

## TOXOPLASMOSE

### DEFINITION

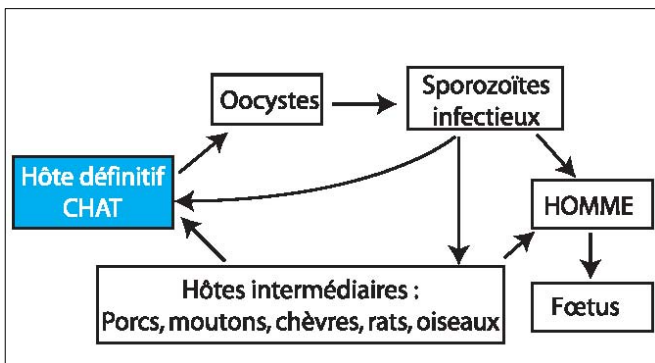
La toxoplasmose est une affection due à un sporozoaire, *Toxoplasma gondii*. En fonction de l'hôte infecté, le toxoplasme se présente sous différentes formes :

- **Le tachyzoïte** (forme *Toxoplasma*) est un organisme de 5-10 µm sur 3-4 µm, piriforme, arqué et à extrémité effilée. Il se multiplie rapidement dans les macrophages. Il est très fragile dans le milieu extérieur.

- **Le bradyzoïte** (cystozoïte) a une structure voisine du précédent. La multiplication est lente dans les cellules du tissu cérébral et musculaire où les bradyzoïtes se regroupent sous forme de kystes.

- **L'oocyste** mesure 15 µm sur 10 µm. Résistant, il mature dans le sol pour donner deux sporocystes contenant 4 **sporozoïtes** chacun. Le sporozoïte ressemble au tachyzoïte.

Le cycle parasitaire est résumé dans la figure 1 ci-dessous.



L'hôte définitif du toxoplasme est le chat, qui présente une infection du tube digestif et qui élimine les oocystes. Ces derniers évoluent dans le sol pour donner des sporozoïtes infectieux qui sont ingérés soit par l'hôte définitif (cycle court), soit par des hôtes intermédiaires (mammifères dont l'homme, oiseaux – cycle long) chez lesquels les bradyzoïtes s'enkystent.

### BIOPATHOLOGIE

#### ■ EPIDEMIOLOGIE

En France, les données récentes (2003) font état de 44 % de séroprévalence contre le toxoplasme chez l'adulte. La présence d'anticorps IgG indique l'existence d'une infection antérieure avec persistance de kystes qui se traduit par une «immunité».

La contamination se produit :

- **soit par ingestion d'oocystes telluriques** (eau, aliments, mains souillées). Les oocystes résistent

plusieurs mois dans le sol. Ils sont tués par la chaleur, la dessiccation, la congélation ;

- **soit par ingestion de kystes infectieux** contenus dans de la viande insuffisamment cuite. La présence de kystes est largement répandue dans la viande de boucherie.

La transmission maternofoetale peut être la conséquence d'une primo-infection toxoplasmique survenant pendant la grossesse. On estime actuellement en France le risque à 2,5 primo-infections pour 1000 grossesses.

Chez le sujet immunodéprimé anciennement infecté par le toxoplasme, la transformation des bradyzoïtes contenus dans les kystes sous forme de tachyzoïtes (réactivation) qui essaient par voie sanguine est fonction du degré d'altération de l'immunité cellulaire.

#### ■ CLINIQUE

- **Toxoplasmose acquise chez le sujet immunocompétent** : l'infection est le plus souvent asymptomatique. La forme subaiguë se traduit, après une incubation de quelques jours, par un tableau de fièvre modérée et prolongée avec adénopathies cervicales et syndrome mononucléosique. L'évolution vers la guérison est habituelle, avec persistance des kystes. Cette dernière permet le maintien d'une immunité durable, non stérilisante, mais protectrice contre toute nouvelle contamination. L'immunité est objectivée par la présence d'anticorps IgG.

Les formes compliquées (oculaires, cardiaques, pulmonaires ou cérébrales) sont exceptionnelles.

- **Transmission materno-fœtale : la toxoplasmose congénitale** : l'atteinte embryofœtale fait suite à la colonisation du placenta par le toxoplasme au cours de la phase septicémique. Le risque de passage transplacentaire est faible avant le 4<sup>ème</sup> mois, mais lorsqu'il se produit, il peut provoquer la mort *in utero* ou la naissance d'un enfant présentant des troubles psychomoteurs graves avec calcifications intracrâniennes, hydrocéphalie, convulsions, troubles végétatifs, et troubles oculaires (choriorétinite pigmentaire). Les formes généralisées (atteinte hépatique avec ictère néonatal, hémorragies muqueuses) ont un pronostic très sombre. L'infection foetale est plus fréquente au cours de la seconde partie de la grossesse. Les conséquences sont réputées moins graves (choriorétinite pigmentaire, crises convulsives, retard psycho-moteur). La toxoplasmose peut être latente et asymptomatique à la naissance, mais se révéler ultérieurement (lésions oculaires après plusieurs années).

- **Toxoplasmose de l'immunodéprimé** : chez les patients atteints de SIDA, il s'agit le plus souvent de la réactivation des kystes cérébraux. Elle se traduit par des lésions du cortex avec fièvre, céphalées, troubles du comportement et lésions oculaires. Chez les patients

transplantés, la transformation des bradyzoïtes en tachyzoïtes qui essaient par voie sanguine peut entraîner une toxoplasmose aiguë disséminée consécutive, soit à la réactivation des kystes du receveur, soit à l'apport de kystes par le greffon.

## INDICATIONS DE LA RECHERCHE

Diagnostic étiologique d'un syndrome mononucléosique ou d'une adénopathie.

Exploration d'un syndrome fébrile chez le transplanté ou la femme enceinte.

Exploration d'un syndrome neurologique, d'une chorioretinite surtout chez le sujet immunodéprimé et le jeune enfant.

Exploration d'une anomalie fœtale.

Diagnostic étiologique d'une pathologie congénitale (forme septicémique, forme localisée).

Détermination du statut sérologique toxoplasmique chez la femme enceinte, un receveur et un donneur potentiel de greffon.

Surveillance de la femme enceinte.

## RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

### ■ PRELEVEMENT – CONSERVATION, TRANSPORT

En fonction de la symptomatologie, les prélèvements peuvent être multiples : sang total prélevé sur EDTA ou citrate, LCR, humeur aqueuse, lavage bronchoalvéolaire, biopsie cérébrale ou hépatique, placenta. Le liquide amniotique ne doit pas être recueilli avant la 20<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée et au moins six semaines après la date de la séroconversion maternelle si celle-ci peut être appréciée.

La recherche des anticorps est réalisée sur sérum.

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

### ■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Statut immunitaire, séropositivité VIH éventuelle, état de grossesse, anomalies échographiques, type et début des signes cliniques ?

## METHODES DE DIAGNOSTIC

### ■ DIAGNOSTIC DIRECT

- **Examen histo-cytologique** : il s'agit de la mise en évidence des toxoplasmes dans les lésions tissulaires, soit après coloration (May-Grunwald-Giemsa, coloration histochimique), soit après marquage par un anticorps monoclonal fluorescent. C'est une méthode peu sensible, les parasites étant le plus souvent peu nombreux.

- **Inoculation à la souris** : elle peut être réalisée sur tous les types de prélèvements. Les résultats sont obtenus en 30 à 45 jours après autopsie et mise en évidence des toxoplasmes dans les kystes cérébraux. On peut essayer de détecter les parasites dans le liquide de lavage péritonéal à partir du 7<sup>e</sup> jour après inoculation.

- **Isolement sur culture cellulaire** : cette technique est sensible aux contaminations bactériennes, mais elle peut permettre la mise en évidence des toxoplasmes en quelques jours par inoculation de cellules fibroblastiques embryonnaires humaines (MRC5 ou équivalent). Les toxoplasmes sont visualisés après coloration au Giemsa ou marquage par anticorps fluorescent.

- **Détection du génome viral** : elle est réalisée par PCR à partir de la plupart des prélèvements. Les techniques les plus sensibles ciblent des séquences géniques répétées. La détection de l'ADN toxoplasmique dans le liquide amniotique signe la contamination materno-fœtale. La quantification de la charge virale par PCR en temps réel permettrait d'apprécier la gravité potentielle de la contamination.

### ■ DIAGNOSTIC INDIRECT

Chez les sujets non immunodéprimés, et en particulier chez la femme enceinte, le diagnostic de la toxoplasmose repose avant tout sur la mise en évidence de la réponse immunitaire humorale spécifique. Il est souvent important de combiner des techniques utilisant des antigènes de nature différente, de rechercher plusieurs isotypes (IgG et IgM, éventuellement IgA et IgE) pour assurer la meilleure interprétation possible. NB : la présence des IgA et des IgE est inconstante, ce qui limite leur usage en diagnostic.

- **Techniques utilisant des antigènes figurés (corps toxoplasmiques)**

Dye test (Sabin et Feldman) : il est fondé sur la lyse des toxoplasmes vivants obtenus à partir du liquide péritonéal de souris infectées par les anticorps en présence de complément humain frais. La lecture se fait au microscope en contraste de phase. Longtemps considéré comme référence, ce test lourd et coûteux n'est plus pratiqué que par des laboratoires très spécialisés.

Agglutination directe (Fulton) : il met en jeu l'agglutination d'une suspension de toxoplasmes inactivés par le formol par les anticorps. La technique peut être sensibilisée (ADS) par traitement préalable des toxoplasmes par la trypsine. On teste le sérum natif et après traitement par le 2-mercapto-éthanol pour avoir, d'après la différence des titres obtenus, une estimation de la présence éventuelle d'anticorps IgM. Le test est simple à réaliser et à lire, mais les résultats peuvent être approximatifs. Il est actuellement peu pratiqué.

Le test HS/AC implique la comparaison des titres d'anticorps obtenus par agglutination de toxoplasmes

fixés par le formol (HS) et par l'acétone ou le méthanol (AC), ces derniers étant réputés plus précoces.

**Agglutination après immunocapture** : la réaction ISAgA (*Immuno-Sorbent Agglutination Assay*) est une variante de l'agglutination directe, mais après capture des anticorps IgM, éventuellement IgA, sur phase solide sensibilisée par un anticorps anti-IgM (-IgA) humaines. En cas de positivité, les parasites sont uniformément répartis sous forme de voile tapissant le fond de la cupule réactionnelle. L'image obtenue permet d'établir un score (0 à 12). Ce test est simple à réaliser, il n'est pas influencé par la présence éventuelle de facteur rhumatoïde. Il est commercialisé. Très sensible, il permet de détecter précocement la présence des IgM anti-toxoplasme, mais reste positif de nombreux mois.

**Immunofluorescence indirecte (IFI)** : c'est un test classique utilisant des toxoplasmes formolés fixés sur une lame. En fonction de l'anti-immunoglobuline marquée utilisée, il permet de détecter les différents isotypes d'anticorps (test de Remington pour la détection et le titrage des IgM). Il est simple à réaliser mais la lecture nécessite un observateur entraîné. Les réactifs sont commercialisés.

#### ■ Techniques utilisant des antigènes solubles

**Agglutination passive** : cette technique disponible sur le marché est simple et rapide. Elle utilise des particules de latex recouvertes d'antigène parasitaire. Elle est réalisée sur une plaque de verre et la lecture se fait après quelques minutes à l'œil nu. Elle est sensible mais cependant sujette au phénomène de zone (résultat faussement négatif en cas de présence d'anticorps à taux élevé) et elle ne différencie pas les différents isotypes d'anticorps.

On peut aussi utiliser des hématies de mouton recouvertes d'antigène toxoplasmique. La réaction est effectuée en plaque de microtitration et peut être quantifiée.

**Tests enzymo-immunologiques (EIA)** : très répandus actuellement, avec de multiples variantes disponibles commercialement, en format manuel ou automatisé. Ils utilisent des antigènes solubles dont la nature et le mode de préparation diffèrent, ce qui peut nuire à la standardisation des résultats. La technique EIA permet de quantifier les anticorps IgG et IgM. Dans ce dernier cas, il existe des tests indirects, avec révélation par un anticorps anti-IgM humaines marqué, et des tests par immunocapture, qui évitent la compétition avec les anticorps IgG et l'interférence des facteurs rhumatoïdes. La quantification des anticorps IgM varie en fonction des modalités de calcul des index de positivité.

#### ■ Techniques particulières

**ELIFA (*Enzyme Linked Immuno Filtration Assay*)** : c'est une technique complexe, non commercialisée, réservée aux laboratoires très spécialisés. Elle consiste à séparer dans un premier temps les différents éléments d'une suspension antigénique complexe par électrosynérèse,

puis à révéler les arcs de précipitation obtenus par une technique enzymo-immunologique. On peut ainsi analyser finement la réponse en anticorps contre les différents antigènes et comparer des sérums ou des prélèvements appariés (sérum maternel-sérum du cordon ou sérum-humeur aqueuse par exemple).

**Immuno-empreinte** : le principe est globalement le même que le précédent, mais la séparation des éléments de la suspension toxoplasmique est effectuée par électrophorèse en gel puis transfert sur une bande de nitrocellulose. Cette dernière est mise en contact avec le sérum à tester, puis la révélation est effectuée par un anticorps anti-immunoglobulines humaines marqué à la peroxydase. Cette technique est utilisée chez un nouveau-né pour différencier les IgG maternelles des IgG synthétisées par l'enfant.

**Charge immunitaire (C)** : c'est la détermination du nombre d'unités d'anticorps anti-toxoplasme rapporté à la quantité pondérale d'IgG contenue dans le prélèvement. Comme les deux techniques précédentes, elle permet de comparer des sérums appariés, ou un sérum et un autre liquide biologique (LCR, humeur aqueuse) prélevés le même jour en calculant le coefficient de Desmont. Par exemple :

$$C = \frac{(\text{anticorps antitoxoplasmiques dans l'humeur aqueuse} / \text{immunoglobulines totales dans l'humeur aqueuse})}{(\text{anticorps antitoxoplasmiques sériques} / \text{immunoglobulines totales sériques})}$$

Il y a production locale d'anticorps si C est supérieur à 3.

**Avidité des anticorps** : la mesure de l'indice d'avidité des anticorps repose sur la détermination des anticorps IgG avant et après traitement du complexe antigène-anticorps par une solution concentrée d'urée. Un indice d'avidité élevé exclut l'existence d'une toxoplasmose de primo-infection récente.

## INTERPRETATION

### ■ CINÉTIQUE DES ANTICORPS

■ **Les anticorps IgM** sont les premiers à apparaître dans les jours qui suivent l'infection. Cependant, la présence des IgM ne peut pas être systématiquement interprétée comme le témoin d'une infection récente. En effet, les nouvelles techniques d'immunocapture (ISAgA ou ELISA de deuxième génération) détectent des IgM 6 mois voire 1 an et plus, après l'épisode infectieux initial.

■ **Les anticorps IgG** apparaissent dans les 2 ou 3 semaines qui suivent l'infection. Les techniques qui utilisent le toxoplasme entier (*Dye test*, agglutination directe sensibilisée, immunofluorescence indirecte) dépistent plus précocement les anticorps que les tests qui utilisent un antigène soluble, extrait après lyse du parasite (ELISA, agglutination) (*figure 2*). En effet, lors d'une primo-infection, la réponse humorale est d'abord dirigée contre les antigènes membranaires puis, ensuite, contre les antigènes cytoplasmiques. Les résultats devraient être exprimés en unités internationales (UI). La

standardisation des résultats des différentes techniques à l'aide du standard international de référence se heurte à la difficulté de conversion des titres en UI qui est plus ou moins fiable selon la nature de l'antigène (antigène membranaire ou soluble). En général, l'analyse en parallèle de 2 sérums prélevés à distance (3 semaines), dans le même laboratoire, par la même technique et dans la même série, permet une interprétation fiable. En particulier, un taux d'anticorps IgG positif stable évoque *a priori* une infection antérieure à 2 mois.

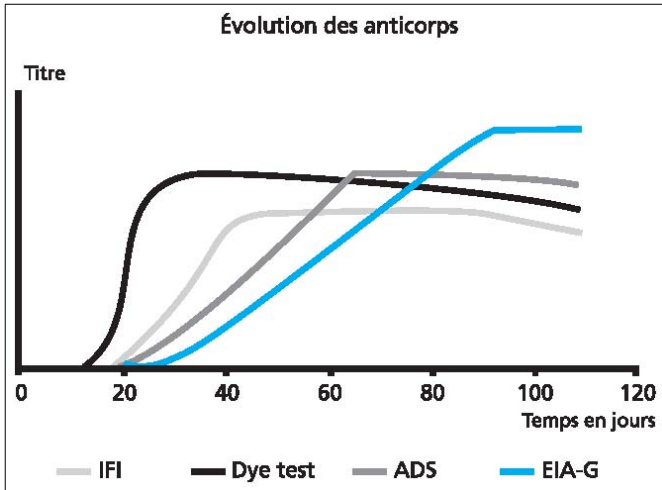


Figure 2 (d'après B. Fortier)

L'étude des isotypes IgA et IgE peut être un critère diagnostique supplémentaire. Leur cinétique est moins prolongée que celle des IgM et elles n'interfèrent pas avec le facteur rhumatoïde et les anticorps antinucléaires. Toutefois, les variations individuelles peuvent rendre leur interprétation délicate.

■ **DIAGNOSTIC DE LA PRIMO-INFECTIION TOXOPLASMIQUE RECENTE**

L'évolution des anticorps est représentée sur la figure 3. Le meilleur critère est la mise en évidence d'une séroconversion IgG. En cas d'infection récente, la concentration des IgG dirigés contre les antigènes membranaires est significativement plus élevée que celle des IgG dirigés contre les antigènes solubles. La mesure de l'avidité des anticorps IgG est utilisée pour aider à différencier infection primaire et ancienne ; cette recherche est particulièrement indiquée chez la femme enceinte. Dans ce cas, il faut si possible disposer d'un sérum prélevé le plus précocement possible après le début de la grossesse (figure 4). La présence d'anticorps IgM est un signe d'alerte, mais doit être relativisée en fonction de la technique utilisée. La durée de positivité des IgM par IFI est plus courte que par immunocapture.

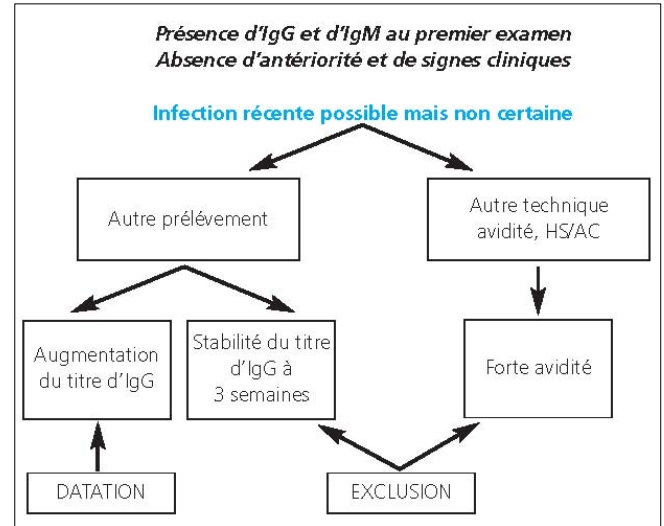
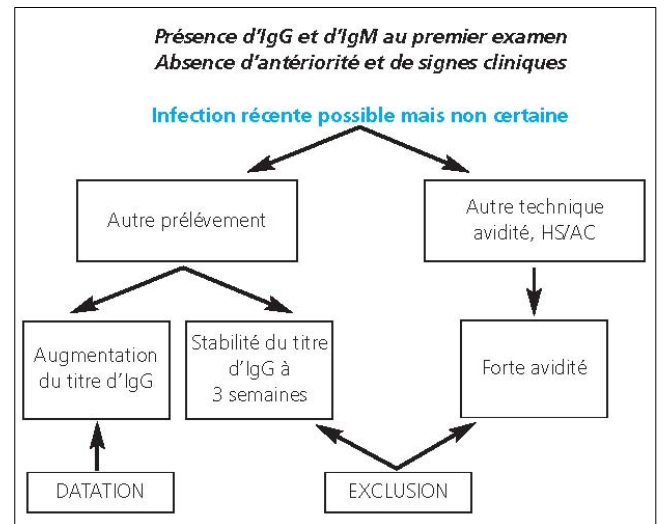


Figure 3 (d'après B. Fortier)



HS/AC : agglutination différentielle (rarement pratiquée)

Figure 4 (d'après Ph. Thulliez)

■ **DIAGNOSTIC DE L'INFECTIION MATERNO-FOETALE**

En cas de primo-infection survenue ou envisagée en cours de grossesse, ou sur constatation d'anomalies échographiques (ventricules cérébraux, foie), la recherche du toxoplasme dans le liquide amniotique est indiquée. Le prélèvement ne doit pas être effectué avant la 20<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée et au moins 6 semaines après la date de la primo-infection maternelle si celle-ci peut être évaluée. La détection est réalisée par inoculation à la souris, par culture cellulaire et surtout à l'heure actuelle par PCR. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité de passage différé du parasite à travers la barrière placentaire. C'est pourquoi il est important de respecter un délai suffisant avant de pratiquer l'amniocentèse. La quantification de la charge toxoplasmique dans le liquide amniotique par PCR en temps réel pourrait aider à apprécier la gravité potentielle de l'atteinte fœtale.

■ **DIAGNOSTIC ET SUIVI DU NOUVEAU-NE SUSPECT DE TOXOPLASMOSE CONGÉNITALE (figure 5)**

Le diagnostic repose :

- sur la mise en évidence du parasite à partir du placenta, du sang de l'enfant ou du sang de cordon par PCR et/ou inoculation à la souris et culture cellulaire ;
- sur l'étude différentielle des anticorps élaborés par l'enfant et ceux transmis naturellement par la mère : recherche des anticorps IgM et IgA qui ne franchissent pas la barrière placentaire, détermination des charges immunitaires respectives et spécificité différente des anticorps enfant-mère étudiée par ELIFA ou empreinte.

Si tous ces examens n'orientent pas *a priori* vers une contamination, le suivi doit être mensuel. Les anticorps maternels transmis s'éliminent en 10-12 mois. En cas d'infection différée, on observe une remontée des IgG de l'enfant et une augmentation de la charge immunitaire.

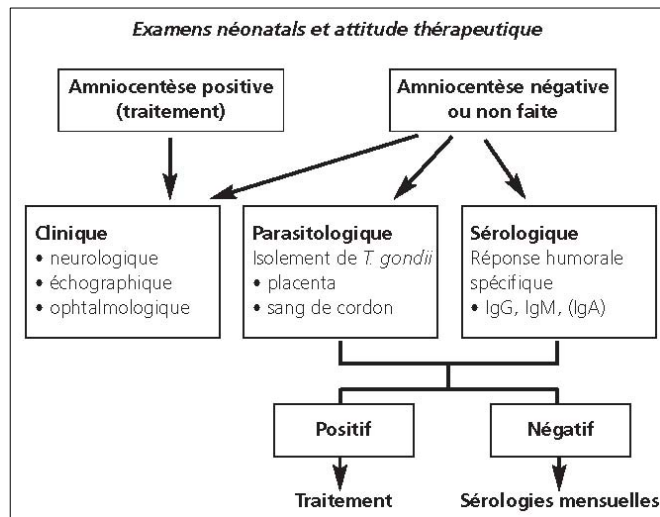


Figure 5 (d'après Ph. Thulliez)

■ **DIAGNOSTIC D'UNE REACTIVATION TOXOPLASMIQUE**

La réactivation de foyers toxoplasmiques latents peut survenir chez les immunodéprimés et en cas de rechute à distance d'une toxoplasmose congénitale. La sérologie habituelle est en règle générale peu contributive; il faut avoir recours à la recherche des marqueurs de réplication du parasite (inoculation, culture, PCR) et à la mise en évidence de la synthèse locale d'anticorps dans l'humeur aqueuse ou le LCR, en comparant leur charge immunitaire avec celle du sérum ou en utilisant la technique ELIFA ou l'empreinte.

**TRAITEMENT**

■ **CURATIF**

- **En cas de toxoplasmose subaiguë**, traiter par spiramycine pendant un mois.

- **En cas de toxoplasmose suspectée chez la femme enceinte**, commencer le traitement par spiramycine comme ci-dessus et attendre le résultat de la recherche du parasite dans le liquide amniotique :

- si elle est négative, poursuivre par prudence la spiramycine pendant toute la durée de la grossesse ;
- si elle est positive, et en cas d'anomalies échographiques, l'interruption thérapeutique de grossesse est proposée. Si la grossesse est poursuivie, la spiramycine est arrêtée et remplacée par l'association pyriméthamine-sulfadiazine à laquelle on adjoint de l'acide folinique (pour compenser les effets indésirables de la pyriméthamine) pendant 3 semaines par trimestre, avec relais par spiramycine jusqu'à la naissance. La pyriméthamine est contre-indiquée pendant le 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse.

- **Chez le nouveau-né suspect de toxoplasmose**, le traitement dépend des résultats biologiques :

- si la recherche du toxoplasme et des IgM toxoplasmiques sont négatives, effectuer un suivi jusqu'à négativation des anticorps maternels ;
- si le diagnostic de toxoplasmose congénitale est positif ou si l'on assiste à la ré-ascension des anticorps chez l'enfant, utiliser l'association décrite ci-dessus.

- **Chez le sujet immunodéprimé**, traiter par pyriméthamine-sulfadiazine, puis instaurer un traitement d'entretien à demi-dose de ces deux produits pour éviter les rechutes. Dans la toxoplasmose oculaire, le traitement est identique (1 à 2 mois). Les corticoïdes peuvent être utilisés dans les chorioretinites maculaires.

■ **PREVENTIF**

- Il n'existe pas de vaccin contre la toxoplasmose.
- Dépistage et surveillance des femmes non immunisées pendant leur grossesse avec une sérologie de la toxoplasmose mensuelle de la date de déclaration de la grossesse jusqu'à l'accouchement (arrêté du 19 avril 1985 complété par le décret n° 92-144 du 11 février 1992).
- Précautions d'hygiène : bien se laver les mains avec brosse à ongles avant et après toute manipulation d'aliments, après avoir jardiné ou touché des objets souillés par de la terre et après avoir touché des animaux. Les crudités doivent être bien lavées pour éliminer toute trace de terre. Chaque manipulation d'aliments doit être suivie d'un lavage des mains, des surfaces et des ustensiles utilisés. Une bonne cuisson est nécessaire pour détruire les kystes éventuellement présents dans la viande : une viande « bien cuite » perd sa couleur rouge et devient beige-rosée à coeur (température atteinte supérieure à 68 °C). S'il y a un chat au domicile, la litière doit être changée tous les jours, en mettant des gants.

---

## POUR EN SAVOIR PLUS

- Fortier B., Dao A., Ajana F., *Toxoplasme et toxoplasmoses*, Encyclopédie Médicochirurgicale [8-509-A-10].
  - *Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation* – Rapport du groupe de travail « Toxoplasma gondii » de l’Afssa, 2006, 324p.
  - *Surveillance sérologique et prévention de la toxoplasmose et de la rubéole au cours de la grossesse et dépistage prénatal de l’hépatite B – pertinence des modalités de réalisation*. HAS – recommandations Santé publique – 2009
  - Villard O, Jung-Etienne J., Cimon B., et al, et le réseau du Centre national de référence de la toxoplasmose. *Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduite à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage*. Feuillet de biologie 2011 ; 298:43-49.
  - Société française de microbiologie, *Toxoplasmose*, In : REMIC : Société Française de Microbiologie Ed ;2015 :811-822.
-