® et Liaison®, IgM AxSYM®, Vidas®, Platelia® et Liaison®. L'avidité des IgG a été déterminée, quand cela était possible, par les techniques Platelia® et Liaison®, et parfois Vidas®.

Chacune de ces techniques a un seuil de positivité propre ainsi qu'une zone grise (Tableau I).

		AxSYM®	Vidas®	Liaison®	Platelia®
IgG UI/ml	Négatif	< 2	< 4	< 6	< 6
	Zone grise	2 - 3	4 - 8	6 - 8	6 - 9
	Positif	≥ 3	≥ 8	≥ 8	≥ 9
IgM Indice	Négatif	< 0,5	< 0,6	< 6	< 0,8
	Zone grise	0,5 – 0,6	0,6 – 0,65	6 - 8	0,8 - 1
	Positif	≥ 0,6	≥ 0,65	≥ 8	≥ 1
Avidité des IgG Indice d'avidité	Avidité faible		< 0,200	< 0,20	< 0,40
	Avidité intermédiaire		0,200 – 0,300	0,20 – 0,25	0,40 – 0,50
	Avidité élevée		≥ 0,300	≥ 0,25	≥ 0,50

Tableau I : Valeurs de référence des différentes techniques utilisées.

Pour la comparaison des techniques, nous utiliserons des indicateurs statistiques comme la sensibilité (Se), la spécificité (Sp), la concordance.

VP : vrai positif

VN : vrai négatif

FP : faux positif

FN : faux négatif

Pour les calculs, nous considérerons les douteux en IgG comme négatifs, et les douteux en IgM comme positifs, étant données les conséquences sur l'interprétation de la sérologie pour le patient.

I Sérums négatifs.

Nous avons étudié 100 sérums provenant de 100 patients.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

Tous les sérums ont été trouvés négatifs par les deux techniques.

Sp L/A = 100% (100/100)

Platelia® versus AxSYM®

Tous les échantillons ont été trouvés négatifs par les deux techniques.

Sp P/A = 100% (100/100)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

Les 100 sérums sont négatifs en IgM avec l'AxSYM®.

Liaison® trouve 97 sérums négatifs, 2 douteux (considérés comme positifs) et 1 positif.

Sp L/A = 97% (97/100)

Platelia® versus AxSYM®

Tous les sérums ont été trouvés négatifs par les deux techniques.

Sp P/A = 100% (100/100)

II Toxoplasmoses chroniques sans IgM.

Nous avons étudié 80 sérums provenant de 80 patients.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

Les 80 sérums sont trouvés positifs en IgG sur Liaison® et AxSYM®.

Se L/A = 100% (80/80)

Liaison® versus Vidas®

Les 80 sérums sont trouvés positifs en IgG sur Liaison® et Vidas®.

Se L/V = 100% (80/80)

Platelia® versus AxSYM®

Les 80 sérums sont trouvés positifs en IgG avec Platelia® et AxSYM®.

Se P/A = 100% (80/80)

Platelia® versus Vidas®

Les 80 sérums sont trouvés positifs en IgG avec Platelia® et Vidas®.

Se P/V = 100% (80/80)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

Les 80 sérums sont trouvés négatifs en IgM sur Liaison® et AxSYM®.

Sp L/A = 100% (80/80)

Platelia® versus AxSYM®

Les 80 sérums sont trouvés négatifs en IgM sur l'AxSYM®.

La technique Platelia® de Biorad trouve 79 sérums négatifs et 1 douteux (considéré comme positif).

Sp P/A = 98,75% (79/80)

- Avidité des IgG

Liaison® trouve 76 AE (avidité élevée) et 4 AI (avidité intermédiaire) (0,237 – 0,23 – 0,204 et 0,24) et Platelia®, 78 AE et 2 AI (0,45 et 0,49).

Concordance 92,5% (74/80)

Moyenne des indices d'avidité : Liaison® = 0,474

Platelia® = 0,634

Il existe donc 6 discordances sur les 80 sérums testés. Les indices d'avidité sont attendus élevés puisqu'il s'agit de toxoplasmoses anciennes. Seules 4 discordances (AI(L)/AE(P)) ont pu être testées sur Vidas®, les 2 autres présentaient un titre en IgG sur Vidas® insuffisant, c'est à dire < 15 UI/ml.

Sur les 4 sérums testés sur Vidas®, 3 ont présenté un indice d'avidité élevé et 1 un indice d'avidité intermédiaire.

III Toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM.

Nous avons testé 81 sérums provenant de 81 patients.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

Les 81 sérums sont positifs en IgG avec l'AxSYM®.

Avec Liaison®, 80 sérums sont positifs et 1 est équivoque et donc considéré comme négatif.

Se L/A = 98,76% (80/81)

Liaison® versus Vidas®

Les 81 sérums sont positifs en IgG avec le Vidas®.

Avec Liaison®, 80 sérums sont positifs et 1 est équivoque et donc considéré comme négatif.

Se L/V = 98,76% (80/81)

Platelia® versus AxSYM®

Tous les sérums ont été trouvés positifs avec AxSYM® et Platelia®.

Se P/A = 100% (81/81)

Platelia® versus Vidas®

Tous les sérums sont positifs avec Vidas® et Platelia®.

Se P/V = 100% (81/81)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

Liaison® trouve 41 positifs, 14 douteux et 26 négatifs.

L'AxSYM® donne 64 positifs, 10 douteux considérés comme positifs et 7 négatifs.

Ce qui correspond à 51 VP, 3 VN, 4 FP et 23 FN.

Concordance L/A = 66,66% (54/81)

Se L/A = 68,92% (51/74)

Liaison® versus Vidas®

Liaison® trouve 41 positifs, 14 douteux et 26 négatifs.

Le Vidas® donne 72 positifs, 5 douteux et 4 négatifs.

Cela correspond à 54 VP, 3 VN, 1 FP et 23 FN.

Concordance L/V = 70,37% (57/81)

Se L/V = 70,13% (54/77)

Tous les sérums discordants L/A et L/V sont positifs en ISAGA.

Platelia® versus AxSYM®

On obtient 74 positifs, 1 douteux et 6 négatifs par la technique Platelia®, et 64 positifs, 10 douteux et 7 négatifs avec l'AxSYM®.

Cela correspond à 68 VP, 0 VN, 7 FP et 6 FN.

Concordance P/A = 83,95% (68/81)

Se P/A = 91,89% (68/74)

Platelia® versus Vidas®

Le Vidas® trouve 72 positifs, 5 douteux et 4 négatifs.

Cela correspond à 73 VP, 4 VN, 1 FP et 3 FN.

Concordance P/V = 95,06% (77/81)

Se P/V = 96,05% (73/76)

Tous les sérums discordants P/A et P/V sont positifs en ISAGA.

- Avidité des IgG

Liaison® trouve 13 AB, 14 AI et 54 AE.

Platelia® trouve 4 AB, 16 AI et 61 AE.

Concordance L/P = 66,66% (54/81)

Nous constatons 26 discordances entre les 2 techniques, 3 sérums seulement avaient déjà bénéficié d'une détermination de l'avidité de leurs IgG sur le Vidas® en routine (Tableau II).

	Liaison®	Platelia®	Vidas®
9613	AI	AE	AE
9605	AE	AI	AE
7696	AE	AI	AE

Tableau II : Comparaison des résultats d'avidité pour 3 sérums avec les 3 techniques.

Parmi les 23 discordances restantes, il existe 7 discordances majeures : AE avec Platelia® et AB avec Liaison® (mais pas d'AB avec Platelia® et AE avec Liaison®).

Nous avons donc déterminé l'avidité des IgG de ces 7 sérums avec le Vidas®.

Les 7 échantillons présentent un indice d'avidité élevé sur le Vidas® (> 0,300).

4 autres sérums présentaient une AB avec l'une des 2 techniques, leur avidité a donc également été déterminée sur le Vidas® (Tableau III).

	Liaison®	Platelia®	Vidas®
8427	AB	AI	AI
7077	AB	AI	AE
6798	AB	AI	AI
6767	AI	AB	AB

Tableau III : Comparaison des résultats d'avidité pour 4 sérums avec les 3 techniques.

Les 12 autres discordances sont plus mineures (AE/AI), c'est à dire AI dans une des deux techniques.

Moyenne des avidités :

Liaison® : 0,35

Platelia® : 0,555

IV Toxoplasmoses récentes avec présence d'IgA.

Nous avons testé 63 sérums provenant de 30 patients (2 échantillons n'ont pu être testés par Liaison® car ils étaient en quantité insuffisante).

Pour les calculs, nous considérerons uniquement le premier sérum pour chaque patient (celui à partir duquel la datation est faite). En effet, les sérums ultérieurs correspondent à l'évolution de la toxoplasmoses qui n'est alors plus très récente.

Ce groupe est scindé en 3 sous-groupes en fonction de la datation de la séroconversion par rapport au premier sérum :

- toxoplasmoses de moins de 2 mois,
- toxoplasmoses de 2 à 6 mois,
- toxoplasmoses de plus de 6 mois.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

Les sérologies n'ont pas pu être effectuées avec Liaison® sur les 2 premiers échantillons sur 4 d'un même patient du fait d'un volume trop faible ; nous considérons donc 29 sérums provenant de 29 patients.

Tous les échantillons ont été trouvés positifs par les 2 techniques.

Se L/A = 100% (29/29)

Liaison® versus Vidas®

Avec le Vidas®, on obtient 28 sérums positifs en G et 1 douteux considéré comme négatif.

Les 29 échantillons étant positifs avec Liaison®, cela donne 28 VP et 1 FN.

Se L/V = 96,55% (28/29)

Platelia® versus AxSYM®

Les 30 sérums sont positifs sur l'AxSYM® alors que Platelia® trouve 29 positifs et un négatif qui est donc 1 FN.

Se P/A = 96,67% (29/30)

Platelia® versus Vidas®

Le Vidas® donne 29 positifs et 1 douteux considéré comme positif.

Cela correspond donc à 29 VP et 1 FN.

Se P/V = 96,67% (29/30)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

L'AxSYM® trouve 28 positifs et 1 négatif.

Tous les échantillons sont positifs sur Liaison® .

Ce qui correspond à 28 VP et 1 FP.

Se L/A = 100% (28/28)

Liaison® versus Vidas®

Tous les sérums sont positifs en M sur le Vidas® et Liaison®, d'où 29 VP.

Se L/V = 100% (29/29)

Platelia® versus AxSYM®

Les 30 échantillons sont positifs avec la technique Platelia® alors que l'AxSYM® trouve 1 négatif parmi les 30 sérums, soit 1 FP.

Se P/A = 100% (29/29)

Platelia® versus Vidas®

Les 2 techniques trouvent 30 positifs.

Se P/V = 100% (30/30)

- Avidité des IgG

Les calculs tiennent uniquement compte du premier sérum, c'est à dire le plus proche de la séroconversion.

Nous avons déterminé l'avidité des IgG de 28 sérums sur Liaison® et Platelia®.

Nous avons obtenu 19 AB, 1 AI et 2 AE par les 2 techniques.

Concordance L/P = 78,6% (22/28)

Il existe donc 6 discordances dont 3 majeures, c'est à dire AE avec Liaison® et AB avec Platelia®. L'avidité des IgG de ces 3 sérums a donc été déterminée sur le Vidas® : ils ont tous les 3 présenté une avidité basse (165727, 165648 et 148817).

Les 3 autres discordances sont plus mineures : AI et AB ou AI et AE (Tableau IV).

	Liaison®	Platelia®	Vidas®
8813	AB	AI	AB
8161	AE	AI	AI
5506	AI	AB	AB

Tableau IV : Comparaison des résultats d'avidité pour 3 sérums avec les 3 techniques.

Moyenne des indices d'avidité :

(En tenant compte uniquement du premier sérum).

Toxoplasmoses de moins de 2 mois.

Liaison® : 0,111

Platelia® : 0,134

Toxoplasmoses datant de 2 à 6 mois.

Liaison® : 0,174

Platelia® : 0,271

Toxoplasmoses de plus de 6 mois.

Liaison® : 0,346

Platelia® : 0,514

1. Toxoplasmoses de moins de 2 mois.

Ce sous-groupe comprend 26 sérums provenant de 13 patients. Pour les calculs, nous tenons compte uniquement du premier sérum, c'est à dire le plus récent par rapport à la séroconversion, soit 13 sérums provenant de 13 patients.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

Les 13 sérums sont positifs avec les 2 techniques (13 VP).

Se L/A = 100% (13/13)

Liaison® versus Vidas®

Les 13 sérums sont positifs avec les 2 techniques.

Se L/V = 100% (13/13)

Platelia® versus AxSYM®

Les 13 échantillons sont positifs avec l'AxSYM®, alors que la technique Platelia® trouve 12 positifs et 1 négatif (donc 12 VP et 1 FN).

Se P/A = 92,31% (12/13)

Platelia® versus Vidas®

12 échantillons sont positifs avec les 2 techniques et 1 est trouvé positif avec le Vidas® et négatif par la technique Platelia® (12 VP et 1 FN).

Se P/V = 92,31% (12/13)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

Tous les sérums sont positifs en M avec les 2 techniques.

Se L/A = 100% (13/13)

Liaison® versus Vidas®

Les 13 sérums sont positifs en M avec les 2 techniques.

Se L/V = 100% (13/13)

Platelia® versus AxSYM®

Les 13 sérums sont positifs avec les 2 techniques.

Se P/A = 100% (13/13)

Platelia® versus Vidas®

Tous les sérums sont positifs avec les 2 techniques.

Se P/V = 100% (13/13)

2. Toxoplasmoses datant de 2 à 6 mois.

Ce sous-groupe est constitué de 33 sérums provenant de 15 patients. Parmi ces échantillons, 2 n'ont pu être testés en raison d'une quantité trop faible de sérum. Ainsi, les calculs pour Liaison®

prennent en compte seulement 14 patients. Comme pour le sous-groupe précédent, seul le premier sérum pour chaque patient est intégré dans les résultats.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

Les 14 échantillons sont positifs en G avec les 2 techniques.

Se L/A = 100% (14/14)

Liaison® versus Vidas®

Les 14 échantillons sont positifs avec les 2 techniques.

Se L/V = 100% (14/14)

Platelia® versus AxSYM®

Tous les sérums sont positifs avec l'AxSYM® et la technique Platelia®.

Se P/A = 100% (15/15)

Platelia® versus Vidas®

Tous les sérums sont positifs avec les 2 techniques.

Se P/V = 100% (15/15)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

13 sérums sont positifs avec les 2 techniques, et 1 est trouvé positif par Liaison® alors qu'il est négatif avec l'AxSYM® (soit 13 VP et 1 FP).

Se L/A = 100% (13/13)

Liaison® versus Vidas®

Tous les sérums sont positifs avec les 2 techniques.

Se L/V = 100% (14/14)

Platelia® versus AxSYM®

14 échantillons sont positifs avec les 2 techniques, et 1 est trouvé positif avec Platelia®, alors

qu'il est négatif avec l'AxSYM® (soit 14 VP et 1 FP).

Se P/A = 100% (14/14)

Platelia® versus Vidas®

Tous les échantillons sont positifs avec les 2 techniques.

Se P/V = 100% (15/15)

3. Toxoplasmoses de plus de 6 mois.

Ce sous-groupe compte 4 sérums provenant de 2 patients. Pour le calcul, nous considérons uniquement le premier sérum pour chaque patient, soit 2 sérums provenant de 2 patients.

- IgG

Les 2 sérums sont positifs en G avec les 4 techniques.

Se L/A = 100% (2/2)

Se L/V = 100% (2/2)

Se P/A = 100% (2/2)

Se P/V = 100% (2/2)

- IgM

Les 2 sérums sont positifs en M avec les 4 techniques.

Se L/A = 100% (2/2)

Se L/V = 100% (2/2)

Se P/A = 100% (2/2)

Se P/V = 100% (2/2)

V Séroconversions.

Nous avons étudié 41 sérums provenant de 14 cas de séroconversion.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

Seulement 40 sérums ont été testés sur l'AxSYM® : 1 sérum est lactescent.

L'AxSYM® trouve 23 positifs, 15 négatifs et 2 douteux et Liaison® trouve 15 positifs, 23 négatifs et 2 douteux (soit 15 VP, 8 FN, 0 FP et 17 VN).

Se L/A = 65,22% (15/23)

Sp L/A = 100% (17/17)

Liaison® versus Vidas®

Sur les 41 sérums testés, le Vidas® trouve 16 positifs, 23 négatifs et 2 douteux, et Liaison® trouve 16 positifs, 23 négatifs et 2 douteux (soit 14 VP, 2 FN, 2 FP et 23 VN).

Se L/V = 87,5% (14/16)

Sp L/V = 92% (23/25)

Platelia® versus AxSYM®

Seuls 40 sérums ont été testés sur l'AxSYM®, un étant lactescent.

L'AxSYM® trouve 23 positifs, 15 négatifs et 2 douteux, et Platelia®, 19 positifs et 21 négatifs (soit 19 VP, 15 VN, 0 FP et 6 FN).

Se P/A = 76% (19/25)

Sp P/A = 100% (15/15)

Platelia® versus Vidas®

Sur les 41 sérums testés, le Vidas® trouve 16 positifs, 23 négatifs et 2 douteux, et Platelia®, 19 positifs et 21 négatifs (soit 17 VP, 20 VN, 3 FP et 1 FN).

Se P/V = 94,44% (17/18)

Sp P/V = 86,96% (20/23)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

Seuls 40 sérums ont été testés sur l'AxSYM®, un étant lactescent.

L'AxSYM® trouve 29 positifs, 10 négatifs et 1 douteux, et Liaison®, 30 positifs, 9 négatifs et 1 douteux (soit 30 VP, 0 FN, 1 FP et 9 VN).

Se L/A = 100% (30/30)

Sp L/A = 90% (9/10)

Liaison® versus Vidas®

Le Vidas® trouve 32 positifs et 9 négatifs, et Liaison®, 31 positifs, 9 négatifs et 1 douteux (soit 32 VP et 9 VN).

Se L/V = 100% (32/32)

Sp L/V = 100% (9/9)

Platelia® versus AxSYM®

Seuls 40 sérums ont été testés sur l'AxSYM®, un étant lactescent.

L'AxSYM® trouve 29 positifs, 10 négatifs et un douteux, et Platelia®, 31 positifs et 9 négatifs (soit 30 VP, 9 VN, 0 FN et 1 FP).

Se P/A = 100% (30/30)

Sp P/A = 90% (9/10)

Platelia® versus Vidas®

Le Vidas® et Platelia® trouvent 32 positifs et 9 négatifs (soit 32 VP et 9 VN).

Se P/V = 100% (32/32)

Sp P/V = 100% (9/9)

- Avidité des IgG

16 sérums ont été testés sur Liaison® : 13 AB, 2 AI et 1 AE.

18 sérums ont été testés sur Platelia® : 17 AB et 1 AI.

Concordance L/P = 81,25% (13/16)

Moyenne des indices d'avidité :

Liaison® : 0,105

Platelia® : 0,193

VI Réactivations toxoplasmiques.

Nous avons étudié 28 sérums provenant de 17 réactivations toxoplasmiques.

- IgG

Les 28 sérums sont positifs en G avec les 4 techniques.

Se L/A = 100% (28/28)

Se L/V = 100% (28/28)

Se P/A = 100% (28/28)

Se P/V = 100% (28/28)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

Les 28 sérums sont trouvés négatifs avec l'AxSYM® alors que Liaison® trouve 5 positifs, 20 négatifs et 3 douteux (soit 8 FP et 20 VN).

Concordance L/A = 71,43% (20/28)

Liaison® versus Vidas®

Les deux techniques trouvent les mêmes 20 sérums négatifs, les mêmes 5 positifs et les mêmes 3 douteux.

Concordance L/V = 100% (28/28)

Platelia® versus AxSYM®

L'AxSYM® trouve 28 négatifs et Platelia®, 18 négatifs et 10 positifs dont 2 douteux (soit 18 VN et 10 FP).

Concordance P/A = 64,28% (18/28)

Platelia® versus Vidas®

Le Vidas® trouve 20 négatifs et 8 positifs, et Platelia®, 18 négatifs et 10 positifs dont 2 douteux (soit 8 VP, 18 VN et 2 FP).

Concordance P/V = 92,86% (26/28)

- Avidité des IgG

Les deux techniques trouvent des indices d'avidité élevés pour les 28 sérums.

Moyenne des indices d'avidité :

Liaison® : 0,441

Platelia® : 0,725

VII Population totale.

- IgG

Liaison® versus AxSYM®

390 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques.

Se L/A = 96,70% (264/273)

Sp L/A = 100% (117/117)

Liaison® versus Vidas®

291 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques (391 sérums – 100 sérums négatifs + 1 sérum lactescent).

Se L/V = 98,87% (262/265)

Sp L/V = 88,46% (23/26)

Platelia® versus AxSYM®

392 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques.

Se P/A = 97,47% (270/277)

Sp P/A = 100% (115/115)

Platelia® versus Vidas®

293 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques (392 sérums – 100 négatifs + 1 lactescent).

Se P/V = 99,26% (268/270)

Sp P/V = 86,96% (20/23)

- IgM

Liaison® versus AxSYM®

390 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques.

Se L/A = 85,80% (139/162)

Sp L/A = 91,67% (209/228)

Liaison® versus Vidas®

211 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques (390 sérums – 100 sérums négatifs

IgM		Platelia®			Liaison®			
		Se (%)	Sp (%)	C (%)	Se (%)	Sp (%)	C (%)	
Axsym®	Sérums négatifs		100			97		
	Toxoplasmoses chroniques		98,75			100		
	Toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM	91,89		83,95	68,92		66,66	
	Toxoplasmoses récentes avec IgA < 2 mois	100			100			
	2 à 6 mois	100			100			
	> 6 mois	100			100			
	Séroconversions	100	90		100	90		
	Réactivations toxoplasmiques			64,28			71,43	
	Population totale	96,34	90,35		85,8	91,67		
	Sérums négatifs	sérums non testés						
	Toxoplasmoses chroniques	sérums non testés						
Vidas®	Toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM	96,05		95,06	70,13		70,37	
	Toxoplasmoses récentes avec IgA < 2 mois	100			100			
	2 à 6 mois	100			100			
	> 6 mois	100			100			
	Séroconversions	100	100		100	100		
	Réactivations toxoplasmiques			92,86			100	
	Population totale	98,32	91,18		87,08	96,97		
	IgG		Platelia®			Liaison®		
			Sensibilité (%)	Spécificité (%)		Sensibilité (%)		Spécificité (%)
	Sérums négatifs		100				100	
	Toxoplasmoses chroniques	100			100			
	Toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM	100			98,76			

sérums de toxoplasmose chronique + 1 sérum lactescent).

Se L/V = 87,08% (155/178)

Sp L/V = 96,97% (32/33)

Platelia® versus AxSYM®

392 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques.

Se P/A = 96,34% (158/164)

Sp P/A = 90,35% (206/228)

Platelia® versus Vidas®

213 sérologies ont été comparées avec ces deux techniques (392 sérums – 100 sérums négatifs – 80 sérums de toxoplasmose chronique + 1 sérum lactescent).

Se P/V = 98,32% (176/179)

Sp P/V = 91,18% (31/34)

Tous les résultats de sensibilité, spécificité et concordance des dosages d'IgG, IgM et détermination de l'avidité par les différentes techniques sont récapitulés dans les tableaux V et VI.

Tableau V : Sensibilité et spécificité du dosage des IgG par les différentes techniques.

Il est à noter que les calculs de sensibilité n'ont pas été réalisés pour les sérums négatifs puisque la sensibilité tient compte des vrais positifs ; de la même façon, la spécificité n'a pas été calculée pour les sérums des populations dont les anticorps sont positifs.

Tous les résultats bruts des dosages des IgG et des IgM, ainsi que l'avidité des IgG sont récapitulés dans des tableaux en annexe (tableaux XIX à XXXII).

DISCUSSION

Sérologies IgG et IgM selon les automates.

Toute sérologie de toxoplasmose fait appel au dosage des IgG et des IgM en première intention. Les différentes techniques ne présentent pas la même sensibilité et spécificité, ni la même cinétique des anticorps titrés. Nous avons donc comparé quatre techniques de dosage des IgG et des IgM anti-toxoplasmiques.

Les différentes méthodes ne présentent pas les mêmes **caractéristiques techniques** et leurs avantages et inconvénients sont différents.

Parmi les quatre techniques testées, trois sont automatisées et une est manuelle.

L'**AxSYM**® est un automate multiparamétrique facile à utiliser et son automatisation permet à l'opérateur d'effectuer d'autres techniques une fois les sérologies programmées et lancées (Evans et Ho-Yen, 2001). Cet automate a l'avantage de demander peu de manipulations des échantillons puisqu'il travaille directement sur tube primaire, cependant il faut vérifier les quantités de réactifs de façon à le recharger de manière adéquate. De plus, tous les calculs des résultats sont réalisés par le logiciel intégré à l'automate et retranscrits automatiquement sur le PGP, interface entre l'automate et le serveur de résultats évitant ainsi les erreurs de retranscription.

Le **Vidas**® bénéficie lui d'une automatisation complète qui le rend très simple d'utilisation. En effet, il permet d'éviter les manipulations techniques habituelles en sérologie, c'est à dire la dilution des échantillons, la préparation des réactifs, les lavages... Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du titrage se trouvent ainsi dans la barrette comportant différents compartiments. Il suffit juste de déposer le sérum dans le réceptacle prévu à cet effet, et d'insérer la barrette dans l'automate. Outre la simplicité d'exécution du test, cette automatisation permet de diminuer les causes d'erreur, en particulier la contamination entre échantillons (Lavarde *et al*, 1993). En cas d'urgence, il est possible de traiter un seul sérum grâce à l'indépendance des compartiments. Le **Vidas**® est bien adapté à la réalisation d'un seul test, plus qu'au passage de grandes séries de sérums (30 maximum par série), bien que cette limite soit largement compensée par la rapidité d'exécution (40 minutes) et l'autonomie de l'appareil. Le résultat est également calculé par l'automate à partir de la RFV.

Le **Liaison**® est lui aussi un automate facile d'emploi qui requiert peu de manipulations de la part de l'opérateur. Effectivement, aucune dilution préalable du sérum n'est nécessaire, et les réactifs utilisés pour le test sont prédistribués dans une intégrale, y compris les calibrateurs. Le calcul des résultats est automatique et géré par le logiciel de l'appareil. La cadence de rendu des dosages est importante et autorise donc le passage de grandes séries d'échantillons.

Le test **Platelia**® est une technique ELISA en microplaque de 96 puits. C'est une technique manuelle qui n'est pas adaptée à l'urgence : elle est réalisée en 2h30 à 3h et nécessite de nombreuses manipulations qui sont source d'erreur : la dilution des sérums, la distribution manuelle des échantillons, réactifs, les lavages... (Wilson *et al*, 1997). De plus, le titrage des IgG et des IgM nécessite la réalisation de deux techniques avec utilisation de deux microplaques différentes, ce qui augmente le temps de manipulation : distribution des échantillons en double, utilisation de conjugués différents, lavages... Ce qui peut encore entraîner des erreurs. Cette technique est toutefois bien adaptée aux grandes séries de sérums : une microplaque permet le titrage de 92

sérums (4 puits étant réservés aux calibrateurs et contrôles). Une automatisation de cette technique est possible, grâce à un diluteur, un distributeur d'échantillons, un laveur de microplaque... Un automate de ce type est commercialisé par Biorad : Evolis® ; il peut être utilisé pour toutes les techniques ELISA en microplaque.

Ces quatre techniques ont donc des caractéristiques différentes d'un point de vue de leur mise en œuvre.

La **nature des antigènes** diffère d'une technique à l'autre et semble avoir une influence sur la **détection de la réponse immunitaire**.

Ainsi, le développement des anticorps varie beaucoup selon les individus (Jenum *et al*, 1998). De nombreux facteurs peuvent influencer la réponse immunitaire : la virulence du parasite (souche), la quantité de parasites dans l'inoculum, la forme infestante du parasite (oocyste, kyste) mais aussi l'antigène utilisé dans le test, le type d'anticorps testé et la sensibilité analytique du test. Ces différentes caractéristiques influencent la détection des anticorps spécifiques (Ho-Yen et Joss, 1992).

La réponse immunitaire précoce, IgM + IgG, est d'abord dirigée contre les antigènes de membrane du parasite, alors que les anticorps reconnaissant les antigènes cytoplasmiques sont formés lors de la maturation de la réponse immune (Decoster *et al*, 1996 ; Pelloux *et al*, 1993 ; Derouin *et al*, 1994). Chaque technique utilise un antigène différent dont la composition précise n'est pas divulguée, mais que le fabricant indique sommairement. Ainsi, l'AxSYM® utilise des antigènes de *Toxoplasma gondii* dont la préparation est optimisée pour préserver l'intégrité des antigènes de surface, le Vidas® utilise un antigène cytoplasmique et membranaire, la technique Platelia® emploie un antigène soluble, un ultrasonat de tachyzoïtes hautement concentré en protéines membranaires et Liaison®, un extrait de *Toxoplasma gondii* inactivé obtenu à partir d'extraits de trophozoïtes. Ces différences de composition d'antigènes sont responsables de réponses différentes des techniques et d'une cinétique propre à chacune.

L'équipe grenobloise a comparé l'AxSYM® avec le Vidas®. Elle a constaté que les résultats de l'AxSYM® en **IgG** sont plus précoces que ceux du Vidas® : les IgG de 5 des 10 dossiers

de séroconversion pendant la grossesse ont été détectées plus tôt par l'AxSYM® que par le Vidas®. Ce qui laisse penser que les antigènes utilisés par l'AxSYM® sont accessibles plus précocement à la réponse immunitaire de l'organisme après une primo-infection par *Toxoplasma gondii* (Goubet *et al*, 1999).

Dans notre étude, sur 14 dossiers de séroconversion, les IgG sont détectées plus précocement par l'AxSYM® dans 9 cas par rapport au Vidas® (Tableau VII).

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG
30/01/03	29	12
23/01/03	14,3	3
3/01/03	0	0

Tableau VII : Exemple de séroconversion (Nau).

Dès le 23/01, les IgG sont détectées par l'AxSYM® alors qu'elles sont encore négatives pour le Vidas®.

L'AxSYM® se positive donc plus rapidement que le Vidas®.

Parmi les 14 cas de séroconversion, l'AxSYM® détecte plus précocement les IgG que le Liaison® dans 7 cas, d'où une sensibilité de 65,22% du Liaison® par rapport à l'AxSYM®.

Dans 13 cas, le Liaison® et le Vidas® présentent des IgG positives à la même date : la séroconversion est diagnostiquée au même moment, sauf dans un cas, où le Liaison® est plus précoce que le Vidas®. La sensibilité du Liaison® par rapport au Vidas® est donc meilleure : 87,5%. Le Liaison® utilise un antigène extrait de *T.gondii* inactivé obtenu à partir d'extraits de trophozoïtes, dont la nature doit être plus proche de celui utilisé par le Vidas® que celui utilisé par l'AxSYM®.

L'étude de Thulliez montre que la sensibilité du Liaison® est plus basse pour les échantillons précoces des infections récentes ou des séroconversions. La détection des IgG est retardée en comparaison avec le Dye-Test et l'agglutination HS. Cependant, ce manque de sensibilité dans les toxoplasmoses récentes n'est pas plus important que pour la majorité des autres kits commercialisés (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002).

Sur 14 séroconversions, 6 sont détectées plus précocement par l'AxSYM® qu'avec le test Platelia®, soit une sensibilité de 76% de Platelia® par rapport à l'AxSYM®. Deux séroconversions sont dépistées plus tôt avec la technique Platelia® qu'avec le Vidas®. La sensibilité de Platelia® par rapport au Vidas® est meilleure : 94,44%. L'antigène de Platelia® est décrit comme étant un antigène soluble concentré en protéines membranaires. La technique Platelia® semble donc utiliser

un antigène dont les caractéristiques sont plus proches de celui utilisé par le Vidas®. D'après Bessières, Platelia® IgG se positive plus précocement que le Vidas® (Bessières *et al*, données non publiées, 2004).

Ainsi, en utilisant les quatre techniques, les IgG de 9 séroconversions sur 14 sont détectées plus précocement par l'AxSYM® qu'avec les trois autres techniques (Tableau VIII).

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG
17/04/03	28	9	6,5	33,57
31/03/03	7,4	1	< 3	5,14
14/03/03	0,2	0	< 3	0,79

Tableau VIII : Exemple de séroconversion dont les IgG sont détectées plus tôt par l'AxSYM® que par les autres techniques (Mig).

Nous avons également noté qu'une augmentation du titre des IgG sur l'AxSYM® dans les valeurs basses, encore inférieures au seuil de positivité, est à prendre en compte et doit alerter le biologiste, de même qu'un titre douteux (compris entre 2 et 3 UI/ml). L'AxSYM® est en effet une des techniques qui présente un des seuils de positivité les plus bas actuellement, proche du Dye-Test (Goubet *et al*, 1999). Ce qui lui confère une grande sensibilité. Il faut alors demander un prélèvement de contrôle deux à trois semaines après (Cimon *et al*, 1998). Les sérums de patients non immunisés présentent tous des valeurs très faibles en IgG sur l'AxSYM® : moyenne des titres d'IgG sur l'AxSYM® des sérums négatifs = 0,036. Ainsi, des titres douteux en IgG paraissent suspects. Il semble donc important de ne pas rendre un résultat inférieur au seuil mais bien une valeur chiffrée. Effectivement un titre d'IgG à 0,2 est différent d'un titre à 2,8 au niveau de l'interprétation des résultats. De plus, les valeurs chiffrées même inférieures au seuil permettent dans certains cas d'appréhender une ascension des IgG entre 2 prélèvements successifs, ce qui n'est pas le cas si les deux résultats négatifs sont rendus inférieurs à 3.

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG
12/05/03	6,5	4	4,2	5,83
25/04/03	2,2	1	< 3	2,07
11/04/03	0,4	0	< 3	0,39

Tableau IX : Exemple de séroconversion montrant une ascension des IgG dans les valeurs basses (Bra).

Nous pouvons constater que le Vidas® et Platelia® montrent également une ascension des IgG dans les valeurs négatives (Tableau IX). Cette augmentation apparaît moins nettement avec le Liaison®. Rendre une valeur chiffrée apparaît donc primordial quelle que soit la technique utilisée.

Ainsi, la précocité d'apparition des IgG détectées par l'AxSYM® par rapport aux autres méthodes est intéressante pour la prise en charge rapide de la femme enceinte.

En ce qui concerne les **IgM**, les quatre techniques détectent ces anticorps au même moment. Une technique ne semble pas être plus précoce que l'autre. D'une manière générale, les dosages d'IgM semblent moins hétérogènes que les dosages d'IgG quant à leur détection dans les séroconversions. Nous avons comparé les résultats d'IgM du Liaison® et de Platelia® avec les deux techniques qui nous ont servi de référence pour sélectionner nos sérums ; nous obtenons dans tous les cas 100% de sensibilité.

Dans l'étude de Thulliez, dans le groupe des séroconversions, une excellente corrélation a été observée entre le Liaison® IgM et l'ISAGA, incluant les premiers sérums encore négatifs en IgG avec Liaison® (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002). Nous constatons le même phénomène dans notre étude.

L'AxSYM® détecte donc plus précocement les IgG que les autres techniques. Cette précocité due à la différence de nature des antigènes utilisés dans les techniques entraîne un décalage dans **l'évolution des anticorps au cours du temps**.

Nous avons constaté que les titres d'IgG sur l'AxSYM® dans les séroconversions ou les toxoplasmoses récentes (< 6 mois) sont plus élevés que sur le Vidas® (Tableau X).

		AxSYM® IgG	Vidas® IgG
Gok	13/11/02	151,3	69
Nau	30/01/03	29	12
Mas	18/02/03	66,5	38
Fer	14/03/03	62,3	35
Eme	14/05/03	119,3	67
Sou	22/03/03	441,3	221
Ped	30/04/03	219,2	107
Cha	5/04/03	103,1	46
Akt	15/05/03	132,4	46

Tableau X : Exemples de séroconversions et toxoplasmoses récentes : le titre des IgG sur l'AxSYM® est plus élevé que sur le Vidas®.

D'après l'étude des sérologies, nous pouvons estimer qu'il existe un décalage d'une quinzaine de jours entre la détection des IgG par l'AxSYM® et le Vidas®.

Par ailleurs, les toxoplasmoses chroniques présentent des sérologies particulières si nous comparons les résultats obtenus pour les IgG par l'AxSYM® et le Vidas®. En effet, tous les titres d'IgG sont supérieurs sur le Vidas®. Il en est de même pour les toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM. Nous constatons le même phénomène pour le Liaison® et Platelia® : leurs titres d'IgG sont tous plus élevés avec ces deux techniques qu'avec l'AxSYM® (Tableau XI).

		AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG
Vin	1/05/03	21,3	62	134	141,58
Rou	25/04/03	39,1	128	> 500	231,58
Per	15/04/03	5,4	28	23,8	60,79
Gui	11/04/03	8,6	16	22,4	35,89
Alb	6/02/03	98,8	> 300	> 500	> 240
Lau	13/05/03	50,2	236	> 500	> 240
Mau	17/04/03	36,9	160	474	> 240
Gal	18/02/03	29,1	120	213	175,4
Bel	31/12/02	36,6	183	301	> 240

Tableau XI : Exemples de toxoplasmoses chroniques avec ou sans IgM, et une toxoplasmosse de plus de 6 mois (Alb) : le titre des IgG est plus faible sur l'AxSYM® qu'avec les autres techniques.

Ainsi, le décalage de deux à trois semaines constaté dans l'apparition des IgG détectées par l'AxSYM® par rapport au Vidas®, se retrouve dans l'évolution de la cinétique. C'est à dire que la diminution du titre des IgG après leur maximum débute plus tôt avec

l'AxSYM® que le Vidas® (Figure 11).

Figure 11 : Evolution des IgG au cours d'une toxoplasmose aiguë (Erg).

Nous remarquons que les IgG détectées par l'AxSYM® ont une pente de décroissance importante après leur pic tandis que celles détectées par les autres techniques évoluent plutôt en plateau ou amorcent une décroissance lente.

Un titre d'IgG plus élevé sur le Vidas® que sur l'AxSYM® permet a priori de définir la toxoplasmose comme étant chronique, ancienne.

Par contre, lorsque les titres en IgG sont à peu près équivalents sur l'AxSYM® et le Vidas®, il est difficile de conclure. Il est alors indispensable de déterminer l'avidité des IgG afin de savoir s'il s'agit d'une toxoplasmose récente ou ancienne.

Ainsi, la différence de cinétique des IgG entre l'AxSYM® et le Vidas® est un outil contributif pour le diagnostic. Il s'agit d'une aide à la datation de la séroconversion ou à la détermination du statut immunitaire du sujet.

La réponse immunitaire humorale à une primo-infection est habituellement caractérisée par une phase d'ascension des anticorps suivie d'une phase en plateau puis d'une phase de décroissance. Ces différentes phases n'ont pas la même durée selon les techniques. Aussi, le délai qui sépare le début de l'infection du pic des anticorps est variable d'une technique à l'autre : il serait de 4 à 36 semaines pour Platelia® IgG, 2 à 18 semaines pour Platelia® IgM et 1 à 6 semaines pour l'ISAGA (Jenum *et al*, 1998).

Pour tous les tests, l'augmentation des anticorps dans la phase aiguë est plus forte pendant les 4 à 8 premières semaines mais le pic est atteint plus vite pour les IgM que pour les IgG (Jenum *et al*, 1998).

Dans notre étude, nous constatons effectivement que l'ascension des IgG et des IgM est plus

importante dans les premières semaines de l'infection (Figures 12 et 13).

Figures 12 et 13 : Evolution des IgG au cours de deux séroconversions (Fer et LeP).

En outre, tous les dossiers de séroconversion pour lesquels nous disposons d'un recul suffisant, présentent des profils sérologiques où le pic des IgM est atteint plus tôt que le pic des IgG (Tableau XII).

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG	AxSYM® IgM	Vidas® IgM	Liaison® IgM	Platelia® IgM
19/03/03	216,7	125	110	147,96	2,471	1,81	17,2	6,02
29/10/02	660,2	294	339	231,16	2,99	2,72	33,1	9,94
14/09/02	115,6	70	96	174,42	4,26	3,21	77,3	12,16

Tableau XII : Exemple de toxoplasmose de moins de deux mois (Gir) : le pic des IgM est atteint plus tôt que celui des IgG.

Dans certains cas, plusieurs mois peuvent s'écouler avant que le pic des IgG ne soit atteint (Jenum *et al*, 1998 ; Roberts *et al*, 2001).

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG
18/05/03	83,1	80	194	127,4
20/01/03	28	8	7,1	20,63
9/01/03	2,5	0	< 3	1,41

Tableau XIII : Exemple de séroconversion présentant une ascension lente des IgG (Mét).

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG
15/04/03	551,4	> 300	> 500	> 240
23/10/02	82,7	32	41,7	118,61

Tableau XIV : Exemple de toxoplasmose de moins de deux mois présentant une ascension lente des IgG (Mar).

Les IgG poursuivent leur ascension pendant plusieurs mois (Tableaux XIII et XIV). Ce qui signifie qu'une augmentation du titre des IgG peut être détectée sur deux échantillons successifs prélevés quelques semaines ou mois après la séroconversion dans certains cas (Jenum *et al*, 1998).

Normalement les IgM se développent très tôt, en moins d'une à deux semaines après la contamination et l'augmentation des indices est habituellement maximale en moins de 4 à 8 semaines ; mais un indice élevé d'IgM peut persister quelques semaines voire quelques mois. Les IgM peuvent en effet persister et rester détectables pendant une longue période après le début de l'infection (Luyasu *et al*, 1995). La présence d'IgM résiduelles dans les phases chroniques de l'infection n'est pas rare (Candolfi *et al*, 1994 ; Bobic *et al*, 1991). Il est alors important de noter que la présence d'IgM ne signe pas une infection récente (Jenum *et al*, 1998).

Dans notre étude, la population des toxoplasmoses chroniques avec IgM résiduelles est constituée de 81 sérums provenant de 81 patients. Ces toxoplasmoses sont estimées anciennes de plus de 6 – 7 mois d'après les titres d'IgG obtenus avec l'AxSYM® et le Vidas®. Ces 81 sérums sont tous trouvés positifs en IgM par la technique ISAGA, qui, par un excès de sensibilité, révèle des IgM résiduelles plusieurs mois voire quelques années après la séroconversion (Lavarde *et al*, 1993). Les quatre techniques utilisées pour la recherche d'IgM ne retrouvent pas 100% d'IgM positives : 74 positifs dont 10 douteux avec l'AxSYM®, 77 positifs dont 5 douteux avec le Vidas®, 55 positifs dont 14 douteux avec le Liaison® et 75 positifs dont 1 douteux avec la technique Platelia®. Des IgM « persistantes » ne sont pas détectées par toutes les techniques de la même façon : sensibilité du Liaison® de 68,92% et 70,13% avec l'AxSYM® et le Vidas® respectivement, et sensibilité de Platelia® de 91,89% et 96,05% avec l'AxSYM® et le Vidas® respectivement. Le fait que le Liaison® ne détecte pas d'IgM résiduelles aussi souvent que l'AxSYM®, le Vidas® ou l'ISAGA, apparaît plutôt comme un avantage car une sérologie avec présence d'IgG et absence d'IgM est plus aisée à interpréter. Les discordances observées doivent être dues aux différences de préparation des antigènes utilisés par les différentes méthodes (Candolfi *et al*, 1994).

Ainsi, les différentes techniques dosent des IgG et des IgM qui présentent des cinétiques d'évolution différente, en partie du fait de la différence de nature des antigènes utilisés. L'étude de nombreux sérums connus permet d'apprécier cette évolution des anticorps dans le temps. Ces différences de cinétique permettent alors un diagnostic plus facile par la combinaison de différentes techniques de cinétique différente.

Cependant, la **comparaison des différentes techniques** est parfois difficile en raison de l'**hétérogénéité des seuils de positivité** (AxSYM® IgG : 3, Vidas® IgG : 6, Liaison® IgG : 8, Platelia® IgG : 9) et ceci d'autant plus que les UI/ml dépendent aussi de la nature de l'antigène utilisé.

L'**expression des résultats en UI** (Unité Internationale) crée une ambiguïté car elle suggère une standardisation des valeurs observées. Or des titres identiques ne peuvent être obtenus avec des réactifs utilisant des antigènes différents (Cimon *et al*, 1998). L'OMS propose une standardisation des résultats basée sur la conversion du titre (exprimé en dilution pour chaque technique sérologique) en UI. Ce système d'UI a été mis au point à partir de tests de lyse et d'IFI impliquant avant tout des antigènes membranaires (Derouin *et al*, 1994). Par extension, il a été appliqué à d'autres réactions immunologiques utilisant des antigènes différents, mais la correspondance des titrages obtenus avec les différentes méthodes n'est pas toujours respectée, probablement en raison des différences entre les antigènes impliqués dans ces réactions (Wilson *et al*, 1997). Ces discordances sont particulièrement observées avec les réactions immunoenzymatiques de type ELISA qui emploient surtout des antigènes solubles d'origine cytoplasmique (contrairement au Dye-Test et à l'IFI qui utilisent des toxoplasmes entiers, donc des antigènes membranaires).

Ainsi, pour un même sérum, quelque soit le profil sérologique du patient, nous obtenons des titres en UI très différents les uns des autres (Tableau XV).

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG
Toxoplasmose chronique (Rob)	10	56	121	70,53

Toxoplasmose chronique IgM+ (Gal)	29,1	120	213	175,4
Toxoplasmose Récente (Eme)	119,3	67	61,3	123,63
Séroconversion (Nau)	29	12	9,5	38,03

Tableau XV : Différences de titres des IgG pour différents profils de toxoplasmose.

L'AxSYM® utilise un antigène qui permet une détection plus précoce des IgG. Ce qui peut expliquer la différence observée entre les titres obtenus sur l'AxSYM® et ceux obtenus avec les autres techniques : Vidas®, Liaison® et Platelia®. Toutefois, ces trois techniques utilisent chacune un antigène dont les caractéristiques sont assez proches ; la cinétique d'apparition et d'évolution des anticorps semble assez comparable. Et pourtant les titres d'IgG sont assez hétérogènes en terme d'UI. Malgré certaines similitudes, les antigènes peuvent être très différents, cytoplasmiques, somatiques ou métaboliques, avec présence ou non d'antigènes membranaires ; cela entraîne parfois des discordances importantes (Wilson *et al*, 1997 ; Petithory *et al*, 1996).

Pour éviter toute erreur d'interprétation, il est indispensable de mentionner très clairement le seuil de positivité dans l'expression des résultats (ou d'adopter un seuil de positivité commun à toutes les trousse ELISA (Derouin *et al*, 1994)). En effet, le fait de ne pas préciser le seuil de positivité de chaque technique utilisée est source d'erreur (Tableau XVI).

	AxSYM® IgG	Vidas® IgG	Liaison® IgG	Platelia® IgG
25/01/03	3,5	1	< 3	4,08

Tableau XVI : Exemple de séroconversion (LeF).

Le titre d'IgG de 3,5 UI/ml obtenu avec l'AxSYM® est positif, le seuil de positivité étant fixé à 3 UI/ml avec une zone grise de 2 à 3 UI/ml. Tandis que 4,08 UI/ml pour Platelia IgG représente un résultat négatif puisque le seuil de positivité pour cette technique est à 9 UI/ml avec une zone grise comprise entre 6 et 9 UI/ml. L'AxSYM® ayant un seuil de positivité un des plus bas actuellement, un titre faible en IgG (ex : 3,5 UI/ml) peut être considéré à tort comme négatif, et inversement un titre de 5 UI/ml par les autres techniques être considéré comme positif. Ainsi, ces titres d'IgG ne sont pas directement comparables. Nous observons la même chose avec le Liaison® pour lequel le seuil de positivité est fixé à 8 UI/ml avec une zone grise entre 6 et 8 UI/ml comme pour le Vidas®. Ces différences de titres en UI constituent donc une source d'erreur importante dans l'interprétation de la sérologie. Sans seuil de positivité, un titre en UI ne signifie pas grand chose.

Toutefois, cette hétérogénéité des résultats en UI pour les IgG est utilisée pour l'interprétation des résultats si les cinétiques des anticorps sont bien connues. Effectivement, de par la différence de nature des antigènes utilisés, les résultats en UI sont différents et permettent de préciser si l'infection est plutôt ancienne ou récente. C'est le cas pour la combinaison AxSYM®/Vidas® qui présentent deux cinétiques différentes. D'après notre étude, le Liaison® et la technique Platelia® semblent avoir une cinétique d'évolution et d'apparition des IgG assez proche de celle du Vidas®. Donc ces deux techniques s'associeraient bien avec l'AxSYM®. En outre, si toutes les techniques présentaient la même cinétique, il n'y aurait pas d'intérêt à réaliser le dosage par différentes méthodes car les résultats apporteraient la même information.

D'après notre étude, le Liaison® et Platelia® sont deux techniques qui se comportent plutôt comme le Vidas®, ce qui est également montré par les **performances analytiques et statistiques des tests**.

En prenant en compte la population totale, c'est à dire tous profils sérologiques confondus, et en considérant l'AxSYM® et le Vidas® successivement comme technique de référence, Liaison® détecte les IgG avec une sensibilité de 96,70% et 98,87% respectivement. De la même façon pour les IgM, nous obtenons une sensibilité de 85,80% par rapport à l'AxSYM® et 87,08% par rapport au Vidas®. La sensibilité du Liaison® pour les IgM un peu basse semble être liée à la présence moins fréquente d'IgM persistantes avec le Liaison® qu'avec les autres techniques.

En terme de spécificité, nous notons peu de faux-positifs en IgG. Par conséquent, cela entraîne peu de redosage par une autre technique (Wilson *et al*, 1997). Le Liaison® ne montre pas de faux-positif en IgG par rapport à l'AxSYM® et seulement 3 sur 26 sérums négatifs en IgG par

rapport au Vidas®. Ce qui donne une spécificité de 100% et 88,46% respectivement.

Pour les IgM, nous retrouvons quelques faux-positifs : 19 sur 228 sérums négatifs en IgM entre Liaison® et AxSYM® et 1 sur 33 entre Liaison® et Vidas® ; ce qui correspond à une spécificité de 91,67% et 96,97% respectivement.

L'étude de Thulliez rapporte une spécificité de 100% pour le dosage des IgG avec le Liaison® par rapport au Dye-Test et à l'agglutination HS, et une spécificité de 95,8% pour le dosage des IgM avec le Liaison® comparativement à l'ISAGA (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002).

La technique Platelia® détecte les IgG avec une sensibilité globale de 97,47% et 99,26% par rapport à l'AxSYM® et au Vidas® respectivement. Pour les IgM, la sensibilité de cette technique est de 96,34% par rapport à l'AxSYM® et 90,35% par rapport au Vidas®.

Le dosage des IgG montre une spécificité de 100% et 86,96% par rapport à l'AxSYM® et au Vidas® respectivement. Pour les IgM, la spécificité est de 90,35% et 91,18% par rapport à l'AxSYM® et au Vidas® respectivement. Globalement, nous constatons donc peu de faux-positifs avec cette technique par rapport aux techniques prises en référence : pour les IgG, aucun faux-positif entre Platelia® et AxSYM® et 3 faux-positifs sur 23 sérums négatifs par rapport au Vidas® ; pour les IgM, 22 faux-positifs sur 228 sérums négatifs avec l'AxSYM® et 3 sur 34 sérums négatifs avec le Vidas®.

Les techniques Liaison® et Platelia® ne montrent pas de faux-positifs en IgG par rapport à l'AxSYM® ; en effet, celui-ci détecte plus précocement les IgG que les autres techniques. Cette absence de faux-positifs reflète la précocité de la détection des IgG par l'AxSYM® dans les séroconversions, les IgG titrées par Liaison® et Platelia® se positivent plus tardivement. De la même façon, l'étude de Thulliez ne montre pas de faux-positifs de la part du Liaison® pour le dosage des IgG par rapport au Dye-Test qui détecte très précocement les IgG grâce à l'utilisation de toxoplasmes entiers donc d'antigènes membranaires. La différence entre le nombre de faux-positifs obtenus avec Liaison® et Platelia® avec l'AxSYM® ou avec le Vidas® est expliquée par le fait que Liaison® et Platelia® détectent parfois les IgG plus tôt que le Vidas® qui est choisi comme référence dans notre étude. Effectivement, cette spécificité globale des IgG moins bonne par rapport au Vidas® est liée exclusivement aux populations des séroconversions et des toxoplasmoses récentes, c'est à dire à la précocité de détection des IgG.

Ainsi, l'AxSYM® apparaît très intéressant du fait de sa précocité de détection des IgG, qui constitue un apport essentiel dans la prise en charge rapide d'une séroconversion. Les trois autres

techniques présentent des cinétiques assez proches par l'utilisation d'antigènes dont les caractéristiques doivent être relativement semblables, mais cette cinétique est retardée par rapport à celle de l'AxSYM®. Le fait d'être automatisées constitue un avantage certain pour trois de ces techniques en évitant un trop grand nombre de manipulations des sérums et réactifs, cependant la technique manuelle peut être adaptée sur un automate. Le Vidas® présente l'avantage d'être très pratique à utiliser pour le coup par coup. Cependant, malgré ces disparités entre les différentes techniques, chacune donne la même interprétation globale de la sérologie, plus ou moins précocement. Nous avons constaté par l'étude de ces sérums que l'habitude prise avec une technique du point de vue de l'interprétation, de la bonne connaissance de la cinétique... est difficile à modifier. Ainsi, le fait de travailler avec une autre technique est un peu perturbant au début du fait de la différence des seuils de positivité et donc de la moins bonne maîtrise des résultats. Mais il est important de disposer de la combinaison de deux techniques dont les anticorps évoluent selon une cinétique différente.

De nombreuses sérologies sont difficiles à interpréter avec les seules IgG et IgM, la détermination de l'avidité des IgG prend alors toute son importance. En effet, les profils sérologiques présentant des IgG et des IgM positives posent des problèmes d'interprétation. Il est souvent difficile de conclure et de préciser la date de contamination. Or lorsque cette situation survient dans le cadre d'une première sérologie au cours d'une grossesse, il est capital de pouvoir dater précisément l'infection étant donnés les risques encourus par le fœtus, si la contamination maternelle est pergravidique. La réalisation du titrage des IgG et des IgM par différentes techniques à cinétique différente contribue à la datation de la contamination. Le dosage des IgA apporte une information supplémentaire puisqu'elles augmentent habituellement précocement et disparaissent en moins de six mois. Cependant, la combinaison de ces différents dosages ne permet pas toujours d'aboutir à une conclusion précise. L'avidité des IgG prend alors toute son importance et apparaît comme un outil intéressant dans ces cas-là.

Avidité des IgG.

La force de l'interaction entre un anticorps et un antigène monovalent ou haptène est l'affinité de l'anticorps. L'interaction a habituellement lieu entre un échantillon de sérum contenant des anticorps et un antigène multivalent : c'est l'intensité de la force de cette liaison qui correspond à l'avidité (Robert-Gangneux *et al*, 1998 ; Joynson *et al*, 1990).

L'avidité des IgG augmente au cours de la maturation de la réponse immunitaire humorale pour atteindre une valeur stable (Robert-Gangneux *et al*, 1998).

La détermination de l'avidité des IgG repose sur l'utilisation d'agents perturbant les liaisons hydrogène des complexes antigène-anticorps. Utilisés à une concentration adaptée, ces agents dissociants auront peu d'effet sur les anticorps de forte avidité mais beaucoup sur la liaison avec l'antigène des anticorps de faible avidité. La comparaison des résultats obtenus avec et sans traitement par agent dissociant permet une mesure de l'avidité.

La détermination de l'avidité des IgG spécifiques a d'abord été utilisée dans le diagnostic de cas de rubéole et d'hépatite C (Morgan-Capner *et al*, 1988). D'après les études réalisées sur la rubéole, elle autorise la distinction entre une rubéole asymptomatique et une réinfection. Ce qui prend toute son importance chez la femme enceinte (Joynson *et al*, 1990). Ainsi la détermination de l'avidité des IgG constitue un outil sensible et hautement spécifique du sérodiagnostic de pathologies infectieuses variées (Hedman *et al*, 1993). L'indice d'avidité peut donc être utilisé pour une estimation du début de l'infection et donc permettre de distinguer une infection primaire d'une réactivation. Après avoir introduit cette technique de détermination de l'avidité des IgG anti-rubéole, Hedman envisage un test basé sur le même principe appliqué au sérodiagnostic de la toxoplasmose. La maturation de l'avidité a ainsi été démontrée chez des patients infectés par le toxoplasme (Hedman *et al*, 1993 ; Joynson *et al*, 1990).

Dans certains cas, les seuls dosages des IgG et des IgM ne suffisent pas car ne permettent pas de préciser si l'infection toxoplasmique est récente ou ancienne. Dans le cas d'une femme enceinte, cette distinction est capitale. En effet, il faut savoir si l'infection a été contractée avant ou après la conception, du fait des conséquences pour le fœtus. L'interprétation des sérologies avec présence d'IgG et d'IgM peut alors être prise en défaut. La détermination précise de la date de la séroconversion est souvent difficile à cause de la persistance d'IgM et du titre élevé des IgG (Pelloux *et al*, 1998). Des IgM résiduelles peuvent ainsi être détectées pendant des mois voire des années après le début de l'infection (Hedman *et al*, 1993 ; Lappalainen *et al*, 1993).

Ainsi, comme l'ont montré plusieurs études, la détermination de l'avidité des IgG permet de distinguer une infection ancienne d'une infection récente (Hedman *et al*, 1993 ; Lecolier et Pucheu,

1993 ; Joynson *et al*, 1990 ; Lappalainen *et al*, 1993 ; Holliman *et al*, 1994 ; Sensini *et al*, 1996).

Différents auteurs ont décrit des méthodes de mesure de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques.

Hedman le premier adapte le test de mesure de l'avidité des IgG anti-rubéole à la toxoplasmose (Hedman *et al*, 1989). Sa technique ELISA nécessite l'établissement de deux courbes de titration après avoir testé six dilutions du sérum : une des deux courbes correspond au lavage sans agent dissociant et l'autre au lavage avec l'urée 6M.

Joynson utilise une méthode ELISA voisine de celle décrite par Hedman (Joynson *et al*, 1990). Elle diffère essentiellement par l'antigène utilisé et le choix de la dilution du sérum pour la mesure de l'indice d'avidité.

Holliman adapte un test ELISA commercialisé pour le dosage des IgG (Enzygnost IgG, Hoechst-Behring) à la détermination de l'avidité des IgG (Holliman *et al*, 1994). Différentes concentrations d'agents dissociants divers sont testées pour l'élution des IgG : urée 2M, 4M, 6M et 8M, diéthylamine 0,035M. La séparation la plus discriminante des indices d'avidité entre une infection ancienne et une infection récente est trouvée pour une concentration d'urée de 6M. L'indice d'avidité est calculé par le rapport des absorbances du sérum traité à l'urée et non traité.

Lecolier et Pucheu comparent deux variantes techniques utilisables pour mesurer l'avidité par un test ELISA : la technique par dilution et la technique par élution (Lecolier et Pucheu, 1994). Ces deux variantes diffèrent par l'étape au cours de laquelle est introduit l'agent dissociant. Celui-ci peut agir lors de l'étape d'incubation du sérum avec l'antigène si l'agent dissociant est ajouté au diluant du sérum, dans ce cas il prévient la liaison antigène-anticorps : c'est la technique par dilution. Il peut également être utilisé lors des lavages suivant l'incubation si l'agent dissociant est ajouté à la solution de lavage. Cette seconde méthode dissocie les liaisons antigène-anticorps de faible avidité et est appelée technique par élution. Les techniques varient également par la nature et la concentration de l'agent dissociant utilisé (urée, guanidine, thiocyanate, sodium dodécyl sulfate) et par le mode de calcul de l'avidité : détermination de la concentration d'agent dissociant réduisant la liaison antigène-anticorps dans une proportion arbitrairement choisie, ou comparaison des densités

optiques (DO) obtenues avec et sans agent dissociant à une dilution fixe du sérum ou établissement de deux courbes de titration du sérum, avec et sans agent dissociant, l'avidité est alors mesurée par le rapport des titres correspondant à une DO donnée.

Lecolier et Pucheu ont évalué une quatrième approche, intermédiaire entre les deux dernières : mesurer le rapport des DO à une dilution adaptée au titre du sérum testé pour réduire les manipulations et économiser l'antigène (Lecolier et Pucheu, 1994). Pour cela, ils ont adapté la trousse Platelia® Toxo IgG à la mesure de l'avidité des IgG. Il s'agit d'une technique ELISA en microplaque et par élution, dont la première étape consiste à déterminer la dilution limite pour chaque sérum. La dilution limite est celle correspondant à la DO seuil. Un titrage dans les conditions normales d'utilisation de la trousse permet, grâce à la linéarité de celle-ci, de prévoir la dilution limite avec une précision acceptable (DO comprise entre 0,200 et 0,400). La deuxième étape consiste à tester chaque dilution limite d'un sérum en double, avec et sans élution par une solution de lavage contenant de l'urée 6M. La mesure de l'avidité est calculée pour chaque sérum par le rapport des DO obtenues avec et sans élution. L'avidité est exprimée par un pourcentage d'avidité (rapport des DO \times 100). Cette technique consomme entre 4 et 6 puits de microplaque, titrage des IgG compris (2 puits pour le titrage, 2 à 4 pour la mesure de l'avidité).

Aujourd'hui encore, c'est le protocole de Lecolier qui est utilisé par la technique ELISA Platelia® pour la détermination de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques. Ce protocole a un peu évolué et est plus ou moins modifié. Ainsi, Lecolier prévoyait la détermination de la dilution limite, c'est à dire dont la DO était comprise entre 0,200 et 0,400 (Hoogstoël *et al*, 2000). Ce qui en pratique, malgré la linéarité de la trousse Platelia®, n'était pas toujours aisé et nécessitait parfois de nombreux essais avant de trouver la dilution adéquate. L'équipe parisienne de la Pitié-Salpêtrière (Paris, Touafek) préconisait alors de réaliser systématiquement cinq dilutions (1/505, 1/1010, 1/2020, 1/5050 et 1/10100) parmi lesquelles se trouvait statistiquement la dilution limite, et évitait ainsi la réalisation itérative de la technique, ces dilutions multiples consommaient 10 puits par sérum. Depuis, ils ont montré qu'une seule dilution bien ciblée permettait d'obtenir une DO comprise entre 0,200 et 0,400. Ainsi, un sérum dont le titre d'IgG est compris entre 15 UI/ml et 240 UI/ml doit être dilué au 1/1010 et un sérum dont le titre d'IgG est supérieur à 240 UI/ml doit être dilué au 1/5050 (Paris et Touafek, données non publiées, 2004). Cette optimisation réduit considérablement le nombre de puits utilisés et donc la quantité d'antigène pour la mesure de l'avidité. Parfois, la DO est inférieure à 0,200 malgré la réalisation de la dilution recommandée. Le test est alors ininterprétable et il convient alors d'effectuer une dilution supplémentaire. Le protocole de Lecolier indiquait également la nécessité de réaliser trois lavages de cinq minutes à l'urée 6M afin d'obtenir une bonne rupture des liaisons hydrogène des complexes antigène-anticorps de faible avidité. L'équipe parisienne a montré qu'un lavage de quinze minutes à l'urée

6M n'entraînait pas de modifications dans les résultats obtenus. Ce lavage unique constitue un gain de temps et évite les manipulations inutiles.

Les recherches entreprises sur la détermination de l'indice d'avidité ont contribué à l'amélioration de la technique Platelia® de Biorad pour la mesure de l'indice d'avidité et abouti à la commercialisation d'un kit Platelia® Toxo Complementary Reagent, qui utilise une seule dilution adaptée au titre des IgG du sérum et un lavage unique de quinze minutes à l'urée 6M.

Pour notre étude, nous avons utilisé ce kit en cours d'élaboration, régi par le protocole simplifié de Lecolier : c'est à dire une seule dilution adaptée au titre des IgG mais toujours trois lavages successifs de cinq minutes à l'urée 6M. L'indice d'avidité est exprimé par le rapport des DO du sérum traité et non traité à l'urée. Il est à noter que cette technique est manuelle et assez longue à réaliser. Toutefois, elle peut partiellement être automatisée.

DiaSorin commercialise un kit pour la détermination de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques utilisé sur l'automate Liaison®. Le sérum est utilisé pur pour les titres d'IgG compris entre 8 et 500UI/ml et est à pré-diluer au 1/20 à 1/50 pour les titres d'IgG supérieurs à 500 UI/ml. L'agent dissociant utilisé est l'urée 6M. L'indice d'avidité est exprimé par le rapport nombre de RLU du sérum traité sur nombre de RLU du sérum non traité. Cet automate permet la réalisation de ce test de manière complètement autonome, toutes les étapes étant effectuées par l'appareil lui-même.

L'adaptation du Vidas® commercialisé par BioMérieux de la mesure de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques a été mise au point par l'équipe grenobloise de Pelloux (Pelloux *et al*, 1998).

La première étape de ce travail a été de choisir l'agent dissociant et sa concentration et de déterminer la dilution à laquelle le sérum devait être testé. Le meilleur agent dissociant est l'urée, comparativement au sodium dodécyl sulfate, à la guanidine et à la diéthylamine. Sa concentration retenue est 6M par rapport à 4M, 5M et 8M. La stabilité de ce réactif dissociant a été testée de 8 à 21 jours à des températures de 2 à 8°C et 35 à 39°C, aucune modification des résultats n'a été observée.

Pour la détermination de l'avidité, le sérum doit être dilué selon le titre des IgG, de façon à obtenir une concentration approximative de 15 UI/ml, ce qui correspond à une RFV égale à 1000, le meilleur niveau pour évaluer l'indice d'avidité. L'indice d'avidité est calculé par le rapport RFV du sérum traité sur RFV du sérum non traité à l'urée. Le Vidas® présente

l'avantage d'être entièrement automatisé et donc requiert peu de manipulations de la part de l'opérateur. Le résultat est obtenu en quarante minutes tandis qu'une technique ELISA ne donne le résultat qu'en trois heures.

L'avidité des IgG augmente au cours de la maturation de la réponse immunitaire humorale pour atteindre une valeur stable ; et l'évolution de cette avidité est lente (Robert-Gangneux *et al*, 1998). Elle augmente en effet pendant trois mois après le début de l'infection avant d'atteindre un plateau (Holliman *et al*, 1994).

Biorad indique qu'un indice d'avidité calculé avec la technique Platelia® supérieur à 0,50 permet d'exclure une toxoplasmose de moins de vingt semaines (Lecolier et Pucheu, 1994). Il existe pour cette technique une zone grise entre 0,40 et 0,50.

La technique Liaison® permet d'exclure une toxoplasmose de moins de quatre mois si l'indice d'avidité est supérieur à 0,25. Il existe une zone grise entre 0,20 et 0,25.

Dans ses premières recommandations, BioMérieux indique qu'un indice d'avidité déterminé sur le Vidas® supérieur à 0,300 correspond à une toxoplasmose de plus de quatre mois, et qu'un indice d'avidité inférieur à 0,300 correspond à une toxoplasmose de moins de quatre mois avec une zone grise entre 0,200 et 0,300. Mais, d'après Eloy, un indice d'avidité inférieur à 0,300 peut correspondre à une infection récente ou plus ancienne et l'auteur estime qu'on ne peut pas conclure définitivement (Eloy *et al*, 2000). Par contre, un indice d'avidité supérieur à 0,300 permet d'exclure une séroconversion récente de moins de quatre mois.

Plusieurs études ont ainsi montré qu'un indice d'avidité élevé sur le Vidas®, supérieur à 0,300 permet d'exclure une toxoplasmose de moins de quatre mois (Alvarado-Esquivel *et al*, 2002 ; Pelloux *et al*, 1998).

Notre étude a également montré qu'en général une infection ancienne présentait des IgG de haute avidité et qu'une infection récente présentait des IgG de basse avidité.

Dans notre étude, **les toxoplasmoses anciennes** ont montré une avidité élevée des IgG dans 97,5% des cas avec Platelia® et dans 95% des cas avec Liaison®. La concordance entre les deux techniques est de 92,5%. La moyenne des indices d'avidité est égale à 0,634 avec des extrêmes à 0,500 et 0,849 pour Platelia® et 0,474 avec des extrêmes à 0,286 et 0,715 pour Liaison®.

L'étude de Robert-Gangneux rapporte une moyenne des indices d'avidité comparable pour une population de 16 toxoplasmoses anciennes (de plus de 10 mois), égale à 0,684 avec la technique Platelia® (Robert-Gangneux *et al*, 1998). Elle observe également que la montée de l'indice au-delà du seuil de 0,500 est lente et nécessite plus de dix mois.

De même, l'étude de Lecolier et Pucheu montre une moyenne des indices d'avidité égale à 0,660 par la technique Platelia® sur 43 toxoplasmoses de plus de un an. Les indices extrêmes observés sont 0,430 et 0,830 (Lecolier et Pucheu, 1994).

Thulliez a déterminé l'indice d'avidité par la technique Liaison® pour 77 sérums de toxoplasmoses anciennes : 89,6% des échantillons présentent un indice d'avidité élevé (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002).

Les résultats de notre étude et des études antérieures sont donc comparables pour Platelia® et Liaison®.

Pour les **toxoplasmoses anciennes avec persistance d'IgM**, notre étude trouve des moyennes d'indice égales à 0,555 pour Platelia® et 0,35 pour Liaison®. Ces moyennes sont élevées et supérieures au seuil à partir duquel une toxoplasme récente peut être exclue. En outre, nous constatons que ces moyennes sont plus faibles que celles observées avec les toxoplasmoses chroniques sans IgM résiduelles. A priori, cette population regroupe des toxoplasmoses dont les séroconversions sont moins anciennes : 6 à 8 mois, tandis que le groupe des toxoplasmoses chroniques rassemble plutôt des toxoplasmoses de plus de 10 mois et plus (parfois plusieurs années). Platelia® présente 75,3% d'indices d'avidité élevé et Liaison® 66,7%. Sur 13 sérums présentant un indice d'avidité bas mesuré par le Liaison®, 7 présentent un indice d'avidité élevé avec Platelia® et Vidas®. De la même façon, sur 4 échantillons présentant un indice d'avidité bas avec Platelia®, 3 présentent effectivement une avidité basse avec le Vidas® et un, une avidité intermédiaire. Platelia® est ainsi mieux corrélé au Vidas® (technique de référence pour l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques) que le Liaison®. Les résultats des deux techniques concordent à 66,7%. Cette différence de concordance entre les deux techniques peut être liée à la nature différente des antigènes utilisés dans les deux tests, et au fait que Liaison® et Platelia® présentent respectivement 14 et 16 indices d'avidité intermédiaire. En effet, ces indices sont souvent borderline par une technique et pas par l'autre, ce qui diminue la concordance alors que les résultats sont proches. Cette discordance provient également du fait que le Liaison® rend des indices d'avidité bas par excès.

Dans l'étude de Thulliez, sur 80 sérums provenant de toxoplasmoses anciennes avec persistance d'IgM, 69 présentent un indice d'avidité élevé soit 85% avec le Liaison® (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002). Cette différence de pourcentage peut être liée à la sélection des sérums qui a plus tenu compte de la persistance des IgM que de la datation de la toxoplasme, les toxoplasmoses retenues par Thulliez sont peut-être plus anciennes que les nôtres.

Au total, les **toxoplasmoses anciennes, avec ou sans IgM résiduelles**, présentent une réponse immunitaire mature. Par conséquent, les IgG ont mûri et les patients ont donc développé des IgG de haute avidité comme le montrent les moyennes d'avidité retrouvées par les deux techniques.

Nous constatons que quelques cas de toxoplasmoses anciennes (2 pour Platelia® et 4 pour Liaison®) et un nombre plus important de toxoplasmoses anciennes avec IgM résiduelles (20 pour Platelia® et 27 pour Liaison®) présentent des indices d'avidité intermédiaires ou bas et non des indices d'avidité élevés comme on peut le supposer pour des toxoplasmoses chroniques. Cela peut s'expliquer soit par les performances analytiques du test, soit par le fait que certains individus ne développent pas d'IgG de haute avidité. Ainsi, dans certains cas, une avidité basse persiste plus de 20 semaines après la séroconversion (20 à 52 semaines) (Jenum *et al*, 1997). En outre, la présence d'IgM résiduelles et une faible avidité dans les infections chroniques suggère que la maturation de la réponse immunitaire peut être différée dans certains cas (Jenum *et al*, 1998 ; Sensini *et al*, 1996). Ainsi, l'étude de Pelloux rapporte que sur 315 sérums de toxoplasmoses de plus de 9 mois, 8 présentent une avidité inférieure à 0,300 sur le Vidas®, c'est à dire une avidité basse. Dans la majorité des cas, ces patients présentaient des désordres immunologiques (greffes d'organe, maladies auto-immunes) (Pelloux *et al*, 1998). Ce n'est pas surprenant depuis que l'immunodéficience a été décrite comme étant liée à la production d'anticorps de faible avidité (Dussaix *et al*, 1996).

Les travaux d'Holliman ont montré que l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques ne semble pas modifiée lors de **réactivations toxoplasmiques** et que l'indice reste stable et élevé (Holliman *et al*, 1994). L'étude de nos 28 sérums provenant de 17 cas de réactivations toxoplasmiques confirme que l'avidité reste élevée (Tableau XVII). Nous disposons effectivement de sérums prélevés avant la réactivation, c'est à dire des sérums qui présentent un profil de toxoplasme chronique, et des sérums de réactivation sérologique. Ainsi, tous les sérums présentent des indices d'avidité élevés avec les deux techniques et même très supérieurs au seuil. Les moyennes de ces indices d'avidité

sont donc 0,725 et 0,441 pour Platelia® et Liaison® respectivement.

		Liaison® Avidité	Platelia® Avidité
Car	18/11/02	0,396	0,758
	26/10/02	0,414	0,782
Ter	5/04/02	0,46	0,761
	17/10/02	0,398	0,746
Roi	2/09/02	0,295	0,624
	4/11/02	0,301	0,679
	11/09/02	0,416	0,646

Tableau XVII : Evolution de l'indice d'avidité au cours de réactivations toxoplasmiques.

Dans l'étude de Thulliez, tous les sérums de réactivation testés sur le Liaison® présentent une avidité élevée sauf un qui correspond à une réinfection suite à une nouvelle ingestion de parasites, ce qui peut expliquer la diminution significative de l'indice d'avidité entre les deux échantillons (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002).

Une **toxoplasmose récente** présente une sérologie avec des IgG et des IgM positives. Il est souvent difficile de dater précisément le début de l'infection. Or la datation de la séroconversion est capitale pour la femme enceinte étant données les conséquences pour le fœtus si la contamination est pergestationnelle. Dans ce contexte, la détermination de l'avidité des IgG est d'une grande aide. En effet, de nombreuses études ont montré qu'un indice d'avidité faible est un marqueur d'infection récente (Hedman *et al*, 1993 ; Lecolier et Pucheu, 1993 ; Joynson *et al*, 1990 ; Lappalainen *et al*, 1993 ; Holliman *et al*, 1994 ; Sensini *et al*, 1996). De plus, elle permet une datation précise de la séroconversion (Jenum *et al*, 1997 ; Lecolier et Pucheu, 1993 ; Holliman *et al*, 1994).

Dans notre étude, les toxoplasmoses récentes ont été réparties en trois sous-groupes en fonction de l'ancienneté de la séroconversion : les toxoplasmoses de moins de 2 mois, de 2 à 6 mois et de plus de 6 mois.

Sur 13 sérums de **toxoplasmoses de moins de 2 mois**, 11 présentent un indice d'avidité bas par les deux techniques ; un présente une avidité intermédiaire en tout début d'infection avec Liaison®, l'avidité n'a pu être mesurée avec la technique Platelia® en raison d'un titre d'IgG <15 UI/ml avec Platelia®. Cet indice d'avidité intermédiaire peut être lié au fait que le titre

des IgG soit très faible : 11,6 UI/ml, la technique est alors peut-être mise en défaut.

Pour les **toxoplasmoses de 2 à 6 mois**, la distribution des indices d'avidité est plus hétérogène : 9 indices d'avidité bas, 4 indices d'avidité élevé et 1 indice d'avidité intermédiaire pour Liaison® et 11 indices d'avidité bas, 1 indice d'avidité élevé et 2 indices d'avidité intermédiaire pour Platelia®. Les toxoplasmoses de plus de 4 ou 5 mois étant exclues à partir d'un certain seuil d'indice d'avidité selon les techniques, il est logique que des toxoplasmoses de 2 à 6 mois présentent des indices d'avidité bas, intermédiaire ou élevé, en fonction de la date de la séroconversion. En effet, ce sous-groupe inclut des toxoplasmoses de plus de 4 ou 5 mois.

Les 2 **toxoplasmoses de plus de 6 mois** présentent une avidité élevée avec Liaison® et l'une d'entre elles présente un indice d'avidité intermédiaire (0,465) avec Platelia®.

Dans l'étude de Thulliez portant sur le Liaison®, sur 58 sérums de toxoplasmoses récentes positifs en IgG, 54 présentent un indice d'avidité bas et 3 un indice d'avidité intermédiaire. Ces 57 sérums provenaient de toxoplasmoses de moins de 2 mois. Un sérum présente une avidité élevée mais la toxoplasme datait de plus de 6 mois (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002).

Les deux techniques utilisées pour la détermination de l'avidité des IgG : Liaison® et Platelia® présentent une concordance de 78,6%. Les six discordances ont été analysées par la mesure de l'avidité sur le Vidas® : 5 sérums ont présenté un indice d'avidité bas et 1 un indice d'avidité intermédiaire. La technique Platelia® apparaît donc mieux corrélée au Vidas® qui est la technique de référence, que Liaison®.

Les différentes techniques n'ont pas la même valeur seuil, au-delà de laquelle une toxoplasme de plus de 4 ou 5 mois selon la technique, peut être exclue. Cette différence de valeur seuil peut être due soit à la différence des modes de calcul des indices d'avidité, soit à la différence de nature des extraits antigéniques (Lecolier et Pucheu, 1994). En effet, il a été montré pour différents virus que l'avidité des IgG diffère, pour un même virus, d'une protéine virale à l'autre (Hedman *et al*, 1993). De même la valeur seuil fixée pour chaque technique ne permet pas d'exclure une toxoplasme de la même ancienneté : Vidas®, exclusion d'une toxoplasme de moins de 4 mois, Platelia®, 20 semaines et Liaison®, 4 mois. Cette différence de 1 mois dans la durée d'exclusion peut intervenir dans les discordances observées (Alvarado-Esquivel *et al*, 2002).

L'administration d'antiparasitaires pourrait induire la persistance d'une avidité faible

(Eloy *et al*, 2000 ; Sensini *et al*, 1996).

Dans notre étude, certains patients présentent 3 ou 4 sérums avec parfois un délai de 6 à 7 mois entre le premier et le dernier (Tableau XVIII).

		Liaison® Avidité	Platelia® Avidité
Gir	19/03/03	0,074	0,083
	29/10/02	0,046	0,099
Joy	14/09/02	0,055	0,120
	17/02/03	0,153	0,257
	23/07/02	0,076	0,142

Tableau XVIII : Evolution de l'indice d'avidité au cours de séroconversions chez deux femmes enceintes traitées par antiparasitaires.

Ces deux patients sont des femmes enceintes qui ont été traitées à partir de la découverte de la séroconversion. Nous constatons qu'il n'y a pas d'IgG de haute avidité. Le processus de maturation des IgG aurait donc été perturbé. D'après Sensini, un traitement antibiotique par spiramycine peut affecter la cinétique de maturation de l'avidité des IgG, et donc la différer dans le temps (Sensini *et al*, 1996). Une autre étude n'a pas trouvé de corrélation spécifique entre la persistance d'un indice d'avidité bas et les caractéristiques cliniques ou thérapeutiques (Cozon *et al*, 1998).

Les moyennes des indices d'avidité pour chaque sous-groupe permettent d'objectiver **l'évolution de l'avidité au cours du temps**. En effet, les moyennes d'avidité augmentent des toxoplasmoses de moins de 2 mois à celles de plus de 6 mois. Les moyennes pour les toxoplasmoses de moins de 2 mois sont de 0,134 et 0,111 respectivement pour Platelia® et Liaison®, 0,271 et 0,174 pour les toxoplasmoses de 2 à 6 mois et 0,514 et 0,346 pour les toxoplasmoses de plus de 6 mois.

L'étude de Robert-Gangneux a rapporté des moyennes d'avidité de 0,196 pour des toxoplasmoses de moins de 3 mois, 0,232 pour des toxoplasmoses de 3 à 5 mois et 0,364 pour des toxoplasmoses de 5 à 10 mois avec la technique Platelia®. Pour ce dernier groupe, la

dispersion des indices est assez élevée (0,174 à 0,695) (Robert-Gangneux *et al*, 1998). Nos résultats sont assez comparables à ceux de cette étude.

Le groupe des **séroconversions** comprend des patients dont le premier sérum dont nous disposons est négatif. La séroconversion est ainsi nettement visible avec apparition des IgG, après celle des IgM. Ces cas-là ne posent pas réellement de problème et ne nécessitent pas vraiment la mise en œuvre de la mesure de l'avidité. Toutefois, nous avons réalisé cette détermination dans tous les cas où cela était possible, c'est à dire quand le titre des IgG était supérieur au minimum requis pour chaque technique. Sur 18 sérums testés avec Platelia®, 17 présentent une avidité basse et 1 une avidité intermédiaire, et sur les 16 sérums testés avec Liaison®, 13 présentent une avidité basse, 2 une avidité intermédiaire et 1 une avidité élevée. 2 des 3 sérums qui présentent une avidité intermédiaire ont des titres d'IgG limites, juste supérieurs au seuil. La technique est alors peut-être prise en défaut. Le sérum qui présente une avidité élevée avec Liaison®, a été prélevé 7 mois après la séroconversion, il est donc logique que l'avidité de ses IgG soit élevée. Cependant pour le même sérum, Platelia® trouve une avidité basse.

Dans l'étude de Thulliez sur le Liaison®, quand elle était mesurable, l'avidité des IgG était basse pour tous les premiers sérums de chaque patient. Un indice d'avidité intermédiaire a été observé pour un sérum prélevé 4 mois après la séroconversion (Thulliez *et al*, données non publiées, 2002). Les résultats de notre étude concordent avec ceux des études antérieures. La concordance entre Platelia® et Liaison® est de 81,25% pour les séroconversions et les moyennes observées sont 0,193 et 0,105 respectivement pour Platelia® et Liaison®. Par ailleurs, pour les quelques sérums qui ont pu être analysés sur le Vidas®, les résultats de Platelia® semblent mieux corrélés à ceux du Vidas® que du Liaison®.

Il faut noter qu'il est difficile de faire une comparaison directe des résultats du fait des différents modes de calcul des indices d'avidité et des seuils différents, même si les résultats sont au final exprimés en pourcentage d'avidité (Jenum *et al*, 1997). Les conclusions des différents tests sont toutefois similaires : exclusion d'une infection récente quand l'indice d'avidité est supérieur à la valeur seuil établie (Eloy *et al*, 2000).

Notre étude a donc également montré qu'en général une infection ancienne présentait des IgG de haute avidité et qu'une infection récente présentait des IgG de basse avidité. L'intérêt de la détermination de l'avidité n'est donc plus à démontrer, de nombreuses études ayant expliqué son apport considérable dans la datation d'une séroconversion ou d'une infection récente devant un profil sérologique avec présence d'IgG et d'IgM à titres parfois élevés. D'un point de vue praticabilité, l'avidité déterminée sur le Liaison® présente l'avantage d'être complètement automatisée tandis que la technique Platelia® est partiellement manuelle et nécessite de nombreuses manipulations par l'opérateur. Cependant, elle peut être automatisée. De plus, les résultats sont obtenus beaucoup plus rapidement avec le Liaison® qu'avec la technique ELISA en microplaque de Biorad. Par contre, il apparaît que les résultats des indices d'avidité de Platelia® sont mieux corrélés avec le Vidas® et avec le stade sérologique de l'infection toxoplasmique.

CONCLUSION

Il est indispensable de disposer de techniques sérologiques permettant d'identifier précisément le statut immunologique des femmes enceintes pour la toxoplasmose. En effet, de cette sérologie dépend la conduite à tenir au cours de la grossesse (suivi sérologique, traitement...).

Le dosage des IgG et IgM anti-toxoplasmiques doit être fiable et aisé à réaliser. De nombreuses techniques sont commercialisées, manuelles ou automatisées. Nous avons choisi d'évaluer une technique manuelle en microplaque, Platelia® (Biorad), et un automate, Liaison® (DiaSorin). Nous avons donc testé 393 sérums avec ces deux techniques différentes en prenant comme référence les résultats obtenus avec l'AxSYM® et le Vidas®. Ces 393 sérums se répartissent en six populations : sérums négatifs, toxoplasmoses chroniques, toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM, réactivations toxoplasmiques, toxoplasmoses récentes et séroconversions.

L'enjeu principal de la sérologie toxoplasmique est représenté par le dépistage des séroconversions chez la femme enceinte et la datation de la contamination chez une femme présentant une sérologie positive, afin de prévenir la transmission materno-fœtale. Mais chaque technique doit être sensible et spécifique quelque soit la population étudiée et présenter un intérêt propre à chacune : une cinétique particulière, la précocité d'apparition des anticorps détectés...

Platelia®, technique manuelle, et Liaison®, automate, ont alors été comparés avec l'AxSYM® et le Vidas®, deux automates. Il apparaît que les deux techniques détectent les IgM de la même façon que les techniques prises en référence. En effet, les résultats des indices d'IgM montrent que ces deux techniques sont sensibles et spécifiques pour toutes les populations. Les résultats des titres d'IgG montrent que chaque technique dépiste ses IgG selon une cinétique propre à chacune ; cependant, l'étude des sensibilités et spécificités calculées montre que Platelia® et Liaison® détectent des IgG dont la cinétique est proche de celle du Vidas®. Il est à noter que ces deux techniques présentent des résultats plus éloignés de l'AxSYM® que du Vidas®, l'AxSYM® présentant une cinétique toute particulière avec une détection très précoce des IgG. Ainsi, Platelia® et Liaison® apparaissent comme des outils intéressants pour la sérologie toxoplasmique : ces deux techniques permettent en effet les mêmes conclusions que le Vidas®.

Dans certains cas, les IgG et les IgM ne suffisent pas pour la détermination du statut

sérologique. Le biologiste peut alors reprélever le patient afin d'observer l'évolution des anticorps sur deux sérums prélevés à deux semaines d'intervalle, mais cela retarde le diagnostic. Il peut également réaliser des examens complémentaires : sérologie IgG, IgM par une autre technique, dosage des IgA et/ou détermination de l'avidité des IgG. De nombreuses études ont montré son intérêt. Nous avons mesuré l'avidité des IgG de 270 sérums appartenant aux différentes populations déjà mentionnées, avec une technique manuelle, Platelia®, kit en cours d'élaboration (aujourd'hui commercialisé) et avec un automate, Liaison®. Les résultats de notre étude confirment qu'une avidité élevée permet d'exclure une toxoplasmose récente, et qu'une avidité basse correspond généralement à une infection récente mais certains facteurs (traitement antiparasitaire, immunodépression...) interfèrent avec la maturation de l'avidité des IgG et, des toxoplasmoses anciennes peuvent ainsi présenter des Ig de basse avidité. Les résultats du Liaison® ont montré quelques divergences avec le Vidas®, méthode de référence actuelle pour la détermination de l'avidité des IgG ; la technique Platelia® présente des résultats proches de ceux du Vidas®.

Ainsi, chaque technique, quelle soit manuelle ou automatisée, donne de bons résultats en terme de sensibilité et spécificité pour le dosage des IgG et des IgM. La détermination de l'avidité des IgG apparaît également cohérente avec les profils sérologiques sélectionnés dans notre étude. Il est important de noter que la combinaison de différents dosages : IgG, IgM, IgA, avidité permet une meilleure approche du statut sérologique des patients, ce qui est particulièrement important pour les femmes enceintes.

ANNEXES

Tableau
XIX :
Sérums
négatifs
01

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5931	Ber	9/5/03	0	0,093						<3	<3		0	0,055	
5929	Bou	10/5/03	0	0,088						<3	<3		0	0,197	
5927	Bon	9/5/03	0,1	0,104						<3	<3		0	0,077	
5924	Pio	9/5/03	0	0,1						<3	<3		0	0,059	
5912	Fra	7/5/03	0,1	0,092						<3	<3		1,913	0,05	
5911	Gui	8/5/03	0	0,097						<3	<3		0	0,044	
5908	Egr	8/5/03	0	0,086						<3	<3		0,364	0,048	
5906	Her	8/5/03	0	0,095						<3	<3		0	0,05	
5903	Art	8/5/03	0	0,108						<3	<3		0	0,097	
5901	Met	8/5/03	0,1	0,162						<3	<3		0,444	0,084	
5900	Mac	7/5/03	0	0,095						<3	<3		0	0,073	
5899	Cuv	7/5/03	0	0,106						<3	<3		0,444	0,059	
5898	Civ	7/5/03	0	0,166						<3	<3		0,353	0,066	
5896	Dod	7/5/03	0	0,136						<3	<3		0	0,057	
5886	Oli	6/5/03	0	0,093						<3	<3		0,512	0,059	
5885	Cou	6/5/03	0	0,111						<3	<3		0	0,037	
5883	Pon	6/5/03	0	0,082						<3	<3		0	0,097	
5881	Dia	7/5/03	0	0,118						<3	<3		0,638	0,11	

5878	And	6/5/03	0	0,171						<3	<3		0,25	0,164
5876	Che	6/5/03	0	0,096						<3	<3		0,068	0,09
5875	Gil	6/5/03	0	0,094						<3	<3		0,831	0,055
5871	Ava	6/5/03	0	0,098						<3	<3		0,034	0,062
5870	Kal	6/5/03	0	0,108						<3	<3		0	0,066
5866	Sig	6/5/03	0	0,074						<3	<3		0	0,121
5865	L'Ho	6/5/03	0	0,096						<3	<3		1,184	0,106
5862	Mah	6/5/03	0	0,074						<3	<3		3,951	0,09
5861	Par	6/5/03	0	0,116						<3	<3		0	0,086
5856	Sar	6/5/03	0	0,07						<3	<3		0,25	0,068

152

Tableau
XX :
Sérums
négatifs
02

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5854	Duc	6/5/03	0	0,078						<3	<3		0	0,095	
5852	Cha	5/5/03	0	0,1						<3	<3		0,694	0,106	
5842	Mon	5/5/03	0	0,071						<3	<3		0	0,079	
5841	Nan	5/5/03	0	0,108						<3	<3		0,228	0,048	
5837	Aub	5/5/03	0	0,13						<3	<3		0	0,086	
5835	Jau	5/5/03	0	0,07						<3	<3		0	0,088	
5834	Gen	5/5/03	0	0,09						<3	<3		0	0,066	

5833	Ten	5/5/03	0	0,09						<3	<3		0,581	0,086
5832	Cri	4/5/03	0	0,11						<3	<3		0	0,086
5829	Ler	4/5/03	0	0,08						<3	<3		0	0,057
5828	Cha	5/5/03	0	0,09						<3	<3		0	0,057
5822	Duc	4/5/03	0	0,11						<3	<3		0	0,095
5820	Bri	4/5/03	0	0,09						<3	<3		0,159	0,077
5816	Epi	4/5/03	0	0,1						<3	<3		0	0,075
5814	Che	4/5/03	0	0,15						<3	<3		0	0,075
5812	Le B	4/5/03	0	0,07						<3	<3		0	0,057
5810	Roi	3/5/03	0	0,07						<3	<3		0,134	0,082
5808	Le G	5/5/03	0	0,08						<3	<3		0,353	0,077
5806	Pen	5/5/03	0	0,075						<3	<3		0	0,079
5801	Pre	2/5/03	0	0,11		0,05				<3	7,9/7,5		0	0,072
5799	Bla	3/5/03	0	0,1		0,07				<3	6,2/<3		0,183	0,077
5797	Ren	3/5/03	0	0,07						<3	<3		0,231	0,084
5796	Gob	2/5/03	0	0,08						<3	<3		0	0,053
5792	Abb	2/5/03	0	0,2						<3	<3		0,073	0,07
5789	Bou	2/5/03	0	0,08						<3	<3		0,548	0,075
5781	Gel	30/4/03	0	0,077						<3	<3		0,499	0,053
5777	Bra	2/5/03	0	0,163						<3	<3		0,219	0,077
5775	Cai	1/5/03	0	0,089						<3	<3		0	0,07

Tableau
XXI :
Sérums
négatifs
03

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5773	Tru	1/5/03	0	0,1						<3	<3		0,913	0,06	
5771	Pes	30/4/03	0,4	0,072						<3	<3		1,034	0,055	
5770	Le P	30/4/03	0,3	0,139						<3	<3		5,501	0,082	
5769	Per	1/5/03	0	0,12						<3	<3		0	0,079	
5768	Red	1/5/03	0,1	0,098						<3	<3		3,444	0,077	
5767	Pri	30/4/03	0	0,246						<3	<3		0,268	0,082	
5765	Nav	2/5/03	0	0,073						<3	<3		0,085	0,063	
5760	Jou	30/4/03	0,1	0,119						<3	<3		0,365	0,079	
5759	Dug	30/4/03	0,1	0,114						<3	<3		1,509	0,065	
5757	Col	30/4/03	0,3	0,091						<3	<3		0,888	0,06	
5754	Le G	30/4/03	0	0,089						<3	<3		0,28	0,053	
5751	Bre	30/4/03	0	0,076						<3	<3		0	0,053	
5750	Pla	30/4/03	0	0,076						<3	<3		0,45	0,046	
5749	Juh	30/4/03	0	0,104						<3	<3		0,572	0,101	
5748	Gui	30/4/03	0	0,145						<3	<3		0	0,07	
5744	Pos	29/4/03	0	0,103						<3	<3		0	0,094	
5742	Gug	29/4/03	0	0,1						<3	<3		0	0,053	
5739	Dum	29/4/03	0	0,082						<3	<3		0	0,06	
5738	Lou	30/4/03	0	0,071						<3	<3		0	0,072	
5736	Da S	29/4/03	0	0,104						<3	<3		0,402	0,065	
5733	Gha	29/4/03	0	0,1						<3	<3		0	0,067	
5732	Bri	29/4/03	0,2	0,083						<3	<3		1,363	0,048	

5731	Lap	29/4/03	0	0,079						<3	<3		0	0,055
5726	Has	29/4/03	0,1	0,107						<3	<3		0,426	0,065
5725	Dup	29/4/03	0,2	0,108						<3	<3		0,122	0,046
5724	Cou	29/4/03	0,1	0,231						<3	<3		0,292	0,091
5711	Tes	28/4/03	0	0,112						<3	<3		0	0,046
5710	Tap	28/4/03	0	0,086						<3	<3		0	0,046

154

Tableau
XXII :
sérum
négatifs
04

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5708	Jon	28/4/03	0,1	0,102						<3	<3		0,122	0,115	
5704	Dab	28/4/03	0	0,119						<3	<3		0,037	0,06	
5703	Lev	28/4/03	0,1	0,157						<3	<3		0	0,207	
5701	Fon	28/4/03	0	0,085						<3	<3		0	0,058	
5698	Le G	28/4/03	0,3	0,139						<3	<3		1,821	0,093	
5697	Lam	28/4/03	0,1	0,114						<3	<3		0,143	0,088	
5696	Gic	28/4/03	0	0,088						<3	<3		0,238	0,104	
5695	God	28/4/03	0,1	0,115						<3	<3		0,619	0,093	
5694	Her	28/4/03	0	0,107						<3	<3		0,595	0,079	
5693	Ern	28/4/03	0,1	0,077						<3	<3		1,119	0,093	

5692	Mer	28/4/03	0,2	0,153		0,11				<3	7,7/8,5		0,25	0,078
5690	Rob	27/4/03	0,1	0,093						<3	<3		1,214	0,076
5688	Lev	27/4/03	0,1	0,094						<3	<3		0	0,097
5686	Pen	27/4/03	0	0,109						<3	<3		0	0,081
5682	Hiv	27/4/03	0,1	0,089						<3	<3		0,238	0,072
5681	Hel	27/4/03	0,1	0,093						<3	<3		0,202	0,088

Tableau
XXIII :
Toxoplasmoses
chroniques
es 01

Numéro	Nom	Date	AxSYM® IgG	AxSYM® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5895	Vos	7/5/03	11,6	0,104	34					71,4	<3	0,568	102,9	0,072	0,849
5894	Ali	7/5/03	8,9	0,074	17					24,2	<3	0,619	34,44	0,079	0,632
5893	Del	7/5/03	6,7	0,123	18					15,5	<3	0,513	27,66	0,245	0,588
5892	Fla	6/5/03	12,2	0,063	30					42,2	<3	0,514	100	0,116	0,587
5889	Lev	6/5/03	47,4	0,135	201					>500	<3	0,604	>240	0,326	0,605
5884	Ent	6/5/03	75,3	0,206	297					>500	<3	0,715	>240	0,417	0,679
5869	Mor	6/5/03	30,9	0,075	102					250	<3	0,459	237,37	0,109	0,651
5867	Dro	6/5/03	12,1	0,097	28					43,2	<3	0,459	59,78	0,331	0,602
5864	Lau	6/5/03	12	0,129	28					41,6	<3	0,544	48,38	0,465	0,69
5859	Bra	6/5/03	13,2	0,13	38					55,6	<3	0,368	61,32	0,282	0,624
5858	Bos	6/5/03	37,5	0,18	47	0,11				68,2	<3	0,433	105,53	2,47	0,681
5847	Cha	5/5/03	29,4	0,138	111					328	<3	0,434	214,21	0,273	0,679
5836	Per	5/5/03	5,4	0,09	12					12,2	<3	0,67	30,69	0,083	0,536
5798	Loy	3/5/03	21,3	0,14	59					155	<3	0,502	196,84	0,313	0,697
5795	Per	3/5/03	22,2	0,24	116				0,568	221	<3	0,237	>240	0,153	0,777
5791	Tur	2/5/03	4,4	0,06	12					17,7	<3	0,391	52,64	0,123	0,451
5788	Gho	2/5/03	12	0,1	33					44,6	<3	0,407	57,4	0,074	0,602
5780	Vin	1/5/03	21,3	0,147	62					134	<3	0,453	141,58	0,148	0,628
5772	D'Am	30/4/03	5,2	0,115	23					38,8	<3	0,388	47,08	0,146	0,648
5766	Gou	1/5/03	171,4	0,094	>300	0,06				>500	<3	0,52	>240	0,181	0,711
5737	Rol	29/4/03	4,2	0,163	10					13,1	<3	0,484	33,87	0,102	0,486
5730	Gui	29/4/03	22,7	0,165	62					218	<3	0,359	200,26	0,738	0,634

5719	Jar	29/4/03	20,8	0,091	56					135	<3	0,375	165,79	0,419	0,695
5718	Mar	29/4/03	15,5	0,205	20					122	<3	0,484	213,42	0,093	0,621
5707	Rob	28/4/03	10	0,233	56					121	<3	0,368	70,53	0,398	0,656
5706	Sim	28/4/03	15,8	0,091	48					54,3	<3	0,547	73,42	0,099	0,677
5705	Lal	28/4/03	107,8	0,38	249	0,31	6	<0		>500	<3	0,6	>240	0,632	0,636
5652	Fro	25/4/03	4,3	0,104	10					10,6	<3	0,544	30,33	0,106	0,628
5646	Rou	25/4/03	39,1	0,15	128					>500	<3	0,704	231,58	0,162	0,724

156

Tableau
XXIV :
Toxoplasmoses
chroniques 02

Numéro	Nom	Date	AxSYM® IgG	AxSYM® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5639	Flo	24/4/03	15	0,07	33					40,6	<3	0,471	72,63	0,067	0,611
5628	Cau	24/4/03	29,9	0,13	114					298	<3	0,432	>240	0,352	0,651
5627	Dji	24/4/03	13,7	0,085	36					71,2	<3	0,555	122,63	0,12	0,633
5617	Le S	24/4/03	47,4	0,167	96					181	<3	0,459	183,42	0,099	0,728
5613	Gil	23/4/03	30,2	0,095	69					110	<3	0,436	149,74	0,086	0,598
5605	Le G	23/4/03	19,3	0,114	75					203	<3	0,378	102,37	0,185	0,67
5598	Hau	23/4/03	9,3	0,089	28					52,1	<3	0,442	56,17	0,153	0,733
5584	Bik	22/4/03	5,3	0,075	16					19,6	<3	0,507	32,57	0,081	0,677
5563	Tri	22/4/03	12	0,095	31					44,5	<3	0,453	99,74	0,236	0,661
5562	Mor	22/4/03	15,3	0,175	28					29,6	<3	0,389	53,86	0,134	0,511

5558	Ham	19/4/03	8,9	0,178	19				10,3	<3	0,461	72,37	0,208	0,604
5510	Dem	18/4/03	6,1	0,097	26				54,5	<3	0,543	51,99	0,129	0,598
5509	Aub	18/4/03	11,9	0,096	24				44,2	<3	0,441	49,68	0,162	0,558
5495	Poi	18/4/03	29,8	0,107	78				229	<3	0,286	160,53	0,398	0,65
5475	Gio	17/4/03	48,8	0,106	145				>500	<3	0,632	>240	0,282	0,614
5468	Pit	17/4/03	8,5	0,114	20				35,1	<3	0,41	41,95	0,086	0,556
5467	Cim	17/4/03	20,7	0,287	57				108	<3	0,476	174,21	0,146	0,685
5461	Mor	17/4/03	43,9	0,094	77				105	<3	0,566	175,53	0,238	0,7
5452	Riv	16/4/03	20,3	0,136	69				189	<3	0,42	>240	0,097	0,609
5442	Hay	16/4/03	33	0,23	218			0,456	414	<3	0,23	215,53	0,912	0,709
5431	Car	15/4/03	14,1	0,097	56				64	<3	0,458	50,11	0,065	0,566
5430	Per	15/4/03	5,4	0,098	28				23,8	<3	0,45	60,79	0,157	0,614
5423	Mey	15/4/03	72	0,085	200				>500	<3	0,602	>240	0,083	0,603
5418	Mor	15/4/03	36,9	0,208	119			0,541	436	<3	0,204	191,58	0,38	0,675
5415	Her	15/4/03	25,7	0,086	47				106	<3	0,457	111,58	0,146	0,577
5408	Dub	14/4/03	4,9	0,075	11				15,1	<3	0,591	35,6	0,095	0,754
5405	Hei	14/4/03	11,1	0,102	35				58,2	<3	0,524	92,37	0,104	0,613
5397	Leg	14/4/03	49,7	0,138	122				430	<3	0,332	158,95	0,065	0,635
5382	Le F	13/4/03	61,5	0,079	88				409	<3	0,384	160	0,102	0,722
5372	Gui	11/4/03	8,6	0,1	16				22,4	<3	0,574	35,89	0,141	0,658

157

Tableau
XXV :
Toxoplasmoses
chroniques
03

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5313	Que	9/4/03	40,3	0,087	>300	0,02	0	<0	0,241	396	<3	0,24	>240	0,086	0,678
5308	Bel	8/4/03	30,4	0,102	104					143	<3	0,355	163,68	0,213	0,604
5307	Las	8/4/03	6,2	0,173	20					28,2	<3	0,455	52,78	0,167	0,517
5297	Lot	8/4/03	18,7	0,156	34					47,2	<3	0,483	58,92	0,104	0,584
5286	Sav	8/4/03	21	0,132	49					139	<3	0,374	127,37	0,106	0,682
5283	Gou	7/4/03	20	0,079	29					71,2	<3	0,449	52,42	0,153	0,621
5272	Bas	7/4/03	7,6	0,081	24					34,6	<3	0,438	45,71	0,15	0,532
5269	Lab	7/4/03	25	0,106	63					103	<3	0,432	98,42	0,271	0,657
5266	Ler	7/4/03	103,7	0,183	185					>500	<3	0,575	>240	0,544	0,615
5263	Pin	7/4/03	2,8	0,1	11					10,9	<3	0,424	29,61	0,095	0,604
5236	Bru	6/4/03	4,3	0,222	8					8,9	<3	0,498	19	0,095	0,5
5227	Gar	5/4/03	4,3	0,075	8					14,3	<3	0,593	26,21	0,113	0,544
5220	Nty	4/4/03	15,2	0,119	64					151	<3	0,407	224,21	0,09	0,749
5215	Gag	4/4/03	10	0,135	25					37,2	<3	0,457	47,09	0,093	0,584
5214	Lec	4/4/03	23,5	0,095	36					29	<3	0,595	65	0,095	0,641
5205	Bel	4/4/03	16,2	0,103	28					46,3	<3	0,65	43,32	0,118	0,665
5189	El H	3/4/03	23,3	0,083	70					99,7	<3	0,511	114,74	0,065	0,637
5187	Pap	3/4/03	5,1	0,102	11					17,2	<3	0,615	21,88	0,093	0,594
5183	Dro	3/4/03	6,5	0,09	19					24,2	<3	0,531	36,32	0,12	0,78
5162	Cho	2/4/03	12	0,105	22					27,9	<3	0,503	48,74	0,081	0,505
5148	Che	2/4/03	48,2	0,103	210					>500	<3	0,55	>240	0,306	0,594

Tableau
XXVI :
Toxoplasmoses
chroniques avec
persistance d'IgM
01

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5921	Tey	6/5/03	13,2	0,567	38	0,85	11	<0	0,364	54,3	7,2	0,167	70,62	4,68	0,58
5879	Cad	2/5/03	156,5	0,776	149	1,79	12	0,2		414	7,3	0,205	232,02	11,64	0,425
5594		15/4/03	189,3	0,8	162	1,95	11	<0	0,274	444	8,7	0,218	225,02	11,69	0,471
5840	Lef	5/5/03	55,8	0,588	255	0,74	11	<0		>500	3,1	0,469	>240	5,79	0,636
5831	Fra	29/4/03	40,4	0,61	149	0,76	11	<0	0,482	397	8,3	0,199	230,62	3,1	0,604
6175	Gau	20/5/03	13,3	0,641	55	0,47	9	<0	0,407	79,3	7,5	0,134	150,09	0,45	0,62
6170	Bou	14/5/03	59,9	1,964	163	1,37	12	<0	0,498	>500	9,1	0,473	>240	10,46	0,689
6164	Gui	14/5/03	71,1	2,996	>300	1,79	12	<0		>500	12,6	0,499	>240	11,71	0,674
6033	Lau	13/5/03	50,2	0,681	236	1,66	9	<0		>500	39,9	0,52	>240	8,66	0,685
5790	Jau	29/4/03	35,1	0,935	138	1,25	11	<0		445	9	0,31	>240	6,91	0,622
5700	Gir	24/4/03	395,3	1,564	>300	1,6	12	<0	0,551	>500	19	0,386	>240	11,81	0,671
5607	Hui	22/4/03	30,5	0,658	59	1,08	9	<0	0,547	56,8	12,1	0,177	120,35	9,72	0,53

5520	Mau	17/4/03	36,9	1,375	160	1,06	11	<0		474	11,9	0,615	>240	6,09	0,6
5466	Oua	17/4/03	8	0,814	53	0,69	9	<0		54,2	17,1	0,321	85,49	0,44	0,717
5438	Gir	12/4/03	289,8	1,244	>300	1,79	12	<0	0,538	>500	18	0,336	>240	11,83	0,724
5437	Nic	12/4/03	60,3	1,004	156	1,7	11	<0		354	18,5	0,425	>240	8,5	0,656
5267	Bro	2/4/03	72,8	2,203	163	1,55	12	<0		436	11,6	0,614	228,5	9,25	0,673
5195	Bre	3/4/03	63,9	0,412	165	0,78	9	<0		245	<3	0,316	>240	6,18	0,602
5190	Cor	11/2/03	27,7	0,621	77	0,75	11	<0		83,3	5	0,237	172,39	5,1	0,575
5186	Lib	1/4/03	3,7	1,136	9	1,13	9	<0		16,1	7,7	0,32	22,99	6,64	0,454
5185	Biz	1/4/03	8,9	0,625	14	0,93	9	<0	0,126	14,3	9,5	0,125	29,1	6,06	0,32
5108	Bou	31/3/03	13,9	0,516	35	0,71	9	<0		30,7	10,3	0,29	59,73	1,39	0,483
5106	Bro	31/3/03	31,9	0,83	171	0,79	9	<0		380	7,2	0,45	>240	3,26	0,526
5054	Via	25/3/03	34,2	0,646	99	0,82	9	<0		126	4,1	0,243	158,05	6,62	0,577
9613	Leb	5/3/03	38,9	1,08	53	1,36	11	<0	0,347	111	14,2	0,22	118,05	8,63	0,512
9605	Gui	4/3/03	27,1	1,01	18	0,6	9	<0	0,44	21,1	5,7	0,287	48,85	2,13	0,438
9403	Gal	18/2/03	29,1	0,74	120	1,97	11	<0		213	25,8	0,225	175,4	10,61	0,628
9350	Ker	22/2/03	44,2	0,5	143	0,78	11	<0		415	3,8	0,383	198,41	6,97	0,612
9311	Lec	19/2/03	18,8	0,69	51	0,52	11	<0		67,5	4,1	0,283	107,43	2,74	0,529
9284	Da S	19/2/03	39,3	0,736	130	1,06	9	<0		259	12	0,326	173,45	1,56	0,577

159

Tableau
XXVII :
Toxoplasmoses
chroniques avec
persistance d'IgM
02

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
149157	Ugu	11/2/03	84	1,03	132	1,44	9	<0		348	42,2	0,319	193,98	0,41	0,528
149087	Ali	7/2/03	23,3	0,717	47	0,61	9	<0		87,8	4,9	0,258	73,63	2,75	0,597
149076	Cre	8/2/03	52,1	0,88	286	1,78	11	<0		379	12,4	0,57	>240	11,83	0,506
9017	Cam	5/2/03	61,4	0,543	220	0,87	9	<0		>500	11,2	0,484	219,82	2,69	0,751
8964	Buc	13/1/03	34,6	1,26	263	1,16	11	<0		422	10,7	0,384	234,51	7,38	0,614
8962	Fla	1/2/03	30,7	0,61	97	0,85	11	<0		110	5,6	0,214	120	5,38	0,514
8919	Flo	3/2/03	12,4	0,35	51	0,82	11	<0		72,2	5,1	0,302	87,26	1,52	0,538
8917	Tre	29/1/03	26,4	0,748	125	0,74	9	<0	0,433	153	10,9	0,243	134,51	0,5	0,478
8873	Guy	28/1/03	40,9	0,55	265	0,67	9	<0		>500	3,9	0,511	228,14	4,82	0,629
8809	Leb	27/1/03	29,6	2,39	91	0,27	9	<0		281	<3	0,479	148,67	0,42	0,557
8783	Rem	21/1/03	29,8	0,64	167	1,32	11	<0		>500	10,2	0,573	194,16	7,79	0,651
8766	Cro	26/10/03	61	0,41	140	0,93	11	<0		400	7,5	0,613	208,5	3,83	0,666
8760	Jar	23/1/03	19,8	0,46	95	0,99	11	<0	0,453	178	6,6	0,185	148,67	5,12	0,548
8759	Gui	22/1/03	134,7	0,64	>300	0,88	9	<0	0,525	>500	6,6	0,191	>240	8,58	0,545
8717	Dor	20/1/03	45,1	0,28	247	0,73	11	<0		>500	<3	0,373	222,3	1,81	0,521
8651	Gui	17/1/03	23,1	0,9	40	0,56	11	<0		88,6	6,7	0,233	89,75	2,62	0,639
8638	Car	17/1/03	43,1	2,36	42	1,45	12	<0	0,104	43,2	17,6	0,081	58,7	3,56	0,26
8635	Der	20/1/03	22,8	0,875	40	2,1	11	<0		32	19,4	0,317	73,48	11,56	0,443
8609	Reb	9/1/03	164,7	0,51	>300	0,87	9	<0	0,63	>500	8,6	0,451	>240	4,68	0,645
8488	Cou	11/1/03	97,3	0,68	263	0,92	11	<0		196	5,5	0,372	>240	5,73	0,525
8427	Mez	9/1/03	49,8	0,6	155	0,71	9	<0	0,209	69,8	3,3	0,084/0,1 66	235,93	6,11	0,417
8381	Mol	8/1/03	44	0,48	>300	0,95	9	<0		474	11,7	>0,950/0, 367	>240	5,68	0,611
8337	Beg	3/1/03	28,4	0,75	71	0,75	11	<0		67	3,2	0,26	148,48	4,92	0,594
8273	Bel	31/12/02	36,6	1,133	183	1,15	9	<0		301	9,6	0,333	>240	6,42	0,528
8163	Pic	23/12/02	26,8	0,909	209	0,68	9	<0		275	5,6	0,656	>240	2,65	0,669
8097	Fou	21/12/02	36,1	0,988	57	0,4	9	<0		6,5	<3	0,223	140,34	2,09	0,421

8096	Cot	24/12/02	27	0,524	64	0,72	11	<0		158	6,5	0,241	150,51	3,64	0,569
8085	Ham	20/12/02	18	0,849	60	1,14	12	<0		44,8	5,3	0,294	122,29	6,79	0,443

160

Tableau
XXVIII :
Toxoplasmoses
chroniques avec
persistance
d'IgM
03

Numéro	Nom	Date	AxSYM® IgG	AxSYM® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
7938	Lav	25/11/02	180,4	0,504	>300	0,83	9	<0	0,382	>500	6,1	0,297	>240	5,15	0,522
7935	Bay	16/11/02	50,4	0,789	69	1,04	9	<0	0,273	203	9,5	0,168	166,02	5,23	0,381
7803	Bau	11/12/02	83,8	1,177	162	1,07	11	<0		94,4	8	0,448	>240	7,17	0,496
7807	Pro	11/12/02	77,2	1,392	105	3,07	12	<0	0,294	109	21,6	0,209	234,15	14,54	0,431
7767	Pej	7/12/02	159	0,943	>300	0,64	9	<0		>500	<3	0,364	>240	3,34	0,565
7696	Red	5/12/02	200,4	1,019	259	1,79	11	<0	0,341	418	11,8	0,574	>240	10,77	0,485
7661	Jou	4/12/02	37,5	0,993	133	1,03	11	<0		96,5	3,9	0,691	>240	6,12	0,662
7561	Pet	27/11/02	59,4	0,621	142	0,86	12	<0		>500	5,4	0,523	>240	6,17	0,589
7549	Rou	28/11/02	24,2	0,808	72	0,8	12	<0		36	6,8	0,251	125,09	3,42	0,658
7510	Gen	13/11/02	34,4	1,87	48	1,87	12	<0		88,4	14,6	0,351	95,85	9,5	0,439
7323	Pla	20/11/02	16,1	0,521	53	1,17	9	<0		8,9	3,1	0,672	164,75	10,74	0,554
7311	Ber	20/11/02	40,1	0,739	117	0,89	9	<0		85,3	8,7	0,571	167,54	2,81	0,559
7278	Le B	18/11/02	18,4	0,293	49	0,9	9	<0		19,1	6,7	0,518	59,38	5,8	0,503

7228	Le C	14/11/02	8,4	3,146	25	2,71	12	<0	0,438	35,8	25,2	0,345	39,84	13,37	0,51
7151	Bli	9/11/02	14,1	0,843	52	0,21	9	<0		69,3	<3	0,251	67,88	0,782	0,612
7130	Pea	8/11/02	138	2,694	>300	2,22	12	<0		>500	27,4	0,402	>240	14,89	0,602
7077	El H	8/11/02	36,9	0,669	72	0,95	11	<0	0,373	87,2	8,5	0,162	116,95	5,29	0,421
6833	Bar	28/10/02	9,3	0,746	26	0,72	11	<0		22,7	3,8	0,358	40,76	5,71	0,625
6798	Del	21/10/02	85,7	0,795	173	0,73	9	<0	0,297	166	13,3	0,17	>240	0,98	0,482
6791	Oni	24/10/02	352,5	0,967	>300	0,98	12	<0	0,609	>500	3	0,437	>240	8,18	0,618
6767	Mar	21/10/02	64,4	1,182	138	1,3	11	<0	0,179	89,3	14	0,221	116,95	9,36	0,369
6735	Rob	15/10/02	45,2	2,061	221	1,28	9	<0	0,331	117	9,7	0,136	>240	3,09	0,527
6551	Jot	10/10/02	90,3	0,923	>300	0,79	11	<0		409	7,4	0,228	>240	3,81	0,426

161

Tableau
XXIX :
Réactiva
tions 01

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
6596	Fan	6/6/03	221,2	0,12	>300	0,08	0	<0		>500	<3	0,481	>240	0,089	0,653
5345		7/4/03	403,6	0,1	>300	0,05	0	<0	0,585	>500	<3	0,475	>240	0,092	0,602

8880	Lah	29/1/03	1889,1	0,2	>300	0,9	11	>20		>500	11,4	0,869	>240	3,23	0,716
8879		18/1/03	2997	0,19	>300	0,9	11	>20		>500	10	>0,950/0,734	>240	3,47	0,723
8390	Bon	8/1/03	2459,2	0,31	>300	0,82	9	18,5	0,5	>500	7,7	0,377	>240	5,86	0,679
1837		14/12/01	2571,4	0,4	>300	1,16	12	>20	0,561	>500	12,6	0,473	>240	7,71	0,723
7276	Cod	15/11/02	294,5	0,15	>300	0,12	3	<0	0,595	>500	<3	0,476	>240	0,447	0,703
6999	Roi	4/11/02	216,8	0,18	154	0,06	0	<0	0,755	273	<3	0,301	136,53	0,142	0,679
6998		11/9/02	10,4	0,17	26	0,06	0	<0	0,538	56,4	<3	0,416	78,04	0,14	0,646
6733	Ter	17/10/02	51,7	0,34	283	0,33	9	<0		472	<3	0,398	57,48	0,985	0,746
6734		2/9/02	9	0,34	45	0,35	9	<0	0,455	51,5	3,7	0,295	>240	0,919	0,624
6502	Rob	4/6/03	627,1	0,18	>300	0,26	6	<0	0,726	>500	<3	>0,950/0,562	>240	0,439	0,874
7715	Gar	5/12/02	467,9	0,36	>300	1,26	9	7,1		>500	10	>0,950/0,470	>240	5,46	0,755
7714		23/10/02	547,5	0,35	>300	1,3	11	8,1	0,6	>500	10,8	0,587	>240	5,85	0,732
7384	Car	18/11/02	493,2	0,17	>300	0,1	0	<0		>500	<3	0,396	>240	0,099	0,758
7383		26/10/02	411,3	0,14	>300	0,09	0	<0	0,632	>500	<3	0,414	>240	0,104	0,782
7382		5/4/02	9,4	0,15	33	0,07	0	<0	0,66	44,7	<3	0,46	35,67	0,087	0,761
1556	Jol	29/11/01	1176,6	0,24	>300	0,65	9	5,9		>500	6,1	0,361	>240	1,114	0,72
1515		27/11/01	1255,7	0,23	>300	0,67	9	2,8	0,7	>500	6,6	0,383	>240	1,137	0,726
9253	Lan	17/2/03	>3000	0,12	>300	0,17	6	10,9		>500	<3	0,527	>240	0,18	0,811
9282	Eto	18/2/03	1606,6	0,09	>300	0,09	6	>20		>500	<3	0,419	>240	0,102	0,793
6132	Le G	16/5/03	449,7	0,42	>300	0,19	0	8,1	0,549	>500	<3	0,441	188,12	0,185	0,75
9236		17/2/03	601,8	0,24	>300	0,21	3	7,7		>500	<3	0,463	199,65	0,201	0,732

Tableau
XXX :
Réactiva
tions 02

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
9179	Iba	14/2/03	636,3	0,25	>300	0,27	3	10,8		>500	3,7	0,488	>240	0,52	0,731
8089		24/12/02	714,2	0,25	>300	0,26	9	13,8		>500	<3	0,454	>240	0,532	0,737
9096	Neg	11/2/03	223,9	0,15	>300	0,17	3	2,5		>500	<3	0,429	>240	0,603	0,678
6039	Le G	20/9/02	1801	0,12	>300	0,15	3	13,2		>500	<3	0,355	>240	0,346	0,712
6507	Piv	5/6/03	1569,9	0,1	>300	0,05	0	5,1		>500	<3	0,299	>240	0,116	0,759

Tableau
XXXI :
Toxoplasmoses
récentes
01

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
6118	Kol	14/5/03	490,7	1,146	>300	0,76	11	17,8		>500	10,4	0,247	>240	2,87	0,204
6117		26/4/03	509,7	1,432	>300	0,9	11	>20		>500	15,3	0,163	>240	3,73	0,194
5753		8/4/03	267,4	1,618	256	1,04	12	16,3					>240	4,28	0,188
5752		21/3/03	261,4	2,006	>300	1,2	QI	14,3	0,041				>240	6,54	0,148

6063	Eme	14/5/03	119,3	1,693	67	2,9	12	>20	0,02	61,3	140	0,076	123,63	11,91	0,092
5973	Bou	9/5/03	794,9	0,547	>300	1	9	7,6		>500	22,8	0,232	>240	4,17	0,219
5632		19/4/03	852,3	0,78	>300	1,42	11	9,9	0,092	>500	25	0,195	>240	6,81	0,179
5971	Sou	9/5/03	286,6	0,337	165	0,94	9	11,9		429	14,9	0,157	>240	10,23	0,135
5001		22/3/03	441,3	0,794	221	1,53	11	11,2	0,043	315	40,6	0,13	>240	14,73	0,136
6127	Mar	16/5/03	2805,2	2,69	>300	4,82	12	>20		>500	150	0,169	>240	17,74	0,357
5787		2/5/03	>3000	3,659	>300	5,4	12	>20	0,113	>500	>160	0,136	>240	17,93	0,286
5758	Ped	30/4/03	219,2	4,245	107	6,2	12	14,3	0,038	98,2	>160	0,086	203,61	17,57	0,104
5727	Pel	29/4/03	587,9	1,401	152	1,55	12	2,1	0,114	487	11,3	0,253	239,03	10,64	0,161
5649	Sam	24/4/03	860,5	1,074	>300	1,97	12	5,6		>500	24,7	0,327	>240	11,58	0,164
5648		31/3/03	1071,5	2,354	>300	3,79	12	15	0,057	>500	71,1	0,269	>240	15,79	0,134
5602	Vai	23/4/03	278,3	1,98	134	3,93	12	>20		288	83,5	0,369	193,3	14,64	0,175
8641		18/1/03	286,4	3,31	138	5,77	12	>20		216	>160	0,08	222,17	18,37	0,174
8640		11/1/03	299,3	3,5	106	6,06	11	>20	0,09	233	>160	0,076	226,2	18,19	0,174
5482	Bou	16/4/03	1585,3	9,032	270	7,58	12	>20	0,066	>500	>160	0,1	205,58	20,43	0,175
5441	Sam	16/4/03	1450,9	1,258	>300	2,46	11	>20		>500	71,6	0,131	>240	10,98	0,242
8675		22/1/03	1473,1	2,97	>300	5,11	12	>20	0,074	>500	>160	0,115	>240	16,06	0,18
5316	Cha	5/4/03	103,1	57,78	46	8,46	12	>20	0,073	73,3	>160	0,112	48,54	19,44	0,144
5166	Tau	29/3/03	80,4	5,662	28	6,31	12	>20		31,4	>160	0,096	147,37	18,67	0,136
5164	Cor	29/3/03	851,3	0,563	>300	1,19	9	>20	0,026	>500	16,3	0,082	>240	8,4	0,126
5165		15/3/03	789,7	0,855	>300	1,61	9	>20		>500	27,7	0,058	>240	10,56	0,121
5153	Bou	1/4/03	282,7	1,353	280	2,78	12	10	0,131	>500	40,8	0,135	>240	12,99	0,26
5152		1/3/03	387,2	1,37	>300	2,86	12	11,8		>500	55,6	0,147	233,97	13,27	0,256
9560		5/2/03	361,2	0,99	256	2,84	12	14,7	0,159	>500	61,9	0,138	>240	13,28	0,284

Tableau
XXXII :
Toxoplasmoses
récentes
02

Numéro	Nom	Date	AxSYM® IgG	AxSYM® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
9947	Gam	20/3/03	2869,1	1,854	>300	4,29	12	>20		>500	131	0,22	>240	15,77	0,475
9946		10/3/03	>3000	1,932	>300	4,57	12	>20		>500	>160	0,217	>240	15,45	0,454
9863	Gir	19/3/03	216,7	2,471	125	1,81	11	4,2		110	17,2	0,074	147,96	6,02	0,083
6869		29/10/02	660,2	2,99	294	2,72	11	17,2		339	33,1	0,046	231,16	9,94	0,099
7957		14/9/02	115,6	4,26	70	3,21	12	12,8	0,016	96	77,3	0,055	174,42	12,16	0,12
9805	Rou	6/3/03	347,2	2,619	>300	5,51	12	4,8		>500	>160	0,082	216,84	18,02	0,191
9804		18/2/03	468,2	4,059	>300	6,46	12	6,1	0,054	>500	>160	0,088	239,61	18,62	0,165
9740	Alb	7/3/03	78,5	1,355	>300	2,36	11	5,3		>500	34,3	0,428	212,37	11,13	0,574
9739		6/2/03	98,8	1,34	>300	2,29	12	6,6	0,392	>500	36,2	0,394	>240	10,98	0,562
9738	Ker	10/3/03	202,8	7,48	186	4,16	12	15,2		221	68,9	0,08	223,26	18,44	0,175
9737		4/3/03	224	8,29	134	4,31	12	14,9	0,05	154	85,7	0,074	>240	18,25	0,242
9707	Leb	10/3/03	2342,2	0,45	>300	2,49	12	5,4		>500	37,8	0,34	>240	13,86	0,812
9706		3/2/03	2208,3	0,47	>300	2,54	11	6,2		>500	42,3	0,332	>240	13,12	0,776
9587	Erg	5/3/03	215	0,92	262	1,06	11	0,9		>500	7,8	0,299	>240	4,13	0,486
6284		1/10/02	715,4	1,49	>300	1,57	11	14,3		>500	15	0,179	199,38	7,59	0,446
5558		29/5/02	7,1	4,58	4	3,59	12	>20		11,6	110	0,204	5,49	13,98	
9336	Bou	19/2/03	1416,6	2,14	>300	3,61	12	16,4		>500	74,3	0,139	180,15	16,21	0,322
8407		9/1/03	949,7	2,14	277	5,04	12	>20	0,105	>500	154	0,093	>240	18,55	0,201
9264	Bar	18/2/03	268,2	2,193	>300	2,14	9	13,8	0,156	>500	70,1	0,209	>240	8,47	0,319
8817		28/1/03	212,1	2,5	236	2,43	11	15,6	0,151	>500	66,5	0,278	>240	8,83	0,305
9238	Joy	17/2/03	91,6	0,415	81	1,31	9	1,3		78,2	28,5	0,153	135,04	3,79	0,257

6842		23/7/02	589,3	2,66	192	5,75	12	13,1	0,027	>500	>160	0,076	176,28	15,71	0,142
9102	Lan	10/2/03	351,6	0,831	>300	0,93	9	1,1	0,168	>500	17	0,169	169,3	1,32	0,418
8813		25/1/03	277,4	1,12	>300	1,03	9	0,5	0,156	>500	17,2	0,182	180,16	1,59	0,403
8812	Da S	24/1/03	511,3	1,67	>300	3,12	11	5,5	0,356	>500	58,8	0,295	>240	13,29	0,531
8161		27/12/02	437,3	1,28	>300	3,24	11	7,1	0,279	>500	91,8	0,297	>240	14,07	0,465
6512	Akt	5/6/03	237,6	1,523	104	1,85	11	14,4		201	33,4	0,097	210,23	11,28	0,14
6192		19/5/03	167,5	1,967	56	2,52	12	14,5		76,4	50,9	0,14	192,13	14,03	0,14
6191		15/5/03	132,4	2,115	46	2,66	12	6,6		56,2	75,5	0,162	147,57	13,94	0,14

165

Tableau
XXXIII :
Toxoplasmoses
récentes
03

Numéro	Nom	Date	AxSYM® IgG	AxSYM® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
5507	Mar	15/4/03	551,4	1,481	>300	2,59	12	0,6		>500	35,3	0,227	>240	9,05	0,413
5506		23/10/02	82,7	5,305	32	5,88	12	15,7	0,067	41,7	>160	0,209	118,61	14,26	0,178
6392	Lau	30/5/03	9,3	0,86	17	1,55	12	<0		15,1	8,4	0,455	19,39	7,99	0,281
7760		6/12/02	109,8	1,99	88	2,85	12	<0	0,099	161	18,3	>0,950/0, 138	116,93	11,52	0,235
7036		4/11/02	134	2,42	110	3,27	12	<0	0,097	196	27,2	0,102	134,09	13,28	0,176
6698		17/10/02	129,8	3,59	146	4,23	12	0	0,084	292	52,3	0,086	135,77	14,42	0,176

Tableau
XXXI :
Sérocon
versions
01

Numéro	Nom	Date	Axsym® IgG	Axsym® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
6002	Bra	12/5/03	6,5	0,9	4	1,55	11	<0		4,2	29,7		5,83	4,43	
6001		25/4/03	2,2	1,182	1	1,8	11	<0		<3	35,2		2,07	6,9	
6000		11/4/03	0,4	0,652	0	1,18	11	<0		<3	20		0,39	2,59	
5478	Mig	17/4/03	28	2,83	9	4,49	12	1,9		6,5	>160		33,57	14,18	0,223
5102		31/3/03	7,4	3,91	1	4,18	12	10,4		<3	>160		5,14	12,47	
9759		14/3/03	0,2	1,45	0	2,87	12			<3	84,9		0,79	10,32	
5464	Dal	14/4/03	7,8	7,346	1	5,94	12	>20		<3	146		3,57	16,94	
5463		6/3/03	0	0,103	0	0,04	0	<0		<3	<3		0	0,039	
5292	Fer	8/4/03	676,4	7,771	159	6,59	12	>20		184	>160	0,087	141	16,4	0,225
9824		14/3/03	62,3	6,838	35	5,77	12	16,5		19,1	>160	0,153	44,75	15,84	0,122
9823		12/2/03	0	0,153	0	0,06	3	<0		<3	<3		0,06	0,209	
9490	De L	27/2/03	14,2	0,78	13	2,84	12	6,4		13,4	18,8	0,167	39,72	14,72	0,226
8825		25/1/03	8,5	1,33	4	4,37	12	12,2		8,5	48	0,206	12,61	15,76	
8824		26/11/02	0	0,06	0	0,04	0			<3	<3		0	0,06	
9337	Mas	21/2/03	140,7	2,825	52	4,59	12	3,6		57,6	>160	0,038	96,42	13,45	0,114
9352		18/2/03	66,5	2,49	38	4,41	12	2,1		35	>160	0,033	53,56	13,61	0,127
9351		21/1/03	0,1	0,42	0	0,79	9	<0		<3	13,6		0	1,87	
9193	Nau	14/2/03	LAC	LAC	65	2,77	12	<0		52,3	38	>0,950/0,088	94,33	11,01	0,19
8859		30/1/03	29	3,69	12	3,77	11	<0		9,5	77,8	0,081	38,03	12,01	0,282
8762		23/1/03	14,3	3,25	3	3,76	12	<0		4,7	59,8		16,22	12,84	0,37
8761		3/1/03	0	0,21	0	0,2	3	<0		<3	<3		0,34	0,431	
9073	Gok	9/2/03	192,5	0,585	63	0,71	11	<0		79,4	8	0,066	105,63	2,27	0,098
8024		17/12/02	777,6	1,94	132	2,03	12	1,2		319	28,9	0,041	184,54	10,64	0,156
7508		27/11/02	259,4	2,58	106	2,71	12	3,8		196	51,5	0,045	154,82	12,34	0,122
7223		13/11/02	151,3	2,34	69	2,21	12	2,8		73,6	45,7	0,065	70,26	10,37	0,099
7222		10/10/02	0,2	0,36	0	0,32	9	<0		<3	4,8		0,46	0,679	
8811	Le F	25/1/03	3,5	4,12	1	5,78	12	0		<3	85,3		4,08	15,6	

8668		17/1/03	0,5	1,63	0	2,63	12			<3	27,3		1,29	11,54
------	--	---------	-----	------	---	------	----	--	--	----	------	--	------	-------

167

Tableau
:XXXII
Sérocon
versions
02

Numéro	Nom	Date	AxSYM® IgG	AxSYM® IgM	Vidas® IgG	Vidas® IgM	ISAGA	IgA	Avidité	Liaison® IgG	Liaison® IgM	Liaison® avidité	Platelia® IgG	Platelia® IgM	Platelia® avidité
8979	Mor	6/2/03	7,5	0,85	5	2,06	11	<0		9,1	22,1	0,318	32,1	10,01	0,238
6913		26/7/02	2,4	2,27	1	4,6	12	0		4,9	76,7		13,85	14,73	
6912		10/7/02	0	0,15	0	0,06	0	<0		<3	<3		3,12	0,116	
6158	Mét	18/5/03	83,1	0,66	80	0,89	12	<0		194	6,7	>0,950/0, 200	127,4	5,87	0,241
8666		20/1/03	28	2,49	8	4,17	12	0,7		7,1	57,2		20,63	13,72	0,168
8411		9/1/03	2,5	1,14	0	1,82	12	<0		<3	16,5		1,41	9,27	
6463	Rio	30/5/03	5,7	2,508	0	1,87	11	<0		<3	32,8		1,78	10,53	
6462		5/5/03	0,4	0,138	0	0,05	1	<0		<3	<3		0,55	0,08	
6631	Le P	12/6/03	64,2	2,319	30	2,84	12	9,2		33,1	43,7	0,053	61,86	12,24	0,136
6589		5/6/03	28,7	2,45	11	2,62	12	6,5		11,1	32,4	0,039	29,1	12,29	0,351
6588		5/5/03	0	0,093	0	0,03	0	<0		<3	<3		0	0,085	
6551	Lau	3/6/03	0,7	1,162	0	0,99	11	<0		<3	9,1		3,6	6,5	
6550		2/5/03	0,1	0,131	0	0,06	0	<0		<3	<3		3,56	0,057	

BIBLIOGRAPHIE

- Alvarado-Esquivel C, Sethi S, Janitschke K, Hahn H, Liesenfeld O. Comparison of two commercially available avidity tests for toxoplasma-specific IgG antibodies. *Arch Med Res* 2002;33(6):520-3.
- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, du Mazaubrun C, Thulliez P, Wisclo M, Carme B. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. *BEH* 1996;51.
- Baril L, Ancelle T, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carme B. Facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose chez la femme enceinte en 1985. *BEH* 1996;16:73-75.
- Beauvais B, Garin JF, Lariviere M, Languillat G. Toxoplasmose et leucémie myéloïde chronique. *Nouv Rev Fr Hematol Blood Cells* 1976;16(2):169-84.
- Bessieres MH, Roques C, Berrebi A, Barre V, Cazaux M, Seguela JP. IgA antibody response during acquired and congenital toxoplasmosis. *J Clin Pathol* 1992;45(7):605-8.
- Bobic B, Sibalic D, Djurkovic-Djakovic O. High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infection. Case report. *Gynecol Obstet Invest* 1991;31(3):182-4.
- Bommer W. The life cycle of virulent toxoplasma in cell cultures. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1969;47(4):505-12.
- Bonhomme A, Pingret L, Pinon JM. Review: *Toxoplasma gondii* cellular invasion. *Parassitologia* 1992;34(1-3):31-43.
- Candolfi E, Ramirez R, Hadju MP, Shubert C, Remington JS. The Vitek immunodiagnostic assay for detection of immunoglobulin M toxoplasma antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994;1(4):401-5.
- Cazenave J, Forestier F, Bessières MH, Broussin B. Contribution of a new PCR assay to the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Prenat Diagn* 1992;12(2):119-27.
- Chiappino ML, Nichols BA, O'Connor GR. Scanning electron microscopy of *Toxoplasma gondii* : parasite torsion and host-cell responses during invasion. *J Protozool* 1984;31(2):288-92.
- Cimon B, Marty P, Morin O, et al. Specificity of low anti-Toxoplasma IgG titers with

IMx and AxSYM Toxo IgG assays. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;32(1):65-7.

Cimon B, Penn P, Brun S, Chabasse D. Comment résoudre les difficultés du sérodiagnostic chez la femme enceinte ? *Immuno-analyse et Biologie spécialisée* 2002;17:143-147.

Costa J, Thulliez P, Vidaud M. Toxoplasmose congénitale. *Gyn Obs* 1994;16:316.

Couvreur G, Sadak A, Fortier B, Dubremetz JF. Surface antigens of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology* 1988;97 (Pt 1):1-10.

Couvreur J. Le traitement in utero de la toxoplasmose congénitale avec une association pyriméthamine-sulfadiazine. *Presse Med* 1991;20(24):1136.

Couvreur J. Toxoplasmose congénitale. Prise en charge et devenir. *Med Mal Infect* 1993;23 spécial:176-182.

Couvreur J. Le problème de la toxoplasmose congénitale : l'évolution sur quatre décennies. *Presse Med* 1999;28(14):753-7.

Cozon GJ, Ferrandiz J, Nebhi H, Wallon M, Peyron F. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17(1):32-6.

Decoster A, Lecolier B. Bivalent evaluation of Access Toxo immunoglobulin M (IgM) and IgG assays and IMx toxo IgM and IgG assays and comparison with Platelia Toxo IgM and IgG assays. *J Clin Microbiol* 1996;34(7):1606-9.

Denkers EY, Gazzinelli RT. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. *Clin Microbiol Rev* 1998;11(4):569-88.

Derouin F, Mazon MC, Garin YJ. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 1987;25(9):1597-600.

Derouin F, Garin YJ, Buffard C, Berthelot F, Petithory JC. Etude multicentrique de la sérologie toxoplasmique par différents réactifs ELISA commercialisés. Le groupe de travail Toxoplasmose du contrôle national de qualité en parasitologie. *Bull World Health Organ* 1994;72(2):249-56.

Desmonts G. Sur la technique de l'épreuve de lyse des toxoplasmes. Réaction de Sabin et Feldman. *Sem. Hôp. Paris* 1955(31):193.

Desmonts G, Couvreur J. Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. *N Engl J Med* 1974;290(20):1110-6.

Desmonts G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol* 1980;11

(6):562-8.

Desmonts G. Toxoplasmose acquise de la femme enceinte. Estimation du risque de transmission du parasite et de la toxoplasmose congénitale. Lyon Med 1982;248 hors-série(115-124).

Desmonts G, Couvreur J. Histoire naturelle de la toxoplasmose congénitale. Ann Pediatr (Paris) 1984;31(10):799-802.

Desmonts G. [Prevention of toxoplasmosis: observations on follow-up experience in France]. Prog Clin Biol Res 1985;163B:333-7.

Desmonts G, Couvreur J, Thulliez P. Toxoplasmose congénitale : cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. Presse Med 1990;19(31):1445-9.

Dubey JP. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. J Parasitol 1996;82(6):957-61.

Dupouy-Camet J, Gavinet M, Paugam A, Tourte-Schaefer C. Mode de contamination, incidence et prévalence de la toxoplasmose. Med Mal Infect 1993;23 spécial:139-147.

Dussaix E, Chantot S, Harzic M, Grangeot-Keros L. CMV-IGG avidity and CMV-IGM concentration in both immunocompromised and immunocompetent patients. Pathol Biol 1996;44(5):405-10.

Eloy O, Mohamed AE, Zuilly E, Volland J, Ghnassia J. Exclusion d'infection toxoplasmique récente chez la femme enceinte par la méthode Toxo IgG avidity Vidas®. Ann Biol Clin 2000;58(2):194-7.

Evans R, Ho-Yen D. Evidence-based diagnosis of toxoplasma infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001;19:829-833.

Ferguson DJ, Hutchison WM, Dunachie JF, Siim JC. Ultrastructural study of early stages of asexual multiplication and microgametogony of *Toxoplasma gondii* in the small intestine of the cat. Acta Pathol Microbiol Scand [B] Microbiol Immunol 1974;82(2):167-81.

Ferguson DJ, Hutchison WM, Pettersen E. Tissue cyst rupture in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. An immunocytochemical and ultrastructural study. Parasitol Res 1989;75(8):599-603.

Ferguson DJP, Birch-Anderson, Siim J.C and Hutchinson W.M. Observations on the ultrastructure of the sporocyst and the initial of sporozoite formation in *Toxoplasma gondii*. Acta Pathol Microbiol Scand Sect B 1978;86:165-167.

Filice GA. Antimicrobial properties of Kupffer cells. Infect Immun 1988;56(6):1430-

5.

Fortier B, Aissi E, Ajana F, et al. Spontaneous abortion and reinfection by *Toxoplasma gondii*. *Lancet* 1991;338(8764):444.

Fortier B, Coignard-Chatain C, Soete M, Dubremetz JF. Structure et biologie des bradyzoïtes de *Toxoplasma gondii*. *C R Seances Soc Biol Fil* 1996;190(4):385-94.

Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. *Toxoplasma gondii*: fecal forms separated from eggs of the nematode *Toxocara cati*. *Science* 1969;164(878):432-3.

Frenkel JK. *Toxoplasma* in and around us. *BioScience* 1973;23:343-352.

Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Racinet C, Bost M, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Congenital toxoplasmosis: specific IgM in fetal blood, cord blood and in the newborn. *Ann Biol Clin (Paris)* 1996;54(3-4):165-8.

Fulton JD, Turk JL. Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet* 1959;2:1068-9.

Garin J, Ambroise-Thomas P. The serological diagnosis of toxoplasmosis by the fluorescent antibody method (indirect technic). *Presse Med* 1963;71:2485-8.

Garin J, Piens M, Maisonneuve H. Toxoplasmose congénitale. *Rev Ped* 1984;20(6):279-287.

Garin J, Poloce F. Sérologie toxoplasmique : pourquoi et comment détecter les IgM. *Rev Fr Labo* 1990;210:63-68.

Gavinet MF, Robert F, Firtion G, et al. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *J Clin Microbiol* 1997;35(5):1276-7.

Goldman M. Staining *Toxoplasma gondii* with fluorescein-labelled antibody. I. The reaction in smears of peritoneal exudate. *J Exp Med* 1957;105(6):549-56.

Goldman M. Staining *Toxoplasma gondii* with fluorescein-labelled antibody. II. A new serologic test for antibodies to *Toxoplasma* based upon inhibition of specific staining. *J Exp Med* 1957;105(6):557-73.

Goubet S, Pelloux H, Fricker-Hidalgo H, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Sérodiagnostic de la toxoplasmose : comparaison de la trousse Elisa AxSYM® (Abbott) avec la trousse Vidas® (bioMérieux), l'immunofluorescence indirecte et l'ISAGA. *Ann Biol Clin (Paris)* 1999;57(4):481-4.

Hedman K, Lappalainen M. Avidity of IgG in serodiagnosis of infectious diseases. *Rev Med Microbiol* 1993;4:123-129.

Hedman K, Lappalainen M, Seppä I, Makela O. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J Infect Dis* 1989;159(4):736-40.

Hennequin C, Dureau P, N'Guyen L, Thulliez P, Gagelin B, Dufier JL. Congenital toxoplasmosis acquired from an immune woman. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16(1):75-7.

Hezard N, Marx-Chemla C, Foudrinier F, et al. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis in 261 pregnancies. *Prenat Diagn* 1997;17(11):1047-54.

Holliman RE, Raymond R, Renton N, Johnson JD. The diagnosis of toxoplasmosis using IgG avidity. *Epidemiol Infect* 1994;112(2):399-408.

Hoogstoël C, Morin O. Intérêt et limite de la détermination de l'avidité des immunoglobulines G dans le diagnostic de toxoplasmose maternelle. *Rev Fr Labo* 2000;319:53-57.

Ho-Yen DO, Joss AW, Chatterton JM. Congenital toxoplasmosis. *BMJ* 1992;305(6854):651-2.

Hutchinson WM. Recent observations on the biology of *Toxoplasma gondii*. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1966;86:185-9.

Jacobs L, Remington JS, Melton ML. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol* 1960;46:11-21.

Jenum PA, Stray-Pedersen B, Gundersen AG. Improved diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin G avidity. *J Clin Microbiol* 1997;35(8):1972-7.

Jenum PA, Stray-Pedersen B. Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol* 1998;36(10):2907-13.

Johnson A, Murray P, Illana S, Baverstock P. Rapid nucleotid sequence analysis of the small subunit ribosomal RNA of *Toxoplasma gondii*, evolutionary implications for the Apicomplexa. *Molecular and biochemical Parasitology* 1987;25:239-246.

Joynton DH, Payne RA, Rawal BK. Potential role of IgG avidity for diagnosing toxoplasmosis. *J Clin Pathol* 1990;43(12):1032-3.

Lappalainen M, Koskela P, Koskiniemi M, et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. *J Infect Dis* 1993;167(3):691-7.

Lavarde V, Heyer F, Deluol A, Belkacem G. Automatisation des sérologies de la toxoplasmose : évaluation du Vidas BioMérieux. *Feuillets Biol* 1993;34:43-6.

Lecolier B, Pucheu B. Intérêt de l'étude de l'avidité des IgG pour le diagnostic de la toxoplasmose. *Pathol Biol (Paris)* 1993;41(2):155-158.

Lecolier B, Pucheu B. Comparaison de deux techniques de mesure de l'avidité des IgG

pour le diagnostic de la toxoplasmose. Rev Fr Labo 1994;271:15-18.

Levine NV. The protozoan phylum Apicomplexa. UCRL Press, Inc Boca Raton, Florida 1988.

Luyasu V, Robert AR, Schaefer L, Macioszek J. Multicenter evaluation of a new commercial assay for detection of immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. Multicenter Study Group. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995;14(9):787-93.

Marty P, Le Fichoux Y, Deville A, Forest H. Toxoplasmose congénitale et toxoplasmose ganglionnaire maternelle préconceptionnelle. Presse Med 1991;20(8):387.

Mets MB, Holfels E, Boyer KM, et al. Eye manifestations of congenital toxoplasmosis. Am J Ophthalmol 1997;123(1):1-16.

Morgan-Capner P, Thomas HI. Serological distinction between primary rubella and reinfection. Lancet 1988;1(8599):1397.

Morin O. Diagnostic néonatal de la toxoplasmose congénitale. Apport des nouvelles techniques de diagnostic. Immuno-analyse et Biologie spécialisée 2002;17:231-237.

Morrisette NS, Murray JM, Roos DS. Subpellicular microtubules associate with an intramembranous particle lattice in the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. J Cell Sci 1997;110 (Pt 1):35-42.

Nichols BA, Chiappino ML, O'Connor GR. Secretion from the rhoptries of *Toxoplasma gondii* during host-cell invasion. J Ultrastruct Res 1983;83(1):85-98.

Nicolas J, Pestre-Alexandre M. Toxoplasmose : une zoonose transmissible à l'homme. Med Mal Infect 1993;23 spécial:129-138.

Nicolle C, Manceaux L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du *gondii*. C R Acad Sci (Paris) 1908;147:763-6.

Niel G, Desmots G, Gentilini M. Immunofluorescence quantitative et diagnostic sérologique de la toxoplasmose : introduction des unités internationales dans l'expression des résultats. Pathol Biol (Paris) 1973;21(2):157-61.

O'Connor GR. Manifestations and management of ocular toxoplasmosis. Bull N Y Acad Med 1974;50(2):192-210.

Pelloux H, Ciapa P, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Evaluation du système Vidas® pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose. Ann Biol Clin (Paris) 1993;51(10-11):875-8.

Pelloux H, Brun E, Vernet G, et al. Determination of anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin G avidity: adaptation to the Vidas system (bioMérieux). Diagn

- Microbiol Infect Dis 1998;32(2):69-73.
- Peloux Y, Couzineau P, Baufine-Ducrocq H, Tayot JL, Jacquot D. La réaction d'agglutination directe des toxoplasmes; rôle des immunoglobulines 19S et 7S. *Ann Biol Clin (Paris)* 1973;31(3):185-92.
- Petithory JC, Ambroise-Thomas P, De Loye J, et al. Le sérodiagnostic de la toxoplasmose : Etude comparative multicentrique d'une gamme étalon, par les différents tests actuels et avec expression des résultats en unités internationales. Groupe de travail toxoplasmose du Contrôle national de qualité en parasitologie. Syndicat des fabricants de réactifs de laboratoire. Groupe de travail standardisation des tests sérologiques du Réseau européen de lutte contre la toxoplasmose congénitale]. *Bull World Health Organ* 1996;74(3):291-8.
- Pettersen EK. Destruction of *Toxoplasma gondii* by HC1 solution. *Acta Pathol Microbiol Scand [B]* 1979;87(4):217-20.
- Pinon J, Gruson N. Intérêt des profils immunologiques comparés ELIFA dans le diagnostic précoce de la toxoplasmose congénitale. *Lyon Med* 1982;248:27-30.
- Pinon J, Quereux C, Leroux B, Trichet C, Dupouy D, Thoannes H. Progrès récents dans la détection et la surveillance de la toxoplasmose materno-foetale. *Actualités gynécologiques* 1983:89-197.
- Pinon JM, Chemla C, Villena I, et al. Early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: value of comparative enzyme-linked immunofiltration assay immunological profiles and anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin M (IgM) or IgA immunocapture and implications for postnatal therapeutic strategies. *J Clin Microbiol* 1996;34(3):579-83.
- Pratlong F, Boulot P, Villena I, et al. Antenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of the biological parameters in a cohort of 286 patients. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103(6):552-7.
- Remington JS. The present status of the IgM fluorescent antibody technique in the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Pediatr* 1969;75(6):1116-24.
- Robert-Gangneux F, Vieljeuf. Apport de l'avidité des anticorps dans la situation d'une séroconversion toxoplasmique. *Ann Biol Clin* 1998;56(5):586-9.
- Robert-Gangneux F, Gavinet MF, Ancelle T, Raymond J, Tourte-Schaefer 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(9):2893-8.
- Roberts A, Hedman K, Luyasu V, et al. Multicenter evaluation of strategies for

serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20(7):467-74.

Sabin AB. Toxoplasmosis a recently recognized disease of human beings. *Adv Pediat* 1942;1:1.

Sabin AB, Feldman HA. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). *Science* 1948;108:660-663.

Saffer LD, Mercereau-Puijalon O, Dubremetz JF, Schwartzman JD. Localization of a *Toxoplasma gondii* rhoptry protein by immunoelectron microscopy during and after host cell penetration. *J Protozool* 1992;39(4):526-30.

Sensini A, Pascoli S, Marchetti D, et al. IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection: a multicenter study. *Clin Microbiol Infect* 1996;2(1):25-29.

Sheffield HG, Melton ML. The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol* 1968;54(2):209-26.

Splendore A. Un nuovo protozoo parassita de conigli incontrato nelle lesioni anatomiche della malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uomo. Nota preleminare pel. *Rev Soc Sci Sao Paulo* 1908;3:109-12.

Thornburn H, Williams H. A stable hemagglutinating antigen for detecting toxoplasma antibodies. *J. Clin. Path.* 1972;25:762-767.

Thulliez P, Remington JS, Santoro F, Ovlaque G, Sharma S, Desmots G. Une nouvelle réaction d'agglutination pour le diagnostic du stade évolutif de la toxoplasmose acquise. *Pathol Biol (Paris)* 1986;34(3):173-7.

Thulliez P, Desmots G. Toxoplasmose et grossesse. *Le concours médical*. 1988;110(37):3320-3326.

Thulliez. P. Toxoplasmose et grossesse. *Med Mal Infect* 1993;23 spécial:170-175.

Villena I, Aubert D, Brodard V, et al. Detection of specific immunoglobulin E during maternal, fetal, and congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 1999;37(11):3487-90.

Voller A, Bidwell DE, Bartlett A, Fleck DG, Perkins M, Oladehin B. A microplate enzyme-immunoassay for toxoplasma antibody. *J Clin Pathol* 1976;29(2):150-3.

Wallon M, Cozon G, Ecochard R, Lewin P, Peyron F. Serological rebound in congenital toxoplasmosis: long-term follow-up of 133 children. *Eur J Pediatr* 2001;160(9):534-40.

Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Ware D. Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma*

1997;35(12):3112-5.gondii. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. J Clin Microbiol

Wolf A, Manceaux L. Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalitozoon (encephaliozic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. Bull Neurol Inst N Y 1937;6:306.

Wong SY, Hajdu MP, Ramirez R, Thulliez P, McLeod R, Remington JS. Role of specific immunoglobulin E in diagnosis of acute toxoplasma infection and toxoplasmosis. J Clin Microbiol 1993;31(11):2952-9.

Zenner L, Darcy F, Cesbron-Delauw MF, Capron A. Rat model of congenital toxoplasmosis: rate of transmission of three *Toxoplasma gondii* strains to fetuses and protective effect of a chronic infection. Infect Immun 1993;61(1):360-3.

Zuber P, Jacquier P. Epidémiologie de la toxoplasmose : situation au niveau mondial. Schweiz Med Wochenschr Suppl 1995;65:195-225.

**Nom – Prénom : MARTIN Charlotte
Titre de la thèse :**

**Sérologie de la toxoplasmose.
Etude de l'avidité des Immunoglobulines G. Comparaison de deux
techniques : microplaque Platelia® et automate Liaison®.**

Résumé de la thèse :

Le diagnostic sérologique de la toxoplasmose repose essentiellement sur le dosage des IgG et des IgM ; la détermination de l'avidité des IgG contribue à la datation de la séroconversion.

393 sérums regroupés en six populations : sérums négatifs, toxoplasmoses chroniques, toxoplasmoses chroniques avec persistance d'IgM, séroconversions, toxoplasmoses récentes et réactivations, ont été testés en IgG et IgM avec deux techniques différentes : une manuelle, Platelia® Biorad et une automatisée, Liaison® DiaSorin, en comparaison avec AxSYM® et Vidas®. Lorsque l'interprétation sérologique est délicate, il est possible de déterminer l'avidité des IgG. 270 sérums ont ainsi été testés en avidité par les deux mêmes techniques.

Notre étude montre que les résultats obtenus avec Platelia® et Liaison® s'apparentent à ceux du Vidas®, en terme de cinétique des anticorps. Par ailleurs, l'étude sur l'avidité confirme qu'une avidité élevée permet d'exclure une toxoplasmose récente.

La combinaison des techniques améliore ainsi l'interprétation de la sérologie.

Mots clés : TOXOPLASMOSE – AUTOMATES – IgG – IgM – AVIDITE DES IgG

JURY :

Président : Madame le Professeur Berthe-Marie IMBERT
Professeur de Virologie UFR Pharmacie Nantes
Membres : Monsieur le Professeur Dominique CHABASSE
PU-PH Parasitologie CHU Angers
Madame le Docteur Odile MORIN
MCU-PH Parasitologie CHU Nantes
Monsieur le Docteur Philippe DOUET
Pharmacien Biologiste