

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

Soutenue publiquement le 20 septembre 2024

Par Madame Pauline Mano

**Diagnostic sérologique de la toxoplasmose
congénitale au CHU de Lille : bilan de comparaison de
différents kits E.I.A**

Membres du jury :

Président : Monsieur le Professeur El Moukhtar Aliouat, PU, Université de Lille

Directeur de la thèse : Madame le Docteur Anne-Sophie Deleplancque, PH, CHU de Lille

Assesseur(s) :

Monsieur le Professeur Boualem Sendid, PU-PH, CHU de Lille, Université de Lille

Monsieur le Docteur Jordan Leroy, MCU-PH, CHU de Lille, Université de Lille

REDACTION	VERIFICATION	APPROBATION
Audrey Hennebelle Assistante de direction	Cyrille Porta Responsable des Services	Delphine Allorge Doyen

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Corinne ROBACZEWSKI
Olivier COLOT
Bertrand DÉCAUDIN
Anne-Valérie CHRIS-FABRE

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen International
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoire-Partenariats
Vice-Doyen Santé numérique et Communication
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Hervé HUBERT
Karine FAURE
Damien CUNY
Vincent DERAMECOURT
Sébastien D'HARANCY
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Vincent SOBANSKI
Anne-Laure BARBOTIN
Valentin ROUSSEL

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté et
Assesseur aux Ressources et Personnels
Responsable des Services
Représentant étudiant
Chargé de mission 1er cycle
Chargée de mission 2eme cycle
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche
Chargé de mission Relations Internationales
Chargée de Mission Qualité
Chargé de mission dossier HCERES

Delphine ALLORGE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE
Philippe GERVOIS
Héloïse HENRY
Nicolas WILLAND
Christophe FURMAN
Marie-Françoise ODOU
Réjane LESTRELIN

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85

Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87

Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	

Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

<u>Civ.</u>	<u>Nom</u>	<u>Prénom</u>	<u>Service d'enseignement</u>	<u>Section CNU</u>
<u>M.</u>	<u>COUSEIN</u>	<u>Etienne</u>	<u>Biopharmacie, Pharmacie galénique et</u>	
<u>Mme</u>	<u>CUCCHI</u>	<u>Malgorzata</u>	<u>Biomathématiques</u>	<u>85</u>
<u>M.</u>	<u>DUFOSSEZ</u>	<u>François</u>	<u>Biomathématiques</u>	<u>85</u>
<u>M.</u>	<u>FRIMAT</u>	<u>Bruno</u>	<u>Pharmacologie, Pharmacocinétique et</u>	<u>85</u>
<u>M.</u>	<u>GILLOT</u>	<u>François</u>	<u>Droit et Economie pharmaceutique</u>	<u>86</u>
<u>M.</u>	<u>MITOUMBA</u>	<u>Fabrice</u>	<u>Biopharmacie, Pharmacie galénique et</u>	<u>86</u>
<u>M.</u>	<u>PELLETIER</u>	<u>Franck</u>	<u>Droit et Economie pharmaceutique</u>	<u>86</u>

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	

Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMAPGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et

<u>M.</u>	<u>MASCAUT</u>	<u>Daniel</u>	<u>Pharmacologie, Pharmacocinétique et</u>
<u>Mme</u>	<u>NDIAYE-BOIDIN</u>	<u>Maguette</u>	<u>Anglais</u>
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

CYCLE DE VIE DU DOCUMENT

Version	Modifié par	Date	Principales modifications
1.0		20/02/2020	Création
2.0		02/01/2022	Mise à jour
2.1		21/06/2022	Mise à jour
2.2		01/02/2024	Mise à jour

UFR3S-Pharmacie

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.



Remerciements

A mon président de jury,

Professeur El Moukhtar Aliouat,
*Professeur des Universités
Laboratoire de Parasitologie
Université de Lille - Faculté de pharmacie*

Je souhaite vous exprimer ma profonde gratitude pour avoir accepté la présidence de mon jury de thèse. Votre enseignement en parasitologie m'a inspiré un réel intérêt pour cette discipline. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A mes assessseurs,

Professeur Boualem Sendid,
*Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Chef du service de Parasitologie – Mycologie
Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

C'est un honneur pour moi que vous jugiez mon travail de thèse. Je vous adresse mes plus sincères remerciements.

Docteur Jordan Leroy,
*Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Laboratoire de Parasitologie – Mycologie
Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

Je te remercie chaleureusement d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, ainsi que pour ton encadrement et le partage de tes connaissances durant mon stage au laboratoire. Sois assuré de toute ma reconnaissance.

A ma directrice de thèse,

Docteur Anne-Sophie Deleplancque,
*Praticien Hospitalier
Laboratoire de Parasitologie – Mycologie
Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

C'est sans hésiter que tu as accepté de m'encadrer pour ce travail. Je tenais à te remercier sincèrement pour toutes les connaissances que tu m'as apportées, mais aussi pour ta bienveillance, ton humour et tes encouragements. Je ne pouvais pas envisager une meilleure directrice pour ma thèse que toi.

Je tiens également à remercier,

Toute l'équipe du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Lille. Je vous remercie pour votre accueil et votre bonne humeur. Une pensée particulière pour l'équipe technique du secteur de parasitologie : Céline, Jade et Laure, merci d'avoir participé à ce projet.

Aux biologistes, merci pour le partage de vos connaissances et votre encadrement. Ce semestre fut extrêmement enrichissant, tant sur le plan professionnel que sur le plan humain.

Je souhaitais également remercier l'ensemble de l'équipe du laboratoire de virologie, biologistes et techniciens, pour votre bienveillance, votre aide et votre gentillesse, qui ont égayé mon été 2024. Mention spéciale à Anaïs, devenue ma coach sportive et un soutien énorme, je n'oublie pas notre objectif pour 2025.

Je souhaite dédier ce travail,

A mes co-internes et amis,

A Charlotte, mon binôme de toujours. Quel heureux hasard de s'être retrouvées dans le même groupe Supmed. Neuf ans après et nos chemins ne se sont toujours pas séparés. Merci pour tous ces souvenirs, les TP ratés, les trois semaines à regarder des souris tourner dans leur cage, les nuits blanches à l'Ibis de Rungis... Mais aussi pour les fous-rires, ton soutien inconditionnel et surtout pour ton amitié à toute épreuve. Je suis fière de nous et de tout ce qu'on aura surmonté ensemble.

A Nolan, c'est avec toi qu'a démarré mon parcours en biologie et particulièrement en parasitologie : la boucle est bouclée, et je ne parle pas des fenêtres à fermer. Merci d'être toi au quotidien, pour ton rire communicatif et tes expressions. J'ai de la chance de t'avoir à mes côtés.

A Mélinda, par quoi commencer ? Tu es la rencontre qui aura marqué mon internat. Merci pour ta patience, merci de gérer mon stress, merci de répondre en pleine nuit pour m'expliquer comment ouvrir la centrifugeuse, merci d'avoir supprimé tous les espaces de ce manuscrit, merci pour les après-midis shopping et Perrier citron, merci pour Plume... Tout simplement merci d'être la personne que tu es, tu es une source d'inspiration quotidienne. Je n'oublierai jamais tout ce que tu as fait pour moi.

A Anne-Claire et Sophie, je ne sais pas comment j'aurais fait sans vous cette année, merci d'avoir répondu présent à chaque appel, je ne vous remercierai jamais assez. Je suis tellement heureuse que vous fassiez partie de ma vie et j'espère que vous ne la quitterez jamais.

A Amine, Chloé, Julien, Maxime et Mehdi, merci pour votre soutien tout au long de cette année. Merci de m'avoir fait rire et d'avoir été des rayons de soleil au quotidien. Votre amitié m'est très précieuse.

A Alizée, Angèle, Guillaume, Ilyès, Manon et Thomas, merci d'avoir été de supers co-internes, que ce soit en stage ou en garde. Je n'en garde que des bons souvenirs. Une pensée pour Angèle, merci de t'occuper de l'épidémio tous les mardis.

A Anne, Cassandre, Céline, Clémence, Margaux, Mathilde et Valentine, mes copines chéries. Merci pour toutes ces années, entre stress (enfin ça dépend pour qui), TP, oraux mais surtout amitié, rires et soirées. Ces années d'étude n'auraient pas été les mêmes sans vous, je vous en suis très reconnaissante.

A Marion et Sandrine, depuis toujours et pour toujours. Il s'en est passé des choses depuis le lycée, mais notre amitié est toujours intacte et elle compte énormément à mes yeux. Merci pour tout ce que vous faites pour moi, vous êtes des amies en or.

A Valentine, depuis la PACES et rien n'a changé. Merci pour ton soutien depuis toutes ces années et de faire partie de ma vie. Même si tu es loin pour ce jour particulier, les retrouvailles n'en seront que meilleures.

A Sixtine, merci à la vie de t'avoir mise sur mon chemin. Merci pour ta patience et tous tes conseils. Merci d'être l'amie que tu es.

A ma famille,

Élise et Garance, mes meilleures amies, mes confidentes, mes petites sœurs. Je vous remercie pour notre complicité. Je serai toujours là pour vous, n'en doutez jamais. Vous êtes ce qu'il y a de plus cher à mes yeux.

A mes parents, merci de m'avoir permis d'arriver là où je suis aujourd'hui et d'avoir mis toutes les chances de mon côté, je n'en serai pas là sans vous. Je vous en serai toujours reconnaissante. Merci pour votre amour et votre soutien. (Papa, j'espère qu'un jour je serai une biologiste aussi compétente que toi).

Remerciements	13
Table des figures	18
Table des tableaux	18
Abréviations	19
Partie 1 : Introduction	21
1. Le parasite	21
1.1. Découverte et classification	21
1.2. Les différentes morphologies du parasite	22
1.3. Cycle de vie du parasite	28
1.4. Les différents modes de transmission	30
1.5. Manifestations cliniques	33
2. La toxoplasmose congénitale	35
2.1. Définition	35
2.2. Clinique	36
2.3. Épidémiologie	38
2.4. Diagnostic de la séroconversion maternelle	40
2.5. Diagnostic de la toxoplasmose congénitale	49
2.6. Prévention	54
2.7. Traitement	56
Partie 2 : Revue de la littérature	59
1. Objectifs	59
2. Comparaison de différents kits pour la détection des IgG et IgM anti-toxoplasmiques	61
2.1. Détection des IgM	62
2.2. Détection des IgG	65
3. Place du CHU de Lille	68
3.1. Technique de première intention	68
3.2. Technique de seconde intention	69
3.3. Test d'avidité	71
Partie 3 : Comparaison de deux kits de réactifs	73
1. Objectif du travail	73
2. Matériel et méthodes	73

2.1.	Échantillons et patients	73
2.2.	Principe des techniques	74
2.3.	Analyses statistiques	75
3.	Résultats	76
3.1.	Résultats globaux	76
3.2.	Résultats par groupe	78
3.3.	Indices d'avidité	80
3.4.	Cinétiques	80
4.	Discussion	83
	Conclusion	91
	Annexes	92
	Bibliographie	108

Table des figures

Figure 1 : <i>Ctenodactylus gondi</i> (4) _____	22
Figure 2 : Coupe longitudinale du tachyzoïte de <i>Toxoplasma gondii</i> (9) _____	24
Figure 3 : Kystes cellulaires de <i>Toxoplasma gondii</i> isolés dans un cerveau de souris A : kyste contenant 3 bradyzoïtes, B : kyste contenant des centaines de bradyzoïtes (6) _____	26
Figure 4 : Schémas d'un tachyzoïte (gauche) et d'un bradyzoïte (droite) (6) _____	27
Figure 5 : Schéma des oocystes immatures (A) et oocystes sporulés de <i>T. gondii</i> (B) (13) _____	28
Figure 6 : cycle évolutif de <i>Toxoplasma gondii</i> (15) _____	29
Figure 7 : Transmission materno-fœtale du toxoplasme (14) _____	36
Figure 8 : Fond d'œil présentant un foyer atropho-pigmentaire d'allure cicatricielle dans un contexte de choriorétinite toxoplasmique (22) _____	37
Figure 9 : Cinétique de la réponse des anticorps (11) _____	41
Figure 10 : Comparaison des techniques ELISA (30) _____	43
Figure 11 : Résumé de l'interprétation des profils sérologiques de la toxoplasmose (29) _____	49
Figure 12 : profils immunologiques comparés IgG et IgM mère/enfant par western-blot (A) : enfant non infecté ; (B) : enfant infecté (29) _____	52
Figure 13 : stratégie du diagnostic de la toxoplasmose congénitale (14) _____	54
Figure 14 : Calcul des coefficients de corrélation pour les IgG et les IgM _____	76

Table des tableaux

Tableau 1 : Comparaison des tests pour la détection des IgM _____	64
Tableau 2 : Comparaison des tests pour la détection des IgG _____	67
Tableau 3 : sensibilité et spécificité (IgM et IgG) par Alinity [®] et iSYS [®] _____	77
Tableau 4 : Calcul du coefficient kappa (IgM) _____	77
Tableau 5 : Calcul du coefficient Kappa (IgG) _____	78
Tableau 6 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des IgM entre Alinity [®] et iSYS [®] _____	79
Tableau 7 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des IgG entre Alinity [®] et iSYS [®] _____	80
Tableau 8 : cinétique des anticorps pour 7 cas de nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale _____	81
Tableau 9 : Cinétique des anticorps pour 3 cas de nouveau-nés avec toxoplasmose congénitale _____	82
Tableau 10 : Cinétique des anticorps pour 6 cas de femmes enceintes avec séroconversion pendant la grossesse _____	83

Abréviations

ADN	<i>Acide désoxyribonucléique</i>
ANSM	<i>Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé</i>
BEH	<i>Bulletin épidémiologique hebdomadaire</i>
CDCE	<i>Centre de conservation des échantillons</i>
CHU	<i>Centre hospitalo-universitaire</i>
CLIA	<i>Chimiluminescence Immuno-Assay</i>
CPDPN	<i>Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal</i>
CSP	<i>Code de santé publique</i>
DHFR	<i>Dihydrofolate réductase</i>
DPN	<i>Dépistage prénatal</i>
DNN	<i>Dépistage néonatal</i>
ELFA	<i>Enzyme linked Fluorescent Assay</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immuno Assay</i>
EMSCOT	<i>European multicentre study on congenital toxoplasmosis</i>
GRA	<i>Dense granule protein</i>
HAS	<i>Haute Autorité de Santé</i>
IFI	<i>Immunofluorescence indirecte</i>
IgG	<i>Immunoglobuline G</i>
IgM	<i>Immunoglobuline M</i>
IgA	<i>Immunoglobuline A</i>
IgE	<i>Immunoglobuline E</i>
ISAGA	<i>Immuno-Sorbent Agglutination Assay</i>
NABM	<i>Nomenclature des actes de biologie médicale</i>
PCR	<i>Polymerase Chain reaction</i>
PV	<i>Vacuole parasitophore</i>
RON	<i>Rhoptries neck proteins</i>
ROP	<i>Rhoptries protéins</i>
SAG	<i>Surface antigen</i>
TAR	<i>Toxoplasmose acquise récente</i>
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TMN	<i>Tubulovesicular membrane network</i>
URL	<i>Unité de Lumière Relative</i>
VIH	<i>Virus de l'immunodéficience humaine</i>
WB	<i>Western-Blot</i>

Partie 1 : Introduction

La toxoplasmose est une zoonose capable de provoquer un large éventail de maladies. Bien que généralement asymptomatique, une infection par *Toxoplasma gondii* pendant la grossesse peut entraîner des symptômes graves et des séquelles sévères chez le fœtus. La détection rapide de l'infection chez la femme enceinte est donc essentielle pour prendre les mesures appropriées et prévenir les dommages pour le nourrisson. Pour cela, de nombreux tests de dépistage, de confirmation et de datation sont disponibles.

L'objectif de ce travail est principalement de comparer les performances des différents réactifs existants sur le marché, puis de confronter celles du kit utilisé en première ligne au CHU de Lille (Alinity®) à celles d'un autre kit plus récent.

1. Le parasite

1.1. Découverte et classification

La première observation détaillée des mérozoïtes de *Toxoplasma gondii* (également appelés tachyzoïtes) chez des rongeurs d'Afrique du Nord (notamment dans la rate, le foie et le sang de *Ctenodactylus gondii* (Figure 1), remonte à 1908, à Tunis, grâce aux travaux de Nicolle et Manceaux, deux médecins français. Nicolle et Manceaux ont nommé ce parasite *Toxoplasma* en raison de sa forme qui rappelle un arc (du grec : *toxos* = arc ; *plasma* = créature). Ils ont ainsi créé le genre *Toxoplasma*, avec *T. gondii* désigné comme l'espèce type du genre (1).

En 1923, Janku rapporte le cas d'un enfant décédé d'une hydrocéphalie, les résultats de l'autopsie démontrant plus tard que l'enfant était atteint de toxoplasmose (2). Ce n'est qu'à la fin des années 1930 que des comparaisons biologiques et immunologiques ont permis de démontrer que les différents isolats d'origine animale et humaine étaient dus à une même espèce de *T. gondii* (1).

En 1939, Wolf, Cowen et Paige furent les premiers à déterminer *Toxoplasma gondii* comme étant un agent responsable de maladie humaine, face à un cas d'encéphalite chez un enfant. Les recherches de Sabin ont montré que cette souche humaine n'était pas différente sur le plan biologique ou immunologique des isolats provenant d'autres animaux (2). Une meilleure compréhension est survenue grâce aux travaux d'Eichenwald en 1960, qui ont mis en évidence des cas de toxoplasmoses

asymptomatiques et cliniques chez de nombreux enfants autrichiens dans les années 1950 (3).

Le cycle de vie de *T. gondii* a été élucidé à la fin des années 1960, notamment grâce à la découverte de formes infectieuses du parasite contenues dans les excréments de chat, et ce n'est qu'en 1970 que des stades sexuels ont été découverts dans l'intestin grêle des félinés, complétant ainsi la compréhension de son cycle de vie (1).



Figure 1 : *Ctenodactylus gondi* (4)

Concernant la classification, *Toxoplasma gondii* appartient, selon la classification de Levine (5), au phylum *Apicomplexa*, à la classe *Sporozoa*, à la sous-classe *Coccidia*, à l'ordre *Eucoccidiida*, au sous-ordre *Eimeriina*, à la famille *Eimeriidae*, et au genre *Toxoplasma*.

1.2. Les différentes morphologies du parasite

Au cours de son cycle parasitaire, *Toxoplasma gondii* va se présenter sous différentes formes, dont trois sont infectieuses : le tachyzoïte, le bradyzoïte et l'oocyste.

1.2.1. **Le tachyzoïte**

Issu du grec « *tachos* » qui signifie « vitesse », le terme tachyzoïte a été inventé par Frenkel (6) pour décrire la forme parasitaire à multiplication rapide, remplaçant

ainsi le terme antérieur « trophozoïte ». Celle-ci se multiplie dans toutes les cellules de l'hôte intermédiaire, ainsi que dans toutes les cellules épithéliales non intestinales de l'hôte définitif. Il s'agit de la seule forme capable de traverser la barrière placentaire (7).

Le tachyzoïte se présente généralement sous forme de croissant, mesurant approximativement 2 sur 6 micromètres, avec une extrémité antérieure pointue (conoïdale) et une extrémité postérieure arrondie (6).

Le complexe apical, spécifique des Apicomplexa (8), est localisé dans la région antérieure du tachyzoïte. Il est utilisé pour initier le processus d'infection des cellules hôtes et se compose de plusieurs éléments (6,9) :

- Le conoïde : en forme de tronc et constitué de 6 à 8 éléments microtubulaires, il est entouré par l'anneau polaire (épaississement du complexe membranaire interne), à partir duquel vingt-deux microtubules proviennent et s'étendent sur toute la longueur de la cellule.
- Les micronèmes : organites sécrétoires les plus abondants, ils se présentent sous forme de bâtonnets de 250 nm de long et 50 nm de large. Ce sont les premiers à libérer leur contenu protéique, essentiel pour l'interaction avec la membrane de la cellule hôte.
- Les rhoptries : second ensemble d'organites sécrétoires apicaux, ils sont plus grands que les micronèmes et ont une forme de massue avec deux parties distinctes. La partie basale, plus large, contient des protéines qui altèrent les fonctions de la cellule hôte, connues sous le nom de ROP (*rhoptries proteins*). La partie antérieure, aussi appelée cou, renferme les protéines impliquées dans l'invasion des cellules hôtes, il s'agit des protéines RON (*rhoptries neck proteins*).

Il existe un troisième ensemble d'organites sécrétoires : les granules denses. Généralement sphériques et dispersés dans tout le corps du protozoaire, ils contiennent une quantité importante de protéines appelées GRA (*dense granule protein*), qui contribuent à la formation d'un réseau de tubules et de structures filamenteuses avec la vacuole parasitaire.

Une autre structure caractéristique des Apicomplexa est l'apicoplaste, un organe dérivé d'un chloroplaste ancestral (10). Son rôle demeure encore mal défini, mais il représente une cible thérapeutique prometteuse.

Le noyau du tachyzoïte se situe vers la partie centrale de la cellule et renferme des amas de chromatine ainsi qu'un nucléole central (9).

Outre les organites décrits précédemment, le tachyzoïte est également constitué de divers autres organites et corps d'inclusion (6) comprenant : un micropore, une mitochondrie, des microtubules sub-pelliculaires, un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi, des granules d'amylopectine et un apicoplaste (*Figure 2*).

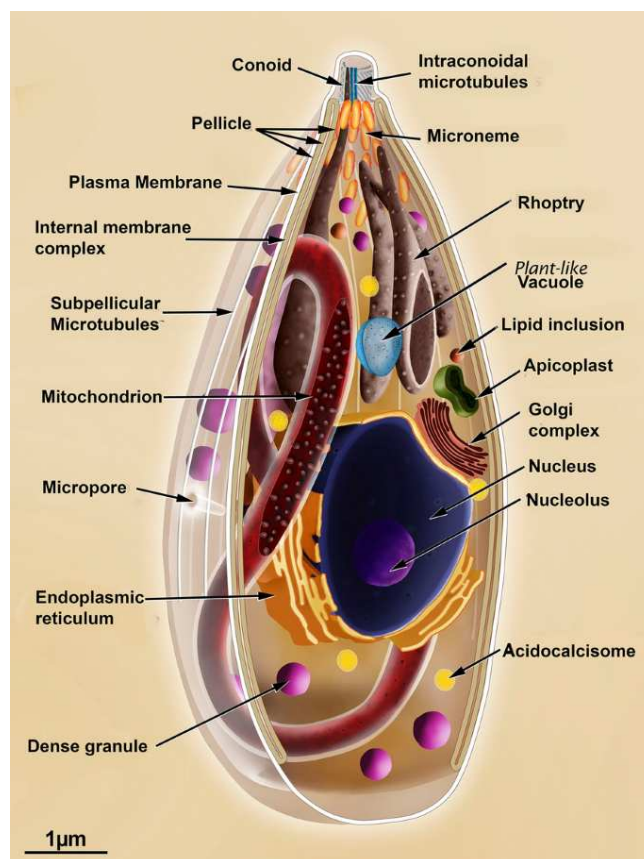


Figure 2 : Coupe longitudinale du tachyzoïte de *Toxoplasma gondii* (9)

C'est le complexe apical qui permet la pénétration dans la cellule hôte (9). En effet, le conoïde permet d'effectuer des mouvements afin d'explorer la surface de la cellule hôte et les rhoptries jouent un rôle sécrétoire, libérant leur contenu à travers la surface cellulaire (6).

Le parasite pénètre donc dans les cellules hôtes soit en franchissant activement leur membrane plasmique, soit en étant phagocyté (6). Une fois à l'intérieur de la cellule, le parasite prend une forme ovale et est enveloppé d'une vacuole parasitophore (PV), créée à la fois à partir du parasite et de la cellule hôte. Peu après la pénétration, un réseau membranaire tubulovésiculaire (TMN) se forme à l'intérieur de la vacuole parasitophore, dont certaines membranes sont connectées à la membrane de la vacuole parasitophore (6).

Les tachyzoïtes se reproduisent de manière asexuée à l'intérieur de la cellule hôte, par un processus appelé « endodyogénie », où deux nouvelles cellules se forment à l'intérieur de la cellule parentale, la consommant progressivement (6). Ces nouvelles cellules se développent jusqu'à atteindre la surface de la cellule parentale, dont le complexe de membranes internes disparaît, laissant sa membrane externe devenir le plasmalemme des cellules filles. Les tachyzoïtes continuent ce cycle de division et quand la cellule hôte ne peut plus les soutenir, elle se rompt, provoquant des lésions nécrotiques (7).

Quelques jours après l'infection, les tachyzoïtes situés dans une vacuole parasitophore vont modifier leur métabolisme, ce qui entraîne une diminution de leur taux de division et une transformation en bradyzoïtes (9).

1.2.2. Le bradyzoïte

Le terme « bradyzoïte », du grec *-brady* qui signifie « lent », a également été introduit par Frenkel pour désigner l'organisme se multipliant lentement à l'intérieur d'un kyste tissulaire (6). En effet, les bradyzoïtes résultent de la transformation des tachyzoïtes en une phase de division plus lente et forment des kystes tissulaires (11). Ces kystes tissulaires vont se développer et rester en intracellulaire, pendant que les bradyzoïtes se multiplient par endodyogénie à l'intérieur de ceux-ci (6). Les dimensions des kystes tissulaires peuvent varier en taille : les plus jeunes peuvent mesurer cinq micromètres de diamètre et renfermer seulement deux bradyzoïtes, tandis que les plus âgés peuvent mesurer jusqu'à cent micromètres et contenir des centaines ou des milliers de bradyzoïtes (6,11) (*Figure 3*).

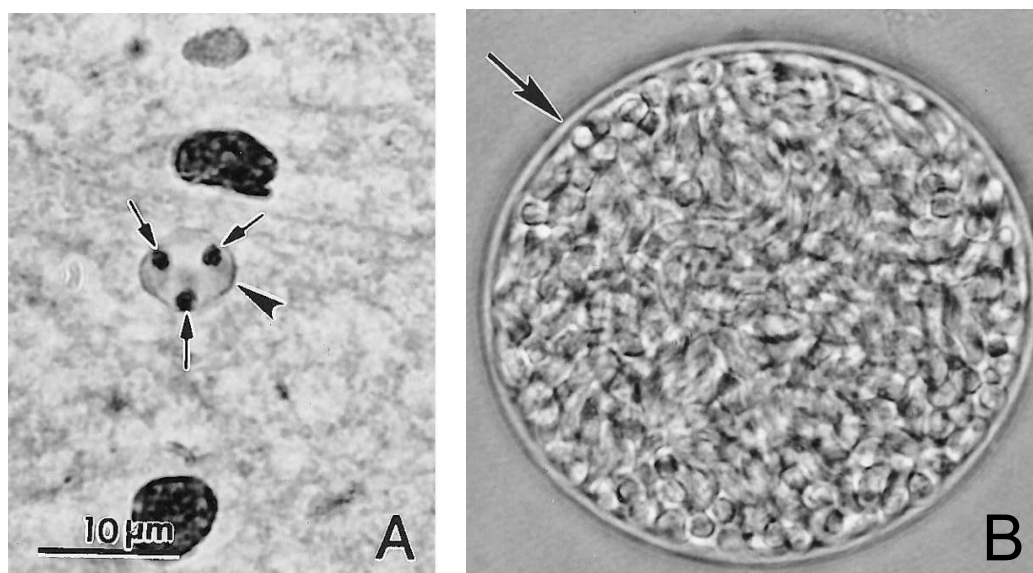


Figure 3 : Kystes cellulaires de *Toxoplasma gondii* isolés dans un cerveau de souris A : kyste contenant 3 bradyzoïtes, B : kyste contenant des centaines de bradyzoïtes (6)

Les bradyzoïtes présentent quelques variations structurelles mineures par rapport aux tachyzoïtes (6) (*Figure 4*). Leur noyau est situé vers l'extrémité postérieure, contrairement à celui des tachyzoïtes, qui est plus central. Les bradyzoïtes possèdent une à trois rhoptries repliées sur elles-mêmes, dont le contenu est dense en électrons, tandis qu'il est labyrinthique chez les tachyzoïtes. De plus, les bradyzoïtes sont moins vulnérables aux enzymes protéolytiques que les tachyzoïtes.

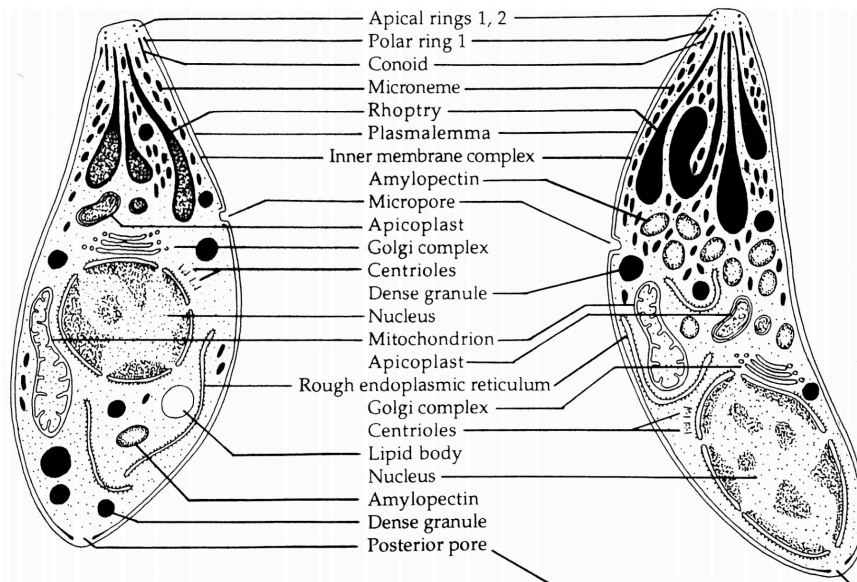


Figure 4 : Schémas d'un tachyzoïte (gauche) et d'un bradyzoïte (droite) (6)

Les kystes tissulaires peuvent se former dans divers organes tels que les poumons, le foie et les reins, mais ils sont plus fréquents dans les tissus nerveux et musculaires comme le cerveau, les yeux ainsi que les muscles squelettiques et cardiaques, pauvres en anticorps (6). Les kystes intacts ne semblent pas causer de dommages et peuvent persister dans l'organisme de l'hôte tout au long de sa vie sans provoquer de réponse inflammatoire significative (6,7). Ils constituent la forme de résistance et de latence du parasite.

De plus, ces kystes viscéraux produisent des antigènes pouvant traverser la membrane kystique et ainsi entretenir l'immunité (12). En l'absence d'immunodépression, des anticorps permettent une protection, limitant l'infection, mais ne parviennent pas à éliminer complètement le parasite.

1.2.3. Oocyste et sporozoïtes

L'oocyste, forme de résistance dans le milieu extérieur, est produit lors de la reproduction sexuée ou gamogonie, qui a lieu dans les cellules intestinales du chat. De forme ovoïde, et mesurant entre douze et treize micromètres, il renferme après sporulation deux sporocystes, contenant chacun quatre sporozoïtes (11) (Figure 5). La sporulation, dont le processus a été décrit par Ferguson, survient généralement à

l'extérieur du chat, dans un délai de un à cinq jours après l'excrétion, en fonction de facteurs tels que l'aération et la température (6).

La paroi de l'oocyste, une structure multicouche très résistante, protège le parasite contre les dommages mécaniques et chimiques, lui assurant une survie prolongée. Il peut ainsi demeurer viable pendant plusieurs mois, que ce soit dans l'eau ou sur terre (9).

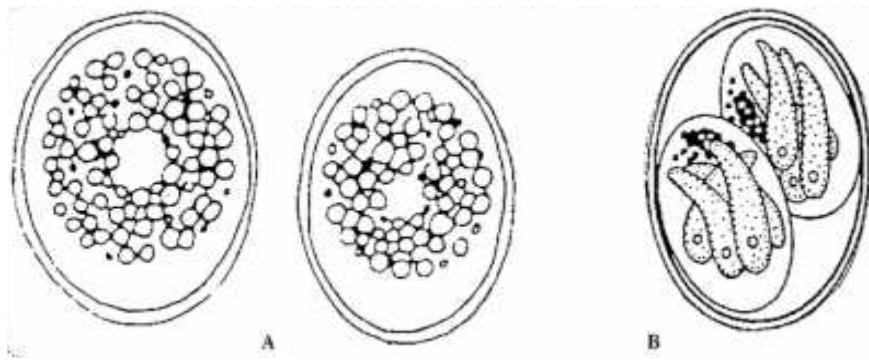


Figure 5 : Schéma des oocystes immatures (A) et oocystes sporulés de *T. gondii* (B) (13)

1.3. Cycle de vie du parasite

Le cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* se compose de deux phases distinctes (14). Tout d'abord, une phase de multiplication asexuée puis sexuée dans l'épithélium intestinal du chat, l'hôte définitif du parasite. Puis, une phase de prolifération asexuée chez de nombreux hôtes intermédiaires, tels que les oiseaux, les rongeurs et autres mammifères. On parle de cycle « dixène » lorsque l'hôte définitif, comme le chat ou autres félidés, ainsi que les hôtes intermédiaires sont impliqués. En revanche, il est qualifié de « monoxène », lorsque le parasite est transmis d'un hôte intermédiaire à un autre sans passer par l'hôte définitif. Il n'y a donc, dans ce cas, pas de reproduction sexuée (14).

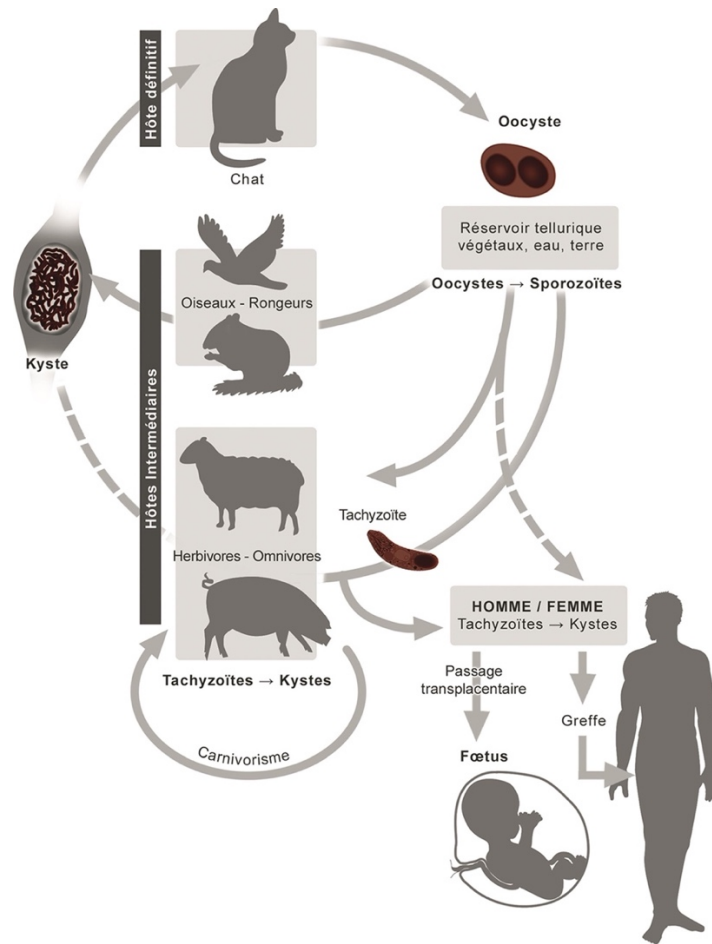


Figure 6 : cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* (15)

Le chat se contamine en ingérant des oocystes sporulés provenant de végétaux ou d'eau contaminée, ou en consommant de la viande infectée par des bradyzoïtes intrakystiques présents dans des proies telles que les souris ou les oiseaux. Une fois dans le tractus digestif, la membrane des kystes et des oocystes est dégradée par des enzymes intestinales, libérant ainsi les bradyzoïtes et sporozoïtes dans la lumière intestinale. Ces formes se transforment alors en tachyzoïtes qui vont se propager dans l'organisme via la circulation sanguine et lymphatique. Ils envahissent divers organes tels que les reins, le foie, les poumons, les muscles striés ou le système nerveux central. Progressivement, les tachyzoïtes se transforment en bradyzoïtes, formant des kystes qui apparaissent environ dix jours après l'infection et persistent dans les tissus tout au long de la vie de l'hôte (14). Il s'agit du cycle extra-intestinal.

Concernant le cycle intestinal ; c'est un cycle coccidien à l'origine de la reproduction sexuée du parasite (14). Dans l'intestin, et en quelques jours seulement, les bradyzoïtes se développent en plusieurs étapes morphologiques entéro-

épithéliales (ou schizontes), aboutissant finalement au stade de mérozoïte. Par la suite, après plusieurs cycles de division asexuée (schizogonie), les mérozoïtes se différencient en gamètes mâles (micro-) et femelles (macro-). Ces gamètes fusionnent pour former des oocystes diploïdes, qui sont ensuite enveloppés dans une paroi épaisse et imperméable (16).

L'oocyste arrive alors dans lumière intestinale et en est expulsé, encore immature, avec les fèces du chat. En cas d'infection par carnivorisme, c'est-à-dire par ingestion de kystes, les oocystes seront excrétés cinq à six jours après dans les fèces. Lorsque l'infection se produit par ingestion d'oocystes, l'excrétion est plus longue, après vingt à quarante jours (14). Des millions de ces oocystes seront donc excrétés dans les fèces du félin, contaminant ainsi l'environnement. Ici, ils subissent un processus de sporulation, aboutissant à des oocystes infectants. Ces derniers sont très résistants et peuvent persister dans l'environnement pendant de longues périodes, facilitant ainsi leur dispersion dans les environnements terrestres ou aquatiques (16). La période durant laquelle les chats excrètent des oocystes est brève, généralement d'une à trois semaines. Les oocystes sporulés restent infectants pendant douze à dix-huit mois à 4°C et viables pendant vingt-huit jours à – 20 °C, ce qui explique leur résistance aux désinfectants usuels (14).

Les hôtes intermédiaires tels que les herbivores s'infestent en ingérant des oocystes présents sur les végétaux, le sol ou dans l'eau contaminée, tandis que les carnivores le font également en consommant de la viande contenant des kystes. Initialement, une phase aiguë est observée suivie d'une phase chronique de l'infection, similaire à celle observée chez les chats. Chez l'homme, la phase asexuée du cycle se déroule de la même manière. Cependant, elle représente une impasse évolutive qui ne permet pas de compléter le cycle de vie du parasite (14).

1.4. Les différents modes de transmission

1.4.1. Ingestion d'oocystes

Les oocystes, résistants à l'acidité gastrique, peuvent contaminer les herbivores et les humains par voie orale, notamment par la consommation de végétaux ou de fruits souillés par le sol. Les acides et détergents courants sont inefficaces pour les détruire. Bien qu'ils soient sensibles à la chaleur et peuvent être détruits en une minute à 60°C, ils résistent à la congélation (14).

Les oocystes sporulés présents dans l'environnement représentent donc une source potentielle d'infection pour les humains et les autres hôtes intermédiaires (1). La contamination de l'environnement peut résulter de l'excrétion par des félins domestiques infectés ou de félins sauvages, le chat domestique étant l'unique animal domestique utilisé par le parasite, jouant ainsi un rôle essentiel dans l'épidémiologie des infections à *T.gondii*. En effet, à la suite d'une infection, les chats vivant à l'intérieur des maisons peuvent excréter un grand nombre d'oocystes dans le foyer, exposant le propriétaire à un risque de contamination. Cependant, les oocystes excrétés par le chat n'étant pas sporulés, ils ne sont pas directement infectieux. Par conséquent, le simple contact direct avec les chats ne conduit généralement pas à une infection. Il n'y a pas nécessairement de risque d'infection à *T. gondii* lié à la possession d'un chat à l'intérieur d'un appartement ou d'une maison, à condition que des mesures préventives soient appliquées et que les excréments soient régulièrement éliminés du foyer (1). Diverses études ont en effet suggéré que la présence d'un chat à domicile n'était associée qu'à un faible risque d'infection chez l'Homme (17).

Les chats sauvages ou errants peuvent également contaminer l'environnement avec des oocystes qui y seront dispersés par le vent, la pluie, les eaux de surface. Les aliments récoltés tels que le foin, la paille et les céréales peuvent également être contaminés par des excréments de chat (1). Selon la souche de *T. gondii*, l'ingestion de seulement dix oocystes sporulés peut suffire à provoquer une infection chez des hôtes intermédiaires comme les porcs, tandis que l'ingestion de cent oocystes sporulés ou plus peut entraîner une infection patente chez les félins, augmentant le risque de contamination de l'environnement. Les humains sont ainsi également exposés au risque d'infection en manipulant le sol contaminé, notamment lors d'activités de jardinage.

1.4.2. Ingestion de bradyzoïtes contenus dans les kystes viscéraux

La consommation de kystes contenus dans la viande provenant d'animaux à sang chaud est depuis longtemps identifiée comme une source significative d'infection par *T. gondii* dans les pays occidentaux. Ces kystes tissulaires peuvent se développer six à sept jours après l'infection des hôtes intermédiaires par des oocystes ou d'autres kystes tissulaires. Dans une étude multicentrique menée en Europe dans les années

2000, la consommation de viande était estimée être responsable de 30 à 63 % des cas d'infection (1,11).

Cependant, le risque associé à chaque type de viande (agneau, bœuf, porc) varie selon les pays en raison des habitudes alimentaires locales et de la prévalence de l'infection chez les animaux d'élevage. Aux Etats-Unis, une étude cas-témoin a montré que les individus qui consommaient du bœuf haché cru présentaient un risque accru d'infection, de même que ceux qui consommaient de l'agneau saignant (11). Le porc a généralement été considéré comme une source importante d'infection à *T. gondii* chez l'homme. Cette hypothèse repose sur la présence de kystes tissulaires dans la plupart des morceaux commercialisés et sur des estimations de la prévalence de l'infection à *T. gondii* chez les porcs, réalisées dans les années 1970 à 1980. Toutefois ces données varient considérablement d'un pays à l'autre et même d'une ferme à l'autre au sein d'un même pays, selon la méthode utilisée (1). L'évaluation quantitative du risque de toxoplasme dans les aliments est difficile en raison du manque de données sur le nombre de kystes tissulaires entraînant une infection chez l'homme, leur répartition et leur quantité dans les différents sites musculaires chez divers hôtes, ainsi que leur capacité infectieuse dans les produits carnés commerciaux (11).

Les bradyzoïtes de *T. gondii* étant plus résistants aux enzymes digestives (pepsine et trypsine par exemple) que les tachyzoïtes, l'absorption de kystes tissulaires viables par un hôte non immunisé aboutit généralement à une infection. Malgré une moindre résistance aux conditions environnementales par rapport aux oocystes, les kystes tissulaires demeurent relativement résistants aux variations de température. Ils restent infectieux en milieu réfrigéré (1 à 4°C) ou dans la viande hachée jusque trois semaines. Ces kystes peuvent également survivre à la congélation, restant viables à des températures comprises entre -1 et -8 °C pendant plus d'une semaine. Cependant, la majorité des kystes tissulaires sont éliminés à des températures de -12°C ou inférieures, bien qu'il puisse arriver que certains survivent à une congélation profonde. Ils sont généralement éliminés immédiatement par chauffage à 67°C. Leur survie à des températures plus basses dépend de leur durée de cuisson ; ils restent viables pendant environ 4 minutes à 60 °C et environ 10 minutes à 50°C. Pour s'assurer de tuer tous les kystes de *T. gondii* présents dans toutes les parties de la viande, une cuisson prolongée peut être nécessaire en milieu

domestique. Une étude de cas-témoins réalisée aux Etats-Unis a montré que la cuisson au micro-onde de la viande était liée à un risque moindre d'infection par le toxoplasme, cela s'expliquant par le fait que la cuisson au micro-onde est souvent utilisée pour réchauffer de la viande déjà cuite, décongeler ou cuire de la viande congelée (1,11).

1.4.3. Transmission par les tachyzoïtes

Les tachyzoïtes jouent un rôle majeur dans la transmission verticale de *T. gondii*. Ils sont très sensibles aux conditions environnementales et rapidement tués en dehors de l'hôte (1).

Cette forme parasitaire est la seule capable de franchir la barrière placentaire. Après la contamination de la mère, le parasite se propage dans le sang, pouvant ainsi infecter le fœtus après colonisation placentaire par les tachyzoïtes (7).

Ils ont également déjà été transmis par des produits sanguins, en particulier ceux contenant la fraction de leucocytes, ainsi que par injection accidentelle en laboratoire. Toutefois, la période de parasitémie est généralement courte après l'infection primaire, réduisant ainsi le risque d'acquisition d'une infection par transfusion sanguine (1).

1.4.4. Transmission lors d'une greffe

Il a été découvert récemment que la transplantation d'organes tels que le cœur, le rein, le foie ou la moelle osseuse peut être compliquée par des infections à *T. gondii*. Dans ces cas, les tachyzoïtes et les kystes tissulaires peuvent être tous les deux incriminés. Lors d'une transplantation d'organe solide, l'infection par le parasite peut être transmise par un donneur (D) porteur de kystes résultant d'une infection ancienne à un receveur (R) non immunisé. Certains organes sont plus susceptibles que d'autres de contenir des kystes persistants. Les muscles étant un lieu d'encapsulation du parasite, les patients transplantés du cœur présentent un risque plus élevé de toxoplasmose lié à l'organe que ceux transplantés du foie, du poumon ou des reins (1,11).

1.5. Manifestations cliniques

1.5.1. Chez l'immunocompétent

Dans la plupart des cas, l'infection acquise primaire ne présente aucun symptôme chez les personnes immunocompétentes. Cependant, dans certains cas, les patients peuvent développer de la fièvre ou une lymphadénopathie cervicale, parfois accompagnée de myalgies, d'asthénie ou d'autres signes cliniques non spécifiques. Ces symptômes peuvent persister pendant plusieurs semaines, ce qui peut être confondu avec une mononucléose infectieuse, surtout si une monocytose est observée sur le frottis sanguin (11,14). Plus rarement, mais pas exceptionnellement, une chorioretinite toxoplasmique avec altération de la vision peut être le premier symptôme d'une infection primaire.

Lorsqu'elle survient chez une femme enceinte, cette infection présente une gravité en raison du risque encouru par le fœtus. La présence d'adénopathies doit donc être recherchée lorsque les tests sérologiques indiquent une infection récente. Les réinfections sont généralement asymptomatiques chez les patients et entraînent rarement une infection fœtale (14).

1.5.2. Chez l'immunodéprimé

La toxoplasmose peut prendre des formes graves chez les patients immunodéprimés, se manifestant par une encéphalite abcédée, une pneumopathie hypoxémiante, ou une infection disséminée pouvant être mortelle. Ces complications sont principalement observées chez les patients infectés par le VIH, et dans une moindre mesure chez les transplantés de moelle osseuse, de cœur ou de poumon, ainsi que chez les patients sous corticoïdes ou sous immunosuppresseurs au long cours. Elle survient le plus souvent lors de la réactivation de formes latentes persistantes du parasite, survenant lors d'une diminution des moyens de défense de l'organisme, soit par réactivation locale, soit par dissémination hématogène. Moins fréquemment, l'infection parasitaire est favorisée par une réponse protectrice insuffisante lors d'une primo-infection (18).

Le traitement repose sur l'association pyriméthamine-sulfadiazine, qui doit être maintenue, éventuellement à des doses réduites, aussi longtemps que l'immunodépression persiste. La prévention consiste en des recommandations visant à éviter l'acquisition du parasite chez les patients séronégatifs, ainsi qu'une

chimioprophylaxie, dont le Cotrimoxazole ® (association de deux molécules : Triméthoprime et Sulfaméthoxazole) est le médicament de première intention chez les patients déjà infectés.

2. La toxoplasmose congénitale

2.1. Définition

La toxoplasmose congénitale est le résultat de la transmission de *Toxoplasma gondii* au fœtus à travers le placenta, à la suite d'une primo-infection chez la mère (Figure 7).

Après avoir ingéré des aliments ou de l'eau contaminée, une parasitémie se produit et les tachyzoïtes peuvent envahir le placenta en cas de grossesse chez la femme, l'être humain ayant un placenta hémochorial, c'est à dire au contact direct du sang maternel.

En règle générale, la transmission de *T. gondii* est plus importante dans la seconde moitié de la grossesse, principalement en raison de l'anatomie et des facteurs immunitaires. En effet, l'épaisseur du placenta varie tout au long de la gestation ; au début de la grossesse, la barrière placentaire mesure entre 50 et 100 micromètres d'épaisseur, puis diminue progressivement à 2,5 à 5 micromètres vers la fin de grossesse. Cette diminution permet aux tachyzoïtes d'envahir plus facilement les trophoblastes vers la fin de la période gestationnelle. En outre, la couche interne de cytotrophoblastes est discontinue, avec une diminution du nombre de ses cellules pendant la période gestationnelle. Une infection précoce au cours de la gestation est cliniquement plus sévère chez le nouveau-né, car une diminution des récepteurs de type Toll (TLR) dans les cellules trophoblastiques pendant le premier trimestre de la grossesse peut indiquer une capacité réduite des premières cellules placentaires à déclencher la réponse immunitaire à l'infection intra-utérine (3).

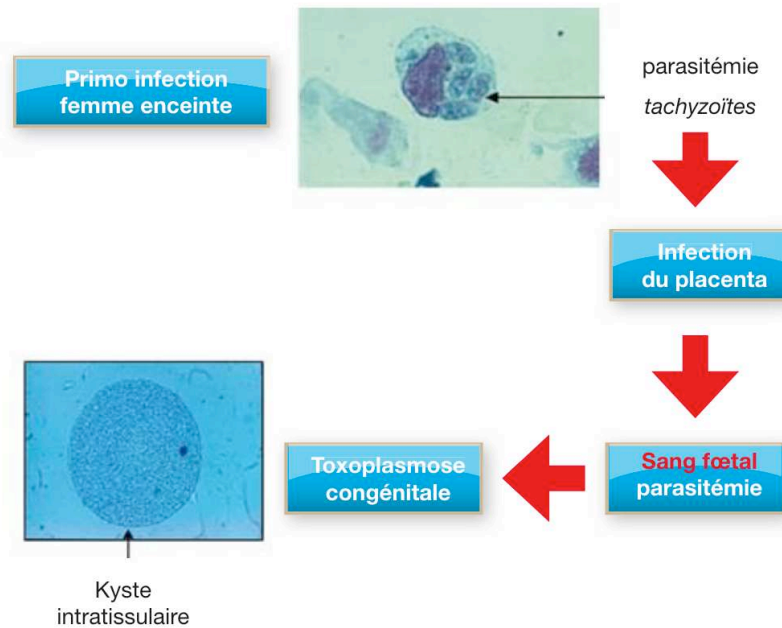


Figure 7 : Transmission materno-fœtale du toxoplasme (14)

Les taux de transmission sont les suivants : de 5 à 10 % au cours du premier trimestre de grossesse, 25 % au deuxième trimestre et plus de 50 % au troisième trimestre ; une transmission précoce au cours de la gestation étant associée à des conséquences plus graves pour le fœtus ou le nouveau-né (19,20).

2.2. Clinique

Les symptômes chez les nouveau-nés atteints de toxoplasmose congénitale sont variés et peuvent apparaître à différents moments, avant ou après la naissance ; la majorité ne présente pas de symptômes à la naissance (70 à 90 %). En cas de manifestations cliniques, celles-ci sont principalement non spécifiques et peuvent inclure : une éruption maculo-papuleuse, une lymphadénopathie généralisée, une hépatomégalie et/ou une splénomégalie, une hyperbilirubinémie, une anémie et une thrombocytopénie (21).

Dans les années 1950, Sabin avance une triade de signes :

- Hydrocéphalie ou microcéphalie
- Calcifications intracrâniennes
- Rétinochoroïdite

Cette triade est retrouvée chez moins de 10% des nourrissons infectés, mais s'est révélée être un outil utile pour sensibiliser à la toxoplasmose congénitale (3,21).

Les manifestations cliniques les plus courantes sont oculaires et neurologiques, la chorioretinite étant la conséquence la plus fréquente (*Figure 8*). Elle peut se présenter dès la période néonatale ou survenir plus tardivement en raison de la réactivation de kystes intra-rétiniens. Son diagnostic se fait lors de l'examen du fond d'œil. Qu'elle soit uni ou bilatérale, elle siège au niveau de la macula ou à la périphérie rétinienne. Les lésions récentes se caractérisent par une zone d'œdème, alors que les lésions plus anciennes sont reconnaissables par un placard blanchâtre. Elle peut entraîner une amputation variable du champ visuel. D'autres lésions peuvent être observées, telles que la microphthalmie, strabisme, nystagmus... (14).



Figure 8 : Fond d'œil présentant un foyer atropho-pigmentaire d'allure cicatricielle dans un contexte de chorioretinite toxoplasmique (22)

L'hydrocéphalie est le symptôme le plus dramatique de la toxoplasmose congénitale et se produit chez environ 4 % des enfants présentant des symptômes (3). Récemment, quatre schémas anatomiques d'hydrocéphalie ont été rapportés :

- Obstruction de l'aqueduc de Sylvius (43 % des cas)
- Obstruction des foramens de Monroe (25 % des cas)
- Obstruction mixte de l'aqueduc et des foramens (11% des cas)
- Absence de pathogénèse obstructive (21 % des cas)

La microcéphalie, liée à l'absence de développement cérébral est très rare. D'autres signes neurologiques peuvent survenir : hypotonie, convulsions, atteintes motrices, retard psychomoteur.

Il a été démontré que les conséquences sont plus graves lorsque l'infection fœtale survient aux premiers stades de la grossesse, pouvant entraîner une fausse couche (avortement naturel ou décès survenant dans 10 % des cas d'infection par *T. gondii*), un retard de croissance intra-utérin ou un accouchement prématuré. Une étude de cohorte prospective multicentrique a examiné le lien entre la toxoplasmose congénitale et la prématurité, le faible poids à la naissance, et la petite taille gestationnelle. Les résultats rapportés par Freeman et al. indiquent que les bébés infectés naissent plus tôt que ceux n'ayant pas été infectés, et que l'infection congénitale est associée à un risque accru d'accouchement prématuré lorsque la séroconversion survient avant la vingtième semaine de gestation (21). Cependant aucune association n'a été observée entre l'infection congénitale et un faible poids à la naissance ou une petite taille pour l'âge gestationnel.

Une étude prospective menée pendant vingt ans, de 1985 à 2005 au CHU de Toulouse a porté sur 676 cas de séroconversions maternelles, prises en charge avec un traitement antiparasitaire (14). Tous les cas ont bénéficié d'un prélèvement de liquide amniotique ainsi que d'une surveillance échographique mensuelle. 666 enfants sont nés vivants, et parmi eux, 17% (n=112), ont développé une toxoplasmose congénitale. Un suivi a été réalisé pour 107 de ces enfants pour une durée moyenne de 99 +/- 66 mois. Dans ce groupe, 74% (n=79) étaient parfaitement asymptomatiques. Dans 26% des cas (n=28), une chorioretinite a été observée, de façon périphérique dans 79% des cas et maculaire dans 21% des cas. Seul un enfant a présenté une forme neurologique grave, mais celle-ci s'est nettement améliorée avec le traitement antiparasitaire.

En conséquence, la toxoplasmose congénitale se présente comme une maladie présentant une grande variabilité clinique. Actuellement, le défi majeur réside dans la prévention des chorioretinites qui peuvent survenir des mois ou des années après la naissance.

2.3. Épidémiologie

La prévalence des anticorps anti-toxoplasmiques chez les femmes enceintes varie considérablement selon les régions géographiques, allant de 3% à Denver (Colorado), à 56% à Bruxelles (23). La connaissance de cette prévalence chez les femmes

enceintes revêt une grande importance, car le risque de toxoplasmose pendant la grossesse est influencé par la prévalence des infections passées et par l'incidence des infections chez les femmes séronégatives, considérées comme susceptibles. Ainsi la fréquence de l'infection par *T. gondii* acquise pendant la grossesse et la prévalence de la toxoplasmose congénitale varient énormément d'un pays à l'autre.

Les résultats d'études sérologiques révèlent que les taux d'infection congénitale varient considérablement, allant de 1 pour 10 000 naissances, comme observé dans la région de Boston, 2 pour 10 000 naissances en Alabama et à Perth (Australie), à 20 pour 10 000 naissances observé à Melbourne et dans la région de Bruxelles (23).

En France, selon la Haute Autorité de Santé (HAS) (24), deux tendances majeures marquent l'épidémiologie récente de la toxoplasmose congénitale :

- Une forte diminution de la prévalence des anticorps contre la toxoplasmose chez les femmes en âge de procréer
- Une probable réduction de l'incidence des séroconversions toxoplasmiques pendant la grossesse

En effet, la séroprévalence chez les femmes enceintes est passé de 54 % en 1995 à 31,3 % en 2016. De plus, l'incidence des séroconversions pendant la grossesse a chuté de 5,4 pour 1000 grossesses à risque en 1995 à 3,1 pour 1000 en 2016 (25). Une étude a développé un modèle épidémique démontrant une réduction de 70 % de l'incidence de l'infection primaire par *T. gondii* chez les femmes âgées de 15 à 45 ans au cours des trente dernières années (26). Si cette tendance se poursuit, l'incidence pourrait continuer à diminuer dans les années à venir ; cela s'expliquant par une exposition moindre au parasite, résultant de modifications des habitudes alimentaires et de l'amélioration des pratiques d'hygiène dans la production de viande.

Les données actuelles ne permettent pas d'évaluer pleinement les conséquences de l'infection toxoplasmique, notamment sur le plan ophtalmologique, ce qui souligne la nécessité d'un suivi à long terme des enfants touchés. La réduction de la séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes en âge de procréer devrait se traduire par une hausse du nombre de femmes enceintes séronégatives entraînant ainsi une augmentation des tests sérologiques pendant la grossesse. Par ailleurs, il est important de noter la diminution du nombre de cas de toxoplasmose congénitale.

2.4. Diagnostic de la séroconversion maternelle

2.4.1. **Législation**

Depuis la fin des années 1970, la France a mis en place des programmes de dépistage prénatal obligatoires pour quatre pathologies infectieuses : la toxoplasmose, la rubéole, la syphilis et l'hépatite B ainsi que pour l'allo-immunisation materno-fœtale anti-D. Ces initiatives sont régies par les articles L.2122-1 à L.2122-5 du code de la santé publique (CSP), ainsi que par le décret n°92-143 du 14 février 1992 (remis à niveau par la HAS sur un document datant de 2017 (27)), qui définit le contenu des examens obligatoires prénuptiaux, pré et postnatals (24). Ces examens médicaux, faisant partie intégrante du suivi général de la grossesse, sont au nombre de sept pour les femmes enceintes, conformément à l'article R.2122-1 du CSP. Quant à l'article R.2122-2, il précise le contenu de ces examens :

- Lors du premier examen prénatal : « les dépistages de la syphilis, de la rubéole et de la toxoplasmose en l'absence de résultats écrits permettant de considérer l'immunité comme acquise (...) »
- « En outre, la sérologie toxoplasmique sera répétée chaque mois à partir du deuxième examen prénatal si l'immunité n'est pas acquise » (24).

Ces examens obligatoires sont inscrits dans la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM) et bénéficient d'une prise en charge à 100% dans le cadre de l'assurance-maternité, dès lors que la déclaration de grossesse a été effectuée. Il y est précisé que l'examen doit inclure le dosage d'au moins deux types différents d'immunoglobulines par au moins deux techniques distinctes et qu'un contrôle doit être effectué en cas de taux limites ou d'une suspicion d'infection récente (28).

A l'issue de chaque examen de dépistage ou de suivi, le biologiste est tenu de fournir une conclusion quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti-toxoplasmiques, ainsi que sur l'estimation probable de l'ancienneté de l'infection en cas de résultat positif. Il doit également recommander les modalités du suivi sérologique éventuel. Pour éviter les problèmes liés à l'absence de standardisation des réactifs, qui peuvent entraîner des interprétations différentes selon les techniques et les trousseaux utilisés (un même sérum pouvant être considéré comme positif, négatif ou équivoque pour les IgG anti toxoplasmiques), il est essentiel que le suivi sérologique soit effectué dans le même laboratoire (29).

En outre, le laboratoire doit indiquer sur son compte-rendu la description précise des techniques utilisées avec leurs seuils de valeur et il est tenu de conserver tous les sérums analysés à -30 degrés pendant au moins un an (28).

2.4.2. Cinétique des anticorps

Il est essentiel de connaître la cinétique d'apparition et d'évolution des différents anticorps pour une interprétation optimale des résultats sérologiques (*Figure 9*).

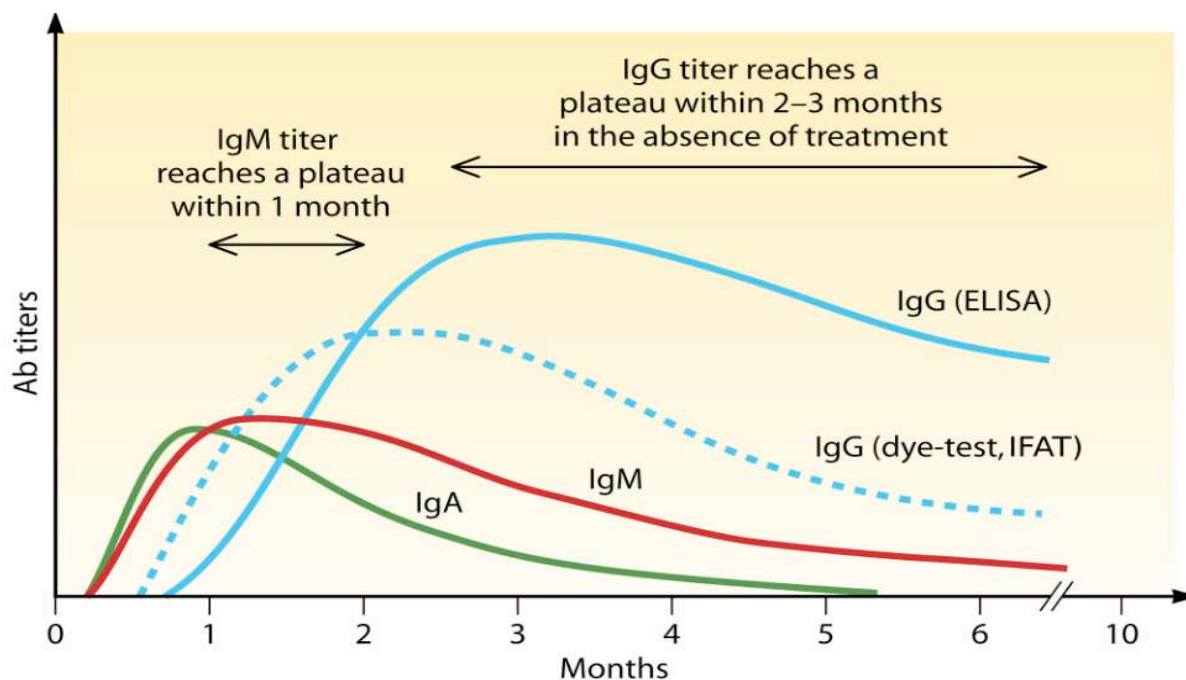


Figure 9 : Cinétique de la réponse des anticorps (11)

Les immunoglobulines de type IgA et IgM apparaissent dans la première semaine suivant l'infection et atteignent un pic environ un mois après. Les IgE spécifiques sont également produites précocement mais disparaissent rapidement. Les niveaux d'IgM vont généralement diminuer après 1 à 6 mois et 25% des patients voient leurs taux se négativer en moins de sept mois, bien qu'ils puissent rester détectables pendant un an ou plus (11,17). Exceptionnellement, les IgM peuvent disparaître en moins de trois mois ou être difficiles à détecter.

Contrairement à ce qui était pensé initialement, les IgA spécifiques ne présentent pas une durée plus courte : elles peuvent être détectées jusqu'à neuf mois après l'infection, ce qui les rend inappropriées comme marqueurs d'infection récente (11).

La détection précoce des IgG spécifiques varie selon la méthode utilisée. Les techniques sérologiques, comme les tests de coloration, l'immunofluorescence ou l'agglutination avec des antigènes membranaires ou des parasites entiers, peuvent identifier rapidement la réponse par les anticorps, dirigée initialement contre les antigènes de surface du parasite. Cependant, les techniques ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), qui utilisent des mélanges d'antigènes cytosoliques ou métaboliques et de surface, détectent les IgG plus tardivement et leur détection est influencée par les variations dans la réponse immunitaire individuelle et les caractéristiques de la technique (11).

La synthèse des IgG est généralement détectable une à trois semaines après l'augmentation initiale des IgM. La production d'IgG atteint un plateau après deux ou trois mois, puis diminue progressivement, persistant à vie à des niveaux résiduels variables d'un patient à l'autre. Celles-ci étant immunisantes, les personnes immunocompétentes ayant contracté la toxoplasmose une première fois bénéficieront d'une protection contre de nouvelles infections par le toxoplasme (11,17).

2.4.3. Techniques sérologiques

De nombreuses techniques reposant sur divers principes enzymologiques (agglutination, immunofluorescence, immunoenzymologie) sont utilisées en première intention pour le dépistage sérologique de la toxoplasmose. Toutefois, en France actuellement, la plupart des laboratoires utilisent des méthodes immunoenzymatiques automatisées pour détecter les IgG et les IgM dans le cadre de ce dépistage (28).

Diverses formes de tests immunoenzymatiques, notamment de type ELISA (*Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay*), ont été développées pour le diagnostic de la toxoplasmose en vue de détecter les anticorps dirigés contre *Toxoplasma gondii*. Tous ces tests reposent sur le même principe (*Figure 10*), qui consiste à fixer, s'il y en a, les anticorps du patient à une surface solide en utilisant des antigènes liés (méthode sandwich indirecte pour les IgG) ou des anticorps spécifiques des isotypes (immunocapture pour les IgA et IgM). Un second anticorps, anti-globuline humaine conjugué à une enzyme, est utilisé pour produire un signal coloré ou fluorescent, résultant de l'hydrolyse du substrat spécifique de cette enzyme. Ce signal sera ensuite analysé, comparé à des valeurs standards et exprimé en unités conventionnelles (27).

Les méthodes automatisées les plus récentes font appel à d'autres systèmes de détection tels que la chimiluminescence ou l'électrochimiluminescence.

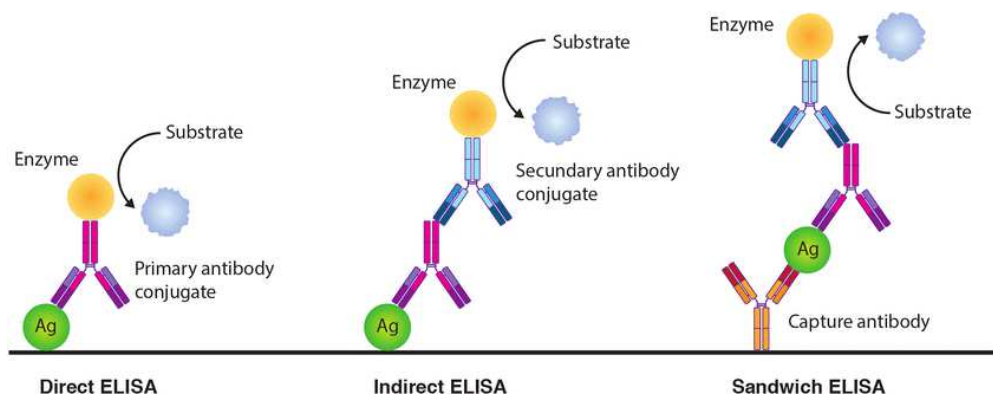


Figure 10 : Comparaison des techniques ELISA (30)

Les techniques immunoenzymatiques sont désormais largement répandues en tant que tests de dépistage rapides et automatisés. De nombreux fabricants proposent des kits commerciaux pour la détection et la quantification des IgG et des IgM, offrant généralement de bonnes performances (bien que peu de kits ne soient disponibles pour la détection des IgA et des IgE). Cependant, un inconvénient majeur de ces tests est la mauvaise standardisation des résultats entre les différentes techniques ou kits commerciaux, en raison des variations de qualité des antigènes d'un kit à l'autre. Cette information doit être prise en considération lors de la comparaison des titres en anticorps dans les sérums successifs, comme le souligne une note de l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé, anciennement Afssaps), qui précise que la cinétique des anticorps à partir de sérums successifs ne peut être interprétée correctement que si les analyses sont réalisées avec le même système analytique (ou même trousse de sérodiagnostic) (27,28).

D'autres techniques peuvent également être citées (27) :

- **Dye – test** : implique l'incubation de différentes dilutions du sérum à tester en présence de toxoplasmes vivants afin d'observer la lyse du parasite par les anticorps anti-Toxoplasma présents dans le sérum, en présence du complément. Considéré comme le *gold standard* en termes de spécificité et de sensibilité, il n'est pratiqué que dans quelques laboratoires spécialisés, car complexe à réaliser.

- Immunofluorescence indirecte (IFI) : utilise des tachyzoïtes entiers, fixés au formol, déposés sur des lames de verre et incubés avec des dilutions de sérums à analyser (méthode quantitative). Si le sérum contient des anticorps anti-Toxoplasma, ceux-ci seront détectés grâce à un anticorps anti-IgG ou IgM humain, marqué à la fluorescéine, et la lecture se fera au microscope à fluorescence.
- Agglutination directe : consiste à ajouter des dilutions du sérum à tester à une suspension de parasites entiers dans des puits avec un fond en forme de U. Lorsque les parasites recouvrent tout le fond du puit, créant un voile au fond de la cupule, la réaction est positive. En revanche, s'ils sédimentent au fond, la réaction est interprétée comme négative.
- Immunosorbent Agglutination Assay (ISAGA) : pouvant être utilisée pour détecter les IgM, IgA et IgG, cette technique repose sur le principe d'immunocapture dans laquelle le fond des puits de plaques de micro-titration est revêtu d'anticorps recombinants dirigés contre les IgM, IgA ou IgE humaines. Lorsque le sérum humain est incubé dans ces puits, les immunoglobulines, qu'elles soient spécifiques ou non de *T. gondii* sont capturées, et après lavage, une suspension de toxoplasmes formolés est ajoutée. Une réaction positive se traduit par un voile au fond de la cupule, alors qu'une réaction négative correspond à un bouton de sédimentation.
- Agglutination indirecte : utilise des particules de latex sensibilisées avec des antigènes de *T. gondii*. Lorsque des anticorps spécifiques sont présents dans le sérum, ces particules s'agglutinent de manière visible à l'œil nu. Ces particules sont habituellement constituées de latex, sauf pour l'hémagglutination, qui utilise des érythrocytes d'origine animale.
- Immunoblot (Western blot) : Pouvant être utilisée pour confirmer la présence d'IgG ou d'IgM, cette technique est réalisée sur des échantillons présentant une sérologie initiale (généralement immunoanalyse) douteuse, à la limite de la détectabilité et/ou discordante entre deux techniques. Il existe un test commercial sous forme de bandelettes de nitrocellulose, sur lesquelles les antigènes de *T. gondii* sont fixés. Les bandelettes sont incubées séquentiellement avec le sérum à tester, un anti-isotype, un anticorps conjugué à une enzyme, puis avec un substrat qui provoque la formation d'une bande colorée.

2.4.4. Interprétation des résultats sérologiques

Le dépistage sérologique repose donc sur la détection des anticorps de type IgG et IgM. Distinguer une infection aiguë d'une infection chronique n'est pas toujours évident et les résultats du dépistage peuvent être difficiles à interpréter. Plusieurs cas de figure peuvent se présenter, et les dernières recommandations de la HAS, datant de 2017, préconisent (31) :

- **Absence d'IgG et d'IgM anti-toxoplasmiques** : correspond à une absence d'infection (ou infection aiguë très récente) ; il n'y a donc pas d'immunisation contre la toxoplasmose. Les dispositions légales prévoient le suivi des mères séronégatives jusqu'à l'accouchement (29), mais pour assurer un suivi complet, il est recommandé de procéder à un dernier contrôle 2 à 3 semaines après l'accouchement, une sérologie négative lors du dernier contrôle légal pouvant être trompeuse, car il peut s'agir d'une séroconversion d'une extrême fin de grossesse, une situation à ne pas ignorer en raison du risque élevé de transmission verticale à ce stade. Il est également recommandé d'informer les femmes enceintes des moyens de prévention de l'infection par le parasite, conformément à la circulaire ministérielle du 27 septembre 1983 (remise à jour en 2005 par l'ANSES, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (32). Ces recommandations doivent être fournies avec le compte rendu des résultats de sérologie.
- **Présence d'IgG et absence d'IgM anti-toxoplasmiques** : en l'absence de résultats préexistants, il est recommandé de contrôler la sérologie avec un deuxième prélèvement sanguin effectué à trois semaines d'intervalle (28). Si le titre en IgG reste stable, cela suggère une infection ancienne (de plus de deux ou trois mois par rapport au premier sérum, selon le réactif). En revanche, si le titre en IgG augmente, il est conseillé de dater l'infection en déterminant l'avidité des IgG sur le premier prélèvement. En cas d'avidité élevée, il est probable qu'il s'agisse d'une réactivation sérologique d'une infection ancienne. Cependant, si l'avidité est intermédiaire ou basse, une infection récente sans IgM ou avec IgM fugaces ne peut être exclue. Dans ce cas, la prise en charge médicale doit être adaptée en fonction de l'âge gestationnel.

Le test d'avidité repose sur l'augmentation progressive de l'affinité des anticorps pour leur antigène cible au fil du temps. La force de liaison des anticorps peut être évaluée par une technique de type ELISA modifiée, qui intègre une étape de lavage avec un agent dissociant tel que l'urée (27). Cette étape permet de retirer les anticorps de faible affinité, caractéristiques d'une infection récente. Le titre, résultant des IgG détectables, est utilisé pour calculer un indice d'avidité, représenté par le ratio des titres entre les échantillons traités et non traités. Un indice d'avidité élevé indique, selon les kits commerciaux, une infection survenue dans les trois à cinq mois précédents. A l'inverse, une faible avidité ne permet pas de conclure à une infection récente, car la maturation de la réponse immunitaire varie d'une personne à l'autre.

- **Présence d'IgG équivoques et absence d'IgM anti-toxoplasmiques** : ce profil soulève le problème du statut immunitaire exact du patient vis-à-vis du toxoplasme. Dans le cas particulier d'une femme enceinte, cela pose également la question de savoir s'il est nécessaire ou non de poursuivre la surveillance pendant la grossesse. En pratique, devant ce profil, il est recommandé de réaliser une deuxième technique de détection des IgG, utilisant un principe différent (28). Si la deuxième technique de détection des IgG est négative, cela indique une absence d'anticorps spécifiques. Il est alors recommandé de poursuivre la surveillance sérologique chez la femme enceinte jusqu'à l'accouchement, ainsi qu'un mois après. Ce suivi doit être accompagné des recommandations hygiéno-diététiques appropriées.

Si la deuxième technique de détection est positive, cela suggère une probable infection ancienne. Ces résultats doivent être confirmés chez la femme enceinte par un contrôle sérologique effectué sur un échantillon sanguin prélevé à trois semaines d'intervalle.

Si la deuxième technique de détection est équivoque, il est recommandé de transmettre le sérum à un laboratoire spécialisé pour la réalisation de techniques complémentaires.

- **Présence d'IgG et d'IgM anti-toxoplasmiques** : cette situation peut survenir en cas d'infection récente, mais peut également être due à des résultats faussement positifs. Pour la femme enceinte, il est nécessaire de dater la probable infection par rapport au début de grossesse. Il faut donc rechercher

des résultats sérologiques antérieurs. En cas d'absence d'antécédents, il est recommandé de procéder à une mesure de l'avidité des IgG, si le titre le permet. Si l'avidité des IgG est élevée, cela permet d'exclure une infection récente, en tenant compte de la période d'exclusion pour le réactif utilisé. Il convient ensuite de réaliser un contrôle de confirmation à trois semaines. Si le titre des IgG reste stable, cela indique une infection ancienne. Les résultats doivent être interprétés en fonction de la date de début de grossesse et la prise en charge médicale adaptée à l'âge gestationnel.

Si l'avidité des IgG est intermédiaire ou basse, ces résultats ne permettent pas d'exclure une infection récente. Seule la cinétique des anticorps, évaluée sur un deuxième prélèvement, réalisé à trois semaines d'intervalle, permettra de dater l'infection. En cas de stabilité des IgG, il est probable que l'infection remonte à plus de deux ou trois mois par rapport à la date du premier prélèvement, en fonction du réactif utilisé. Néanmoins, si une augmentation significative des IgG est observée (doublement du titre), cela indique une infection datant de moins de deux à trois mois. La prise en charge de la femme enceinte sera donc adaptée en fonction de l'âge gestationnel.

- **Absence d'IgG et présence d'IgM anti-toxoplasmiques** : il est recommandé de procéder à une seconde technique de détection des IgM, utilisant un principe différent. Deux situations peuvent alors se présenter :
 - Si la technique de confirmation est négative, et qu'il s'agit d'un premier sérum, la présence d'IgM détectées par une seule technique peut correspondre à des IgM naturelles non spécifiques détectant des antigènes ubiquitaires, ou une interférence. Cependant, un début de séroconversion ne peut être totalement exclu. La sérologie doit donc être contrôlée sur un deuxième sérum, prélevé à une ou deux semaines d'intervalle. Si les résultats du deuxième sérum sont identiques à ceux du premier, l'hypothèse des IgM naturelles ou d'une interférence se confirme. Pour une femme enceinte, il convient de poursuivre la surveillance sérologique mensuelle jusqu'à l'accouchement et un mois après, et de suivre les mesures hygiéno-diététiques.

- Si la technique de confirmation est positive, et qu'il s'agit d'un premier sérum, une infection récente est fortement probable. Toutefois, la détection d'IgM positives par deux techniques ne permet pas d'écartier complètement la possibilité d'IgM naturelles non spécifiques ou d'une interférence, car les deux méthodes peuvent présenter les mêmes problèmes de spécificité. Il est donc recommandé que la technique de confirmation repose sur un principe totalement différent. Si une infection récente est suspectée, il est nécessaire de réaliser un contrôle sérologique dans un délai d'une à deux semaines, et de maintenir une surveillance rapprochée, jusqu'à ce que la séroconversion soit confirmée ou infirmée.

La séroconversion toxoplasmique ne peut être confirmée que par l'apparition d'IgG spécifiques, généralement observée dans un délai d'un mois, bien que ce délai puisse varier en fonction des techniques utilisées et de l'éventuelle mise en place d'un traitement. Chez la femme enceinte, des mesures diagnostiques et thérapeutiques adaptées à l'âge gestationnel doivent être envisagées pour traiter la toxoplasmose congénitale, en concertation avec le clinicien.

Si les résultats du deuxième sérum sont identiques à ceux du premier (IgG négatives et IgM positives selon deux techniques différentes), il s'agit probablement d'IgM naturelles non spécifiques ou d'une interférence. En revanche, si des IgG apparaissent lors de ce contrôle, en plus des IgM, cela indique une séroconversion avérée.

L'interprétation de ces profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage, ainsi que la conduite à tenir ont été résumées dans un article du Centre National de Référence (*Figure 11*).

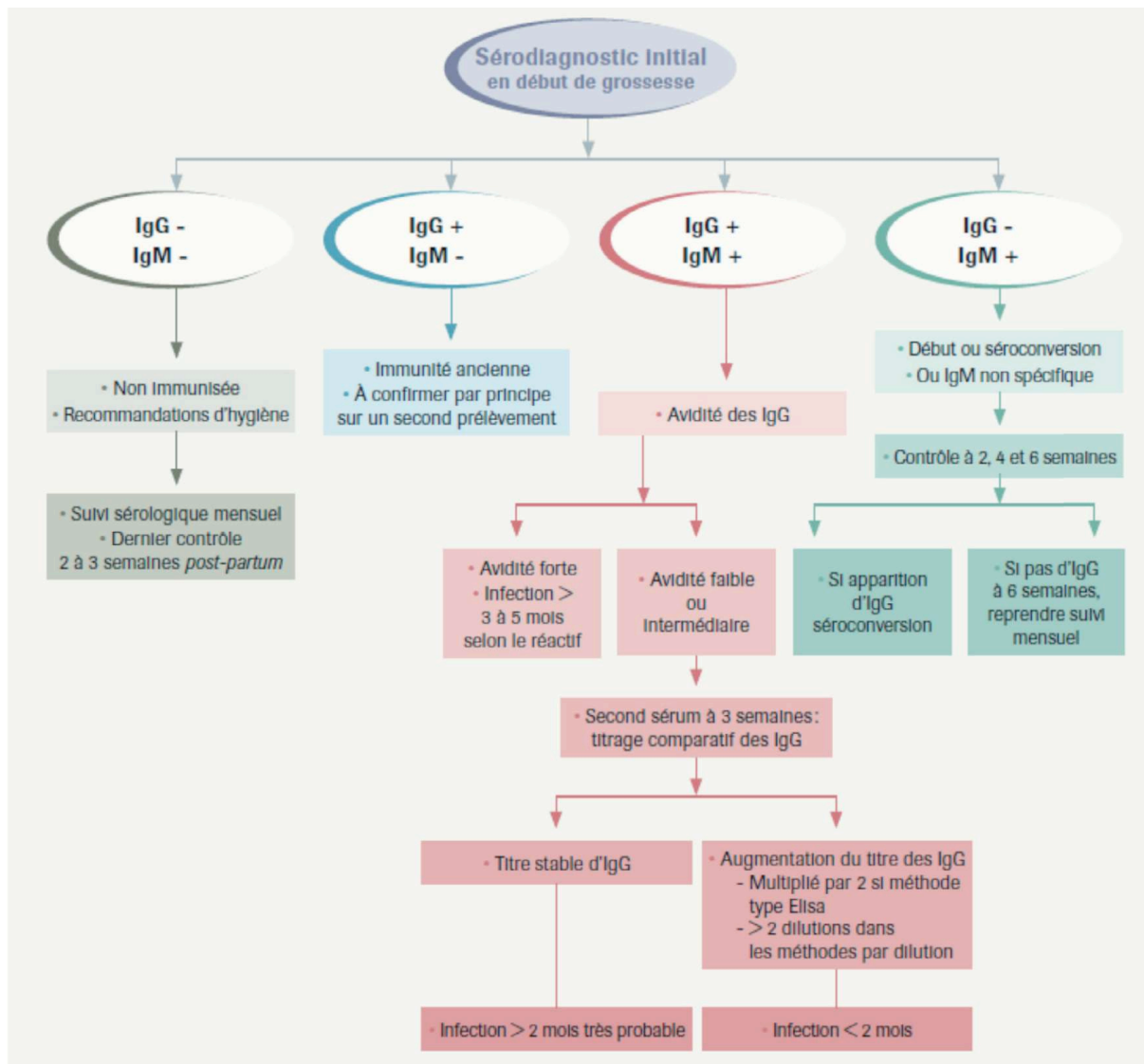


Figure 11 : Résumé de l'interprétation des profils sérologiques de la toxoplasmose (29)

2.5. Diagnostic de la toxoplasmose congénitale

La détection d'une primo-infection ou d'une séroconversion toxoplasmique chez une femme enceinte doit alerter sur le risque d'une potentielle infection fœtale. Celle-ci peut être dépistée à différents moments : chez le fœtus, à l'accouchement et durant la première année de vie.

2.5.1. Diagnostic prénatal

Le diagnostic prénatal (DPN) de la toxoplasmose repose sur une surveillance échographique mensuelle pour détecter d'éventuelles anomalies morphologiques du fœtus et la recherche directe du parasite dans le liquide amniotique obtenu par amniocentèse. Si une contamination se produit entre la 6^e et la 36^e semaine

d'aménorrhée, un diagnostic prénatal est systématiquement proposé à la patiente ; le risque lié à l'amniocentèse étant faible (environ 0,5% de fausses couches) et inférieur au risque de survenue d'une toxoplasmose congénitale dans ce contexte (29).

Si la femme enceinte accepte le diagnostic prénatal, une amniocentèse est réalisée selon les recommandations, à partir de la 18^e semaine d'aménorrhée et au moins 4 semaines après la date estimée de l'infection maternelle ; ce délai correspondant au temps minimum théorique nécessaire pour que la parasite soit transmis de la mère au fœtus, réduisant ainsi le risque de faux négatifs liés à une amniocentèse effectuée trop tôt.

Le DPN doit être discuté avec la patiente, le gynécologue et dans certains cas en Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN). Seuls les laboratoires autorisés par l'Agence de Biomédecine peuvent effectuer les analyses du DPN. Ce diagnostic est remboursé par la Sécurité Sociale et sa réalisation nécessite le consentement de la patiente ainsi qu'une attestation d'information fournie par le prescripteur (29).

Ce diagnostic associe la recherche directe du parasite dans le liquide amniotique, par techniques de biologie moléculaire (PCR) et inoculation à la souris (14,29) :

- **Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)** : la PCR en temps réel, utilisée pour le diagnostic de la toxoplasmose depuis plus de dix ans est un processus automatisé, qui repose sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent, proportionnel à la quantité d'amplicons produits. La plupart des équipes ciblent une séquence répétée 35 fois du gène B1 ou une séquence RE répétée 200 à 300 fois. Cette méthode, rapide et reproductible, permet donc de quantifier l'ADN amplifié et d'estimer la charge parasitaire dans le liquide amniotique : dans 46% des cas inférieure à 10/mL, dans 30% des cas entre 10 et 100/mL et dans 24% des cas supérieure à 100/mL. Sa sensibilité est, aujourd'hui d'environ 85% et sa spécificité proche de 100%.
- **Inoculation à la souris** : cette technique a été la première utilisée pour ce diagnostic. Le culot de centrifugation du liquide amniotique est injecté par voie intrapéritonéale chez des souris. Des contrôles sont effectués à 4 et 6 semaines et l'infection est confirmée par la présence de kystes dans le cerveau des souris. Cette méthode permet de valider les résultats obtenus par PCR et d'isoler les

souches pour des études épidémiologiques. Sa faible sensibilité et le délai pour obtenir les résultats la rendent peu pratique dans un contexte clinique.

Si le résultat du diagnostic prénatal est positif, cela indique une infection fœtale, et justifie la prescription d'un antiparasitaire.

En cas de résultat négatif, il est très probable qu'il n'y ait pas d'infection fœtale au moment du prélèvement (valeur prédictive négative de 97%). Cependant, un résultat négatif au DPN ne permet pas d'exclure totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale. Il est donc recommandé de poursuivre le traitement, de maintenir une surveillance par échographie, et de proposer des diagnostics néonataux et postnataux. Ces cas de faux négatifs du DPN pourraient s'expliquer par l'absence de parasite dans le liquide amniotique au moment du prélèvement, ou par une charge parasitaire trop faible pour être détectée par la méthode utilisée.

2.5.2. Diagnostic néonatal

Le diagnostic néonatal doit être réalisé pour tous les nouveau-nés dont la mère a connu une séroconversion documentée pendant la grossesse, avec un diagnostic prénatal négatif ou non effectué, ainsi que pour tous les nouveau-nés dont la mère présente une sérologie suspecte, ne permettant pas d'exclure formellement une infection péri-conceptionnelle ou une séroconversion per-gravidum. Ce diagnostic repose sur trois aspects (29) :

- Un examen clinique approfondi
- L'imagerie, incluant examen du fond d'œil et échographie transfontanellaire
- La biologie, comprenant la sérologie (dont le profil comparé mère/enfant par WB) et la détection du parasite sur placenta ou sang de cordon

La plupart des cas de toxoplasmose congénitale étant asymptomatique en France, la biologie joue un rôle central dans ce diagnostic.

Le diagnostic sérologique néonatal de la toxoplasmose congénitale repose sur la détection spécifique d'une néosynthèse d'IgM, d'IgA ou d'IgG, permettant de confirmer l'infection. Il est recommandé que ce suivi soit réalisé dans des laboratoires spécialisés, utilisant des techniques adaptées telles que le Western-Blot ou l'immunocapture (ISAGA) (31), bien que celle-ci ne soit plus commercialisée depuis mai 2024 (33). La présence d'IgM et d'IgA, immunoglobulines ne traversant pas la

barrière placentaire, détectée au 2^e ou 3^e jour de vie et confirmée au 10^e jour, permet de poser le diagnostic de toxoplasmose congénitale.

Pour les séroconversions maternelles survenant au premier et au deuxième trimestres, les IgA sont plus fréquemment détectées, tandis que les IgM spécifiques sont plus souvent présentes dans le cas des infections survenant au troisième trimestre. Il est donc recommandé d'associer ces deux tests (14).

Des analyses complémentaires, telles que la comparaison des profils immunologiques entre la mère et l'enfant par immunoblot (*Figure 12*), permettent de mettre en évidence la néosynthèse d'IgM et d'IgG par l'enfant.

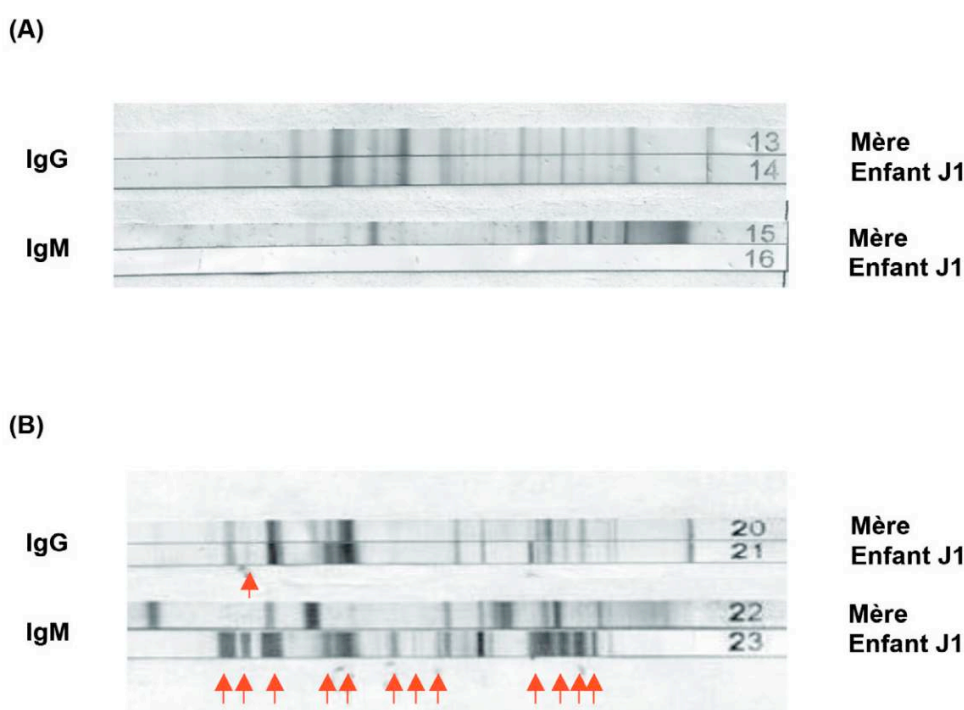


Figure 12 : profils immunologiques comparés IgG et IgM mère/enfant par western-blot
(A) : enfant non infecté ; (B) : enfant infecté (29)

Les IgG anti-Toxoplasma produits par le nourrisson peuvent être identifiées en comparant leur réactivité antigénique à celle de la mère. La présence de réactions avec des antigènes supplémentaires par le sérum de l'enfant confirme son infection par le parasite. Cette méthode peut également être utilisée pour détecter les IgM en cas de contamination du sang du nouveau-né par celui de la mère, contenant des IgM anti-Toxoplasma, lors de l'accouchement.

Actuellement, il n'existe pas de consensus national sur les méthodes de diagnostic de la toxoplasmose congénitale par biologie moléculaire à la naissance

(29). Différents échantillons peuvent être prélevés et analysés par PCR et éventuellement par inoculation à la souris : le placenta, le liquide amniotique recueilli à l'accouchement et le sang de cordon du nouveau-né. La présence du parasite dans le liquide amniotique et/ou le sang de l'enfant (cordon ombilical ou sang périphérique) confirme le diagnostic de toxoplasmose congénitale.

Dans certains cas, la biologie moléculaire permet un diagnostic plus précoce que la sérologie. Néanmoins, la détection du parasite dans le placenta ne constitue pas une preuve définitive de toxoplasmose congénitale, car il existe des cas de « placentite isolée » : le parasite est présent dans le placenta sans être transmis au fœtus.

Bien que le diagnostic de toxoplasmose congénitale par biologie moléculaire à la naissance soit intégré dans le processus diagnostique, notamment pour les grossesses peu ou mal suivies, sa sensibilité semble être inférieure à celle du diagnostic prénatal. Par conséquent, le diagnostic biologique chez le nouveau-né repose principalement sur les analyses sérologiques (14,29).

Il est important de préciser que lorsque le diagnostic prénatal est positif, le diagnostic néonatal repose principalement sur des évaluations cliniques et radiologiques, afin de déterminer la sévérité de l'infection congénitale.

2.5.3. Diagnostic postnatal

Le diagnostic postnatal repose principalement sur la surveillance sérologique de l'enfant, et est indispensable chez un enfant à risque de toxoplasmose congénitale, surtout si les tests de dépistage prénatal (DPN) et néonatal (DNN) sont négatifs ou n'ont pas été réalisés.

En cas de DPN ou de DNN positif, le diagnostic postnatal se concentre principalement sur l'évaluation clinique et en particulier l'examen ophtalmologique pour détecter d'éventuelles lésions oculaires tardives (29).

En l'absence d'arguments sérologiques de toxoplasmose congénitale à la naissance, un suivi postnatal mensuel doit être instauré pour surveiller la disparition des anticorps jusqu'à l'âge de 1 an. La disparition totale des IgG et des IgM, sans traitement, confirmée sur un deuxième échantillon sanguin avec une méthode de

sensibilité et de spécificité suffisantes, permet de conclure à l'absence de toxoplasmose congénitale chez l'enfant.

En revanche, l'apparition d'IgM, d'IgA, d'une néosynthèse d'IgG et/ou d'IgM anti-Toxoplasma ou encore l'augmentation ou l'absence de diminution du titre d'IgG spécifiques après un an, confirment l'infection congénitale chez l'enfant (26,29,).

Après un an, un enfant infecté devra être soumis à une surveillance ophtalmologique annuelle jusqu'à l'âge d'environ dix ans. A cet âge, il sera en mesure de signaler des troubles visuels, qui nécessiteront une consultation rapide.

L'ensemble des techniques de diagnostic de la toxoplasmose congénitale a été résumée dans un schéma (Figure 13).

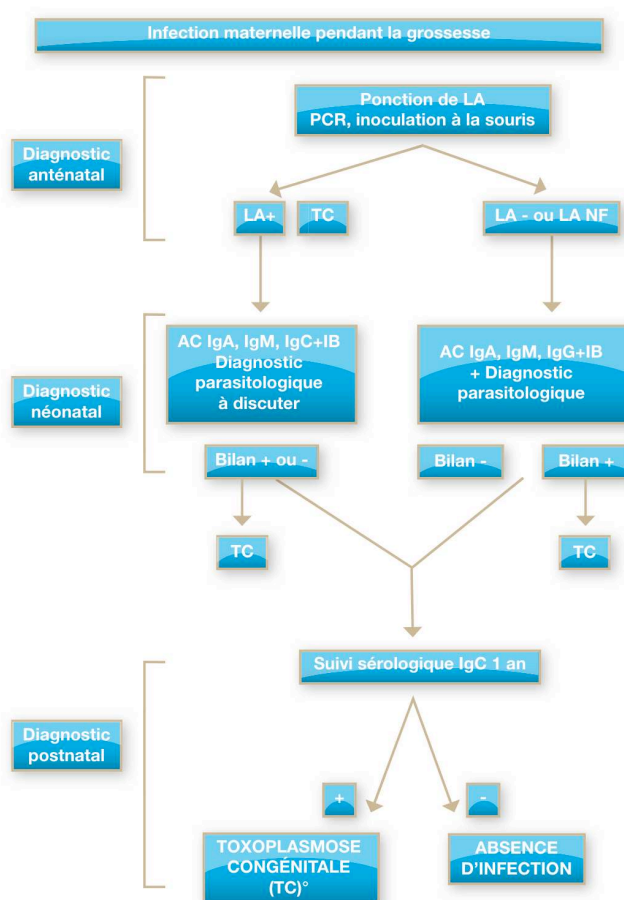


Figure 13 : stratégie du diagnostic de la toxoplasmose congénitale (14)

2.6. Prévention

La gravité potentielle de la toxoplasmose, notamment chez le nouveau-né et l'enfant, rend essentielles les mesures de prévention contre cette maladie. Un

programme français de prévention de la toxoplasmose congénitale a été mis en place depuis 1978 (14).

2.6.1. Prévention primaire

Actuellement, les mesures de prévention primaire sont le seul moyen de protection des femmes enceintes non immunisées contre la toxoplasmose (séronégatives). Ces mesures sont cruciales et reposent sur des règles prophylactiques hygiéno-diététiques. La première d'entre elles a été la diffusion, en 1983, d'une circulaire destinée aux médecins pour leur permettre d'informer les femmes enceintes sur les moyens de prévenir la toxoplasmose. Une étude réalisée en 1995 démontre la nécessité de renforcer le programme de prévention primaire, car les femmes enceintes ne connaissent pas toujours les modes de contamination du parasite.

Une série de recommandations a été publiée dans le Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire (BEH) en 1996, celles-ci étant toujours pertinentes mais nécessitant d'être actualisées (10) :

- Bien cuire la viande (bœuf, mouton, porc, cheval), c'est-à-dire une cuisson d'au moins 65°C dans toute l'épaisseur de la viande. Éviter la consommation de viande marinée, fumée ou grillée (comme cela peut être le cas pour le gibier).
- Lors de la préparation des repas : laver soigneusement les légumes et les plantes aromatiques surtout s'ils sont terreux et consommés crus. Laver soigneusement les ustensiles de cuisine ainsi que les plans de travail. Se laver les mains après contact avec des légumes, des fruits ou de la viande crue et avant de passer à table. Une bonne hygiène des mains et des ustensiles de cuisine est importante pendant la grossesse pour éviter la transmission de la toxoplasmose.
- Éviter les contacts directs avec les objets qui pourraient être contaminés par les excréments de chat (comme les bacs des litières, la terre) et porter chaque fois des gants en cas de manipulation de ces objets. Désinfecter les bacs des litières de chat avec de l'eau de Javel.
- Éviter le contact direct avec la terre et porter des gants pour jardiner. Se laver les mains après les activités de jardinage mêmes si elles sont protégées par des gants.

2.6.2. Prévention secondaire

Elle repose sur le dépistage des séroconversions pendant la grossesse. En effet, le décret de février 1992 impose une surveillance sérologique mensuelle pour les femmes enceintes séronégatives, de la déclaration de grossesse jusqu'à l'accouchement (24). En revanche, les femmes immunisées avant la grossesse, immunocompétentes, ne nécessitent pas de surveillance sérologique spécifique.

Le diagnostic sérologique doit déterminer la date de l'infection maternelle car cela influence la fréquence et la gravité de l'atteinte fœtale. Si une infection maternelle est suspectée, un traitement immédiat par spiramycine doit être mis en place (14).

2.6.3. Prévention tertiaire

Elle repose sur le dépistage des toxoplasmoses congénitales grâce au diagnostic prénatal, néonatal et postnatal. Elle consiste à limiter au maximum les complications plus ou moins tardives chez le nouveau-né, par un programme de surveillance clinique et thérapeutique approprié (14).

2.7. Traitement

2.7.1. Molécules

L'une des voies métaboliques de *Toxoplasma gondi* est celle de la synthèse des folates, qui implique deux enzymes : la déhydroptéroate synthétase et la dihydrofolate réductase (DHFR). Les sulfamides et la pyriméthamine inhibent ces enzymes, bloquant la synthèse de l'acide folique chez le parasite, entraînant ainsi une carence en folates, ce qui perturbe la synthèse des bases puriques, provoquant des anomalies dans la division cellulaire (14).

- **Pyriméthamine (Malocide ®)** : antipaludéen de synthèse qui agit comme antimétabolite en inhibant la transformation de l'acide folique en acide folinique via la DHFR. Efficace contre les tachyzoïtes mais inactive sur les kystes, elle diffuse bien dans les tissus, y compris le placenta et les méninges. Cette molécule peut entraîner des effets indésirables hématologiques (anémie, leucopénie, thrombopénie), nécessitant une surveillance biologique hebdomadaire. Ces effets sont réversibles et peuvent être prévenus ou corrigés avec de l'acide folinique.

- **Les sulfamides** sont des anti-foliques qui inhibent la synthèse de l'acide folique en bloquant la dihydroptéroate synthétase, une autre étape du métabolisme des folates, ce qui explique leur synergie avec la pyriméthamine. In vivo, les sulfamides les plus efficaces sont la sulfadiazine (Adiazine ®), un sulfamide à action rapide et la sulfadoxine, un sulfamide à action prolongée (Fansidar ®, en association avec la Pyriméthamine).
- **Spiramycine (Rovamycine ®)** : antibiotique macrolide ayant une action parasitostatique, qui se concentre dans le placenta mais ne le traverse pas facilement, le rendant peu fiable pour traiter l'infection fœtale (17).

2.7.2. Indications

Dès qu'une infection maternelle est suspectée, un traitement préventif par spiramycine, à la dose de 9 MU/jour en 3 prises est initié. En l'absence de preuve de contamination fœtale lors du diagnostic prénatal, la spiramycine doit être poursuivie jusqu'à l'accouchement.

Si l'infection fœtale est confirmée, la spiramycine est remplacée par un traitement renforcé combinant la pyriméthamine et un sulfamide, qui agissent en synergie sur la voie de synthèse des folates, permettant d'utiliser un plus faible dosage de pyriméthamine, ce qui réduit le risque hématotoxique. Selon les auteurs, deux protocoles sont utilisés : pyriméthamine (Malocide ®) (50 mg/ jour) avec sulfadiazine (Adiazine ®) (3 g/ jour) en deux prises ou l'association pyriméthamine + sulfadoxine (Fansidar ®) 1 comprimé/20 kg, tous les dix jours, sans dépasser trois comprimés par prise (19).

L'efficacité du traitement anténatal sur la transmission materno-fœtale est controversée. Initialement, la spiramycine semblait réduire la durée et la sévérité de l'infection placentaire. Cependant, une étude multicentrique en 1999 et une étude rétrospective lyonnaise en 2001, n'ont pas trouvé de réduction du taux de transmission avec le traitement prénatal (19). En 2003, l'étude européenne EMSCOT n'a également trouvé aucun bénéfice du traitement anténatal, quel que soit le médicament utilisé. Les auteurs suggèrent que seul un traitement débuté dans les deux semaines suivant l'infection maternelle pourrait être efficace, ce qui est difficile à réaliser avec un dépistage mensuel. Enfin, Gras et al., sur une cohorte de 181 enfants vivants infectés, n'ont pas montré de supériorité du traitement pyriméthamine/ sulfamide par rapport à

la spiramycine, pour prévenir les lésions oculaires et intracrâniennes (19). L'initiation d'un traitement anti-toxoplasmique pendant la grossesse est donc controversée, seule une étude contrôlée randomisée permettant de clarifier son efficacité et le choix de la molécule à utiliser.

Chez les enfants infectés avec certitude, le traitement postnatal consiste généralement en une thérapie combinée de pyriméthamine et de sulfamides, administrée de manière continue pendant environ un an. Ce traitement peut faire appel, soit à l'association fortement dosée de pyriméthamine et sulfadiazine administrée quotidiennement (pyriméthamine : 1 mg/kg/jour en 1 prise pendant 2 mois puis 0,5 mg/kg/jour les 10 mois suivants, et sulfadiazine : 100 mg/kg/jour en 2 prises), soit à l'association moins dosée de pyriméthamine et sulfadoxine (pyriméthamine : 1,25 mg/kg/10 jours et sulfadoxine : 25 mg/kg/10 jours), administrée tous les dix jours. Les résultats à moyen terme semblent similaires, quel que soit le sulfamide utilisé ; l'association pyriméthamine-sulfadoxine étant avantageuse en raison de sa facilité d'utilisation et de sa meilleure observance grâce à demi-vie plus longue et par conséquent, des prises moins fréquentes.

Il est courant d'observer un rebond sérologique avec une augmentation des niveaux d'IgG spécifiques ainsi que parfois une nouvelle production d'IgM et/ou d'IgA après l'arrêt du traitement. Ce phénomène est rarement lié à une véritable poussée de chorioretinite évolutive et seule une lésion oculaire active nécessite une reprise du traitement, parfois associée à une corticothérapie.

Partie 2 : Revue de la littérature

1. Objectifs

Dans le cadre du dépistage de la toxoplasmose, plusieurs tests sérologiques ainsi que divers kits commerciaux et automates sont disponibles pour la détection des anticorps anti-*Toxoplasma gondii* (IgG et IgM). Cette variété d'options, bien qu'avantageuse, entraîne une grande variabilité dans les résultats obtenus par les laboratoires utilisant différents kits commerciaux. Une telle disparité peut conduire à des résultats inexacts ou mal interprétés avec des conséquences potentiellement graves pour les patients, en particulier pour les femmes enceintes, avec notamment des erreurs de diagnostic et des traitements inappropriés (35).

Il est donc crucial de connaître les performances des tests disponibles, en particulier leur sensibilité et spécificité. Ces deux paramètres sont essentiels pour évaluer l'efficacité d'un test à détecter correctement les anticorps sans produire de faux positifs ou de faux négatifs. Nous pouvons définir la sensibilité comme la probabilité du résultat positif du test chez les patients porteurs de la maladie telle qu'elle est définie par le gold standard, il s'agit du taux de vrais positifs. La spécificité est la probabilité du résultat négatif du test chez les patients définis comme non malades, appelée également taux de vrais négatifs.

D'autres critères doivent également être pris en compte pour choisir le kit le plus approprié (36). Parmi ces critères, la robustesse du test est primordiale. Un test robuste produit des résultats fiables et reproductibles, même dans des conditions variées. Le délai d'obtention des résultats est également important, surtout dans un contexte clinique pour lequel le temps de réponse peut affecter les décisions de traitement.

Les objectifs de dépistage varient selon les patients testés. Par exemple, pour les femmes enceintes, il est nécessaire d'utiliser un test très spécifique avec peu de faux positifs dans la détection des IgG afin d'éviter de considérer une femme enceinte comme immunisée et de négliger le suivi pendant la grossesse. En revanche, chez les patients immunodéprimés une technique très sensible pour la détection des IgG est essentielle pour éviter des résultats faussement négatifs, même lorsque les niveaux d'IgG sont très bas (37). Chez le nouveau-né, une bonne sensibilité du test est importante pour mettre en évidence une séroconversion ainsi que pour l'exclusion

d'une toxoplasmose congénitale après un an de suivi. Dans la plupart des cas, les IgG détectées sont transmises par la mère ; l'idéal est de pouvoir les différencier des IgG néosynthétisées, ce qui est impossible avec les tests immunoenzymatiques d'où l'utilisation du profil comparé mère/enfant qui permet leur détection (38).

La sérologie se place en première ligne pour déterminer le statut immunologique chez une femme enceinte, dater l'infection par rapport à la conception et évaluer le risque d'infection foétale. Les tests doivent donc être précis et offrir des performances fiables (39). Pour les IgG, la spécificité est primordiale, surtout dans le contexte actuel de diminution de la prévalence. Pour les IgM une sensibilité élevée est nécessaire, car des faux négatifs pourraient retarder le début du traitement, qui doit être introduit dans les trois semaines suivant l'infection, comme démontré dans plusieurs études (39).

D'autres parts, de récentes études montrent un nombre élevé de faux positifs en IgM chez les femmes enceintes, pouvant être dû à un défaut de performance du test ou à des IgM résiduelles d'une infection ancienne (35). Cela peut entraîner des inquiétudes inutiles, des tests répétés, voire des avortements thérapeutiques chez les femmes enceintes.

Pour pallier ces difficultés lors de l'interprétation, notamment des IgM, ces tests sont utilisés en combinaison avec d'autres comme l'indice d'avidité des IgG, particulièrement utile pour démontrer une infection ancienne, ou l'analyse du titre en IgG sur deux sérums du même patient prélevés à trois semaines d'intervalle, une élévation du titre en IgG dans le temps suggérant une infection acquise récemment (35).

Concernant l'indice d'avidité, le calcul de celui-ci n'est pas standardisé entre les laboratoires et peu de connaissances existent sur sa variabilité et sa reproductibilité. En effet, la maturation des IgG varie considérablement entre les individus. Il a été observé chez de nombreux patients la persistance d'un faible indice d'avidité, même plus de quatre mois après l'infection (40). De même, la maturation des IgG serait souvent retardée chez les femmes enceintes par rapport aux autres individus. Il est nécessaire de mener des études plus approfondies pour clarifier le processus de maturation de l'avidité chez les femmes enceintes, surtout si celle-ci sont traitées pendant la grossesse, par rapport aux individus qui ne le sont pas. La maturation lente de l'avidité pouvant persister pendant des années selon l'individu, une faible avidité

n'est donc pas un argument suffisant pour confirmer une récente séroconversion, et encore moins pour prescrire une procédure invasive telle que l'amniocentèse (41).

La divergence entre les résultats (pour les IgG et les IgM) peut s'expliquer par les différences entre les antigènes utilisés dans les kits. Ainsi, la sensibilité et la spécificité d'un test sérologique dépendent largement des antigènes choisis (35).

La plupart des tests commerciaux utilisent des antigènes natifs, souvent extraits de toxoplasmes entiers, préparés chez les souris ou en culture cellulaire. Cependant, ces antigènes posent des problèmes de standardisation, car ils sont préparés par des méthodes variées et peuvent être contaminés par des matériaux exogènes, créant une grande variabilité entre les tests.

Depuis quelques années, les antigènes recombinants ont été introduits pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose, présentant plusieurs avantages (35,42) :

- Variabilité d'antigènes utilisés : antigènes de surface, antigènes de granules denses et antigènes de rhoptries.
- Spécificité aux différentes phases de l'infection par *T. gondii*, permettant de distinguer une toxoplasmose aiguë d'une infection ancienne ou chronique. En effet, les protéines distinctes de la phase tachyzoïte ou bradyzoïte peuvent être utilisées pour reconnaître les anticorps spécifiques à chaque phase de l'infection.

La comparaison des kits commerciaux pour la détection des anticorps anti-toxoplasmiques est essentielle pour optimiser le dépistage de la toxoplasmose. Cette évaluation doit tenir compte de la sensibilité et de la spécificité des tests, mais aussi de la robustesse, du délai d'obtention des résultats et de la nécessité ou non d'un personnel qualifié. Cette approche permet de choisir les outils les plus adaptés aux besoins des laboratoires et d'améliorer la qualité des diagnostics pour les patients.

2. Comparaison de différents kits pour la détection des IgG et IgM anti-toxoplasmiques

Parmi les nombreux kits de détection des IgM et IgG dans le cadre du dépistage de la toxoplasmose, certains sont plus couramment utilisés, qu'il s'agisse de laboratoires de routine ou des centres spécialisés. Nous avons analysé les performances de cinq d'entre eux (Architect ®, Liaison ®, Platelia ®, Vidas ®, IDS-

iSYS ®), en comparant leur sensibilité et spécificité respectives pour la détection des IgG et des IgM.

2.1. Détection des IgM

2.1.1. Sensibilité

L'apparition des IgM se fait généralement en moins d'une semaine après l'infection, avec un pic atteint à différentes périodes selon le test utilisé. Marqueurs précoces et sensibles de toxoplasmose aiguë, ils peuvent persister jusqu'à dix-huit mois après l'infection, pouvant rendre difficile et insuffisante l'interprétation basée uniquement sur la présence d'IgM.

Chez les femmes enceintes, la sensibilité de la détection des IgM est cruciale pour confirmer une infection, le traitement devant être mis en œuvre le plus rapidement possible après une possible séroconversion (41).

Parmi les tests évalués dans cette population, la sensibilité varie de 63,6 % (Architect ®) à 94,4 % (Platelia ®) (*Tableau 1*), avec une probabilité non négligeable de faux négatifs en IgM, posant un risque de manquer le diagnostic d'une infection acquise récemment, ce qui est particulièrement critique dans cette partie de la population.

La présence d'IgM dans le sang périphérique étant un indicateur de toxoplasmose congénitale, il est nécessaire pour le test utilisé d'avoir une bonne sensibilité afin d'éviter les erreurs de diagnostic ou les retards de traitement. Le gold-standard pour le diagnostic post-natal de la toxoplasmose congénitale par détection d'IgM est l'ISAGA, c'est pourquoi il était utilisé comme test de référence lors de divergences entre les résultats de deux tests évalués.

La sensibilité pour la détection des IgM chez les nouveau-nés, dans les articles étudiés, est assez variable, allant de 17,5 % avec Vidas ® à 75,63 % avec Platelia ® (*Tableau 1*), les performances globales de ces tests étant jugées suffisantes pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale (38). Par ailleurs, il a été démontré que le traitement anti-toxoplasme instauré pendant la grossesse est associé à une diminution de la fréquence de détection des IgM (et IgG) chez le nouveau-né. Cette baisse de sensibilité nécessite d'utiliser des tests très efficaces pour éviter les faux négatifs et pouvoir ainsi traiter précocement le nouveau-né pour éviter le risque de complications (43). De plus, l'absence d'IgM à la naissance peut également être liée à une synthèse transitoire par le fœtus, surtout si l'infection a eu lieu tôt pendant la grossesse.

2.1.2. Spécificité

Il est nécessaire que le test utilisé présente également une spécificité élevée pour la détection des IgM, car la découverte d'IgM isolées pendant la grossesse est interprétée comme un marqueur d'infection aiguë, pouvant créer une situation anxiogène. Les IgM non spécifiques sont fréquemment observées chez les femmes enceintes. Leur origine n'étant pas bien comprise, un contrôle rapide sera, dans tous les cas, nécessaire pour confirmer ou exclure une infection aiguë (44).

Chez les femmes enceintes, la spécificité des tests évalués pour la recherche d'IgM est, de manière générale excellente, allant de 95,2 % avec Liaison Toxo IgM II ®, à 100% avec Vidas Toxo IgM ® et Architect Toxo IgM ®, mais nous retrouvons, dans une étude récente (33), une spécificité qui semble diminuée pour Architect ® (60,4 %), Platelia ® (24,4%) et Vidas ® (71,16%) (*Tableau 1*).

La spécificité est également très satisfaisante globalement chez les nouveau-nés, allant de 92,8 % avec Platelia Toxo IgM à 100% avec Vidas Toxo IgM et Architect Toxo IgM (*Tableau 1*). Toutefois, des IgM maternelles peuvent se retrouver dans le sang de cordon d'un nouveau-né sain, issues d'une contamination lors de la délivrance. Il ne s'agit pas réellement de faux positifs, mais cela diminue la spécificité des tests (38).

Tableau 1 : Comparaison des tests pour la détection des IgM

Technique	Fabricant	Méthode	Antigènes	Population	Nombre de sérums	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Références
Architect Toxo IgM	Abbott	CLIA	Lysat d'antigènes <i>T.gondii</i> (contenant protéine P30)	Nouveau-né	384	55,77	97,16	(38)
				Femmes enceintes	730	89,9	99,8	(41)
				Femmes enceintes	500	63,6	100	(45)
				Femmes enceintes	413	95,7	60,4	(33)
				Nouveaux-nés	285	48,6	100	(33)
Platelia Toxo IgM	BioRad	EIA	Antigènes de <i>T.gondii</i> inactivé	Nouveaux-nés	432	75,63	92,78	(38)
				Nouveaux-nés	115	59,2	ND	(43)
				Nouveaux-nés	344	64,6	95,4	(33)
				Femmes enceintes	59	94,4	24,4	(33)
Vidas Toxo IgM	BioMérieux	ELFA	Antigènes de <i>T.gondii</i> inactivé	Nouveaux-nés	357	58,25	97,55	(38)
				Nouveaux-nés	177	17,5	100	(33)
				Femmes enceintes	500	81,8	100	(45)
				Femmes enceintes	78	81,8	71,16	(33)
Liaison Toxo IgM II	Diasorin	CLIA	Antigènes de <i>T.gondii</i> inactivé	Nouveaux-nés	311	56,55	97,2	(38)
				Femmes enceintes	884	90,6	95,2	(33)
				Dépistage de routine	1488	96,7	95,4	(40)
				Femmes enceintes	500	81,8	98,7	(45)
TGS TA Toxo IgM	IDS-iSYS	CLIA	Antigènes de <i>T.gondii</i> purifié	Femmes enceintes	783	75	99	(44)

2.2. Détection des IgG

2.2.1. Sensibilité

Pour rappel, les IgG peuvent être détectées deux à trois semaines après l'apparition des IgM, avec un pic entre un et deux mois, persistant de façon résiduelle tout au long de la vie et sont ainsi considérées comme des marqueurs d'infection ancienne (42). Le test de référence pour confirmer ou infirmer la présence d'IgG en cas de divergence entre deux techniques est le Dye-test, mais l'IFI et le Western-Blot sont aussi couramment utilisés.

Un ensemble d'articles a été évalué afin d'examiner la sensibilité des tests immunoenzymatiques utilisés pour la détection des IgG. La plupart de ceux-ci concernait le dépistage d'une infection toxoplasmique chez les femmes enceintes ou d'une toxoplasmose congénitale chez les nouveau-nés de mères infectées pendant la grossesse. Un seul article concernait les patients immunodéprimés, pour lesquels les titres en IgG peuvent être assez bas (37). Nous retrouvons donc des sensibilités plus faibles pour cette catégorie de patient, allant de 13,4 % avec Liaison Toxo IgG II ® à 46,3 % avec TGS TA Toxo IgG/IDS-iSYS ®. Il est mis en évidence que ces tests ne sont pas adaptés pour détecter de faibles taux d'IgG sans ajuster les seuils recommandés par les fournisseurs, ce qui est nécessaire pour éviter les faux négatifs et ainsi le risque de toxoplasmose généralisée chez ces patients plus fragiles.

Dans la population de femmes enceintes, la sensibilité pour la détection des IgG se révèle importante pour initier le suivi pendant la grossesse. En effet, si le test utilisé ne présente pas une sensibilité suffisante, le risque est d'entraîner un suivi inutile chez un nombre élevé de femmes enceintes, représentant un coût important pour le système de soin, ainsi que de possibles inquiétudes durant la grossesse (41). La sensibilité est globalement satisfaisante pour l'ensemble de ces tests, supérieure à 90 % pour chacun d'entre eux (*Tableau 2*). Cependant, la sensibilité de l'Architect ® descend à 84,4%, lorsque les résultats de la zone d'incertitude sont exclus du calcul ou sont considérés comme négatifs. Elle remonte à 93,8% lorsque ceux-ci sont considérés comme positifs (45).

Chez les nouveau-nés, la sensibilité dans la détection des IgG est également satisfaisante, supérieure à 90% pour les quatre tests évalués (*Tableau 2*) (38), Architect ® présentant le meilleur résultat (95,5%) dans cette catégorie de patients.

2.2.2. Spécificité

Comme rappelé précédemment, la spécificité de la détection des IgG est indispensable lors du dépistage de routine, afin d'éviter de considérer à tort une femme immunisée contre la toxoplasmose, et donc de limiter le suivi et retarder l'éventuelle prise en charge (44).

Tous les tests évalués dans ces différentes études chez les femmes enceintes bénéficient d'une excellente spécificité. Celle-ci est très légèrement plus faible avec Liaison Toxo IgG II (96,8 %) et très proche de 100 % avec Architect Toxo IgG (de 99,1 à 99,8 %) (*Tableau 2*). La fiabilité d'un test positif en IgG permet donc d'affirmer une immunité acquise.

Chez les nouveau-nés, dans le contexte de toxoplasmose congénitale, plusieurs pièges peuvent avoir un impact sur la performance des tests, notamment la présence d'IgG chez un nourrisson non infecté, liées à la transmission maternelle passive. Il ne s'agit pas là de faux positifs, mais la spécificité du test peut en être diminuée (38). De ce fait, la spécificité n'a pas été comparée entre les différents tests pour la détection des IgG, dans cette catégorie de la population.

Tableau 2 : Comparaison des tests pour la détection des IgG

Technique	Fabricant	Méthode	Antigènes	Population	Nombre de sérum	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Références
Architect Toxo IgG	Abbott	CLIA	Recombina nts : P30 (SAG1) et P35 (GRA8)	Femmes enceintes, autres	2992	90,7	99,8	(36)
				Immunodé primés	367	43,9	100	(37)
				Nouveaux-nés	447	95,53	ND	(38)
				Femmes enceintes	730	97,5	99,1	(41)
				Femmes enceintes	500	84,4	99,5	(45)
Platelia Toxo IgG	BioRad	EIA	Antigènes de <i>T. gondii</i> inactivé	Autres	1436	96,4	99,4	(36)
				Immunodé primés	366	36,6	100	(37)
				Nouveaux-nés	447	90,2	ND	(38)
Vidas Toxo IgG	BioMérie ux	ELFA	Antigène de <i>T. gondii</i> inactivé	Autres	3368	95,5	99,8	(36)
				Immunodé primés	366	37,8	100	(37)
				Nouveaux-nés	309	91,52	ND	(38)
				Femmes enceintes	500	93,8	99,3	(45)
Liaison Toxo IgG II	Diasorin	CLIA	Antigène de <i>T. gondii</i> inactivé	Autres	1381	94,8	99,5	(36)
				Immunodé primés	367	13,4	100	(37)
				Nouveaux-nés	310	94,01	ND	(38)
				Depistage de routine	1488	99,3	96,8	(40)
				Femmes enceintes	500	93,8	99,3	(45)
TGS TA Toxo IgG	IDS-iSYS	CLIA	Antigène de <i>T. gondii</i> purifié	Autres	1137	97	97	(36)
				Immunodé primés	367	46,3	96,7	(37)
				Femmes enceintes	783	97	97	(44)

3. Place du CHU de Lille

Le Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Lille se place comme un laboratoire de référence concernant le diagnostic de la toxoplasmose, qu'il s'agisse de dépistage de femmes enceintes ou d'établir le diagnostic de certitude d'une toxoplasmose congénitale ainsi que la recherche d'immunité acquise chez les patients immunodéprimés. De ce fait, un certain nombre de laboratoires, des centres hospitaliers périphériques aux laboratoires de ville, font appel à cette expertise lors d'un cas suspect de toxoplasmose.

Disposant de techniques sérologiques de premières et secondes lignes, ainsi que de tests de confirmation tels que l'ISAGA (anciennement) ou le Western-Blot, le CHU permet ainsi de confirmer ou d'exclure une potentielle infection, toute catégorie de patients confondue ; l'activité de routine étant surtout concentrée chez les femmes enceintes et le suivi de nouveau-nés.

3.1. Technique de première intention

Lors du dépistage d'une infection par *T. gondii*, la recherche d'IgM et d'IgG est réalisée sur l'Alinity i (Abbott ®), dont les performances correspondent à celles de l'Architect ®. Il s'agit d'un dosage immunologique micro particulaire par chimiluminescence (CLIA) (*Annexe 1*).

Concernant ce kit de dépistage, la sensibilité pour la détection des IgM et des IgG est satisfaisante, globalement supérieure à 90 %, surtout pour les IgG, sauf pour les patients immunodéprimés bien qu'il reste fiable pour le dépistage chez les patients avec un faible titre en IgG (37). Néanmoins, une étude démontre une meilleure sensibilité pour la détection des IgG pour Vidas ® et Liaison ® par rapport à Architect ®, même lorsque les résultats de la zone d'incertitude sont considérés comme négatifs, ligne de conduite la plus sûre dans un contexte de dépistage de la toxoplasmose aiguë chez les femmes enceintes, permettant d'assurer un suivi pendant la grossesse (45). Une autre étude nous montre qu'Architect ® aurait une meilleure sensibilité pour la détection des IgG en cas de séroconversion, mais avec une persistance des IgG positifs dans les sérums de nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale pendant une durée plus longue que les deux autres tests auxquels il était comparé (45) ; or la négativation des IgG chez les enfants non infectés permet de conclure définitivement à l'absence de toxoplasmose.

La spécificité est excellente, avec des valeurs très proches de 100 % (*Tableau 2*) pour la détection des IgG (99,1 à 100%), ce qui est nécessaire pour le dépistage des femmes enceintes ; mais légèrement moins bonne pour les IgM (60,4 % à 100 %).

Cependant d'autres critères peuvent également être pris en compte pour évaluer les performances de ce test. En effet, lors d'une séroconversion, le diagnostic de toxoplasmose ne peut se faire que lors de l'apparition des IgG ; ainsi le délai de détection des IgG paraît être un point important lors du choix d'une technique. Celui-ci a été étudié sur 127 sérums de femmes enceintes, avec une apparition en deux semaines et un plateau en seize semaines (46). Dans une autre étude, l'impact du traitement de la mère pendant la grossesse sur la détection des immunoglobulines à la naissance a été évalué, montrant ainsi que bien que la sensibilité soit diminuée si un traitement avait été instauré, c'était Architect (Abbott ®) et Liaison (Diasorin ®) qui présentaient les meilleurs résultats, par rapport à Platelia (BioRad ®) et Vidas (BioMérieux ®) (38). De plus, Abbott ® montre une meilleure sensibilité dans la détection des IgG lorsque l'infection maternelle a lieu au 3^e trimestre, avec donc de très faibles taux voire une absence d'IgG chez le nouveau-né ; cela pourrait être expliqué par la composition antigénique du réactif qui permettrait une détection plus précoce des IgG néosynthétisées (38).

Le délai d'apparition des IgM, qui sont considérées comme un marqueur d'infection aiguë et comme un signal pour des investigations afin d'affirmer ou non une toxoplasmose aiguë, est également un critère intéressant à évaluer. Une étude montre des performances similaires pour Architect ® et Vidas ®, et une apparition plus tardive avec Liaison ® (45).

Ainsi, avec tous ces éléments, l'Alinity i ® (ou Architect ®) d'Abbot semble fiable pour toutes les situations cliniques concernant la sérologie de la toxoplasmose. De par sa spécificité et sensibilité élevées pour la détection des IgG et sa sensibilité pour la détection d'une séroconversion, il s'agit d'un test performant pour la détection d'infections récentes (41).

3.2. Technique de seconde intention

Lorsqu'un résultat apparaît douteux pour un sérum avec l'Alinity i ®, pour les IgM comme pour les IgG, celui-ci est contrôlé par une autre technique : Vidas ® (BioMérieux) afin de confirmer ou non les résultats précédemment obtenus. Il s'agit

d'un test quantitatif permettant la mesure des IgG ou IgM anti-toxoplasmiques par technique ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*).

La sensibilité de ce test pour la détection des IgM est variable selon les études avec des valeurs allant de 17,5 % chez les nouveau-nés à 81,8 % chez les femmes enceintes (*Tableau 1*). Elle est plus élevée pour la détection des IgG, avec des valeurs allant de 91,52 % à 95,5 %, sauf pour les patients immunodéprimés (37,8%) comme nous l'avons vu précédemment avec Alinity i® (*Tableau 2*).

La spécificité est en revanche excellente avec des valeurs très proches de 100 % pour la détection des IgM et des IgG, toutes populations confondues.

Ces paramètres, calculés dans une étude, ont montré une sensibilité plus élevée du Vidas® par rapport à l'Architect®, notamment dans la détection des IgM, l'absence de faux négatifs en IgM étant un élément important pour le dépistage des femmes enceintes (45). En revanche, concernant les IgG, ceux-ci étaient détectés plus tôt avec Architect® ou Liaison® par rapport au Vidas®. Les performances étaient similaires entre Vidas® et Architect® concernant le délai de détection des IgM en cas de séroconversion.

Chez les enfants suivis à la naissance mais sans toxoplasmose congénitale les IgG étaient détectées pendant une période moins longue avec Vidas® qu'avec les deux autres tests ; ceci permettant d'affirmer plus rapidement l'absence de toxoplasmose congénitale, bien que le suivi doive être réalisé pendant un an.

Les performances du Vidas® semblent donc être similaires avec des tests commerciaux plus récents ; avec même une meilleure sensibilité pour le dépistage (IgM et IgG) chez les femmes enceintes que d'autres tests tels que Liaison® ou Architect® (45). Dans les cas de séroconversion, Vidas® détecte les IgM aussi tôt que les autres tests, mais est moins puissant dans la détection précoce des IgG nouvellement synthétisées.

Pour résumer, le test Vidas® répond aux besoins des laboratoires de routine pour les petites séries en tant que test de dépistage de première ligne. Il est également adapté comme test de deuxième ligne pour les laboratoires experts, souvent sollicités pour des confirmations, grâce à sa haute spécificité.

3.3. Test d'avidité

Lorsque la situation l'exige, le calcul de l'indice d'avidité se réalise grâce à l'Alinity i[®] (Abbott) au CHU de Lille. Il s'agit d'un test immunologique par chimiluminescence en deux étapes (*Annexe 2*).

L'évaluation de quatre tests d'avidité (Architect[®], Vidas[®], Platelia[®], Liaison[®]) a été réalisée en 2013 chez des patients immunocompétents et immunodéprimés présentant une toxoplasmose aiguë ou chronique (42). Le test Vidas[®] a montré la meilleure performance pour le diagnostic d'une toxoplasmose latente. De son côté, Architect[®], utilisant des antigènes spécifiques des tachyzoïtes, P30 (SAG1) et P35 (GRA8), a démontré une meilleure performance pour le diagnostic d'infection latente mais avec présence d'IgM résiduelles. En outre, le test Architect[®] peut être utilisé pour éliminer une infection aiguë à *T. gondii* chez une femme enceinte, 100% des sérums de la phase aiguë ayant été détectés avec une faible avidité.

Le paramètre le plus important d'un test d'avidité étant sa capacité à détecter des avidités élevées en cas de toxoplasmose chronique, c'est, dans une autre étude, le test Vidas[®] qui a montré le plus de valeurs élevées, permettant une meilleure identification des infections anciennes. Cette observation est concordante avec d'autres études, qui indiquent également que le test d'avidité Vidas[®] est le plus précis pour détecter les infections datant de plus de quatre mois par rapport à d'autres tests commercialisés (45).

Une étude analysant les performances du test Architect[®] chez les femmes enceintes met en évidence qu'un indice d'avidité élevé en cas de positivité des IgG et des IgM est un bon indicateur qu'une infection aiguë (datant d'il y a moins de 4 mois) peut être exclue en utilisant ce test (41).

Partie 3 : Comparaison de deux kits de réactifs

1. Objectif du travail

L'objectif de ce travail est de comparer les performances du kit de dépistage de la toxoplasmose utilisé au CHU de Lille en première ligne (Alinity i ®) avec celles d'un autre kit : IDS-iSYS ®. Cette comparaison porte sur la sensibilité, la spécificité et la concordance entre ces deux tests ainsi que sur la cinétique d'apparition et de disparition des anticorps. Le but est de les situer par rapport aux nombreux réactifs existants et de fournir davantage de données pour une évaluation plus complète.

2. Matériel et méthodes

2.1. Échantillons et patients

Pour réaliser ce travail, un total de 169 échantillons de sérum a été analysé dont 134 ont permis la comparaison de la sensibilité, la spécificité et la concordance entre les deux tests et 35 ont été utilisés afin d'analyser les indices d'avidité obtenus.

Dans un premier temps, les 134 échantillons ont été sélectionnés selon les résultats obtenus en routine, formant ainsi 6 catégories :

- IgG + et IgM –
- IgG faiblement + et IgM –
- IgG+ et IgM +
- IgG – et IgM –
- IgG – et IgM + spécifiques
- IgG – et IgM + non spécifiques

Ceux-ci ont pu ensuite être divisés en trois groupes principaux, par l'analyse des données du patient et les tests de confirmation éventuels :

- **Groupe 1** : Surveillance sérologique de nouveau-nés de mères suspectées de séroconversion pendant leur grossesse (n = 41)
- **Groupe 2** : Surveillance de femmes enceintes (n = 78)
- **Groupe 3** : Regroupement des autres prélèvements comprenant des immunodéprimés (n = 4), des réactivations (n = 3), et des bilans d'adénopathies (n = 8).

D'autres parts, pour l'analyse des indices d'avidité entre les deux méthodes, 3 groupes sont également définis :

- **Groupe 1** : Toxoplasmose Acquise Récente (TAR)
- **Groupe 2** : Immunisation ancienne
- **Groupe 3** : Autres

Tous ces sérums ont été analysés en routine durant l'année 2023 au CHU de Lille, avec dans un premier temps un dépistage avec le kit Alinity Toxo[®] (IgM et IgG) et, dans les cas le nécessitant, une confirmation par Vidas Toxo[®] (IgM et IgG) et/ou par Western-Blot (LDBIO Toxo II IgG ou IgM[®]).

Ils ont été conservés depuis la date de leur analyse à -30°C, soit dans le service de Parasitologie-Mycologie, soit au Centre de Conservation des Échantillons (CDCE). Après le passage sur le deuxième automate testé (IDS-iSYS[®]), ils ont, de nouveau, été congelés, en cas d'erreur ou de passage supplémentaire nécessaire.

2.2. Principe des techniques

2.2.1. Alinity Toxo[®] (IgG et IgM)

Le dosage des IgG et des IgM par chimiluminescence permet la détermination quantitative des anticorps anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum ou le plasma du patient (*Annexe 1*).

- Pour les IgG, le dosage se réalise en deux étapes ; dans un premier temps l'incubation de l'échantillon pré-dilué avec des microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigènes recombinants de *T. gondii* (P30 = SAG 1 et P35 = GRA 8). Les anticorps spécifiques présents dans l'échantillon vont se lier aux microparticules recouvertes d'antigènes recombinants. Après une étape de lavage, un conjugué d'anticorps murins anti-IgG humaine, marqué à l'acridinium est ajouté pour former un mélange réactionnel. Après une période d'incubation et un second lavage, des solutions de pré-activation et d'activation sont ajoutées et la réaction de chimiluminescence résultante est mesurée en Unités Relatives de Lumière (URL).
- Le dosage des IgM se produit également en deux étapes, en commençant par l'incubation de l'échantillon pré-dilué avec des microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-IgM humaines (monoclonaux et provenant de souris). Les IgM présents dans l'échantillon, dont les IgM spécifiques anti-toxoplasmes, se lient aux microparticules recouvertes

d'anticorps anti-IgM humaines pour former un complexe anticorps-anticorps. Après une étape de lavage, un complexe [fragment f(ab')₂ (marqué à l'acridinium) d'anticorps dirigé contre l'antigène P30 du toxoplasme – lysat natif de *T. gondii* contenant l'antigène P30] est ajouté. Le mélange est incubé, et se forme alors un complexe anticorps-anticorps conjugué. Après un second lavage, les solutions de pré-activation et d'activation seront ajoutées pour permettre la réaction de chimiluminescence.

2.2.2. IDS-iSYS Toxo ® (IgG et IgM)

Il s'agit également d'une méthode basée sur le principe de la chimiluminescence (Annexe 3).

- Pour les IgG, l'échantillon du patient pré-dilué est incubé avec des particules magnétiques recouvertes d'antigènes purifiés de *T. gondii*. Après une étape de lavage, une immunoglobuline anti-IgG humaine spécifique marquée à l'acridinium est ajoutée. Les particules magnétiques sont ensuite capturées avec un aimant et un lavage est effectué pour éliminer tout analyte non lié. Les réactifs déclencheurs sont ajoutés et la lumière résultante émise par le marquage à l'acridinium est directement proportionnelle à la concentration d'analytes du mélange.
- Concernant les IgM, l'échantillon pré-dilué du patient est incubé avec des particules magnétiques recouvertes d'anticorps anti-IgM humaines. Après une étape de lavage, des antigènes purifiés de *T. gondii* spécifiques marqués à l'acridinium sont ajoutés. Les particules magnétiques sont alors capturées par un aimant et un lavage a lieu pour éliminer les analytes non liés. Les réactifs déclencheurs sont ensuite ajoutés et la lumière résultante émise par le marquage à l'acridinium est proportionnelle à la concentration d'analyte dans l'échantillon.

2.3. Analyses statistiques

La concordance réelle entre le réactif de dépistage au laboratoire (Alinity, Abbott ®) et le réactif IDS sur iSYS a été étudiée par le coefficient κ de Cohen dont l'interprétation est la suivante :

- 0,8 à 1 = concordance parfaite
- 0,6 à 0,8 = concordance moyenne

- $< 0,6$ = concordance imparfaite

Ce test permet d'évaluer la proportion de l'accord observé par rapport à l'accord qui pourrait être dû au hasard. Un κ de 1 correspond à un accord parfait, tandis qu'un κ de 0 est un accord par hasard.

Les comparaisons entre les réactifs ont été analysées par le logiciel GraphPad Prism (version 8), pour les corrélations et les calculs de sensibilité et de spécificité.

3. Résultats

3.1. Résultats globaux

3.1.1. Corrélation

Nous avons calculé la corrélation entre les valeurs obtenues pour les IgG avec Alinity® et iSYS®, ainsi qu'entre les valeurs d'IgM de ces deux tests. Pour les IgG, il existe une faible corrélation, de l'ordre de 0,63 (*Figure 14*). Elle est légèrement meilleure pour les IgM, avec un coefficient de corrélation de 0,86 (*Figure 14*).

Les valeurs seuils n'étant pas identiques, la dispersion des valeurs entre les deux réactifs ne permet pas d'établir une corrélation linéaire. Ces réactifs ne sont donc pas superposables et l'un ne peut pas remplacer l'autre.

Correlation		A IgG Alinity vs. IgG YSIS
1	Pearson r	
2	r	0.6293
3	95% confidence interval	0.5147 to 0.7219
4	R squared	0.3961
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	<0.0001
8	P value summary	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	134

Correlation		A IgM Alinity vs. IgM YSIS
1	Pearson r	
2	r	0.8628
3	95% confidence interval	0.8120 to 0.9006
4	R squared	0.7444
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	<0.0001
8	P value summary	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	134

Figure 14 : Calcul des coefficients de corrélation pour les IgG et les IgM

3.1.2. Sensibilité et spécificité

Dans notre cohorte, nous retrouvons avec l'Alinity ®, pour les IgG, une sensibilité de 98,25 % associée à une spécificité de 90,70 %. Pour les IgM, la sensibilité est de 90,74 % et la spécificité de 91,25 % (Tableau 3).

Avec l'iSYS ®, la sensibilité et la spécificité sont respectivement de 97,78 % et 97,73 % pour les IgG et de 96,30 % et 90,0 % pour les IgM (Tableau 3).

Tableau 3 : sensibilité et spécificité (IgM et IgG) par Alinity ® et iSYS ®

	Sensibilité (IC 95%)	Spécificité (IC 95%)
Alinity Toxo IgM ®	90,74 (80,09-95,98)	91,25 (83,02-95,70)
iSYS Toxo IgM ®	96,30 (87,46-99,34)	90,00 (81,49-94,85)
Alinity Toxo IgG ®	98,25 (95,95-100)	90,70 (78,40-96,32)
iSYS Toxo IgG ®	97,78 (92,26-99,61)	97,73 (88,19-99,88)

3.1.3. Concordance

Pour les IgM, afin de calculer le coefficient κ pour la concordance entre les deux tests, nous avons dans un premier temps considéré les résultats douteux (avec iSYS ®) comme étant positifs, puis comme étant négatifs. Il n'y a pas de différence significative entre ces deux modes de calcul, car le coefficient κ était de 0,66 dans le premier cas et de 0,659 dans le second (Tableau 4).

Tableau 4 : Calcul du coefficient kappa (IgM)

		Routine		
		Pos	Neg	Total
iSYS	Pos	43	9	52
	Neg(+4 dtx)	13	69	82
	Total	56	78	134

	A	B	Total
A	43	9	52
B	13	69	82
Total	56	78	134

Number of observed agreements: 112 (83,58% of the observations)
Number of agreements expected by chance: 69,5 (51,84% of the observations)

Kappa= 0,659
SE of kappa = 0,066
95% confidence interval: From 0,529 to 0,789

Pour les IgG, nous avons donc directement considéré les résultats douteux comme étant négatifs (ligne de conduite la plus sûre pour le dépistage des femmes enceintes), avec un coefficient κ de 0,88 (*Tableau 5*).

Tableau 5 : Calcul du coefficient Kappa (IgG)

		Routine		
		Pos	Neg	Total
IDS-iSYS	Pos	88	1	89
	Neg	6	39	45
	Total	94	40	134

Quantify agreement with kappa results			
	A	B	Total
A	88	1	89
B	6	39	45
Total	94	40	134

Number of observed agreements: 127 (94.78% of the observations)
 Number of agreements expected by chance: 75.9 (56.62% of the observations)

Kappa= 0.880
 SE of kappa = 0.044
 95% confidence interval: From 0.793 to 0.966

Ainsi, la concordance est considérée comme « parfaite » pour les IgG, mais reste moyenne pour les IgM.

3.2. Résultats par groupe

3.2.1. Corrélation

Dans les différents groupes formés, les corrélations entre Alinity Toxo ® et IDS-iSYS Toxo ® sont les suivantes (*Annexe 4*) :

- Dans le **groupe 1** : la corrélation est de 0,60 pour les IgG et de 0,79 pour les IgM.
- Dans le **groupe 2** : la corrélation est de 0,60 pour les IgG et de 0,87 pour les IgM.
- Dans le **groupe 3** : la corrélation est de 0,89 pour les IgG et 0,55 pour les IgM.

3.2.2. Sensibilité et spécificité

Après avoir calculé la sensibilité et la spécificité globale de chacune des deux techniques, nous avons ensuite calculé ces données pour chacun des trois groupes.

Nous observons, pour les IgM, une sensibilité plus élevée pour les groupes 1 et 2 avec iSYS ®, avec des valeurs respectives de 50% et 95,56 % par rapport à Alinity

® (30% et 74,14 %). Pour le groupe 3, nous retrouvons une sensibilité de 100% avec les deux réactifs (*Tableau 6*).

A l'inverse, la spécificité est plus élevée pour l'Alinity ® dans les groupes 1 et 3, pour lesquels la valeur est de 100 %, contre 83,87% et 72,73% pour iSYS ®. En revanche, pour le groupe 2, c'est avec iSYS ® que la spécificité est de 100% contre 70% avec Alinity ® (*Tableau 6*).

Tableau 6 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des IgM entre Alinity ® et iSYS ®

	Sensibilité en % (IC à 95%)			Spécificité en % (IC à 95%)		
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Alinity	30 (10,78 à 60,32)	74,14 (61,62 à 83,65)	100 (51,01 à 100)	100 (88,97 à 100)	70 (48,10 à 85,45)	100 (74,12 à 100)
iSYS	50 (23,66 à 76,34)	95,56 (85,17 à 99,21)	100 (51,01 à 100)	83,87 (67,37 à 92,91)	100 (89,57 à 100)	72,73 (43,44 à 90,25)

Le calcul de la sensibilité des IgG ne montre pas de différences significatives entre Alinity ® et iSYS ®, qu'il s'agisse du groupe 2 ou du groupe 3 ; avec des valeurs de 96,49 % et 100% pour l'Alinity ® et de 98,15 et 100 % pour l'iSYS ® (*Tableau 7*). La spécificité, pour le groupe 2, est semblable entre l'Alinity ® et l'iSYS ®, avec des valeurs respectives de 95,24 % et 95,83%. En revanche, pour le groupe 3, nous observons une spécificité de 100 % pour l'iSYS contre 87,50 % pour l'Alinity ® (*Tableau 7*).

La sensibilité et la spécificité n'ont pas été calculées dans le groupe 1, car s'agissant de nouveau-nés, le transfert passif des IgG maternelles pourrait interférer avec les résultats.

Tableau 7: Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des IgG entre Alinity® et iSYS®

	Sensibilité en % (IC à 95%)			Spécificité en % (IC à 95%)		
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Alinity		96,49 (98,08 à 99,38)	100 (64,57 à 100)		95,24 (77,33 à 99,76)	87,50 (52,91 à 99,36)
iSYS		98,15 (90,23 à 99,91)	100 (56,55 à 100)		95,83 (79,76 à 99,79)	100 (72,25 à 100)

3.3. Indices d'avidité

Concernant le calcul des indices d'avidité, nous observons trois résultats douteux lors du passage sur l'iSYS®. Parmi ces trois résultats douteux, pour deux d'entre eux, l'avidité était forte lors du calcul avec l'Alinity®, correspondant à une infection ancienne. Pour le dernier, l'avidité calculée avec l'Alinity® était faible. Il s'agissait, en effet, d'une infection récente prouvée (uvéïte).

Cependant, pour une patiente chez laquelle la séroconversion était prouvée, et dont l'avidité avait posé un problème en routine avec un premier passage sur Alinity® et un second passage sur Vidas®, l'iSYS® nous rendait ici une avidité faible correspondant à la séroconversion récente.

3.4. Cinétiques

3.4.1. **Nouveau-nés**

Nous avons étudié les cinétiques d'apparition et de disparition des IgG et IgM dans le groupe 1. Pour ce faire, nous l'avons divisé en 2 sous-groupes : d'une part les nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale, chez qui nous pouvons observer une disparition des IgG (d'origine maternelle) au cours du temps ; et d'autre part, les nouveau-nés présentant une toxoplasmose congénitale.

Concernant les nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale, nous mettons en évidence une diminution des IgG équivalente entre Alinity® et iSYS®, sauf dans le cas 1, avec une très légère ré-augmentation sur le dernier échantillon avec iSYS® (Tableau 8). Pour le cas 6, la valeur était encore douteuse en septembre avec Alinity

® (zone d'incertitude = 1,6 à 3, *Annexe 1*), alors qu'elle était déjà négative avec iSYS ®.

Pour les IgM, nous retrouvons deux cas (cas 2 et 5) pour lesquels les premières valeurs sont positives ou douteuses avec iSYS (seuil de positivité = 16,5, *Annexe 3*), alors qu'elles sont négatives avec Alinity ® (*Tableau 8*).

Tableau 8 : cinétique des anticorps pour 7 cas de nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale

Cas n°	Dates des échantillons	IgG (UI/mL)		IgM	
		Alinity ®	iSYS ®	Alinity ®	iSYS ®
		< 1,6 : négatif 1,6 à 3 : équivoque ≥ 3 : positif	< 1,2 : négatif 1,2 à 1,8 : équivoque ≥ 1,8 : positif	<0,5 : négatif 0,5 à 0,6 : équivoque ≥ 0,6 : positif	<13,5 : négatif 13,5 à 16,5 : équivoque ≥ 16,5 : positif
1	28/07/2023	94	11,7	0,06	5,54
	01/09/2023	45,1	6,5	0,05	3,17
	19/09/2023	31,5	7,4	0,05	5,42
2	18/08/2023	50,2	24,6	0,04	21,19
	28/09/2023	19,9	7,7	0,04	4,58
3	14/08/2023	71,6	10,2	0,05	5,33
	14/09/2023	35,9	7,2	0,06	2,20
	17/10/2023	18,7	4,3	0,05	0,0
4	06/09/2023	43,6	5,5	0,07	0,0
	09/10/2023	24,6	3,6	0,05	4,11
	13/12/2023	8,4	1,9	0,05	1,36
5	20/08/2023	115,3	15,6	0,06	15,29
	23/08/2023	112,5	10,4	0,05	17,83
	27/09/2023	61,4	6,8	0,05	1,77
6	15/09/2023	1,8	0,2	0,06	1,58
	16/10/2023	1,0	0,0	0,08	3,24
7	27/07/2023	0,09	0,0	0,06	7,26
	12/10/2023	0,4	0,0	0,08	8,87

Chez les nouveau-nés atteints de toxoplasmose congénitale, à l'inverse, nous pouvons observer une élévation des IgG jusqu'à un plateau, leur conférant une immunité protectrice ; et une diminution voire négativation des IgM. Celles-ci se négativent plus rapidement, dans le cas 2, avec Alinity ®, par rapport à iSYS ® (Tableau 9).

Tableau 9 : Cinétique des anticorps pour 3 cas de nouveau-nés avec toxoplasmose congénitale

Cas n°	Dates des échantillons	IgG (UI/mL)		IgM	
		Alinity ®	iSYS ®	Alinity ®	iSYS ®
		< 1,6 : négatif 1,6 à 3 : équivoque ≥ 3 : positif	< 1,2 : négatif 1,2 à 1,8 : équivoque ≥ 1,8 : positif	<0,5 : négatif 0,5 à 0,6 : équivoque ≥ 0,6 : positif	<13,5 : négatif 13,5 à 16,5 : équivoque ≥ 16,5 : positif
1	01/09/2023	68,2	78	0,21	12,55
	16/10/2023	86,8	78	0,18	6,14
	05/12/2023	33,3	78	0,06	8,76
2	07/07/2023	157,8	25,1	2,51	>200
	05/09/2023	453,1	75,1	0,30	23,40
3	01/08/2023	33,4	9,9	0,06	3,67
	17/10/2023	29,7	11,1	0,10	5,03

3.4.2. Femmes enceintes

Nous avons procédé à la même évaluation pour les femmes du groupe 3 ayant contracté une toxoplasmose pendant la grossesse.

Dans un cas (cas 2), nous observons une apparition plus rapide des IgG avec l'Alinity ® qu'avec l'iSYS ® (Figure 22). En revanche, pour les IgM, dans 2 cas (cas 4 et 5), l'apparition des IgM est plus précoce avec l'iSYS ® qu'avec l'Alinity ® (Tableau 10), permettant d'effectuer des analyses supplémentaires ainsi qu'une éventuelle prise en charge plus rapide.

Tableau 10 : Cinétique des anticorps pour 6 cas de femmes enceintes avec séroconversion pendant la grossesse

Cas n°	Dates des échantillons	IgG		IgM	
		Alinity® < 1,6 : négatif 1,6 à 3 : équivoque ≥ 3 : positif	iSYS® < 1,2 : négatif 1,2 à 1,8 : équivoque ≥ 1,8 : positif	Alinity® <0,5 : négatif 0,5 à 0,6 : équivoque ≥ 0,6 : positif	iSYS® <13,5 : négatif 13,5 à 16,5 : équivoque ≥ 16,5 : positif
1	11/01/2023	6	2,4	2,14	35,92
	08/02/2023	77	16	1,56	31,56
2	20/09/2023	4	0,4	6,79	200
	11/10/2023	21	6,6	6,96	200
3	31/03/2023	103	64,8	14,81	>200
	30/04/2023	166	78,0	13,2	>200
4	18/03/2023	0,0	0,0	0,12	24,58
	15/04/2023	6,7	3,0	2,21	74,09
5	25/07/2023	0,1	0,0	0,06	22,20
	31/08/2023	127,1	23,4	11,96	>200
6	25/04/2023	0,0	0,0	0,07	5,5
	21/07/2023	197,1	25,9	14,26	200

4. Discussion

La diversité des réactifs disponibles, provenant de différents fournisseurs, soulève une problématique importante en raison des variations de performances qu'ils présentent. Il est donc essentiel de les évaluer et de les comparer afin de déterminer celui qui offre le meilleur équilibre entre sensibilité et spécificité. En outre, les objectifs de dépistage variant en fonction des populations testées, cela doit être pris en compte lors du choix du réactif le plus adapté.

En ce qui concerne notre étude, la sensibilité et la spécificité de détection des IgG et des IgM par Alinity i® ont été évaluées par le fournisseur (Abbott®) sur 2464 échantillons provenant d'une large population constituée de femmes enceintes, de

patients hospitalisés et donneurs de sang. Pour les IgG, la valeur de sensibilité donnée par le fournisseur est de 99,7% (*Annexe 1*), comparable à celle que nous avons calculée sur la population totale (98,25 %, *Tableau 3*). En revanche, la spécificité que nous avons estimée en prenant en compte la globalité de notre population (90,7 %, *Tableau 3*) semble diminuée comparée à celle donnée par le fournisseur (99,6%, *Annexe 1*). Le risque de faux positifs avec le réactif d'Abbot® (Architect dans cette étude) a été étudié et pourrait être lié à une réactivité contre l'antigène P35 (GRA 8), utilisé par Abbott® et présent chez d'autres parasites tels que *Hammondia hammondi* ou *Neospora caninum* (47). L'étude plus approfondie de possibles réactivités croisées doit donc être réalisée.

Concernant les IgM, une étude a également été réalisée par le fabricant (Abbott®) sur 2772 échantillons, dans le but de fournir une spécificité relative comparable à celle d'un dosage Toxo IgM de comparaison (*Annexe 1*). Sur la population totale, il était retrouvé une spécificité de 99,89 %, une valeur supérieure à celle que nous retrouvons dans notre étude (91,25%, *Tableau 3*). Il en est de même pour la population des femmes enceintes, pour qui Abbott® fournit une valeur de spécificité de 99,95 %, alors que nous calculons une valeur de 70% (*Tableau 6*). Cependant, notre cohorte présente un biais de sélection, car nous avons choisi des échantillons présentant des IgM non spécifiques afin de comparer les résultats avec obtenus avec iSYS®.

La sensibilité et la spécificité (IgG et IgM) du second réactif testé, iSYS® ont également été calculées par le fournisseur (IDS®). La valeur de spécificité relative fournie par IDS® pour les IgG est de 100 % (*Annexe 3*), légèrement plus élevée que la valeur que nous avons calculée (97,73 %, *Tableau 3*), offrant une très bonne fiabilité des résultats. Il en est de même pour la sensibilité, pour laquelle la valeur du fournisseur (97,6 %, *Annexe 3*) est comparable à celle calculée dans notre étude (97,78 % *Tableau 3*). Pour les IgM, les valeurs calculées par IDS® permettent de prédire d'excellentes performances, avec une spécificité de 100% et une sensibilité de 96,6 % (*Annexe 3*). Pour ce qui est de notre étude, la spécificité n'est que de 90,0 %, mais la sensibilité est, elle, similaire à celle fournie par IDS (96,3%, *Tableau 3*).

En nous intéressant plus spécifiquement au groupe des nouveau-nés (groupe 1), nous constatons une faible sensibilité des deux réactifs pour la détection des IgM (30% pour Alinity® et 50% pour iSYS®, *Tableau 6*), ce qui présente un risque non négligeable de faux négatifs et pourrait entraîner un retard dans le diagnostic de la toxoplasmose chez les nouveau-nés. Cette faible sensibilité est confirmée dans la

littérature pour le réactif d'Abbott ® chez les nouveau-nés mais n'a pas encore fait l'objet d'étude dans ce type de population pour IDS ® (33). Pour deux cas de nouveau-nés atteints de toxoplasmose congénitale dans notre cohorte, les IgM étaient détectées par iSYS ® mais pas avec Alinity ®, le test de confirmation par ISAGA étant également positif. Cela met en évidence un des problèmes potentiels avec la détection des IgM, lorsque ceux-ci sont présents à de faibles taux, comme c'est souvent le cas chez les nouveau-nés. Une autre étude souligne ce risque de faux négatifs en IgM chez les nouveau-nés, avec 9 échantillons positifs en IgM avec ISAGA mais négatifs avec un test immunoenzymatique (Liaison ®) mettant en évidence l'importance d'une confirmation par une deuxième méthode lors de la suspicion d'une infection (35). Ces tests ayant une sensibilité diminuée, il est préférable d'utiliser d'autres réactifs chez le nouveau-né. Le test ISAGA n'étant plus commercialisé depuis mai 2024, il a été établi que c'est le réactif de Biorad ® (Platelia Toxo IgM) qui serait le plus adapté pour le remplacer (33,38). Celui-ci présente en effet une sensibilité, une spécificité et une précision semblables à celles de l'ISAGA. Il semblerait qu'il soit donc le plus approprié pour devenir le test de référence pour le diagnostic de la toxoplasmose chez les nouveau-nés de mères infectées pendant la grossesse. La faible spécificité pour la détection des IgM pour le réactif d'IDS ® (83,87 %, *Tableau 6*) ne le rend pas compatible pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale.

Pour rappel, le dépistage chez les femmes enceintes nécessite un test spécifique présentant peu de faux positifs en IgG, afin d'éviter de considérer à tort une femme comme immunisée, ce qui pourrait entraîner un manque de suivi et de précautions d'hygiène. Le test doit également avoir une sensibilité élevée dans la détection des IgM pour éviter les faux négatifs et permettre une détection rapide de l'infection, ainsi que la mise en place d'un traitement. Pour la détection des IgG, les deux réactifs présentent une spécificité équivalente (95,83 % pour iSYS ® et 95,24 % pour Alinity ®, *Tableau 7*), mais la sensibilité est légèrement plus élevée avec iSYS ® (98,15 % contre 96,49 % avec Alinity ®, *Tableau 7*), ce qui permet le rendu de résultats fiables dans cette catégorie de population à risque. Concernant les IgM, iSYS ® présente de meilleures performances dans ce groupe, avec une spécificité de 100 % (contre 70 % pour Abbott ®, *Tableau 6*), et une sensibilité de 95,56 % (contre 74,14 % pour Abbott ®, *Tableau 6*). Dans 5 cas de discordance entre les deux réactifs, des IgM sont détectées avec Alinity ® (mais négatives ou douteuses avec iSYS ®) et correspondent à des IgM résiduelles persistantes d'une infection ancienne. Nous

pouvons nous interroger sur la véritable interprétation de ces résultats, et s'ils doivent être considérés comme de faux positifs. Cela peut dépendre du nombre de tests déjà effectués ; s'il s'agit du premier, il pourrait y avoir une crainte d'infection aiguë alors qu'il s'agit en réalité d'une infection ancienne (sans risque particulier pendant la grossesse), entraînant une anxiété inutile et des tests supplémentaires non nécessaires. Une division de ce groupe en sous-catégories (infection ancienne, infection récente et absence d'infection) permettrait des résultats plus précis quant aux performances de ces tests.

La détection des anticorps IgM résiduels est courante chez les patients atteints de toxoplasmose chronique. Pour éviter des diagnostics erronés d'infections aiguës, il serait préférable de sélectionner des tests ayant une capacité réduite à détecter ces IgM résiduelles. Une autre approche consisterait à développer davantage de tests utilisant des antigènes recombinants qui ne seraient pas reconnus par les IgM résiduelles, afin d'améliorer la précision des diagnostics (48).

De plus, des IgM de spécificité douteuse sont présentes dans 5 autres cas avec Alinity® et ne sont pas retrouvées avec iSYS®. Une étude menée en 2005 aux Etats-Unis soulignait déjà le nombre élevé de faux positifs pour la détection des IgM avec les tests commerciaux signalant une réactivité erronée envers un antigène de faible poids moléculaire de *T. gondii*, sans lien avec une infection aiguë (49).

Pour le dernier groupe (immunodéprimés et bilans d'adénopathies), les IgM retrouvées avec iSYS® sont peu spécifiques (72,7 %, *Tableau 6*) avec des cas d'infections virales (EBV et HHV6, famille des *Herpesviridae*). Ces résultats sont cependant peu représentatifs compte tenu du faible nombre d'échantillons dans ce groupe.

La multiplicité des kits de réactifs disponibles sur le marché entraîne des difficultés d'interprétation, qui sont accentuées par l'absence de standardisation des seuils significatifs des différentes techniques. L'expression des résultats en unités internationales (UI) ajoute une confusion supplémentaire, car elle suggère à tort une standardisation des valeurs observées. En réalité, les réactifs utilisent des préparations antigéniques différentes, empêchant toute correspondance directe entre les titres obtenus par les différentes techniques (50). Chaque fabricant va ainsi établir le seuil de son réactif de façon à trouver le meilleur compromis entre sensibilité et spécificité.

Les antigènes multiépitopiques chimériques, intégrant plusieurs épitopes de plusieurs antigènes, représentent un nouvel outil prometteur pour la détection des anticorps spécifiques de *Toxoplasma gondii* (35,48). Ces antigènes recombinants sont couramment utilisés dans les tests ELISA et Western-Blot pour l'identification des IgM, IgG et IgA, ainsi que dans les tests d'avidité des IgG, comme l'Architect IgG avidité® (Abbott®), qui offre une bonne spécificité et sensibilité. L'utilisation d'antigènes recombinants, qu'ils soient utilisés seuls, en mélange, ou sous forme de protéines chimériques, présente plusieurs avantages : meilleure standardisation des kits, réduction des coûts de production et augmentation de la probabilité de différencier les phases de l'infection. Toutefois, des défis demeurent, notamment une sensibilité potentiellement inférieure des tests utilisant ces antigènes par rapport à ceux utilisant des antigènes natifs. C'est en effet ce qui est observé ici, avec une sensibilité légèrement diminuée avec Alinity® de manière globale, utilisant les antigènes recombinants P30 (SAG 1) et P35 (GRA 8), par rapport à iSYS®, qui utilise un lysat d'antigènes natifs. Les différentes stratégies de clonage et méthodes de purification des protéines peuvent également influencer la sensibilité et la spécificité des tests, ce qui souligne la nécessité de poursuivre les études pour surmonter les défis liés au remplacement des antigènes natifs par des antigènes recombinants.

Pour le test d'avidité, les résultats obtenus avec iSYS® ne montrent pas d'aberrations par rapport à ceux obtenus en routine avec Alinity®, mais ils révèlent un plus grand nombre de résultats douteux (avidité intermédiaire) qui ne permettent pas de conclure sur la date d'infection. De plus, les instructions des fournisseurs diffèrent entre les deux tests (*Annexes 2 et 5*) :

- En cas de de résultat positif pour les IgG, sans IgM et avec une avidité élevée ; Alinity® interprète ce cas comme une infection ancienne, suggérant fortement une infection survenue plus de quatre mois auparavant. En revanche, iSYS® considère simplement cela comme une infection passée, sans préciser le délai, ce qui complique la datation de l'infection, qui est l'objectif principal du calcul de l'indice d'avidité.
- Si les IgG et IgM sont positives avec un faible indice d'avidité, Alinity® ne fournit pas d'interprétation précise et recommande de refaire une analyse (IgG + IgM) sur un nouvel échantillon prélevé trois semaines plus tard. A l'inverse iSYS® conclut à une infection primaire récente, susceptible d'avoir été contractée au cours des deux mois précédant le prélèvement.

- En cas de résultat positif pour les IgG et les IgM, mais avec un indice d'avidité élevé, Alinity ® identifie une infection ancienne, indiquant fortement une infection survenue plus de quatre mois auparavant. Cependant, iSYS ® laisse planer une incertitude, suggérant une infection récente ou passée avec une présence encore élevée d'IgM. Cette approche d'iSYS ® rend plus difficile la datation précise de l'infection, en particulier pour remonter plus loin dans le temps et affirmer une séroconversion antérieure à la grossesse, ce qui est plus aisément possible avec Alinity ®.

La détermination de la date de l'infection est cruciale lorsque les échantillons de sérums présentent des anticorps IgG et IgM positifs. Les tests d'avidité permettent donc de distinguer une infection datant de plus de quatre mois (pour la plupart) d'une infection récente. Cependant, comme le précisent les instructions du fabricant, il s'agit avant tout d'un test d'exclusion : un indice d'avidité élevé est une forte indication d'une infection datant de plus de 4 mois (51).

La notice d'utilisation de l'Alinity ® précise que les résultats d'avidités faibles ne peuvent pas être utilisés pour le diagnostic d'une toxoplasmose aiguë, ce qui n'est pas le cas pour celle d'iSYS ® qui définit qu'un faible indice d'avidité correspondrait à une infection récente susceptible d'avoir été contractée dans les deux mois précédents. Le peu de données existantes pour ce réactif ne permet pas de confirmer cette interprétation, des études plus approfondies nécessiteraient d'être menées.

La comparaison des résultats d'IgG anti-*T.gondii* obtenus par deux méthodes sérologiques utilisant différentes cibles antigéniques (antigènes membranaires ou antigènes cytosoliques) s'est révélée être une approche fiable pour estimer la date de l'infection. Des titres en IgG dirigés contre les antigènes cytoplasmiques plus faibles que ceux observés contre des antigènes membranaires sont indicatifs d'une infection récemment acquise. Le ratio des dosages d'IgG utilisant ces cibles antigéniques différentes a été validé et une étude a été menée par le CHU de Nice montrant une interprétation possible des ratio IgG Vidas/ IgG Architect (51). Cela permet la discrimination entre une infection aiguë ou ancienne, en association avec le résultat des autres isotypes (IgM et IgGA) :

- Un ratio supérieur à 1 étant en faveur d'une infection de plus de quatre mois
- Un ratio inférieur à 1 suggérant très probablement une infection aiguë

Pour finir, le délai d'apparition des différentes classes d'anticorps est un critère essentiel lors du choix de réactif. Chez les nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale, les résultats attendus sont une disparition des IgG d'origine maternelle ainsi qu'une absence d'IgM, ce que nous retrouvons dans notre étude avec les deux réactifs testés. Toutefois, un cas a été observé pour lequel les IgG persistaient avec iSYS ® alors qu'elles s'étaient déjà négativées avec Alinity ® (*Tableau 8*). Il a été démontré dans la littérature que la positivité des IgG chez les nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale persiste plus longtemps avec Architect ® qu'avec les deux autres tests étudiés (Vidas ® et Liaison ®) (45). Il est avantageux pour un test de détecter la clairance des IgG le plus tôt possible, la négativation des IgG après un an permettant l'arrêt du suivi post-natal. En outre, dans plusieurs cas, des IgM non spécifiques ont été détectées avec iSYS ® mais non retrouvées avec Alinity ®. Cependant, nous manquons encore de données dans la littérature concernant iSYS ®, en particulier sur les IgM.

Chez les nouveau-nés atteints de toxoplasmose congénitale, nous observons une séroconversion caractérisée par une diminution des IgM et l'apparition, suivie d'une augmentation progressive des IgG jusqu'à atteindre un plateau. Dans un cas, la disparition des IgM a été plus rapide avec Alinity ® par rapport à iSYS ® (*Tableau 9*), bien que cet exemple soit peu représentatif en raison du peu de cas de toxoplasmoses congénitales confirmées dans notre cohorte. Plusieurs études ont mis en évidence un délai différent avant la détection des IgG chez les nouveau-nés de mères infectées pendant la grossesse, avec un avantage significatif pour Architect ® (38). La meilleure sensibilité du test d'Abbott ®, surtout lorsque l'infection maternelle est survenue au troisième trimestre de grossesse (avec donc un taux très faible voire une absence d'IgG), permet une détection plus précoce des IgG néosynthétisées.

Chez les femmes enceintes infectées, le délai d'apparition des IgG est essentiel, car il constitue une preuve de séroconversion. Dans un des cas de notre étude, l'apparition des IgG a été observée plus tôt avec Alinity ® (*Tableau 10*). A l'inverse, deux cas ont montré une apparition précoce des IgM avec iSYS ®, soulignant l'importance du délai de détection des IgM, un critère nécessaire pour déclencher des investigations supplémentaires afin de confirmer ou infirmer une infection. Un article comparant le délai d'apparition des IgG entre Architect ® et Vidas ® a mis en évidence que les IgG apparaissent plus tôt avec Architect ® (2 semaines après l'infection contre 3,6 semaines avec Vidas ®), bien qu'un plateau soit atteint avec les deux tests

à 16 semaines (46). Une autre étude a montré un délai médian de détection des IgG de 21 jours avec Architect ® et de 22 jours avec iSYS ®, offrant au moins dix jours d'avance par rapport aux autres tests (52). La capacité à détecter rapidement une séroconversion toxoplasmique varie entre les tests, un facteur important à considérer lors du choix des réactifs pour réduire au maximum le temps avant intervention thérapeutique. Architect ® semble le plus performant pour détecter une séroconversion, bien qu'il soit difficile de conclure définitivement en raison du nombre limité de sérums disponibles autour de la date d'infection (45,46),.

Conclusion

La toxoplasmose congénitale demeure un enjeu de santé publique, ce qui a conduit la France à instaurer un programme de dépistage prénatal depuis les années 1970. Ce suivi des femmes enceintes, ainsi que de leur nourrisson à la naissance, constitue l'essentiel de l'activité de dépistage de la toxoplasmose. De plus, avec l'avènement des biothérapies créant un risque d'immunodépression profonde, il est nécessaire de pouvoir dépister efficacement les patients immunodéprimés, pour qui la toxoplasmose reste une pathologie opportuniste. La diversité des tests disponibles rend essentielle leur constante évaluation et comparaison. Cette étude confirme ainsi la fiabilité du réactif d'Abbott® (Alinity®), utilisé en première ligne au CHU de Lille, ainsi que celle d'un réactif moins étudié (iSYS®). Elle souligne également l'importance des tests de confirmation avant le rendu d'un résultat.

Les performances variant d'un kit à l'autre, il est primordial que le suivi soit effectué dans le même laboratoire, en utilisant systématiquement le même réactif.

Annexes

Annexe 1 : Notice d'utilisation Alinity® IgG et IgM

Alinity i

Toxo IgG



Faire attention aux modifications : Révision de décembre 2019.

REF 07P4522

REF 07P4532

Suivre scrupuleusement les instructions. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

DENOMINATION

Alinity i Toxo IgG Reagent Kit

DOMAINE D'APPLICATION

Le dosage Alinity i Toxo IgG est un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) utilisé pour la détermination quantitative des anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum et le plasma humains sur l'analyseur Alinity i.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Toxoplasma gondii est un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire qui infecte la plupart des espèces d'animaux à sang chaud, y compris l'homme.¹ La toxoplasmose est contractée en premier lieu par ingestion de viande infectée insuffisamment cuite, par les oocystes présents sur les mains, les aliments et l'eau contaminés par des matières fécales et est transmise de la mère à l'enfant par transmission transplacentaire.² En outre, une transmission liée à une transplantation d'organes et survenant au cours d'une transfusion sanguine a été rapportée, bien que le risque de transmission par transfusion sanguine soit extrêmement bas.³ Chez les sujets sains, une infection acquise par *Toxoplasma gondii* se déroule généralement de façon asymptomatique, cependant 10 à 20 % des patients souffrant d'infection aiguë peuvent développer une lymphadénopathie.⁴

Des infections graves peuvent se produire chez les patients atteints du SIDA, chez les adultes immunodéprimés à la suite d'une chimiothérapie anticancéreuse ou chez les receveurs de greffes sous traitement par immunosuppresseurs. Ces infections peuvent être fatales. L'encéphalite toxoplasmique est la manifestation la plus commune et la cause la plus fréquente de lésions en foyer du système nerveux central chez les patients atteints du SIDA.⁵

Une primo-infection au cours de la grossesse peut entraîner la transmission transplacentaire du parasite et provoquer une infection congénitale. Le risque d'infection congénitale est au plus bas (10 à 25 %) si l'infection aiguë de la mère intervient au cours du premier trimestre et au plus haut (60 à 90 %) si elle intervient au cours du troisième trimestre.² La gravité de l'infection congénitale est plus élevée lorsque l'infection de la mère intervient au début de la grossesse. Les manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale comprennent la chorioretinite, les calcifications intracrânielles et l'hydrocéphalie. La majorité des nourrissons contaminés à un moment plus tardif de la grossesse est asymptomatique à la naissance, avec des séquelles qui apparaissent plus tard.

Il a été démontré que le traitement précoce suite au diagnostic prénatal de l'infection par *Toxoplasma gondii* réduit la fréquence et la gravité de la toxoplasmose congénitale.⁶ Des tests sérologiques permettent d'identifier les femmes séronégatives devant donc être suivies tout au long de la grossesse.

La présence d'anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* indique que l'infection a eu lieu mais ne permet pas de différencier une infection récente d'une infection ancienne. Les anticorps IgM sont détectés chez les individus atteints d'une infection récente, mais des anticorps peuvent persister jusqu'à 18 mois après l'infection.² Afin de différencier une infection récente d'une infection ancienne,

l'avidité des IgG doit être analysée pour les échantillons positifs pour les anticorps IgG et IgM. Un indice d'avidité élevé des anticorps IgG est un fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant.

Toxo IgG	Toxo IgM	Avidité Toxo IgG	Peut indiquer.../ Analyses recommandées
non réactif	non réactif	N/A	absence d'infection
non réactif	réactif	N/A	obtenir un nouvel échantillon 2 à 3 semaines après l'échantillon initial et analyser les IgG et IgM anti-Toxo
réactif	non réactif	avidité élevée	infection ancienne. Fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant
réactif	réactif	avidité faible	obtenir un nouvel échantillon 3 semaines après l'échantillon initial et analyser les IgG et IgM anti-Toxo
réactif	réactif	avidité élevée	infection ancienne. Fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA METHODE

Ce dosage est un dosage immunologique en deux étapes pour la détermination quantitative des anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum et le plasma humains utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA).

L'échantillon prédilué, les microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigènes recombinants *Toxoplasma gondii* (contenant les antigènes recombinants P30(SAG1) et P35(GRA8)) et le diluant de dosage sont mis en présence et incubés. Les anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma gondii* présents dans l'échantillon se lient aux microparticules recouvertes d'antigènes recombinants *Toxoplasma gondii*. Après lavage, le conjugué d'anticorps (murins) anti-IgG humaines marqué à l'acridinium est ajouté pour former un mélange réactionnel et incubé. Après un autre cycle de lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées.

La réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps IgG anti-Toxo présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique.

Pour de plus amples informations concernant l'analyseur et la technologie de dosage, se référer au Manuel Technique Alinity ci-séries, Chapitre 3.

REACTIFS

Contenu du kit

Alinity i Toxo IgG Reagent Kit 07P45

REMARQUE : Certains conditionnements ne sont pas disponibles dans tous les pays. Contacter le distributeur local.

Les volumes (mL) dans le tableau ci-dessous indiquent le volume par cartouche.

REF	07P4522	07P4532
Tests par cartouche	100	500
Nombre de cartouches par kit	2	2
Tests par kit	200	1000

(cible) et la variabilité attendues de cette moyenne (limites) pour le laboratoire. Cette étude devra prendre en compte les sources de variation potentielles afin de rendre compte de la future performance du système :

- Calibrations mémorisées multiples
- Lots de réactifs multiples
- Lots de calibrateurs multiples
- Modules d'analyse multiples (le cas échéant)
- Données prélevées à différents moments de la journée

Se référer au document C24-A3 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ou aux autres directives publiées contenant des recommandations générales en matière de contrôle de qualité.¹¹

- Si des contrôles plus fréquents sont nécessaires, suivre les procédures de contrôle de qualité en vigueur dans le laboratoire.
- Si les résultats des contrôles de qualité ne répondent pas aux critères de validation définis par le laboratoire, il se peut que les résultats obtenus pour les échantillons soient erronés. Suivre les procédures de contrôle de qualité en vigueur dans le laboratoire. Une recalibration peut s'avérer nécessaire. Pour obtenir des informations sur le dépannage, se référer au Manuel Technique Ainity ci-series, Chapitre 10.
- Vérifier les résultats des contrôles de qualité et les critères de validation à chaque changement de lot de réactifs ou de lot de calibrateurs.

Recommandations en matière de contrôle de qualité

Se référer à "Basic QC Practices" de James O Westgard, Ph.D., pour obtenir des recommandations en matière de pratiques de contrôle de qualité au sein du laboratoire.¹²

Vérification des performances des dosages

Pour de plus amples informations sur les protocoles de vérification des performances des dosages mentionnés dans la notice, se référer à la partie Vérification des performances des dosages du Manuel Technique Ainity ci-series.

■ RESULTATS

Calculs

Le dosage Ainity i Toxo IgG utilise une méthode de traitement des données par ajustement de la courbe logistique à 4 paramètres (4PLC, pondération en Y) pour créer une courbe de calibration et générer les résultats.

Interprétation des résultats

Valeurs de concentration	Interprétation de l'analyseur	Interprétation des résultats et procédure de réanalyse
< 1.6 IU/mL	Nonréactive (non réactif)	Les sujets présentant de tels résultats sont présumés non infectés par <i>Toxoplasma gondii</i> et sont susceptibles de développer une infection aiguë. Un résultat négatif n'exclut pas automatiquement la possibilité d'une infection par <i>Toxoplasma gondii</i> . Les patients ayant des résultats négatifs et dont une infection récente est suspectée, doivent être réanalysés 3 semaines plus tard.
1.6 à < 3.0 IU/mL	Grayzone (zone grise)	Les échantillons considérés Grayzone (zone grise) peuvent contenir de faibles concentrations en IgG. Il est recommandé d'analyser ces échantillons à l'aide d'un dosage Toxo IgM et/ou de prélever un deuxième échantillon dans un intervalle de temps raisonnable (par ex. dans les deux semaines) et de l'analyser également à l'aide du dosage Ainity i Toxo IgG.
≥ 3.0 IU/mL	Réactive (réactif)	Les échantillons considérés Réactive (réactif) pour les anticorps IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> indiquent une infection passée ou aiguë.

Pour de plus amples informations sur la configuration de l'analyseur Ainity i en vue de l'interprétation des résultats Grayzone (zone grise), se référer au Manuel Technique Ainity ci-series, Chapitre 2.

Annotations

La rubrique Annotations peut contenir des informations sur certains résultats. Pour une description des annotations qui peuvent apparaître dans cette rubrique, se référer au Manuel Technique Ainity ci-series, Chapitre 5.

Intervalle de mesure

L'intervalle de mesure est défini comme étant la plage de valeurs en IU/mL correspondant aux limites de performance acceptable pour l'imprécision et la limite de quantification (LQ).

L'intervalle de mesure du dosage Ainity i Toxo IgG est compris entre 0.2 et 200.0 IU/mL.

■ LIMITES DE LA METHODE

- Si les résultats du dosage Ainity i Toxo IgG ne correspondent pas à l'observation clinique, il est recommandé d'effectuer des tests complémentaires pour confirmer le résultat.
- A des fins diagnostiques, les résultats du dosage doivent être utilisés en association avec d'autres données, telles que les résultats d'autres dosages (Toxo IgM, Toxo IgG Avidity), le tableau clinique, etc.
- Des anticorps hétérophiles présents dans le sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines des réactifs, interférant avec les dosages immunologiques *in vitro*. Les patients régulièrement en contact avec des animaux ou des produits contenant du sérum d'origine animale peuvent être sujets à cette interférence et fournir de ce fait des valeurs anormales. Pour établir un diagnostic, des informations supplémentaires peuvent être nécessaires.¹³
- Les échantillons prélevés sur des patients auxquels ont été administrées des préparations d'anticorps monoclonaux de souris à des fins diagnostiques ou thérapeutiques peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent donner des résultats faussement élevés ou abaissés lorsqu'ils sont analysés avec des kits de dosage tels qu'Ainity i Toxo IgG qui utilisent des anticorps monoclonaux de souris. Pour établir un diagnostic, de plus amples informations peuvent être nécessaires.^{14, 15}
Les réactifs Ainity i Toxo IgG contiennent un composant qui réduit l'effet des échantillons réactifs pour HAMA.
- Variation des résultats de dosage à dosage : Les valeurs de concentration en anticorps IgG anti-Toxo dans un échantillon donné peuvent varier en fonction de la méthode de dosage utilisée et de la standardisation et ne sont pas interchangeables. Remarque : Les Ainity i Toxo IgG Calibrators sont référencés par rapport au Premier Standard International (01/600) de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour les IgG anti-toxoplasmose.¹⁶
- Il se peut que la dilution des anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* ne soit pas linéaire pour tous les échantillons. Ne pas utiliser de protocoles de dilution différents lors de l'analyse d'échantillons prélevés à intervalles réguliers sur un patient.

■ VALEURS ATTENDUES

Cette étude a été réalisée sur l'ARCHITECT i System.

Cette partie présente des données de performance indicatives. Les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

Il est recommandé à chaque laboratoire de déterminer ses propres valeurs de référence en fonction des caractéristiques locales et de la population qu'il dessert.

La prévalence des anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* varie en fonction de l'âge et de la localisation géographique. Lors de cette étude, 1270 échantillons de femmes enceintes et 1297 échantillons d'individus pris au hasard ont été analysés. Parmi ces échantillons, 1115 (43,4 %) étaient positifs, 83 (3,2 %) étaient compris dans les limites Grayzone (zone grise) et 1069 (83,3 %) étaient non réactifs pour le dosage ARCHITECT Toxo IgG.

UI/ml	n (%) Catégories globales d'échantillons	n (%) Donneurs de sang	n (%) Diagnostiqués/ Hospitalisés	n (%) Femmes enceintes
0.0 à < 1.0	1369 (63.3)	278 (45.8)	270 (39.1)	321 (64.0)
1.0 à < 3.0	83 (3.2)	16 (2.0)	36 (5.1)	28 (2.3)
3.0 à < 10.0	452 (17.5)	134 (22.1)	161 (23.3)	155 (12.2)
10.0 à < 50.0	554 (21.6)	160 (26.4)	182 (26.4)	232 (16.7)
50.0 à < 100.0	59 (2.3)	9 (1.5)	26 (3.8)	24 (1.9)
100.0 à < 150.0	22 (0.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (0.9)
150.0 à < 200.0	7 (0.3)	2 (0.3)	0 (0.0)	5 (0.4)
> 200.0	23 (0.9)	3 (0.5)	7 (1.0)	13 (1.0)
Total	2567 (100.0)	607 (100.0)	699 (100.0)	1279 (100.0)

■ CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES

Cette partie présente des données de performance indicatives. Les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

Les analyseurs Alinity i et ARCHITECT i System utilisent les mêmes réactifs et ratios échantillon/réactif.

Sauf indication contraire, toutes les études ont été réalisées sur l'analyseur Alinity i.

Reproductibilité

Reproductibilité intra-laboratoire

Une étude a été menée sur la base du document EP05-A2 du CLSI.¹⁷ L'analyse a été menée à l'aide de 3 lots d'Alinity i Toxo IgG Reagent Kit, de 3 lots d'Alinity i Toxo IgG Calibrators, de 3 lots d'Alinity i Toxo IgG Controls et d'1 analyseur. Trois contrôles et 4 panels de plasma humain ont été analysés au minimum en double, 2 fois par jour, pendant 20 jours.

Échantillon	n	Intra-série (répétabilité)			Intra-laboratoire (total) ^a	
		Moyenne (UI/mL)	EI	CV (%)	ET (Lignes ^b)	CV (%) (Lignes ^b)
Contrôle négatif	357	0.0	0.03	95.8	0.05 (0.02 à 0.05)	166.5 (116.2 à 187.8)
Contrôle positif 1	357	5.9	0.15	2.5	0.25 (0.24 à 0.27)	4.2 (4.0 à 4.4)
Contrôle positif 2	380	111.2	3.74	3.4	7.82 (3.96 à 9.95)	6.8 (5.3 à 8.4)
Panel 1	358	1.2	0.94	3.3	0.07 (0.06 à 0.07)	5.3 (4.8 à 5.8)
Panel 2	355	3.0	0.88	2.6	0.13 (0.12 à 0.15)	4.4 (3.7 à 5.0)
Panel 3	357	44.6	1.67	2.4	2.09 (1.87 à 2.30)	4.7 (4.1 à 5.3)
Panel 4	359	146.6	4.97	3.4	9.99 (8.84 à 11.25)	6.9 (6.3 à 7.4)

^a Inclut la variabilité intra-série, inter-séries et inter-jours.

^b ET, et CV (%) maximaux et minimaux pour chaque lot de réactifs et combinaison d'analyseurs.

Limites de mesure basses

Une étude a été menée sur la base du document EP17-A2 du CLSI. L'analyse a été menée à l'aide de 3 lots d'Alinity i Toxo IgG Reagent Kit sur 2 analyseurs respectivement, pendant un minimum de 3 jours. Les valeurs maximales observées de la limite du blanc (LoB), de la limite de détection (LD) et de la limite de quantification (LQ) sont résumées ci-après.¹⁸

	UI/mL
LoB ^a	0.1
LD ^b	0.2
LQ ^c	0.2

^a La limite du blanc (LoB) représente le 95^e percentile de n ≥ 60 répliques d'échantillons zéro analyte.

^b La limite de détection (LD) représente la concentration la plus basse à laquelle l'analyte peut être détecté avec une probabilité de 95 %, basée sur n ≥ 60 répliques d'échantillons présentant un faible niveau d'analyte.

^c La limite de quantification (LQ) a été déterminée à partir de n ≥ 60 répliques d'échantillons présentant un faible niveau d'analyte et est définie comme étant la plus petite concentration pouvant être quantifiée avec un coefficient de variation maximal acceptable de 20 %.

Sensibilité et spécificité relatives résolues et concordance relative

Cette étude a été réalisée sur l'ARCHITECT i System.

La sensibilité et la spécificité relatives résolues ainsi que la concordance relative ont été évaluées sur 2464 échantillons de femmes enceintes, d'échantillons de patients diagnostiqués/hospitalisés et de donneurs de sang volontaires sélectionnés au hasard.

103 échantillons donnant des résultats compris dans les limites Grayzone (zone grise) avec le dosage ARCHITECT Toxo IgG et/ou le dosage Toxo IgG de comparaison et/ou tout autre dosage Toxo n'ont pas été inclus dans le calcul de la sensibilité et de la spécificité relatives résolues ainsi que de la concordance relative.

Sensibilité relative résolue

Sur les 2464 échantillons évalués, 1099 ont été classifiés comme positifs. 1096 étaient réactifs par le dosage ARCHITECT Toxo IgG et 3 échantillons étaient non réactifs par le dosage ARCHITECT Toxo IgG. La sensibilité relative résolue était de 99.7 % (1096/1099) avec un intervalle de confiance à 95 % entre 99.2 % et 99.9 %.

Spécificité relative résolue

Sur les 2464 échantillons évalués, 1365 ont été classifiés comme négatifs. 1359 étaient non réactifs par le dosage ARCHITECT Toxo IgG et 6 échantillons étaient réactifs par le dosage ARCHITECT Toxo IgG. La spécificité relative résolue était de 99.6 % (1359/1365) avec un intervalle de confiance à 95 % entre 99.0 % et 99.8 %.

Concordance relative

Sur les 2464 échantillons évalués, 12 échantillons ont fourni des résultats discordants avec le dosage ARCHITECT Toxo IgG et le dosage Toxo IgG de comparaison, donnant une concordance relative de 99.5 % (2452/2464) avec un intervalle de confiance à 95 % entre 99.2 % et 99.7 %.

Dosage Toxo IgG de comparaison	ARCHITECT Toxo IgG			Total
	REA	NR	Total	
POS	1094	4**	1098	
NEG	8*	1358	1366	
Total	1102	1362	2464	

REA = réactif, NR = non réactif, POS = positif, NEG = négatif

* Deux échantillons sur les 8 échantillons réactifs avec le dosage ARCHITECT Toxo IgG et non réactifs avec le dosage Toxo IgG de comparaison ont été confirmés réactifs par un dosage disponible dans le commerce, le test de coloration Sabin-Feldman et le test d'agglutination HS. Six échantillons sur les 8 échantillons réactifs avec le dosage ARCHITECT Toxo IgG et non réactifs avec le dosage Toxo IgG de comparaison ont été confirmés non réactifs par un dosage disponible dans le commerce, le test de coloration Sabin-Feldman et le test d'agglutination HS. Parmi ces 8 échantillons non confirmés, quatre échantillons étaient réactifs pour GPAB (p35) avec une méthode immunoblot disponible dans le commerce.

** Un échantillon sur les 4 échantillons réactifs avec le dosage Toxo IgG de comparaison et non réactif avec le dosage ARCHITECT Toxo IgG n'a pas pu être confirmé par les analyses supplémentaires indiquées ci-dessus, alors que 3 échantillons ont pu être confirmés comme étant réactifs.

Pourcentage de concordance négative et positive

Une étude a été menée afin de déterminer le pourcentage de concordance négative et positive entre le dosage Alinity i Toxo IgG et un dosage Toxo IgG disponible dans le commerce en analysant

Alinity i

Toxo IgM Reagent Kit

 fr
Toxo IgM
07P47
G73097R07
B7P472

Faire attention aux modifications : Révision de janvier 2020.

REF 07P4722

REF 07P4732

Suivre scrupuleusement les instructions. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

DENOMINATION

Alinity i Toxo IgM Reagent Kit

DOMAINE D'APPLICATION

Le dosage Alinity i Toxo IgM est un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) utilisé pour la détection qualitative des anticorps IgM dirigés contre *Toxoplasma gondii* dans le sérum et le plasma humains sur l'analyseur Alinity i.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Toxoplasma gondii est un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire qui infecte la plupart des espèces d'animaux à sang chaud, y compris l'homme.¹ La toxoplasmose est contractée en premier lieu par ingestion de viande infectée insuffisamment cuite, par les oocystes présents sur les mains, les aliments et l'eau contaminés par des matières fécales et est transmise de la mère à l'enfant par transmission transplacentaire.² En outre, une transmission liée à une transplantation d'organes et survenant au cours d'une transfusion sanguine a été rapportée, bien que le risque de transmission par transfusion sanguine soit extrêmement bas.³

Chez les sujets sains, une infection acquise par *Toxoplasma gondii* se déroule généralement de façon asymptomatique, cependant 10 à 20 % des patients souffrant d'infection aiguë peuvent développer une lymphadénopathie.⁴

Des infections graves peuvent se produire chez les patients atteints du SIDA, chez les adultes immunodéprimés à la suite d'une chimiothérapie anticancéreuse ou chez les receveurs de greffes sous traitement par immunosuppresseurs. Ces infections peuvent être fatales. L'encéphalite toxoplasmique est la manifestation la plus commune et la cause la plus fréquente de lésions en foyer du système nerveux central chez les patients atteints du SIDA.⁵

Une primo-infection au cours de la grossesse peut entraîner la transmission transplacentaire du parasite et provoquer une infection congénitale. Le risque d'infection congénitale est au plus bas (10 à 25 %) si l'infection aiguë de la mère intervient au cours du premier trimestre et au plus haut (60 à 90 %) si elle intervient au cours du troisième trimestre.²

La gravité de l'infection congénitale est plus élevée lorsque l'infection de la mère intervient au début de la grossesse. Les conséquences habituelles de la toxoplasmose congénitale comprennent la chorioretinite, des calcifications intracrâniennes et de l'hydrocéphalie. La majorité des nourrissons contaminés à un moment plus tardif de la grossesse est asymptomatique à la naissance, avec des séquelles qui apparaissent plus tard.

Il a été démontré que le traitement précoce suite au diagnostic prénatal de l'infection par *Toxoplasma gondii* réduit la fréquence et la gravité de la toxoplasmose congénitale.⁶ Des tests sérologiques permettent d'identifier les femmes séronégatives devant donc être suivies tout au long de la grossesse.

La présence d'anticorps IgG dirigés contre *Toxoplasma gondii* indique que l'infection a eu lieu mais ne permet pas de différencier une infection récente d'une infection ancienne. Les anticorps IgM sont détectés chez les individus atteints d'une infection récente, mais des anticorps peuvent persister jusqu'à 18 mois après l'infection.²

Afin de différencier une infection récente d'une infection ancienne, l'avidité des IgG doit être analysée pour les échantillons positifs pour les anticorps IgG et IgM. Un indice d'avidité élevé des anticorps IgG est un fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant. Les résultats d'avidité bas ne peuvent pas être utilisés pour le diagnostic d'une toxoplasmose aiguë.

Toxo IgG	Toxo IgM	Avidité des IgG anti-Toxo	Peut indiquer.../ Analyses recommandées
Non réactif	Non réactif	N/A	absence d'infection
Non réactif	Réactif	N/A	obtenir un nouvel échantillon 2 à 3 semaines après l'échantillon initial et analyser les IgG et IgM anti-Toxo
Réactif	Non réactif	Avidité élevée	infection ancienne. Fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant
Réactif	Réactif	Avidité faible	obtenir un nouvel échantillon 3 semaines après l'échantillon initial et analyser les IgG et IgM anti-Toxo
Réactif	Réactif	Avidité élevée	infection ancienne. Fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA METHODE

Ce dosage est un dosage immunologique en deux étapes pour la détection qualitative des anticorps IgM dirigés contre *Toxoplasma gondii* dans le sérum et le plasma humains utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA).

L'échantillon prédilué et les microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-IgM humaines (souris, monoclonaux) sont mis en présence et incubés. Tels que les autres anticorps IgM spécifiques, l'anticorps IgM spécifique anti-Toxo présent dans l'échantillon se lie aux microparticules recouvertes d'anticorps anti-IgM humaines (souris, monoclonaux) pour former un complexe anticorps-anticorps. Après lavage, un complexe de conjugué composé d'un fragment F(ab')₂ marqué à l'acridinium d'anticorps (souris, monoclonaux) dirigés contre l'antigène p30 du *Toxoplasma* et de lysat natif de *Toxoplasma gondii*, contenant de l'antigène p30, est ajouté pour créer un mélange réactionnel et incubé. Ce complexe de conjugué est lié par les anticorps IgM spécifiques anti-Toxo, capturés par les microparticules recouvertes d'anticorps anti-IgM humaines (souris, monoclonaux), pour former un complexe anticorps-anticorps-conjugué. Après un autre cycle de lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées.

La réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps IgM anti-Toxo présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique.

La présence ou l'absence d'anticorps IgM anti-Toxo dans l'échantillon est déterminée en comparant les URL chimiluminescentes de la réaction à la valeur URL seuil déterminée à l'aide d'une courbe de calibration active.

Pour de plus amples informations concernant l'analyseur et la technologie de dosage, se référer au Manuel Technique Alinity ci-series, Chapitre 3.

le laboratoire. Cette étude devra prendre en compte les sources de variation potentielles afin de rendre compte de la future performance du système :

- Calibrations mémorisées multiples
- Lots de réactifs multiples
- Lots de calibrateurs multiples
- Modules d'analyse multiples (le cas échéant)
- Données prélevées à différents moments de la journée

Se référer au document C24-A3 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ou aux autres directives publiées contenant des recommandations générales en matière de contrôle de qualité.¹¹

- Si des contrôles plus fréquents sont nécessaires, suivre les procédures de contrôle de qualité en vigueur dans le laboratoire.
- Si les résultats des contrôles de qualité ne répondent pas aux critères de validation définis par le laboratoire, il se peut que les résultats obtenus pour les échantillons soient erronés. Suivre les procédures du contrôle de qualité en vigueur dans le laboratoire. Une recalibration peut s'avérer nécessaire. Pour obtenir des informations sur le dépannage, se référer au Manuel Technique Ainity ci-series, Chapitre 10.
- Vérifier les résultats des contrôles de qualité et les critères de validation à chaque changement de lot de réactifs ou de lot de calibrateurs.

Recommandations en matière de contrôle de qualité

Se référer à "Basic QC Practices" de James O Westgard, Ph.D., pour obtenir des recommandations en matière de pratiques de contrôle de qualité au sein du laboratoire.¹²

Vérification des performances des dosages

Pour de plus amples informations sur les protocoles de vérification des performances des dosages mentionnés dans la notice, se référer à la partie Vérification des performances des dosages du Manuel Technique Ainity ci-series.

RESULTATS

Calculs

L'analyseur Ainity i calcule les résultats pour le dosage Ainity i Toxo IgM sur la base du rapport de la valeur URL de l'échantillon sur la valeur URL moyenne du calibrateur 1 (Indice) pour chaque échantillon et contrôle.

La valeur URL moyenne du calibrateur 1 est mémorisée pour chaque calibration de lot de réactifs.

Indice = valeur URL de l'échantillon/valeur URL moyenne du calibrateur 1

Interprétation des résultats

La valeur seuil est de 0.60 Indice (1.00 S/CO).

Résultats initiaux

Résultat des échantillons	Interprétation de l'analyseur	Réanalyse
< 0.50 Indice (< 0.83 S/CO)	Non réactif pour les anticorps IgM dirigés contre <i>Toxoplasma gondii</i>	Aucune réanalyse requise.
0.50 ≤ x < 0.60 Indice (0.83 ≤ x < 1.00 S/CO)	Grayzone (zone grise)	Il est recommandé de prélever un deuxième échantillon dans un intervalle de temps raisonnable (par ex. dans les deux semaines) et de répéter l'analyse avec le dosage Ainity i Toxo IgM.
≥ 0.60 Indice (≥ 1.00 S/CO)	Réactif pour les anticorps IgM dirigés contre <i>Toxoplasma gondii</i>	Aucune réanalyse requise.

Annotations

La rubrique Annotations peut contenir des informations sur certains résultats. Pour une description des annotations qui peuvent apparaître dans cette rubrique, se référer au Manuel Technique Ainity ci-series, Chapitre 5.

LIMITES DE LA METHODE

- Si les résultats du dosage Ainity i Toxo IgM sont incohérents avec les données cliniques, il est recommandé d'effectuer des tests complémentaires afin de confirmer le résultat.
- À des fins diagnostiques, les résultats du dosage doivent être utilisés en association avec d'autres données, telles que les résultats d'autres dosages (Toxo IgG, Toxo IgG Avidity), le tableau clinique, etc.
- Des anticorps hétérophiles présents dans le sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines des réactifs, interférant avec les dosages immunologiques *in vitro*. Les patients régulièrement en contact avec des animaux ou des produits contenant du sérum d'origine animale peuvent être sujets à cette interférence et fournir de ce fait des valeurs anormales. Pour établir un diagnostic, des informations supplémentaires peuvent être nécessaires.¹³
- Les échantillons prélevés sur des patients auxquels ont été administrées des préparations d'anticorps monoclonaux de souris à des fins diagnostiques ou thérapeutiques peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent donner des résultats faussement élevés ou abaissés lorsqu'ils sont analysés avec des kits de dosage tels qu'Ainity i Toxo IgM qui utilisent des anticorps monoclonaux de souris. Pour établir un diagnostic, de plus amples informations peuvent être nécessaires.^{14, 15}
- Les échantillons de patients présentant des taux élevés d'IgM, par exemple des échantillons provenant de patients atteints de myélome multiple, peuvent présenter des valeurs abaissées lors de l'analyse avec des dosages reposant sur le principe de la capture d'IgM.
- Le plasma humain prélevé sur citrate de sodium ne peut pas être utilisé avec ce dosage, car les résultats du dosage Ainity i Toxo IgM peuvent être affectés par ce type de tube.

CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES

Cette partie présente des données de performance indicatives. Les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

Les analyseurs Ainity i et ARCHITECT i System utilisent les mêmes réactifs et ratios échantillon/réactif.

Sauf indication contraire, toutes les études ont été réalisées sur l'analyseur Ainity i.

Reproductibilité

Reproductibilité intra-laboratoire

Une étude a été menée sur la base du document EP05-A2 du CLSI.¹⁶ L'analyse a été menée à l'aide de 3 lots d'Ainity i Toxo IgM Reagent Kit, de 3 lots d'Ainity i Toxo IgM Calibrator, de 3 lots d'Ainity i Toxo IgM Controls et d'1 analyseur. Deux contrôles et 2 panels de plasma humain ont été analysés au minimum en double, 2 fois par jour, pendant 20 jours.

Échantillon	n	Indice moyen	Intra-série (répétabilité)		Intra-laboratoire (total) ^a	
			E.T.	CV (%)	E.T. (Limites ^b)	CV (%) (Limites ^b)
Contrôle négatif	357	0.10	0.006	5.7	0.011 (0.009 à 0.014)	10.4 (9.5 à 11.0)
Contrôle positif	359	1.48	0.039	2.6	0.048 (0.044 à 0.052)	3.2 (3.0 à 3.5)
Panel 1	358	0.38	0.012	3.1	0.014 (0.013 à 0.016)	3.7 (3.5 à 3.9)
Panel 2	360	0.79	0.025	3.2	0.028 (0.025 à 0.030)	3.5 (3.3 à 3.7)

^a Inclut la variabilité intra-série, inter-séries et inter-jours.

^b E.T. et CV (%) maximaux et minimaux pour chaque lot de réactifs et combinaison d'analyseurs.

Echantillon	n	Valeur S/C0 moyenne	Intra-série (répétabilité)		Intra-laboratoire (total) ^a	
			ET	CV (%)	ET (Limites ^b)	CV (%) (Limites ^b)
Contrôle négatif	357	0.17	0.010	6.1	0.019	11.0 (0.016 à 0.023)
Contrôle positif	359	2.46	0.065	2.6	0.079	3.2 (0.073 à 0.087)
Panel 1	358	0.64	0.020	3.1	0.024	3.8 (0.022 à 0.027)
Panel 2	360	1.31	0.041	3.2	0.046	3.5 (0.042 à 0.050)

^a Inclut la variabilité intra-série, inter-séries et inter-jours.

^b ET, et CV (%) maximaux et minimaux pour chaque lot de réactifs et combinaison d'analyseurs.

Spécificité relative résolue

Cette étude a été réalisée sur l'ARCHITECT i System.

Le dosage ARCHITECT Toxo IgM a été conçu de manière à fournir une spécificité relative résolue comparable à celle d'un dosage Toxo IgM de comparaison. Une étude a été menée dans un site d'évaluation interne et un site d'évaluation externe. Parmi les 2772*** échantillons évalués pour la mesure de la spécificité relative résolue, 36 échantillons étaient réactifs concordants et trois échantillons supplémentaires étaient confirmés positifs après la résolution des discordances et ont été exclus des calculs de spécificité.

***Remarque : Les échantillons qui n'ont pas pu être résolus ou qui ont présenté une interprétation des résultats Grayzone (zone grise) avec chacun des dosages comparés ou utilisés pour la résolution de la discordance n'ont pas été inclus dans l'évaluation de la spécificité relative résolue.

Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau suivant.

Spécificité relative résolue

Type d'échantillon	ARCHITECT Toxo IgM		Dosage Toxo IgM de comparaison	
	Spécificité observée	Limite inférieure de confiance à 95 %	Spécificité observée	Limite inférieure de confiance à 95 %
Femmes enceintes (1987/1988)	99.95 %	99.72 %	99.95 %	99.72 %
Patients diagnostiqués/hospitalisés (451/451)	100 %	99.19 %	100 %	99.19 %
Donneurs de sang (sérum) (154/154)	100 %	97.63 %	100 %	97.63 %
Donneurs de sang (plasma) (138/140)	98.57 %	94.93 %	100 %	97.40 %
Total (2730/2733)	99.89 %	99.68 %	99.96 %	99.80 %

Pourcentage de concordance négative

Une étude a été menée afin de déterminer le pourcentage de concordance négative entre le dosage Alinity i Toxo IgM et un dosage Toxo IgM disponible dans le commerce en analysant 1028 échantillons prélevés sur une population composée de femmes enceintes, de patients hospitalisés et de donneurs de sang. Les échantillons ont été analysés en simple à l'aide de 3 lots d'Alinity i Toxo IgM Reagent Kit, de 2 lots d'Alinity i Toxo IgM Calibrator et d'1 lot d'Alinity i Toxo IgM Controls. Les échantillons ont également été analysés en simple à l'aide d'un dosage Toxo IgM disponible dans le commerce. Les échantillons ayant présenté une interprétation des résultats Grayzone (zone grise) avec le dosage Alinity i Toxo IgM ou le dosage Toxo IgM disponible dans le commerce n'ont pas été inclus dans l'évaluation. Le pourcentage de concordance négative était de 100.00 % (soit 1028/1028, 1027/1027 et 1026/1026) pour les 3 lots de réactifs analysés. La limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % (de la spécificité de 100 % assumée du dosage de comparaison) était de 99.64 %.

Sensibilité de séroconversion

Cette étude a été réalisée sur l'ARCHITECT i System.

Le dosage ARCHITECT Toxo IgM a été conçu de manière à présenter une sensibilité de séroconversion comparable à celle d'un dosage Toxo IgM de comparaison. Un total de 122 prélèvements de 39 individus différents présentant une séroconversion durant une infection de toxoplasmose aiguë ont été analysés et ont présenté une détection de séroconversion acceptable. Les données de séroconversion de sept individus représentatifs sélectionnés sont présentées dans le tableau suivant.

ID de l'échantillon	Nombre de mois après dernier prélèvement négatif	Dosage ARCHITECT Toxo IgM (indice)	Dosage Toxo IgM de comparaison (indice)	Test de coloration		Test HS (IU/mL)
				ISAGA (Toxo-M) (indice)	Sabito-Feldman (IU/mL)	
Grayzone (zone grise)		0.50 à 0.59	0.50 à 0.595	8-8	N/A	1
Seuil de réactivité		0.60	0.600	9	2	2
30944001	0.0	0.05	0.061	0	< 2	< 1
30944002	1.2	0.56	0.351	4	5	1
30944003	2.1	0.89	0.585	10	800	64
30944004	2.2	0.77	0.542	10	400	64
30944005	4.3	0.33	0.193	1	1600	200
30944016	0.0	0.04	0.099	0	< 2	< 1
30944017	1.4	1.18	1.838	11	20	2
30944018	1.6	1.04	0.897	10	20	4
30944019	4.1	0.52	0.380	9	10	8
30944033	0.0	0.04	0.213	0	< 2	< 1
30944034	2.6	1.99	2.026	12	400	64
30944035	7.5	0.05	0.057	0	800	100
30944073	0.0	0.04	0.073	0	< 2	< 1
30944074	0.0	1.32	1.125	12	5	1
30944075	1.4	2.35	1.733	12	200	16
30944076	3.8	1.12	0.877	12	100	8
30944098	0.0	0.30	0.437	7	2	< 1
30944087	0.5	10.39	7.974	12	40	8
30944088	1.3	9.23	6.464	12	400	128
30944089	2.3	8.53	5.398	12	400	50
30944090	0.0	0.05	0.081	0	< 2	< 1
30944091	1.2	5.95	4.195	12	20	2
30944092	1.5	5.72	3.679	12	200	16
30944093	4.7	2.66	1.700	12	400	50
30944118	0.0	0.05	0.113	0	< 2	< 1
30944119	1.0	5.78	3.784	12	2	1
30944120	1.8	6.56	3.536	12	200	64
30944121	2.5	3.88	1.910	12	1600	100

Cette étude a été réalisée sur l'analyseur Alinity i.

Pour déterminer la sensibilité de séroconversion, 1 panel de séroconversion obtenu auprès d'un fournisseur commercial a été analysé sur l'analyseur Alinity i à l'aide du dosage Alinity i Toxo IgM. Les résultats obtenus pour le panel ont été évalués par rapport à ceux obtenus avec un dosage Toxo IgM disponible dans le commerce. Les données sont résumées dans le tableau ci-dessous.

ID du panel	Nombre de jours depuis le 1er prélèvement	Alinity i Toxo IgM (Indice)			Dosage Toxo IgM disponible dans le commerce (Indice)
		Lot de réactifs 1	Lot de réactifs 2	Lot de réactifs 3	
461957152	0	0.29	0.38	0.38	0.32
	7	1.04	1.30	1.11	1.00
	9	2.22	2.88	2.53	2.39
	14	5.82	7.51	5.80	5.75
	16	5.78	7.53	5.78	5.90
	23	5.27	6.96	5.84	5.42

Alinity i

Toxo IgG



fr

Toxo IgG

07P45

G73081R04

B7P452

Faire attention aux modifications : Révision de décembre 2019.

REF 07P4522

REF 07P4532

Suivez scrupuleusement les instructions. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

DENOMINATION

Alinity i Toxo IgG Reagent Kit

DOMAINE D'APPLICATION

Le dosage Alinity i Toxo IgG est un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) utilisé pour la détermination quantitative des anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum et le plasma humains sur l'analyseur Alinity i.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Toxoplasma gondii est un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire qui infecte la plupart des espèces d'animaux à sang chaud, y compris l'homme.¹ La toxoplasmose est contractée en premier lieu par ingestion de viande infectée insuffisamment cuite, par les oocystes présents sur les mains, les aliments et l'eau contaminés par des matières fécales et est transmise de la mère à l'enfant par transmission transplacentaire.² En outre, une transmission liée à une transplantation d'organes et survenant au cours d'une transfusion sanguine a été rapportée, bien que le risque de transmission par transfusion sanguine soit extrêmement bas.³

Chez les sujets sains, une infection acquise par *Toxoplasma gondii* se déroule généralement de façon asymptomatique, cependant 10 à 20 % des patients souffrant d'infection aiguë peuvent développer une lymphadénopathie.⁴

Des infections graves peuvent se produire chez les patients atteints du SIDA, chez les adultes immunodéprimés à la suite d'une chimiothérapie anticancéreuse ou chez les receveurs de greffes sous traitement par immunosuppresseurs. Ces infections peuvent être fatales. L'encéphalite toxoplasmique est la manifestation la plus commune et la cause la plus fréquente de lésions en foyer du système nerveux central chez les patients atteints du SIDA.⁵

Une primo-infection au cours de la grossesse peut entraîner la transmission transplacentaire du parasite et provoquer une infection congénitale. Le risque d'infection congénitale est au plus bas (10 à 25 %) si l'infection aiguë de la mère intervient au cours du premier trimestre et au plus haut (60 à 90 %) si elle intervient au cours du troisième trimestre.² La gravité de l'infection congénitale est plus élevée lorsque l'infection de la mère intervient au début de la grossesse. Les manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale comprennent la chorioretinite, les calcifications intracrânielles et l'hydrocéphalie. La majorité des nourissons contaminés à un moment plus tardif de la grossesse est asymptomatique à la naissance, avec des séquelles qui apparaissent plus tard.

Il a été démontré que le traitement précoce suite au diagnostic prénatal de l'infection par *Toxoplasma gondii* réduit la fréquence et la gravité de la toxoplasmose congénitale.⁶ Des tests sérologiques permettent d'identifier les femmes séronégatives devant donc être suivies tout au long de la grossesse.

La présence d'anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* indique que l'infection a eu lieu mais ne permet pas de différencier une infection récente d'une infection ancienne. Les anticorps IgM sont détectés chez les individus atteints d'une infection récente, mais des anticorps peuvent persister jusqu'à 18 mois après l'infection.² Afin de différencier une infection récente d'une infection ancienne,

l'avidité des IgG doit être analysée pour les échantillons positifs pour les anticorps IgG et IgM. Un indice d'avidité élevé des anticorps IgG est un fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant.

Toxo IgG	Toxo IgM	Avidité Toxo IgG	Peut indiquer.../ Analyses recommandées
non réactif	non réactif	N/A	absence d'infection
non réactif	réactif	N/A	obtenir un nouvel échantillon 2 à 3 semaines après l'échantillon initial et analyser les IgG et IgM anti-Toxo
réactif	non réactif	avidité élevée	infection ancienne. Fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant
réactif	réactif	avidité faible	obtenir un nouvel échantillon 3 semaines après l'échantillon initial et analyser les IgG et IgM anti-Toxo
réactif	réactif	avidité élevée	infection ancienne. Fort indicateur d'une infection survenue plus de 4 mois auparavant

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA METHODE

Ce dosage est un dosage immunologique en deux étapes pour la détermination quantitative des anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* dans le sérum et le plasma humains utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA).

L'échantillon prédié, les microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigènes recombinants *Toxoplasma gondii* (contenant les antigènes recombinants P30(SAG1) et P35(GRA8)) et le diluant de dosage sont mis en présence et incubés. Les anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma gondii* présents dans l'échantillon se lient aux microparticules recouvertes d'antigènes recombinants *Toxoplasma gondii*. Après lavage, le conjugué d'anticorps (murins) anti-IgG humaines marqué à l'acridinium est ajouté pour former un mélange réactionnel et incubé. Après un autre cycle de lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées.

La réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps IgG anti-Toxo présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique.

Pour de plus amples informations concernant l'analyseur et la technologie de dosage, se référer au Manuel Technique Alinity ci-series, Chapitre 3.

REACTIFS

Contenu du kit

Alinity i Toxo IgG Reagent Kit 07P45

REMARQUE : Certains conditionnements ne sont pas disponibles dans tous les pays. Contacter le distributeur local.

Les volumes (mL) dans le tableau ci-dessous indiquent le volume par cartouche.

REF	07P4522	07P4532
Tests par cartouche	100	500
Nombre de cartouches par kit	2	2
Tests par kit	200	1000



Annexe 3 : Notice d'utilisation iSYS-IDS® IgG et IgM

IDS TOXO IgG



Nom du produit	IDS TOXO IgG	REF	IS-ID5001
Nom du produit abrégé	IDS TOXO IgG		
Système	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System	REF	IS-310400

1. Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

Le test IDS TOXO IgG est un test immunologique par chimiluminescence (CLIA) pour la détermination quantitative, avec l'instrument IDS System, des anticorps spécifiques IgG, dirigés contre le *Toxoplasma gondii* (TOXO) dans des échantillons de sérum ou de plasma humain (K3-EDTA, citrate de sodium).

Ce dosage est utilisé comme outil diagnostique dans l'évaluation du système immunitaire du patient. Ce produit ne doit être manipulé que par du personnel qualifié en respectant strictement les instructions reportées dans le présent document.

ATTENTION : aucune décision médicale ne peut se baser sur le résultat de ce seul test, mais doit être prise en considérant l'ensemble de toutes les données cliniques et du laboratoire disponibles.

2. Résumé et explication

La toxoplasmose est une zoonose causée par le *Toxoplasma gondii*, un protozoaire intracellulaire obligatoire¹. Ce parasite est capable d'infecter la plupart des mammifères, y compris l'être humain, mais son hôte définitif est le chat. Les animaux peuvent être contaminés en mangeant de la viande infectée, des oocytes provenant de fèces de chats malades ou encore par transmission de la mère au fœtus².

Les chats représentent la première source d'infection pour l'homme bien que la possibilité d'infection par l'ingestion de viande crue, notamment de porc, est très fréquente dans certains pays. La contamination des mains avec les fèces de chat constitue un facteur de risque³ élevé. La toxoplasmose est très répandue chez l'homme et concerne environ un tiers de la population mondiale⁴ et sa prévalence est très hétérogène selon les pays.

Traditionnellement, l'infection est asymptomatique avec la formation de kystes tissulaires qui existent sous forme latente dans de nombreux organes⁵. L'infection primaire est, de façon générale, sous-clinique, mais certains patients peuvent présenter des manifestations cliniques, notamment une adénite latérocervicale ou une chorioretinite⁶. Il existe **quatre** groupes d'individus, pour lesquels l'infection représente un risque très sérieux : les femmes enceintes, le fœtus et les nouveau-nés contaminés durant la grossesse, les patients immunodéprimés et les patients atteints d'une chorioretinite^{7,8,9}. Bien que ces contaminations soient, dans la plupart des cas, asymptomatiques ou associées à de légers symptômes chez les adultes (fièvre, mal-être général et lymphadénite), elles peuvent toutefois causer de graves problèmes au fœtus chez les femmes enceintes. En effet, durant la grossesse la toxoplasmose peut être transmise par la mère à son fœtus (infection congénitale) et causer de graves séquelles telles qu'un handicap mental, la cécité et l'épilepsie.

Pour le médecin, le défi le plus important est de diagnostiquer, chez la femme, le risque de toxoplasmose durant la grossesse. En effet, cette maladie contractée avant la grossesse confère à la femme une immunité permanente contre le risque de mettre au monde un enfant atteint de toxoplasmose (à l'exception de certaines grossesses avec déficit immunitaire).

De plus, les méthodes de diagnostic et les différentes interprétations peuvent différer pour chacun des 4 groupes cliniques.

Le diagnostic d'une infection par *Toxoplasma gondii* peut être établi au moyen de tests sérologiques, de la technique d'amplification génique (PCR), d'un examen histologique pour la recherche du parasite, la recherche des antigènes ou directement de l'organisme⁸.

La recherche des anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma gondii* représente la méthode de diagnostic la plus simple.

Le dépistage sérologique se base sur le calcul des anticorps IgG et IgM.

Si la présence de taux élevés d'anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma gondii* peut confirmer l'existence de l'infection, elle ne peut toutefois pas affirmer s'il s'agit d'une infection récente ou contractée dans le passé. Au cours d'une infection grave, les IgG et IgM apparaissent généralement à partir de la première et deuxième semaine suivant l'infection^{9,10}. La présence d'IgM est donc utilisée pour définir la phase active, mais il est important de rappeler et de souligner que les IgM peuvent résister longtemps dans le sang, voir même pendant 18 mois après l'infection¹¹.

Pour faire la différence entre une infection récente et une infection contractée dans le passé, les échantillons résultant positifs tant pour la présence d'IgM que d'IgG, devraient être contrôlés pour calculer l'avidité des IgG. Un indice d'avidité élevé des IgG indique une toxoplasmose acquise depuis plus de 4 mois^{12,13,14}.

3. Description de la méthode

Le kit IDS TOXO IgG, est basée sur le principe de la chimiluminescence.

10 µL de l'échantillon du patient ou 110 µL des étalons sont incubés avec des particules magnétiques recouvertes d'antigène purifiés de *Toxoplasma gondii*. Après l'étape de lavage suivant la première incubation, on ajoute une IgG anti-humaine spécifique marquée à l'acridinium.

Les particules magnétiques sont capturées à l'aide d'un aimant et un lavage est effectué pour évacuer tout analyte non lié. Des réactifs déclencheurs sont ajoutés ; la lumière résultante émise par le marquage à l'acridinium est directement proportionnelle à la concentration d'analyte dans l'échantillon d'origine.

4. Avertissements et précautions



Le test IDS TOXO IgG est exclusivement conçu pour les emplois de diagnostic *in vitro* et ne peut pas être employé en usage interne sur les humains ou les animaux. Ce produit doit être utilisé en stricte conformité avec les instructions contenues dans ce mode d'emploi. Excepté lorsque la loi l'exige, Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) ne sera pas tenu responsable de toute perte ou préjudice conséquents, causés, d'une manière ou d'une autre, par le non-respect des instructions fournies.



MISE EN GARDE : ce kit contient une substance d'origine animale. Manipuler les réactifs du kit en gardant à l'esprit qu'ils peuvent transmettre un agent infectieux. Appliquer les précautions et les bonnes pratiques de laboratoire qui s'imposent pour le stockage, la manipulation et l'élimination des réactifs du kit. L'élimination des réactifs du kit doit être effectuée dans le respect des réglementations locales.



Substances d'origine humaine

La substance humaine utilisée dans la préparation de ce produit a été soumise aux analyses recommandées par la FDA pour la détection des anticorps du virus de l'immunodéficience humaine (VIH I et II), de l'antigène de surface de l'hépatite B, des anticorps de l'hépatite C, et s'est révélée négative. Aucun test ne pouvant garantir de manière absolue l'absence d'agents infectieux, les réactifs doivent être manipulés au niveau de biosécurité 2.

Réactifs contenant de l'azoture de sodium

Certains réactifs de ce kit contiennent de l'azoture de sodium (NaN_3) < 0,1 % (m/m) qui est susceptible de réagir avec le plomb, le cuivre ou le laiton des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec de grands volumes d'eau afin d'éviter toute accumulation de l'azoture.

Réactifs contenant du ProClin® 300

Certains réactifs de ce kit contiennent du ProClin® 300 comme agent de conservation.

Classification selon le règlement CLP :

Skin Sens. 1



Mentions d'avertissement: Attention

Mentions de danger :

H317 Peut provoquer une allergie cutanée.

Conseils de prudence:

P261: Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
 P272: Les vêtements contaminés ne doivent pas sortir du lieux de travail
 P280: Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
 P302+P352: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau.
 P321: Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premiers secours sur cette étiquette)
 P333+P313: En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

5. Précautions de manipulation

Les réactifs fournis dans le kit sont prêts à l'emploi.

Stockez les cartouches et les étalons en position **verticale** dans l'obscurité à 2–8 °C. **Ne congelez pas** les cartouches et les étalons.

Conditions de stockage	Durée - Cartouche	Durée - Étalons
Avant ouverture entre 2 et 8 °C	Jusqu'à la date de péremption	
Après ouverture à 2–8 °C	60 jours	60 jours, 4 usages
Après chargement dans le système*	60 jours	6 heures par usage

* Stabilité continue une fois dans le système

11. Plage de mesures

La plage de mesure des IDS TOXO est : 0,0 à 78 IU/mL.

- Les résultats inférieurs à 0,0 IU/mL seront affichés comme '0 IU/mL' avec le code 'OMR-' et/ou 'ORA'.
- Les résultats supérieurs à 78 IU/mL seront indiqués par le code 'OMR+' et/ou 'ORA'

12. Interprétation des résultats

IU/mL	Interprétation
< 1.2	L'échantillon doit être considéré comme Négatif pour la présence d'IgG anti-Toxoplasma Gondii
1.2 – 1.8	L'échantillon doit être considéré comme Douteux pour la présence d'IgG anti-Toxoplasma Gondii
≥ 1.8	L'échantillon doit être considéré comme Positif pour la présence d'IgG anti-Toxoplasma Gondii

L'index et l'interprétation ci-dessus doivent être considérés uniquement comme des directives. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres index et interprétation sur la base de sa propre population de patients.

13. Dilution

Les échantillons présentant des concentrations d'IgG anti-TOXO supérieures à l'intervalle à signaler peuvent être dilués manuellement avec un échantillon de sérum humain à faible concentration. Les résultats obtenus avec des échantillons dilués doivent être multipliés par le facteur de dilution pour obtenir la concentration de l'échantillon faible.

14. Spécificité et sensibilité diagnostiques

En utilisant les tests IDSTOXO IgG, IDSTOXO IgM et IDSTOXO IgG Avidité, il est possible d'évaluer le système immunitaire du patient pour mettre en évidence une éventuelle toxoplasmose.

Le tableau suivant indique les profils sérologiques des trois tests TOXO IgG, TOXO IgM et TOXO IgG Avidité qui peuvent être notés durant la période d'incubation et l'interprétation correspondante par rapport à l'exposition au parasite.

IgG anti-Toxoplasma	IgM anti-Toxoplasma	IgG Avidité anti-Toxoplasma (test de 2 ^e niveau)	Interprétation
Négatif	Négatif	--	Non immun (susceptible d'être contaminé)
Négatif	Positif	--	Infection primaire en cours suspectée
Positif	Positif	Faible avidité	Infection primaire récente (susceptible d'avoir été contractée au cours des 4 mois précédant le prélèvement de l'échantillon)
Positif	Positif	Avidité élevée	Infection récente ou passée avec une présence toujours élevée d'IgM (infection présumée passée, susceptible d'avoir été contractée au cours des 4 mois précédant le prélèvement de l'échantillon)
Positif	Négatif	Avidité	Infection passée

Les tests IDSTOXO IgG, IDSTOXO IgM et IDSTOXO IgG Avidité ont permis d'évaluer la spécificité et la sensibilité diagnostiques auprès d'un groupe d'individus sélectionnés comme suit, étudiés conformément aux différentes méthodes et classifiés selon la règle du consensus général :

- 139 patients non immuns ;
- 127 échantillons de 61 patients avec un diagnostic de toxoplasmose et soumis à une surveillance et à un suivi ;
- 100 échantillons d'autant de patients ayant contracté l'infection pendant moins de 4 mois ;
- 41 échantillons d'autant de patients ayant contracté l'infection depuis plus de 4 mois.

En se référant à l'interprétation susmentionnée, il a été possible de calculer la spécificité et la sensibilité diagnostiques relatives aux groupes de patients à l'étude.

Les valeurs IgG et IgM des 139 patients non immuns étaient en dessous du seuil de coupure (*cut-off* en anglais) avec les méthodes IDSTOXO IgG et IDSTOXO IgM. La spécificité diagnostique des méthodes pour IgG et IgM relatives au groupe de patients non immuns était de 100 % (intervalle de confiance à 95 % : 95,9-100,0 %).

Parmi les 168 échantillons (127 patients avec un diagnostic de toxoplasmose soumis à une surveillance et à un suivi et 41 patients ayant contracté l'infection depuis plus de 4 mois), la méthode IDSTOXO IgG a donné un résultat positif pour 164 échantillons et négatif pour 4 échantillons et, par conséquent, la sensibilité s'élève à 97,6 % (intervalle de confiance à 95 % : 93,6%-99,2 %). Les 4 échantillons négatifs appartenait à 4 patients en cours de séroconversion.

Parmi les 127 échantillons de patients avec un diagnostic de toxoplasmose et soumis à une surveillance et à un suivi, la méthode IDSTOXO IgM a donné un résultat positif pour 123 échantillons et négatifs pour 4 échantillons et, par conséquent, la sensibilité diagnostique s'élève à 96,9 % (intervalle de confiance à 95 % : 91,6-99,0%).

IDS TOXO IgM



Nom du produit	IDS TOXO IgM	REF	IS-ID5002
Nom du produit abrégé	IDS TOXO IgM		
Système	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System	REF	IS-310400
	IDS-i10	REF	IS-810400

1. Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

Le test IDS TOXO IgM est un test immunologique par chimiluminescence (CLIA) pour la détermination quantitative, avec l'instrument IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System, des anticorps spécifiques IgM, dirigés contre le *Toxoplasma gondii* (TOXO) dans des échantillons de sérum ou de plasma humain (K3-EDTA, citrate de sodium).

Ce dosage est utilisé comme outil diagnostique dans l'évaluation du système immunitaire du patient.

Ce produit ne doit être manipulé que par du personnel qualifié en respectant strictement les instructions reportées dans le présent document.



ATTENTION : aucune décision médicale ne peut se baser sur le résultat de ce seul test, mais doit être prise en considérant l'ensemble de toutes les données cliniques et du laboratoire disponibles.

2. Résumé et explication

La toxoplasmose est une zoonose causée par le *Toxoplasma gondii*, un protozoaire intracellulaire obligatoire¹. Ce parasite est capable d'infecter la plupart des mammifères, y compris l'être humain, mais son hôte définitif est le chat. Les animaux peuvent être contaminés en mangeant de la viande infectée, des oocystes provenant de fèces de chats malades ou encore par transmission de la mère au fœtus².

Les chats représentent la première source d'infection pour l'homme bien que la possibilité d'infection par l'ingestion de viande crue, notamment de porc, est très fréquente dans certains pays. La contamination des mains avec les fèces de chat constitue un facteur de risque³ élevé. La toxoplasmose est très répandue chez l'homme et concerne environ un tiers de la population mondiale⁴ et sa prévalence est très hétérogène selon les pays.

Traditionnellement, l'infection est asymptomatique avec la formation de kystes tissulaires qui existent sous forme latente dans de nombreux organes⁵. L'infection primaire est, de façon générale, sous-clinique, mais certains patients peuvent présenter des manifestations cliniques, notamment une adénite latérocervicale ou une chorioretinite⁶. Il existe **quatre** groupes d'individus, pour lesquels l'infection représente un risque très sérieux : les femmes enceintes, le fœtus et les nouveau-nés contaminés durant la grossesse, les patients immunodéprimés et les patients atteints d'une chorioretinite^{7,8,9}. Bien que ces contaminations soient, dans la plupart des cas, asymptomatiques ou associées à de légers symptômes chez les adultes (fièvre, mal-être général et lymphadénite), elles peuvent toutefois causer de graves problèmes au fœtus chez les femmes enceintes. En effet, durant la grossesse la toxoplasmose peut être transmise par la mère à son fœtus (infection congénitale) et causer de graves séquelles telles qu'un handicap mental, la cécité et l'épilepsie.

Pour le médecin, le défi le plus important est de diagnostiquer, chez la femme, le risque de toxoplasmose durant la grossesse. En effet, cette maladie contractée avant la grossesse confère à la femme une immunité permanente contre le risque de mettre au monde un enfant atteint de toxoplasmose (à l'exception de certaines grossesses avec déficit immunitaire).

De plus, les méthodes de diagnostic et les différentes interprétations peuvent différer pour chacun des 4 groupes cliniques.

Le diagnostic d'une infection par *Toxoplasma gondii* peut être établi au moyen de tests sérologiques, de la technique d'amplification génique (PCR), d'un examen histologique pour la recherche du parasite, la recherche des antigènes ou directement de l'organisme⁹.

La recherche des anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma gondii* représente la méthode de diagnostic la plus simple.

Le dépistage sérologique se base sur le calcul des anticorps IgG et IgM.

Si la présence de taux élevés d'anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma gondii* peut confirmer l'existence de l'infection, elle ne peut toutefois pas affirmer s'il s'agit d'une infection récente ou contractée dans le passé. Au cours d'une infection grave, les IgG et IgM apparaissent généralement à partir de la première et deuxième semaine suivant l'infection^{9,10}. La présence d'IgM est donc utilisée pour définir la phase active, mais il est important de rappeler et de souligner que les IgM peuvent résister longtemps dans le sang, voir même pendant 18 mois après l'infection¹¹.

Pour faire la différence entre une infection récente et une infection contractée dans le passé, les échantillons résultant positifs tant pour la présence d'IgM que d'IgG, devraient être contrôlés pour calculer l'avidité des IgG. Un indice d'avidité élevé des IgG indique une toxoplasmose acquise depuis plus de 4 mois^{12,13,14}.

3. Description de la méthode

Le kit IDS TOXO IgM, est basée sur le principe de la chimiluminescence.

6 µL de l'échantillon du patient ou des étalons sont incubés avec des particules magnétiques recouvertes d'anti-IgM humaine. Après l'étape de lavage suivant la première incubation, on ajoute une antigène purifié de *Toxoplasma gondii* spécifique marquée à l'acridinium.

Les particules magnétiques sont capturées à l'aide d'un aimant et un lavage est effectué pour évacuer tout analyte non lié. Des réactifs déclencheurs sont ajoutés ; la lumière résultante émise par le marquage à l'acridinium est directement proportionnelle à la concentration d'analyte dans l'échantillon d'origine.

4. Avertissements et précautions



Le test IDS TOXO IgM est exclusivement conçu pour les emplois de diagnostic *in vitro* et ne peut pas être employé en usage interne sur les humains ou les animaux. Ce produit doit être utilisé en stricte conformité avec les instructions contenues dans ce mode d'emploi. Excepté lorsque la loi l'exige, Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) ne sera pas tenu responsable de toute perte ou préjudice conséquents, causés, d'une manière ou d'une autre, par le non-respect des instructions fournies.



MISE EN GARDE : ce kit contient une substance d'origine animale. Manipuler les réactifs du kit en gardant à l'esprit qu'ils peuvent transmettre un agent infectieux. Appliquer les précautions et les bonnes pratiques de laboratoire qui s'imposent pour le stockage, la manipulation et l'élimination des réactifs du kit. L'élimination des réactifs du kit doit être effectuée dans le respect des réglementations locales.



Substances d'origine humaine

La substance humaine utilisée dans la préparation de ce produit a été soumise aux analyses recommandées par la FDA pour la détection des anticorps du virus de l'immunodéficience humaine (VIH I et II), de l'antigène de surface de l'hépatite B, des anticorps de l'hépatite C, et s'est révélée négative. Aucun test ne pouvant garantir de manière absolue l'absence d'agents infectieux, les réactifs doivent être manipulés au niveau de biosécurité 2.

Réactifs contenant de l'azoture de sodium

Certains réactifs de ce kit contiennent de l'azoture de sodium (NaN_3) < 0,1 % (m/m) qui est susceptible de réagir avec le plomb, le cuivre ou le laiton des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec de grands volumes d'eau afin d'éviter toute accumulation de l'azoture.

Réactifs contenant du ProClin® 300

Certains réactifs de ce kit contiennent du ProClin® 300 comme agent de conservation.

Classification selon le règlement CLP :

Skin Sens. 1



Mentions d'avertissement: Attention

Mentions de danger :

H317 Peut provoquer une allergie cutanée.

Conseils de prudence:

P261: Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
 P272: Les vêtements contaminés ne doivent pas sortir du lieux de travail
 P280: Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
 P302+P352: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau.
 P321: Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premiers secours sur cette étiquette)
 P333+P313: En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

5. Précautions de manipulation

Les réactifs fournis dans le kit sont prêts à l'emploi.

Stockez les cartouches et les étalons en position **verticale** dans l'obscurité à 2–8 °C. **Ne congelez pas** les cartouches et les étalons.

Conditions de stockage	Durée - Cartouche	Durée - Étalons
Avant ouverture entre 2 et 8 °C	Jusqu'à la date de péremption	
Après ouverture à 2–8 °C	60 jours	60 jours, 4 usages
Après chargement dans le système*	60 jours	6 heures par usage

* Stabilité continue une fois dans le système

6. Prélèvement et conservation des échantillons

Le test doit être réalisé au moyen d'échantillons de sérum (tubes de prélèvement standard ou tubes contenant un gel de séparation de sérum) ou de plasma (héparine sodique, citrate de sodium ou EDTA de potassium).

- Après séparation, les échantillons peuvent être conservés pendant un maximum de 8 heures à température ambiante (18 – 22 °C) ou jusqu'à 7 jours à 2 – 8 °C. Si un temps plus long est nécessaire entre la séparation et le test, les échantillons doivent être conservés à -20 °C.
- Les échantillons ne doivent pas être exposés à des cycles répétés de congélation-décongélation, et ils doivent être décongelés complètement et bien mélangés avant d'être chargés sur le système.

8.2 Préparation des étalons

Les étalons sont fournis avec le kit ; l'utilisation d'étalons provenant d'un autre lot est proscrite.

Les étalons sont prêts à l'emploi. Laissez les flacons d'étalon à température ambiante pendant 10 minutes. Ne secouez pas et ne retournez pas les flacons. Prenez soin d'éviter la formation de mousse.

Lors de la première utilisation des étalons :

- Retirez le sceau de sécurité et le bouchon blanc.
- Placez les flacons d'étalon dans le support approprié, puis insérez-les dans le système. Suivez les instructions du manuel d'utilisation du système.
- Après avoir retiré les flacons de contrôles du système, ils doivent être rebouchés avec le jeu de bouchons IDS Top Cap (IS-CAP300) et conservés à une température comprise entre 2 – 8 °C. Afin d'éviter toute contamination, ne réutilisez pas les bouchons après usage.
- Les étalons peuvent être utilisés au maximum 4 fois.

Lors de la réutilisation de flacons d'étalon stockés :

- Laissez les flacons d'étalon à température ambiante pendant 10 minutes. Ne secouez pas et ne retournez pas les flacons. Prenez soin d'éviter la formation de mousse.
- Retirez le bouchon supérieur avant de placer les flacons d'étalon dans le support approprié et de les insérer dans le système.
- Les étalons doivent être placés dans le système dans les 10 minutes suivant leur retour à température ambiante. Suivez les instructions du manuel d'utilisation du système.
- Après avoir retiré les flacons de contrôles du système, ils doivent être rebouchés avec le jeu de bouchons IDS Top Cap (IS-CAP300) et conservés à une température comprise entre 2 – 8 °C. Afin d'éviter toute contamination, ne réutilisez pas les bouchons après usage.

8.3 Étalonnage du dosage

Tous les niveaux de l'IDS étalon TOXO IgM doivent être mesurés dans au moins 3 réplicats et 1 réplicat de tous les niveaux du IDS contrôle TOXO en même temps pour calibrer le test IDS TOXO IgM. Le IDS TOXO Control Set est fourni séparément. Consultez le mode d'emploi de l'IDS TOXO Control Set pour connaître les procédures de préparation et de manipulation.

Effectuez l'étalonnage du dosage conformément aux instructions du manuel d'utilisation du système.

8.4 Fréquence d'étalonnage

Un nouvel étalonnage est nécessaire :

- À chaque chargement d'un nouveau lot de cartouches.
- Lorsque les valeurs de contrôle sont en dehors des plages définies.
- À expiration de l'intervalle d'étalonnage de 21 jours.
- Après une opération de maintenance du système.

La vérification de l'étalonnage est automatiquement gérée par le système.

8.5 Détermination des taux de TOXO IgM de l'échantillon

Traitez les échantillons conformément aux instructions du manuel d'utilisation du système.

9. Contrôle qualité

Utilisez le IDS TOXO Control Set (IS-ID5030) pour le contrôle de qualité. D'autres matériels de contrôle adaptés peuvent être utilisés en plus du IDS TOXO Control Set. Il faut tester les contrôles au début (ou vers le début) de chaque analyse concernant des échantillons de patients en conformité avec les règlements ou les exigences d'accréditation des autorités locales, nationales et/ou fédérales, et avec les procédures de qualité de votre laboratoire.

Consultez le mode d'emploi de l'IDS TOXO Control Set pour connaître les procédures de préparation et de manipulation.

10. Calcul des résultats

La concentration d'IgM de Toxoplasme dans un échantillon est calculée automatiquement. L'affichage des concentrations (à l'écran ou sur papier) dépend du choix de l'utilisateur. Le test IDS TOXO IgM utilise un ajustement de la courbe logistique à 4 paramètres (4PL) pour calculer les concentrations de TOXO IgM.

Les résultats sont exprimés en AU/mL.

11. Plage de mesures

La plage de mesure des IDS TOXO est : 0,0 à 200 AU/mL.

- Les résultats inférieurs à 0,0 AU/mL seront affichés comme '0 AU/mL' avec le code 'OMR-' et/ou 'ORA'.
- Les résultats supérieurs à 200 AU/mL seront indiqués par le code 'OMR+' et/ou 'ORA'.

12. Interprétation des résultats

AU/mL	Interprétation
< 13.5	L'échantillon doit être considéré comme Négatif pour la présence d'IgM anti-Toxoplasma Gondii
13.5 – 16.5	L'échantillon doit être considéré comme Douteux pour la présence d'IgM anti-Toxoplasma Gondii
≥ 16.5	L'échantillon doit être considéré comme Positif pour la présence d'IgM anti-Toxoplasma Gondii

L'index et l'interprétation ci-dessus doivent être considérés uniquement comme des directives. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres index et interprétation sur la base de sa propre population de patients.

Annexe 4 : Calculs des corrélations par groupe

Groupe 1

Correlation Tabular results		IGM Alinity vs. IgM ISYS
1	Pearson r	
2	r	0.7995
3	95% confidence interval	0.6524 to 0.8886
4	R squared	0.6393
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	<0.0001
8	P value summary	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	41

Correlation		IgG Alinity vs. IgG ISYS
1	Pearson r	
2	r	0.6030
3	95% confidence interval	0.3626 to 0.7681
4	R squared	0.3636
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	<0.0001
8	P value summary	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	41

Groupe 2

Correlation Tabular results		A IGM Alinity vs. IgM ISYS
1	Pearson r	
2	r	0.8715
3	95% confidence interval	0.8051 to 0.9163
4	R squared	0.7595
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	<0.0001
8	P value summary	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	78

Correlation		IgG Alinity vs. IgG ISYS
1	Pearson r	
2	r	0.6067
3	95% confidence interval	0.4442 to 0.7306
4	R squared	0.3681
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	<0.0001
8	P value summary	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	78

Groupe 3

Correlation Tabular results		A IGM Alinity vs. IgM ISYS
1	Pearson r	
2	r	0.5533
3	95% confidence interval	0.05722 to 0.8302
4	R squared	0.3061
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	0.0324
8	P value summary	*
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	15

Correlation		IgG Alinity vs. IgG ISYS
1	Pearson r	
2	r	0.8933
3	95% confidence interval	0.7025 to 0.9643
4	R squared	0.7980
5		
6	P value	
7	P (two-tailed)	<0.0001
8	P value summary	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes
10		
11	Number of XY Pairs	15

Annexe 5 : Notice d'utilisation iSYS-IDS avidité

3. Description de la méthode

Le kit IDS TOXO IgG Avidity, utilisée pour le calcul de l'indice de l'avidité des IgG spécifiques anti-Toxoplasmoses, s'appuie sur une méthode immunologique indirecte à deux étapes, basée sur le principe de la chimiluminescence. **Le test ne peut être réalisé que sur des échantillons, préalablement dosés, afin de vérifier la présence d'IgG anti toxoplasmoses.**

10 µL de l'échantillon du patient ou 110 µL des étalons sont incubés avec des particules magnétiques recouvertes d'antigène spécifique. Après l'étape de lavage suivant la première incubation, on ajoute une IgG anti-humaine spécifique marquée à l'acridinium.

Chaque échantillon est testé dans deux cuvettes différentes : une (a) de référence et une (b) avec tampon pouvant rompre le lien Antigène (Ag)-Anticorps (Ab) au cas où l'avidité de l'anticorps IgG rubéolique serait faible. Au cours de la première incubation, les anticorps spécifiques, se trouvant dans l'échantillon, dans les calibrateurs ou dans les contrôles, se lient lors de la phase solide. Une seconde incubation est réalisée dans la seconde cuvette (b) à la fin de la première incubation, avec un tampon pouvant rompre le lien entre l'Ag des particules magnétiques et les anticorps IgG de l'échantillon au cas où les anticorps à faible avidité Ab seraient plus nombreux.

Au cours de la deuxième incubation, le conjugué réagit au contact des anticorps IgG anti-Toxoplasmoses, séquestrés par la phase solide.

Après chaque phase d'incubation, le matériel non lié à la phase solide est retiré par aspiration et lavage successif.

La quantité de conjugué, marqué et encore lié à la phase solide, est calculée par activation du phénomène de chimiluminescence et de la mesure du signal lumineux. Le signal obtenu, exprimé en unité relative de lumière (URL ou RLU en anglais), est indicatif de la concentration des anticorps spécifiques, présents dans l'échantillon, dans les calibrateurs et dans les contrôles.

Le rapport entre la concentration des anticorps de la seconde cuvette (b) (échantillon traité - IgG résiduel) et la concentration des anticorps de la cuvette de référence (a) (échantillon non traité - IgG total) fournit l'indice qui exprime l'avidité des anticorps IgG anti-Toxoplasmoses, présents dans l'échantillon..

4. Avertissements et précautions



Le test IDS TOXO IgG Avidity est exclusivement conçu pour les emplois de diagnostic *in vitro* et ne peut pas être employé en usage interne sur les humains ou les animaux. Ce produit doit être utilisé en stricte conformité avec les instructions contenues dans ce mode d'emploi. Excepté lorsque la loi l'exige, Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) ne sera pas tenu responsable de toute perte ou préjudice conséquents, causés, d'une manière ou d'une autre, par le non-respect des instructions fournies.



MISE EN GARDE : ce kit contient une substance d'origine animale. Manipuler les réactifs du kit en gardant à l'esprit qu'ils peuvent transmettre un agent infectieux. Appliquer les précautions et les bonnes pratiques de laboratoire qui s'imposent pour le stockage, la manipulation et l'élimination des réactifs du kit. L'élimination des réactifs du kit doit être effectuée dans le respect des réglementations locales.



Substances d'origine humaine

La substance humaine utilisée dans la préparation de ce produit a été soumise aux analyses recommandées par la FDA pour la détection des anticorps du virus de l'immunodéficience humaine (VIH I et II), de l'antigène de surface de l'hépatite B, des anticorps de l'hépatite C, et s'est révélée négative. Aucun test ne pouvant garantir de manière absolue l'absence d'agents infectieux, les réactifs doivent être manipulés au niveau de biosécurité 2.

Réactifs contenant de l'azoture de sodium

Certains réactifs de ce kit contiennent de l'azoture de sodium (NaN_3) < 0,1 % (m/m) qui est susceptible de réagir avec le plomb, le cuivre ou le laiton des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec de grands volumes d'eau afin d'éviter toute accumulation de l'azoture.

Réactifs contenant du ProClin® 300

Certains réactifs de ce kit contiennent du ProClin® 300 comme agent de conservation.

Classification selon le règlement CLP :

Skin Sens. 1



Mentions d'avertissement: Attention

Mentions de danger :

H317 Peut provoquer une allergie cutanée.

Conseils de prudence:

P261: Éviter de respirer les

poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

P272: Les vêtements contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail

P280: Porter des gants de protection/des vêtements de

protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P302+P352: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau.

P321: Traitement spécifique (voir les instructions

complémentaires de premiers

secours sur cette étiquette)

P333+P313: En cas d'irritation ou d'éruption cutanée:

consulter un médecin.

IgG anti-Toxoplasmoses	IgM anti-Toxoplasmoses	IgG Avidité anti-Toxoplasmoses (test de 2 ^e niveau)	Interprétation
Négatif	Négatif	–	Non immun (susceptible d'être contaminé)
Négatif	Positif	–	Primo-infection en cours suspectée
Positif	Positif	Faible avidité	Infection primaire récente (susceptible d'avoir été contractée au cours des 2 mois précédant le prélèvement de l'échantillon)
Positif	Positif	Avidité élevée	Infection récente ou passée avec une présence toujours élevée d'IgM (infection présumée passée, susceptible d'avoir été contractée au cours des 2 mois précédant le prélèvement de l'échantillon)
Positif	Négatif	Avidité élevée	Infection passée

Les tests IDS TOXO IgG, IDS TOXO IgM et IDS TOXO IgG Avidité ont permis d'évaluer la spécificité et la sensibilité diagnostiques auprès d'un groupe d'individus sélectionnés comme suit, étudiés conformément aux différentes méthodes et classifiés selon la règle du consensus général :

- 139 patients non immuns ;
- 127 échantillons de 61 patients avec un diagnostic de toxoplasmose et soumis à une surveillance et à un suivi ;
- 100 échantillons d'autant de patients ayant contracté l'infection pendant moins de 4 mois,
- 41 échantillons d'autant de patients ayant contracté l'infection depuis plus de 4 mois.

En se référant à l'interprétation susmentionnée, il a été possible de calculer la spécificité et la sensibilité diagnostiques relatives aux groupes de patients à l'étude.

Les valeurs IgG et IgM des 139 patients non immuns étaient en dessous du seuil de coupure (cut-off en anglais) avec les méthodes IDS TOXO IgG et IDS TOXO IgM. La spécificité diagnostique des méthodes pour IgG et IgM relatives au groupe de patients non immuns était de 100 % (intervalle de confiance à 95 % : 95,9-100,0 %)

Parmi les 168 échantillons (127 patients avec un diagnostic de toxoplasmose soumis à une surveillance et à un suivi et 41 patients ayant contracté l'infection depuis plus de 4 mois), la méthode IDS TOXO IgG a donné un résultat positif pour 164 échantillons et négatif pour 4 échantillons et, par conséquent, la sensibilité s'élève à 97,6 % (intervalle de confiance à 95 % : 93,6%-99,2 %). Les 4 échantillons négatifs appartenaient à 4 patients en cours de séroconversion.

Parmi les 127 échantillons de patients avec un diagnostic de toxoplasmose et soumis à une surveillance et à un suivi, la méthode IDS TOXO IgM a donné un résultat positif pour 123 échantillons et un résultat négatif pour 4 échantillons et, par conséquent, la sensibilité de diagnostic est de 97,6 % (intervalle de confiance à % : 91,6%-99,0 %).

Le kit IDS TOXO IgG Avidité a permis d'analyser 100 échantillons appartenant au groupe des patients sous surveillance et suivi, ayant une infection contractée au cours des 4 mois précédant la collecte. 94 échantillons présentaient une faible avidité, 5 une avidité modérée et 1 une avidité élevée.

Parmi les 41 échantillons d'autant de patients ayant contracté l'infection depuis plus de 4 mois, tous ont présenté une positivité aux IgG avec par conséquent une sensibilité diagnostique de 100 %, une positivité des IgM de 39 % (16/41). Tous ces échantillons, testés avec le kit IDS TOXO IgG Avidité, ont mis en évidence un indice d'Avidité Élevé.

15. Limites d'utilisation

- Comme pour toute procédure diagnostique, les résultats doivent être interprétés conjointement avec le tableau clinique du patient et avec les autres informations à la disposition du médecin.
- Les résultats des tests immunologiques pouvant être affectés par les fluctuations de température, les utilisateurs doivent suivre le manuel d'utilisation du système IDS pour connaître la température ambiante et les conditions de fonctionnement optimales.
- Une fois une cartouche de réactif introduite dans une unité du système, celle-ci doit toujours être utilisée sur cette unité jusqu'à ce qu'elle soit vide.
- IDS TOXO Avidité n'utilise pas la technologie de biotine-streptavidine.
- Les caractéristiques de performance de cette analyse n'ont pas été démontrées en pédiatrie.
- Des anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines du réactif et interférer avec les immunodosages *in vitro*. Les patients quotidiennement exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent être sujets à ce type d'interférence, il convient alors d'examiner toute valeur anormale.

Bibliographie

1. Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol.* nov 2000;30(12-13):1217-58.
2. Weiss LM, Dubey JitenderP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol.* 1 juill 2009;39(8):895-901.
3. Dubey JP, Murata FHA, Cerqueira-Cézar CK, Kwok OCH, Villena I. Congenital toxoplasmosis in humans: an update of worldwide rate of congenital infections. *Parasitology.* oct 2021;148(12):1406-16.
4. Gundi. In: Wikipedia [Internet]. 2024 [cité 8 mai 2024]. Disponible sur: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Gundi&oldid=1211299798>
5. Levine ND. Taxonomy of *Toxoplasma**. *J Protozool.* 1977;24(1):36-41.
6. Dubey J, Lindsay D, Speer C. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clin Microbiol Rev.* avr 1998;11(2):267-99.
7. Bouhali LE. Toxoplasmose et grossesse.
8. Kochanowsky JA, Koshy AA. *Toxoplasma gondii*. *Curr Biol.* 23 juill 2018;28(14):R770-1.
9. Attias M, Teixeira DE, Benchimol M, Vommaro RC, Crepaldi PH, De Souza W. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasit Vectors.* 23 nov 2020;13(1):588.
10. Derouin F, Bultel C, Roze S, Thomann C, Ribeiro F. Coordination rédactionnelle.
11. Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.* avr 2012;25(2):264-96.
12. Jutard A. La toxoplasmose congénitale en France : prise en charge actuelle et perspectives [Internet]. Université Lille 2 Droit et Santé; 2016
13. Memoire Online [Internet]. [cité 29 févr 2024]. Memoire Online - La toxoplasmose - Jean Chalhoub.
14. Bessières MH, Cassaing S, Fillaux J, Berrebi A. Toxoplasmose et grossesse. *Rev Francoph Lab.* 1 mai 2008;2008:39-50.
15. Iconographie [Internet]. Disponible sur: <https://archives.uness.fr/sites/campus-unf3s-2014/parasitologie/enseignement/toxoplasmose/site/html/iconographie.html>
16. Sanchez SG, Besteiro S. The pathogenicity and virulence of *Toxoplasma gondii*. *Virulence.* 31 déc 2021;12(1):3095-114.
17. Paquet C, Yudin MH. Toxoplasmose pendant la grossesse : Prévention, dépistage et traitement. *J Obstet Gynaecol Can.* 1 déc 2016;38(12):S189-96.
18. Leport C, Derouin F, Morlat P, Chene G, Vildé JL. Toxoplasmose chez les patients immunodéprimés. Apport à la connaissance de l'infection toxoplasmique. *Médecine Mal Infect.* 1 avr 1996;26:437-40.
19. Masson E. EM-Consulte. Prise en charge de la toxoplasmose congénitale en

France : données actuelles.

20. Sawers L, Wallon M, Mandelbrot L, Villena I, Stillwaggon E, Kieffer F. Prevention of congenital toxoplasmosis in France using prenatal screening: A decision-analytic economic model. PLOS ONE. 4 nov 2022;17(11):e0273781.
21. Rorman E, Zamir CS, Rilakis I, Ben-David H. Congenital toxoplasmosis—prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. Reprod Toxicol. 1 mai 2006;21(4):458-72.
22. Guechi N, Haouari N, Hamrioui B. Toxoplasmose oculaire : à propos de deux cas. Rev Francoph Lab. 1 mars 2020;2020(520):67-70.
23. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. J Perinat Med. 2000;28(5):337-45.
24. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 28 avr 2024]. Surveillance sérologique et prévention de la toxoplasmose et de la rubéole au cours de la grossesse et dépistage prénatal de l'hépatite B – Pertinence des modalités de réalisation.
25. Sawers L, Wallon M, Mandelbrot L, Villena I, Stillwaggon E, Kieffer F. Prevention of congenital toxoplasmosis in France using prenatal screening: A decision-analytic economic model. Calderaro A, éditeur. PLOS ONE. 4 nov 2022;17(11):e0273781.
26. Nogareda F, Strat YL, Villena I, Valk HD, Goulet V. Incidence and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in women in France, 1980–2020: model-based estimation. Epidemiol Infect. août 2014;142(8):1661-70.
27. Carole G. Haute Autorité de santé. 2017;
28. Villard O, JUNG-ÉTIENNE J, Bernard C, Franck J, FRICKER-HIDALGO H, GODINEAU N, et al. Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010: Conduite à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage. Feuille Biol. 1 janv 2010;52.
29. Masson E. EM-Consulte. [cité 8 mai 2024]. Diagnostic biologique de la toxoplasmose congénitale.
30. Indirect ELISA - Creative Biolabs [Internet]. [cité 12 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.antibody-creativebiolabs.com/indirect-elisa.htm>
31. Villard O, Villena I. Suivi sérologique de la toxoplasmose : nouvelles recommandations. 2022;
32. depistages_prenatals_obligatoires__synthese_vf.pdf [Internet]. [cité 3 sept 2024]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2009-12/depistages_prenatals_obligatoires__synthese_vf.pdf
33. Deleplancque AS, Fricker-Hidalgo H, Pomares C, L'Ollivier C, Lemoine JP, Cimon B, et al. Comparative performance of ISAGA IgM and ELISA assays for the diagnosis of maternal and congenital *Toxoplasma* infections: which technique could replace ISAGA IgM? Parasite. 31:7.
34. Villard O, Villena I. Suivi sérologique de la toxoplasmose : nouvelles recommandations. 2022;
35. Zhang K, Lin G, Han Y, Li J. Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. Clin Chim Acta. 1 oct 2016;461:83-9.
36. Robert-Gangneux F, Guegan H. Anti-*Toxoplasma* IgG assays: What

performances for what purpose? A systematic review. *Parasite*. 2021;28:39.

37. Douet T, Armengol C, Charpentier E, Chauvin P, Cassaing S, Iriart X, et al. Performance of seven commercial automated assays for the detection of low levels of anti-Toxoplasma IgG in French immunocompromised patients. *Parasite*. 26:51.

38. Avignon M, Lévêque MF, Guemas E, Sasso M, Albaba S, Lachaud L, et al. Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis: Performance of Four IgG and IgM Automated Assays at Birth in a Tricentric Evaluation. Theel ES, éditeur. *J Clin Microbiol*. 18 mai 2022;60(5):e00115-22.

39. Levigne P, Peyron F, Wallon M. Assessment of the diagnostic performance of the IDS-iSYS tests for toxo IgG, toxo IgM and avidity. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1 oct 2016;86(2):148-52.

40. Petersen E, Borobio MV, Guy E, Liesenfeld O, Meroni V, Naessens A, et al. European Multicenter Study of the LIAISON Automated Diagnostic System for Determination of Toxoplasma gondii-Specific Immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG Avidity Index. *J Clin Microbiol*. avr 2005;43(4):1570-4.

41. Gay-Andrieu F, Fricker-Hidalgo H, Sickinger E, Espern A, Brenier-Pinchart MP, Braun HB, et al. Comparative evaluation of the ARCHITECT Toxo IgG, IgM, and IgG Avidity assays for anti-Toxoplasma antibodies detection in pregnant women sera. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1 nov 2009;65(3):279-87.

42. Ybañez RHD, Ybañez AP, Nishikawa Y. Review on the Current Trends of Toxoplasmosis Serodiagnosis in Humans. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:204.

43. Guegan H, Stajner T, Bobic B, Press C, Olariu RT, Olson K, et al. Maternal Anti-Toxoplasma Treatment during Pregnancy Is Associated with Reduced Sensitivity of Diagnostic Tests for Congenital Infection in the Neonate. *J Clin Microbiol*. 21 janv 2021;59(2):10.1128/jcm.01368-20.

44. Levigne P, Peyron F, Wallon M. Assessment of the diagnostic performance of the IDS-iSYS tests for toxo IgG, toxo IgM and avidity. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1 oct 2016;86(2):148-52.

45. Murat JB, Dard C, Fricker Hidalgo H, Dardé ML, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. Comparison of the Vidas System and Two Recent Fully Automated Assays for Diagnosis and Follow-Up of Toxoplasmosis in Pregnant Women and Newborns. *Clin Vaccine Immunol CVI*. août 2013;20(8):1203-12.

46. Fricker-Hidalgo H, Bailly S, Brenier-Pinchart MP, Dard C, Jean D, Coston AL, et al. How to estimate time of infection with *Toxoplasma gondii* in pregnant women. Use of specific IgG and IgM kinetics by 7 techniques on 691 sera. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1 avr 2020;96(4):114987.

47. Simon L, Fillaux J, Guigon A, Lavergne RA, Villard O, Villena I, et al. Serological diagnosis of Toxoplasma gondii: analysis of false-positive IgG results and implications. *Parasite*. 2020;27:7.

48. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Help in the Choice of Automated or Semiautomated Immunoassays for Serological Diagnosis of Toxoplasmosis: Evaluation of Nine Immunoassays by the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 23 nov 2016;54(12):3034-42.

49. Garry DJ, Elimian A, Wiencek V, Baker DA. Commercial Laboratory IgM Testing for Toxoplasma gondii in Pregnancy: A 20-Year Experience. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2005;13(3):203402.

50. Cimon B, Penn P, Brun S, Chabasse D. Comment résoudre les difficultés du sérodiagnostic de la toxoplasmose chez la femme enceinte ? *Immuno-Anal Biol Spéc.* 1 juin 2002;17(3):143-7.
51. Smets A, Fauchier T, Michel G, Marty P, Pomares C. Comparison of *Toxoplasma gondii* IgG avidity Architect and Vidas assays with the estimated date of infection in pregnant women. *Parasite.* 2016;23:45.
52. Armengol C, Cassaing S, Roques-Malecaze C, Chauvin P, Iriart X, Berry A, et al. Time before anti-*Toxoplasma* IgG seroconversion detection by 7 commercial assays in French pregnant women. *Diagn Microbiol Infect Dis.* févr 2017;87(2):103-7.

Université de Lille

UFR3S-Pharmacie

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année Universitaire 2023/2024

Nom : Mano
Prénom : Pauline

Titre de la thèse : Diagnostic sérologique de la toxoplasmose congénitale au CHU de Lille : bilan de comparaison de différents kits E.I.A

Mots-clés : toxoplasmose, sérodiagnostic, grossesse

Résumé :

La toxoplasmose est une maladie parasitaire causée par un protozoaire de la classe des Coccidies, *Toxoplasma gondii*. Cette infection est généralement asymptomatique, ce qui rend son diagnostic difficile. Les patients les plus à risque sont les patients immunodéprimés et les femmes enceintes, une infection pendant la grossesse pouvant entraîner des symptômes graves et des séquelles sévères chez le fœtus. Le diagnostic de la toxoplasmose aiguë repose essentiellement sur les résultats sérologiques. La diversité des kits de réactifs pour le dépistage existant sur le marché nécessite une évaluation continue des performances de ces différents tests, nous comparons les performances de cinq d'entre eux. Nous avons également comparé les performances du réactif iSYS® (IDS®) avec notre technique de routine de première ligne, Alinity Toxo® (Abbott®). Nous utilisons le Vidas® (Biomérieux®) pour confirmer ou infirmer les isotypes ainsi que le Western-Blot (LDBIO Toxo II IgG ou IgM). Le but de cette étude est de comparer les réactifs IDS Toxo® avec le réactif Alinity Toxo® et d'examiner les performances des réactifs dans des groupes de patients déterminés. Cette étude confirme ainsi la fiabilité du réactif d'Abbott® (Alinity®), utilisé en première ligne au CHU de Lille, ainsi que celle d'un réactif moins étudié (iSYS®).

Membres du jury :

Président : Aliouat, El Moukhtar, PU, Université de Lille

Assesseur(s) : Sendid Boualem, PU-PH, CHU de Lille, Université de Lille

Leroy Jordan, MCU-PH, CHU de Lille, Université de Lille

Directeur de thèse : Deleplancque Anne-Sophie, PH, CHU de Lille