

## Avidité des IgG anti *Toxoplasma gondii*. Etude en vue d'établir un nouvel arbre décisionnel dans le dépistage de la maladie

Pfister P, Dromigny JA (1)

**RESUME** : La toxoplasmose est une parasitose extrêmement fréquente qui peut avoir de lourdes conséquences pour le fœtus dans les premiers mois de la grossesse.

Les auteurs étudient ici la possibilité de mettre en place le test d'avidité des IgG vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* en routine dans un dépistage sérologique systématique de cette affection, principalement en début de grossesse (3<sup>ème</sup> mois).

Mots-clés : Toxoplasmose - Diagnostic - Sérologie - Madagascar.

**ABSTRACT** : "Interest of IgG avidity in the diagnosis of toxoplasmosis" : Toxoplasmosis infection is commonly asymptomatic, but it may have severe teratogenic consequences. The authors review the literature on serologic screening in the first trimester of pregnancy.

Key-words : Toxoplasmosis - Diagnosis - Serology - Madagascar.

### INTRODUCTION

La toxoplasmose est une anthroponose cosmopolite très répandue chez les mammifères et les oiseaux. L'agent pathogène est *Toxoplasma gondii* qui a été découvert en 1908 chez *Ctenodactylus gondii* à Tunis par Nicolle et Manceaux. Chez l'homme, il fut décrit à la même époque par Darling, puis retrouvé en 1923 par Janku dans les kystes rétinien d'un enfant hydrocéphale [1].

*T. gondii* est un protozoaire intracellulaire obligatoire et la seule espèce du genre *Toxoplasma*. Il appartient à la sous-classe des coccidies et à la famille des sarcocystidés [2]. Chez l'hôte définitif (chat et autres félinés), le cycle biologique de la toxoplasmose est composé d'une reproduction asexuée (schizogonie) et sexuée (gamogonie). Il aboutit à l'émission d'oocystes très infectants et résistants dans le milieu extérieur [3]. L'homme se contamine en ingérant le toxoplasme soit directement sous forme d'oocystes, soit indirectement sous forme de bradyzoïtes enkystés dans les viandes mal cuites des hôtes intermédiaires.

La toxoplasmose est ubiquitaire. Sa prévalence est très hétérogène selon les pays. Elle varie essentiellement en fonction du niveau d'hygiène des populations et des habitudes alimentaires (notamment du degré de cuisson des viandes) [2,4].

La toxoplasmose est une pathologie normalement asymptomatique chez le sujet sain. La forme bénigne, la plus fréquente, caractérisée par des adénopathies, de la fièvre et une asthénie, évoque une mononucléose infectieuse [5]. Cette infection parasitaire est l'exemple d'un équilibre presque parfait entre la virulence du parasite et

l'immunité de son hôte [3]. Sa gravité réside dans les cas où elle envahit le sujet immunodéprimé (sidéens, transplantés ou cancéreux) et la femme enceinte. Dans ce dernier cas, elle peut engendrer une fœtopathie grave à type d'hypotonie, microcéphalie, microophtalmie, chorioretinite [5, 6].

Seuls les examens de laboratoire confirment le diagnostic de toxoplasmose. La mise en évidence directe des parasites (examen microscopique, inoculation à la souris, culture cellulaire, PCR) est délicate et peu accessible dans le cadre d'un dépistage systématique [7,8,9].

Pour les laboratoires d'analyses médicales de routine, les examens sérologiques restent la base du diagnostic [10]. L'infection par *T. gondii* provoque une réaction humorale très riche avec des anticorps persistant durant toute la vie de l'individu. Les tests habituellement pratiqués permettent de mettre en évidence des immunoglobulines (Ig) de type G et M. Les IgM, permettant de dépister des infections récentes, sont au maximum dans les premières semaines puis régressent classiquement en moins de 4 mois. Toutefois avec les nouvelles techniques d'immunocapture (ISAGA) les IgM persistent 6 à 12 mois, voire plus, après la séroconversion [11]. Les IgG atteignent leur maximum en 2 à 3 mois, restent en plateau quelques mois puis régressent mais sans disparaître complètement [9].

Ainsi le diagnostic d'une toxoplasmose aiguë repose sur l'observation de l'ascension significative du titre des IgG à 3-4 semaines d'intervalle, associée à la présence d'IgM. Mais lorsque la réponse IgG a atteint la phase de plateau, il est alors impossible de dater précisément le début de l'infection par les techniques sérologiques classiques. En effet, le titre et la durée de la phase

<sup>1</sup> Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274 - 101 Antananarivo - Madagascar.

de plateau des IgG et celle de la réponse IgM varie considérablement d'un sujet à l'autre. Cette limite peut être gênante en obstétrique lorsqu'il faut poser une indication de diagnostic prénatal de toxoplasmose [12].

L'apparition d'un test d'avidité des IgG offre de nouvelles possibilités de datation des séroconversions pouvant être très utiles chez les femmes enceintes [13,14].

## OBJECTIF DE L'ETUDE

Les manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale peuvent être particulièrement graves lorsque la contamination fœtale a lieu au cours du premier trimestre, et il est fréquent que des femmes enceintes viennent au laboratoire pour effectuer une sérologie toxoplasmique sans connaître leur statut sérologique antérieur.

Ainsi, devant plusieurs cas cliniques pouvant faire craindre une séroconversion précoce chez des femmes enceintes, nous avons décidé de mettre en place au Centre de Biologie Clinique (CBC) de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) le test d'avidité des IgG anti-toxoplasmose permettant d'infirmer ou de confirmer rapidement une toxoplasmose chez la mère dans les trois premiers mois de la grossesse.

## MATERIEL ET METHODES

L'étude a été faite entre le 31 août 2000 et le 31 octobre 2000, parmi les patients venant au CBC avec une prescription de sérologie de la toxoplasmose. Les patients remplissaient systématiquement une fiche comprenant les renseignements cliniques suivants : âge, sexe, présence d'une grossesse, présence de ganglions et/ou d'une fièvre supérieure à 38° C dans le mois précédent et contexte de la demande de sérologie (bilan systématique ou autres).

Le titrage des IgG anti toxoplasmose a été réalisé en technique ELFA (Enzym Linked Fluorescent Assay) sur un automate Vidas® (bioMérieux®) (Kit VidasToxo IgG II) (bioMérieux®). Nos résultats sont exprimés en Unités Internationales par ml (UI/ml). Les sérologies possédant un titre d'IgG supérieur à 10 UI/ml ont été considérées comme positives [10].

Le test Toxo Isaga (bioMérieux®) a permis la détection spécifique des IgM anti-toxoplasmiques par une technique d'immunocapture [15]. La lecture permet, en fonction d'un score obtenu, de classer la présence d'IgM en 3 classes : négative, douteuse et positive.

L'avidité des IgG a été déterminée par le kit Vidas® Toxo IgG avidity (bioMérieux®) également réalisé sur automate Vidas® (bioMérieux®). L'avidité mesure la force de liaison d'un sérum pour un antigène plurivalent. Le principe de la mesure de l'avidité consiste à comparer la liaison du sérum à l'antigène avec et sans agent pouvant dissocier cette liaison (solution d'urée 6 M) : un sérum de forte avidité ne sera pas facilement dissociable à l'inverse d'un sérum de faible avidité. Un index d'avidité supérieur ou égal à 0,300 permet d'exclure une infection acquise moins de 4 mois avant le prélèvement [16].

Nous avons considéré comme séroconversion toutes les sérologies présentant des IgM ainsi qu'une élévation significative du taux des IgG sur 2 prélèvements espacés de 2 à 3 semaines.

Le titrage des IgG et la recherche des IgM a été pratiqué sur chaque sérum. Seuls les sérums présentant des taux d'IgG inférieurs à 10 UI/ml n'ont pas été testés vis-à-vis de l'avidité toxoplasmique.

Les analyses ont été réalisées sur des sérums frais ou congelés une seule fois.

Les résultats ont été analysés par un test statistique de  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

## RESULTATS

Durant notre étude, 811 sérums ont été testés. Nous avons réparti nos patients selon le sexe. L'âge des patients était compris entre 12 et 50 ans.

Tableau I : Répartition des avidités toxoplasmiques en fonction des titres d'IgG (UI/ml) et de la présence d'IgM parmi des sérums prélevés chez des femmes

|                        | IgG < 10<br>(UI/ml) |    |    | 10 = IgG < 50<br>(UI/ml) |   |   | Ig = 50<br>(UI/ml) |    |    |
|------------------------|---------------------|----|----|--------------------------|---|---|--------------------|----|----|
|                        | Ig M                |    |    | Ig M                     |   |   | Ig M               |    |    |
|                        | N                   | D  | P  | N                        | D | P | N                  | D  | P  |
| <b>Avidité forte</b>   | NT                  | NT | NT | 113                      | 4 | 3 | 96                 | 19 | 22 |
| <b>Avidité moyenne</b> | NT                  | NT | NT | 2                        | 0 | 0 | 0                  | 1  | 2  |
| <b>Avidité faible</b>  | NT                  | NT | NT | 1                        | 1 | 0 | 0                  | 0  | 0  |
| <b>Total</b>           | 340                 | 0  | 0  | 116                      | 5 | 3 | 96                 | 20 | 24 |

N : Négatif ; D : Douteux ; P : Positif ; NT : Non testé

Les renseignements cliniques ont révélé la présence de 270 femmes enceintes et de 295 femmes non enceintes. Un contexte clinique suspect de toxoplasmose a été signalé pour 43 patientes (présence de fièvre supérieure à 38°C et/ou de ganglions). Nous n'avons pas noté de différence significative de séroprévalence entre les femmes avec et sans contexte clinique évocateur de toxoplasmose. Les données n'étaient pas disponibles pour 34 patientes.

La prévalence toxoplasmique dans notre

population d'étude est de 41,3%. Aucune IgM n'a été détectée parmi les femmes présentant un taux d'IgG inférieur à 10 UI/ml. A l'aide d'un seul prélèvement, nous avons pu considérer comme immunisées (séroconversion toxoplasmique datant de plus de 4 mois) 209 patientes présentant des IgG supérieures à 10 UI/ml, une forte avidité et une absence d'IgM. Parmi les 52 patientes chez lesquelles des IgM ont été détectées, 48 possédaient une forte avidité toxoplasmique et 4 une faible ou moyenne avidité toxoplasmique. Ces derniers cas ne permettant pas d'exclure une infection toxoplasmique supérieure à 4 mois, une étude de la cinétique des anticorps a été nécessaire pour établir le statut sérologique. Trois patientes présentant une avidité toxoplasmique faible ou moyenne en l'absence d'IgM ont dû également réaliser un nouveau prélèvement espacé de 2 à 3 semaines pour étude de la cinétique des anticorps. Aucune séroconversion n'a été observée lors de la durée de l'étude. Aucune femme enceinte n'a été obligée de refaire une sérologie pour préciser son statut immunologique.

**Tableau II : Répartition des avidités toxoplasmiques en fonction des titres d'IgG (UI/ml) et de la présence d'IgM parmi des sérums prélevés chez des hommes**

|                        | IgG < 10 (UI/ml) |          |          | 10 = IgG < 50 (UI/ml) |          |          | Ig = 50 (UI/ml) |          |          |
|------------------------|------------------|----------|----------|-----------------------|----------|----------|-----------------|----------|----------|
|                        | Ig M             |          |          | Ig M                  |          |          | Ig M            |          |          |
|                        | N                | D        | P        | N                     | D        | P        | N               | D        | P        |
| <b>Avidité forte</b>   | NT               | NT       | NT       | 63                    | 0        | 0        | 52              | 0        | 7        |
| <b>Avidité moyenne</b> | NT               | NT       | NT       | 1                     | 0        | 0        | 2               | 0        | 0        |
| <b>Avidité faible</b>  | NT               | NT       | NT       | 0                     | 0        | 0        | 0               | 0        | 0        |
| <b>Total</b>           | <b>82</b>        | <b>0</b> | <b>0</b> | <b>64</b>             | <b>0</b> | <b>0</b> | <b>54</b>       | <b>0</b> | <b>7</b> |

N : Négatif ; D : Doux ; P : Positif ; NT : Non testé

Toutes les demandes sérologiques chez les hommes étaient faites en appui à un diagnostic clinique supposé.

La prévalence toxoplasmique était de 60,4%. A l'aide d'un seul prélèvement, 115 patients, présentant des IgG supérieures à 10 UI/ml, une forte avidité et une absence d'IgM, ont été considérés comme immunisés (séroconversion toxoplasmique datant de plus de 4 mois). Des IgM ont été détectées pour 7 sérums qui présentaient en outre une forte avidité toxoplasmique. Pour 3 patients présentant une avidité moyenne sans IgM, une étude de la cinétique des anticorps a été nécessaire pour préciser le statut sérologique. Aucune confirmation sérologique de séroconversion n'a pu être établie.

## DISCUSSION

La séroprévalence toxoplasmique globale de notre population d'étude (48%) est comparable à

celle rapportée dans de précédentes études sérologiques réalisées à Antananarivo [17,18]. Nous notons que la séroprévalence de la population masculine est significativement supérieure à celle de la population féminine ( $p < 3,10^{-5}$ ). Ce phénomène s'explique par le fait que les hommes venaient avec un contexte clinique évocateur de toxoplasmose.

Dans notre étude, 59 patients présentant des IgM étaient suspects d'avoir fait une séroconversion récente. L'étude de l'avidité des IgG anti-*Toxoplasma gondii* a permis d'exclure une séroconversion de moins de 4 mois dans 93,2% des cas (55/59). Seules 7,7 % (4/52) des femmes présentant des IgM associées à une avidité moyenne ou faible ont dû refaire une nouvelle sérologie pour étude de la cinétique des anticorps qui n'a permis de détecter aucune séroconversion. Pour tous les hommes, la présence d'IgM était associée à une forte avidité.

Seulement 6 autres patients présentant une avidité toxoplasmique faible ou moyenne en l'absence d'IgM ont dû également réaliser un nouveau prélèvement espacé de 2 à 3 semaines pour étude de la cinétique des anticorps.

La détermination de l'avidité couplée aux autres marqueurs habituellement effectués nous a donc permis d'établir en un seul prélèvement le statut sérologique de 97,4% (379/389) des patients présentant des IgG supérieures à 10 UI/ml. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés dans de récentes publications soulignant la performance de ce test ainsi que le confort apporté aux patients qui peuvent établir leur statut sérologique en un seul prélèvement [13,14,19,20]. Sachant les graves conséquences pouvant survenir chez un fœtus en cas de séroconversion de la mère lors du premier trimestre de grossesse, ce nouveau test prend toute son importance chez les femmes enceintes ne connaissant pas leur statut sérologique en début de grossesse. En effet, sans attendre un nouveau prélèvement espacé de quelques semaines, le médecin peut rassurer sa patiente ou décider de lui donner un traitement spécifique [13].

Toutefois si l'efficacité du test d'avidité des IgG anti-*Toxoplasma gondii* a été prouvée, pour différencier des infections aiguës et chroniques chez des sujets immunocompétents [21], ce test n'est d'aucune aide dans le diagnostic de toxoplasmose cérébrale ou extra-cérébrale chez des patients immunodéprimés [22]. La mise en place de ce test dans notre laboratoire d'analyses médicales n'est, contrairement à d'autres pays d'Afrique [23], pas limitée par la présence d'une importante population immunodéprimée, en raison

notamment de la très faible prévalence de l'infection HIV à Madagascar [24].

## CONCLUSION

De notre étude, il ressort que la détermination de l'avidité des IgG toxoplasmiques par la méthode Vidas® est fiable et facile à mettre en œuvre. Elle permet de poser en un seul temps un diagnostic sérologique et d'exclure une toxoplasmose récente de moins de 4 mois même en présence IgM résiduelles. Malgré le coût élevé de ce test, le coût global pour le patient reste moins élevé qu'antérieurement (obligation d'effectuer une deuxième sérologie pour établissement du statut sérologique).

Ce test s'est donc avéré adapté à notre pratique de laboratoire et nous avons décidé, après information auprès des médecins locaux, de l'appliquer en routine au Centre de Biologie Clinique de l'Institut Pasteur de Madagascar.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions les laboratoires Biomérieux pour l'aide qu'ils nous ont apportée en nous fournissant une partie des réactifs nécessaires à la réalisation de cette étude.

## REFERENCES

- 1- **Nicolas JA, Pestre-Alexandre M.** Toxoplasmose : Une zoonose transmissible à l'homme. *Med Mal Infect* 1993; **23** : 129-138.
- 2- **Fortier B, Ajana F.** Toxoplasme et toxoplasmose. Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Maladies infectieuses, 4-330-A-10, 1993.
- 3- **Bourée P.** La Toxoplasmose. In : Dictionnaire de la parasitologie. Paris : Ellipse, 1989 : 616-624.
- 4- **Hocquet P.** Toxoplasmose. In : Pathologie Médicale, 2 éd. Paris : Mason, 1979 : 715-719.
- 5- **Ambroise-Thomas P, Pelloux H.** La toxoplasmose et sa pathologie. *Med Mal Infect* 1993; **23** : 121-128.
- 6- **Morlat P, Ragnaud JM, Gin H, Lacoste D, Beylot J, Aubertin J.** La toxoplasmose cérébrale au cours du SIDA. *Med Mal Infect* 1993; **23** : 183-189.
- 7- **Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Racinet C, Grefenstette I, Bost-Bru C, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P.** Detection of *Toxoplasma gondii* in 94 placentae from infected women by polymerase chain reaction, *in vivo*, and *in vitro* cultures. *Placenta* 1998; **19** : 545-549.
- 8- **Romand S, Wallon M, Franck J, Thulliez P, Peyron F, Dumon H.** Prenatal diagnosis using polymerase chain reaction on amniotic fluid for congenital toxoplasmosis. *Obstet Gynecol* 2001; **97** : 296-300.
- 9- **Derouin F, Thulliez P.** Diagnostic biologique de la toxoplasmose. *Laborama* 1993; **33** : 5-17.
- 10- **Petithory JC, Ambroise-Thomas P, De Loye J, Pelloux H, Goullier-Fleuret A, Milgram M, Buffard C, Garin JP.** Serodiagnosis of toxoplasmosis : a comparative multicenter study of a standard scale through various actual tests and expression of the results in international units. *Bull WHO* 1996; **74** : 291-298.
- 11- **Duffy KT, Wharton PJ, Johnson JD, New L, Holliman RE.** Assessment of immunoglobulin-M immunosorbent agglutination assay (ISAGA) for detecting *Toxoplasma* specific IgM. *J Clin Pathol* 1989; **42** : 1291-1295.
- 12- **Logar J, Novak-Antolic Z, Zore A.** Specific IgG avidity-a supplementary assay in serological screening for toxoplasmosis in pregnancy. *J Infect* 1999; **38** : 61-63.
- 13- **Liesenfeld O, Montoya JG, Kinney S, Press C, Remington JS.** Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. *J Infect Dis* 2001; **183** : 1248-1253.
- 14- **Suzuki LA, Rocha RJ, Rossi CL.** Evaluation of serological markers for the immunodiagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *J Med Microbiol* 2001; **50** : 62-70.
- 15- **Goubet S, Pelloux H, Fricker-Hidalgo H, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P.** Serodiagnosis of toxoplasmosis : comparison of the Elisa Axysm (Abbott) kit with the Vidas (bioMérieux) kit, indirect immunofluorescence and Isaga. *Ann Biol Clin* 1999; **57** : 481-484.
- 16- **Pelloux H, Brun E, Vernet G, Marcillat S, Jolivet M, Guergour D, Fricker-Hidalgo H, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P.** Determination of anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin G avidity : adaptation to the Vidas system (bioMérieux). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; **32** : 69-73.
- 17- **Dromigny JA, Pécarrère JL, Leroy F, Ollivier G, Boisier P.** Approche de la toxoplasmose à Antananarivo. Etude réalisée à l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) sur un échantillonnage de 2 354 sujets. *Bull Soc Pathol Exot* 1996; **89** : 212-216.
- 18- **Lelong B, Rahelimino B, Candolfi E, Ravelojaona BJ, Villard O, Rasamindrakotroka AJ, Kien T.** Prévalence de la toxoplasmose dans une population de femmes enceintes à Tananarive (Madagascar). *Bull Soc Pathol Exot* 1995; **88** : 46-49.
- 19- **Pujol-Rique M, Quinto L, Danes C, Valls ME, Coll O, Moreno A, Jimenez de Anta MT.** Dating anti-*Toxoplasma* IgM in pregnancy using VIDAS-ELFA methods. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; **18** : 274-278.
- 20- **Robert-Gangneux F, Vieljeuf C, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J.** Apport de l'avidité des anticorps dans la datation d'une séroconversion toxoplasmique. *Ann Biol Clin* 1998; **56** : 586-589.
- 21- **Sensini A, Pascoli S, Marchetti D, Castronari R, Marangi M, Sbaraglia G, Cimmino C, Favero A, Castelletto M, Mottola A.** IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection : a multicenter study. *Clin Microbiol Infect* 1996; **2** : 25-29.
- 22- **Mechain B, Garin YJ, Robert-Gangneux F, Dupouy-Camet J, Derouin F.** Lack of utility of specific immunoglobulin G antibody avidity for serodiagnosis of reactivated toxoplasmosis in immuno-compromised patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; **7** : 703-705.
- 23- **Fontanet A, Piot P.** State of our knowledge : the epidemiology of HIV/AIDS. *Health Transit Rev* 1994; **4** : 11-22.
- 24- **Andriamahenina R, Ravelojaona B, Rarivoharilala E, Ravaoarimalala C, Andriamiadana J, Andriamahefazafy B, May JF, Behets F, Rasamindrakotroka A.** AIDS in Madagascar. I. Epidemiology, projections, socioeconomic impact, interventions. *Bull Soc Pathol Exot* 1998; **91** : 68-70.