

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI OUZOU  
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES

# Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : biotechnologie

Option : Biotechnologie Microbienne

## Diagnostic de la toxoplasmose chez la femme enceinte (*Toxoplasma gondii*)

Réalisé par :

M<sup>elle</sup> AKROUR Karima

M<sup>elle</sup> BOUKAÏS Ferial.

Devant le jury:

PRESIDENT: Mr SADOUDI R. Maitre de conférences B à l'UMMTO

PROMOTRICE : M<sup>me</sup> BENZAOUZ K. Maitre assistante A à l'UMMTO

EXAMINATRICE : M<sup>elle</sup> BENAHMED DJILALI A. Maitre de conférences A à l'UMMTO

EXAMINATRICE : M<sup>me</sup> AIT MOULOUD L. Maitre assistante A à l'UMMTO

Année universitaire : 2017/2018

## Remerciements

Le grand merci s'adresse au bon dieu le tout puissant, de nous avoir donné la force, la volonté et la patience, et qui nous a guidé et éclairé notre chemin tout au long de notre parcours jusqu'à ce jour.

Au terme de ce travail, il nous tient à cœur d'adresser nos remerciements les plus distingués aux personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce que ce travail soit à la hauteur.

Nos remerciements vont particulièrement à :

**M<sup>me</sup> BENZAOUZ K.**, maitre assistante A à l'UMMTO qui nous a honorées en acceptant de diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour son soutien, ses conseils en or et pour sa disponibilité permanente

Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude et de déférence.

**Mr SADOUDI R.**, maitre de conférences B à l'UMMTO, pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury.

**M<sup>elle</sup> BENAHMED DJILALI A.**, maitre de conférences A à l'UMMTO d'avoir bien voulu lire et juger notre travail.

**M<sup>me</sup> AIT MOULOUD L.**, maitre assistante A à l'UMMTO d'avoir bien voulu lire et juger notre travail.

Le personnel du laboratoire parasitologie-mycologie du CHU Mustapha Pacha de nous avoir guidé tout au long de notre travail. Plus particulièrement à **Monsieur le Professeur HAMRIOUI B.**, **Docteur GUICHI N.**, **M<sup>elle</sup> BENMISSI S.**, et **M<sup>me</sup> HAMANI N.**

## *Dédicaces*

*A mes très chers parents Safia et Rabah*

*Comment parler de moi sans parler de vous, mes chers parents je vous dois tant. Et c'est pour cette raison que je débute en vous remerciant.*

*A toi ma chère maman*

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.*

*Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours.*

*Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.*

*Sans toi je ne serai pas qui je suis aujourd'hui, tu m'as construite avec ton art d'éduquer, ton soutien et tes sacrifices.*

*En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçois ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.*

*Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie pour que tu demeures le flambeau illuminant le chemin de ma vie et que je puisse te combler à mon tour.*

*Je t'aime plus que tout maman.*

*A toi mon cher père,*

*Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance.*

*Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.*

*Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter.*

*Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.*

*Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

*Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu continues à le faire...sans jamais te plaindre. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu nous as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. J'espère au moins que ce mémoire y contribuera en partie.*

*A mes grand-mères Dahbia et Ouardia*

*Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières.*

*Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

*A mes deux sœurs adorées et frère*

*Sofiane, Amel et Thanina*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite.*

*A mon futur mari Imad*

*Ton soutien moral, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.*

*Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.*

*Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

*À toute ma famille*

*À mes très chères tantes et oncles*

*Que ce travail soit le témoin de toute mon affection, mon estime et mon attachement.*

*A mon binôme Feriel*

*Je te dédie ce travail en témoignage de ce lien unique qui nous unit.*

*Ton amitié est précieuse pour moi et j'espère qu'elle durera à jamais. Je tiens à te remercier pour ton soutien permanent et te souhaiter une vie pleine de santé et de bonheur.*

*À mes adorables amies*

*Saïda, Meriem, Rosa, Melissa, Lydia et Amira*

*Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide.*

*Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans votre vie professionnelle que privée.*

*Je n'oublierai pas de remercier vivement les enseignants qui ont assuré ma formation du niveau primaire jusqu'au niveau universitaire.*

*Karima*

## *Dédicaces*

*A mes très chers parents Nadia et Achène,*

*J'ai toujours attendu avec une grande impatience ce jour où de manière solennelle et devant l'ensemble de mes maîtres, condisciples et amis, je vous témoignerai toute la gratitude d'une fille qui s'est toujours vanté de vous avoir comme père et mère.*

*A ma très chère mère*

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours.*

*Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Sans toi je ne serai pas qui je suis aujourd'hui, tu m'as construit avec ton art d'éduquer, ton soutien et tes sacrifices. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.*

*Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour. Je t'aime plus que tout maman.*

*A mon très cher père*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour toutes les sacrifices que tu m'as donné depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu, le tout puissant te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A ma grand-mère maternelle zaina,*

*Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé*

*A mes Sœurs et Frère Nassiba, Katia et Younes*

*Vous m'avez toujours aidé par votre soutenance, vos encouragements et vos aides pratiques.*

*J'avoue vraiment que si je suis arrivée à être là c'est grâce à vous, à vous aides et à votre amour.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite.*

*A mon cher beau-frère smaïl*

*Qui ma soutenu dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main lorsque j'avais besoin d'aide. Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité, ton aide précieuse. Tu à étais comme un grand frère pour moi je te souhaite tout le bonheur du monde.*

*A mes neveux que j'aime Sarah, Mehdi, Ilyas et Anes*

*Aucune dédicace ne serait exprimée tout l'amour que j'ai pour vous, votre gaieté me comble de bonheur. Puisse dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.*

*À toute ma famille*

*A mon binôme Karima,*

*Je te dédie ce travail en témoignage de ce lien unique qui nous unit. Ton amitié est précieuse pour moi et j'espère qu'elle durera à jamais. Je tiens à te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A mes chères amies*

*Celina, Tinhinane, Lydia, Meriem, Sarah, Lina, Nadia, Lisa, Lilia et Kahina*

*Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide. Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans votre vie professionnelle que privée.*

*Je n'oublierai pas de remercier vivement les enseignants qui ont assuré ma formation*

*Feriel*

## Glossaire

**Adénopathie** : état pathologique d'un ganglion lymphatique

**Allogénique** : caractérise une allogreffe du microbiote ou microbiome avec de la matière fécale

**Ascite fœtale** : présence de liquide dans la cavité péritonéale

**Asthénie** : fatigue physique du patient, affaiblissement de l'organisme

**Colite ulcéro hémorragique** : maladie inflammatoire touchant le rectum et le colon gauche

**Hépatomégalie** : augmentation du volume du foie

**Hydrocéphalie** : anomalie neurologique sévère, définie par l'augmentation du volume des espaces contenant le liquide céphalo-rachidien (LCR)

**Myocardite** : atteinte inflammatoire du myocarde

**Purpura** : lésion hémorragique de la peau ou des muqueuses

**Quiescent** : dormant

**Rétinochoroïdite** : atteinte de pigment de l'œil par inflammation de la choroïde et de la rétine

**Rhoptrie** : organite du complexe apical des apicomplexés en massue et lié à une vésicule apicale

**Splénomégalie** : augmentation du volume de la rate

## Liste des abréviations

**Ac:** Anticorps

**ADN:** Acide DésoxyriboNucléique

**ADNr:** Acide DésoxyriboNucléique ribosomique

**Ag:** Antigène

**ARN:** Acide Ribonucléique

**CCL3 :** ligand de chimiokine (motif cc) 3

**CCL4 :** ligand de chimiokine (motif cc) 4

**CD4 :** cluster de différenciation 4

**CD8 :** cluster de différenciation 8

**CMH:** Complexe d'Histocompatibilité Moléculaire

**DC:** Cellules Dendritiques

**DL 50, 100:** Dose Létale 50, 100

**DO :** Densité Optique

**ELIFA:** Dosage immunoenzymatique lié à l'enzyme (Enzyme Linked Immuno Filtration Assay)

**ELISA:** Dosage immunoenzymatique (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

**HD :** Hôte Définitif

**HI :** Hôte Intermédiaire

**IA :** Indice d'avidité

**IB:** Immunoblot

**iDC :** Cellule Dendritique immature

**IEL:** Lymphocytes Intra Epitheliaux

**IFI:** Immuno Fluorescence Indirecte

**IFN- $\gamma$ :** Interféron gamma

**IgA, E, G, M:** Immunoglobulines A, E, G, M

**IL-12 :** Interleukine 12

**ISAGA:** Dosage de l'Agglutination Immunosorbante (Immuno Sorbent Agglutination Assay)

**LB:** Lymphocytes B

**LT:** Lymphocytes T

**mDC:** Cellule Dendritique mature

**MGG:** May Grunwald Giemsa

**ml:** millilitre

**NK:** Cellules Tueuses Naturelles (Natural Killer)

**nm:** nanomètre

**NO:** Monoxyde d'azote

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé

**P 30:** Protéine 30

**Pb:** Paire de bases

**PCR:** Amplification en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction)

**pH :** potentiel Hydrogène

**RNI:** Réactifs d'azote intermédiaire.

**ROI:** Réactifs d'oxygène intermédiaire.

**SA :** Semaine d'Aménorrhée

**SNC :** Système Nerveux Central

***T. gondii:*** *Toxoplasma gondii*

**TGF- $\beta$** : Facteur de Croissance Tumorale beta (Tumor Growth Factor-beta)

**Th1**: lymphocytes T helper

**TNF- $\alpha$** : Facteur de Nécrose Tumorale alpha (Tumor Necrosis Factor-alpha)

**UI**: Unité Internationale

**$\mu$ l** : microlitre

**VIH**: Virus d'immunodéficience humaine (Human Immunodeficiency Virus)

**VP** : Vacuole Parasitophore

## Liste des tableaux et figures

### Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Principaux gènes de <i>T.gondii</i> .....	9
<b>Tableau II</b> : Résumé des caractéristiques des principaux génotypes de <i>T.gondii</i> .....	11
<b>Tableau III</b> : Risque d'infection fœtale et sévérité de l'atteinte fœtale selon l'âge gestationnel .....	23
<b>Tableau IV</b> : Résultats des échantillons testés sur IgM. ....	47
<b>Tableau V</b> : Echelle des ratios des IgM. ....	48
<b>Tableau VI</b> : Résultats des échantillons testés sur IgG. ....	49
<b>Tableau VII</b> : Echelle des IgG .....	50
<b>Tableau VIII</b> : Résultats des échantillons testés sur l'avidité.....	51
<b>Tableau IX</b> : Echelle d'avidité des IgG . ....	52

### Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Ultrastructure d'un tachyzoïte de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	4
<b>Figure 2</b> : Tachyzoïtes intracellulaires en rosette .....	5
<b>Figure 3</b> : Ultrastructure d'un bradyzoïte. ....	6
<b>Figure 4</b> : <b>a.</b> Oocystes de <i>T.gondii</i> non sporulés, <b>b.</b> Oocystes de <i>T.gondii</i> sporulés .....	7
<b>Figure 5 ab</b> : Facteurs associés à l'interconversion des formes tachyzoïtes-bradyzoïtes.....	8
<b>Figure 6</b> : Représentation schématique du cycle de vie de <i>Toxoplasma</i> . ....	13
<b>Figure 7</b> : Modes de contamination par le parasite <i>Toxoplasma gondii</i> .....	14
<b>Figure 8</b> : Représentation schématique de la réponse immunitaire anti-toxoplasmique. ....	17
<b>Figure 9</b> : Atteintes multiples de la toxoplasmose congénitale. ....	20
<b>Figure 10</b> : Toxoplasmose congénitale : hydrocéphalie, nécrose cérébrale étendue à prédominance périventriculaire.....	20
<b>Figure 11</b> : Lésion rétinohoroïdienne chez un patient atteint de toxoplasmose oculaire.....	21
<b>Figure 12</b> : Risque de transmission materno-foetale et gravité de l'atteinte de l'enfant, en fonction de la période de primo-infection de la mère.....	23
<b>Figure 13</b> : Cinétique de la réponse des anticorps (Ac) durant une infection par <i>T. gondii</i> . ....	26
<b>Figure 14</b> : Schéma récapitulatif de la technique ELISA IgG.....	37
<b>Figure 15</b> : Préparation des dilutions de calibrateurs et des échantillons .....	38
<b>Figure 16</b> : Incubation des microplaques. ....	38
<b>Figure 17</b> : laveur de la microplaque.....	39
<b>Figure 18</b> : la microplaque Platelia Toxo IgG après ajout du chromogène.....	39
<b>Figure 19</b> : lecture des densités optiques au spectrophotomètre. ....	40
<b>Figure 20</b> : Schéma récapitulatif de la technique ELISA IgM. ....	42
<b>Figure 21</b> : la microplaque Platelia Toxo IgM après ajout du chromogène. ....	43
<b>Figure 22</b> : Manière de distribution des témoins et des échantillons d'avidité des IgG.....	45
<b>Figure 23</b> : la microplaque après ajout des solutions de contrôle et dissociante. ....	46
<b>Figure 24</b> : Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgG et des IgM négatives.....	53

<b>Figure 25:</b> Interprétation à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgG positives et des IgM négatives .....	54
<b>Figure 26 :</b> Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgM et des IgG positives. ....	55
<b>Figure 27:</b> Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgG négatives et des IgM positives .....	56
<b>Figure 28:</b> Représentation graphique de taux des IgG et des IgM pendant la grossesse.....	57



**Table des matières**

## Table des matières

**Glossaire**

**Liste des abréviations**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

Introduction ..... 1

### **1<sup>ère</sup> partie: synthèse bibliographique**

#### **Chapitre I: *Toxoplasma gondii***

I.1. Historique ..... 2

I.2. Taxonomie ..... 3

I.3. Morphologie du toxoplasme ..... 3

    I.3.1 Tachyzoïte ..... 3

    I.3.2 Bradyzoïtes et kystes ..... 5

    I.3.3 Oocystes ..... 6

I.4. Interconversion tachyzoïte –bradyzoïte ..... 7

I.5. Propriétés biologiques ..... 8

    I.5.1. Génome du toxoplasme ..... 8

    I.5.2. Structure biochimique de *Toxoplasma gondii* ..... 9

    I.5.3. Virulence des souches ..... 10

I.6. Cycle évolutif du toxoplasme ..... 11

    I.6.1. Evolution chez l'hôte définitif : le chat (cycle intestinal) ..... 11

    I.6.2. Phase libre : la sporulation ..... 12

    I.6.3. Développement chez les hôtes intermédiaires ..... 12

I.7. Modes de contamination chez l'Homme ..... 13

    I.7.1. A partir des tachyzoïtes ..... 13

    I.7.2. Transmission par kystes ..... 14

    I.7.3. Transmission par absorption d'oocystes ..... 14

I.8. Immunité anti-toxoplasmique ..... 15

## **Chapitre II: Toxoplasmose humaine**

II.1. Toxoplasmose .....	18
II.2. Aspects cliniques .....	18
II.2.1. Toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent .....	18
II.2.2. Toxoplasmose de l'immunodéprimé .....	18
II.2.3. Toxoplasmose congénitale .....	19
II.2.3.1. Contamination précoce (1er trimestre de grossesse) .....	19
II.2.3.2. Contamination intermédiaire (2ème trimestre de grossesse) .....	20
II.2.3.3. Les formes inapparentes ou infra cliniques à la naissance (3 <sup>ème</sup> trimestre de grossesse) .....	21
II.3. Transmission materno-fœtale .....	21
II.4. Diagnostics .....	23
II.4.1. Diagnostic prénatal .....	23
II.4.2. Diagnostic anténatal .....	24
II.4.3. Diagnostic néo-natal .....	24
II.4.4. Diagnostic postnatal .....	25
II.5. Traitements .....	25

## **Chapitre III: Méthodes de diagnostic de la toxoplasmose humaine**

III.1 Méthodes de diagnostic .....	26
III.1.1 Tests sérologiques .....	26
III.1.1.1. Cinétique des anticorps spécifiques anti-Toxoplasma .....	26
III.1.1.2. Techniques utilisant des antigènes figurés .....	27
III.1.1.3. Techniques utilisant des antigènes solubles .....	29
III.1.2. Diagnostic direct (recherche du parasite ou de son ADN) .....	32
III.1.2.1. Examen direct .....	32
III.1.2.2. Isolement du parasite .....	32
III.1.2.3. Recherche de l'ADN du parasite par PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	33

## **2<sup>ème</sup> partie: étude expérimentale**

### **Chapitre IV :Matériel et méthodes .**

<b>IV.1. Matériel du laboratoire.....</b>	<b>34</b>
IV.1.1. Réactifs utilisés .....	34
<b>IV.2. Méthodes .....</b>	<b>35</b>
IV.2.1 ELISA indirecte: PLATELIA TM toxo IgG .....	35

IV.2.2 ELISA reverse : PLATELIA TM toxo IgM .....	41
IV.2.3 Détermination de l'indice d'avidité : Platelia TM toxo IgG .....	43
<b>Chapitre V : Résultats et discussion .....</b>	<b>47</b>
V.1. Résultats et discussion.....	47
V.1.1. Résultats de valeur seuil IgM .....	47
V.1.2. Résultats de valeur seuil IgG .....	49
V.1.3. Résultats de valeur seuil avidité des IgG : .....	51
V.2. Interprétation de la sérologie toxoplasmique chez la femme enceinte .....	52
V.3. Etude statistique .....	57
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>58</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	



# **Introduction**

### Introduction

La toxoplasmose est une zoonose cosmopolite due à un parasite intracellulaire obligatoire, *Toxoplasma gondii*. Elle est certainement l'affection parasitaire la plus répandue dans le monde, sévissant sous toutes les latitudes et susceptible d'infecter toutes les espèces animales. Des études épidémiologiques chez l'homme ont montré sa large distribution géographique et sa forte prévalence.

L'incidence de la toxoplasmose dans la population générale est difficile à évaluer car l'infection est le plus souvent asymptomatique, mais, elle peut être sévère chez le sujet immunodéprimé et dans sa forme congénitale. Au cours de la grossesse, le risque de transmission augmente avec l'âge gestationnel alors que la gravité de l'atteinte fœtale diminue. En effet, en cas de séroconversion au cours du premier trimestre de la grossesse, le risque de toxoplasmose congénitale est de 4 à 14% se traduisant par des atteintes sévères. Ce risque atteint 70 à 80% au cours du troisième trimestre de gestation, mais se traduit en général par des formes infra-cliniques chez le nouveau-né (MONTROYA et REMINGTON, 2008). Par conséquent, la prévention de la toxoplasmose congénitale doit se faire par une surveillance sérologique des femmes enceintes afin d'établir le statut immunologique, d'identifier les femmes enceintes non immunes et de diagnostiquer le plus précocement possible une séroconversion maternelle (VILLARD et *al.*, 2010). Dès la détection de l'infection, les femmes enceintes sont traitées avec la spiramycine pour limiter le risque de passage transplacentaire du parasite (ZHANG et *al.*, 2013 ; BHADRA et *al.*, 2013).

La situation en Algérie est méconnue. En effet, la séroprévalence serait autour de 50% (données fournies par le Centre National de Référence de la toxoplasmose, service de biologie parasitaire de l'Institut Pasteur d'Algérie), mais aucune étude à l'échelle nationale n'a été entreprise afin de l'évaluer (MESSERER, 2015).

Le travail que nous proposons ici s'inscrit dans le cadre d'une étude sérologique de cette parasitose, afin de mettre en évidence les anticorps dirigés contre *Toxoplasma gondii* dans le but, soit de déterminer le statut immunitaire d'une femme enceinte vis-à-vis cette infection, soit de dater cette infection. L'étude a été réalisée à Mustapha Pacha pendant un mois (les résultats obtenus sur 92 femmes enceintes sont pris durant une journée).

Une étude statistique a été réalisée sur 198 femmes enceintes durant un mois au niveau de l'hôpital du CHU de Tizi-Ouzou (Nedir Mohamed).



**Chapitre I: *Toxoplasma*  
*gondii***

### **I.1. Historique**

Le parasite responsable de la toxoplasmose a été découvert en 1908 par Nicolle et Manceaux. Ces deux chercheurs de l'institut Pasteur retrouvèrent le parasite chez un rat du Sud Tunisien : le *gondii*.

Le nom de toxoplasme fut attribué au parasite à cause de sa forme en arc (en grec : toxon) (HOGAN et *al.*, 1964 ; WOLF et *al.*, 1939).

Le premier cas humain est décrit en 1923 par Janku, qui retrouve le parasite dans des kystes rétiniens chez un enfant hydrocéphale.

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

En 1948, Sabin et Feldman mettent au point : le test de lyse (Dye-test) pour explorer l'immunité humorale chez l'homme.

En 1952, Wilder démontrait pour la première fois, la présence du *Toxoplasma gondii* sur une série de coupes histologiques des yeux d'adultes. Ces patients étaient porteurs de lésions de chorio-rétinite pour lesquelles le diagnostic de tuberculose avait été posé.

En 1970, deux équipes simultanément, celles de Hutchison et de Frenkel, ont mis en évidence la multiplication sexuée chez le chat avec élimination des formes infestantes, très résistantes les oocystes (BOUCHENE, 2013).

Ce n'est qu'à partir de 1938 que son rôle pathogène fut reconnu (FRENKEL, 1974).

## I.2. Taxonomie

*Toxoplasma gondii* est un protozoaire des animaux à sang chaud à développement endocellulaire obligatoire. Il est à l'origine de la toxoplasmose parasitaire, qui revêt un caractère sévère au cours de toxoplasmose cérébrale ou congénitale.

Rattaché au phylum des Apicomplexa (présence « d'un complexe apical », caractéristique permettant l'entrée dans les cellules hôtes), et à la classe des coccidies; on doit sa classification actuelle à Barta en 2001 (El BOUHALI, 2012).

- Règne : Protista
- Phylum : Apicomplexa
- Classe : Coccidia
- Famille : Sarcocystidae
- Sous-famille : Toxoplasmatinae
- Genre : *Toxoplasma*
- Espèce : *Toxoplasma gondii*

## I.3. Morphologie du toxoplasme

D'après Bouchene (2013), *Toxoplasma gondii* existe sous trois formes infectieuses, selon l'hôte et le stade infectieux considérés :

- Le tachyzoïte, trophozoïte, forme proliférative intracellulaire (forme végétative) ;
- Le kyste, forme de résistance intra-tissulaire ;
- L'oocyste, forme de résistance.

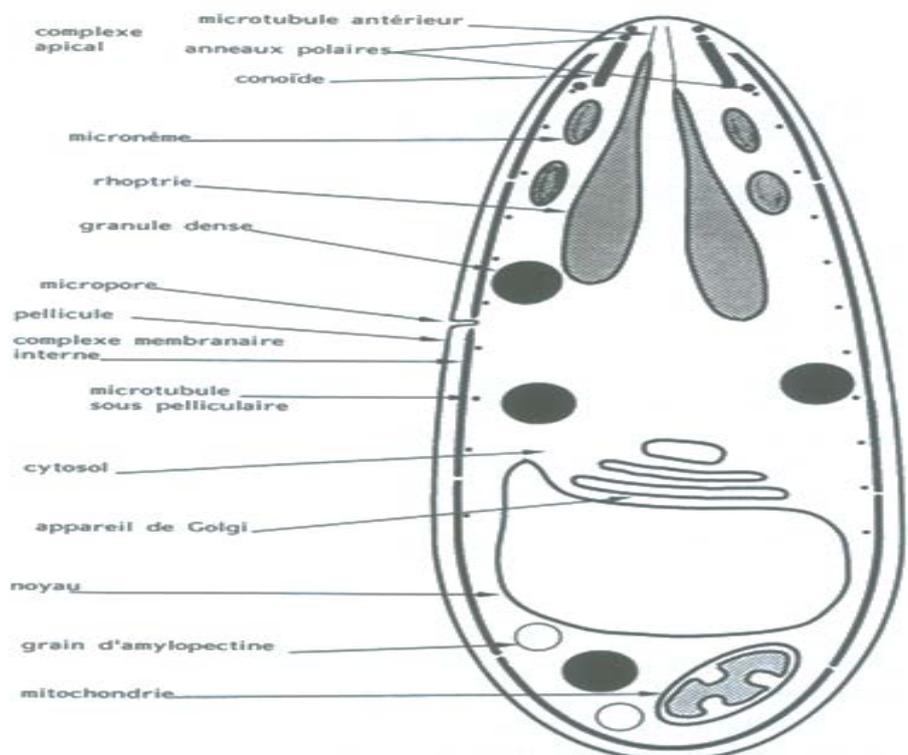
### I.3.1. Tachyzoïte

Le tachyzoïte (tachos = vitesse en grec) est la forme végétative qui caractérise la phase de la multiplication rapide de l'infection toxoplasmique (DUBEY et *al.*, 1998). Autrefois, appelé «trophozoïte», a la forme d'un croissant. Il mesure de 6 à 8µm de long sur 3 à 4µm de large. L'extrémité antérieure est effilée et l'extrémité postérieure arrondie (SHEFIELD et *al.*, 1968).

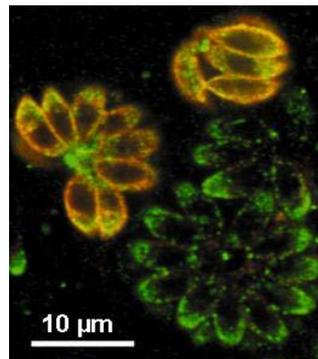
Le tachyzoïte est recouvert par une paroi cellulaire enfermant une structure microtubulaire (DUBEY et *al.*, 1998). Il contient des organites très particuliers comme, le complexe apical. Le complexe apical est une structure caractéristique des Apicomplexa. Il est

situé dans la partie antérieure du tachyzoïte et comprend 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 cytoplasmiques de 200 nm de diamètre situés de part et d'autre du noyau. Leur contenu est homogène et dense aux électrons. Les micronèmes sont des organites en forme de bâtonnets, plus petits que les granules denses. Micronèmes et granules denses sont délimités par une membrane (CHIAPPINO *et al.*, 1984).

Le tachyzoïte contient aussi un anneau polaire, des mitochondries, un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi, des ribosomes, des micropores, un apicoplaste et un noyau (figure 1). Le noyau est généralement situé vers l'extrémité postérieure ou dans la zone centrale de la cellule. La chromatine est distribuée dans tout le noyau et le nucléole. Le tachyzoïte se multiplie dans les cellules nucléées de l'hôte par un processus de multiplication asexuée appelée endodyogénie. Ce processus a lieu au sein d'une vacuole parasitophore (VP), aboutissant ainsi à la formation d'une structure en rosette (figure 2) (DUBEY *et al.*, 1998).



**Figure 1 :** Ultrastructure d'un tachyzoïte de *Toxoplasma gondii* (CHOBOTAR et SCHOLTYSECK, 1982).



**Figure 2 :** Tachyzoïtes intracellulaires en rosette (GUITON, 2008).

Le tachyzoïte est très fragile dans le milieu extérieur. Il est rapidement détruit par l'acidité gastrique et par les anticorps circulants au moment de son passage d'une cellule à l'autre. Il n'est donc pas contaminant par voie orale (PETTERSEN, 1979). Comme il est détruit par une température supérieure à 37°C, la congélation et la dessiccation, c'est une forme fragile, mais douée d'une grande capacité de diffusion et de multiplication (BOUCHENE, 2003). En revanche, le tachyzoïte échappe à l'action de digestion cellulaire ce qui permet sa transformation en bradyzoïte (PRIET, 2003).

### **I.3.2. Bradyzoïtes et kystes**

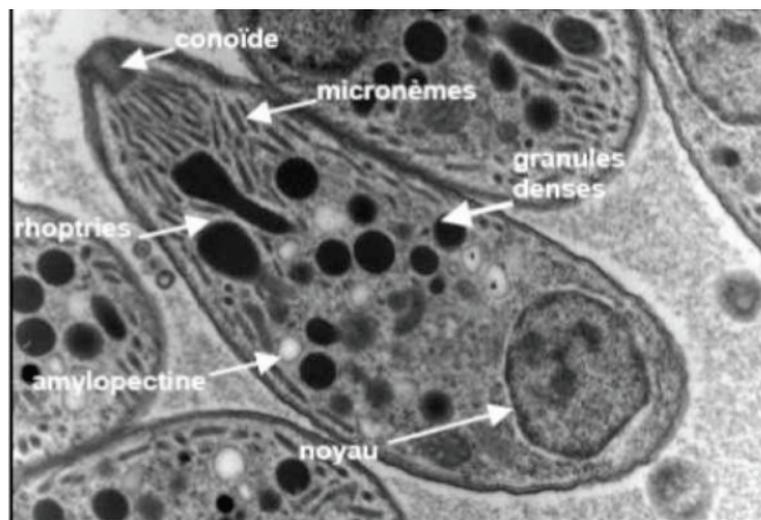
Le terme bradyzoïte (brady = lent) a été proposé par Frenkel en 1973 pour décrire le stade enkysté dans les tissus (DUBEY et *al.*, 1998). Les bradyzoïtes se caractérisent par une multiplication lente, marquant la phase chronique de l'infection toxoplasmique. Au cours de ce stade, les kystes persistent essentiellement dans les tissus cardiaques, musculaires, rétiniens et le système nerveux central (SNC). Ils ont une forme sphérique mesurant de 10 à 200 nm de diamètre renfermant plusieurs centaines à milliers de bradyzoïtes. Le bradyzoïte résulte de l'évolution d'un tachyzoïte. Il s'en distingue par une taille plus petite et une forme plus mince, des rhoptries plus denses, un noyau sub-terminal et des granules de stockage d'amylopectine (figure 3) (DUBEY et *al.*, 1998).

La paroi du kyste dérive de celle de la vacuole parasitophore. La membrane de cette dernière présente de nombreuses petites invaginations tandis qu'une seconde couche homogène se développe sous la membrane. Les invaginations de la membrane se ramifient et certaines finissent par des bourgeons. La paroi du kyste est lisse et fine (0.5 µm), et ne

contient ni glycogène ni aucun autre polysaccharide. Le kyste contient des bradyzoïtes en forme de croissant mesurant chacun  $7 \times 1.5 \mu\text{m}$  (FERGUSON et *al.*, 1978 ; DUBEY et *al.*, 1998).

Il est entouré d'une membrane épaisse, résistante, d'origine parasitaire et cellulaire qui limite considérablement l'impact des médicaments et des anticorps. Il peut persister tout au long de la vie sans causer de désordres cellulaires ou de réponses inflammatoires, produit des antigènes entretenant ainsi l'immunité. En l'absence d'immunodépression, les anticorps sont protecteurs, limitant l'infection, mais ne sont pas capables d'éradiquer le parasite.

Les kystes ne sont pas affectés par les températures inférieures à  $40^\circ\text{C}$ , les enzymes protéolytiques et l'acidité gastrique (JACOBS et *al.*, 1960). Au contraire, une congélation prolongée à  $-12^\circ\text{C}$  semble détruire les kystes. Ils sont également très sensibles au micro-onde et au rayonnement gamma. Les kystes sont donc des formes de résistance et de dissémination permettant une contamination de l'Homme par ingestion de viande infestée insuffisamment cuite (PRIET, 2003).

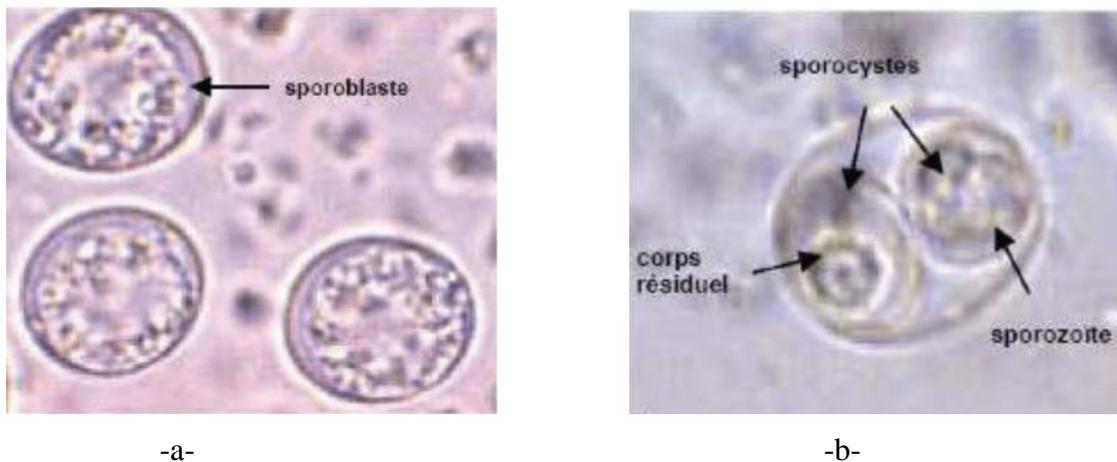


**Figure 3 :** Ultrastructure d'un bradyzoïte (AFSSA, 2005).

### I.3.3. Oocystes

L'oocyste est issu de la reproduction sexuée dans l'intestin du chat. Ovoïde, il mesure de 9 à  $11\mu\text{m}$  de large sur 11 à  $14 \mu\text{m}$  de long (FERGUSON et *al.*, 1978). Il est éliminé dans les fèces du chat sous forme non sporulé (immature). Il subit une maturation dans le milieu extérieur en se divisant en deux sporocystes renfermant chacun quatre sporozoïtes infectieux (figure 4: a, b) (SPEER et *al.*, 1998). Sa sporulation nécessite de 1 à 15 jours selon le taux d'oxygénation, la température et l'humidité environnante (FERGUSON et *al.*, 1978). Les

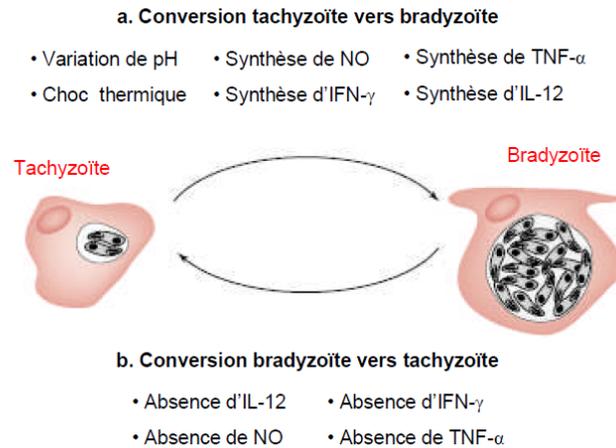
oocystes non sporulés ont une structure sphérique de 10 à 12  $\mu\text{m}$  de diamètre, alors que la forme sporulée mesure de 11 à 13  $\mu\text{m}$  (DUBEY et *al.*, 1998). L'oocyste sporulé (mature) est résistant aux conditions extérieures grâce à la structure complexe de sa paroi. Elle est constituée de couches distinctes, extrêmement résistantes aux agressions physiques et chimiques (SPEER et *al.*, 1998). L'oocyste 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. Il est détruit par le formol et l'ammoniaque en solution à 0.3% (NICOLAS et *al.*, 1993).



**Figure 4 : a.** Oocystes de *T.gondii* non sporulés, **b.** Oocystes de *T.gondii* sporulés (AFSSA, 2005).

#### I.4. Interconversion tachyzoïte –bradyzoïte

Le bradyzoïte se présente sous la même forme que le tachyzoïte, mais représente le stade quiescent du parasite. De nombreux facteurs favorisent l'initiation de la conversion du stade tachyzoïte en stade bradyzoïte tels que les variations du pH, les chocs thermiques ainsi que certains facteurs immunitaires dirigés contre le parasite : facteurs de stress oxydatif (capables d'inhiber les fonctions mitochondriales du parasite) comme le NO (monoxyde d'azote) ou facteurs cytokiniques comme l'IFN- $\gamma$  (Interféron-gamma), le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor alpha) ou l'IL-12 (Interleukin-12) (figure 5a). La conversion du stade bradyzoïte en tachyzoïte a lieu en l'absence de ces mêmes facteurs (figure 5b). L'implication des cytokines dans le mécanisme d'interconversion demeure difficile à évaluer *in vivo*, elles seraient susceptibles d'agir indirectement (LYONS et *al.*, 2002).



**Figure 5 ab :** Facteurs associés à l'interconversion des formes tachyzoïtes-bradyzoïtes (LYONS et *al.*, 2002).

## I.5. Propriétés biologiques

### I.5.1. Génome du toxoplasme

Le génome du *T. gondii* est d'environ 65Mb, constitué de 14 chromosomes et de 8155 gènes (KHAN et *al.*, 2007 ; REID et *al.*, 2012). C'est un organisme haploïde, seul le macrogamète fécondé est diploïde (FERGUSON, 2002). Le rapport GC est de 55%. La répétition de l'information de certains gènes se révèle intéressante lors d'applications des diagnostiques telles que la PCR : gènes (B1, TGR1E, pTg4...) (BURG et *al.*, 1989 ; CRISTINA et *al.*, 1991). Des introns ont été identifiés.

La structure des ARN messagers et ribosomiaux est classique. L'ADN mitochondrial, circulaire, est formé de  $36.10^3$ Pb (PFEFFERKOM, 1981). Les études concordent pour regrouper la majorité des souches analysées de *T. gondii* en 3 génotypes : types I, II et III (tableau I).

**Tableau I** : Principaux gènes de *T. gondii* (AJZENBERG et al., 2002 ; DARDE et al., 1992 ; HOWE et SIBLEY, 1995).

	Type I	Type II	Type III
<b>Répartition chez l'homme</b>	De 0 à 40 % des souches isolées	De 40 à 100 % des souches isolées	< 20 % des souches isolées
<b>Toxoplasmose acquise expérimentale</b>	Souris : très virulent (toxoplasmose aiguë létale) Rat : non virulent	Souris : non virulent Rat : non virulent	Souris : souvent létal Virulence intermédiaire entre type I et type II
<b>Toxoplasmose congénitale expérimentale</b>	Souris : transmission et gravité importante Cobaye et rat : transmission materno-foetale moyenne	Souris : transmission importante Cobaye et rat : transmission materno-foetale importante	N.D.
<b>Multiplication</b>	Multiplication rapide des tachyzoïtes Peu ou pas de conversion en bradyzoïtes et de formation de kystes <i>in vivo</i>	Multiplication lente Conversion en bradyzoïte et formation de kystes <i>in vivo</i>	Multiplication intermédiaire Formation de kystes <i>in vivo</i>

N.D. : Non Déterminé.

### I.5.2. Structure biochimique de *Toxoplasma gondii*

La structure biochimique de *Toxoplasma gondii* est complexe. C'est le stade tachyzoïte qui est le mieux connu et plusieurs molécules ont été identifiées à la surface. La protéine P30, la plus abondante (constituant 5% des protéines totales), joue un rôle important dans la réponse immunitaire (COUVREUR et al., 1988 ; FORTIER et al., 1996). Cette molécule est remarquable en raison de la rapidité et de la constance de la réponse immunitaire au cours de la primo-infection toxoplasmique et de la toxoplasmose congénitale (DECOSTER et al., 1986 ; POTASMAN et al., 1986 ; SHARMA et al., 1983). Certaines protéines sont spécifiques du stade sporozoïte (P25 et P67) et du stade bradyzoïte (P18 et P35) (COUVREUR et al., 1988 ; FORTIER et al., 1996).

Les variations entre les souches de *T. gondii* ont été décrites à partir du pouvoir pathogène expérimental et du pouvoir kystogène (JOHNSON, 1984). L'immunologie a confirmé ces variations qui ne paraissent pas concerner de manière évidente les molécules utilisées pour le diagnostic (P30) (WARE et KASPER, 1987).

Plus de 18 molécules ont été caractérisées dans les organites du complexe apical (ACHBROU et al., 1991 ; LERICHE et DUBREMETZ, 1990 ; SADAK et al., 1988). Elles jouent un rôle dans la pénétration, la formation de la vacuole parasitophore, mais aussi la régulation ionique et l'exocytose parasitaire (ACHBROU et al., 1991 ; LERICHE et DUBREMETZ, 1990 ; NICHOLS et al., 1983 ; SCHWARTZMAN, 1986). Certaines de ces

molécules ont été identifiées après sécrétion en milieu acellulaire après culture in vitro (antigènes excrétés-sécrétés) (CESBRON et *al.*, 1991 ; DARCY et *al.*, 1990).

### **I.5.3. Virulence des souches**

Bien qu'une seule espèce *T. gondii* soit décrite au sein du genre *Toxoplasma*, plus de 290 isolats ou souches ont subi d'analyses génotypiques. La pathogénicité de ces souches a été définie par l'étude de leur virulence chez la souris, notamment par la détermination des doses minimales de parasites entraînant la mort de 50% ou de 100% des animaux (DL50 et DL100).

Selon l'analyse basée sur les séquences d'intron, la majorité (>95%) des isolats existant se classent en 11 haplotypes, dont 3 types sont prédominants (KHAN et *al.*, 2007). Ces 3 types majoritaires ont été regroupés en trois génotypes principaux équivalents à trois lignées clonales, stables dans le temps et l'espace (type I, II et III) (tableau II). Ils ne diffèrent génétiquement entre eux, que très peu (moins de 1% de différence génétique). Les différences entre les principaux types du parasite concernant :

- La virulence chez la souris ; une souche est considérée comme virulente lorsqu'un seul tachyzoïte introduit par voie intra-péritonéale, entraîne la mort de l'animal en moins de 10 jours (DL100=1) (HOWE et SIBLEY, 1995 ; HOWE et *al.*, 1996).
- La vitesse de multiplication en culture cellulaire et la possibilité de transformation in vitro des tachyzoïtes (formes prolifératives) en bradyzoïtes (formes quiescentes) aboutissant à la formation de kystes ;
- Les capacités de migration et de transmigration à travers les barrières biologiques (SABIN, 1941).

**Tableau II** : Résumé des caractéristiques des principaux génotypes de *T. gondii* (AFSSA, 2005).

Génotype	Importance	Virulence	Forme du toxoplasme dans l'hôte	Capacités de migration à travers des barrières biologiques <i>ex vivo</i>	Facteurs du pouvoir pathogène	Aspects cliniques chez l'Homme
Type I	rarement isolé (10 % des souches)	très virulent pour la souris (DL100 = 1 tachyzoïte)	surtout tachyzoïtes (multiplication 3 fois plus rapide que types II et III <i>in vitro</i> )	supérieures à celles des types II et III	excès de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IFN- $\gamma$ ) chez la souris	atteintes congénitales sévères
Type II	le plus fréquent, 80 % des souches humaines en France	non virulent pour la souris (DL100 $\geq 10^3$ , formation de kystes)	bradyzoïtes et kystes <i>in vitro</i>	inférieure à celle du type I	Absents car sécrétion contrôlée et protectrice d'IFN- $\gamma$ chez la souris	atteintes congénitales plus ou moins sévères, réactivations au cours des états d'immunodéficience, formes lymphadénopathiques classiques du patient immunocompétent, ou asymptomatiques
Type III	rarement isolé	intermédiaire pour la souris		inférieure à celle du type I	Non connus	atteintes congénitales (faible nombre de cas)

## I.6. Cycle évolutif du toxoplasme

D'après Bouchene (2013), le cycle de développement du toxoplasme se déroule en trois étapes :

- Une première étape chez le chat et les félinés (hôtes définitifs : HD), c'est la phase coccidienne ;
- Une deuxième étape dans le sol ou phase libre ;
- Une troisième étape, chez les mammifères, oiseaux (hôtes intermédiaires : HI) avec une phase végétative ou proliférative, suivie d'une phase d'enkystement.

### I.6.1. Evolution chez l'hôte définitif : le chat (cycle intestinal)

Cette phase coccidienne se déroule dans l'intestin grêle, avec les deux modes de multiplication, asexuée ou schizogonique et sexuée ou gamogonique.

- **Cycle asexué** : la schizogonie commence après l'ingestion de l'oocyste mûr ou du kyste par le chat. Sous l'effet des phénomènes physico-chimiques de la digestion, les parasites (sporozoïtes ou bradyzoïtes) vont être libérés et vont pénétrer dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle, leur noyau va se diviser pour donner un schizonte, libérant plusieurs mérozoïtes. Ces mérozoïtes libérés après destruction de la cellule hôte vont alors pénétrer dans des cellules épithéliales non parasitées et le cycle recommence plusieurs fois.

- **Cycle sexué :** la gamétogonie ou gamogonie a lieu après plusieurs schizogonies, certains mérozoïtes vont alors se transformer en éléments sexués ou gamétocytes mâles et femelles dont la fécondation conduit à la formation d'un zygote qui s'entoure d'une coque épaisse, pour devenir oocyste, rejeté dans les excréments du chat.

Un seul parasite peut libérer plusieurs millions d'oocystes. Un seul chat peut éliminer pendant 7 à 15 jours des centaines de milliers d'oocystes dans le sol (BOUCHENE, 2003).

### **I.6.2. Phase libre : la sporulation**

Dans le sol, l'oocyste immature va sporuler pour donner un oocyste sporulé qui est la forme infectante. L'oocyste sporulé peut être ingéré par un autre chat, on parle de cycle court ; ou par un hôte intermédiaire, c'est le cycle long (BOUCHENE, 2013).

### **I.6.3. Développement chez les hôtes intermédiaires**

Les hôtes intermédiaires sont nombreux : ils comprennent l'Homme et tous les homéothermes carnivores et omnivores (FERGUSON *et al.*, 1989).

#### **- Phase proliférative**

Chez les hôtes intermédiaires, l'infection se fait essentiellement par voie orale, après l'ingestion soit des oocystes mûres provenant d'aliments souillés, soit des kystes contenus dans des viandes infestées peu ou pas cuites.

Après digestion de la paroi des oocystes ou des kystes dans l'estomac et le duodénum, les formes parasitaires infectueuses, sporozoïtes ou bradyzoïtes, sont libérés et se différencient rapidement en tachyzoïtes. Ceux-ci se disséminent dans l'organisme par voie sanguine et lymphatique, ce qui correspond à la phase aiguë de la maladie, capables d'infecter tous les types cellulaires. Les tachyzoïtes gagnent les différents tissus tels que les muscles et le système nerveux central. A l'intérieur des cellules, le parasite se multiplie par endodyogénie, processus au cours duquel deux cellules filles se transforment à l'intérieur de la cellule mère.

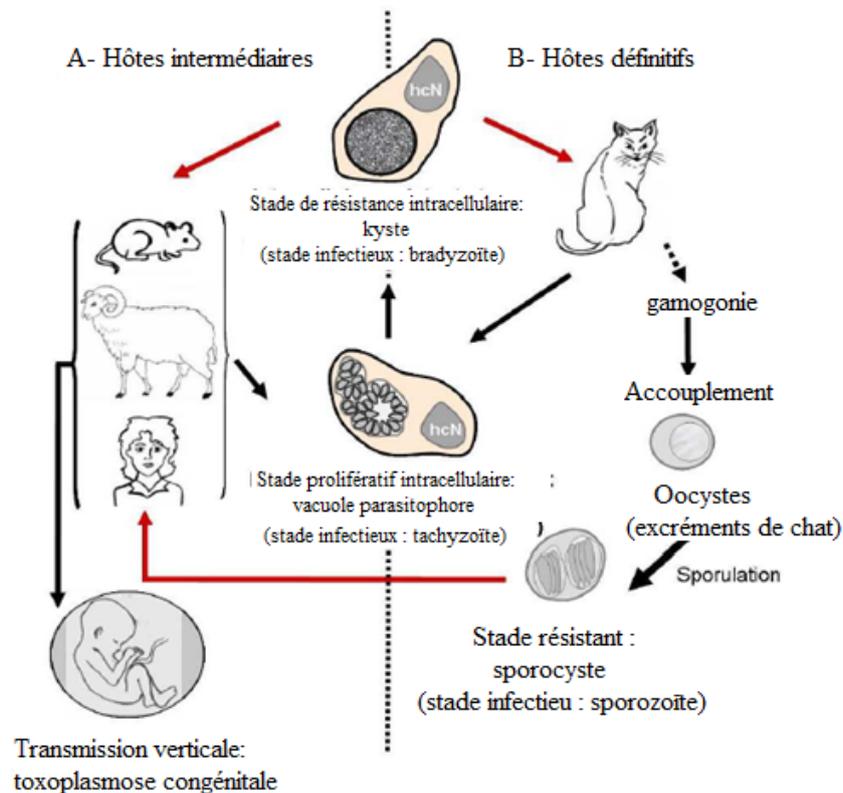
La cellule hôte est ensuite lysée, libérant les tachyzoïtes. Cette forme est également capable d'infecter le fœtus en cas de contamination primaire d'une femme au cours de la grossesse (COPPIN *et al.*, 2003).

#### **- Phase d'enkystement**

Cette courte phase proliférative est rapidement contrôlée par le système immunitaire de l'hôte et aboutit à la formation de kystes (figure 6) localisés dans des organes les moins

accessibles par le système immunitaire (les muscles, le système nerveux central, les yeux, les testicules) (COPPIN *et al.*, 2003).

L'ingestion des muscles ou viscères parasités est responsable de la contamination du chat et félinés, le cycle complet, est alors terminé (BOUCHENE, 2003).



**Figure 6 :** Représentation schématique du cycle de vie de *Toxoplasma* (MERCIER *et al.*, 2010).

## I.7. Modes de contamination chez l'Homme

L'Homme peut être contaminé par *T. gondii* de trois façons : par transmission congénitale lors de la primo-infection chez la femme enceinte ; par ingestion de bradyzoïtes ou tachyzoïtes contenus dans le kyste tissulaire des produits carnés peu ou mal lavés ; ou enfin, par ingestion des sporozoïtes contenus dans les oocystes présents dans l'eau ou les aliments contaminés (figure 7) (BASTIEN, 2017).

### I.7.1. A partir des tachyzoïtes

C'est le mode de contamination du fœtus. Après contamination de la mère, il s'ensuit une diffusion hématogène du parasite qui peut contaminer le fœtus via le placenta lésé, abcédé. Les tachyzoïtes peuvent être contaminants au cours d'une transfusion sanguine ou d'un

accident de manipulation au laboratoire. Ces contaminations accidentelles sont exceptionnelles (PRIET, 2003).

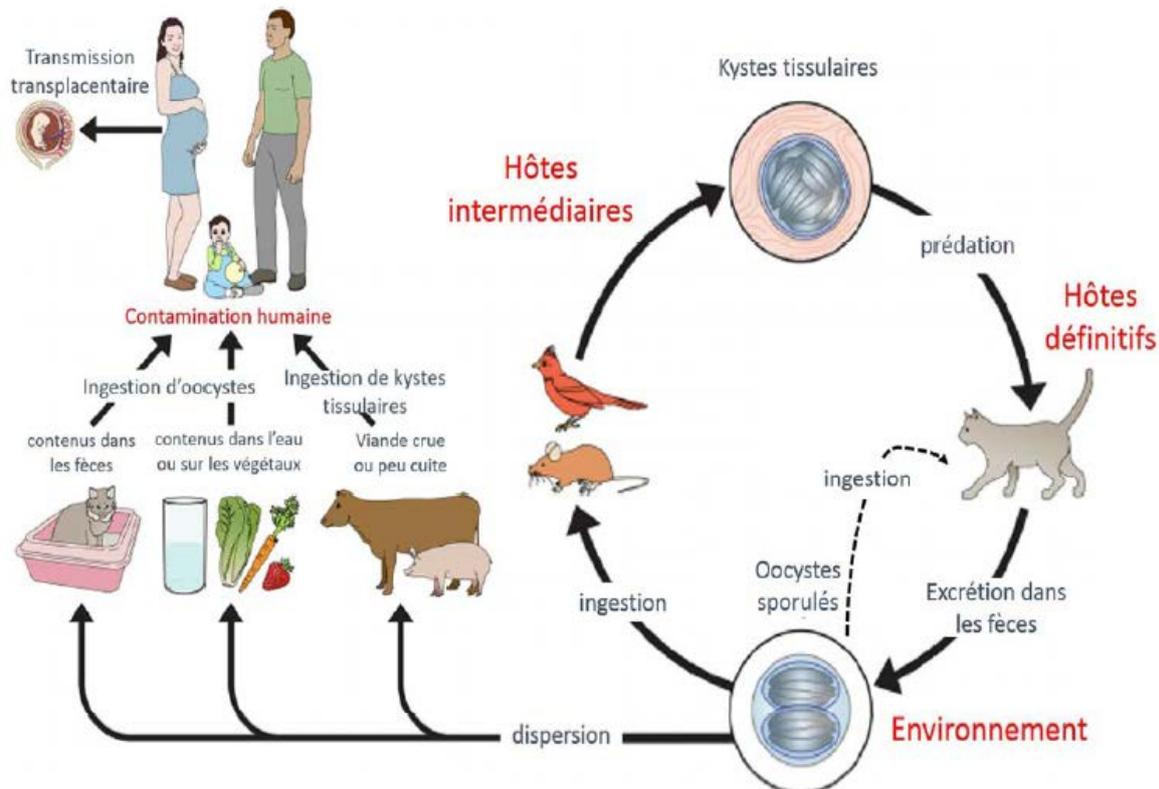
### I.7.2. Transmission par kystes

La contamination se fait par consommation de viandes fumées, saumurées ou insuffisamment cuites. Les kystes n'étant détruits que par cuisson de la viande à 65°C ou une congélation inférieure à -12°C pendant trois jours au moins. Ce sont également les kystes qui sont impliqués dans la transmission par transplantation d'organe d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose vers un receveur négatif avant la greffe (ANOFEL, 2014).

### I.7.3. Transmission par absorption d'ocystes

Cette contamination est essentiellement indirecte, par consommation de fruits et légumes crus mal lavés ou d'eau de boisson contaminée, et à cause d'une hygiène des mains insuffisante après contact avec le sol (jardinage) ou les animaux (ANOFEL, 2014).

Le contact direct avec le chat semble moins risqué qu'un contact avec sa litière dans laquelle les oocystes peuvent être sporulés. Par ailleurs, le seul hôte représentant un risque, sont les jeunes animaux encore non immunisés (BOUCHENE, 2003).



**Figure 7:** Modes de contamination par le parasite *Toxoplasma gondii* (ESCHet PETERSEN, 2013).

## I.8. Immunité anti-toxoplasmique

La réponse immunitaire au cours de l'infection par le parasite *T. gondii* est très complexe. Ceci est en grande partie, dû à la capacité du parasite à infecter tous les types cellulaires des différents organes, ce qui entraîne une réaction immunitaire tissu-spécifique. D'une façon générale, chez un sujet immunocompétent, la primo-infection par cette espèce induit une réponse immunitaire protectrice probablement liée à la persistance de kystes dans les tissus (BITTAME, 2011).

L'infection donne lieu, à une réponse innée suivie par une importante réponse adaptative de type lymphocyte T helper (Th1) qui aboutit à une protection à long terme contre une éventuelle réinfection (GUITON, 2008).

Dès la pénétration du parasite dans l'organisme hôte par voie orale (ingestion de kystes ou d'oocystes), les entérocytes répondent en permettant le recrutement de différents acteurs du système immunitaire qui agit de concert pour établir une réponse immunitaire. Etant donné que l'infection par *T. gondii* se fait le plus souvent par voie orale, la réponse immunitaire débute localement, dans la muqueuse digestive et plus particulièrement, dans l'épithélium intestinal qui constitue la première barrière de défense de l'hôte. Après ingestion de viandes parasitées, les bradyzoïtes contenus dans les kystes sont libérés dans l'intestin. Ils se différencient en tachyzoïtes qui gagnent l'épithélium intestinal et infectent les entérocytes. Ces derniers secrètent des chimiokines et des cytokines qui attirent les neutrophiles, les macrophages et les cellules dendritiques immatures (iDC).

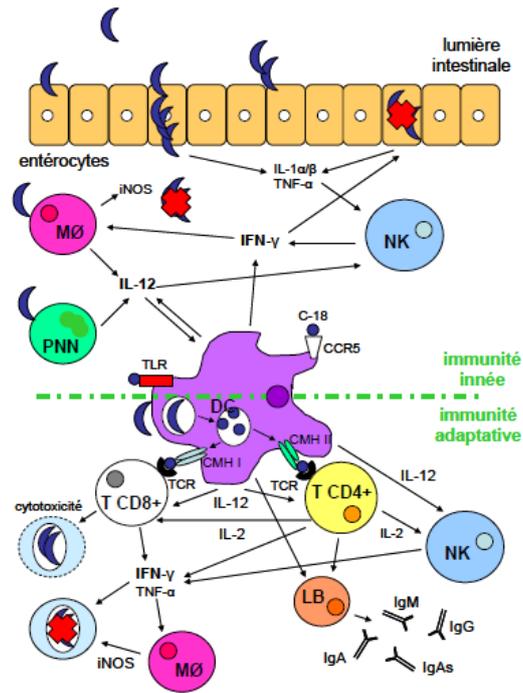
Les neutrophiles commencent à phagocyter les parasites. Ils libèrent aussi des chimiokines (CCL3 et CCL4) et des cytokines (IL-12) qui à leur tour, attirent des iDC, des macrophages et des lymphocytes T. Les neutrophiles aident à la maturation des iDC, via l'activation par le TNF- $\alpha$ .

Bien que les neutrophiles, les macrophages et les iDC secrètent tous de l'IL-12, les cellules dendritiques matures (mDC) constituent la source la plus importante de cette cytokine dans le cadre de l'infection par *T. gondii*. Les mDC jouent également un rôle central dans la présentation des antigènes aux lymphocytes T et dans l'évolution vers une réponse adaptative de type Th1 et la production d'IFN- $\gamma$ .

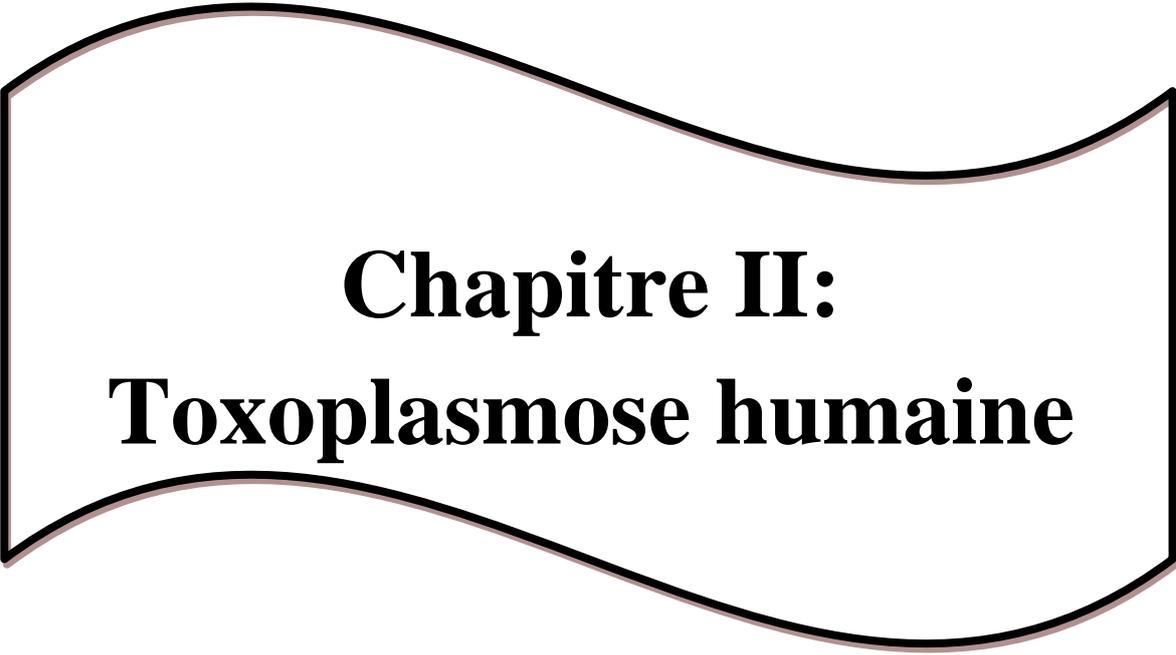
A leur tour, les macrophages sont les cellules les plus importantes lors de la phagocytose. Ils jouent un rôle crucial pour limiter la dissémination du parasite. L'interaction entre les macrophages et les antigènes parasitaires provoque l'induction de la production de  $\text{TNF-}\alpha$ , qui avec l' $\text{IFN-}\gamma$  produit par les natural killers (NK) et les lymphocytes T, induit la production massive de molécules toxiques et réactives comme les intermédiaires réactifs de l'oxygène (ROI) et du nitrogène (RNI), molécules qui permettent de détruire les parasites. L'IL-12 et l'IL-18 produites par les macrophages stimulent les cellules NK à produire de l' $\text{IFN-}\gamma$  à moduler leur cytotoxicité, tandis que l'IL-18 et l'IL-15 produites par les entérocytes, induisent la prolifération des cellules NK.

La sécrétion de CCL3 et de CCL4 par les entérocytes attire également les lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) qui deviennent cytotoxiques pour les entérocytes infectés. Les IEL produisent des cytokines anti-inflammatoires comme le  $\text{TGF-}\beta$  et l'IL-10. Ces deux cytokines permettent de limiter les dommages inflammatoires causés aux cellules de l'hôte par la réponse immunitaire contre *T. gondii* (MILLER et al., 2009).

L'immunité adaptative est initiée grâce aux DC qui présentent l'antigène parasitaire via le CMH I, ce qui active les lymphocytes T  $\text{CD8}^+$  et leur activité cytotoxique. Les DC présentent également les antigènes de *T. gondii* via les CMH II afin d'activer les LT  $\text{CD4}^+$ . Ces derniers maintiennent l'activation des LT  $\text{CD8}^+$  par leur sécrétion d'IL-2. L'IL-12 sécrétée par les DC participe également à l'activation des LT  $\text{CD8}^+$ , LT  $\text{CD4}^+$  et NK. Ces trois populations synthétisent la cytokine majeure de lutte anti-toxoplasmique, l' $\text{IFN-}\gamma$ , qui active les macrophages. Les lymphocytes B (LB) jouent un rôle accessoire dans l'immunité, par leur synthèse de différentes classes d'anticorps spécifiques (IgA, IgM et IgG) (figure 8) (GUITON, 2008). Cependant, la mémoire immunitaire portée par les lymphocytes B induit la synthèse d'anticorps spécifiques résiduels durant toute la vie de l'hôte. Les immunoglobulines A (IgA), les IgE et les IgM spécifiques apparaissent précocement et marquent la phase aiguë de l'infection. Ces isotypes ne persistent pas. C'est à partir des deuxièmes ou troisièmes semaines d'infection que les IgG sériques spécifiques peuvent être détectées. Elles caractérisent la phase chronique de l'infection et sont sécrétées tout au long de la vie de l'hôte (CHARDES et al., 1990)



**Figure 8 :** Représentation schématique de la réponse immunitaire anti-toxoplasmique (GUITON, 2008).



**Chapitre II:  
Toxoplasmose humaine**

## II.1. Toxoplasmose

La toxoplasmose est une zoonose causée par le protozoaire *Toxoplasma gondii*. Elle est généralement asymptomatique. Chez les immunodéprimés et les fœtus infectés lors du premier trimestre de la grossesse, la maladie peut être sévère (DUPONT et al., 2012).

## II.2. Aspects cliniques

D'après Bouchene (2013), il existe trois types de toxoplasmose :

- Toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent ;
- Toxoplasmose de l'immunodéprimé ;
- Toxoplasmose congénitale.

### II.2.1. Toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent

La toxoplasmose acquise est le plus souvent bénigne ou asymptomatique chez les sujets immunocompétents.

- **La forme bénigne**

Les signes cliniques sont variables pouvant se manifester par une fièvre, adénopathie ou une asthénie. Le sujet guérit spontanément en quelques semaines. La mise en place de la réponse immune permet le passage à la phase chronique de la maladie (SENEGAS, 2007). Les infections chroniques, latentes ont été longtemps considérées comme inoffensives (TORREY et al., 2007 ; NIEBUHR et al., 2008 ; MIMAN et al., 2010a ; PEDERSEN et al., 2011 ; TORREY et al., 2012 ; FLEGR, 2013a ; FABIANI et al., 2015 ; NGOUNGOU et al., 2015).

- **La forme asymptomatique ou chronique**

C'est le cas le plus fréquent. Elle est mise en évidence à l'occasion d'examen biologiques systémiques, prénuptiaux, ou lors d'une grossesse (PRIET, 2003).

La présence de kystes persistant dans les tissus favorise alors l'acquisition d'une immunité définitive et protectrice (SENEGAS, 2007).

### II.2.2. Toxoplasmose de l'immunodéprimé

Chez les patients immunodéprimés, l'infection faisant suite à une contamination par voie orale est le plus souvent asymptomatique. Chez des patients présentant un déficit très profond de l'immunité, l'hypothèse d'une dissémination hématogène faisant directement suite à l'infection a été évoquée dans quelques cas de toxoplasmose cérébrale ou de toxoplasmose

pulmonaire (POMEROY *et al.*, 1992). Chez les transplantés d'organe contaminés par un greffon contenant des kystes de *T. gondii*, on observe un rejet fébrile, se compliquant rapidement d'une dissémination ou d'une focalisation cérébrale (SPEIRS, 1988; WREGHITT, 1989; ISRAELSKI *et al.*, 1993).

Dans la grande majorité des cas, les formes graves de toxoplasmose sont consécutives à la réactivation d'une infection acquise antérieurement. Les formes cliniques sont comparables, quelque soit le type d'immunodépression sous-jacente, et l'atteinte cérébrale est de loin la plus fréquente ; on peut cependant souligner la plus grande fréquence des formes pulmonaires et disséminées chez les patients ayant un déficit très profond de l'immunité, notamment chez les greffes de moelle allogénique (MELE *et al.*, 2002).

### II.2.3. Toxoplasmose congénitale

Alors que la primo-infection est souvent asymptomatique chez les femmes enceintes, les tachyzoïtes peuvent traverser le placenta et infecter le fœtus. L'infection du fœtus peut causer une rétinochoroïdite, une hydrocéphalie associée à un retard mental et des convulsions, voire la mort du fœtus (MCAULEY, 2008). Le placenta est une barrière efficace au début de la gestation, mais devient plus perméable aux tachyzoïtes pendant la grossesse, ce qui permet le passage du parasite dans environ 30 % des cas pendant le deuxième trimestre et dans 60 à 80% des cas au cours du troisième trimestre (ROBET-GANGNEUX *et al.*, 2011). La sévérité de l'infection chez le fœtus dépend du stade de la grossesse au cours duquel la femme enceinte acquiert l'infection (DUNN *et al.*, 1999).

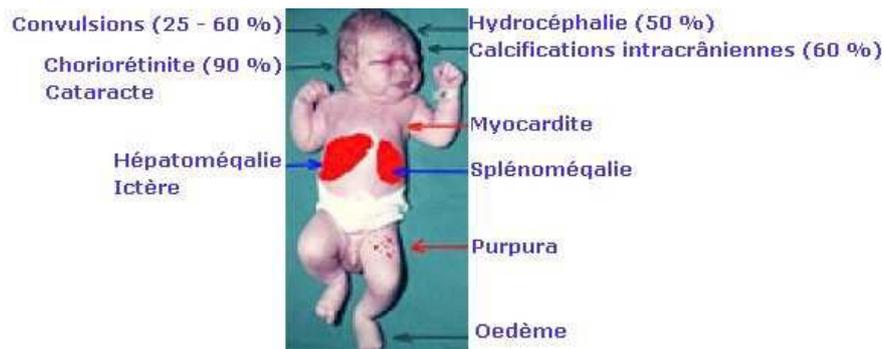
#### II.2.3.1. Contamination précoce (1<sup>er</sup> trimestre de grossesse)

Elle est responsable de la toxoplasmose congénitale majeure. Cette forme grave est actuellement rarement observée. D'après Ambroise-Thomas (1998), elle entraîne :

- Soit la mort in utero ;
- Soit une encéphalomyélite toxoplasmique au pronostic péjoratif chez l'enfant à naître.

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

Les figures 9 et 10 regroupent l'ensemble des signes cliniques liés à une toxoplasmose chez un nouveau-né.



**Figure 9 :** Atteintes multiples de la toxoplasmose congénitale (El BOUHALI, 2012).



**Figure 10:** Toxoplasmose congénitale : hydrocéphalie, nécrose cérébrale étendue à prédominance périventriculaire (COPATH, 2012).

### II.2.3.2. Contamination intermédiaire (2<sup>ème</sup> trimestre de grossesse)

Deux formes cliniques sont possibles :

- **Les formes viscérales**

Elles se caractérisent soit :

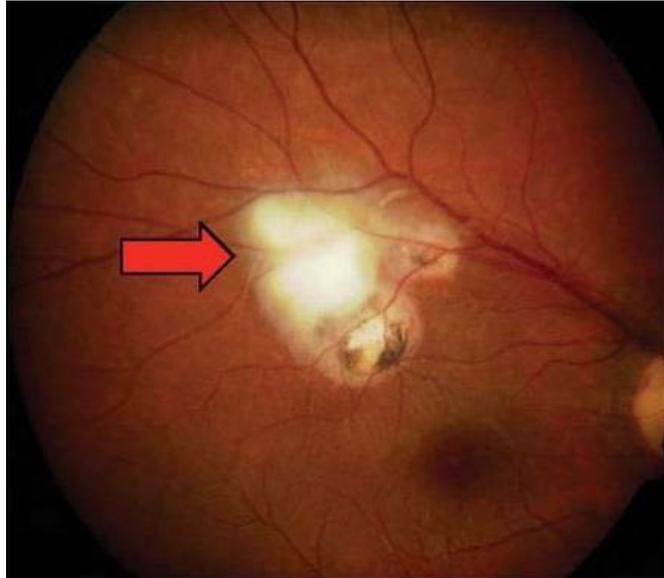
- Par un ictère néonatal avec hépato splénomégalie et hémorragies muqueuses ;
- Par une atteinte digestive aiguë a type d'œsophagite ou de colite ulcero hémorragique.

Ces formes sont à la limite des possibilités thérapeutiques.

- **Les formes dégradées ou retardées**

Elles sont reconnues dès la naissance où ne sont dépistées quelque fois qu'après plusieurs années. Elles comportent les signes suivants (un ou plusieurs) (El BOUHALI, 2012) :

- Retard psychomoteur ;
- Périmètre crânien augmentant plus rapidement que la normale ;
- Crises convulsives ;
- Apparition souvent tardive d'un foyer de chorioretinite pigmentaire (figure11).



**Figure 11 :** Lésion rétinohoroïdienne chez un patient atteint de toxoplasmose oculaire (SHOBABet *al.*, 2013).

### **II.2.3.3. Les formes inapparentes ou infra-cliniques à la naissance (3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse)**

On ne dénote aucun signe clinique d'infection chez 80% des enfants atteints à la naissance. Le diagnostic est purement biologique. En effet porteur d'anticorps spécifiques, les IgM néosynthétisées par l'enfant sont le seul témoin de l'infection. Cependant le potentiel évolutif de cette maladie est incertain avec risque de lésion oculaire survenant ou récidivant pendant l'enfance, l'adolescence voir l'âge adulte. Plus de 40% des enfants non traités présenteront des atteintes oculaires type chorioretinite avec diminution permanente de l'acuité visuelle (COUVREUR *et al.*, 1993). C'est pourquoi une surveillance au long cours est indispensable.

### **II.3. Transmission materno-fœtale**

L'infection du fœtus est la conséquence de plusieurs événements : la primo-infection maternelle au cours de la grossesse avec une phase de parasitemie maternelle (précoce, transitoire, d'environ 10 à 15 jours) et le passage de tachyzoïte dans le placenta puis vers la circulation fœtale (fœtopathie) (THIEBAUT et LEPROUST, 2007).

Le caractère transitoire de la parasitemie, explique la rareté des toxoplasmoses congénitales consécutives à une infection périconceptionnelle de la mère.

Il faut savoir que des récurrences parasitemiques au cours de toxoplasmoses chroniques, ont été observées de façon inexplicée chez des femmes immunocompétentes. Certaines mères immunodéprimées, (virus d'immunodéficience humaine (VIH)), ont présenté des réactivations de kystes quiescents responsables de toxoplasmose congénitale indispensable.

D'après Romand *et al.* (1998); Couvreur (1999), deux recommandations sont préconisées à la suite de telles observations :

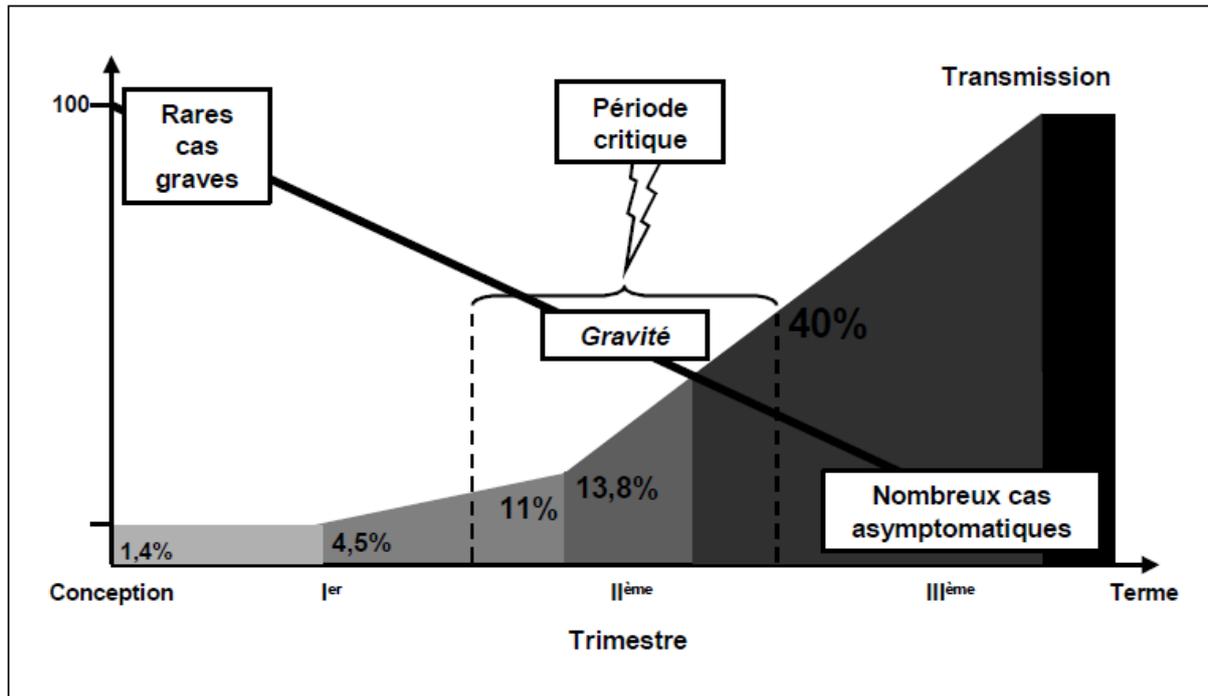
- Respecter un délai de 3 à 6 mois avant toute grossesse en cas de séroconversion récente, voire jusqu'à 6 à 9 mois selon certains auteurs (VILLENA *et al.*, 2003).
- Assurer une surveillance échographique accrue chez les femmes ayant fait une séroconversion périconceptionnelle.

La contamination materno-fœtale est déterminée par le passage transplacentaire du parasite.

Le placenta reste une barrière au franchissement des tachyzoïtes et l'infection du fœtus n'est pas obligatoire en cas d'infection de la mère, ni obligatoire en cas de placentite. IL retarde l'invasion fœtale par le parasite : cela correspond à la notion de délai placentaire. Ce délai est long au début de grossesse et est de plus en plus court lorsque l'on avance dans la grossesse. De ce fait, dans le cas d'une infection maternelle proche de la conception, la transmission au fœtus est faible (< 2%) (COUVREUR et DESMONTS, 1984; VILLENA *et al.*, 2003). La gravité de l'atteinte est le plus souvent très importante (avortement spontané, mort fœtale in utero) (figure12) (tableau III), l'embryon à ce terme n'est pas encore capable de synthétiser des anticorps protecteurs (pas avant la 10<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée) et les anticorps maternels (IgG) n'ont pas eu le temps d'être transmis au fœtus. La gravité de l'atteinte, tient à ce qu'elle se produise chez un organisme en phase de développement embryonnaire.

A l'approche du terme, le placenta est plus volumineux et très vascularisé. Il est facilement colonisé par les parasites et n'est alors qu'une barrière facile à traverser. Son système immunitaire est en place et sera secondairement renforcé par l'immunité passive de la mère: les IgG transmises sont des anticorps protecteurs, lytiques pour le parasite extracellulaire, limitant ainsi sa dissémination. En revanche, ils n'agissent pas sur les formes intracellulaires.

L'infection est alors ralentie, atténuée, mais elle sera prolongée et laissera l'enfant porteur d'un grand nombre de kystes (DESMONTS *et al.*, 1984).



**Figure 12:** Risque de transmission materno-foetale et gravité de l'atteinte de l'enfant, en fonction de la période de primo-infection de la mère (SENEGAS, 2007).

**Tableau III :** Risque d'infection foetale et sévérité de l'atteinte foetale selon l'âge gestationnel (BEST et BANATVALA, 2000) :

SA	Risque d'infection (%)	Risque de malformation (%)	Risque global (%)
2-10	100	89	89
11-12	73	50	37
13-16	52	33	17
17-18	38	7	3
≥ 19	25-82	0	0

## II.4. Diagnostics

### II.4.1. Diagnostic prénatal

Le dépistage prénatal de la toxoplasmose présente une caractéristique particulière de s'adresser à des femmes enceintes non pas pour prévenir la survenue d'une maladie infectieuse bénigne chez elles, mais plutôt afin d'éviter ou de limiter le risque d'une atteinte foetale pouvant se traduire par des séquelles graves durant la grossesse.

Deux objectifs principaux peuvent être poursuivis dans le cadre de ces dépistages :

- Identifier les femmes enceintes non immunes afin de limiter le risque de contamination au cours de la grossesse par des mesures d'hygiène alimentaire ;

- Diagnostiquer le plus précocement possible une séroconversion maternelle en cours de grossesse afin de proposer une prise en charge adaptée par la prescription d'un traitement antibiotique afin de limiter la transmission au fœtus et de réduire le risque de séquelles en cas de toxoplasmose congénitale (HAS, 2009).

#### II.4.2. Diagnostic anténatal

Le diagnostic anténatal sera proposé en cas de séroconversion maternelle ou de suspicion d'infection survenue en cours de grossesse. Une surveillance échographique mensuelle est pratiquée à la recherche de signes évocateurs de toxoplasmose congénitale : dilatation des ventricules cérébraux, hépatomégalie fœtale, ascite fœtale, calcifications intracrâniennes.

Les signes échographiques sont d'autant plus fréquents et importants que l'infection est survenue précocement. L'absence d'anomalies échographiques ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic de toxoplasmose congénitale, et des anomalies peuvent apparaître même tardivement, justifiant ce rythme mensuel de surveillance (GAY-ANDRIEU, 2003, VILLENA, 2003).

L'amniocentèse a constitué un progrès considérable dans le diagnostic anténatal de la toxoplasmose congénitale. Le prélèvement du liquide amniotique (de 10 à 20 ml) peut être réalisé à partir de la 18<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée, avec un risque faible d'incident (environ 0.5%). Il est recommandé de le pratiquer au moins 4 semaines après la date estimée de l'infection maternelle pour éviter les faux négatifs dus à un retard dans la transmission du toxoplasme de la mère au fœtus. Sur ce prélèvement, il est recommandé d'effectuer la recherche d'ADN toxoplasmique (avec un délai de réponse de 2 à 3 jours) (DUPOUY-CAMET, 1992 ; GRATZL, 1998 ; ROBERT-GANGNEUX *et al.*, 1999b).

Lorsque la contamination a lieu en fin de grossesse, certaines équipes préfèrent déclencher l'accouchement pour effectuer un diagnostic néonatal précoce (DEROUIN *et al.*, 1996).

#### II.4.3. Diagnostic néo-natal

Il repose principalement sur la détection d'anticorps spécifiques synthétisés par le fœtus et/ou le nouveau-né (FREALLE *et al.*, sans date). Un dépistage précoce permettant l'instauration rapide d'un traitement est fondamental pour diminuer le taux de séquelles à long terme. Ainsi l'examen clinique, l'imagerie cérébrale et les analyses biologiques sont fondamentaux pour le diagnostic, le traitement et le suivi de l'enfant.

Selon Bessieres et *al.* (2001), le bilan néonatal est considéré comme positif lorsque:

- Le sang du cordon est positif et/ou détection d'IgM et ou IgA spécifique dans le sang du cordon vérifié à J8-J10 (8<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup> jour) ;
- Les profils comparés (mère /enfant) IgG et/ou IgM sont positifs ;
- Lors de la persistance d'IgG spécifiques à l'âge de 1 an.

#### II.4. Diagnostic postnatal

Il consiste en une surveillance sérologique du nourrisson durant la première année. La persistance des anticorps IgG affirme ou confirme l'infection congénitale. Si l'enfant n'est pas atteint, les anticorps IgG transmis par la mère s'éliminent et la sérologie devient négative avant 12 mois (BESSIERES et *al.*, 2008).

D'après El Bouhali (2012), le diagnostic biologique postnatal repose sur deux stratégies:

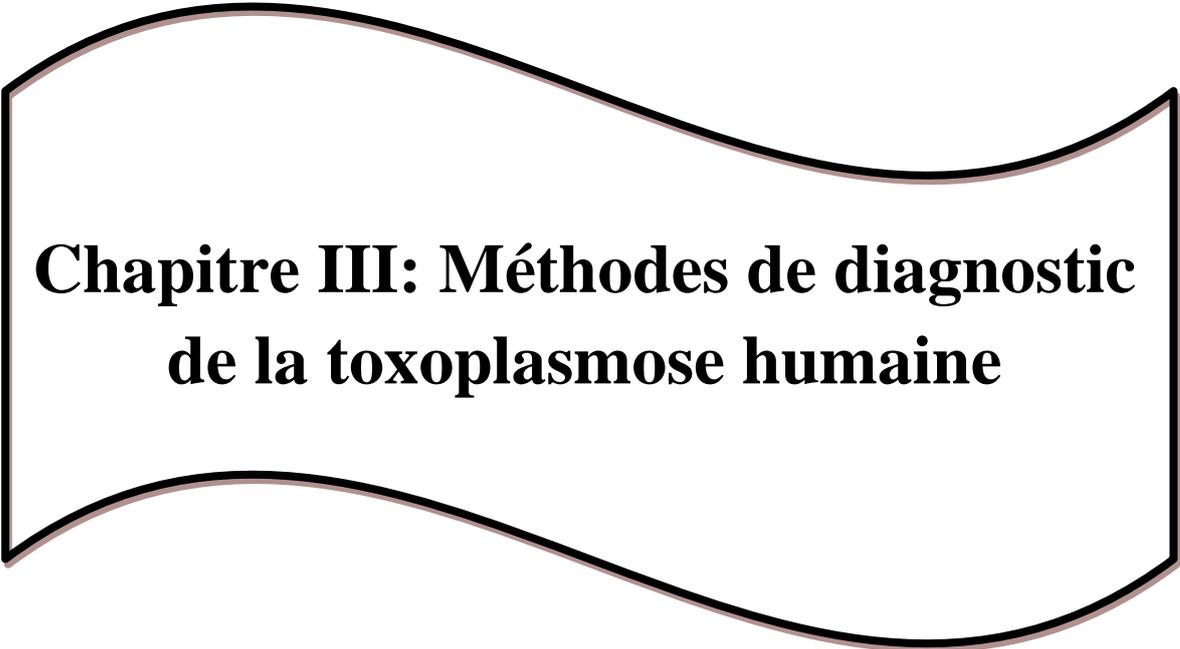
- Mise en évidence du parasite dans le placenta ;
- Recherche chez l'enfant d'anticorps susceptibles de traduire une atteinte congénitale.

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

#### II.5. Traitements

Une fois l'infection est diagnostiquée, il n'y a généralement pas besoin de traitement, sauf sur des terrains particuliers ou lors de manifestations symptomatiques (EVENGARD et *al.*, 1997 ; PETERSEN, 2007). Les traitements les plus actifs reposent sur l'association de sulfamides (sulfadiazine ou sulfadoxine) et de pyriméthamine. Ils sont utilisés dans le traitement des toxoplasmoses congénitales, des toxoplasmoses oculaires et dans les toxoplasmoses des patients immunodéprimés. Les femmes enceintes sont traitées avec la spiramycine dès la détection de l'infection pour limiter le risque de passage transplacentaire du parasite.

Ces divers médicaments ne sont actifs que sur le stade tachyzoïte. Ils permettent donc de lutter contre l'infection aiguë ou la réactivation d'une infection latente. Mais ils sont inefficaces pour éradiquer le parasite durant la phase latente de l'infection. En effet, des études récentes montrent qu'il existe des molécules qui pourraient cibler le stade bradyzoïte de *T. gondii* ou empêcher la conversion bradyzoïte-tachyzoïte, mais ceci n'a été développé que chez la souris (ZHANG et *al.*, 2013 ; BHADRA et *al.*, 2013) ou in vitro (MAUBOUN et *al.*, 2010).



**Chapitre III: Méthodes de diagnostic  
de la toxoplasmose humaine**

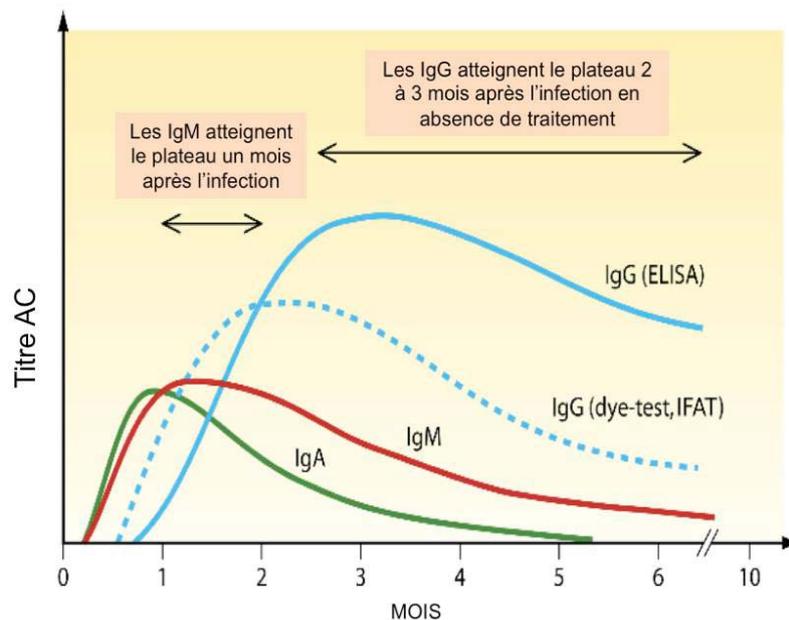
### III.1. Méthodes de diagnostic

Le diagnostic biologique de la toxoplasmose repose selon le contexte clinique et le statut immunitaire du patient, sur la recherche d'anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma* et/ou sur la recherche directe du parasite ou de son ADN. Les différents tests actuellement utilisés sont décrits ci-dessous (HAS, 2017).

#### III.1.1. Tests sérologiques

##### III.1.1.1. Cinétique des anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma*

Les IgM et IgA anti-*Toxoplasma* apparaissent usuellement pendant la semaine suivant l'infection aiguë. Leur niveau augmente jusqu'à un pic vers un à deux mois. Des IgE spécifiques sont également produites précocement et disparaissent rapidement. Une lente diminution du taux des IgM s'opère sur un à six mois suivants jusqu'à négatification chez environ 25 % des patients en moins de sept mois, mais ces anticorps restent le plus souvent détectables un an ou plus. Les IgA disparaissent généralement plus rapidement, mais peuvent être détectées jusqu'à neuf mois après l'infection. En fonction des individus et de la sensibilité des techniques utilisées, les IgG sont détectées environ deux à trois semaines après l'infection aiguë et sont maximales après environ deux à trois mois. Leur taux diminue alors globalement au cours des deux années suivantes jusqu'à des niveaux résiduels qui persistent toute la vie de l'individu (figure13) (MURAT *et al.*, 2013 ; CNRT, 2016 ; KAPAROS *et al.*, 2014 ; ROBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012 ; AAP, 2015).



**Figure 13 :** Cinétique de la réponse des anticorps (Ac) durant une infection par *T. gondii* (ROBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012).

Il faut noter que la précocité de détection des anticorps dépend de la technique utilisée. Ainsi, les techniques sérologiques utilisant des antigènes de membrane ou le parasite entier, comme le test de lyse ou la technique d'immunofluorescence indirecte, détectent précocement la réponse qui est dans un premier temps dirigée contre les antigènes de surface du parasite. Les techniques ELISA utilisant des mélanges d'antigènes cytosoliques ou métaboliques et de surface, détectent les IgG un peu plus tardivement (ROBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012).

### **III.1.1.2. Techniques utilisant des antigènes figurés**

#### **III.1.1.2.1. Sabin-Feldman dye-test (test de lyse)**

Le dye-test consiste à incuber des dilutions du sérum à tester avec des toxoplasmes vivants afin d'observer la lyse du parasite par les anticorps sériques anti-*Toxoplasma*, en présence de complément.

Au microscope à contraste de phase, les toxoplasmes morts apparaissent grisâtres, alors que les parasites vivants apparaissent bien brillants. Depuis de nombreuses années, ce test est considéré comme le test de référence (gold standard) en matière de sensibilité et spécificité pour la détection des anticorps anti-*Toxoplasma*, mais il n'est plus pratiqué que dans quelques laboratoires spécialisés, car il est complexe techniquement (nécessite d'inactiver le sérum analysé et d'ajouter du complément issu de sérum frais dépourvu d'anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma*) et logistiquement, car il requiert notamment d'entretenir une souche hautement virulente du parasite dans le laboratoire (MURAT et *al.*, 2013; ROBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012). Il est à noter que ce test détecte à la fois les IgG et IgM anti-*Toxoplasma* et qu'il ne doit donc être utilisé comme test de confirmation de la présence d'IgG qu'en absence d'IgM (MURAT et *al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012). Le titre est rapporté comme la dilution de sérum pour laquelle la moitié des parasites ne sont pas tués et l'autre moitié sont tués (REMINGTON et *al.*, 2011).

#### **III.1.1.2.2. Immunofluorescence indirecte (IFI)**

La technique d'IFI utilise des tachyzoïtes entiers fixés (formolés), déposés sur des lames de verre incubées avec des dilutions sérielles du sérum à tester. Si ce sérum contient des anticorps anti-*Toxoplasma*, ils sont révélés par un anticorps anti-IgG ou IgM humain marqué à la fluorescéine (lecture au microscope à fluorescence). Il existe des réactifs commercialisés. Le titre correspond à la dernière dilution positive pour laquelle l'intégralité de la membrane des parasites apparaît bien fluorescente. La lecture est parfois difficile (MURAT et *al.*, 2013 ;

SAADATNIA et GOLKAR, 2012). Ces réactifs sont rapportés avec cette technique des faux positifs en présence d'anticorps antinucléaires ou de facteur rhumatoïde et des faux négatifs en cas de titres bas des anticorps IgG (KAPAROS *et al.*, 2014).

### III.1.1.2.3. Techniques d'agglutination

- **Agglutination directe**

Cette technique consiste en une addition de dilutions sérielles du sérum à tester, à une suspension de parasites entiers dans des puits avec un fond en forme de U. Lorsque les parasites couvrent tout le fond du puits (voile au fond de la cupule), la réaction est positive, alors que s'ils sédimentent au fond, la réaction est négative (lecture à l'œil nu). Le titre correspond à la dernière dilution donnant un voile couvrant 50 % de la cupule. Cette méthode détecte à la fois les IgG et les IgM (MURAT *et al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012).

- **Agglutination directe haute sensibilité**

La technique d'agglutination directe a été rendue plus sensible par l'addition de trypsine (sensibilisation des parasites utilisés comme antigènes) et plus spécifique par l'addition de 2-mercaptoéthanol (destruction des IgM). La technique ne détectant plus que les IgG. Ces dernières peuvent être titrées (MURAT *et al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012). Il existe des tests commerciaux pour mettre en œuvre les techniques d'agglutination directe (VILLARD *et al.*, 2012).

- **Agglutination différentielle**

Cette méthode permet de comparer les titres d'IgG obtenus par agglutination avec deux préparations de toxoplasmes fixés soit par le formol (antigène HS), soit par le méthanol (antigène AC). La préparation d'antigène AC contient des antigènes stade-spécifiques préférentiellement reconnus par des IgG produites contre les tachyzoïtes précocement au cours de l'infection, alors que l'antigène HS est exprimé tout au long de l'infection. En début d'infection, les IgG dirigées contre les deux types d'antigènes sont synthétisées à des titres comparables. Puis, après 6 à 12 mois, la réponse anticorps dirigée contre l'antigène AC spécifique de la membrane du tachyzoïte, diminue d'intensité pour finalement se négativer, alors que les titres d'IgG en HS persistent à des titres plus ou moins élevés. En pratique, un rapport HS/AC > 4 exclut une infection datant de moins de six mois. Les antigènes ne sont pas commercialisés et de préparation délicate (REMINGTON *et al.*, 2011 ; DAVENEL *et al.*, 2009).

#### III.1.1.2.4. Technique Immunosorbent Agglutination Assay (ISAGA)

La technique ISAGA peut être utilisée pour la recherche des IgM, IgA et IgE. Elle repose initialement sur une technique d'immunocapture : le fond des puits de plaques de microtitration (fond en U) est sensibilisé par des anticorps recombinants dirigés contre les IgM, A ou E humaines. L'incubation du sérum humain dans ces cupules permet leur capture, qu'elles soient spécifiques ou non de *T. gondii*. Après lavage, une suspension de toxoplasmes formolés est ajoutée dans les cupules. Une réaction positive correspond à un voile formé au fond de la cupule. Une réaction négative correspond à un bouton de sédimentation. Afin de quantifier les IgM, A ou E anti-*Toxoplasma*, la même réaction est appliquée sur trois cupules dans lesquelles on ajoute trois quantités croissantes d'antigènes. À la lecture, un score allant de 0 à 4 est affecté à chacune des cupules permettant d'attribuer au sérum testé. Un score de 0, sérum négatif et de 12, sérum fortement positif. Il s'agit d'une technique très sensible (positivité précoce au moment de l'infection aiguë) et très spécifique (non influencée par la présence éventuelle de facteur rhumatoïde) pour la recherche des IgM anti-*Toxoplasma*. La réalisation du test est relativement facile, car il existe un test commercial, mais la lecture demande un certain degré d'expertise (MURAT et *al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012 ; BIOMNIS, 2013).

#### III.1.1.3. Techniques utilisant des antigènes solubles

Toutes ces techniques utilisent des antigènes extraits de tachyzoïtes. Leurs performances sont alors fortement dépendantes de la qualité des antigènes préparés.

##### III.1.1.3.1. Agglutination indirecte

Ces méthodes utilisent des particules sensibilisées avec des antigènes de *T. gondii*. En présence d'anticorps spécifiques dans le sérum, ces particules s'agglutinent macroscopiquement. Elles sont usuellement faites de plastique (latex), excepté pour l'hémagglutination qui utilise des érythrocytes d'origine animale. Le test d'agglutination au latex est facile à réaliser et sensible. La lecture se fait à l'œil nu en quelques minutes. Ce test est cependant sujet aux phénomènes de zone (résultat négatif en présence d'anticorps à titres élevés) et ne permet pas de distinguer les différents isotypes d'anticorps (SAADATNIA et GOLKAR, 2012 ; BIOMNIS, 2013).

### III.1.1.3.2. Techniques d'immunoanalyse

#### Détection des IgG, IgM et IgA

Différents types d'essais immunoenzymatiques, en particulier de type ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), ont été développés dans le cadre du diagnostic de la toxoplasmose pour la détection des anticorps anti-*Toxoplasma*. Ils partagent tous le même principe de fixer les anticorps du patient, à une phase solide via des antigènes liés pour les IgG, ou des anticorps isotype-spécifiques (immunocapture, pour les IgM et IgA). La phase solide, le conjugué et le type de signal (produit coloré ou fluorescent) peuvent varier. Un anticorps conjugué avec un signal enzymatique est utilisé pour générer un signal coloré ou fluorescent qui est analysé, comparé à des valeurs standard et transcrit en unités conventionnelles. Les techniques automatisées les plus récentes utilisent d'autres types de système de détection (chimiluminescence ou électrochimiluminescence) (MURAT et *al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012). Les techniques immunoenzymatiques se sont largement répandues dans les laboratoires de routine en tant que tests de screening rapides automatisés.

Beaucoup de fabricants fournissent des tests commerciaux pour la détection et quantification des IgG et IgM, avec généralement de bonnes performances (peu de kits disponibles pour la détection des IgA et IgE) (MURAT et *al.*, 2013). Le défaut majeur de ces tests est la mauvaise standardisation des résultats entre les techniques/kits commerciaux due à des variations de qualité d'antigènes d'un kit commercial à un autre (SAADATNIA et GOLKAR, 2012 ; REMINGTON et *al.*, 2011 ; BIOMNIS, 2013).

- **Mesure d'avidité des IgG par technique ELISA modifiée**

Le test de mesure d'avidité des IgG est utilisé pour affiner la datation de l'infection, lorsque la présence concomitante d'IgM et d'IgG anti-*Toxoplasma* fait suspecter une infection récente. Ce test est basé sur l'augmentation progressive de l'affinité des anticorps pour leur cible antigénique au cours de l'évolution de l'immunité naturelle suivant l'infection. L'affinité augmente habituellement progressivement au cours des semaines ou mois, du fait de la sélection des cellules B orientées vers les antigènes du toxoplasme (SAADATNIA et GOLKAR, 2012). La mesure de la force de liaison de l'anticorps peut être évaluée par une technique de type ELISA modifiée, par l'introduction d'une étape de lavage avec un agent dissociant (généralement l'urée) qui permet de retirer les anticorps de faible avidité d'une infection acquise récemment. Le titre résultant d'IgG détectables est utilisé pour calculer un ratio des titres (ou valeurs de densité optique) entre les échantillons traités et non traités, ce

ratio étant nommé indice d'avidité (MURAT et *al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012). En fonction des tests commerciaux, un indice d'avidité élevé s'interprète comme une infection acquise dans les trois-cinq mois précédents, excluant donc une infection survenue en cours de grossesse si le test est réalisé pendant le 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse (KAPAROS et *al.*, 2014 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012 ; ROBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012). Au contraire, une avidité en IgG faible ne permet pas d'affirmer une infection récente, car la maturation de la réponse immunologique est plus ou moins longue en fonction des personnes (KAPAROS et *al.*, 2014). Des anticorps de faible avidité peuvent être retrouvés plus d'un an après la contraction de l'infection (MURAT et *al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012).

#### III.1.1.3.3. Immunoblot (ou Western blot)

La technique d'immunoblot, également appelée technique de Western blot ou d'immunoempreinte, présente actuellement deux applications pratiques dans le diagnostic de toxoplasmose (MURAT et *al.*, 2013 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012 ; SFM, 2015) :

- Méthode de confirmation pour la détection des IgG. Un immunoblot peut être réalisé sur les échantillons où la sérologie obtenue par une ou deux techniques initiales (généralement techniques d'immunoanalyse et IFI) apparaît douteuse («zone grise»), à la limite de la détectabilité et/ou discordante entre les techniques. L'immunoblot est plus simple à réaliser que le dye-test.

Il existe un test commercial se présentant sous la forme de bandelettes de nitrocellulose prêtes à l'emploi, sur la surface desquelles les antigènes de *T. gondii* ont été fixés. Les bandelettes sont séquentiellement incubées avec le sérum à tester, un anti-isotype, un anticorps conjugué à une enzyme et enfin avec un substrat qui précipite sous la forme d'une bande colorée. Certaines bandes sont spécifiques de l'infestation toxoplasmique. Leur présence permet d'interpréter le test comme positif et de conclure à la présence d'IgG anti-*Toxoplasma* dans l'échantillon testé (MURAT et *al.*, 2013 ; ROBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012 ; SFM, 2015) ;

- Comparaison de profils immunologiques entre les sérums mère/enfant ou entre deux compartiments analytiques (sérum/humeur aqueuse ou sérum/liquide cébrospinal), pour détecter la synthèse autonome d'anticorps chez le nouveau-né ou une synthèse locale d'anticorps respectivement.

Cette synthèse est mise en évidence par la présence de bandes présentant une spécificité différente de celles obtenues à partir du sérum, ou par des bandes de même spécificité, mais

présentant une intensité significativement plus importante. Un kit commercial est disponible également (MURAT et *al.*, 2013 ; CNRT, 2016).

#### **III.1.1.3.4. Technique Enzyme-Linked Immunofiltration Assay (ELIFA)**

L'ELIFA peut être utilisée pour la comparaison de profils immunologiques, dans des indications similaires à celles de l'immunoblot. Cette technique consiste à réaliser dans un premier temps une électrosynérèse avec des antigènes solubles de *T. gondii*, et ensuite à révéler les arcs de précipitation obtenus par une méthode immunoenzymatique. Le critère de positivité est l'observation d'un ou de plusieurs arcs. Cette technique n'est cependant utilisée que dans peu de centres, l'IB l'ayant remplacée dans la majorité des laboratoires spécialisés (MURAT et *al.*, 2013 ; BIOMNIS, 2013).

#### **III.1.2. Diagnostic direct (recherche du parasite ou de son ADN)**

La visualisation directe du parasite dans les produits pathologiques est rarement possible. La détection de l'ADN de *T. gondii* dans des fluides corporels et les tissus est utilisée pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale, oculaire, cérébrale et disséminée (MONTROYA, 2002). Les gènes B1, P30 et ADNr18 ont été largement utilisés pour détecter l'ADN de *T. gondii* dans une variété de tissus (JONES et *al.*, 2000).

##### **III.1.2.1. Examen direct**

La visualisation directe des tachyzoïtes sur frottis ou apposition après coloration (au May Grunwald Giemsa ou MGG) dans un tissu ou un liquide corporel est réalisable, mais sa sensibilité est faible. Cette observation étant très rarement faite. Cet examen est donc considéré comme présentant peu d'intérêt (MURAT et *al.*, 2013 ; REMINGTON et *al.*, 2011 ; SFM, 2015).

##### **III.1.2.2. Isolement du parasite**

- **Inoculation à la souris**

La mise en évidence du parasite peut être réalisée par injection du matériel suspect (tout liquide biologique, placenta...) à des souris de laboratoire, par voie intra-péritonéale ou sous-cutanée (REMINGTON et *al.*, 2011). Ce test *in vivo* repose sur la détection d'une réponse anticorps chez l'animal par l'examen d'échantillons de sérums prélevés deux à trois semaines après l'inoculation. La présence du parasite étant définitivement confirmée après quatre à six semaines par la recherche de kystes dans le cerveau de l'animal sacrifié si des anticorps sont présents (ROBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012 ; REMINGTON et *al.*, 2011). Il est à noter que l'isolement à partir du liquide cébrospinal, oculaire ou amniotique montre une

infection active, mais que l'isolement à partir de tissus obtenus par biopsie peut refléter simplement la présence de kystes tissulaires chez le patient dans le cadre d'une infection chronique. Cette technique requiert des infrastructures spécialisées (animalerie, matériel) et un personnel compétent (MURAT *et al.*, 2013 ; RBERT-GANGNEUX et DARDE, 2012 ; REMINGTON *et al.*, 2011).

- **Culture cellulaire**

La mise en culture cellulaire, possible notamment sur fibroblastes embryonnaires humains (cellules MRC5), est une technique délicate, fragile aux contaminations et peu sensible. Pour ces raisons, elle n'est que très peu utilisée aujourd'hui (MURAT *et al.*, 2013 ; REMINGTON *et al.*, 2011 ; SFM, 2015).

### **III.1.2.3. Recherche de l'ADN du parasite par PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

L'ADN parasitaire peut être recherché dans différents prélèvements, incluant le liquide amniotique et divers prélèvements néonataux, en fonction du contexte clinique. La PCR quantitative en temps réel semble être devenue la technique de référence pour la recherche directe du parasite, notamment du fait de sa sensibilité élevée. Des cibles variées ont été décrites, avec principalement le gène B1 (première cible utilisée ; répliqué 35 fois dans le génome du parasite et absent dans les cellules des mammifères) ; ce qui augmente la sensibilité de la détection de faibles nombres de toxoplasme (WASTLING *et al.*, 1993).

Une séquence répétitive d'ADN de 529 paires de bases (REP-529, séquence spécifique répétée 200 à 300 fois dans le génome du toxoplasme). Cette dernière séquence semble fournir les meilleures performances dans la majorité des études (MURAT *et al.*, 2013 ; MONCADA et MONTOYA, 2012 ; SAADATNIA et GOLKAR, 2012 ; BUTLER *et al.*, 2013 ; REMINGTON *et al.*, 2011 ; SFM, 2015).



# **Matériel et Méthodes**

Afin de réaliser notre étude expérimentale, nous nous sommes rapprochées au laboratoire d'analyse de parasitologie-mycologie au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire d'Alger (Mustapha Pacha), du 25 Février au 20 Mars 2018, dont les résultats sont obtenus en une journée sur 92 femmes enceintes, et une étude statistique sur 198 femmes enceintes en un mois au laboratoire d'analyse de microbiologie de C.H.U de Tizi-Ouzou (Nedir Mohamed).

#### IV.1. Matériel du laboratoire

Le matériel utilisé dans notre travail expérimental à Mustapha Pacha est cité en annexe 1.

##### IV.1.1. Réactifs utilisés

###### IV.1.1.1. Réactifs communs aux différents kits

- R2 : solution de lavage concentrée 20 fois.
- R7 : diluant pour échantillon et conjugué.
- R9 : chromogène TMB.
- R10 : solution d'arrêt ( $H_2SO_4$  1N).

###### IV.1.1.2. Réactifs spécifiques à chaque dosage

- **Dosage des IgG**

- R1 : microplaque à 96 cupules à puits sécables sensibilisée avec l'antigène de *T. gondii*
- R3: sérum humain non réactif (témoin négatif).
- Sérums étalons positifs :
  - R4a : 6 $\mu$ l/ml.
  - R4b: 60 $\mu$ l/ml.
  - R4c: 240 $\mu$ l/ml.
- R6 : conjugué (anticorps monoclonal d'origine murine anti-chaînes gamma humaines couplé à la peroxydase) concentré 51fois.

- **Dosage des IgM**

- R1 : microplaque à 96 cupules à puits sécables sensibilisée par des anticorps anti-chaînes  $\mu$  humaine pour le kit toxo IgM.
- R3: sérum humain non réactif (témoin négatif).
- R4: calibrateur : sérum humain réactif pour les IgM anti-*T. gondii* pour le kit toxo IgM.

- R5: sérum témoin positif en IgM anti-*T. gondii* pour le kit toxo IgM.
- R6a: antigène toxoplasmique lyophilisé.
- R6b : conjugué (anticorps monoclonal d'origine murine anti-*T. gondii* (P30) couplé à la peroxydase) concentrée 101fois.

#### IV.1.1.3. Réactifs utilisés pour déterminer l'indice d'avidité

- R5a : témoin d'avidité Basse (Low) : sérum humain réactif vis-à-vis des IgG anti-*T. gondii*.
- R5b : témoin d'avidité Haute (High) : sérum humain négatif vis-à-vis des IgG anti-*T. gondii*.
- R12 : solution de contrôle.
- R13 : solution dissociante.
- Réactifs du kit ELISA toxo IgG (R1, R2, R6, R7, R9 et R10).

#### IV.2. Méthodes

L'examen sérologique a été réalisé par la technique immunoenzymatique ELISA (Platelia<sup>TM</sup> Toxo IgG, IgM BIORADR) pour la recherche des IgG et des IgM anti-toxoplasmiques. Le test d'avidité (Platelia<sup>TM</sup> Toxo IgG AVIDITY a été pratiqué afin de dater l'infection toxoplasmique. Cette technique est utilisée en routine comme technique de première intention en raison de sa sensibilité, simplicité et son automatisation. Deux types de techniques sont utilisés :

- L'ELISA indirecte, pour le titrage des IgG ;
- L'immuno-capture ou ELISA reverse pour la recherche d'IgM.

##### IV.2.1. ELISA indirecte: PLATELIA<sup>TM</sup> toxo IgG

###### Principe

Cette technique est basée sur un dosage immunoenzymatique en phase solide. La microplaque est sensibilisée par un antigène soluble de *T. gondii*, cet antigène provient de l'ultrasonat de tachyzoïtes hautement concentré en protéines membranaires. Le conjugué est un anticorps monoclonal, spécifique des chaînes gamma humaines (IgG), marqué à la peroxydase. Les résultats pour les IgG sont exprimés en UI/ml.

###### 1<sup>ère</sup> étape

Les sérums à étudier ainsi que les étalons, préalablement dilués au 1/101<sup>ème</sup> sont déposés dans les cupules de la microplaque et incubés pendant 1 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 lavages effectués à la fin de l'incubation éliminent les IgG sans spécificité anti-*T. gondii* et autres protéines sériques.

### **2<sup>ème</sup> étape**

Le conjugué (anticorps monoclonal spécifique des chaînes gamma humaines, marqué à la peroxydase) est déposé dans toutes les cupules de la microplaque, et incubé également pendant 1 heure à 37°C. Il se lie alors aux IgG sériques ayant réagi avec l'antigène toxoplasmique. Une série de lavages est effectuée en fin d'incubation pour éliminer le conjugué non lié.

### **3<sup>ème</sup> étape**

La révélation de la présence du complexe immun (Ag toxoplasmique, IgG sériques anti-*T. gondii*, conjugué anti-IgG) se fait par l'addition dans chaque cupule d'une solution de révélation enzymatique (figure 14).

### **4<sup>ème</sup> étape**

La réaction enzymatique est stoppée, après 30 minutes d'incubation à température du laboratoire, par une solution d'acide sulfurique 1N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 (Unité Internationale). Les sérums (R4a, R4b, R4c) sont calibrés vis-à-vis de l'étalon OMS (TOXM 185) (BIO-RAD, 2006).

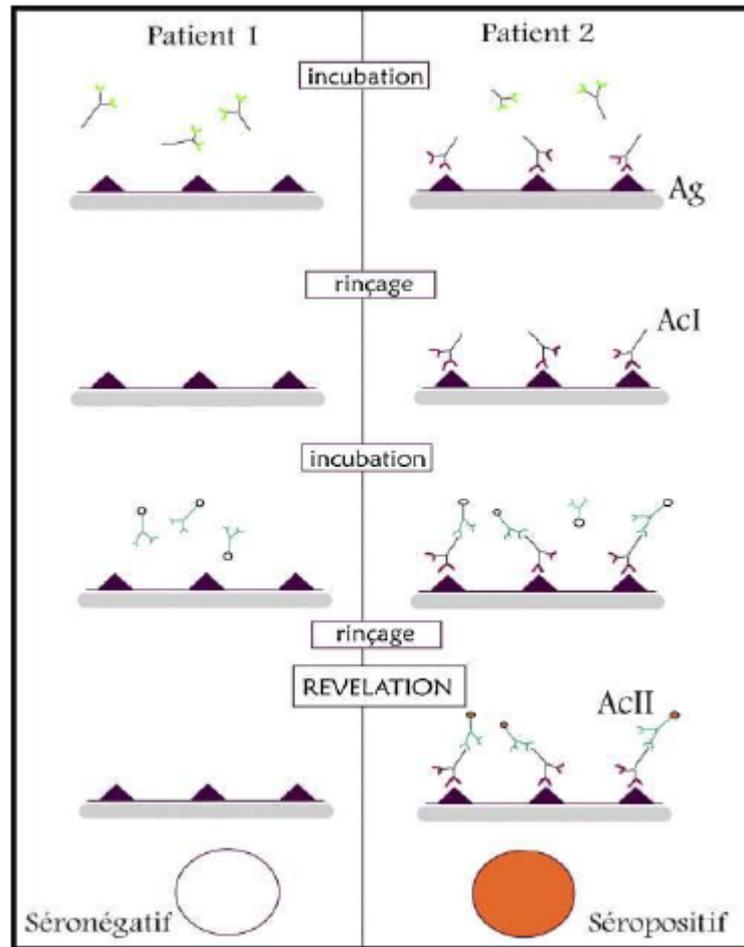


Figure 14: Schéma récapitulatif de la technique ELISA IgG (FELIDJ et MEZIANE, 2016)

➤ **Mode opératoire**

Avant utilisation, laisser les réactifs revenir à température ambiante (18-30°C).

Centrifuger 2500 tours pendant 5 à 10mn, puis récupérer les sérums dans de nouveaux tubes.

Préparer la solution de lavage diluée (R2) : 950 ml d'eau distillée + 50µl de solution de lavage.

Dans des tubes identifiés individuellement, diluer les calibrateurs : témoin négatif (R3), les étalons positifs (R4a, R4b et R4c) et les échantillons de patients à tester au 1/21 dans le diluant R7 ; soit 500µl de diluant (R7) + 25µl de l'échantillon (figure 15), bien homogénéiser à l'aide d'un vortex.



**Figure 15** : Préparation des dilutions de calibrateurs et des échantillons

Ensuite, distribuer dans chaque cupule 200µl des calibrateurs respectivement et des échantillons dilués. Couvrir la microplaque d'un film adhésif, puis l'incuber immédiatement pendant 1 heure à 37°C (figure 16).



**Figure 16** : Incubation des microplaques.

Préparer la solution du conjugué R6 + R7 (250µl d'AC anti-toxoplasmose + 12.5ml de diluant).

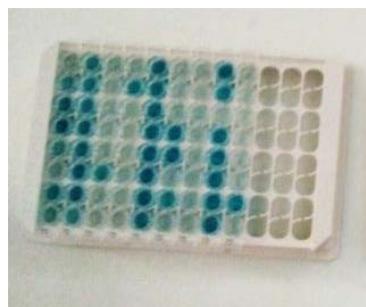
A la fin de la première incubation, procéder à 4 lavages avec la solution R2 préparée préalablement, sécher les barrettes par retournement sur du papier absorbant, et taper légèrement afin d'éliminer la totalité de la solution de lavage. Ensuite, distribuer 200 $\mu$ l de la solution du conjugué préparée (R6+R7) dans toutes les cupules. Agiter cette solution avant l'emploi. Couvrir la microplaque d'un film adhésif neuf et l'incuber pendant 1h à 37°C.

A la fin de cette deuxième incubation, retirer le film adhésif et procéder à 4 lavages (figure 17).



**Figure 17** : laveur de la microplaque.

Cependant, distribuer rapidement et à l'abri de la lumière vive, 200 $\mu$ l du chromogène R9 dans toutes les cupules (figure 18). Laisser la réaction se développer à l'obscurité sans film adhésif pendant 30mn, à température ambiante (18 à 30°C).



**Figure 18** : la microplaque Platelia Toxo IgG après ajout du chromogène.

Enfin, arrêter la réaction enzymatique en ajoutant 10 $\mu$ l de la solution R10 dans chaque cupule et lire la densité optique à 450/620nm à l'aide d'un lecteur de plaques

(spectrophotomètre) (figure 19). Les barrettes doivent toujours être conservées à l'abri de la lumière avant la lecture.



**Figure 19** : lecture des densités optiques au spectrophotomètre.

### IV.2.2. LISA reverse : PLATELIA TM toxo IgM

#### Principe

C'est une technique « double sandwich », basée sur un dosage immuno enzymatique par capture des IgM en phase solide. La microplaque est sensibilisée par des anticorps. 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 (figure 20).

#### 1<sup>ère</sup> étape

Les sérums à étudier ainsi que les étalons, préalablement dilués au 1/101<sup>ème</sup> sont déposés dans des cupules de la microplaque et incubés pendant 1h à 37°C. Les IgM anti-*T. gondii* présentes dans l'échantillon sont captées par la phase solide grâce aux anticorps présents dans les cupules de la microplaque. Les lavages effectués à la fin de l'incubation éliminent les IgG et autres protéines sériques.

#### 2<sup>ème</sup> étape

Un mélange d'antigène toxoplasmique (Ag *T. gondii*) et d'anticorps monoclonal anti-*T. gondii* marqué à la peroxydase (ACM-POD) est déposé dans toutes les cupules de la microplaque et incubé pendant 1 heure à 37°C. Les IgM captées sur la phase solide lors de la première étape, fixent le complexe (Ag *T. gondii*-ACM-POD). Les lavages à la fin de cette étape éliminent l'Ag *T. gondii* et l'ACM-POD non fixés ou en excès.

#### 3<sup>ème</sup> étape

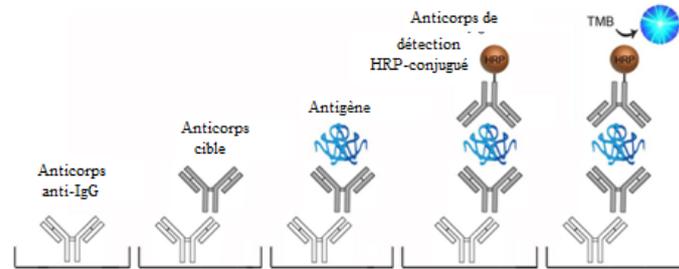
La mise en évidence de la présence du complexe immun (phase solide anti-IgM, IgM anti-*T. gondii*, Ag *T. gondii* ACM-POD) se fait par l'addition dans chaque cupule d'une solution de révélation.

#### 4<sup>ème</sup> étape

La réaction enzymatique est stoppée par l'acide sulfurique 1N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N) après 30 minutes d'incubation et à température du laboratoire (18-30°C).

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

La lecture des résultats en densité optique est comparée par rapport à une valeur seuil qui permet d'affirmer ou d'infirmar la présence d'anticorps de la classe IgM anti-*T. gondii* (BIO-RAD, 2009).



**Figure 20** : Schéma récapitulatif de la technique ELISA IgM (Anonyme, 2018).

### ➤ Mode opératoire

Cette technique se déroule en même temps que la technique ELISA indirecte.

Dans des tubes identifiés individuellement, diluer les calibrateurs R3, R4, R5 ; distribuer dans chaque cupule 200µl des calibrateurs respectivement et des échantillons de patients préparés préalablement :

- Cupule A1 : 200µl de contrôle négatif (R3).
- Cupule B1 : 200µl de contrôle valeur-seuil (R4).
- Cupule C1 : 200µl de contrôle valeur-seuil (R4).
- Cupule D1 : 200µl de contrôle positif (R5).
- Cupules E1, F1, G1, H1,... : 200µl d'échantillons des patients dilués.

Couvrir la microplaque d'un film adhésif et l'incuber immédiatement pendant 1h à 37°C.

Préparer l'antigène *T. gondii* (R6a) (présenté sous forme lyophilisé), en ajoutant 14ml de diluant (R7) et bien homogénéiser. Puis, rajouter 140µl du conjugué (R6b) dans le flacon d'Ag reconstitué (R6a dilué) et homogénéiser.

A la fin de la première incubation, procéder à 4 lavages avec la solution R2 préparée. Sécher les barrettes par retournement sur du papier absorbant et taper légèrement afin d'éliminer la totalité de la solution de lavage. Ensuite, distribuer 200µl de la solution du conjugué préparée (R6a+R7+R6b) dans toutes les cupules. Agiter cette solution avant l'emploi. Couvrir la microplaque d'un film adhésif neuf et incuber pendant 1h à 37°C.

A la fin de cette deuxième incubation, retirer le film adhésif et procéder à 4 lavages. Cependant, distribuer rapidement et à l'abri de la lumière vive, 200µl du chromogène R9 dans toutes les cupules (figure 21). Laisser la réaction se développer à l'obscurité sans film adhésif pendant 30 mn, à température ambiante (18 à 30°C).



**Figure 21 :** la microplaque Platelia Toxo IgM après ajout du chromogène.

Enfin, arrêter la réaction enzymatique en ajoutant 10µl de la solution R10 dans chaque cupule et lire la densité optique à 450/620nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

#### **IV.2.3. Détermination de l'indice d'avidité : Platelia TM toxo IgG**

##### **Principe**

L'étude de l'avidité des IgG, qui mesure l'intensité de la liaison antigène-anticorps, a été mise au point pour améliorer le diagnostic de la toxoplasmose, particulièrement pour faciliter la datation de la contamination par rapport à l'âge de la grossesse chez la femme enceinte.

L'avidité des IgG est mesurée par des adaptations des tests ELISA, en introduisant un agent dissociant perturbant la liaison Ag-Ac. L'utilisation de cet agent qui dissocie la liaison, permet la comparaison de la DO obtenue avec agent dissociant à la DO obtenue sans agent dissociant.

L'intensité de la liaison antigène-anticorps, augmente au cours de la maturation de la réponse immunitaire humorale pour atteindre une valeur stable. Ainsi, une avidité faible (basse, dans le cas où la liaison Ag-Ac est dissociée facilement) est associée à une infection récente. A l'inverse, une avidité élevée (haute, dans le cas où la liaison Ag-Ac est faiblement dissociée) est associée à une infection ancienne (BIO-RAD, 2013).

##### **1<sup>er</sup> étape**

Les sérums ainsi que les témoins dilués sont disposés en double dans les puits de la microplaque sensibilisés avec les antigènes de *T. gondii*.

Durant la première incubation d'une heure à 37°C, les IgG anti-*T. gondii* présentées dans l'échantillon se lient à l'antigène toxoplasmique fixé sur les puits de la microplaque. Après inoculation, les IgG sans spécificité anti-*T. gondii* et autres protéines sériques sont éliminées par aspiration.

### **2<sup>ème</sup> étape**

Chaque sérum et témoin est traité en double : la solution de contrôle est déposée dans un puits et la solution dissociante dans l'autre puits. Durant cette incubation de 15 min à température ambiante (20-30°C), la solution dissociante tente de rompre la liaison antigène/anticorps. Les deux solutions et les IgG non liées sont éliminées par les lavages pratiqués à la fin de l'incubation.

### **3<sup>ème</sup> étape**

Le conjugué, anticorps monoclonal spécifique des chaînes gamma humaines marqué à la peroxydase, est alors déposé dans tous les puits de la microplaque. Durant cette incubation de 1 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 les lavages pratiqués à la fin de l'incubation.

### **4<sup>ème</sup> étape**

La présence du complexe immun (antigène toxoplasmique, IgG sérique anti-*T. gondii*, conjugué anti-IgG) est révélée par l'addition dans chaque puits d'une solution de révélation enzymatique.

### **5<sup>ème</sup> étape**

Après ½ heure d'incubation à température ambiante, la réaction enzymatique est stoppée par une solution d'acide sulfurique 1N. La densité optique obtenue à 450/620nm est proportionnelle à la quantité d'IgG anti-*T. gondii* présente dans l'échantillon (BIO-RAD, 2013).

➤ **Mode opératoire**

Préparer la solution de lavage R2 diluée.

Diluer les témoins (R5a et R5b) au 1/101<sup>ème</sup> (10µl de témoin + 1ml de diluant R7), bien homogénéiser (vortex).

Diluer les échantillons au 1/101<sup>ème</sup> ou 1/808<sup>ème</sup> en fonction du titre en IgG obtenu préalablement avec la trousse Platelia TM Toxo IgG TMB :

- si le titre est compris entre 09 et 80 µl/ml, diluer au 1/101<sup>ème</sup> (10µl d'échantillon +1ml de R7).
- si le titre est supérieur ou égale à 80 µl/ml, diluer au 1/808<sup>ème</sup> (100µl de la première dilution + 700µl de diluant R7), bien homogénéiser (vortex)

Distribuer 200µl de témoin (Low et high) et les échantillons dilués selon la figure 22.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R5a	R5a	S7	S7								
B	R5b	R5b										
C	S1	S1										
D	S2	S2										
E	S3	S3										
F	S4	S4										
G	S5	S5										
H	S6	S6										

**Figure 22** : Manière de distribution des témoins et des échantillons d'avidité des IgG (BIO-RAD, 2013).

Couvrir la microplaque d'un film adhésif et l'incuber pendant 1heure à 37°C.

A la fin de la première incubation, retirer le film adhésif et aspirer le contenu de toutes les cupules. Distribuer rapidement 200µl de la solution de contrôle (R12) dans tous les puits des barrettes impaires et 200µl de la solution (R13) dans tous les puits des barrettes paires (figure 23). Incuber la microplaque pendant 15 min à température ambiante (+20 à 30°C).



**Figure 23** : la microplaquette après ajout des solutions de contrôle et dissociante.

A la fin de la deuxième incubation, procéder à 2 lavages. Sécher la plaquette en la retournant sur une feuille de papier absorbant. Ensuite, distribuer 200 $\mu$ l de la solution du conjugué (R6+R7) dans toutes les cupules. Cette solution doit être agitée avant emploi. Recouvrir la microplaquette d'un film adhésif neuf et l'incuber pendant 1 heure à 37°C.

A la fin de la troisième incubation, retirer le film adhésif, procéder à 4 lavages, puis sécher les plaquettes par retournement sur une feuille de papier absorbant.

Distribuer rapidement dans toutes les cupules 200 $\mu$ l de la solution de révélation (R9). Laisser la réaction se dérouler à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante (+20 à 30°C). Ajouter 100 $\mu$ l de la solution d'arrêt (R10). Lire la densité optique à 450/620 nm.



## **Résultats et discussion**

V.1. Résultats et discussion

V.1.1. Résultats de valeur seuil IgM

Les résultats des échantillons testés sur IgM sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Résultats des échantillons testés sur IgM.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC1	SM1_5	SM1_13	SM1_21	SM1_29	SM1_37	SM1_45	SM1_53	SM1_61	SM1_69	SM1_77	SM1_85
	0.0184	0.0329	0.0229	0.0197	2.9821	0.0185	0.0239	0.3254	0.017	-0.004	-0.004	-0.0039
		0.103	0.072	0.062	9.318	0.058	0.075	1.017	0.053	-0.012	-0.012	-0.012
		neg	neg	neg	POS	neg	neg	POS	neg	neg	neg	neg
B	CO1	SM1_6	SM1_14	SM1_22	SM1_30	SM1_38	SM1_46	SM1_54	SM1_62	SM1_70	SM1_78	SM1_86
	0.3195	0.0319	0.0278	0.0432	2.7891	0.0218	0.0203	0.1277	0.029	0.0006	0.0005	0.0005
		0.1	0.087	0.135	8.715	0.068	0.063	0.399	0.091	0.002	0.002	0.002
		neg	neg	neg	POS	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
C	CO1	SM1_7	SM1_15	SM1_23	SM1_31	SM1_39	SM1_47	SM1_55	SM1_63	SM1_71	SM1_79	SM1_87
	0.3206	0.0645	0.0217	0.024	2.866	0.024	0.0243	0.0228	0.0243	0.0003	0.0002	0.0002
		0.202	0.068	0.075	8.955	0.075	0.076	0.071	0.076	0.001	0.001	0.001
		neg	neg	neg	POS	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
D	PC1	SM1_8	SM1_16	SM1_24	SM1_32	SM1_40	SM1_48	SM1_56	SM1_64	SM1_72	SM1_80	SM1_88
	0.9568	1.9129	0.0245	0.0293	2.6745	0.0412	0.0214	0.0622	0.0245	0.0002	0.0002	0.0002
		5.977	0.077	0.092	8.357	0.129	0.067	0.194	0.077	0.001	0.001	0.001
		POS	neg	neg	POS	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
E	SM1_1	SM1_9	SM1_17	SM1_25	SM1_33	SM1_41	SM1_49	SM1_57	SM1_65	SM1_73	SM1_81	SM1_89
	0.0314	1.8994	0.0262	0.0261	1.5247	0.117	0.025	0.1268	0.03	-0.0001	-0.0003	-0.0002
	0.098	5.935	0.082	0.082	4.764	0.366	0.078	0.396	0.094	0	-0.001	-0.001
		neg	neg	POS	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
F	SM1_2	SM1_10	SM1_18	SM1_26	SM1_34	SM1_42	SM1_50	SM1_58	SM1_66	SM1_74	SM1_82	SM1_90
	0.0333	1.7758	0.0197	0.0251	1.2685	0.0219	0.0212	0.0363	0.0187	-0.0011	-0.0011	-0.0011
	0.104	5.549	0.062	0.078	3.963	0.068	0.066	0.113	0.058	-0.003	-0.003	-0.003
		neg	neg	POS	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
G	SM1_3	SM1_11	SM1_19	SM1_27	SM1_35	SM1_43	SM1_51	SM1_59	SM1_67	SM1_75	SM1_83	SM1_91
	0.0301	0.0328	0.0184	0.0215	0.1101	0.0362	0.018	0.7617	0.0551	-0.0025	-0.0025	-0.0023
	0.094	0.102	0.057	0.067	0.344	0.113	0.056	2.38	0.172	-0.008	-0.008	-0.007
		neg	neg	neg	neg	neg	neg	POS	neg	neg	neg	neg
H	SM1_4	SM1_12	SM1_20	SM1_28	SM1_36	SM1_44	SM1_52	SM1_60	SM1_68	SM1_76	SM1_84	SM1_92
	0.0252	0.0493	0.0185	0.0246	0.1136	0.0323	0.0189	0.1613	0.0131	-0.0014	-0.0013	-0.0013
	0.079	0.154	0.058	0.077	0.355	0.101	0.059	0.504	0.041	-0.004	-0.004	-0.004
		neg	neg	neg								

Témoins : témoin (+) et témoin (-)

(IgG<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup>) : séropositif

(IgG<sup>-</sup> IgM<sup>-</sup>) : séronégatif

(IgG<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup>) : séropositif

Le seuil est considéré comme étant négatif, douteux ou positif lorsque le ratio est compris entre 0.80 et 1.00 tel qu'il est représenté dans le tableau V.

**Tableau V** : Echelle des ratios des IgM (BIO-RAD, 2009).

<b>Ratio échantillon</b>	<b>Résultat</b>	<b>Interprétation</b>
Ratio < 0.80	Négatif	L'échantillon est négatif.
$0.80 \leq \text{Ratio} < 1.00$	Douteux	L'échantillon est douteux. Le résultat doit être confirmé par un nouveau test réalisé sur un nouvel échantillon prélevé au minimum 3 semaines après la date du 1er examen.
Ratio $\geq 1.00$	Positif	L'échantillon est Positif.

D'après les résultats obtenus de 92 échantillons testés sur IgM, 11 sont positifs (IgM  $\geq 1.00$ ) et 81 sont négatifs (IgM < 0.80).

V.1.2. Résultats de valeur seuil IgG

Les résultats des échantillons testés sur IgG sont présentés dans le tableau VI :

Tableau VI : Résultats des échantillons testés sur IgG.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ST1_1 0.0645 0	SM1_5 1.5074 47.978 POS	SM1_13 0.1514 0.85602 neg	SM1_21 0.0753 0.10639 neg	SM1_29 2.4074 >Max	SM1_37 0.0387 <Min	SM1_45 0.0461 <Min	SM1_53 2.5012 >Max	SM1_61 0.0391 <Min	SM1_69 -0.0037 <Min	SM1_77 -0.0038 <Min	SM1_85 -0.0037 <Min
	ST1_2 0.6736 6	SM1_6 1.5368 49.458 POS	SM1_14 0.067 0.024.. neg	SM1_22 1.8676 96.708 POS	SM1_30 2.103 167.89 POS	SM1_38 0.0642 <Min	SM1_46 0.0461 <Min	SM1_54 1.8816 100.94 POS	SM1_62 0.0724 0.07782 neg	SM1_70 0.0007 <Min	SM1_78 0.0006 <Min	SM1_86 0.0006 <Min
C	ST1_3 1.7462 60	SM1_7 1.6103 53.158 POS	SM1_15 0.0403 <Min	SM1_23 0.0671 0.025.. neg	SM1_31 2.4753 >Max	SM1_39 0.073 0.08373 neg	SM1_47 0.1697 1.0363 neg	SM1_55 0.0578 <Min	SM1_63 0.0548 <Min	SM1_71 0 <Min	SM1_79 0 <Min	SM1_87 0 <Min
	ST1_4 2.3415 240	SM1_8 2.0726 158.69 POS	SM1_16 0.0701 0.055.. neg	SM1_24 0.0294 <Min	SM1_32 2.2041 198.45 POS	SM1_40 2.2467 211.34 POS	SM1_48 0.0444 <Min	SM1_56 2.3643 >Max	SM1_64 0.0467 <Min	SM1_72 0.0003 <Min	SM1_80 0.0002 <Min	SM1_88 0.0002 <Min
F	SM1_1 0.5929 5.2051 neg	SM1_9 2.1349 177.53 POS	SM1_17 0.0423 <Min	SM1_25 0.0287 <Min	SM1_33 2.7895 >Max	SM1_41 2.5158 >Max	SM1_49 0.0476 <Min	SM1_57 2.5803 >Max	SM1_65 0.0447 <Min	SM1_73 -0.0004 <Min	SM1_81 -0.0003 <Min	SM1_89 -0.0004 <Min
	SM1_2 0.12 0.54671 neg	SM1_10 2.1655 186.78 POS	SM1_18 1.4065 42.898 POS	SM1_26 0.0679 0.033.. neg	SM1_34 2.7016 >Max	SM1_42 0.0801 0.15367 neg	SM1_50 0.1162 0.50928 neg	SM1_58 2.2786 220.98 POS	SM1_66 0.0406 <Min	SM1_74 -0.0013 <Min	SM1_82 -0.0013 <Min	SM1_90 -0.0012 <Min
G	SM1_3 1.4333 44.247 POS	SM1_11 2.6716 >Max	SM1_19 0.0469 <Min	SM1_27 0.0338 <Min	SM1_35 2.7629 >Max	SM1_43 1.3219 38.639 POS	SM1_51 0.1388 0.7319 neg	SM1_59 2.4025 >Max	SM1_67 2.0787 160.54 POS	SM1_75 -0.0028 <Min	SM1_83 -0.0027 <Min	SM1_91 -0.0028 <Min
	SM1_4 0.4083 3.3866 neg	SM1_12 0.7919 11.956 POS	SM1_20 0.0285 <Min	SM1_28 0.0369 <Min	SM1_36 1.9803 130.78 POS	SM1_44 0.1154 0.5014 neg	SM1_52 0.0599 <Min	SM1_60 2.5358 >Max	SM1_68 0.0443 <Min	SM1_76 -0.0014 <Min	SM1_84 -0.0014 <Min	SM1_92 -0.0013 <Min

Témoins : témoin (+) et témoin (-)

(IgG<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup>) : séropositif

(IgG<sup>-</sup> IgM<sup>-</sup>) : séronégatif

(IgG<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup>) : séropositif

Le seuil est considéré comme étant négatif, douteux ou positif lorsque le ratio est compris entre 9 et 240 UI/ ml tel qu'il est représenté dans le tableau VII.

**Tableau VII :** Echelle des IgG (BIO-RAD, 2006).

<b>Ratio échantillon</b>	<b>Résultat</b>	<b>Interprétation</b>
Titre < 9 UI/ml	Négatif	absence d'immunité
9 UI/ml < Titre ≤ 240 UI/ml	Positif	immunité ancienne ou début de séroconversion.
Titre > 240 UI/ml	Positif mais titre supérieur à la limite supérieure	séroconversion récente

D'après les résultats obtenus où 92 échantillons sont testés sur IgG, 30 sont positifs ( $9 < \text{IgG}$ ) et 62 sont négatifs ( $\text{IgG} < 9$ ).

#### ✓ Résultats des IgG et des IgM

Suite aux résultats obtenus en une journée de l'étude sérologique (IgG, IgM) concernant 92 femmes enceintes venant de différentes régions d'Alger suivies au laboratoire parasitologie-mycologie (Mustapha Pacha), 62 femmes sont ( $\text{IgG}^- \text{IgM}^-$ ), 19 ( $\text{IgG}^+ \text{IgM}^-$ ), 11 ( $\text{IgG}^+ \text{IgM}^+$ ) et 0 cas pour ( $\text{IgG}^- \text{IgM}^+$ ).

V.1.3. Résultats de valeur seuil avidité des IgG

Les résultats des échantillons testés sur l'avidité sont présentés dans le tableau VIII :

Tableau VIII : Résultats des échantillons testés sur l'avidité.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	LPC1 0.4348 0.15	LPC1 0.0654	SM1_7 -0.0027 !-0.0027	SM1_7 -0.0027	SM1_15 -0.0026 !-0.0026	SM1_15 -0.0024	SM1_23 -0.0023 !-0.0023	SM1_23 -0.002	SM1_31 -0.0019 !-0.0019	SM1_31 -0.0017	SM1_39 -0.0016 !-0.0016	SM1_39 -0.0015
B	HPC1 0.4984 0.595	HPC1 0.2967	SM1_8 0.0002 !0.0002	SM1_8 0.0001	SM1_16 0.0001 !0.0001	SM1_16 0.0001	SM1_24 0.0001 !0.0001	SM1_24 0.0001	SM1_32 0.0001 !0.0001	SM1_32 0.0001	SM1_40 0.0001 !0.0001	SM1_40 0.0001
C	SM1_1 0.2315 0.384 Low	SM1_1 0.0889	SM1_9 0.0002 !0.0002	SM1_9 0.0001	SM1_17 0.0001 !0.0001	SM1_17 0.0001	SM1_25 0.0001 !0.0001	SM1_25 0.0002	SM1_33 0.0001 !0.0001	SM1_33 0.0001	SM1_41 0.0001 !0.0001	SM1_41 0.0001
D	SM1_2 0.2354 0.386 Low	SM1_2 0.0908	SM1_10 0.0002 !0.0002	SM1_10 0.0001	SM1_18 0.0002 !0.0002	SM1_18 0.0001	SM1_26 0.0001 !0.0001	SM1_26 0.0001	SM1_34 0.0001 !0.0001	SM1_34 0.0001	SM1_42 0.0001 !0.0001	SM1_42 0.0001
E	SM1_3 0.215 0.368 Low	SM1_3 0.0791	SM1_11 0 !0	SM1_11 0.0001	SM1_19 0.0001 !0.0001	SM1_19 0.0001	SM1_27 0.0001 !0.0001	SM1_27 0.0001	SM1_35 0.0001 !0.0001	SM1_35 0.0001	SM1_43 0.0001 !0.0001	SM1_43 0.0001
F	SM1_4 -0.0034 !-0.0034	SM1_4 0.0019	SM1_12 -0.0003 !-0.0003	SM1_12 -0.0003	SM1_20 -0.0003 !-0.0003	SM1_20 -0.0002	SM1_28 -0.0002 !-0.0002	SM1_28 -0.0002	SM1_36 -0.0002 !-0.0002	SM1_36 -0.0002	SM1_44 -0.0002 !-0.0002	SM1_44 -0.0001
G	SM1_5 -0.0014 !-0.0014	SM1_5 -0.0028	SM1_13 -0.0005 !-0.0005	SM1_13 -0.0005	SM1_21 -0.0005 !-0.0005	SM1_21 -0.0005	SM1_29 -0.0005 !-0.0005	SM1_29 -0.0004	SM1_37 -0.0004 !-0.0004	SM1_37 -0.0003	SM1_45 -0.0003 !-0.0003	SM1_45 -0.0002
H	SM1_6 -0.0096 !-0.0096	SM1_6 -0.0066	SM1_14 -0.0006 !-0.0006	SM1_14 -0.0007	SM1_22 -0.0007 !-0.0007	SM1_22 -0.0007	SM1_30 -0.0005 !-0.0005	SM1_30 -0.0005	SM1_38 -0.0005 !-0.0005	SM1_38 -0.0003	SM1_46 -0.0003 !-0.0003	SM1_46 -0.0002

Témoin : Low

Témoin : High

Avidité des IgG < 0.5

Le seuil est considéré comme étant négatif, douteux ou positif lorsque la DO est comprise entre 0.40 et 0.50, tel qu'il est représenté dans le tableau IX.

**Tableau IX** : Echelle d'avidité des IgG (BIO-RAD, 2013).

Indice d'avidité (IA)	Interprétation
$IA < 0,40$	Zone d'avidité basse : infection récente de -20 semaines.
$0,40 \leq IA < 0,50$	Zone d'avidité intermédiaire : réalisation d'un deuxième prélèvement.
$IA \geq 0,50$	Zone d'avidité haute : infection ancienne de +20 semaines.

D'après les résultats de 3 échantillons testés sur l'avidité des IgG, l'indice d'avidité (IA)  $< 0,40$ . Dans ce cas les 3 femmes enceintes ont une infection récente de moins de 20 semaines.

## V.2. Interprétation de la sérologie toxoplasmique chez la femme enceinte

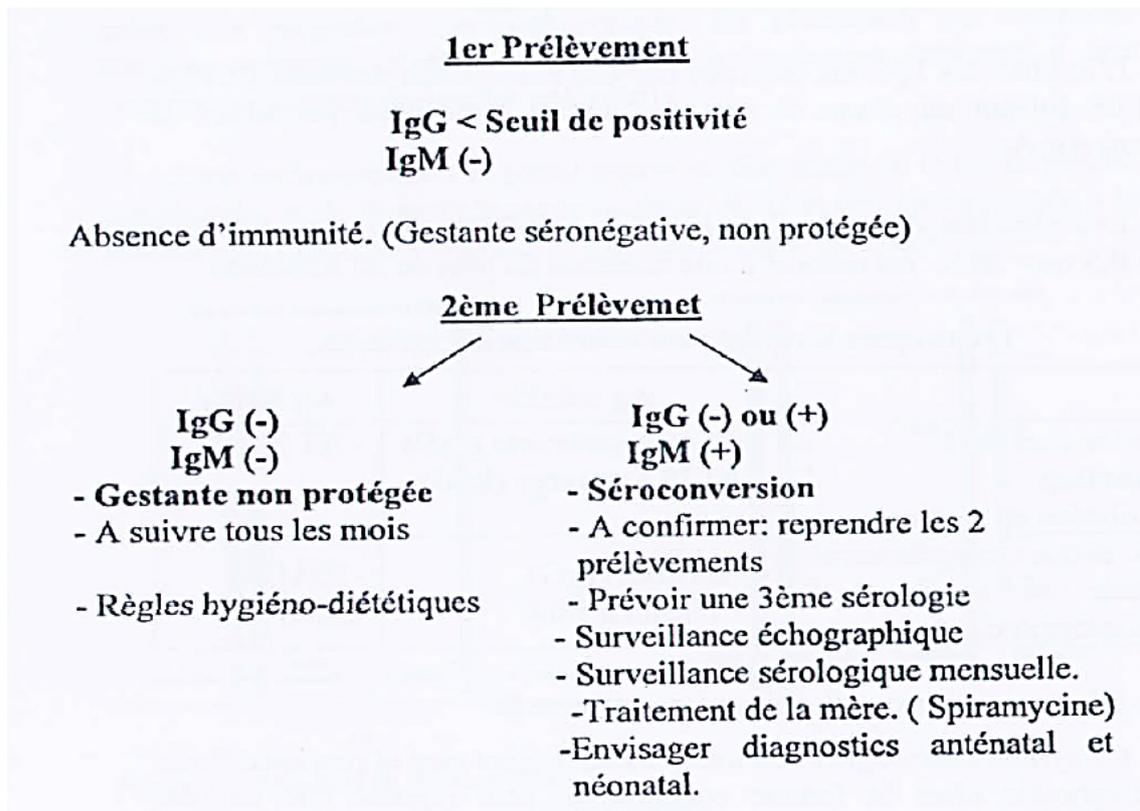
Les résultats obtenus dans les tableaux IV, VI et VIII sont interprétés comme suite :

La mise en évidence des IgM évoque une infection récente, mais n'est pas suffisante pour l'affirmer. Cependant, il ne faut jamais conclure trop rapidement à une primo-infection sur la seule présence des IgM, il faut interpréter le résultat des IgM en fonction des IgG (BOUCHENE, 2013).

Suite aux résultats des sérologies, plusieurs situations peuvent se présenter :

### ❖ Situation 1 : Absence de détection d'IgG et d'IgM (figure 24)

En cas d'absence d'anticorps spécifiques chez le sujet (cas A-4 tableau IV et VI). Il conviendra de poursuivre une surveillance sérologique mensuelle jusqu'à l'accouchement, et de recommander le suivi strict des mesures hygiéno-diététiques (VILLARD *et al.*, 2011).

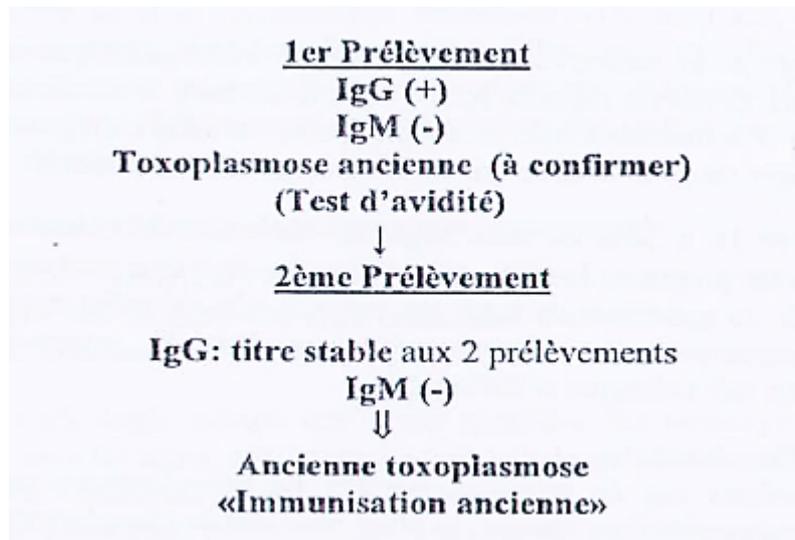


**Figure 24** : Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgG et des IgM négatives (BOUCHENE, 2013).

❖ **Situation 2 : Présence d'IgG avec absence d'IgM (figure 25)**

En absence d'antécédent lors de la grossesse, il convient de contrôler la sérologie sur un second sérum prélevé à 3 semaines d'intervalle (cas D-6 tableaux IV et VI).

- Si le titre des IgG est stable, dans ce cas il s'agit d'une infection ancienne, la femme est considérée comme « immunisée » et le suivi sérologique n'est pas nécessaire (BOUCHENE, 2013).
- Si le titre d'IgG augmente, il est recommandé de dater l'infection par la détermination de l'avidité des IgG sur le premier sérum. En cas d'avidité élevée, on pourra conclure à une probable réactivation sérologique d'une infection ancienne. Si l'avidité est intermédiaire ou basse, une infection récente sans IgM ne peut être exclue et la prise en charge médicale devra être adaptée à l'âge gestationnel (VILLARD *et al.*, 2011).

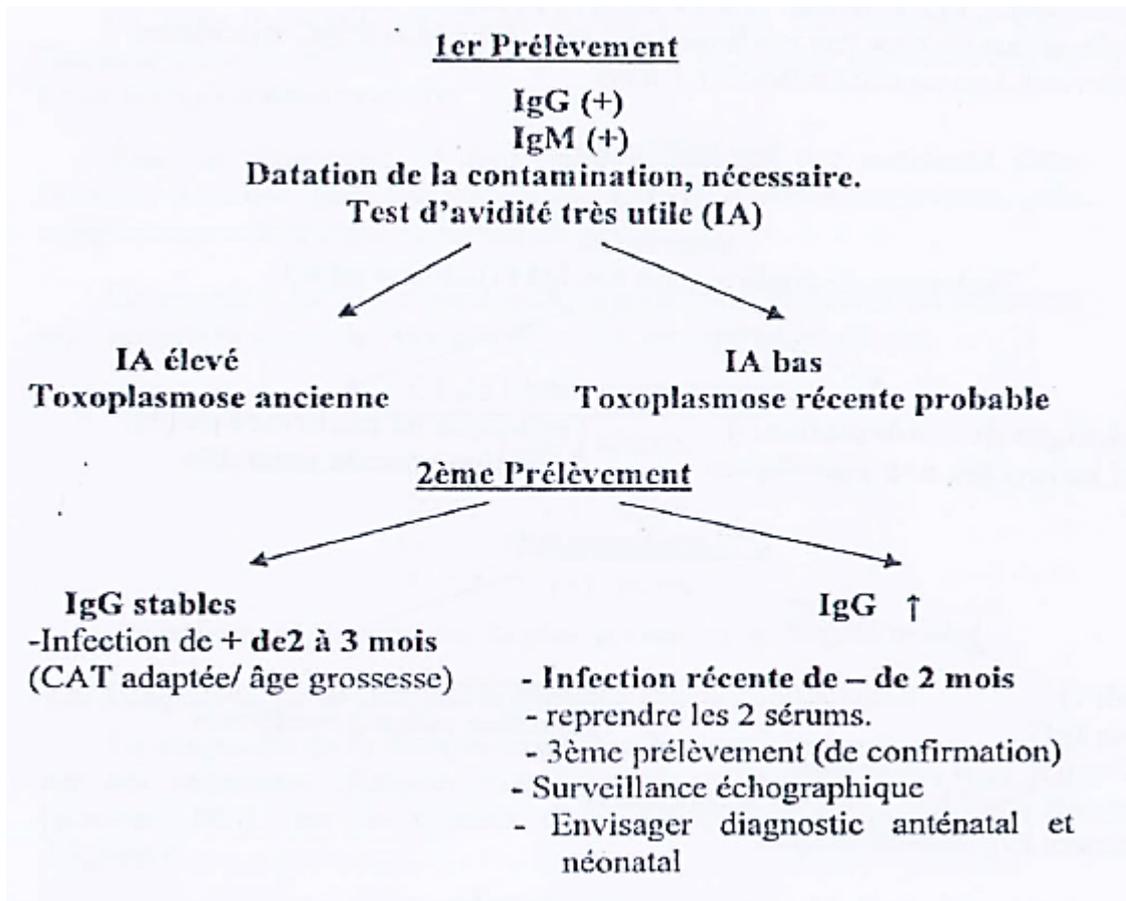


**Figure 25:** Interprétation à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgG positives et des IgM négatives (BOUCHENE, 2013).

❖ **Situation 3 : Présence d'IgG et d'IgM (figure 26)**

La présence d'IgG accompagnée d'IgM est en faveur d'une infection relativement récente (cas C-5 tableaux IV et VI). Un test d'avidité permettra de dater plus précisément la contamination.

- Si l'avidité des IgG est élevée, on pourra exclure une infection récente, il est nécessaire d'effectuer un contrôle de confirmation à 3 semaines. Si le titre des IgG est stable, on conclura à une infection ancienne. Les résultats sont à interpréter en fonction de la date de début de la grossesse et la prise en charge médicale doit être adaptée à l'âge gestationnel.
- Si l'avidité des IgG est intermédiaire ou basse, ces résultats ne permettent pas d'exclure une infection récente et seule la cinétique des anticorps réalisée sur un deuxième prélèvement à 3 semaines d'intervalle permettra de dater l'infection. En présence d'IgG stables, on pourra conclure à une infection datant probablement de plus de 2 ou 3 mois par rapport à la date du premier sérum. Si une augmentation significative des IgG est observée, l'infection date alors de moins de 2 à 3 mois. La prise en charge de la femme enceinte sera à adaptée en fonction de l'âge gestationnel (VILLARD *et al.*, 2011).



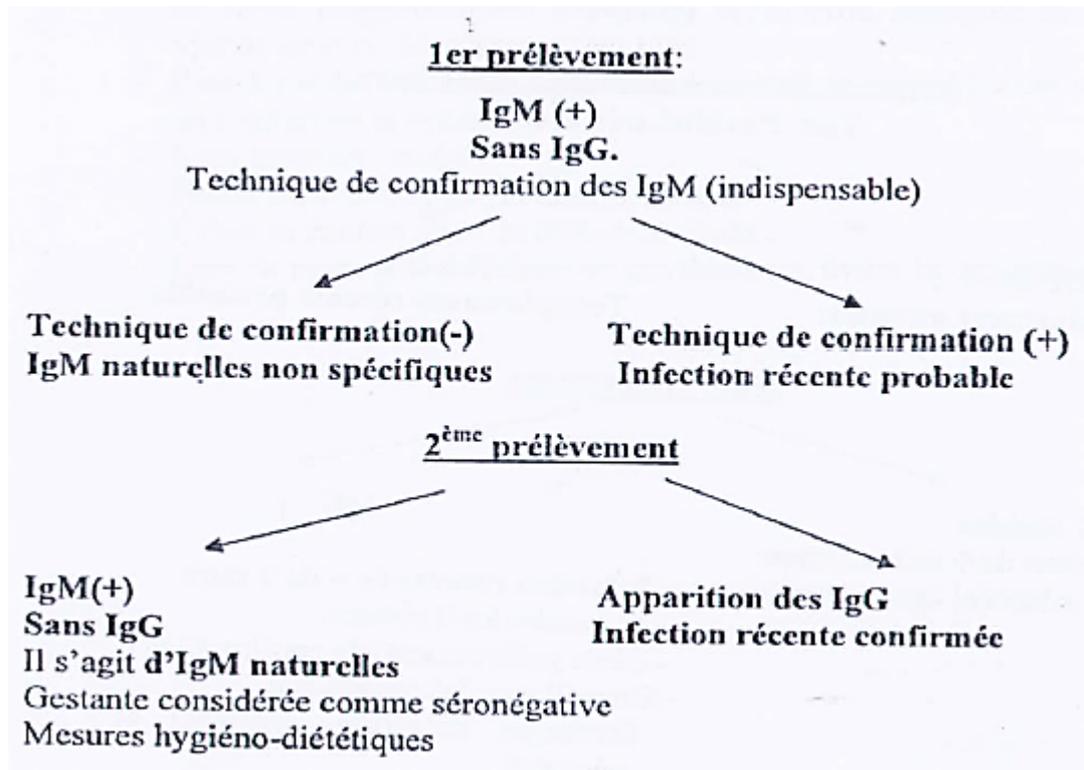
**Figure 26** : Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgM et des IgG positives (BOUCHENE, 2013).

❖ **Situation 4 : Absence d'IgG avec présence d'IgM (figure 27)**

Il faut effectuer une seconde technique de détection des IgM.

- Si la technique de confirmation est négative et qu'il s'agit d'un premier sérum, la présence d'IgM avec une seule technique peut correspondre à des IgM naturelles non spécifiques, mais les techniques détectant des IgM sont variables surtout en terme de précocité de détection. Un début de séroconversion ne peut pas être totalement exclu et la sérologie doit être contrôlée sur un deuxième sérum. Si les résultats de ce deuxième sérum sont identiques au premier, l'hypothèse d'IgM naturelles se confirme, pour une femme enceinte il convient de poursuivre la surveillance sérologique mensuelle (considérée comme séronégative).
- Si la technique de confirmation est positive et qu'il s'agit d'un premier sérum, une infection récente est très probable. Une séroconversion toxoplasmique ne peut être

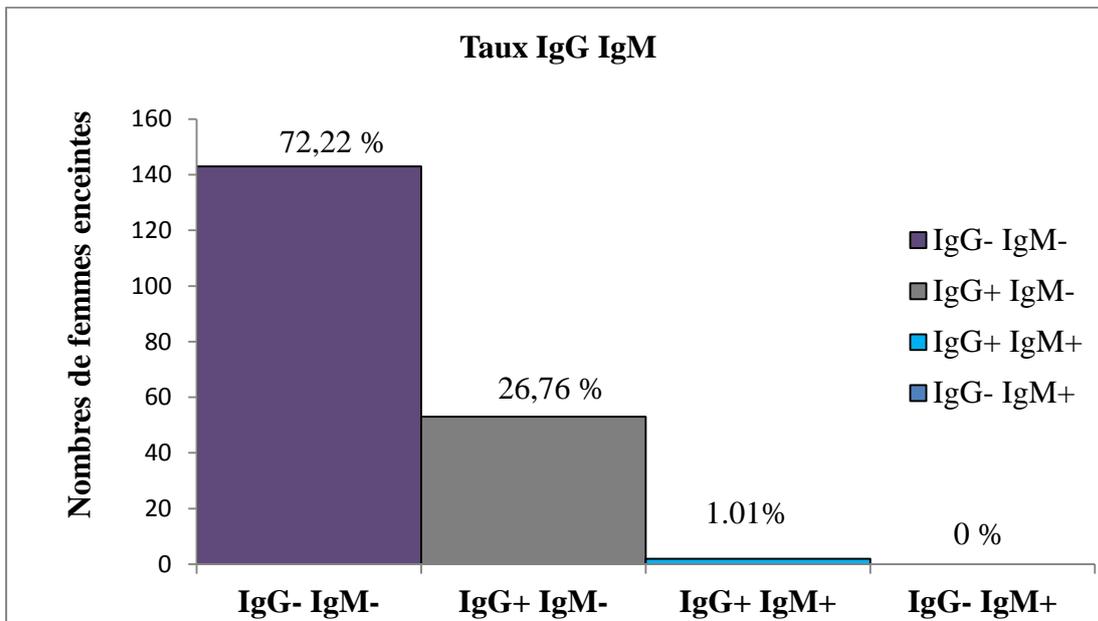
confirmée que par l'apparition d'IgG spécifiques qui survient dans un délai inférieur à 1 mois (BOUCHENE, 2013).



**Figure 27:** Interprétation et conduite à tenir face à une sérologie de la toxoplasmose avec des IgG négatives et des IgM positives (BOUCHENE, 2013).

### V.3. Etude statistique

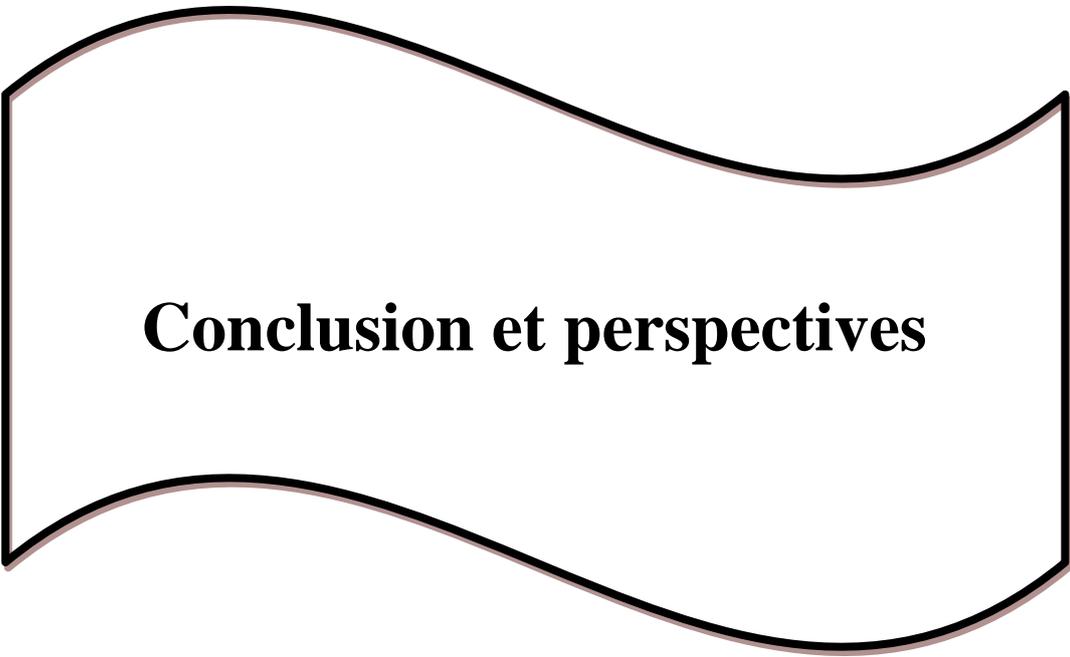
L'étude a concerné 198 femmes enceintes venant de différentes régions de Tizi-Ouzou, suivies au laboratoire de microbiologie du CHU (Nedir Mohamed) du 20 Février au 20 Mars 2018. L'examen sérologique a été réalisé selon la technique ELISA pour la recherche des IgG et des IgM anti-toxoplasmiques (figure 28).



**Figure 28:** Représentation graphique de taux des IgG et des IgM pendant la grossesse.

La séroprévalence globale est de 27.77%. On note que 53 (26.76%) femmes enceintes ont une infection ancienne, 143 femmes ne sont pas immunisées (72.22%), 2 femmes (1.01%) ont une infection récente, et absence (0%) de séroconversion au cours de la grossesse. selon cette étude il apparait que la majorité des femmes ne sont pas immunisées. D'après les résultats du test statistique (test descriptif), la p-value est inférieure au risque de 5%. L'hygiène et la consommation de crudités sont significativement identifiées comme facteur de risque de la toxoplasmose ( $p < 0.01$ ) en milieu rural (Annexe 2).

Une étude a été réalisée de 1999 à 2016 par Guechi et Hamrioui au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU d'Alger (Mustapha Pacha) sur 56 956 femmes enceintes, sachant que la prévalence varie selon le nombre de patientes, les techniques utilisées et d'autres facteurs (hygiène, alimentation...). La sérologie globale de cette étude était de 39.2%. On note que 22 227 (39%) femmes ont eu une infection ancienne, 34 589 femmes ne sont pas immunisées (61%) et 102 (0.2%) ont fait une primo-infection toxoplasmique au cours de la grossesse (HAMRIOUI et GUECHI, 2018).



**Conclusion et perspectives**

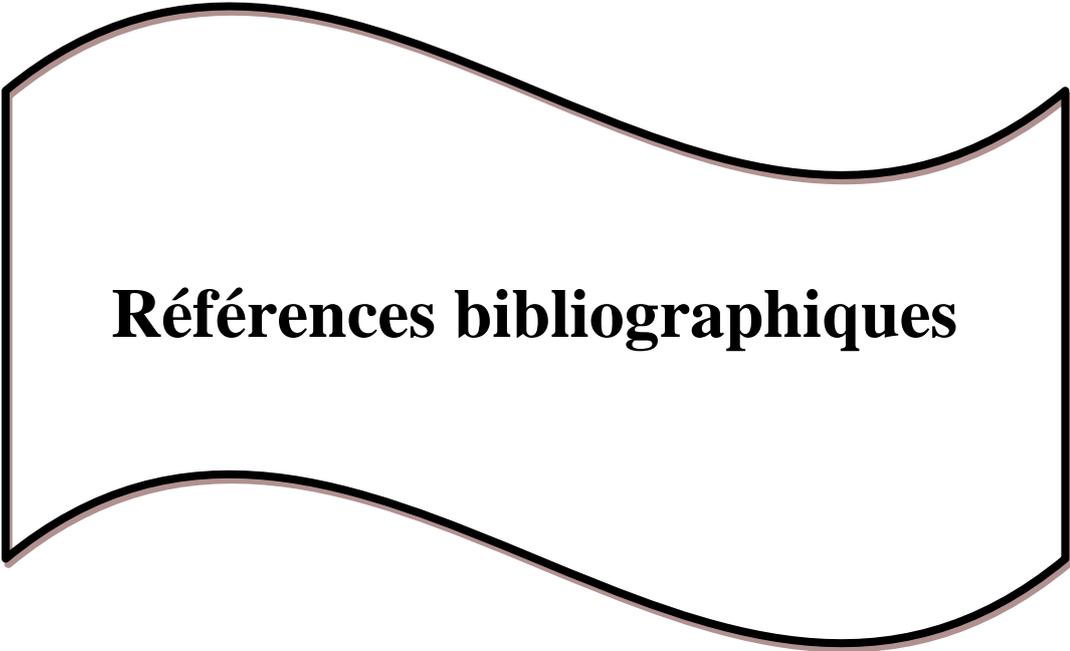
### Conclusion et perspectives

La toxoplasmose due au parasite *Toxoplasma gondii* est une maladie très répandue dans le monde.

D'après notre étude, la plupart des femmes enceintes ne sont pas immunisées contre la toxoplasmose (séronégatives). Mais malgré cela, la séroconversion reste un cas très rare. Sur 92 échantillons (Mustapha Pacha), 62 des femmes enceintes sont séronégatives (IgG<sup>-</sup> IgM<sup>-</sup>) et 30 sont séropositives (19 IgG<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup>, 11 IgG<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup>). Sur 198 femmes (Nedir Mohamed), 72.22% (IgG<sup>-</sup> IgM<sup>-</sup>) sont séronégatives et 27.77% sont séropositives (26.76% IgG<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup>, 1.01% IgG<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup> et 0% IgG<sup>-</sup> IgM<sup>+</sup>).

Il n'y a pas de vaccin contre la toxoplasmose. C'est donc à la prévention de cette infection que les responsables de la santé doivent concentrer leurs efforts en matière de recommandation et d'éducation sanitaire des femmes enceintes. Cependant, il est conseillé de suivre les précautions suivantes: ne pas manger de viande crue ,marinée ou fumée, congélation ménagère prolongée, lavage abondant des fruits et légumes, très bonne hygiène des mains et ustensiles de cuisine, éviter tout contact avec les chats (litière, jardinage), éviter les repas pris en extérieur et enfin continuer de surveiller régulièrement les réactions sérologiques de la toxoplasmose (toutes les 4 semaines).

Malgré cette prévention mise en place, la toxoplasmose congénitale pose toujours un problème de santé publique. De ce fait, le dépistage doit être poursuivi, notamment la détermination du test d'avidité qui apparaît comme un moyen efficace pour exclure un grand nombre de toxoplasmoses. En cas de toxoplasmose survenant en cours de grossesse, un traitement maternel doit être institué le plus rapidement possible et le diagnostic prénatal de l'infection foetale est à préconiser.



**Références bibliographiques**

Références bibliographiques

**ACHBROU A., MERCEREAU-PUJALON O., SADAK A., FORTIER B., LERICHE M., CAMUS D., DUBREMETZ J.F. (1991).** Differential targeting of dense granule proteins in the parasitophorous vacuole of *Toxoplasma gondii*. Parasitol., 103 : 321-9.

**AFSSA. (2005).** Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation. Rapport du groupe de travail « *Toxoplasma gondii* » de l'afssa. Maisons-Alfort. France .45-47.

**AJZENBERG D., COGNE N., PARIS L., BESSIERES M. H., THULLIEZ P., FILISETTI D., PELLOUX H., MARTY P., DARDE M. L. (2002).** Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. J Infect Dis., 186 : 684-689.

**AMBROISE-THOMAS. (1998).** Parasitologie Mycologie. 141-149.

**AAP. (2015).** *Toxoplasma gondii* infections (Toxoplasmosis). Dans: Reb Book. 2012 Report of the committee on infectious diseases. Elk Grove Village: AAP. 787-95.

**ANOFEL. (2014).** Toxoplasmose. Univ. Médicale Virtuelle Francophone., 7P.

**BASTIEN M. (2017).** Contamination des terrains potagers par *Echinococcus multilocularis*, *Toxoplasma gondii* et *Toxocara* spp., parasites responsables de zoonoses transmises par l'alimentation. Univ. Reims Champagne-Ardenne., 10P.

**Bessieres M.H., Cassaing S., Fillauxa J., Berrebi A. (2008).** Toxoplasmose et grossesse. Revue Francophone des Laboratoires., 49P.

**BESSIERES M.H., BERREBI A., ROLLAND M., BLOOM M.C., ROQUES C., CASSAING S. (2001).** Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol., 94: 37-45. 60.

**BEST J.M., BANATVALA J.E., ZUCKERMAN A.J., BANATVALA J.E., PATTISON JR. (2000).** Principles and practice of clinical virology. 4<sup>th</sup> ed. Chichester: Wiley. 427-58.

**BHADRA R., COBB D.A., KHAN I.A. (2013).** Donor CD8+ T cells prevent *Toxoplasma gondii* de-encystation but fail to rescue the exhausted endogenous CD8+ T cell population. *Infection and immunity.*, 81:3414-3425.

**BIOMNIS. Toxoplasmose [En ligne] (2013).** <http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/TOXO PLASMOSE.pdf>

**BIO-RAD. (2006).** Trousse pour la détection qualitative/quantitative des IgG anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum ou le plasma humain par technique immunoenzymatique. 3, boulevard Raymond Poincaré. France. 24-32.

**BIO-RAD. (2009).** Détection qualitative des anticorps IgM anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum ou le plasma humain par méthode immunoenzymatique. 3, boulevard Raymond Poincaré. France. 19-27.

**BIO-RAD. (2013).** Détermination de l'avidité des anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum humain par méthode immunoenzymatique. 3, boulevard Raymond Poincaré. France.3-10.

**BITTAME A. (2011).** *Toxoplasma gondii* : étude du réseau de nanotubes membranaires de la vacuole parasitophore et des protéines GRA associées. Univ. Grenoble. 14P.

**BOUCHENE Z. (2013).** La toxoplasmose, Ed: 3-01-5421. Alger, Algérie., 5:4-38.

**BURG J.L., GROVER C.M., POULETTY P., BOOTHROYD J.C. ( 1989).** Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.*, 27: 1787-92.

**BUTLER N.J., FURTADO J.M., WINTHROP K.L., SMITH J.R. (2013).** Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management. *Clin Experiment Ophthalmol.*, 41(1):95- 108.

**CNRT. (2016).** Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. Reims: CNR Toxoplasmose.

**CESBRON-DELAUW M.F., GUY B., TORPIER G., PIERCE R.J., LENZEN G., CESBRON J.Y., LEPAGE P., DARCY F., LECOCQ J.P., CAPRON A. (1991).** Molecular characterization of a 23-kilodalton major antigen secreted by *Toxoplasma gondii*. *PNAS.*, 86 : 7537-41.

**CHARDES T., BOURGUIN I., MEVELEC M.N., DUBREMETZ, J.F., BOUT D. (1990).** Antibody responses to *Toxoplasma gondii* in sera, intestinal secretions, and milk from orally infected mice and characterization of target antigens. *Infect Immun.*, 58(5): 1240-6.

**CHIAPPINO M.L., NICHOLS B.A., O'CONNOR G.R. (1984).** Scanning electron microscopy of *Toxoplasma gondii*: parasite torsion and host-cell responses during invasion. *J Protozool.*, 31: 288-292.

**CHOBOTAR B., SCHOLTYSECK E. (1982).** Ultrastructure. In P.L. Long "The biology of the Coccidia", Baltimore, Univ. Park Press., 101-65.

**COPATH. (2012).** Pathologie du développement : Malformations congénitales. France., 6P.

**COPPIN A., DZIERSZINSKI F., LEGRAND S., MORTUAIRE M., FERGUSON D., TOMAVO S. (2003).** Developmentally regulated biosynthesis of carbohydrate and storage polysaccharide during differentiation and tissue cyst formation in *Toxoplasma gondii*. *Biochimie.*, 85 (3-4): 353-61.

**COUVREUR J. (1993).** Toxoplasmose congénitale. Prise en charge et devenir. *Med Mal Infect.*, 23: 176-182.

**COUVREUR J. (1999).** Le problème de la toxoplasmose congénitale : l'évolution sur quatre décennies. *La presse Médicale.*, 28 : 753-757.

**COUVREUR J., DESMONTS G.A. (1984).** Homogeneous series of 210 cases of congenital toxoplasmosis in 0 to 11 month-old infants detected prospectively. *Ann Pediatr.*, 31(10): 815-9.

**COUVREUR J., SADAK A., FORTIER B., DUBREMETZ J.F. (1988).** Surface antigens of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology.*, 97 : 1-10.

**CRISTINA N., LIAUD M.F., SANTORO F., OURY B., AMBROISE-THOMAS P. (1991).** A family of repeated DNA sequences in *Toxoplasma gondii*: cloning, sequence analysis, and use in strain characterization. *Exp Parasitol.*; 73: 73-83.

**DARCY F., CHARIF H., CARON H., DESLEE D., PIERCE R.J., CESBRON-DELAUW M.F., DECOSTER A., CAPRON A. (1990).** Identification and biochemical characterization of antigens of tachyzoites and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* with cross reactive epitopes. *Parasitol Res.*, 76: 473-8.

**DARDE M.L., BOUTEILLE B., PESTRE-ALEXANDRE M. (1992).** Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *J Parasitol.*, 78 : 786-794.

**DAVENEL S., GALAINE J., GUELET B., MARTEIL S., ROBERT- GANGNEUX F. (2010).** La toxoplasmose congénitale en France en 2009. *J Pharm Clin.*, 29(1):5-30.

**DECOSTER A., DARCY F., CARON A., CAPRON A. (1986).** Antigens recognized by human sera obtained before and after acute infection. *J Immuno.*, 154 : 650-7.

**DEROUIN F. et al. (1996).** Predictive value of *Toxoplasma gondii* antibody titres on the occurrence of toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients. ANRS 005/ACTG 154 Trial Group. *AIDS.*, 10:1521-7.

**DESMONTS G et COUVREUR J. (1984).** Histoire naturelle de la toxoplasmose congénitale. *Ann Pediatr.*, 31: 799-802.

**DUBEY, J.P., LINDSAY D.S., SPEER C.A. (1998).** Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical microbiology reviews.*, 11:267-299.

**DUNN D., Wallon M., PEYRON F., PETERSEN E., PECKHAM C., GILBERT R. (1999).** Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet.*, 353:1829- 1833.

**DUPONT C.D., CHRISTIAN D.A., HUNTER C.A. (2012).** Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. *Semin Immunopathol.*, 34(6): 793-813.

**DUPOUY-CAMET J., BOUGNOUX M.E., LAVAREDA DE SOUZA S., THULLIEZ P., DOMMERGUES M., MANDELBROT L., ANCELLET., TOURTE-SCHAEFFER C., BENAROUS R. (1992).** Comparative value of polymerase chain reaction and conventional biological tests for the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Ann Biol Clin.*, 50:315-19.

**EI BOUHALI L. (2012).** Toxoplasmose et grossesse. Univ. LORRAINE. 28-65.

**ESCH K.J et PETERSEN C.A. (2013).** Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. *Clinical Microbiology Reviews.*, 26: 58–85.

**EVENGARD B., FORSGREN M., UGGLA A. (1997).** Toxoplasmosis. The most common parasitic infection in Europe, but not fully understood and probably underdiagnosed. *Lakartidningen.*, 94:3249-3254.

**FABIANI S., PINTO B., BONUCCELLI U., BRUCSHI F. (2015).** Neurobiological studies on the relationship between toxoplasmosis and neuropsychiatric diseases. *J Neurol Sci.*

**FELIDJ F et MEZIANE M. (2016).** Séroprévalence de la toxoplasmose chez la femme enceinte diagnostiquée au CHU Tlemcen. *Univ.Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.* 62P.

**FERGUSON D.J. (2002).** *Toxoplasma gondii* and sex: essential or optional extra? *Trends Parasitol.*, 18(8): 355-9.

**FERGUSON D.J.P., BIRCH-ANDERSON., SIIM J.C., HUTCHINSON W.M. (1978).** Observations on the ultrastructure of the sporocyst and the initial of sporozoite formation in *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathol Microbiol. Scand Sect B.*, 86: 165-167.

**FERGUSON D.J.P., HUTCHINSON W.M., PETTERSEN E. (1989).** Tissue cyst rupture in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Parasitol Res.*, 75: 599- 603.

**FLEGR J. (2013).** How and why *Toxoplasma* makes us crazy. *Trends Parasitol.*, 29(4), 156-63.

**FORTIER B., COIGNARD-CHATAIN C., SOETE M., BUBREMETZ J.F. (1996).** Structure et biologie des bradyzoïdes de *Toxoplasma gondii*. *CRS Soc Biol Fil.*, 190: 385-394.

**FREALLE E., DELHAES L., DUTOIT E., DELEPLANCQUE A.S., Dei-Cas E.** Laboratoire de parasitologie-mycologie. Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille *Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la toxoplasmose materno-fœtale.*

**FRENKEL J.K. (1974).** Breaking the transmission chain of toxoplasma. A program for the prevention of human toxoplasmosis. *Bull Ny Acad. Med.*, 50: 228.

**GAY-ANDRIEU F., MARTY P., PIALAT J., SOURNIÉS G., De LAFORTE T.D., PEYRON F. (2003).** Fetal toxoplasmosis and negative amniocentesis: necessity of an ultrasound follow-up. *Prenat Diagn.*, 23:558-560.

**GRATZL R., HAYDE M., KOHLHAUSER C., HERMON M., BURDA G., STROBL W., POLLAK A. (1998).** Follow-up of infants with congenital toxoplasmosis detected by polymerase chain reaction analysis of amniotic fluid. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 17:853-858.

**GUITON R. (2008).** *Toxoplasma gondii* et réponse immunitaire protectrice : Effecteurs de protection lors d'une vaccination par des cellules dendritiques, Voies de signalisation activées par *T. gondii*. 39-42.

**HAMRIOUI B et GUECHI N. (2018).** Toxoplasmose chez la femme enceinte : bilan de 18 ans de 1999 à 2016. Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Mustapha. Alger.

**HAS. (2009).** Surveillance sérologique et prévention de la toxoplasmose et de la rubéole au cours de la grossesse. Saint-Denis., 6P.

**HAS. (2017).** Diagnostic biologique de la toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent (dont la femme enceinte), la toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et la toxoplasmose oculaire. Saint-Denis., 12P.

**HOGAN M.J., KIMURA S.J., O'CONNOR G.R. (1964).** Ocular toxoplasmosis. *Arch.ophthalmol.*, 72: 592.

**HOWE D. K., SUMMERS B.C., SIBLEY L.D. (1996).** Acute virulence in mice is associated with markers on chromosome VIII in *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun*, 64 (12): 5193-8.

**HOWE D.K. et SIBLEY L.D. (1995).** *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis.*, 172: 1561-1566.

**HOWE D. K., SIBLEY L.D. (1995).** *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis.*, 172 (6): 1561-6.

**ISRAELSKI D.M., REMINGTON J.S. (1993).** Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. *Curr Clin Top Infect Dis.*,13:322-56.

**JACOBS L., REMINGTON J.S., MELTON M.L. (1960).** The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.*, 46: 11-21.

**JOHNSON A.M. (1984).** Strain-dependent, route of challenge- dependent, murine susceptibility to toxoplasmosis. *ZParasitendk.*, 70 : 303-9.

**JONES C.D., OKHRAVI N., ADAMSON P., TASKER S., LIGHTMAN S. (2000).** Comparison of PCR detection methods for B1, P30, and 18S rDNA genes of *T. gondii* in aqueous humor. *Investigative ophthalmology & visual science.*, 41:634-644.

**KAPAROS N., FAVRAT B., D'ACREMONT V. (2014).** Fièvre, adénopathie : une situation clinique de toxoplasmose aigue chez une patiente immunocompétente. *Rev Med Suisse.*, 10(452):2264, 6-8, 70.

**KHAN A., FUX B., SU C., DUBEY J.P., DARDE M.L., AJIOKA J.W., ROSENTHAL B.M., SIBLEY L.D. (2007).** Recent transcontinental sweep of *Toxoplasma gondii* driven by a single monomorphic chromosome. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104: 14872-14877.

**KHAN A., FUX B., Su C., DUBEY J.P., DARDE M.L., AJIOKA J.W., ROSENTHAL B.M., SIBLEY L.D. (2007).** Recent transcontinental sweep of *Toxoplasma gondii* driven by a single monomorphic chromosome. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 104(37): 14872-7.

**LERICHE M.A., DUBREMETZ J.F. (1990).** Exocytosis of *Toxoplasma gondii* dense granules into the parasitophorous vacuole after host cell invasion. *Parasitol Res.*, 76: 559-62.

**LYONS R.E., MCLEOD R., ROBERTS C.W. (2002).** *Toxoplasma gondii* tachyzoite-bradyzoite interconversion. *Trends Parasitol.*, 18: 198-201.

**MAUBON D., BOUGDOU A., WONG Y.S., BRENIER-PINCHART M.P., CURT A., HAKIMI M.A., et PELLOUX H. (2010).** Activity of the histone deacetylase inhibitor FR235222 on *Toxoplasma gondii*: inhibition of stage conversion of the parasite cyst form and study of new derivative compounds. *Antimicrobial agents and chemotherapy.*, 54:4843-4850.

**MCAULEY J.B. (2008).** Toxoplasmosis in children. *The Pediatric infectious disease journal.*, 27:161-162.

**MELE A., PATERSON P.J., PRENTICE H.G., LEONI P., KIBBLER C.C. (2002).** Toxoplasmosis in bone marrow transplantation: a report of two cases and systematic review of the literature. *Bone Marrow Transplant.*, 29:691-8.

**MERCIER C., TRAVIER L., BITTAME A., GENDRIN C., CESBRON-DELAUW M.F. (2010).** The dense granule proteins of *Toxoplasma gondii*. In Parasitology Research Trends, De Bruyn, O., Peeters, S., Eds. Nova Science Publishers, Inc. 1-31.

**MESSERER L. (2015).** Epidemiologie de la toxoplasmose a l'Est algérien avec prévention de la toxoplasmose congénitale.

**MILLER C.M., BOULTER N.R., IKIN R.J., SMITH N.C. (2009).** The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol., 39(1) : 23-39.

**MIMAN O., KUSBECI O.Y., AKTEPE O.C., CETINKAYA Z. (2010).** The probable relation between *Toxoplasma gondii* and Parkinson's disease. Neurosci Lett., 475(3): 129-31.

**MONCADA P.A et MONTOYA J.G. (2012).** Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment. Expert Rev Anti Infect Ther., 10(7):815-28.

**MONTOYA J.G. (2002).** Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. The Journal of infectious diseases. 185 Suppl., 1:S73-82.

**MONTOYA J.G., REMINGTON J.S. (2008).** Management of *Toxoplasma gondii* Infection during Pregnancy. Clinical Infectious Diseases., 47: 554-66.

**MURAT J.B., HIDALGO H.F., BRENIER-PINCHART M.P., PELLOUX H. (2013).** Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations? Expert Rev Anti Infect Ther., 11(9):943-56.

**NGOUNGOU E.B., BHALLA D., NZOGHE A., DARDE M.L., PREUX P.M. (2015).** Toxoplasmosis and epilepsy-systematic review and meta analysis. PLoS Negl Trop Dis., 9(2): e0003525.

**NICHOLS B.A., CHIAPPINO M.L., O'CONNOR G.R. (1983).** Secretion from the rhoptries of *Toxoplasma gondii* during host-cell invasion. J Ultrastruct Res., 83 : 85-98.

**NICOLAS J.A., PESTRE-ALEXANDRE M. (1993).** Toxoplasmose : une zoonose transmissible à l'homme. Med Mal Infect 23 spécial. 129- 138.

**NIEBUHR D.W., MILLIKAN A.M., COWAN D.N., YOLKEN R., LI Y., WEBER N.S. (2008).** Selected infectious agents and risk of schizophrenia among U.S. military personnel. Am J Psychiatry., 165(1): 99-106.

- PEDERSEN M.G., STEVENS H., PEDERSEN C.B., NORGAARD-PEDERSEN., MORTENSEN P.B. (2011).** *Toxoplasma* infection and later development of schizophrenia in mothers. *Am J Psychiatry.*, 168(8): 814-21.
- PELLOUX H. (2010).** Activity of the histone deacetylase inhibitor FR235222 on *Toxoplasma gondii*: inhibition of stage conversion of the parasite cyst form and study of new derivative compounds. *Antimicrobial agents and chemotherapy.*, 54:4843-4850.
- PETERSEN E. (2007).** Toxoplasmosis. *Seminars in fetal & neonatal medicine.*, 12:214-223.
- PETTERSEN E.K. (1979).** Destruction of *toxoplasma gondii* by HCl solution. *Acta Pathol Microbiol. Scand Sect B.*, 87: 217-220.
- PFEFFERKORN E.R. (1981).** *Toxoplasma gondii* and the biochemistry of intracellular parasitism. *TIBS.*, 1 : 311-3.
- POMEROY C., FILICE G.A. ( 1992).** Pulmonary toxoplasmosis. *Clin Infect Dis.*, 14: 863-870.
- POTASMAN I., ARAUJO F.G., DESMONTS G., REMINGTON J.S. (1986).** Analysis of *Toxoplasma gondii* antigens recognized by human sera obtained before and after acute infection. *J Immunol.*, 154 : 650-7.
- PRIET A. (2003).** Apport de la PCR en temps réel dans le diagnostic antenatal de la toxoplasmose. *Univ. Nantes.* 14-15.
- REID A.J. et al. (2012).** Comparative genomics of the apicomplexan parasites *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*: Coccidia differing in host range and transmission strategy. *PLoS Pathog.*, 8(3): e1002567.
- REMINGTON J., MCLEOD R., WILSON C., DESMONTS G. (2011).** Toxoplasmosis. Dans: Remington J, Klein J, Ed. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* Philadelphia: The WB Saunders Co. 918-1041.
- ROERT-GANGNEUX F., DARDE M.L. (2012).** Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.*, 25(2):264-96.

**ROBERT-GANGNEUX F., GAVINET M.F., ANCELLE T., RAYMOND J., TOURTESCHAEFER C., DUPOUY-CAMET J. (1999b).** Value of prenatal diagnosis and early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: retrospective study of 110 cases. *J Clin Microbiol.*, 37:2893-2898.

**ROBERT-GANGNEUX F.J.B., MURAT H., FRICKER-HIDALGO M.P., BRENIER-PINCHART J.P., GANGNEUX., PELLOUX H. (2011).** The placenta: a main role in congenital toxoplasmosis? *Trends in parasitology.*, 27:530-536.

**ROMAND S.J.F., NOBRE R., THULLIEZ P. (1998).** Toxoplasmose et grossesse. *Medecine therapeutique/Pediatrie.*, 1(6): 481-8.

**SAADATNIA G., GOLKAR M. (2012).** A review on human toxoplasmosis. *Scand J Infect Dis.*, 44(11):805-14.

**SABIN A. (1941).** Toxoplasmic encephalitis in children. *J Am Med Assoc.*, 116: 801-807.

**SADAK A., TAGHY Z., FORTIER B., DUBREMETZ J.F. (1988).** Characterization of a family of rhoptry proteins of *Toxoplasma gondii*. *Mol Biochem Parasitol.*, 24:203-11.

**SCHWARTZMAN J.D. (1986).** Inhibition of penetrationenhancing factor by *Toxoplasma gondii* by monoclonal antibodies specific for rhoptries. *Infect Immun.*, 51: 760-4.

**SENEGAS A. (2007).** Physiopathologie de l'infection à *Toxoplasma gondii* : Mécanismes cellulaires et moléculaires contribuant à l'arrêt de la gestation dans un modèle murin de toxoplasmose acquise. *Univ. Louis Pasteur Strasbourg I.*, 16P.

**SFM (2015).** Société française de microbiologie. Référentiel en microbiologie médicale 5.1. Paris.

**SHARMA S.D., MULLENAX J., ARAUJO F.G., ERLICH H.A., REMINGTON J.S. (1983).** Western blot analysis of the antigens of *Toxoplasma gondii* recognized by human IgM and IgG antibodies. *J Immunol.*, 131:977-83.

**SHEFIELD H.G., MELTON M.L. (1968).** The structure and reproduction of *toxoplasma gondii*. *J Parasitol.*, 54: 209- 226.

**SHOBAB L., PLEYER U., JOHNSEN J., METZNER S., JAMES E.R., TORUN N., FAY MP., LIESENFELD O., Grigg M.E. (2013).** *Toxoplasma* serotype is associated with development of ocular toxoplasmosis. *J Infect Dis.*, 208(9): 1520-8.

- SPEIRS G.E., HAKIM M., CALNE R.Y., WREGHITT T.G. (1988).** relative risk of donor-transmitted *Toxoplasma gondii* infection in heart, liver and kidney transplant recipients. Clin Transplantation., 2:257-260.
- THIEBAUT R., LEPROUST S. (2007).** Effectiveness of prénatal treatment for congénital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. Lancet., 369(9556): 115-22.
- TORREY E.F., BARTKO J.J., LUN Z.R., YOLKEN R.H. (2007).** Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis. Schizophr Bull., 33(3): 729-36.
- TORREY E.F., BARTKO J.J., YOLKEN R.H. (2012).** *Toxoplasma gondii* and other risk factors for schizophrenia: an update. Schizophr Bull., 38(3): 642-7.
- VILLARD O., CIMON B., FRANCK J., FRICKER-HIDALGO H., GODINEAU N., HOUZE S. (2012).** Evaluation of the usefulness of six commercial agglutination assays for serologic diagnosis of toxoplasmosis. Diagn Microbiol Infect Dis., 73(3):231-5.
- VILLARD O., JUNG-ETIENNE J., CIMON B. (2010).** Le Réseau du Centre National de Références 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. Feuilletts Biol., 52 :1-7.
- VILLARD O. et al. (2011).** Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduite à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage. Parasitologie toxoplasmose., 298 : 46-47.
- VILLENA I., BORY J.P., CHEMLA C., HORNOY P., PINON J.M. (2003).** Congenital toxoplasmosis: necessity of clinical and ultrasound follow-up despite negative amniocentesis. Prenat Diagn., 23:1098- 1099.
- VILLENA I., CHEMLA C., AUBERT D., FOUDRINIER F., PINON J.M., le groupe toxoplasmose de Reims. (2003).** Toxoplasmose congénitale : diagnostic biologique néonatal et surveillance. Arch Pediatr., (Suppl. 1): 39-41.
- WARE P.L., KASPER L.H. (1987)** Strain-specific antigens of *Toxoplasma gondii*. Infect Immun., 55: 778-83.

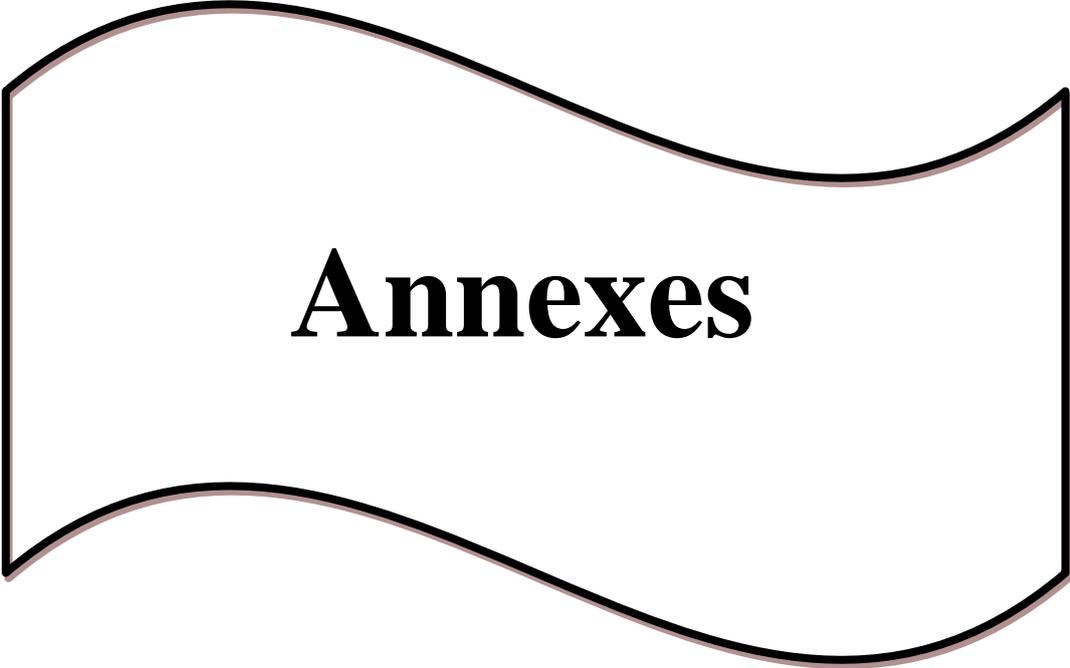
**WASTLING J.M., NICOLL S., BUXTON D. (1993).** Comparison of two gene amplification methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in experimentally infected sheep. *Journal of medical microbiology*. 38:360-365.

**WOLF A., COWEN D., PAIGE B.H. (1939).** Toxoplasmic encephalomyelitis. A new case of granule-matous encephalomyelitis due to a protozoan. *Amer. J. pathol.*, 15: 657-697.

**WREGHITT T.G., HAKIM M., BALFOUR A.H., STOVIN P.G., STEWART S., SCOTT J., English T.A.H., WALLWORK J. (1989).** Toxoplasmosis in heart and heart and lung transplant recipients. *J Clin Pathol.*, 42:194-199.

**ZHANG, M., ZHAO L., SONG J., LI Y., ZHAO Q., He S. et CONG H. (2013).** DNA vaccine encoding the *Toxoplasma gondii* bradyzoite-specific surface antigens SAG2CDX protect BALB/c mice against type II parasite infection. *Vaccine.*, 31:4536-4540.

**Anonyme. (2018).** Kit ELISA d'anticorps anti-hépatite B du virus humain (IgM) (ELISA Sandwich) - LS-F10241. LifeSpan BioSciences, Inc. Algérie.



# **Annexes**

## Annexes

### Annexe 1

#### ✓ **Appareillage utilisé**

- Spectrophotomètre équipé de filtres 450 /620nm.
- Laveur automatique de microplaques.
- Incubateur pour microplaques.
- Agitateur de type vortex.
- Centrifugeuse.

#### ✓ **Consommables**

- Gants.
- Tubes (secs ou héparines).
- Embouts pour micropipette.
- Eau distillée.
- Films adhésifs.
- Eau de javel.

#### ✓ **Autre matériel**

- Micropipettes réglables.
- Micropipettes multicanaux.
- Portoirs.
- Rigoles pour micropipettes multicanaux.
- Agitateur pour défibriner.



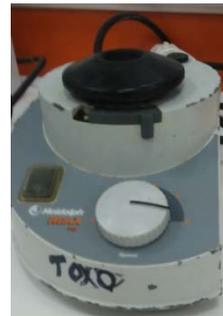
**Figure 1:** Tube hépariné



**Figure 2:** Centrifugeuse



**Figure 3:** Incubateur



**Figure 4 :** Vortex



**Figure 5 :** Microplaque  
PLATELIA TM TOXO IgG



**Figure 6 :** Microplaque  
PLATELIA TM TOXO IgM



**Figure 7 :** Solution de lavage  
concentrée



**Figure 8 :** Solution de  
lavage diluée



**Figure 9 :** Diluent



Figure 10 : Réactifs Toxo IgM



Figure 11 : Réactifs Toxo IgG



Figure 12: Réactifs Toxo IgG Avidité



Figure 13 : Solution d'arrêt, chromogène

Tableau I: Composition de la trousse PLATELIA™ TOXO IgG :

Etiquetage		NATURE DES REACTIFS	Présentation
R1	Microplate	Microplaque: 12 barrettes de 8 cupules sécables sensibilisées avec les antigènes de <i>T.gondii</i> (souche RH).	1 plaque
R2	Concentrated Washing Solution	Solution de lavage : Tampon Tris NaCl, pH 7.4, 1% Tween® 20. Concentrée 10 fois Conservateur : 0.01% Thimerosal.	1 flacon 100 ml
R3	Calibrator 0	Etalon 0 : Sérum humain non réactif pour les IgG anti- <i>T. gondii</i> et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV, Conservateur: < 0.01% Thimerosal	1 flacon 1 ml
R4a	Calibrator 6	Etalon 6 UI/ml : Tampon TRIS-NaCl (pH 8 ± 0.2), sérum humain réactif pour les IgG anti- <i>T. gondii</i> et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV, albumine bovine, glycérol, E 102 et E 122 Conservateur : < 0.01% Thimerosal et < 0.5% Proclin®	1 flacon 1 ml

R4b	Calibrator 60	Etalon 60 UI/ml : Tampon TRIS-NaCl (pH $8 \pm 0.2$ ), sérum humain réactif pour les IgG anti- <i>T. gondii</i> et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV, albumine bovine, glycérol, E 102 et E 122, conservateur : < 0.01% Thimerosal et < 0.5 % Proclin®.	1 flacon 1 ml
R4c	Calibrator 240	Etalon 240 UI/ml : Tampon TRIS-NaCl (pH $8 \pm 0.2$ ), Sérum humain réactif pour les IgG anti- <i>T. gondii</i> et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV, albumine bovine, glycérol, E 102 et E 122, conservateur : < 0.01% Thimerosal et < 0.5% Proclin®.	1 flacon 1 ml
R6	Conjugate (50x)	Conjugué : Anticorps monoclonal d'origine murine anti-chaînes gamma humaines couplé à la peroxydase; présenté sous une forme liquide concentrée 50 fois.	1 flacon 0.6ml
R7	Diluent	Diluant pour échantillon et conjugué prêt à l'emploi : TRIS-NaCl (pH $7.7 \pm 0.15$ ), albumine bovine, 0.1% de Tween® 20 et rouge de phénol, Conservateur : < 0.01 % Thimerosal	2 flacons 80 ml
R8	TMB Substrate Buffer	Tampon substrat : Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4.0, contenant 0.015% d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et 4% de DMSO.	1 flacon 60 ml
R9	Chromogen: TMB Solution	Chromogène : Solution contenant de la tetramethyl benzidine (TMB)	1 flacon 5 ml
R10	Stopping solution	Solution d'arrêt : Solution d'acide sulfurique 1N	1 flacon 28 ml
		Films adhésifs	4

**Tableau II:** Composition de la trousse PLATELIA™ TOXO IgM :

Etiquetage		NATURE DES REACTIFS	Présentation
R1	Microplate	Microplaque : (prêt à l'emploi) : 12 barrettes de 8 cupules à puits sécables sensibilisées par des anticorps anti-chaînes $\mu$ humaines	1 plaque
R2	Concentrated Washing Solution (20x)	Solution de lavage (20x) : Tampon TRIS-NaCl (pH 7.4), 2% Tween® 20. Conservateur : < 1.5% ProClin™ 300	1 flacon 70 mL
R3	Negative Control	Contrôle Négatif : Sérum humain négatif en IgM anti- <i>T. gondii</i> , en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV Conservateur : < 1.5% ProClin™ 300	1 flacon 0,75 mL
R4	Calibrator	Calibrateur : Sérum humain réactif pour les IgM anti- <i>T. gondii</i> , et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV Conservateur : < 1.5% ProClin™ 300	1 flacon 0,75 mL
R5	Positive Control	Contrôle Positif : Sérum humain réactif pour les IgM anti- <i>T. gondii</i> , et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV Conservateur : < 1.5% ProClin™ 300	1 flacon 0,75 mL
R6a	Antigen	Antigène <i>T. gondii</i> : Antigène <i>T. gondii</i> sous forme lyophilisée	2 flacons 14 mL
R6b	Conjugate (101x)	Conjugué (101 x) : Anticorps monoclonal d'origine murine anti- <i>T. gondii</i> (P30) couplé à la peroxydase Conservateur : < 1.5% ProClin™ 300	1 flacon 0,4 mL
R7	Diluent	Diluant pour échantillons et conjugué : (prêt à l'emploi) :	1 flacon 80 mL

		Tampon TRIS-NaCl (pH 7,7), sérum albumine bovine, 0,1% Tween® 20 et rouge de phénol. Conservateur : < 1.5% ProClin™ 300	
R9	Chromogen TMB	Chromogène (prêt à l'emploi): 3.3',5.5' tétraméthylbenzidine (< 0.1%), H2O2 (<1%)	1 flacon 28 mL
R10	Stopping Solution	Solution d'arrêt (prêt à l'emploi): Solution d'acide sulfurique 1N	1 flacon 28 mL
		Films adhésifs	4

**Tableau III** : Composition de la trousse PLATELIA™ TOXO IgG avidity :

Etiquetage		NATURE DES REACTIFS	Présentation
R5a	Low Avidity Control	Témoin d'Avidité Basse : Sérum humain réactif vis-à-vis des IgG anti- <i>T. gondii</i> , et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV Conservateur : 0.15 % ProClin™ 300	1 flacon 0,75 mL
R5b	High Avidity Control	Témoin d'Avidité Haute : Sérum humain réactif vis-à-vis des IgG anti- <i>T. gondii</i> , et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et anti-HCV Conservateur : 0.15 % ProClin™ 300	1 flacon 0,75 mL
R12	Control Solution	Solution de Contrôle : Tampon TRIS-NaCl (pH 7.6 ± 0.2), 0.1% Tween® 20 et colorant vert Conservateur : 0.15 % ProClin™ 300	1 flacon 28 mL
R13	Dissociating Solution	Solution Dissociante : Tampon TRIS-NaCl (pH 7.6 ± 0,2), urée, 0.1% Tween® 20 et colorant jaune Conservateur : 0.001 % ProClin™ 300	1 flacon 13 mL

**Annexe 2****Tableau :** Etude quantitative du facteur de risque de la toxoplasmose.

Frequency table: Taux IgG IgM (Spreadsheet1_(Recovered).sta)						
K-S d=.45262, p<.01 ; Lilliefors p<.01						
Category	Count	Cumulative Count	Percent of Valid	Cumul % of Valid	% of all Cases	Cumulative % of All
-20,0000<x<=0,000000	0	0	0,00000	0,0000	0,00000	0,0000
0,000000<x<=20,00000	2	2	1,01010	1,0101	0,87336	0,8734
20,00000<x<=40,00000	0	2	0,00000	1,0101	0,00000	0,8734
40,00000<x<=60,00000	53	55	26,76768	27,7778	23,14410	24,0175
60,00000<x<=80,00000	0	55	0,00000	27,7778	0,00000	24,0175
80,00000<x<=100,0000	0	55	0,00000	27,7778	0,00000	24,0175
100,0000<x<=120,0000	0	55	0,00000	27,7778	0,00000	24,0175
120,0000<x<=140,0000	0	55	0,00000	27,7778	0,00000	24,0175
140,0000<x<=160,0000	143	198	72,22222	100,0000	62,44541	86,4629
Missing	31	229	15,65657		13,53712	100,0000

**Résumé :**

*Toxoplasma gondii*, parasite opportuniste qui semble être l'un des parasites les plus courants et les plus répandus dans le monde. Son cycle fait intervenir le chat comme hôte définitif. L'Homme s'infecte le plus souvent par ingestion de viande contaminée par la forme kystique du parasite.

Le diagnostic de la toxoplasmose fait intervenir plusieurs types de techniques biologiques. Les protocoles de traitement sont différents selon le cas de la maladie.

L'étude sérologique réalisée au niveau du laboratoire du CHU d'Alger a permis de déterminer le statut immunitaire de 92 femmes enceintes en une journée, dont 62 sont séronégatives (IgG<sup>-</sup> IgM<sup>-</sup>) et 30 femmes sont séropositives (19 IgG<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup>, 11 IgG<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup>).

L'étude statistique effectuée au niveau du laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou a permis de déterminer le pourcentage des femmes enceintes durant un mois d'étude vis-à-vis cette infection. Sur 198 échantillons, 72.22% des femmes sont séronégatives et 27.77% sont séropositives.

**Mots clés :** ELISA, femme enceinte, statut immunitaire, *Toxoplasma gondii*, toxoplasmose.

**Abstract:**

*Toxoplasma gondii*, an opportunistic parasite that appears to be one of the most common and widespread parasites in the world. Its cycle involves the cat as a definitive host. man is infected most often by ingestion of meat contaminated by the cystic form of the parasite.

The diagnosis of toxoplasmosis involves several types of biological techniques. The treatment protocols are different depending on the case of the disease.

A serological study at the laboratory of the University Hospital of Algiers has made it possible to determine the immune status of 92 pregnant women in one day, of which 62 are seronegative (IgG<sup>-</sup> IgM<sup>-</sup>) and 30 women are seropositive (19 IgG<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup>, 11 IgG<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup>).

A statistical study at the laboratory of Tizi-Ouzou University Hospital made it possible to determine the percentage of pregnant women during one month of study with regard to this infection. Of 198 samples, 72.22 % of women are seronegative and 27.77 % are seropositive.

**Key words:** ELISA, immune status, pregnant women, *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis.