

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des sciences Agronomiques

Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

Mémoire de Master II

Spécialité : Biologie

Option : Parasitologie appliquée aux organismes animaux et végétaux

Thème

**La toxoplasmose et le risque
d'avortement chez la femme enceinte**

Réalisé par :

M^{elle} BOUKSIL SAMIRA

M^{elle} TALAH HOURIA

Proposé et dirigé par :

Président : M^r BOUKHAMZA.M. Professeur- UMMTO

Promotrice : M^{me} ZERROUKI DAOUDI .N. Professeur- UMMTO.

Co-promoteur : M^r MELBOUCI.S. Enseignant -CHUTO

Examinatrice :

M^{me} BOUKHAMZA. N. Professeur. UMMTO

M^{me} AMROUN.T.T .MACA UMMTO

Promotion: 2014-2015

Remerciement

Toute notre gratitude, grâce et remerciement vont en premier lieu à DIEU le tout puissant qui m'a donné la force, la patience, le courage et la volonte pour élaborer ce travail dans les meilleures conditions.

La première personne que je tiens à remercier est ma promotrice **M^{me} ZERROUKI DAOUDI.N**, pour l'intérêt constant qu'il a porté à ce travail et pour ses conseils et son aide, aussi pour le temps qu'elle m'a consacré durant toute la période de mon travail pour le corrigé.

Je tiens aussi à remercier Co- promoteur **M^r MELBOUCI**. Professeurs **CHUTO** qui ma suivie pendant toute la période de stage pratique et pour ses aides et pour ses conseils qu'il m'a donné, et pour avoir pris le temps de répondre à toutes mes questions et avoir corrigé mon travail.

Je tiens aussi à remercier **M^{me} KOLAI** pour ses aidée et ses conseilset pris le temps de répondre à toutes mes questions.

Je tiens à remercier chaleureusement tous les enseignants de la faculté de biologie, qui ont enrichis de connaissances et de savoir, ainsi aux responsables de la bibliothèque, qui m'ont beaucoup facilité ma recherche bibliographique.

Mes remerciements s'adressent également aux membres de jury, premièrement aux président **M^r BOUKHAMZA.M**, et les deux examinatrices **M^{me} BOUKHAMZA.N** et **M^{me} AMROUN.T.T** pour l'intérêt qu'il porté à mon travail, et qui me fera le plaisir.

Merci à tous et à toutes.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- Mes très chers parents, en toute gratitude et reconnaissance
Pour tous leurs sacrifices et leur soutien moral et financier
- Mes adorables frères : Rachid, Abdenour et Ilyes.
- Mes chères sœurs : Kahina et Siham qui m'ont soutenu et apporté
du courage tout au long de mes études.
- Mes amis : Sabrina, Sadia, Cilia, wahiba , Lydia, et toute personne ayant
contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Samira

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Abréviations.

INTRODUCTION GENERALE.

1^{ère} PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.

CHAPITRE I : PHYSIOPATHOLOGIE DE LA GROSSESSE.

I-1-Physiologie.

I-1-1-Développement normal.....

I-1-2-Développement embryonnaire.....

I-1-3-Développement fœtal.....

I-1-4-Modification physiologique.....

I-2- Pathologie de la grossesse.

I-2-1-Anomalies du développement embryonnaire.....

I-2-2- Avortements.....

I-2-3-Avortements spontanés.....

I-2-4- Toxoplasmose pendant la grossesse.....

CHAPITRE II : BIOLOGIE DE TOXOPLASMA GONDII.

II-1- Historique.....

II-2-Définition.....

II-3- Répartition géographique.....

II-4-Systématique.....

II-5- Morphologie.....	
II-5-1- Forme végétative.....	
II-5-2- Kyste.....	
II-5-3-Oocyste.....	
II-6-Cycle évolutif.....	
II-6-1-Hôte définitif.....	
II-6-2-Hôte intermédiaire.....	
II-7-Mode de contamination.....	
II-8-Processus d'invasion de la cellule hôte.....	

CHAPITRE III: ETUDE CLINIQUE ET DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE.

I-ETUDE CLINIQUE.

I-1-Définition.....	
I-2-Epidémiologie.....	
I-2-1- Dans le monde.....	
I-2- 2-Dans l'Algérie.....	
I-3-Toxoplasmose acquise.....	
I-3-1-Formes inapparentes.....	
I-3-2-Formes apparentes.....	
I-3-3-Formes graves.....	
I-4-Toxoplasmose congénitale.....	
I-4-1-Formes graves.....	
I-4-2-Formes viscérales.....	

II-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE.....

II-1-Diagnostic direct expérimental.....

II-1-1-Recherche direct du parasite.....	
--	--

II-1-2-Inoculation à l'animal.....	
II-1-3-Culture cellulaire.....	
II-1-4-Biologie moléculaire.....	
II-2- DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE.....	
II-2-1-Immunofluorescence indirecte.....	
II-2-2-Réaction d'agglutination directe.....	
II-2-3- PCR.....	
II-2-4-ELISA.....	
III-PROPHYLAXIE.....	
IV-TRAITEMENT.....	

2^{ème} PARTIE : ETUDE PRATIQUE.

Introduction.	
1-Matériel et méthode.....	
1-1-Matériel et réactif.....	
1-2-Méthode.....	
1-2-1-Principe.....	
1-2-2-Préparation et stabilité des échantillons.....	
1-2-3- Techniques réalisations de test.....	
- Calcul des résultats.....	
1-3- Résultats et interprétation.....	
CONCLUSION GENERALE.....	
GLOSSAIRE.	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.	

Figure 1 : Différentes périodes du développement.

Figure 2: Evénements importants du développement embryonnaire.

Figure 3 : Evénements importants du développement fœtal.

Figure 4 : Amniocentèse.

Figure 5: Prélèvement d'échantillon de villosités choriales.

Figure 6: *Toxoplasma gondii* sous sa forme arquée.

Figure 7: Vue au microscope optique d'un tachyzoïtes.

Figure 8: Vue au microscope optique d'un kyste.

Figure 9 : Vue au microscope optique d'un oocystes.

Figure 10 : cycle évolutif de *Toxoplasma gondii*.

Figure11 : Cycle de transmission de toxoplasma gondii.

Figure 12 : Nouveau-né souffrant d'une toxoplasmose congénitale.

Figure 13 : Risque de transmission et gravité de la toxoplasmose congénitale en fonction du terme de grossesse.

Figure 14 : Spectrophotométries.

Figures 15 : Réactifs.

Figure 16 : Tampon lavage.

Figures 17 : Répartition des femmes enceintes selon l'âge de la grossesse.

Figure 18 : Répartition des femmes selon leur titre en IgG.

Liste des tableaux

Tableau I : Les étapes de développement embryonnaire.

Tableau II : Les étapes de développement fœtal.

Tableau III : Concentration des différents calibrateurs.

Tableau IV : Répartition des patients selon leur titre en IgG échantillonnée.

Tableau : Répartition des femmes selon l'âge de grossesse.

Liste des abréviations

AND: Acide desoxyribonucleique.

CRH: Corticotrophin-releasing hormone.

DR : Dernière règle.

HCG: Gonadotrophine-chorionique hormone.

ELISA: Enzyme linked Immuno Sorbent Assay.

IgA: Immunoglobulines A.

IgG: Immunoglobuline G.

IgM: Immunoglobulines M.

IgE: Immunoglobuline E.

LCR: Liquide céphalo rachidien.

MGG: May- Grunwald- Giemsa.

PCR: Polymérase Chain Réaction.

SA : Semaine d`aménorrhée.

UI : Unité internationale..

SD : Semaine de développement.

Les zoonoses parasitaires constituent de nos jours, un problème majeur de santé publique car elles affectent de nombreuses espèces et ne se manifestent que rarement ou de façon insidieuse. Parmi elles, figurent les protozoonoses telles que la toxoplasmose qui sont des maladies cosmopolites dues respectivement à *Toxoplasma gondii*.

La toxoplasmose a été découverte sous sa forme infectieuse dans les tissus de *Ctenodactylus gundii* à l'institut Pasteur de Tunis par Nicolle et Manceaux en 1908.

Classiquement bénigne chez les félinés, elle sévit essentiellement chez l'homme et les petits ruminants domestiques chez qui elle entraîne une contamination fœtale et/ou des avortements. Chez l'immunodéprimé les complications cérébrales peuvent survenir. Elle touche environ 14 à 80 % des espèces (animales et/ou humaines) selon les pays (**BELKAID et al. 1996**).

Ces protozoonoses bien qu'elles aient une importance sanitaire et médicale, sont négligées surtout à côté des grandes endémies africaines qui sont le paludisme, les trypanosomiasés et les schistosomiasés (**MOULINIER. 2003**). Pourtant, leurs incidences respectives sur la santé du nouveau-né et de l'enfant et sur les troubles de la reproduction ne sont pas négligeables ; Il existe très peu d'informations sur leurs prévalences et les facteurs de risques chez les femmes en consultation.

Ainsi, notre étude a pour objectif de déterminer la séroprévalence et les facteurs de risque associés de la toxoplasmose chez les femmes enceintes en consultation.

Plus spécifiquement, il s'agira d'établir la séroprévalence et les facteurs de risque associés de la toxoplasmose chez les femmes enceintes en consultation.

Cette étude sera divisée en deux grandes parties. La première portera sur l'étude bibliographique de la toxoplasmose et la physiologie de la grossesse tandis que la deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale tout en présentant la zone d'étude, le matériel et les méthodes, ainsi que les résultats obtenus avec discussion et les recommandations.

I-1-PHYSIOLOGIE DE LA GROSSESSE.

La grossesse constitue une série d'événements qui commence par la fécondation et se poursuit avec l'implantation, le développement embryonnaire et le développement fœtal(TORTORA et DERRICKSON, 2009).

Théoriquement la grossesse dure 280 jours plus ou moins 12 jours, une telle évaluation ne peut être retenue que si la femme est réglée régulièrement à peu près tous les 28jours (POIRIER *et al*, 1993).Les étapes de développement prénatal sont représentées dans le tableau I.

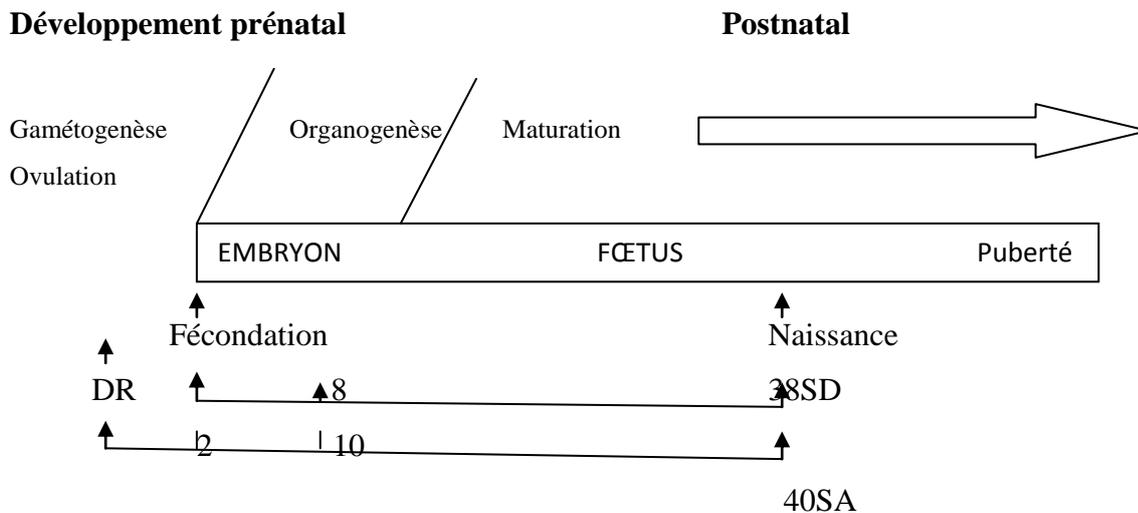


Figure1 : Différentes périodes du développement(POIRIER *et al*.1993).

TableauI: Les étapes de développement prénatal (MITCHELL et SHARMA ,2005).

Période	Stade	Principaux événements
1^{ère} période	Segmentation	L'ovule fécondé présente des mitoses.Formation de la morula, formation de blastocyste et nidation.
De la 2^{ème} à la 8^{ème} semaine	Période embryonnaire	Mise en place des feuilletts embryonnaires et développement du placenta, formation des principaux appareils de l'organisme
De la 9^{ème} semaine au terme	Période fœtale.	Croissance et développement des organes. L'appareil locomoteur devient fonctionnel.

I-1-1- Développement embryonnaire.

Dans les deux premières semaines après la fécondation, période de prolifération cellulaire qui conduit le stade zygote à celui de morula, puis la morula en blastocyste et enfin la formation d'un disque embryonnaire à deux feuillets (l'épiblaste et l'hypoblaste). Les membranes embryonnaires, qui se forment au cours de deux ou trois premières semaines de développement, qui sont l'amnios, le sac vitellin, l'allantoïde et chorion. Ces membranes embryonnaires situées à l'extérieur de l'embryon le protègent et le nourrissent (**MARIEB, 2008**).

Une petite cavité se forme et s'agrandit pour déterminer la cavité amniotique. Pendant que la cavité amniotique grossit, on assiste à la formation d'une mince membrane protectrice, l'amnios (**TORTORA et DERRICKSON, 2009**). L'amnios sécrète le liquide amniotique dans lequel l'embryon baigne (**SILVERTHORN, 2007**).

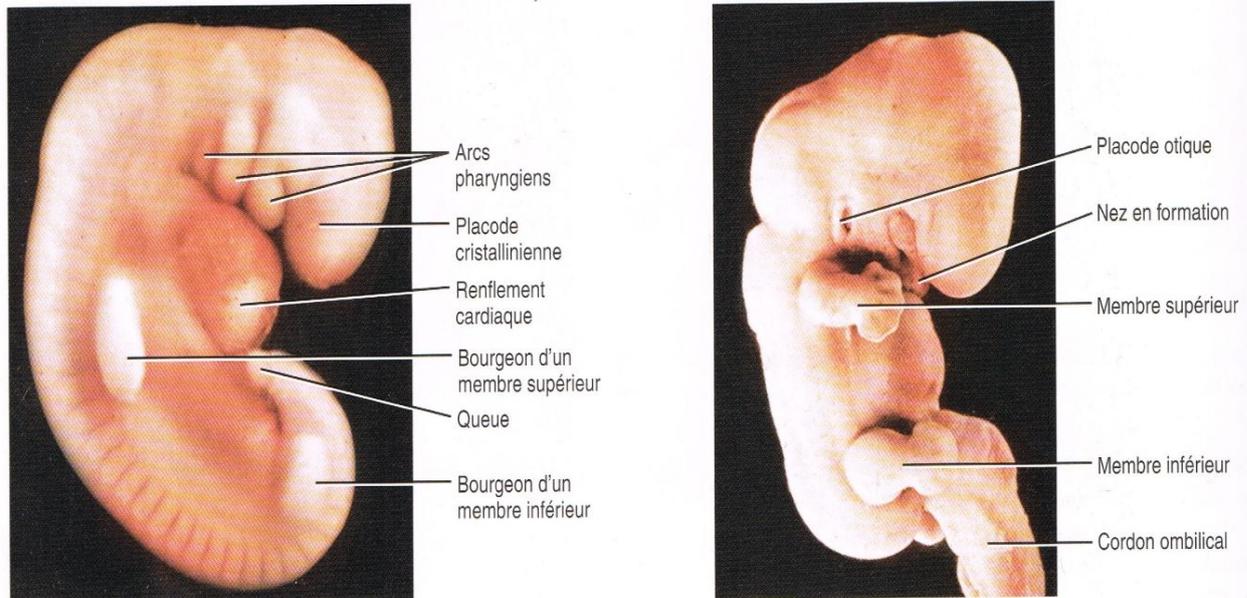
Au cours de la période embryonnaire, un deuxième événement important se produit, c'est la formation des feuillets embryonnaires ou la masse cellulaire interne (embryoblaste) du blastocyste commence à se différencier en trois feuillets embryonnaires primitifs : l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme.

Ce phénomène est ce qu'on appelle la gastrulation et c'est à partir de ces tissus embryonnaires que les tissus et les organes du futur fœtus se développent.

L'endoderme forme le revêtement épithélial du tube digestif du système de certains autres organes. Le mésoderme forme le péritoine, les muscles, les os et d'autres tissus conjonctifs.

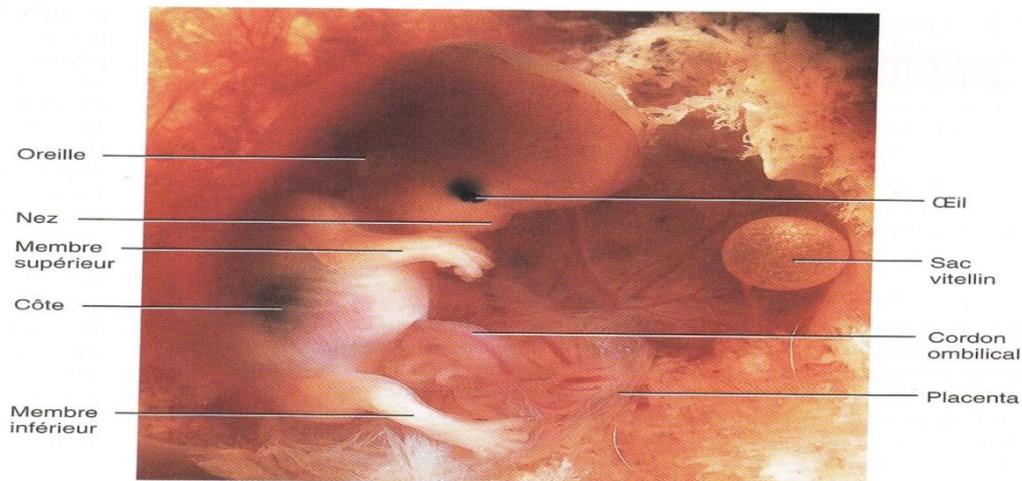
L'ectoderme forme la peau et le système nerveux.

Un troisième événement important de la période embryonnaire est le développement du placenta qui se termine vers le troisième mois de la grossesse. Le placenta est formé du chorion de l'embryon et d'autre partie de l'endomètre de la mère. Une de ses fonctions est de permettre la diffusion de l'oxygène et des nutriments du sang de la mère vers le sang du fœtus. Au même moment, le gaz carbonique et les déchets passent du sang fœtal vers celui de la mère (**figure 2**).



(c) Embryon de 32 jours

(d) Embryon de 44 jours



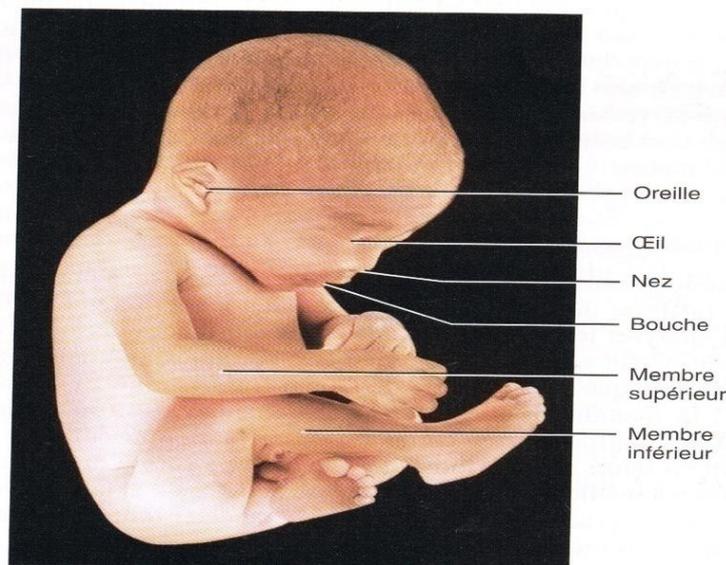
(f) Embryon de 10 semaines

Figure2 : Événements importants du développement embryonnaire(c d f) (TORTORA et GRABOWSKI, 2005).

I-1-2-Développement foetal.

La période foetale se déroule pendant les sept derniers mois (CATALA ,2003)(LANSAC et al, 2008). Elle se caractérise par la croissance et la maturation du fœtus.

A la 20^{ème} semaine, tous les organes sont individuellement et les mouvements du fœtus sont de plus en plus marqués. A ce moment, le fœtus a une apparence humaine, mais de nombreux raffinements devront encore être apportés. La taille du fœtus augmente, et celui-ci prend le poids dont il aura besoin pour mener sa vie en tant qu'individu indépendant (MADER, 2010) (figure3) .



(h) Fœtus de 26 semaines

Figure 3 : Evènements importants du développement fœtal (TORTORA et GRABOWSKI, 2005).

2^{ème} trimestre

4^{ème} mois : l'embryon mesure 15cm et pèse 200g, sa peau reste fine. Le cervelet, composant du cerveau, se développe ce qui lui permet de coordonner ses mouvements. Ainsi la mère peut sentir bouger son bébé. La croissance du bébé est très élevée au cours de ce mois.

5^{ème} mois : c'est lors de ce mois que les mouvements du bébé se font de plus en plus fréquents : ses muscles et ses os se forment. La peau du bébé s'épaissit, ce dernier commence même à sucer son pouce ou encore ses pieds. On peut dès à présent déterminer le sexe du bébé. A la fin du mois, il mesure 30 cm et pèse 650g.

6^{ème} mois : bébé grossit, et ses gestes se font de plus en plus précis. En effet, ses muscles et le système nerveux se développent de plus en plus. On peut désormais repérer chez lui des phases de sommeil et d'éveil parfois, le bébé est même pris d'une crise de hoquet! Il perçoit les sons extérieurs, mais son oreille interne n'est pas complètement développée. Le bébé mesure 37 cm et pèse 1kg.

3^{ème} trimestre

7^{ème} mois : il mesure 40cm et pèse 1700g, il commence à avoir moins de place dans le ventre de sa maman. Ses yeux sont ouverts mais sa vue reste obscure, il est sensible aux bruits intérieurs et extérieurs.

8^{ème} mois : il mesure 45cm et pèse 2500g, on peut dire que c'est le mois de l'accumulation de graisse car le fœtus grossit de 250g par semaine, ce qui fait que sa tête bascule de plus en plus vers le bas, ses poumons et ses os poursuivent leur évolution. La mère a des envies plus fréquentes d'uriner et s'essoufflent plus vite, les contractions commencent à se sentir.

9^{ème} mois : il mesure 50cm et pèse 3300g, il a pris une position quasi-définitive, ce qui ne changera pas jusqu'à l'accouchement. Tous ses organes sont matures et prêts à fonctionner. Le fœtus est prêt à naître.

Les étapes du développement fœtal sont représentées dans le tableau II.

Tableau II : Développement fœtal (LANSAC *et al*, 2008).

Semaines d'aménorrhée	Semaine de grossesse	Développement	Poids en g
14	12	Cerveau et moelle épinière structure définitive, organes génitaux externes identifiables.	19
13	16	Face complète, Poumons et reins définitifs. Début de différenciation organes des sens. Délimitation du disque placentaire.	100
19	17	Lumière du vagin Myélinisation de la moelle.	150
24	22	Développement du cortex	400
28	26	Perception de la lumière	1000
32	30	Testicule dans le scrotum sens du goût	1600
34	32	Maturité pulmonaire	2200

I-1-3-DIAGNOSTIC DE LA GROSSESSE.

Parfois la grossesse est si évidente qu'aucune qualification n'est exigée pour confirmer le diagnostic (**KENNETH et NISWANDER, 1990**). Le signe fondamental de la grossesse associe deux éléments étroitement liés entre eux : l'aménorrhée et l'augmentation progressive du volume utérin.

I-1-3-1- Diagnostic biologique.

La grossesse est habituellement confirmée par la femme au moyen de tests disponibles en pharmacie qui permettent un diagnostic précoce dès le premier jour de la menstruation manquée, soit environ 14 jours après la fécondation.

Ces tests contiennent des anticorps anti-HCG et d'autres produits chimiques qui amènent une modification de la couleur lorsqu'une réaction se produit entre la HCG contenue dans l'urine et les anticorps anti-HCG utilisés dans le test par la méthode immunologique.

I-1-3-2- Diagnostic clinique.

Le col utérin a un aspect particulier, très évocateur au spéculum : il est de couleur violacé et la glaire cervicale coagulée apparaît comme un bouchon à l'orifice externe du col.

a-Toucher vaginal.

C'est un examen essentiel car très tôt l'utérus se modifie, cette modification est marquée par ; le ramollissement qui est perçu au niveau du col, et de l'isthme qui pourrait être pincé entre deux doigts. Un utérus augmenté de volume.

I-1-3-3-Diagnostic échographique.

L'échographie est un outil de choix pour suivre le développement fœtal et pour dépister les anomalies. Au moins deux échographies sont programmées au cours de la grossesse : à la fin du premier trimestre (11-13 SA et au cours du deuxième (22-24 SA). L'échographie précoce affirme la grossesse, précise l'âge gestationnel et dépiste les malformations majeures. La deuxième échographie établit un bilan morphologique. Une troisième échographie peut être envisagée au 3^{ème} trimestre (32 SA), pour dépister des malformations à révélation tardive et contrôler le placenta.

Une surveillance échographique mensuelle est pratiquée à la recherche de signes évocateurs de toxoplasmose congénitale : calcifications intracrâniennes, dilatation des

ventricules cérébraux, hépato-splénomégalie, ascite, épanchement pleural ou péricardique, épaissement placentaire. Cependant, ces signes ne sont pas pathognomoniques de la maladie et les fœtus infectés lors de la deuxième moitié de la grossesse ne présentent généralement pas d'atteintes suffisamment importantes pour être détectées par échographie. L'absence d'anomalies à l'échographie ne permet pas d'exclure le diagnostic de toxoplasmose congénitale. Ce qui justifie la répétition mensuelle de cet examen ainsi que l'association éventuelle avec l'imagerie par résonance magnétique (IRM).

I-1-3-4-Diagnostic prénatal.

Le diagnostic prénatal nécessite l'obtention d'échantillons du fœtus ou de structures ovulaires par différentes techniques comme l'amniocentèse, le prélèvement de villosités choriales, le sang fœtal, les biopsies tissulaires, urine fœtale. Le type de prélèvement dépendra de l'âge de la grossesse et de l'anomalie à rechercher

➤ Amniocentèse

L'amniocentèse est la méthode de prélèvement la plus utilisée. Elle consiste à prélever du liquide amniotique à travers la paroi abdominale, sous guidage échographique.

Au cours de cette intervention relativement simple, une aiguille de gros calibre est introduite par la paroi abdominale jusque dans l'utérus, puis dans le sac amniotique et une petite quantité de liquide amniotique (10ml environ) est retirée (**MARIEB, 1999**). Elle est proposée à la mère dans la plupart des cas, mais elle n'est généralement pas pratiquée lorsque l'infection maternelle survient en toute fin de grossesse. La ponction de liquide amniotique est réalisée à partir de la 18^e semaine d'aménorrhée, avec un risque faible d'incident (environ 0,5 %). Le respect d'un délai de 4 à 5 semaines, entre la date supposée de séroconversion maternelle et celle de la ponction, diminue le nombre de faux négatifs dus à un retard dans la transmission transplacentaire du toxoplasme de la mère à l'enfant. Le liquide amniotique ne doit pas être congelé mais conservé à + 4 °C et doit être acheminé dans les 24 heures suivant le prélèvement un laboratoire spécialisé. Le diagnostic comporte une recherche du parasite dans le liquide amniotique par deux méthodes : inoculation à la souris et la PCR.

Parmi ces complications, on a l'avortement spontané ou mort in utero. De nombreuses études randomisées ou non font état de risque de l'amniocentèse en donnant des chiffres variables suivant les populations étudiées pour toute grossesse normale évoluant après 16 semaines.

Parmi les facteurs qui augmentent la fréquence de fausses couches spontanées après l'amniocentèse seraient, les grossesses multiples, la présence de sang dans le liquide

amniotique, mais le plus important est la qualité des opérateurs et la technique employée (TORTORA et GRABOWSKI, 2007) (Figure 4).

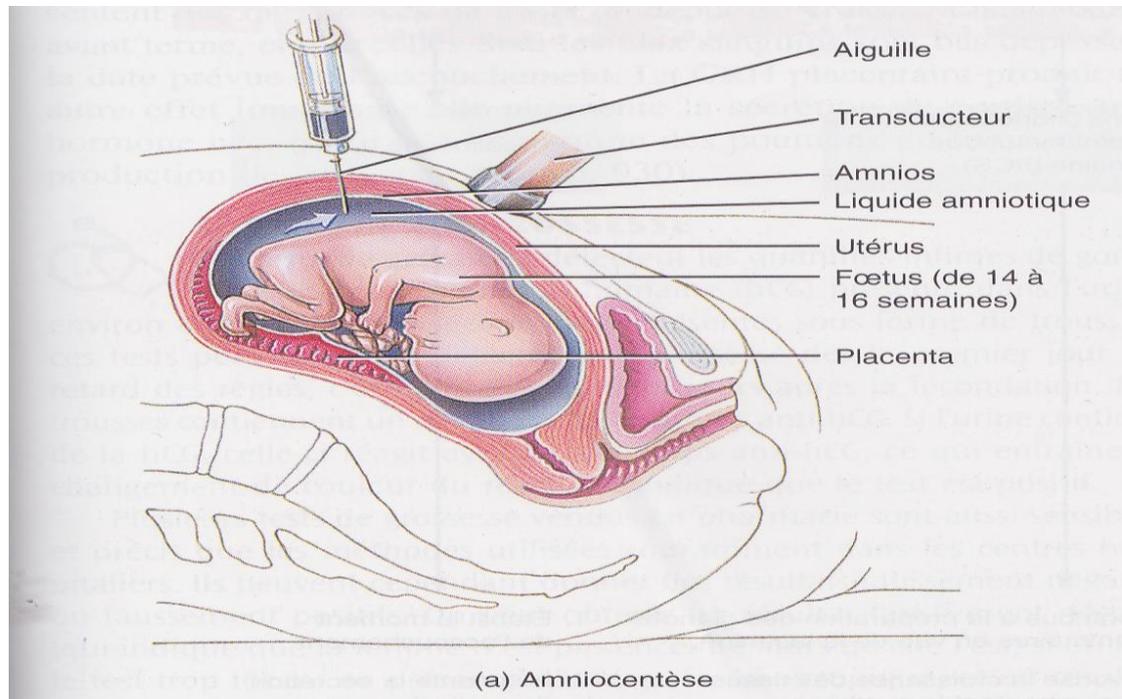


Figure 4 : Amniocentèse (TORTORA et GRABOWSKI, 2007).

➤ **Méthode de prélèvement de villosités choriales.**

Le prélèvement de villosités choriales permet de déceler les mêmes problèmes que l'amniocentèse mais il peut être pratiqué plus précocement vers les 8 semaines de grossesse. Au cours de ce procédé, un cathéter est introduit dans le vagin et le col jusque dans l'utérus, puis à l'aide de l'échographie, la sonde est dirigée jusqu'aux villosités choriales. Environ 30mg de tissu sont aspirés et préparés ensuite en vue d'effectuer une analyse chromosomique. Le prélèvement d'échantillons de villosités choriales peut se faire aussi par l'insertion d'une aiguille dans la paroi abdominale, de même façon que durant l'amniocentèse. Les cellules du chorion et du fœtus contiennent des renseignements génétiques identiques (TORTORA et GRABOWSKI, 2007).

Les résultats de cette épreuve sont souvent rapidement disponibles par rapport à celle de l'amniocentèse, permet de dresser le caryotype presque immédiatement, car les cellules du placenta se divisent très rapidement, ce qui permet de détecter l'anomalie du fœtus et par

conséquent un avortement sera moins traumatisant physiquement et psychologiquement pour la mère (MARIEB, 1999).

Les complications des prélèvements de villosités choriales sont les métrorragies, les métrorragies intra- péritonéales ou l'iso- immunisation rhésus, ce qui peut provoquer l'avortement.

Un certain nombre d'avortements, auune anomalie chromosomique, le prélèvement de villosités choriales détectent environ 4,5 % à 6 % de ces anomalies contre 3% pour l'amniocentèse plus tardive(TORTORA et GRABOWSKI, 2005) (figure 5).

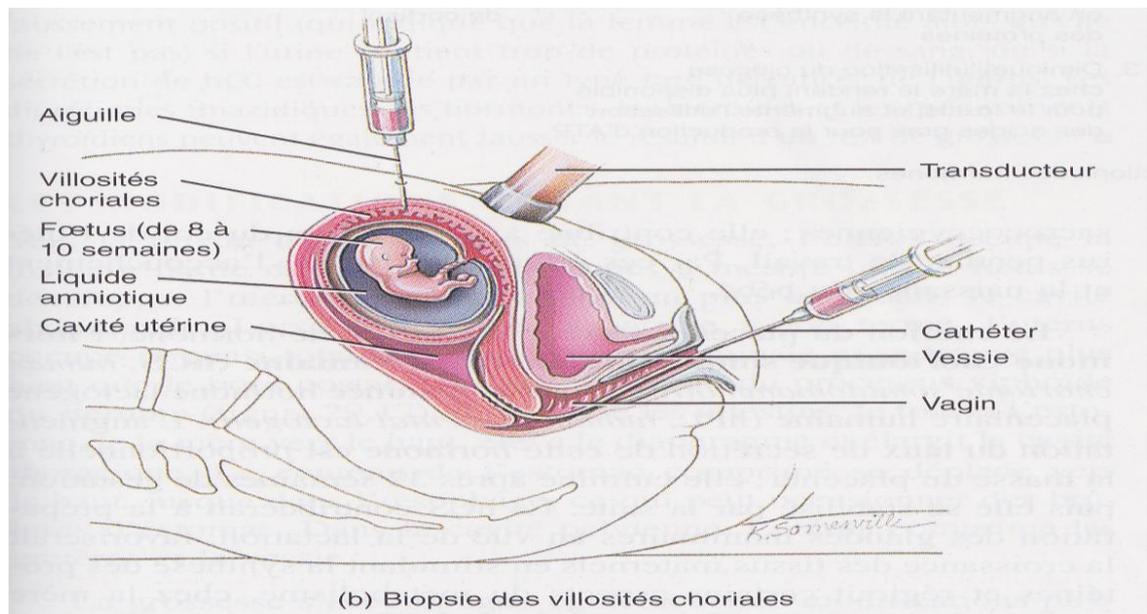


Figure5 : prélèvement d'échantillons de villosités choriales (TORTORA et GRABOWSKI, 2007).

I-1-4-Les hormones de la grossesse.

Au cours des trois à quatre premiers mois de la grossesse, le corps jaune dans l'ovaire continue à sécréter de la progestérone et des œstrogènes, qui maintiennent le revêtement de l'utérus pendant la grossesse et préparent les glandes mammaires à la sécrétion de lait. Cependant, les quantités d'hormones sécrétées par le corps jaune ne sont que légèrement supérieures à celle produites après l'ovulation lors d'un cycle menstruel normal. A partir du troisième mois de grossesse jusqu'au terme, le placenta synthétise suffisamment de

progestérone et d'œstrogène pour les besoins. Comme nous l'avons vu, le chorion sécrète la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) dans le sang, la hCG stimule le corps jaune pour qu'il continue à sécréter de la progestérone et des œstrogènes, afin de prévenir la menstruation et de permettre à l'embryon puis au fœtus, de continuer d'adhérer à l'endomètre. Huit jours après la fécondation, le sang et l'urine de la femme enceinte contiennent de la hCG en quantités détectables. Vers la neuvième semaine de grossesse, la sécrétion de hCG est optimale, puis elle diminue abruptement durant les quatrième et cinquième mois, et reste stable jusqu'à l'accouchement. La relaxine, une hormone produite d'abord par le corps jaune de l'ovaire, puis par le placenta, augmente la flexibilité de la symphyse pubienne et de ligaments des articulations sacro-iliaques et sacrococcygiennes ; elle contribue à la dilatation du col de l'utérus pendant le travail. Par ces effets, elle facilite l'accouchement et la naissance du bébé.

Le chorion du placenta sécrète une troisième hormone, l'hormone chorionique somatomammotrope (hCS). L'augmentation de taux de sécrétion de cette hormone est proportionnelle à la masse du placenta. La hCS contribuerait à la préparation des glandes mammaires en vue de la lactation. La dernière hormone placentaire découverte est la corticolibérine (CRH). En absence de grossesse, cette hormone n'est sécrétée que par les cellules neurosécrétrices de l'hypothalamus. Le placenta commence à sécréter la corticolibérine vers la 12^{ème} semaine de grossesse. La CRH placentaire produit un autre effet important : elle augmente la sécrétion de cortisol, une hormone nécessaire à la maturation des poumons du fœtus (TORTORA et DERRICKSON, 2007).

I-1-5-Modification physiologique de la grossesse.

Vers la fin du troisième mois de grossesse, l'utérus occupe la majeure partie de la cavité pelvienne ; à mesure que le fœtus se développe, l'utérus remonte de plus en plus haut dans la cavité abdominale. Lorsque la grossesse arrive à son terme, l'utérus occupe la quasi-totalité de la cavité abdominale et se trouve plus haut que le bord costal, presque au niveau du processus xiphoïde du sternum. Il repousse les intestins, le foie et l'estomac de la mère vers le haut, élève le diaphragme et élargit la cavité thoracique. Le contenu de l'estomac comprimé se déplace vers le haut, jusque dans l'œsophage, ce qui peut occasionner des brûlures d'estomac. Dans la cavité pelvienne, l'utérus comprime les uretères et la vessie.

La grossesse s'accompagne également des modifications physiologiques suivantes :

Un gain pondéral attribuable au poids du fœtus, du liquide amniotique et du placenta, à l'augmentation de volume de l'utérus et du volume total des liquides organiques ; un stockage plus important de protéines, de triacylgcérols et de minéraux ; une augmentation marquée de volume des seins en vue de la lactation ; des douleurs lombaires causées par la lordose, en réaction au déplacement du centre de gravité corporel.

Fonction cardiovasculaire : la fonction cardiovasculaire maternelle subit également plusieurs changements : une augmentation d'environ 30% du volume systolique ; une hausse de 20 à 30% du débit cardiaque par suite de l'augmentation du débit sanguin maternel vers le placenta et d'un métabolisme plus rapide. On observe également une hausse de 10 à 15%, surtout pendant la seconde moitié de la grossesse. Ces modifications préparent l'organisme de la mère à répondre aux besoins en nutriments et en oxygène du fœtus. Par ailleurs, lorsqu'une femme enceinte est couchée sur le dos, il arrive que son utérus dilaté comprime l'aorte et entraîne une diminution du débit sanguin dans l'utérus. La compression de la veine cave inférieure ralentit également le retour veineux, ce qui peut causer un œdème dans les membres inférieurs et entraîner l'apparition de la varice. La compression de l'artère rénale occasionne parfois de l'hypertension rénale.

Fonction respiratoire : la fonction respiratoire subit aussi des changements pendant la grossesse afin de répondre aux besoins accrus en oxygène du fœtus. On observe alors une augmentation de 30 à 40% de volume courant, une baisse de 40% du volume de réserve expiratoire, une diminution de 25% de la capacité résiduelle fonctionnelle une augmentation de 40% de la ventilation –minute, une baisse de 30 à 40% de la résistance dans les voies respiratoires de l'arbre bronchique et une hausse de 10 à 20% de la consommation totale d'oxygène par l'organisme. La femme enceinte peut aussi éprouver de la dyspnée.

Fonction digestive : la fonction digestive change également. La femme enceinte voit son appétit augmenter en raison des besoins nutritionnels accrus du fœtus. Une baisse générale de la motilité du tube digestif peut causer de la constipation, un retard de la vidange gastrique ainsi que des nausées, des vomissements et des brûlures d'estomac.

La fonction urinaire est modifiée. L'utérus dilaté exerce sur la vessie une pression qui provoque parfois des problèmes urinaires, notamment une augmentation de la fréquence des mictions, des mictions impérieuses et une incontinence urinaire d'effort. La hausse du débit plasmatique rénal, qui peut atteindre 35% et l'augmentation du débit de filtration

glomérulaire, qui peut aller jusqu'à 40%, entraînent l'accoisement de la capacité de filtration rénale, ce qui permet d'éliminer plus rapidement les déchets additionnels produits par le fœtus.

-Modifications de la peau : les modifications de la peau sont plus apparentes chez certaines femmes durant la grossesse que chez d'autres. Elles comprennent une augmentation de la pigmentation autour des yeux ainsi que sur l'aréole des seins et la ligne blanche du bas-ventre. Des vergetures peuvent apparaître sur l'abdomen distendu par l'utérus fortement dilaté, et certaines femmes perdent davantage leurs cheveux.

-Modifications des organes génitaux : les modifications des organes génitaux qui coïncident avec la grossesse incluent l'œdème, une plus grande vascularisation de la vulve et une augmentation de la souplesse et de la vascularisation du vagin. La masse de l'utérus, qui était de 60 à 40g avant la grossesse, se situe entre 900 et 1200g à terme ; cette hausse est attribuable à l'hyperplasie des myocytes du myomètre en début de grossesse et à l'hypertrophie des myocytes durant les deuxièmes et troisièmes trimestres (TORTORA et DERRICKSON, 2007).

I-2- Pathologie de la grossesse.

I-2-1- Anomalies de développement embryonnaire.

Le développement anormal d'une grossesse débutante est évoqué soit devant les signes cliniques (saignement, douleur, ou les deux), soit parce qu'en absence de symptomatologie anormale, l'évolution biologique ou échographique est anormale.(CATALAM. 2003).

I-2-1-1-Accouchement prématuré.

Toute naissance survenant entre 22 et 37 semaines d'aménorrhée révolues. La prématurité est une notion chronologique, dont le risque fœtal est présenté par l'immaturité de certaines fonctions (KENNETH et NISWANDER, 1990).

En obstétrique, on parle de menace d'accouchement prématuré lorsque s'associent des contractions du col de l'utérus (qui devient court, mou, et s'ouvre) (ANONYME, 2011). Les menaces d'accouchements prématurés sont multiples et fréquemment associées : pathologies infectieuses, l'hyperthermie, l'anémie, diabète, malformation utérines.

I-2-1-2-Grossesse- extra utérine.

La grossesse ectopique reste la première cause de mortalité liée à la grossesse dans les pays industrialisés et il y a plusieurs mécanismes qui peuvent expliquer la constitution d'une grossesse extra-utérine. Le plus souvent, l'œuf trop gros n'a pas pu parcourir la trompe, il s'est arrêté trop tôt et s'est implanté dans la trompe.

D'autre fois, c'est la captation de l'ovule par le pavillon tubaire qui s'est mal faite. Le spermatozoïde a rejoint l'ovule alors que celui-ci n'était pas dans la trompe. La nidation se fait alors, soit sur place (ovaire, cavité péritonéale), soit dans les trompes.

Enfin, dans d'autres cas, c'est une anomalie de la trompe qui gêne la migration de l'œuf (anomalie congénitale).

Les symptômes d'une grossesse extra-utérine sont très comparables à ceux d'une menace d'avortement spontané. Il s'agit de saignements et de douleurs abdominales, les règles sont arrêtées et le dosage de l'hormone de grossesse HCG est positif, ce qui permet de dire que le diagnostic n'est pas toujours évident. Une grossesse extra- utérine doit être prise en charge rapidement, car la trompe peut se fissurer et même éclater, après un mois de grossesse en provoquant une hémorragie interne qui met en danger la vie de la femme.

I-2-2-Avortements.

L'avortement est l'interruption de la grossesse par n'importe quel moyen, résultant de l'expulsion d'un fœtus immature non viable. Un fœtus de moins de 20 SA comptées à partir du premier jour des dernières règles, ou un fœtus pesant moins de 500 gramme est considéré comme un produit d'avortement (KENNETH et NISWANDER, 1990).

L'avortement peut être spontané ou thérapeutique (TORTORA et DERRICKSON, 2009). L'avortement est l'accident le plus fréquent en obstétrique.

I-2-3-Avortement spontané.

On parle de fausse couche spontanée en cas d'expulsion ou d'extraction hors de la mère d'un embryon ou d'un fœtus pesant moins de 500 gramme et de moins de 22 SA. Il touche environ 10% des grossesses diagnostiquées, et il est plus souvent précoce (80% au premier trimestre), que tardif (20% second trimestre).

Il existe une classification clinique précise des différents types d'avortement, en fonction des signes et des symptômes de la patiente.

I-2-3-1-Menace d'avortement :

C'est une association de contractions utérines et de modifications du col utérin avant la période de viabilité fœtale. Il existe de légers saignements vaginaux, de légers contractions se manifestent, par douleurs à type de tiraillements dans le bas-ventre (GOERKE, 2004).

I-2-3-2-Anomalies anatomiques utérines.

L'embryon s'implante le 5^{ème} jours après la fécondation dans la cavité utérine. L'existence d'une anomalie intra cavitaire peut donc interférer, non seulement avec l'implantation embryonnaire, mais également la poursuite normale de la grossesse (ACIEN, 1997).

I-2-3-3-Malformation utérines.

La fréquence des malformations utérines est comprise entre 0,5 et 10, elle est plus élevée dans le groupe des ASR. Les malformations les plus souvent en cause dans le cadre des ASR sont les utérus cloisonnés (en particulier totaux) et les utérus hypoplasiques.

Les troubles de la résorption regroupent les utérus cloisonnés total, subtotal. 9% à 30% des femmes présentant des ASR auraient un utérus cloisonné. Le taux d'avortement est de l'ordre de 60%. Plusieurs mécanismes peuvent être en cause : défaut de croissance de taille de l'utérus à cause de la cloison ; cependant les métoplasties entraînent souvent une diminution de la taille de l'utérus et améliorent l'évolution de la grossesse.

I-2-3-4-Causes infectieuses :

L'étude bactériologique du produit d'avortement et l'étude sérologique de la mère ne sont pas rentables car, les étiologies infectieuses sont rares et elles représentent moins de 5% des cas.

Certaines de ces maladies peuvent être redoutables pour l'embryon ou le fœtus et les traitements sont inefficaces. Le meilleur traitement est préventif, c'est la vaccination avant la grossesse, lorsqu'elle existe.

L'agent infectieux peut être un virus, une bactérie, un parasite ou un autre microorganisme. Il contamine l'enfant par trois voies :

-Par le sang maternel, il traverse la barrière placentaire et parvient au sang fœtal.

-Par les voies génitales basses de la femme ou l'œuf est atteint, soit par effraction des membranes amniotiques pendant la grossesse, soit lors de l'expulsion au moment de l'accouchement.

-Par infection amniotique se développant par contact direct, à partir d'un foyer d'endométrite par exemple.

-Parmi les parasites principaux, sont représentés, le *Toxoplasma gondii*.

Chaque année, environ 2500 enfants naissent avec une toxoplasmose congénitale qui est due à un parasite du chat, le toxoplasme. La femme peut s'infecter soit au contact des chats, soit en mangeant de la viande contaminée mal cuite ou des légumes souillés mal lavés.

Les risques théoriques pour l'embryon et fœtus sont considérables. Ce sont l'hydrocéphalie, le retard mental, les calcifications intracrâniennes, le chorion-rétinite, l'avortement tardif et la mort fœtal in utero sont possibles.

I-2-4- Toxoplasmose pendant la grossesse :

La transmission de la toxoplasmose au fœtus survient principalement chez les femmes qui acquièrent leur infection primaire pendant la grossesse. Une transmission congénitale a été, dans certains cas rare, détectée chez des femmes enceintes présentant une infection chronique et chez qui l'infection a été réactivée en raison de leur état immun déficient. La transmission de la mère au fœtus survient entre un et quatre mois à la suite de la colonisation placentaire par des tachyzoïtes. Le placenta demeure infecté pendant la durée de la grossesse; ainsi, il peut agir à titre de réservoir fournissant des organismes viables au fœtus tout au long de la grossesse. Des études historiques (avant la disponibilité et l'utilisation de médicaments anti-toxoplasmiques pendant la grossesse) ont indiqué que le risque de transmission verticale augmente avec l'âge gestationnel, les taux les plus élevés (de 60 % à 81 %) étant constatés au cours du troisième trimestre (par comparaison avec 6 % au cours du premier trimestre). Toutefois, la gravité de la maladie est inversement proportionnelle à l'âge gestationnel, l'infection au premier trimestre donnant lieu à une fausse couche ou à des séquelles majeures.

Le risque global d'infection congénitale attribuable à une infection aiguë à *T. gondii* pendant la grossesse s'étend de 20 % à 50 % en l'absence d'un traitement¹. La toxoplasmose congénitale classique est caractérisée par la tétrade décrite par Sabin en 1942: choriorétinite, hydrocéphalie, calcification intracrânienne et convulsion. Des symptômes tels que la calcification intracrânienne, la microcéphalie, l'hydrocéphalie et le grave retard de croissance intra-utérin semblent fortement indiquer une infection *in utero* en présence d'une infection maternelle. Les constatations échographiques ne sont pas suffisantes pour l'établissement

d'un diagnostic définitif. L'interruption de la grossesse devrait être envisagée en présence de graves lésions morphologiques.

Plus de 90 % des nouveau-nés atteints d'une infection altérations psychomotrices et mentales. L'infection congénitale ne présente aucun symptôme clinique d'infection à la naissance. En l'absence de traitement, les nouveau-nés sont exposés à un risque substantiel d'en venir à présenter des séquelles à long terme, y compris une maladie chorio-rétinienne (jusqu'à 85 % des enfants infectés) et des anomalies neurologiques majeures, ainsi que des altérations psychomotrices et mentales. L'infection maternelle aiguë a également été impliquée à titre de cause de décès fœtal intra-utérin. De nombreuses études ont démontré que

La mise en œuvre précoce d'un traitement pouvait favorablement modifier le développement de ces séquelles (déjà présentes, mais n'étant pas manifestes sur plan clinique) chez les nouveau-nés et affecter les issues à long terme.

1-Historique.

Toxoplasma gondii a été découvert en 1908 à l'institut Pasteur de Tunis par Nicolle et Manceaux chez un rongeur sauvage, *Ctenodactylus gondii*, et retrouvé depuis chez un très grand nombre d'espèces animales.

Le premier cas humain de toxoplasmose a probablement été rapporté par Janku, en 1923, chez un enfant atteint de microphthalmie et de chorioretinite. C'est en 1937 que le premier cas de toxoplasmose congénitale humaine fut rapporté par Wolf et Gowen, puis les signes de la primo-infection humaine furent décrits par Sabin. En 1965, Desmonts confirmait le rôle de la viande dans la transmission humaine. En 1970, Hutchison prouvait l'importance épidémiologique du chat et la reproduction sexuée de *Toxoplasma gondii* dans l'intestin grêle de ce félin qui représente l'hôte définitif de *Toxoplasma gondii*. (BOUREE P.1994)

2-Toxoplasma.

Toxoplasma gondii est un protozoaire intracellulaire appartenant au phylum des Apicomplexa, il est l'agent responsable de la toxoplasmose qui présente trois stades infectieux : les tachyzoïtes, les bradyzoïtes et les sporozoïtes. Le cycle parasitaire comporte un cycle sexué chez l'hôte définitif (chats et autres félinés) et un cycle asexué chez l'hôte intermédiaire (homéothermes).

3-Répartition géographique.

La toxoplasmose a été mise en évidence avec certitude, aussi bien parasitologiquement que séroépidémiologiquement, dans de nombreux pays d'Europe, d'Afrique, d'Amérique ou d'Australie l'affection apparaît donc ubiquitaire lorsqu'on évalue sa séroprévalence, dans les populations humaines ainsi que pour de nombreuses espèces animales.

4-SYSTEMATIQUE.

Toxoplasma gondii est un protozoaire intracellulaire obligatoire dont la position systématique de *T. gondii* a été précisée en 1980 par LEVINE.

Embranchement.....Protozoa (Goldfuss, 1918).
 Phylum.....Apicomplexa (Levine, 1970).
 Classe.....Sporozoaire (Leuckart, 1879).
 Sous-classe.....Coccidia (Leuckart, 1879).

Ordre.....	Eucoccidiida (Léger, 1910)
Sous ordre.....	Eimeridea(Léger,1911).
Famille.....	Sarcocystidae(Poche, 1913).
Sous famille	Toxoplasmatinae(Rioccu,1957).
Genre.....	<i>Toxoplasma</i> (NicolleetManceaux).
Espèce.....	<i>Toxoplasma gondii</i> .

5-Morphologie de *Toxoplasma gondii*.

Toxoplasma gondii est un protozoaire appartenant au phylum des Apicomplexa, à la famille des coccidies .Il est responsable d'une infection très répandue dans le règne animal, chez tous les animaux homéothermes y compris l'homme. C'est un parasite intracellulaire obligatoire.

Au cours de son cycle, le toxoplasme se présente sous trois formes évolutives :

-La forme végétative.

-La forme kystique.

-L'oocyste. -----

5-2-Forme végétative ou trophozoite :

La forme végétative de *Toxoplasma* ou encore appelée trophozoite ou tachyzoite, est en forme d'arc et mesure 5 à 10 µm de long sur 1 à 3 µm de large. C'est une forme endocellulaire et présente un noyau dans son pôle postérieur. Cette forme du parasite est observée à la phase initiale aigüe de l'infection, forme obligatoirement intracellulaire avec une affinité particulière pour les cellules du système réticuloérythrocytaire (**Figure 6**).

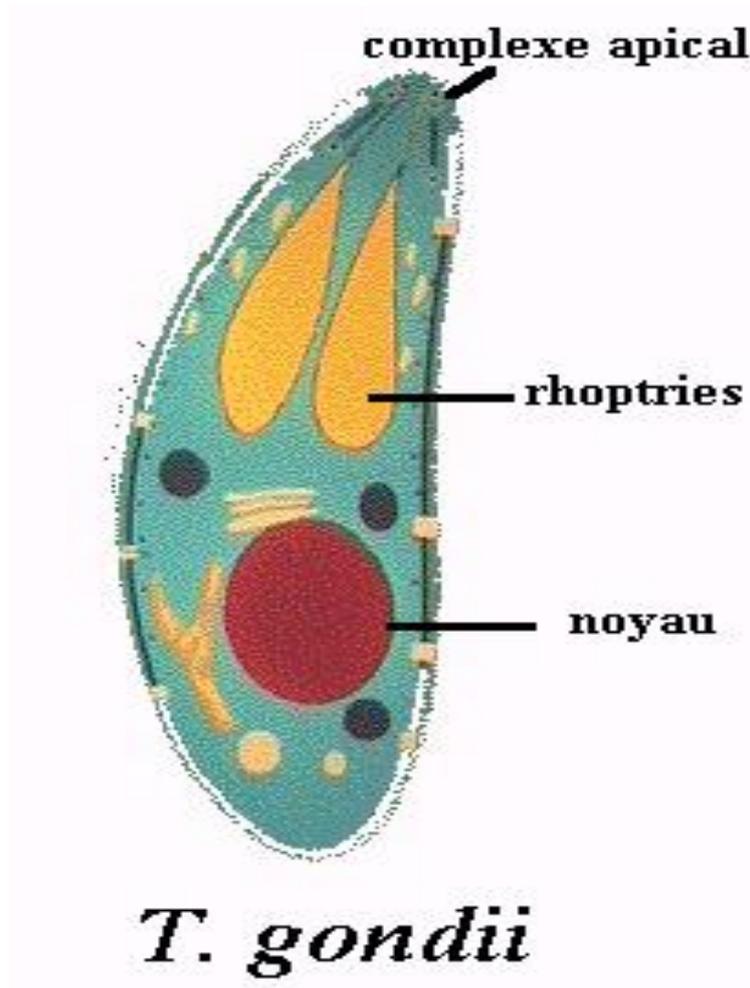


Figure 6 : Toxoplasma gondii sous sa forme arquée(DURIER, 2002).

L'ingestion de ces trophozoites ne peut pas entraîner une contamination toxoplasmique en raison de la sensibilité de cette forme évolutive à l'acide chlorhydrique du suc gastrique. Cependant la transmission peut se faire par voie transplacentaire ou éventuellement lors de l'allaitement via la muqueuse buccale(**figure 7**).

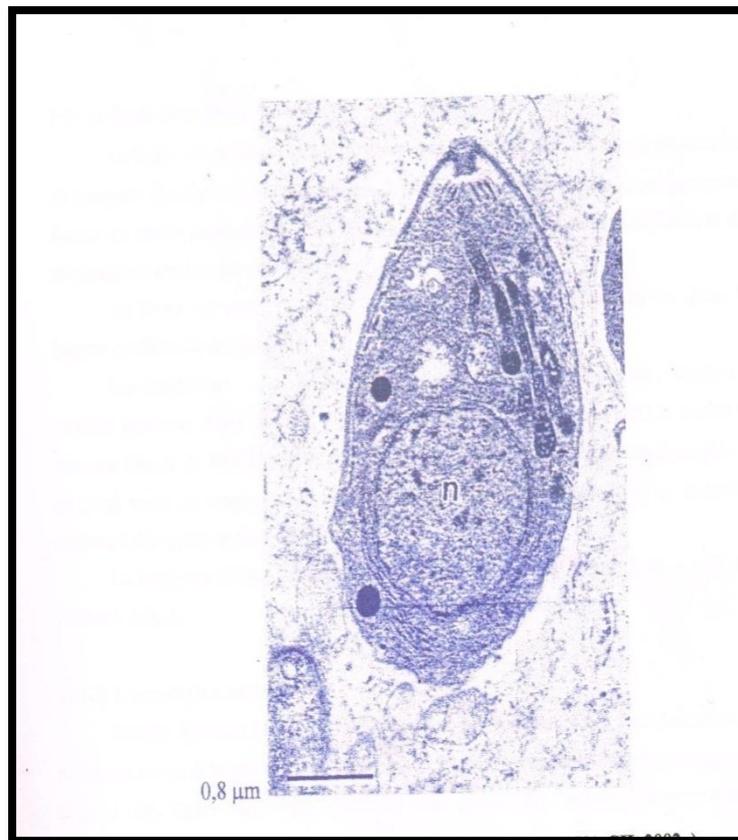


Figure 7 : Vue au microscope optique d'un tachyzoite(SILVA .2002).

5-3- Forme kystique(Bradyzoite).

Le kyste est de forme sphérique ou ovoïde, il mesure 20à100μm, il est constitué de quelques dizaines à quelques centaines de bradyzoites entourés d'une coque protectrice épaisse de nature parasitaire qui le met à l'abri de l'action des anticorps spécifiques et des médicaments anti toxoplasmiques (**Figure8**).

Les kystes sont des formes de résistance qui persistent pendant toute la vie de l'hôte : résistent à l'acidité gastrique et aux enzymes digestives telles que la trypsine. C'est cette résistance particulière qui rend possible le principal mode de contamination humain par l'ingestion de la viande crue ou saignante contenant des kystes de toxoplasme.

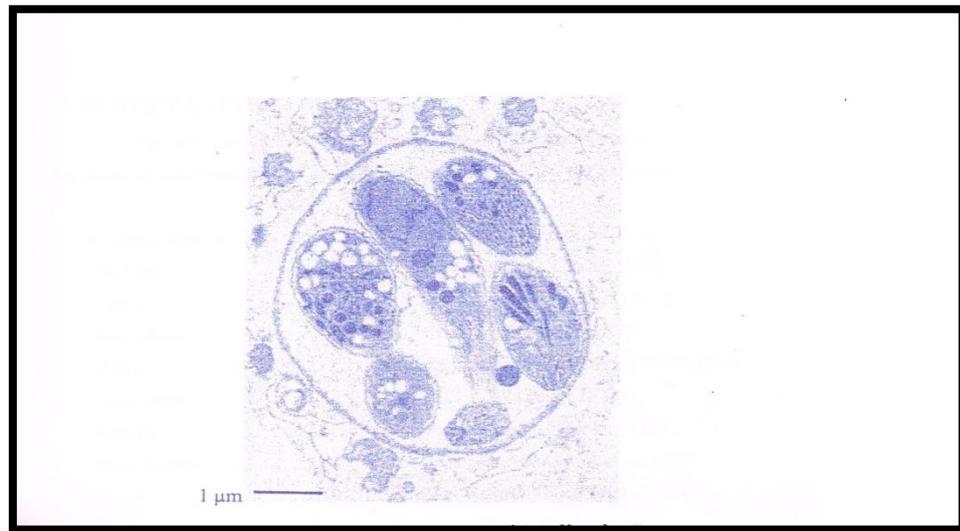


Figure 8 : Vue au microscope optique d'un kyste (SILVA .2002).

5-3-L'ocyste (sporozoite).

Ovoïde, l'ocyste mesure 14µm de long sur 9µm de large, il représente également une forme de résistance au suc gastrique. Il est issu d'une multiplication sexuée qu'on observe uniquement chez le chat. Après maturation l'ocyste contient deux sporocystes renfermant chacun quatre sprozoites qui formeront les futurs toxoplasmes(**Figure 9**).

Cette forme est responsable de contamination tellurique des herbivores mais également de l'homme par ingestion de fruits et de crudités souillées.

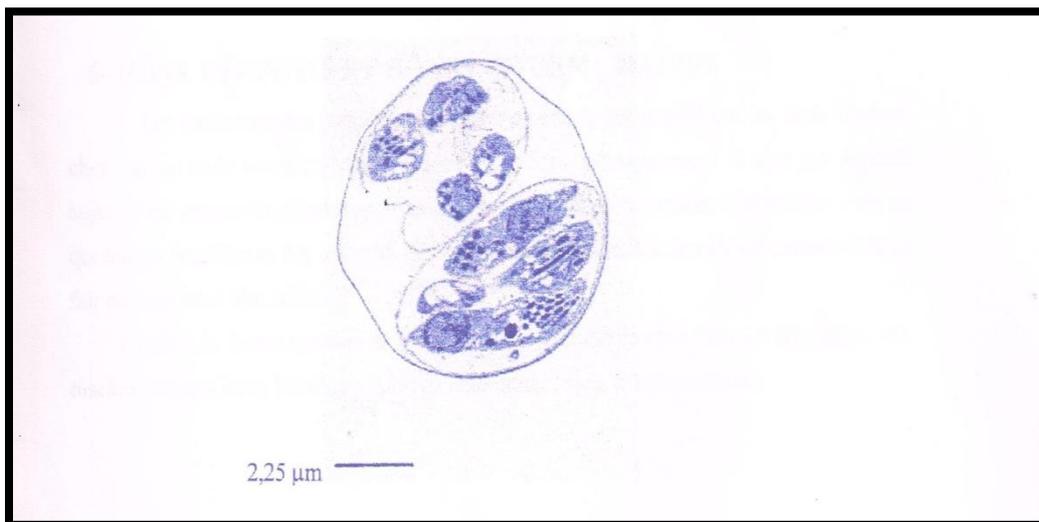


Figure 9: Vue au microscope optique d'un oocyste (SILVA .2002)

6-Cycle évolutif du parasite.

Cycle hétéroxène avec l' hôte définitif le chat ou un féliné sauvage, et pour hôte intermédiaire un mammifère ou un oiseau (Figure 10).

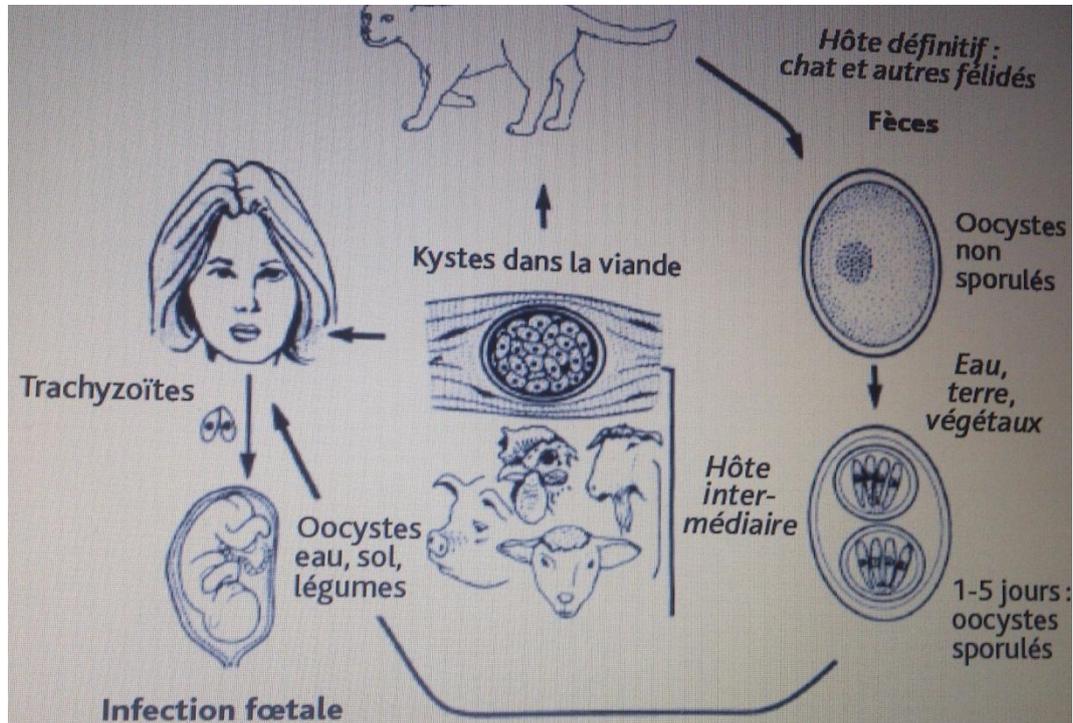


Figure 10 : Cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* .

1- Cycle chez l'hôte définitif (chat ou féliné).

Le cycle se déroule dans l'intestin grêle de l'hôte définitif. Celui-ci se contamine par l'ingestion de kystes contenus dans les tissus de petits mammifères ou oiseaux. Il peut également se contaminer en ingérant des végétaux souillés d'ocystes. Les bradyzoïtes libérés des kystes par les sucs digestifs, ainsi que les sporozoïtes issus des oocystes, pénètrent dans les cellules de l'épithélium intestinal. Ils vont subir une **multiplication asexuée ou schizogonie**. Après une ou plusieurs schizogonies va survenir une **reproduction sexuée ou gamogonie**. Au cours de la gamogonie, il y a formation de gamètes mâles et femelles, fécondation et .Le chat peut également faire une infection avec phase aiguë et phase chronique comme l'hôte intermédiaire (Figure 11).

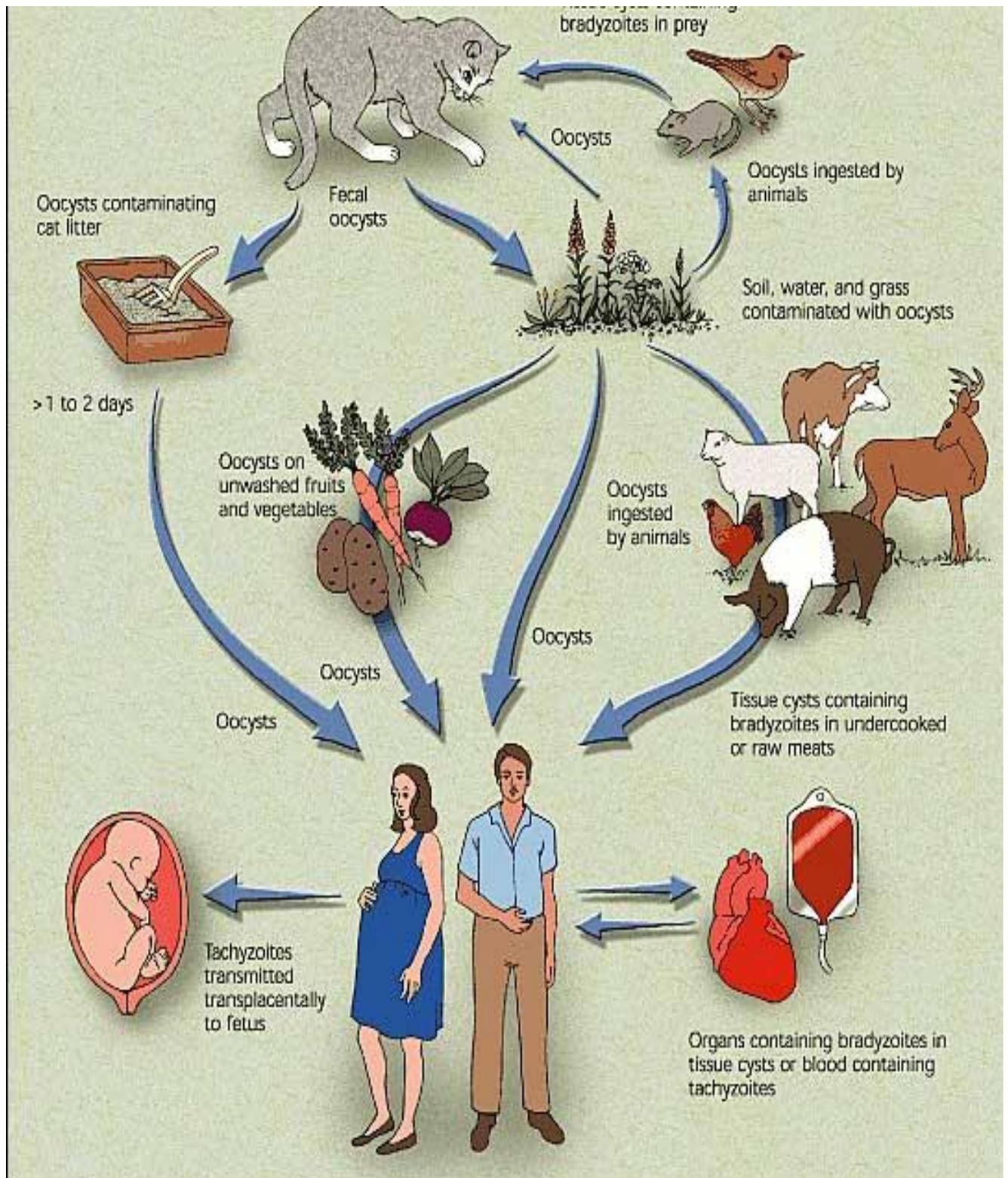


Fig 11 : Cycle de transmission de *Toxoplasma gondii*(BELKAID et al.1996).

2-Maturation des oocystes dans le milieu extérieur.

Formation d'un oeuf, entouré d'une coque résistante, appelé oocyste. L'oocyste est éliminé dans le milieu extérieur avec les fèces du chat ; il est alors immature et non infestant.

Qu'on peut observer un cas d'infection de toxoplasmose chez le chat qui se déroule en deux phases : phase aiguë et chronique.

Selon les conditions de température et d'humidité, la maturation des oocystes dans le milieu extérieur nécessite de un à cinq jours. Dans l'oocyste se forme deux sporocystes dans lesquels se formeront à leur tour quatre sporozoïtes. Les sporozoïtes sont les formes infectantes. L'élimination des oocystes est transitoire : quelques millions en quelques jours.

3-Cycle chez l'hôte intermédiaire (mammifères ou oiseaux).

L'hôte intermédiaire se contamine soit par ingestion de kystes à partir de la chair de divers animaux, soit à partir des oocystes provenant d'aliments souillés de terre.

Les toxoplasmes issus de kystes ou d'oocystes vont pénétrer et se multiplier sous forme de tachyzoïtes essentiellement dans les cellules du système des phagocytes mononucléés. Le parasite diffuse par voie sanguine ou lymphatique dans l'ensemble de l'organisme. Il se multiplie par endodyogenèse, schizogonie particulière où deux toxoplasmes-fils prennent naissance à l'intérieur d'un toxoplasme-mère. C'est la phase aiguë de l'infection.

Sous l'influence du système immunitaire, et essentiellement de l'immunité cellulaire, il y a transformation des tachyzoïtes en bradyzoïtes en quelques semaines. La formation des kystes correspond à la phase chronique de l'infection. Les kystes siègent principalement dans le cerveau, les muscles et l'œil. La longévité des kystes est très grande, égale à celle de l'hôte. Le cycle peut être complet avec passage d'hôte définitif à hôte intermédiaire, ou bien incomplet avec passage d'hôte intermédiaire à hôte intermédiaire, ne faisant pas intervenir d'hôte définitif.

6-1-Hôte définitif.

Les études menées jusqu'à présent sur ce parasite ont montré que les seuls animaux chez cycle sexué est possible sont les félinés, principalement le chat qui apparaît aujourd'hui comme le grand responsable de la transmission toxoplasmique puisque c'est lui qui assure la diffusion des oocystes dans le milieu extérieur. Ce dernier est considéré de ce fait comme étant l'hôte définitif (**BELKAID et al.1996**).

6-2- Hôtes intermédiaires.

Quant à la forme asexuée de *Toxoplasma gondii*, elle a été décrite chez tous les homéothermes, oiseaux, mammifères, homme y compris déterminant ainsi la toxoplasmose.

7- Mode de contamination de l'homme :

La contamination de l'homme peut s'effectuer selon quatre modes :

7.1. Transmission par absorption d'oocystes.

Cette contamination est essentiellement indirecte par la consommation de fruits et légumes crus mal lavés ou d'eau de boisson contaminée. De plus, les oocystes peuvent être ingérés, après un contact avec le sol (jardinage) ou les animaux, si l'hygiène des mains est insuffisante. Les jeunes enfants peuvent être contaminés en ingérant accidentellement de la terre contaminée.

7.2. Transmission par des kystes.

La contamination se fait par consommation de viandes fumées, saumurées ou insuffisamment cuites contenant des kystes tissulaires. Les kystes n'étant détruits que par une cuisson de la viande à 65 °C

D'autre part, des toxoplasmes enkystés dans un greffon provenant d'un donneur immun peuvent être à l'origine d'une primo-infection chez un receveur non immunisé. Dans cette situation, les greffes cardiaques présentent un risque de transmission majeur et nécessitent une chimioprophylaxie (RIPERT CHRISTAIN, 1996).

7.3. Transmission par les tachyzoïtes.

Les tachyzoïtes est une forme fragile, détruite dans le milieu extérieur et par le suc gastrique. C'est l'agent de la transmission transplacentaire, responsable de la toxoplasmose congénitale. D'autre part, si le donneur est en phase de parasitémie, le tachyzoïte peut être transmis par transfusion. Ces cas sont néanmoins exceptionnels du fait de la brièveté de la parasitémie.

7-4-Contamination congénitale : embryon- fœtus

Chez la femme enceinte, la contamination embryonnaire ou fœtus peut intervenir par voie transplacentaire uniquement pendant la phase de parasitémie qui dure 8 à 12 jours à condition que:

-La femme développe une primo-infection toxoplasmique et ne transmette donc que des parasites et pas ou très peu d'anticorps spécifiques (ce qui exclut une contamination par reviviscence de kystes quiescents).

- Le placenta soit suffisamment développé pour que soit établie la communication entresang maternel et embryonnaire ou que des tachyzoïtes puissent parasiter le placenta, y créer des foyers lésionnels d'où la parasitose pourra diffuser dans un second temps vers l'embryon ou le fœtus.

De ce fait, la transmission est rare pendant le premier trimestre de la grossesse, mais si elle intervient, la maladie pourra évoluer pendant toute la durée de la grossesse et le nouveau-né naîtra le plus souvent prématuré et porteur de séquelles viscérales graves(cerveau-œil).

Donc plus la contamination de la mère est précoce plus les chances de transmission sont faibles, mais plus les conséquences sont graves(**Moulinier,2003**).

8-Processus d'invasion de la cellule hôte par *Toxoplasma gondii*.

L'invasion des cellules hôtes par le *Toxoplasma gondii* est un phénomène actif qui aboutit à la formation d'un nouveau compartiment cellulaire, dans lequel le tachyzoïte pénètre en générant lui-même la force mécanique nécessaire à l'internalisation.

Ce processus se déroule comme suite.

-Le tachyzoïte entre en contact par sa partie apicale avec la future cellule hôte : le contenu des micromères est alors exocysté et contribue à l'internalisation précoce avec la cellule (reconnaissance et attachement).

-Le contenu d'une rhoptrie est exocysté et contribue au développement de la vacuole parasitophore dont la membrane est contenue avec la membrane de la cellule hôte dont elle est isolée par la jonction mobile qui gouverne la pénétration du parasite.

- Lorsque le parasite est internalisé, les granules denses sont exocystés dans la vacuole parasitophore et leur contenu contribue à la mise en place des échanges métaboliques entre parasite et cellule hôte.(**DUBERMETZ . 2000**).

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

I-Etude clinique.

1-Définition.

La Toxoplasmose est une affection cosmopolite très répandue. La contamination fœtale se fait par passage transplacentaire du parasite. La toxoplasmose est une zoonose, rencontrée sous tous les climats, commune à l'homme mais également aux autres mammifères voir même les oiseaux (**RIPERT .1996**).

Cette infection parasitaire est due à un protozoaire : *Toxoplasma gondii*, dans l'hôte définitif est le chat, les hôtes intermédiaires sont représentés par l'homme et tous les animaux, aussi bien les carnivores que les herbivores.

Cette parasitose est sans gravité chez l'enfant et l'adulte, par contre redoutable chez l'immunodéprimé, le fœtus et le nouveau-né. On distingue deux formes différentes. La toxoplasmose acquise, dont la contamination est faite après la naissance et la toxoplasmose congénitale, quand la contamination a lieu avant la naissance et transmise in-utero par la mère lorsque celle-ci a été infectée au cours de la grossesse (**BELKAID et al. 1996**).

I-2- Epidémiologie.

La Toxoplasmose est ubiquitaire. Sa prévalence chez l'humain varie selon la géographie. Dans les pays tropicaux d'Afrique et d'Amérique du sud où la contamination se fait en majorité par le biais des oocystes souillant le sol, les zones au climat chaud et sec ont une faible prévalence souvent inférieure à 10%, alors que les zones humides ont une prévalence élevée entre 60 et 80%. Dans les pays à haut niveau de vie d'Europe et d'Amérique du nord, où la majorité des contaminations est liée à l'ingestion de viandes infestées, la prévalence dépend de la cuisson des viandes : faible dans les pays où la viande est consommée bien cuite (moins de 25%), élevée dans les pays où la viande est consommée peu cuite (40 à 60%). En Asie du sud-est, la prévalence est en général faible de 2 à 10%.

I-3- Toxoplasmose acquise.

Elle est le plus souvent bénigne voire inapparente mais elle peut être sévère. Il existe plusieurs formes.

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

I-3-1-Forme inapparente.

C'est la plus fréquente ; seul le virage des réactions sérologiques permet le diagnostic.

I-3-2-forme bénigne :

Elle est présente assez souvent sous une forme bénigne associant des adénopathies, des modifications de la formule leucocytaire et parfois un syndrome infectieux.

- Les adénopathies sont à prédominance cervicale envahissant progressivement les autres aires ganglionnaires occipitales.
- Les modifications de la formule leucocytaire peuvent réaliser un syndrome mononucléosique avec neutropénie et cellules hyperbasophiles.
- Un syndrome infectieux peut exister avec asthénie et fièvre modérée qui peut se prolonger plusieurs semaines, associée parfois à une éruption cutanée.

I-3-3-forme grave :

Elles sont extrêmement rares et se voient chez des sujets fragilisés par une affection maligne et dans les déficits immunitaires spontanés ou thérapeutiques.

Il s'agit le plus souvent d'une forme généralisée avec atteinte polyviscérale dont l'évolution est le plus souvent fatal.

Ces formes sont :

- Les formes exanthématiques avec atteintes méningées, cardiaques ou pulmonaires, d'évolution parfois fatale.
- Les méningées toxoplasmiques isolées, méningées à liquide clair, pouvant se compliquer de manifestations encéphaliques ou des signes oculaires.
- Les abcès cérébraux représentant la localisation préférentielle chez les patients infectés par le VIH ;
- Les formes oculaires, dont les lésions du fond d'œil ressemblent à celle de chorioretinite congénitale, peuvent survenir entre un mois et 3 ans et demi après la primo infection.

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

I-4-Toxoplasmose congénitale :

La contamination du fœtus n'est possible que si la mère a été infectée au cours de sa grossesse. Le passage des formes végétatives de la mère à l'enfant nécessite une infection du placenta, puis diffusion au sang fœtal à partir de ce foyer.

La toxoplasmose congénitale présente un très grand polymorphisme clinique, elle est le plus souvent inapparente à la naissance mais qu'elle soit patente ou latente chez le nouveau-né, elle peut à tout moment devenir évolutive dans les mois ou les années qui suivent la naissance. Elle crée des dégâts irréversibles en l'absence de traitement de la mère pendant la grossesse et du nourrisson dès sa naissance. Le risque varie selon la date de contamination. L'infection fœtale est rare, mais grave au cours du premier trimestre. Elle est plus fréquente mais souvent bénigne au 3^{ème} trimestre (**BELKAIDet al, 1996**).

I-4-1- Formes graves :

- Encéphalo-méningées – myélite toxoplasmique.

Cette forme historique est heureusement devenue très rare. Elle s'observe dès la naissance et résulte d'une transmission précoce du parasite au fœtus(**DAFFOS et al, 1988**).

- Aspect et volume du crâne : macrocéphalie avec hydrocéphalie externe, augmentation du périmètre crânien qui, dès la naissance, est supérieur à la normale mais surtout augmente ultérieurement plus vite que la normale.

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

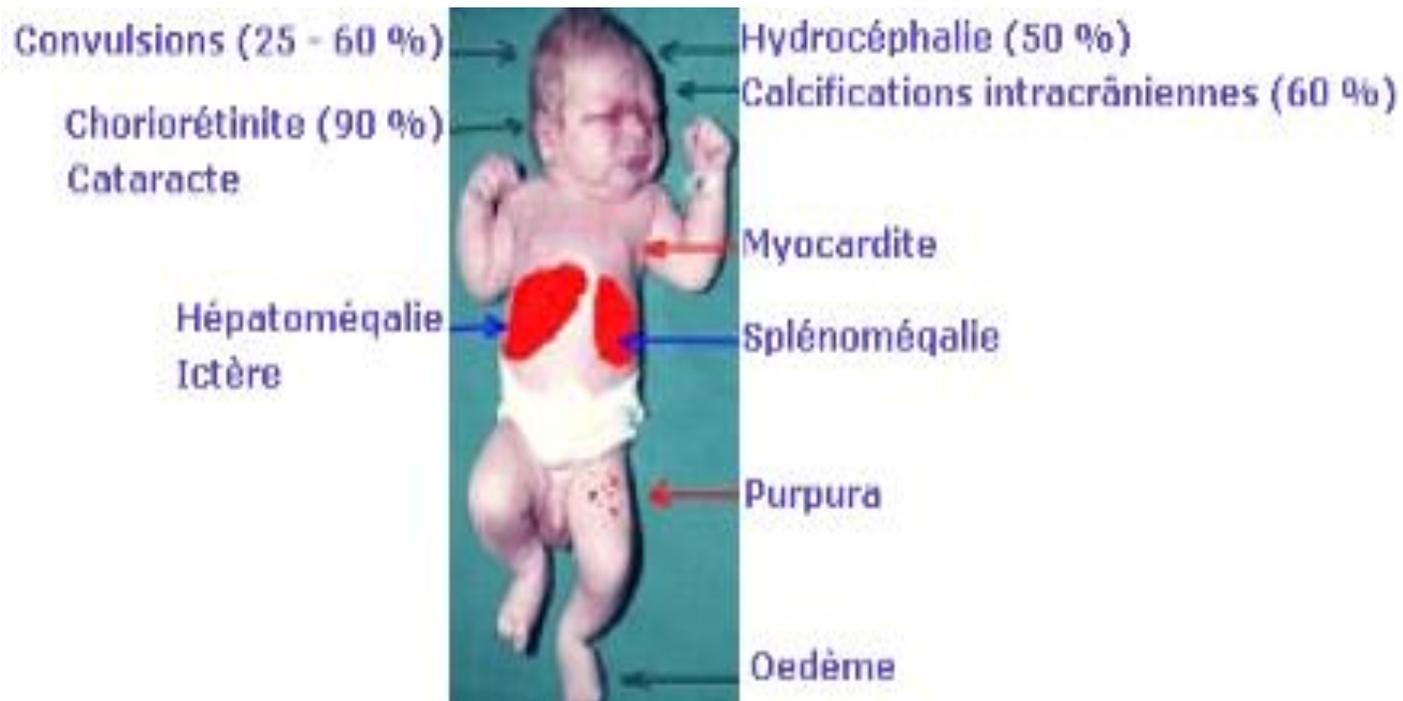


Figure 12 : Nouveau-né souffrant d'une toxoplasmose congénitale (HARSTOCK, 2003).

I-4-2- Formes viscérales.

Elles correspondent en général à des contaminations *in utero*. Elles sont caractérisées

- soit par un ictère néonatal avec hépato-splénomégalie et hémorragie des muqueuses, soit par une atteinte digestive aigüe à type d'œsophagite ou de colite ulcéro-hémorragique. Ces formes sont à la limite des possibilités thérapeutiques. Leur évolution est habituellement mortelle. Elles comprennent l'un des signes suivants :
 - Retard psycho-moteur.
 - Périmètre crânien augmentant plus rapidement que la normale.
 - Crise convulsive.

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

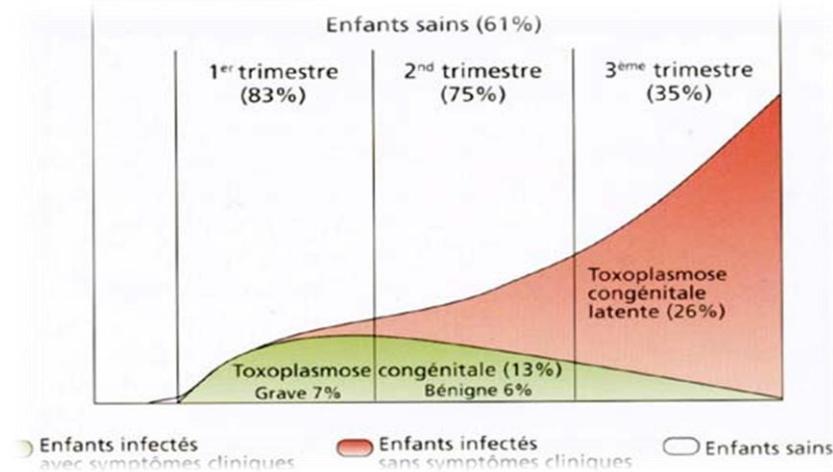


Figure13 : Risque de transmission et gravité de la toxoplasmose congénitale en fonction de l'âge de la grossesse.

I-4-3-Physiopathologie de la contamination fœtale.

Le placenta joue un rôle essentiel, le parasite est volumineux, il ne peut franchir le placenta qu'à la faveur d'une lésion.

Le placenta est contaminé lors d'une infection maternelle mais le passage du parasite dans la circulation fœtale n'est ni obligatoire, ni forcément immédiate quand elle survient il ya un obstacle placentaire. Il est difficilement franchi en début de grossesse lorsque le placenta est de types trophoblastique beaucoup plus facilement en fin de grossesse, peut-être même, l'irruption du parasite ne s'opère-t-elle dans la majorité des cas lors du travail, au moment du décollement placentaire. Ces hypothèses permettent d'expliquer les divers aspects de la toxoplasmose congénitale(BELKAID *et al.*1996).

Le passage précoce entraîne une fœtopathie, la maladie aura déjà évolué à la naissance. LaToxoplasmose ne peut traverser le placenta que s'il existe une lésion, l'infestation du fœtus se faisant par intermédiaire de foyers disséminés dans le placenta. La date de début possible du passage de la toxoplasmose à travers la barrière placentaire reste imprécise. En théorie le passage est possible à partir de la mise en place de la circulation fœtale (21^{ème} jours) mais il semble le plus probable vers la fin du 2^{ème} mois quand le placenta est constitué et que la surface d'échange entre la circulation maternelle et fœtale est important. Et surtout au quatrième lors du remaniement de la barrière placentaire et de la constitution possible de brèches à son niveau. Donc en début de grossesse, un avortement

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

spontané plus qu'une fœtopathie est à craindre mais on ne peut totalement éliminer cette dernière possibilité.

II-Diagnostic biologique de la toxoplasmose.

Ce diagnostic est réalisé chez les femmes enceintes,chez qui on veut connaître l'état de l'immunité au cours de la grossesse ou antérieurement à celle-ci et chez le nouveau né suspecté de toxoplasmose congénitale.

Il est également pratiqué dans d'autres circonstances que la grossesse chez les sujets présentant des signes cliniques évocateurs de la maladie pour la différencier des autres infections. Il est aussi nécessaire chez des sujets immunodéprimés tels les sidéens.

Chez les patients immunodéprimés ou en cas de toxoplasmose congénitale, la mise en évidence du toxoplasmose ou l'ADN parasite et souvent nécessaire pour porter un diagnostic de toxoplasmose, par contre, cette recherche est rarement effectuée pour le diagnostic d'une toxoplasmose acquise chez le sujet immunocompétent (**LARIVIERE et al.1987**)

La mise en évidence de *Toxoplasma gondii* est possible dans diversprélèvements : sang périphérique, liquide céphalorachidien(LCR), moelle osseuse, liquide de lavage broncho alvéolaire(LBA) quand il s'agit d'une personne immunodéprimée, tandis que lorsqu'il s'agit d'une toxoplasmose congénitale, elle est faite sur les prélèvements du liquide amniotique et du sang du cordon ombilical.

II-1- Diagnostic direct du parasite :

Il est réservé à des situations cliniques particulières pour lesquelles les techniques immunologiques manquent de sensibilité, notamment chez le fœtus et les sujets dont le système immunitaire est déficient.

II-1-1- Recherche du parasite dans les produits pathologiques.

La mise en évidence des parasites, sur un frottis des produits pathologiques,(moelle, ganglions, placenta et cerveau) est délicate.

Les frottis sont préférés aux coupes histologiques, les parasites sont nombreux en bordure des zones cérébrales nécrotiques et on peut identifier sur les empreintes des tissus colorés au May Grunwald Giemsa. En dehors de ces cas, on n'a pratiquement jamais l'occasion de voir une toxoplasmose sur un frottis direct de produit pathologique(**RIPERT.1996**).

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

Sur une coupe histologique, les trophozoites sont rétractés par la fixation, leur forme est arrondie granulaire, il est difficile de les voir même dans les lésions où ils sont assez abondants. Les kystes sont plus aisément retrouvés au faible grossissement, l'imprégnation argentique met en évidence la paroi du kyste.

II-1-2-Inoculation à l'animal :

Seul procédé commode d'isolement du parasite, car il ne se cultive pas en milieu artificiel. On peut obtenir son développement en culture de tissu, ou sur membrane chorioallantoïde de l'œuf incubé (**RIPERT.1996**).

Les souris blanches sont inoculées par voie intrapéritonéale. (La voie intracérébrale est aléatoire) avec un broyat d'organe ou du liquide biologique et gardées en surveillance pendant huit semaines. Si elles meurent avant ce délai, la recherche de toxoplasmes est faite dans les différents organes et le dosage des anticorps est effectué dans le sérum. Si les souris restent vivantes, elles sont sacrifiées après ce délai pour les mêmes recherches. Il arrive que l'on ne trouve pas de parasites. S'il y a des anticorps, la preuve est apportée par l'infestiosité de l'inoculum.

II-1-3- Culture cellulaire :

La culture cellulaire est une technique délicate sensible aux contaminations, mais elle permet la mise en évidence rapide des parasites à partir de différents types de prélèvement liquide amniotique, sang fœtal, biopsie.

II-1-4- Biologie moléculaire :

La détection du parasite par amplification génique est la technique la plus utilisée vu la rapidité de l'obtention des résultats, comparée avec les méthodes précédentes qui sont beaucoup plus longues quant au délai de réponse.

En 1989, l'amplification génique par polymérase chaîne réaction (PCR) est appliquée à la toxoplasmose (**BELKAID et al.1996**).

III- Diagnostic sérologique :

Les techniques sérologiques sont de deux ordres :

-Celle qui étudie la réponse humorale globale, les anticorps mis en évidence appartiennent à toutes les classes d'immunoglobulines mais surtout aux IgG.

-Celle qui met spécifiquement en évidence les anticorps appartenant à la classe des IgM, donc les anticorps apparaissent tout à fait au début de l'affection.

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

III-1-1-Cinétique des immunoglobulines dans la toxoplasmose.

-Les immunoglobulines dans la toxoplasmose acquise.

Ce sont les IgM qui apparaissent les premiers lors de l'infection, augmentent progressivement pendant les premières semaines, pour disparaître généralement en 2 ou 3 mois.

Les IgG apparaissent dès le 15^{ème} jour de l'infection, en grande quantité et augmentent rapidement, persistent de long mois, rendant difficile l'interprétation des résultats. Il se produit par suite une décroissance lente, les anticorps résiduels persistent toute la vie de l'individu aux environs de 8 à 10 μ l/ml

L'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose est basée sur le dosage des IgG et IgM, et la pratique d'examen à trois, quatre semaines d'intervalle.

-Si la sérologie est faiblement positive en IgG, c'est-à-dire entre 8 et 30 μ l/ml et le taux des IgM est nul, il s'agit d'une immunité ancienne. Le sujet est immunisé, et les contrôles ultérieurs sont inutiles.

- Si la sérologie est fortement positive en IgG avec des titres supérieurs à 300 UI/ml stables, en l'absence d'IgM, il s'agit d'une immunité récente datant de plus de deux mois. Il n'y a pas de risque fœtal, si la contamination est antérieure à la grossesse.

Par contre, on ne peut exclure une contamination du premier trimestre et un risque fœtal d'origine toxoplasmique, si la sérologie a été effectuée dans le courant du 2^{ème} et 3^{ème} trimestre.

- Si la sérologie montre une ascension du titre des anticorps en IgG associée ou non à la présence d'IgM, on révèle une séroconversion, il s'agit d'une Toxoplasmose évolutive de moins de 2 mois. Traiter en cas de grossesse (**RIPERT.1996**).

Chez le fœtus et le nouveau-né.

A la naissance, l'enfant est porteur d'anticorps transmis par la mère, et la mise en évidence d'anticorps anti-toxoplasmiques, à cet âge, n'est le fait que d'une toxoplasmose maternelle.

Pour savoir si l'enfant a été contaminé il faudrait attendre que les anticorps transmis passivement aient disparu vers l'âge de 6 à 8 mois, démasquant ainsi les anticorps propres de l'enfant et imposant ainsi un traitement aveugle anti-toxoplasmique d'un an.

II-1-2- Immunofluorescence indirecte (IFI).

La technique d'immunofluorescence a été proposée par GOLDMAN en 1957, cette réaction utilise des trophozoïtes formolés et fixés sur une lame. Les anticorps dirigés contre des sites antigéniques membranaires sont révélés par addition d'anti globulines humaines

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

marquées par un composé fluorescent et la lecture se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence. La membrane des parasites apparaît bien fluorescente.

L'avantage de cette technique consiste en sa facilité d'exécution, des réactifs commercialisés se conservant bien, il est également possible d'utiliser des conjugués spécifiques des immunoglobulines G et M. La présence d'IgM suffit à apporter le diagnostic de séroconversion récente, puisque cette classe d'anticorps ne persiste que trois mois.

Mais l'immunofluorescence est exposée aux erreurs notamment dans le cas des faux positifs qui sont liés à la présence :

- Facteur rhumatoïde.
- Des immunoglobulines de classe M naturelles
- Le risque de faux négatif : La présence d'IgM peut être ignorée en raison d'une quantité importante d'IgG, cas observé chez le fœtus.

III-1-3- Réaction d'agglutination directe.

Cette méthode est décrite dès 1959 par FULTON, simple d'utilisation, elle met en présence une suspension de toxoplasme formolés et le sérum du patient. La présence des anticorps entraîne la formation d'un voile d'agglutination des toxoplasmes. L'emploi du 2-mercapto- éthanol rend la réaction spécifique pour la détection des anticorps IgG en éliminant les IgM pour lesquels cette technique manque de sensibilité et de spécificité.

III-1-4- L'hémagglutination indirecte ou passive.

L'hémagglutination passive est décrite en 1957 par JACOBS et col. Elle est réalisée à partir de la fixation d'un antigène soluble sur des hématies. La réaction est rendue spécifique pour la détection des IgM par l'utilisation de 2- mercapto- éthanol, cette méthode n'est pas valable pour la détection des IgM, les IgG sont détectés avec retard en début d'infection.

III-1-5- ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

La technique ELISA a été appliquée en 1976 par SEQUELA et VOLLER, cette technique fait appel à un extrait antigénique soluble (cytoplasmique) de toxoplasme fixé à un support solide (plaque à godets en polystyrène). Les anticorps spécifiques se fixent sur le support sensibilisé par l'antigène, ils sont ensuite mis en évidence par de anti-IgG ou anti-IgM marqué par une enzyme qui est la peroxydase. Les résultats sont exprimés en UI après

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

conversion des densités optiques grâce à des courbes d'étalonnage. Cette technique permet la détection des IgG et IgM anti *Toxoplasma gondii* avec une grande précision.

III-1-6-Test ELISA : Reverse.

Le principe du test ELISA Reverse est peu différent d'ELISA du fait que, sur le support de polystyrène, est fixée une globuline anti IgM dont le rôle est de capter les IgM du sérum, ce qui induit l'absence de toute compétition de sites antigéniques. Ensuite, on ajoute l'antigène toxoplasmique et un anticorps anti- toxoplasmique marqué par une enzyme ;ou bien un antigène toxoplasmique directement marqué par l'enzyme. La fin de la réaction est identique à celle de L'ELISA.

C'est une technique rapide, elle est utilisée, dans le but de détecter la présence ou l'absence d'IgM spécifiques dans le sérum, puisque dans ce cas les IgM naturelles ne sont pas concernées.

III-1-7-Test ELISA : La réaction d'immuno-électrodifusion ou enzyme Linked Immuno filtration Assay :

Décrite par PINON en 1932, elle est utilisée pour la détection de la toxoplasmose congénitale en se basant sur la comparaison des anticorps du sang de la mère à ceux du nouveau-né. Cette méthode permet la révélation ainsi que la différenciation entre ces différentes classes d'anticorps (IgG, IgM, IgA, IgE), et cela par la filtration d'anti globulines spécifiques marquées par une enzyme, au travers de la membrane d'immunodiffusion sur laquelle se trouvent les précipités des immuns complexes antigène- anticorps.

Elle est faible est sensible, permet de différencier les anticorps propres au nouveau-né, en cas de toxoplasmose congénitale. L'électro-immun diffusion donne des arcs de précipitation. Si l'enfant n'a que des anticorps maternels transmis passivement le nombre d'arcs de précipitation sera identique ou inférieur à celui de la mère.

Dans le cas contraire, le bébé a formé des anticorps bien à lui in utero et ce résultat n'est que synonyme d'une toxoplasmose congénitale.

III-1-8- La PCR :(polymères Chain réaction).

La PCR, technique imaginée par Mullis et développée par Erlich et al, 1985 est un procédé d'extension d'amorce qui permet d'amplifier spécifiquement in vitro une séquence

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

d'ADN connue. Elle consiste à utiliser deux amorces oligonucléotidiques de synthèse reproduisant une séquence de 20 à 25 nucléotides situés de part et d'autre en 3' de la séquence à amplifier.

Les deux amorces, lorsqu'elles sont mélangées avec de l'ADN génomique dans des conditions d'hybridation, se positionnent en face de leurs séquences complémentaires respectives. Puis en faisant agir de la Taq DNA polymérase (enzyme thermo-stable), chaque amorce est allongée dans le sens 5'-3' d'une séquence strictement complémentaire du brin recopié. Il en résulte un doublement de la séquence considérée, puisque chaque brin est recopié.

L'opération est ensuite recommencée, avec pour chaque cycle.

- Un temps de dénaturation de l'ADN 90°C.
- Un temps d'hybridation avec les amorces à 50°C.
- Un temps d'élongation des amorces à 70°C.

Chaque cycle produit un doublement de la séquence comprise entre les deux amorces. L'amplification est donc exponentielle : au bout de n cycles, on obtient théoriquement 2^n copies de segment d'ADN dont les extrémités sont définies par les extrémités 5' des amorces utilisées (20 cycles = amplification de 10^6). Après la réalisation de n cycles d'amplification (dans un thermocycleur), le produit de la PCR obtenu, l'ADN de la séquence choisie, est identifié (électrophorèse) et analysé.

La technique d'amplification génomique (PCR) pour la mise en évidence du gène B₁ de toxoplasmose pratiquée sur le matériel biologique testé qui peut être du liquide céphalorachidien (LCR), du liquide de ponction de la chambre antérieure (PBA) de l'œil, du sang (après séparation de la couche leucocytaire), du matériel de biopsie, comporte quatre étapes :

1- Extraction de l'ADN à partir du matériel biologique

Digestion à la protéinase K pour dégrader les protéines.

Centrifugation, récupération du surnageant contenant l'ADN soluble, pour LCR et PCA amplification directe sur le surnageant, pour sang total et biopsies extraction de ADN au phénol / chloroforme.

Chapitre III: Etude clinique et diagnostic de la Toxoplasmose.

2-Réaction de la PCR à partir de l'ADN.

Les réactions de PCR choisies mettent en évidence le gène B₁ du Toxoplasma, et les amorces ont été sélectionnées en fonction des données bibliographiques. Deux réactions de PCR sont effectuées. La première réaction appelée 1-4 donne un produit d'amplification de 194pb et la seconde B22-B23 donne un produit de 115pb. A chaque PCR correspond un couple d'amorces spécifiques.

3-Révélation, par migration électrophorétique des produits d'amplification sur gel d'acrylamide en présence d'un marqueur de taille, d'un témoin positif et d'un témoin négatif.

4-Hybridation avec une sonde interne marquée à la dixygène (sonde froide). Révélation par un anticorps anti- dixygène couplé à la phosphatase alcaline, donnant une coloration brune.

L'étude pratique s'est déroulée au niveau du laboratoire de microbiologie et de parasitologie du Centre Hospitalo Universitaire de Tizi-Ouzou pendant la période allant du mois de janvier au mois de mars 2015.

L'objectif général de cette étude prospective est basé sur un échantillonnage de femmes enceintes primipares et multipares dont les tranches d'âges sont situées entre 20 à 40 ans.

Les prélèvements sanguins sont soumis aux examens sérologiques : Tests ELISA effectués sur des techniques spectrophotométriques. L'appareil utilisé est de marque Analyzer d'EUROIMMUN ou DSX de Dynex.

Les cas négatifs sont suivis régulièrement au contrôle chaque trois mois jusqu'au terme de la grossesse.

Les femmes dépistées entre le mois de janvier au mois de mars 2015 sont venues de toutes les régions de la wilaya de Tizi-Ouzou (Villes et villages). Elles avaient des différents profils sociaux (femmes au foyer et travailleuses).

Durant notre stage, nous avons recensé 962 femmes enceintes ou l'âge de la grossesse varie entre 3 mois et 8 mois, toutes sont présentées au laboratoire pour déterminer leur statut immunologique de la toxoplasmose.

1- Matériel et méthodes.

- 1-1- Matériel : pour l'exécution des techniques sérologiques, nous avons utilisé des appareils et réactifs qui sont représentés ci-dessous.
- 1-2- Nous avons également réalisé une étude statistique pour évaluer l'importance de la pathologie chez les femmes enceintes.

1-1-1-Appareillage :

- ❖ Spectrophotométrie (Figure 14).
- ❖ Centrifugeuse.
- ❖ Etuve à 37°.
- ❖ Réfrigérateur.
- ❖ Agitateur.



Figure14 : Spectrophotométrie (photo prise au laboratoire).

1-1-2-Autres matériels.

- Tube à hémolyse.
- Pipette automatique avec des différentes dimensions.
- Embouts pour pipettes automatiques.
- Microplaques.
- Gants.
- Antiseptique.
- Compresse.

1-1-3- Réactifs(Figure15).

-Composition du coffret :

1-Puits de la microplaque : Coatés avec les antigènes, 12 barrettes de 8 puits sécables sur leur support, prêts à l'emploi.

2-Calibrateur 1 : 200UI/ml (IgG, humain), prêts à l'emploi.

3- Calibrateur 2 : 10UI/ml (IgG, humain), prêt à l'emploi.

4- Calibrateur 3 : 1UI/ml (IgG, humain), prêts à l'emploi.

5- Contrôle positif, IgG, humain.

6-Contrôle négatif, IgG, humain .

7- Conjugué enzymatique : anti-IgG humain (lapin) couplé à la peroxydase, prêts à l'emploi



Figure15 : Réactifs (photo prise au laboratoire).

1-2-Méthodes :

1. Dosage ELISA.

1-2-1-Principe du test ELISA.

Cet enzyme permet la réalisation d'un dosage semi-quantitatif ou quantitatif in vitro pour la détection dans le sérum ou le plasma d'anticorps humains de la classe IgG dirigés contre

Toxoplasma gondii. Le coffret contient des barrettes de microfiltration de 8 puits sécables, chacun coâté avec les antigènes de *Toxoplasma gondii*. Dans la première étape de la réaction, les échantillons patients dilués sont incubés dans les puits. Dans le cas d'échantillons positifs, les anticorps spécifiques de la classe IgG (mais aussi IgA et IgM) se fixent sur les antigènes. Pour détecter les anticorps fixés, une seconde incubation est réalisée en utilisant un anticorps anti-IgG humaine couplé à une enzyme (conjugué enzymatique) catalysant une réaction colorée.

1-2-2- Préparation et stabilité des échantillons.

- Puits coâtés : prêts à l'emploi. Ouvrir l'emballage protecteur refermable de la microplaque au-dessus de la fermeture rapide. Ne pas ouvrir tant que la microplaque n'a pas atteint la température ambiante afin d'éviter toute condensation sur les barrettes individuelles. Remplacer immédiatement les puits non utilisés d'une microplaque entamée dans l'emballage protecteur et refermer soigneusement avec la fermeture intégrée(ne pas retirer le dessiccateur contenu dans l'emballage).

Une fois que l'emballage protecteur a été ouvert pour la première fois, les puits coâtés avec de l'antigène peuvent être conservés dans un endroit sec et à une température comprise entre +2°C et +8°C pendant au moins 4 mois.

1-2-3- Technique (Réalisation des tests).

-Prélèvement et préparation des échantillons pour l'analyse.

Le dosage d'ELISA Toxo IgG et IgM peut être effectué sur échantillons de sérum ou de plasma (prélevé sur EDTA, héparine ou citrate de sodium) humain.

- Les échantillons ne doivent pas contenir de la fibrine ni de globules rouges et d'autres particules en suspension.
- Vérifier l'absence de bulles dans tous les échantillons. Eliminer toutes les bulles avant de commencer l'analyse.
- Le prélèvement d'un échantillon de sang se fait selon la pratique en usage.
- Patients à jeun de préférence.
- Prélever le sang au niveau du pli du coude à l'aide d'une épicrotine, dans un tube à essai sec ou héparine.
- Etiqueter le tube : Nom et prénom du patient et l'examen demandé (toxoplasmose).

- Laisser décomptere le tube à température du laboratoire 30à45mn.
- Enlever le culot de sang qui s'est formé au fond du tube.
- Centrifuger les tubes pendant 5mn à 10.000t/mn.
- Extraire soigneusement le sérum avec une pipette et le mettre dans un autre tube sec portant le numéro du patient.

Incubation :

Pour la réalisation du dosage semi- quantitatif incuber seulement le calibrateur 2, les contrôles positif et négatif et les échantillons des patients.

Pour le dosage quantitatif incuber le calibrateur1, 2, et3, les contrôles positifs et négatifs et les échantillons des patients.

Réalisation du test manuel.

1-Incubation des échantillons : Déposer 100UI des calibrateurs, des contrôles positifs et négatifs ou des échantillons des patients dilués dans des puits individualisés de la microplaque selon votre protocole de pipetage. Incuber 30minutes à température ambiante (+18°Cà+25°C).

2-Lavage : Vider et ensuite laver 3fois de suite les puits avec 300UI de tampon lavage. Laisser le tampon de lavage dans chaque puits 30à60 secondes par cycle de lavage, puis vider les puits .Après le lavage (test manuels et automatisés), éliminer minutieusement toute trace de liquide dans la microplaque en la tapotant sur du papier absorbant face vers le bas, afin de se débarrasser de tout résidu de tampon de lavage(**Figure16**).

-Incubation de conjugué : Déposer 100ùl du conjugué enzymatique (anti-IgG humaine couplé à la peroxydase.



Figure16: Tampon lavage (photo prise au laboratoire).

- Calcul des résultats.

Dosage semi- quantitatif : Les résultats peuvent être évalués semi- quantitativement par calcul d'un ratio avec DO du contrôle ou de l'échantillon patient sur la DO du calibrateur². Calculer ce ratio selon la formule suivante :

$$\frac{DO \text{ du contrôle ou de échantillon patient}}{DO \text{ du calibrateur}} = \text{Ratio}$$

Il est recommandé d'interpréter les résultats de manière suivante :

Ratio < 0,8 : négatif

Ratio ≥ 0,8 à < 1,1 : douteux

Ratio ≥ 1,1 : positif

Dans les cas de résultats douteux, un autre échantillon patient devra être prélevé 7 jours plus tard et resté en parallèle avec le premier échantillon patient. Les résultats des deux prélèvements permettent une meilleure évaluation des changements du titre.

-Dosage quantitatif : La courbe standard à partir de laquelle la concentration des anticorps dans les échantillons patients pourra être lue est obtenue en faisant une courbe point à point reliant les valeurs de DO mesurée pour les trois calibrateurs en faisant des unités de concentration correspondantes.

Si la valeur de DO de l'échantillon patient est supérieure à celle du calibratur1 (200UI /ml), le résultat doit être donné comme >200UI/ml. Il est recommandé de rester le sérum dilué au 1 :400 avec du tampon échantillon.

La limite supérieure des valeurs normales pour les personnes non- infectées (valeur seuil) recommandée est de 10 unités internationales. Il est recommandé d'interpréter les résultats de la manière suivante.

<8UI/ml : négatif

≥8 à <11UI/ml : douteux

≥11UI/ml : positif

2-Résultat et discussion.

Durant trois mois de stage, nous avons recensé 962 femmes enceintes dont l'âge de la grossesse se situe entre trois et huit mois. Il est nécessaire également de préciser que la majorité de ces prélèvements ont été fait en dehors du laboratoire, reçus dans des tubes secs, étiquetés avec le nom, prénom et l'examen demandé (Toxo IgG, Toxo IgM) ; ce qui n'est pas possible de prendre tous les renseignements concernant les patientes.

La répartition des patientes selon l'âge de la grossesse est représentée dans le tableau N°I.

Tableau N°I : répartition des femmes enceintes selon l'âge de la grossesse.

Mois	Age de la grossesse						
	3ème mois	4mois	5 mois	6 mois	7 mois	8 mois	
Nombre	320	240	204	103	70	25	962
Pourcentage	33.26	24.95	21.20	10.70	7.27	2.60	100%

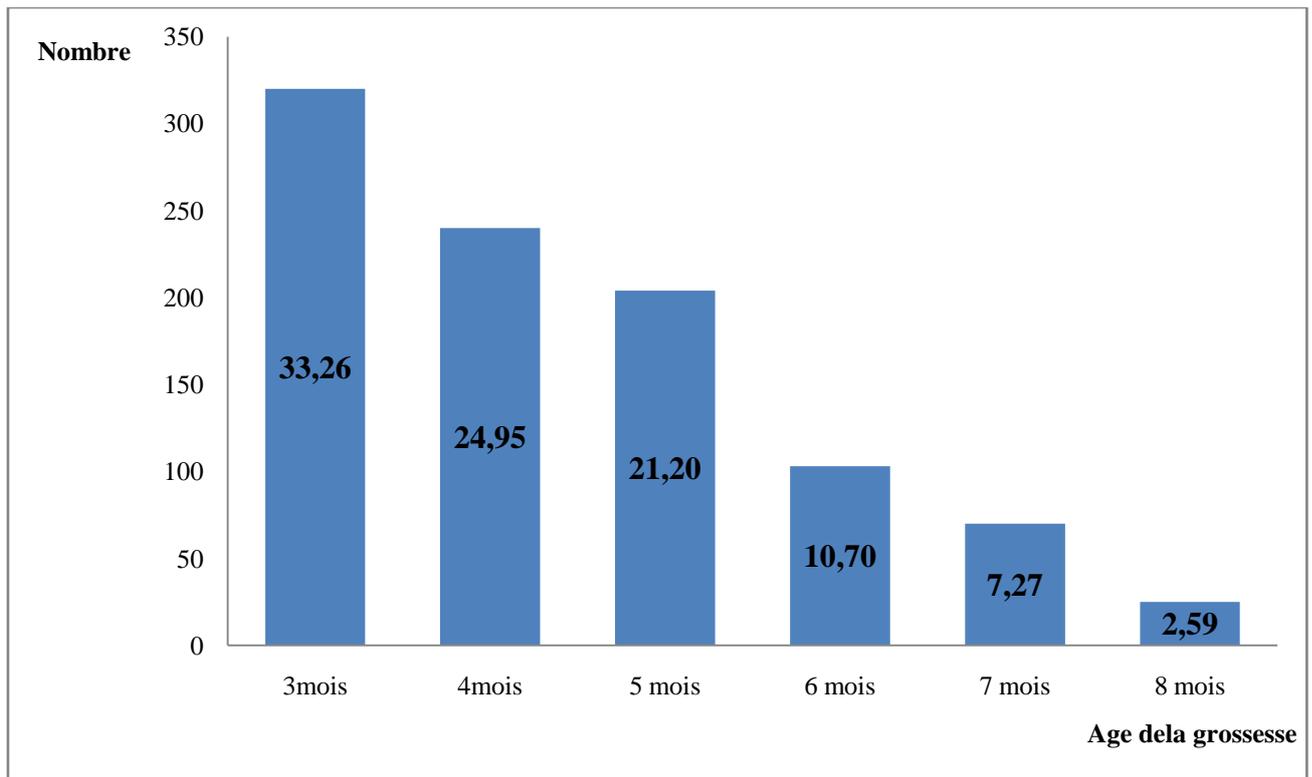


Figure 17: Répartition des patientes selon l'âge de la grossesse.

Interprétation des résultats : la figure montre que la majorité des femmes interrogées sont venues pour l'examen sérologique de la toxoplasmose au cours de leur 1^{er} trimestre de grossesse, le sérodiagnostic de la toxoplasmose fait partie des examens qui sont recommandés aux femmes enceintes durant le premier trimestre de grossesse et ceci s'explique par la gravité de la contamination fœtale qui peut survenir durant ces premiers mois.

On remarque que le contrôle sérologique diffère selon l'âge de la grossesse, parce que la plupart des femmes enceintes font leur contrôle pendant le 1^{er} trimestre (3^{ème} mois on a un taux élevé soit de 33,26% ; 4^{ème} mois on a 24,95% ; 5^{ème} mois on a 20,14%), par contre nous avons moins de cas pendant le 3^{ème} trimestre (6^{ème} mois : 10,70% ; 7^{ème} mois : 7,27% ; le taux le plus faible est situé au 8^{ème} mois, soit un taux de 2,160%).

Donc, les femmes enceintes suivent beaucoup plus leur grossesse durant le 1^{er} trimestre.

La répartition des patients selon leur titre en IgG échantillon des femmes enceintes est représentée dans le tableau N° II.

Tableau II : Répartition des femmes enceintes selon leur titre en IgG.

Echantillons des femmes enceintes			
Négatif	Positif	Douteux	Total
IgG	IgG	IgG	
556	308	98	962
57.80	32.02	10.18	100%

Parmi les 962 échantillons reçus pendant la période de stage, 556 cas ont eu un résultat négatif, leurs titre en IgG était inférieur à 2UI/ml. Les femmes enceintes sont contrôlées systématiquement dans un délai de trois mois, leur grossesse n'est pas protégée, et par conséquent le suivi sérologique et le respect des mesures prophylactique s'impose.

308 femmes ont eu un résultat positif suite au dosage des IgG, car le titre détecté dans leur sang a été supérieur à 3 UI/ml, mais ce résultat n'est pas vraiment significatif puisque il ne permet pas de dater l'infection. C'est pour cette raison qu'il faut en procéder à un second examen, qui impliquera aussi bien le dosage des IgG et des IgM.

98 cas ont eu un résultat douteux avec un taux d'IgG compris entre 2UI/ml et 3UI/ml ; l'examen est considéré non concluant, ces femmes doivent subir un autre examen le plutôt possible.

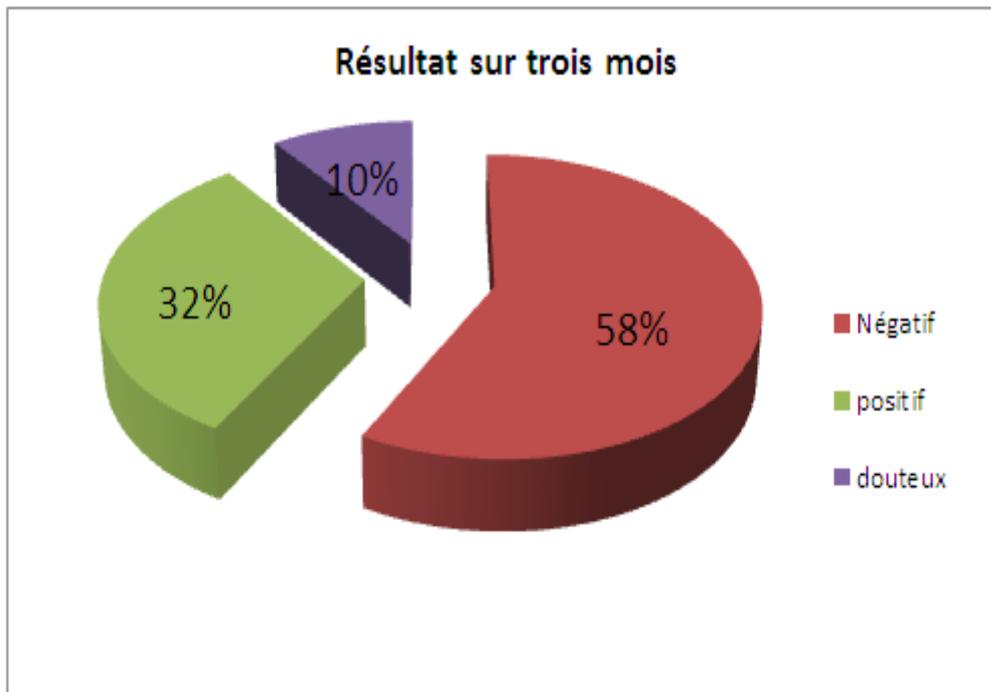


Figure18 : Répartition des femmes enceintes selon leur titre en IgG.

La répartition des femmes enceintes selon l'âge de la femme est représentée dans le tableau N°III.

Tableau III : Répartition des patients selon l'âge de la femme.

tranches d'âge	20-30 ans		30-40 ans		Pourcentage
	Cas négatif	Cas positif	Cas négatif	Cas positif	
Cas					
Nombre	370	190	186	118	858
	43,12	22,14	21,67	13,75	%

La tranche d'âge la plus touchée est située entre 20-30 ans soit un taux de 22,14%. L'âge n'a pas de prédilection pour la maladie et toutes les tranches d'âge peuvent être touchées .

La présente étude réalisée sur une durée de trois mois au niveau de l'hôpital Mohamed Nedir de Tizi- Ouzou, a pour but le dépistage sérologique de la toxoplasmose chez les femmes enceintes. Que : On peut conclure

La toxoplasmose est une affection parasitaire fréquente par son taux qui est 50% dans le monde. La localisation des parasites chez la femme enceinte peut provoquer des manifestations pathologiques graves traduisant une malformation congénitale.

Sur 962 prélèvements réalisés sur des femmes enceintes et analysés, nous avons retrouvé 57,80 cas négatifs et 32,02 cas positifs, avec 10,18 cas douteux

- ✓ - Le diagnostic sérologique repose sur le test ELISA.
- ✓ Le dosage unique des IgG lors de premier examen n'est pas suffisant pour porter un diagnostic complet et concluant.
- ✓ Les contraintes économiques (réactifs coûteux). On remarque parfois une négligence de la part du médecin traitant qui ne prescrit pas l'examen Toxo IgM.

- ✓ Absence de suivi sérologique des femmes enceintes.

Enfin, même si un peu plus de 50% de femmes testées présentent des anticorps anti *Toxoplasma gondii* et qu'aucun cas de toxoplasmose congénitale n'a été observé lors de ce stage, cette parasitose ne doit en aucun cas être négligée, ni par les médecins, ni par les patientes, ni par les laborantins.

Il apparaît également de cette étude que les femmes enceintes ne connaissent pas toujours les modes de contamination de la toxoplasmose et qu'il est donc impératif de renforcer en Algérie le programme de prévention et de sensibilisation à l'égard de cette zoonose.

Adénopathie : Augmentation pathologique du volume des ganglions.

Amniocentèse : Procédé diagnostique qui consiste à prélever un échantillon de liquide amniotique dans le sac amniotique, poche qui contient le fœtus.

Asthénie : Manque de force, ou fatigue.

Atteinte méningée : Ensemble de troubles traduisant une souffrance des méninges, qui se traduit par des céphalées accompagnées de vomissements.

Chorion : Couche externe de cellules qui se différencie dans l'œuf fécondé. Fixée à la muqueuse utérine.

Endomètre : Muqueuse tapissant la face interne de l'utérus, son épaisseur s'accroît pendant le cycle menstruel. Ses couches superficielles sont éliminées pendant la menstruation, s'il n'ya pas eu conception.

Hépatomégalie : Augmentation du volume du foie.

Hépatosplénomégalie : Augmentation simultanée du volume du foie et de la rate.

Hormones œstrogènes : Groupe d'hormones indispensable au développement sexuel normal de la femme, et au fonctionnement correct du système de reproduction.

Hydrocéphalie : Collection liquidienne intracrânienne.

Ictère : Teinte jaune de la peau, due à l'imprégnation des tissus par la bilirubine.

Myocardite : Inflammation du myocarde.

Œdème : Infiltration de liquide dans les tissus de l'organisme

Œstrogène : Hormones sexuelles féminisantes produites par les ovaires ; régissent le développement des ovocytes, le maintien des structures du système génital féminin et l'apparition des caractères sexuels secondaires chez la femme ; interviennent également dans l'équilibre hydro électrolytique dans l'anabolisme des protéines.

Placenta : Structure spécifique qui se forme dans l'utérus et qui permet l'échange de substance entre les circulations fœtale et maternelle. Après la naissance ; le placenta appelé le délivre.

Progestérone : Hormone sexuelle femelle produite par les ovaires (corps jaune) et qui contribue à préparer l'endomètre de l'utérus pour l'implantation d'un ovule fécondé, à maintenir la grossesse et à stimuler les glandes mammaires à sécréter du lait.

Protozoaire : Micro- organisme eucaryote unicellulaire, comprenant des sporozoaires.

Villosité choriale : Projection digitiforme du chorion qui croit dans la caduque basale de l'endomètre et contient les vaisseaux sanguins fœtaux. Egalement appelés villosité chorionique.

Zoonose : Maladies des animaux vertébrés transmissibles à l'homme.

Références bibliographique.

- ❖ **BELKAID M., ENAIDI N., TABET., DERRAZO., HAHRIOUI B. 1996.** Cours de parasitologie (tome 1) protozoose. Pp88-140.
- ❖ **BOUREE P. 1994.** Aide-mémoire de parasitologie. Edition Flammarion. Pp 133-139.
- ❖ **CATALAM. 2003.** *Embryologie cytogénétique*. Edition Masson. 113p.
- ❖ **DEROUIN F., THULLIEZ Ph. 1988.** diagnostic Biologique de la toxoplasmose. Edition Sanofi Diagnostics pasteur.
- ❖ **EUZEBY Y. 1984.** Les parasitoses humaines d'origine animale. Edition Fammarion. Pp148-198.
- ❖ **GUERRAC Fas. 2009.** Guide d'anatomie et de physiologie. Edition Masson. Pp 340-343.
- ❖ **JACQUEMIN J-L. 1979.** Parasitologie clinique 2^{ème} édition Masson. Pp65-72.
- ❖ **JOHN SPICER W. 2002.** Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie. Edition Flammarion. Pp 72-73.
- ❖ **KENNETH R et NISWANDER M. 1990.** Manuel d'obstétrique, office de publications universitaires. Pp 479-484.
- ❖ **LARIVIERE. M., BEAUVAIS. B., DEROUIN. F., TRAORE F. 1987.** Parasitologie médicale. Edition ellipses. Pp36-39.
- ❖ **MADER S. 2010.** Biologie humaine, 1^{ère} édition De Boeck, 467p.
- ❖ **MARIEB ELAINEN. 2005.** Anatomie et physiologie humaine, 6^{ème} édition américains. Edition Pearson. 1173p.
- ❖ **MERGER R et MEPCHOIR J. 2001.** Précis d'obstétriques. Edition Masson, 597p.
- ❖ **MITCHELL B et SHARMA R. 2005.** Embryologie. Edition Masson, 85p.
- ❖ **MOUNIER CLAUDE. 2002.** Parasitologie et mycologie médicale, élément de morphologie et de parasitologie .Pp 119-129.
- ❖ **POUSSET J-J. 1995.** Maladies parasitaires. Edition Masson. Pp 123-128.
- ❖ **PERRONE C. 2000.** Maladies infectieuses, tome 2. Edition Dion. Pp 29-33.
- ❖ **RIPERT CHRISTIAN. 1996.** Epidémiologie des maladies parasitaires. Protozooses. Edition médicale internationale. Pp 335-393.
- ❖ **ROBERT H., PALMER R., BOURY H et COHEN J. 1974.** Précis de gynécologie. Edition Masson et cie. Pp837-840.
- ❖ **SILVA CHRISTOPHE. 2002.** Données actuelles sur la toxoplasmose et son traitement avec la Clindamycine. Edition Elipses. pp18-29.

Références bibliographiques

- ❖ **DEE UNGLAUB SILVERTHORN.2007.**Physiologie humain. Edition Pearson 4^{ème} édition.Pp814-820.
- ❖ **TORTORA DERRICKSON.2007.** Principe d'anatomie et de physiologie, 4^{ème}édition. Edition De Boeck.Pp 1202-1228.
- ❖ **TORTORA ET DERRICKSON.2009.** Manuel d'anatomie et physiologie humaine. Edition DeBoeck. Pp 588-594.

REFERENCES WEB

ANONYME(5).1998.Toxoplasmose In « Parasitologie Mycologie », ANOFEL 6^{ème} édition.

<http://www.usda.gov>.

HARSTOK. 2003. Sporozoaires. <Http://www-aafp-org-afp-200-305.15-2432.F1-P9>.

ZEFFER Jade. 2005. Toxoplasmose et grossesse: L'aspect du diagnostic sérologique.

<http://www-acorta- ch-bibliothèque- poly-toxo- zufferu.htm>.