

TOXOPLASMOSE :

Diagnostic biologique chez la femme et chez le nouveau-né

1 - Surveillance sérologique chez la femme enceinte

1.1 - Objectifs de la surveillance

- Evaluer précisément le **statut immunitaire** des patientes pour définir le groupe à risque : femmes enceintes séronégatives.
- Surveiller par des **sérologies mensuelles** ces femmes enceintes séronégatives pendant la grossesse **et 2 à 4 semaines après l'accouchement**, afin de dépister précocement une séroconversion toxoplasmique pendant la grossesse.
- **Dater** le plus précisément possible la primo infection toxoplasmique par rapport au début de la grossesse.

1.2 - Organisation générale de la surveillance sérologique chez la femme enceinte

- En France, le programme de prévention impose la détection des IgG et IgM anti-*Toxoplasma gondii* au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse chez toutes les femmes qui ne peuvent prouver leur immunité, puis un suivi mensuel des femmes enceintes séronégatives jusqu'à l'accouchement avec un dernier contrôle post-partum 2 à 4 semaines après l'accouchement.
- **Le dépistage sérologique peut être effectué dans tous les laboratoires** par des méthodes diverses, mais le plus souvent aujourd'hui par des techniques immunoenzymatiques automatisées.
- Selon les recommandations de la HAS et du CNR de la Toxoplasmose, **si le profil sérologique IgG/IgM obtenu par méthode de dépistage pose un problème d'interprétation du résultat, le sérum doit être adressé à un laboratoire expert.**

Une définition du laboratoire expert a été proposée par la HAS sur les critères suivants :

- Maîtrise des techniques de diagnostic spécifiques ;
- Capacité à prendre en charge des dossiers clinico- biologiques complexes ;
- Intégration dans un réseau de réflexion et de collaborations avec d'autres laboratoires experts et avec les cliniciens impliqués dans la prise en charge de la toxoplasmose.

Les laboratoires de Parasitologie-Mycologie des CHU d'Angers et de Nantes répondent à ces critères et sont donc assimilés à des laboratoires experts selon la définition de la HAS.

1.3 - Stratégie des laboratoires experts des CHU d'Angers et de Nantes

Tableau I : Méthodes et acronymes

Tests G et M	Dosage des IgG et des IgM anti-toxoplasmiques par méthode CMIA sur automate Architect® (Abbott Diagnostics)
Avidité IgG	Détermination de l'avidité des IgG sur automate Vidas® (Vidas-Avidity®, bioMérieux)
IgM (ISAGA)	Dosage des IgM par immunocapture-agglutination (Toxo-ISAGA®, bioMérieux)
IgA (ISAGA)	Dosage des IgA par immunocapture-agglutination (Toxo-ISAGA®IgA, bioMérieux) CHU d'Angers
IgA (EIA)	Dosage des IgA ELISA double sandwich (Platelia®, Bio-Rad) CHU de Nantes
WB IgG	Détection des IgG par western-blot (LD BIO)

- 1^{er} temps : Tests de dépistage systématiques :

Tests IgG et IgM par méthode CMIA (chimiluminescence Microparticle Immuno Assay) sur automate Architect (Abbott Diagnostics).

- 2^{ème} temps : Techniques réalisées dans le cadre des expertises sérologiques :

Selon les résultats des tests IgG et IgM de dépistage :

- **Test IgG positif/Test IgM positif** ⇒ Avidité des IgG pour dater l'infection toxoplasmique.
- **Test IgG négatif/Test IgM positif** ⇒ IgM (ISAGA) + IgA +/- WB IgG pour confirmer ou infirmer une séroconversion toxoplasmique débutante.
- **Taux IgG limite ou faible /Test IgM négatif** ⇒ WB IgG pour préciser le statut immunitaire (immunité ancienne ou absence d'immunité).

Ces algorithmes ne sont pas figés, d'autres associations de tests pouvant être effectuées face à des situations particulières.

La plupart des expertises nécessitent l'analyse d'au moins 2 échantillons de sérum successifs.

1.4 - Stratégie du laboratoire de microbiologie du CH Le Mans

- Depuis 2019, le laboratoire ne réalise plus les techniques d'immunocapture-agglutination et la détermination de l'avidité des IgG. Les demandes d'expertises sérologiques sont adressées au CHU d'Angers :
 - Dans le cadre de la surveillance sérologique chez la femme enceinte : confirmation et datation d'une séroconversion toxoplasmique, confirmation du statut immunitaire en cas de taux faible IgG.
 - Dans le cadre du bilan néonatal et du suivi de l'enfant la 1^{ère} année : pour réalisation des techniques spécifiques adaptées au contexte de l'enfant (western-blot, ISAGA IgM et ISAGA IgA).

- Techniques sérologiques réalisées au CH Le Mans (depuis 12 juin 2019) :
 - Techniques de dépistage sur automate Cobas E 801 (Roche Diagnostics) avec dosage des IgG et des IgM anti-toxoplasmiques.
 - En cas de positivité des IgM sur Cobas, contrôle des IgM sur Vidas 3 (Biomérieux) afin d'écartier un faux positif IgM. La présence d'IgM par les 2 techniques donnera lieu à un envoi au CHU d'Angers pour expertise.
 - Test d'agglutination sur particules de latex Pastorex Toxo (BioRad) afin de dépister un faux positif en IgG. En cas de discordance des résultats entre ce test au latex et la technique Cobas, le sérum est envoyé au CHU d'Angers pour expertise.

2 - Diagnostic biologique prénatal de toxoplasmose congénitale

2.1 - Indication

- Séroconversion toxoplasmique survenue pendant la grossesse après la période péri conceptionnelle (plus de 15 jours après la conception).
- Séroconversion toxoplasmique survenue en période péri conceptionnelle **SI** apparition de signes d'appel échographiques.

2.2 - Méthodes de diagnostic biologique prénatal

En Pays de la Loire, seuls les Laboratoires de Parasitologie-Mycologie des CHU d'Angers et de Nantes possèdent l'agrément ministériel autorisant la pratique du diagnostic biologique prénatal de la toxoplasmose. Au CH Le Mans, les prélèvements de liquide amniotique sont adressés au CHU d'Angers (convention CH Le Mans - CHU d'Angers pour la réalisation de ces analyses de diagnostic biologique prénatal).

- **Type de prélèvement** : liquide amniotique ;
- **Date du prélèvement** : à partir de 18 SA (pas avant), en respectant un délai de 4 semaines minimum après le début de l'infection (= datation de la séroconversion) ;
- **Documents administratifs : obligatoires** (adressés avec le prélèvement) :
 - Fiche de renseignements : résultats des sérologies réalisées chez la mère, traitement en cours, signes échographiques éventuels ;
 - Attestation de consultation préalable et formulaire de consentement de la femme enceinte (complétés et signés par le médecin préleveur et par la patiente) ;

- **Modalités de prélèvement et d'acheminement au laboratoire :**

- 1 flacon stérile contenant au moins 15 ml de liquide amniotique.
- Le liquide amniotique doit parvenir au plus vite au laboratoire, si possible dans les 4 heures qui suivent le prélèvement.

- **Technique biologique :**

Une seule technique d'analyse est aujourd'hui recommandée par la HAS et le CNR : la PCR en temps réel avec amplification de la séquence cible REP 529 (fragment multicopie du génome de *Toxoplasma gondii*).

Remarque : l'inoculation à la souris pratiquée jusqu'en 2018 n'est plus indiquée dorénavant à des fins diagnostiques mais peut encore être pratiquée à visée épidémiologique, pour l'isolement de souches et leur typage (recommandations HAS/CNR).

- **Délais de réponse des analyses biologiques :**

- Au CHU d'Angers : la PCR est réalisée à raison d'une série hebdomadaire. Le prélèvement doit parvenir au laboratoire au plus tard le lundi en fin de matinée pour un résultat rendu le mardi après-midi.
- Au CHU de Nantes : la PCR est réalisée 2 fois par semaines (lundi et jeudi).

- **Interprétation des résultats :**

Le rendu des résultats est qualitatif et précise qu'un résultat négatif de DPN n'exclut pas totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale (sensibilité de 90 %).

3 - Diagnostic néonatal de toxoplasmose congénitale

3.1 - Indications :

- Nouveau-né dont la mère a fait une séroconversion toxoplasmique pendant la grossesse quelle que soit la date de la séroconversion (y compris les séroconversions péri-conceptionnelles) et quel que soit le résultat du diagnostic biologique prénatal.
- Nouveau-né dont la mère, séronégative vis-à-vis de la toxoplasmose pendant la grossesse, s'est positivée lors du contrôle effectué à l'accouchement ou en post-accouchement.

3.2 - Prélèvements et techniques

Compte tenu de la complexité d'interprétation de certains tests, les analyses sérologiques dans le cadre du diagnostic néonatal doivent être réalisées par un laboratoire expert de la toxoplasmose (recommandations CNR/HAS) : CHU d'Angers et CHU de Nantes pour les Pays-de-la-Loire.

3.2.1 - Bilan à l'accouchement

- **Sang de la mère** à l'accouchement (5 ml sur tube sec) : échantillon utilisé pour l'analyse sérologique dont les profils immunologiques comparés mère/enfant par western-blot
- **Placenta** : recueillir la totalité du placenta et des membranes (et au minimum 200g), dans un seau propre, hermétique, sans conservateur (Bouin, formol), puis transmettre au plus vite au laboratoire (avant transmission, conserver à 4°C mais ne pas congeler). Analyse par PCR uniquement.
- **Sang de cordon** (3 ml sur tube sec sans gel et 5 ml sur tube EDTA) : dosage des IgG + détection des IgM et des IgA (ISAGA) sur sérum (tube sec) et PCR sur sang total (tube EDTA)
- Liquide amniotique prélevé à l'accouchement : une PCR (laboratoires des CHU d'Angers et Nantes) peut également être réalisée sur cet échantillon biologique si toutefois il est prélevé à l'accouchement

Lors de l'accouchement, il est indispensable d'adresser rapidement ces prélèvements au laboratoire. Pour des raisons pratiques, la recherche du parasite sur le placenta est transmise par les Laboratoires du CHU d'Angers et du CH Le Mans au Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Nantes qui réalise la recherche du parasite par PCR.

3.2.2 - Bilan à la période néonatale

- Sang de l'enfant prélevé à J3/J4 et entre J10 et J15 (3 ml sur tube sec) :
Analyse des profils immunologiques comparés mère/enfant par western-blot + détection des IgM (ISAGA) + détection des IgA spécifiques
- LCR de l'enfant (flacon stérile) (cf. indication Référentiel RSN spécifique « Prise en charge maternelle et néonatale ») :
Biochimie + Parasitologie (PCR)

3.2.3 - Interprétation des résultats

Critères de diagnostic néonatal de toxoplasmose congénitale :

- Détection d'IgM ou IgA anti-*Toxoplasma* sur sang à J3/J4 confirmée entre J10 et J15 ;
- Et/ou néosynthèse d'IgG et/ou d'IgM anti-*Toxoplasma* sur sang de l'enfant ;
- Et/ou PCR positive dans le sang de cordon ;
- Et/ou PCR positive sur liquide amniotique prélevé à l'accouchement.

Une PCR positive dans le placenta apporte une forte présomption de toxoplasmose congénitale mais doit être confirmée par la positivité d'un autre test.

3.3 - Surveillance de l'enfant

3.3.1 - Indications

- Enfant né de mère ayant présenté une séroconversion toxoplasmique pendant la grossesse : surveillance jusqu'à négativation des IgG, qui doit survenir avant l'âge d'un an.
- Enfant ayant une toxoplasmose congénitale (même si la toxoplasmose est infraclinique) ; surveillance au-delà de la première année.

3.3.2 - Modalité de la surveillance sérologique

Comme pour le diagnostic néonatal, le suivi sérologique postnatal chez l'enfant doit être réalisé par un laboratoire expert de la toxoplasmose

- **Fréquence :**
 - Premier contrôle sérologique à J30.
 - Contrôles sérologiques à 3, 6, 9 mois et à 1 an (calendrier pouvant être modifié en fonction des résultats sérologiques). Il est capital de surveiller l'enfant jusqu'à négativation complète de la sérologie pour affirmer qu'il n'a pas été contaminé.
- **Prélèvements et techniques :**
 - Sang de l'enfant (3 ml sur tube sec) ;
 - Dosage systématique des 3 isotypes à l'aide de techniques adaptées :
 - IgG : analyse de l'évolution des IgG dans le même laboratoire, par la même technique
 - IgM : ISAGA-IgM
 - IgA : ISAGA-IgA (CHU d'Angers) ou méthode EIA (CHU de Nantes).

Un western-blot avec analyse des profils immunologiques comparés mère/enfant peut être réalisé jusqu'à l'âge d'1 mois pour les IgM et jusqu'à l'âge de 3 mois pour les IgG.

3.3.3 - Interprétation des résultats

- Critères de diagnostic de toxoplasmose congénitale :
 - Détection d'IgM ou IgA anti-*Toxoplasma* sur sang de l'enfant ;
 - Et/ou taux d'IgG anti-*Toxoplasma* sériques qui augmente sur des prélèvements successifs avant un an, et/ou qui persiste positivement à un an ;
 - Et/ou néosynthèse d'anticorps par l'enfant (profils immunologiques comparés).

- Critères d'exclusion du diagnostic de toxoplasmose congénitale :

Le diagnostic de toxoplasmose congénitale ne peut être exclu définitivement qu'après négativation de la sérologie au cours de la première année (en absence de traitement).

Deux sérologies successives parfaitement négatives et/ou une sérologie négative à l'âge d'1 an permettent ainsi d'éliminer le diagnostic de toxoplasmose congénitale et d'arrêter la surveillance de l'enfant.

Mise à jour par : B. CIMON, parasitologue (CHU Angers), RA. LAVERGNE, parasitologue (CHU Nantes), P. PENN, microbiologiste (CHG Le Mans).

Références

1. Cimon B, Biquard F. Le Diagnostic prénatal en pratique. Elsevier Masson. 2011, Chap. 34. Toxoplasmose, 351-360.3.
2. Centre National de Référence (CNR) sur la Toxoplasmose – CHU de Reims.
3. Site : <http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/>
4. Dardé ML, Villard O, Villena I. Référentiel en microbiologie médicale (Rémic). Société Française de Microbiologie. 2018, Chap.110. Toxoplasmose, 877-888
5. Haute Autorité de Santé. Rapport – Argumentaire. 2017, Diagnostic biologique de la toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent (dont la femme enceinte), la toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et la toxoplasmose oculaire.
6. Site : https://www.hassante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/201702/argumentaire_toxoplasmose_me_to.pdf
7. Villard O, Jung-Etienne J, Cimon B, et al. Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduit à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistages. Feuillet de Biologie. 2011, 298, 1-7.
8. Villard, O., Cimon, B., L'Ollivier, C. et al. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016, 84, (1), 22-33.

Pour la prise en charge en cas de séroconversion péri conceptionnelle ou en cours de grossesse : voir référentiel RSN spécifique « toxoplasmose : prise en charge maternelle et néonatale »