

Dépistage de la toxoplasmose materno-foetale : étude des cas suivis à l'Institut Pasteur de Tunis (2007-2010)

Toxoplasmosis mother-to-child screening: study of cases followed in the Pasteur Institute of Tunis (2007-2010)

R. Ben Abdallah · E. Siala · A. Bouafsoun · R. Maatoug · O. Souissi · K. Aoun · A. Bouratbine

Reçu le 27 juin 2012 ; accepté le 5 mars 2013
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2013

Résumé L'infection toxoplasmique au cours de la grossesse peut être transmise au fœtus et entraîner une toxoplasmose congénitale (TC). Les femmes enceintes constituent donc un groupe à risque pour lequel il est nécessaire de déterminer le statut sérologique. L'objectif de ce travail est d'étudier le profil sérologique de la toxoplasmose chez les femmes enceintes suivies au laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis, de déterminer la prévalence des infections toxoplasmiques au cours de la grossesse et l'incidence de la TC, tout en précisant les difficultés rencontrées dans l'interprétation de certains résultats sérologiques. Il s'agit d'une étude rétrospective concernant 2 833 sérologies toxoplasmiques réalisées auprès de 2070 femmes enceintes, suivies au laboratoire de parasitologie-mycologie de l'Institut Pasteur de Tunis, entre 2007 et 2010. Le diagnostic sérologique a été fait par la technique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) pour la recherche des Immunoglobulines (Ig) G et M antitoxoplasmiques et l'étude de l'avidité des IgG. Devant les primo-infections toxoplasmiques au cours de la grossesse, le diagnostic anténatal à la recherche d'une atteinte foetale a été pratiqué chez 58 parturientes. Il consiste à rechercher l'ADN parasite dans le liquide amniotique par PCR. À la naissance, le diagnostic de la toxoplasmose congénitale a été retenu sur des critères sérologiques. Les sérologies toxoplasmiques effectuées ont montré que 45,6 % des femmes enceintes avaient une immunité toxoplasmique ancienne, alors que 49,6 % des parturientes avaient une sérologie négative. Soixante dix neuf parturientes soit un taux de 3,8 % ont eu une primo-infection toxoplasmique au cours de la grossesse. Parmi elles, 33 % ont eu une séroconversion vraie et 67 % avaient une infection toxo-

plasmique récente devant la positivité des IgG et IgM sur le premier prélèvement avec un IA bas. Pour 21 parturientes la sérologie a montré la présence d'IgG, d'IgM et un IA intermédiaire ou élevé. Parmi les 58 parturientes chez lesquelles le diagnostic anténatal a été pratiqué, la PCR a été positive dans quatre cas. Après la naissance, la TC a été diagnostiquée par la sérologie chez 6 nouveau-nés.

Mots clés Femme enceinte · Toxoplasmose · Toxoplasmose congénitale · Sérologie · Avidité · Laboratoire · Tunis · Tunisie · Maghreb · Afrique du Nord

Abstract Toxoplasmosis when occurring during pregnancy can be transmitted to the fetus and lead to congenital toxoplasmosis (CT). Therefore, pregnant women are a risk group, for which it is necessary to determine the serologic profile. The objective of this study is to determine the serologic profile of toxoplasmosis in pregnant women followed at the Parasitology Laboratory of the Pasteur Institute in Tunis, to establish the prevalence of toxoplasmic infections during pregnancy and the incidence of the CT, noting the difficulties faced in the interpretation of serological results. This is a retrospective study concerning 2833 toxoplasmic serologies practiced on 2070 pregnant women, followed at the Parasitology-Mycology Laboratory of the Pasteur Institute of Tunis, between 2007 and 2010. Serological diagnosis of toxoplasmosis was done by ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) for the detection of Immunoglobulin (Ig) G and M and the study of toxoplasmosis IgG avidity. Prenatal diagnosis was performed for 58 women by amniotic fluid sampling. *Toxoplasma gondii* was detected by Polymerase Chain Reaction (PCR). At birth, the diagnosis of congenital toxoplasmosis was established based on serology. The toxoplasmic serologies carried out have shown that 45.6% of the pregnant women were formerly immunized while 49.6% had a negative serology. A toxoplasmosis primary infection acquired during pregnancy was detected in 79 cases (3.8%).

R. Ben Abdallah (✉) · E. Siala · A. Bouafsoun · R. Maatoug · O. Souissi · K. Aoun · A. Bouratbine
Laboratoire de parasitologie-mycologie,
Institut Pasteur de Tunis, 13, Place Pasteur BP 74,
1002 Tunis, Tunisie
e-mail : ismail_rym@yahoo.fr

Among them, 33% had a true seroconversion while 67% had a recent toxoplasmosis infection in view of the positivity of IgG and IgM on the first sample with a low index of avidity (IA). For 21 parturients whose serology showed the presence of IgG, IgM and an intermediate or high IA. Among the 58 parturients in whom prenatal diagnosis was performed, PCR was positive in four cases. After birth, six cases of congenital toxoplasmosis were detected by serology.

Keywords Pregnant woman · Toxoplasmosis · Congenital toxoplasmosis · Serology · Avidity · Laboratory · Tunis · Tunisia · Maghreb · Northern Africa

Introduction

L'infection toxoplasmique au cours de la grossesse peut être transmise au fœtus et entraîner une toxoplasmose congénitale (TC). Les conséquences de l'infection fœtale sont variables, allant des formes infracliniques à des atteintes sévères (1). Des séquelles importantes peuvent se révéler à la naissance ou plusieurs années après (11). Par conséquent et afin de diminuer l'incidence de la TC, des stratégies de prévention ont été mis en place dans différents pays (8,13,15). La Tunisie est l'un des rares pays où un programme national de la prévention de la TC a été mis en place (3,17). Il repose sur le dépistage per gravidique et la surveillance sérologique mensuelle des femmes enceintes non immunisées. Cependant, l'application de ces mesures préventives se heurte à des problèmes de coût, vu qu'un nombre limité de parturientes bénéficient d'une prise en charge par la sécurité sociale dans notre pays.

L'objectif de ce travail est d'étudier le profil sérologique de la toxoplasmose chez les femmes enceintes suivies au laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis, de déterminer la prévalence des infections toxoplasmiques au cours de la grossesse et des TC tout en précisant les difficultés rencontrées dans l'interprétation de certains résultats sérologiques.

Patients et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective de 2 833 sérologies toxoplasmiques concernant 2 070 femmes enceintes, suivies au laboratoire de parasitologie-mycologie de l'Institut Pasteur de Tunis, entre 2007 et 2010 dans le cadre du dépistage anténatal de la TC. Ces femmes ont été adressées dans la majorité des cas par des médecins libéraux. Le diagnostic sérologique a été fait par la technique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) en utilisant les kits « Platelia Toxo IgG, IgM, Biorad, France » pour la recherche des immunoglobulines (Ig) G et M antitoxoplasmiques et la technique

ISAGA (Immunosorbent Agglutination Assay) en utilisant le kit « ISAGA IgM, Biomérieux, France » pour la recherche des IgM dont les titres étaient limités en ELISA. Les sérologies positives avec présence d'IgM et d'IgG ont bénéficié d'une détermination de l'avidité des IgG par le kit « Platelia Toxo Avidity, Biorad, France ». Ce test permet d'exclure une infection toxoplasmique de moins de 20 semaines d'aménorrhée (SA) en cas d'indice d'avidité (IA) supérieur à 0,5. Cependant, un IA inférieur à 0,4 ne permet pas de conclure à une toxoplasmose de moins de 20 SA. Dans ce cas, un deuxième prélèvement à 15 jours d'intervalle a été réalisé pour suivre la cinétique des IgG.

Le diagnostic anténatal de la TC a été pratiqué chez 58 parturientes. Il a consisté à rechercher l'ADN parasite au niveau du liquide amniotique par la technique PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel au moyen de la technologie TaqMan en utilisant deux jeux d'amorces ; le gène B1 et le gène cryptique « Rep 529 ». A la naissance, le diagnostic de la TC a été retenu sur des critères sérologiques à savoir la recherche d'IgG et d'IgM par la technique ELISA, d'IgM par la technique ISAGA et une étude des profils comparés des IgG et des IgM par western blot « LDBIO Diagnostics, France » entre le sérum de la mère et celui du nouveau-né (NN) à la naissance et en suivi entre les différents sérums du NN (j12, j30, j60 et j90). A signaler que ces tests ont été réalisés pour tous les NN suspects de TC.

Résultats

Les sérologies toxoplasmiques effectuées ont montré que 944 femmes enceintes avaient des taux faibles et stables d'IgG sans IgM concluant à une immunité toxoplasmique ancienne (45,6 %). Mille vingt-six parturientes avaient une sérologie négative (49,6 %). Parmi ces dernières, seulement 29 parturientes soit 2,8 % ont été correctement suivies et ont eu en moyenne entre 7 et 9 sérologies toxoplasmiques au cours de la grossesse. Dans notre étude, 946 parturientes (45,7 %) ont eu une première sérologie toxoplasmique au cours du premier trimestre, 45,2 % au cours du 2^e trimestre et 9,1 % lors du 3^e trimestre.

Soixante-dix-neuf parturientes (3,8 %) ont eu une primo-infection toxoplasmique au cours de la grossesse. Celle-ci a été retenue, soit devant une séroconversion vraie documentée sur deux prélèvements successifs (26 cas), soit devant la présence d'IgM et d'IgG spécifiques associées à une faible avidité des IgG (<0,4) sur le premier prélèvement (53 cas). Pour 21 parturientes (1 %), la sérologie a montré la présence d'IgG, d'IgM et un IA intermédiaire ou élevé (Tableau 1). Ces résultats étaient délicats à interpréter devant une 1^{re} sérologie toxoplasmique qui a été effectuée tardivement au-delà de la 20^e SA.

Tableau 1 Résultats des tests d'avidité des IgG réalisés selon le terme de la grossesse / <i>Results of IgG avidity test according to the term of pregnancy.</i>				
Trimestre	IA bas	IA intermédiaire	IA élevé	Total
1 ^{er}	16	0	0	16
2 ^e	27	10	8	45
3 ^e	10	1	2	13
Total	53	11	10	74

Parmi les 58 parturientes chez lesquelles le diagnostic anténatal a été pratiqué, la PCR a été positive dans quatre cas. Parmi ces dernières, une femme a été perdue de vue après l'amniocentèse et trois femmes ont eu une interruption thérapeutique de la grossesse (ITG). Au total, dix cas de TC ont été diagnostiqués dont quatre cas en anténatal et six cas en postnatal et qui ont été diagnostiqués par la sérologie.

Tous les NN étaient asymptomatiques à la naissance avec un examen de fond d'œil qui était normal. Le western blot a montré la présence de bandes supplémentaires en IgM dans tous les cas. L'ELISA et l'ISAGA à la recherche d'IgM étaient positives dans seulement trois cas. Il s'agissait d'infections maternelles toxoplasmiques au cours du 3^e trimestre et la PCR n'a pas été pratiquée.

Discussion

En Tunisie, la prévalence de la toxoplasmose est différente selon les études et les régions géographiques. Dans notre série effectuée à Tunis, dans le nord de la Tunisie, la séroprévalence toxoplasmique chez les femmes enceintes était de 45,6 %. Ce taux s'avère légèrement supérieur à celui de l'étude effectuée (1994-2006) dans la région de Sfax représentant le sud tunisien et qui rapporte une prévalence de 39,3 % (21). Cette disparité entre les deux régions reflète probablement un niveau de transmission relativement élevé dans le nord du pays où le degré élevé d'hygrométrie est favorable au maintien des oocystes (9). D'autres séries hospitalières des années 90 rapportent des séroprévalences de l'ordre de 60 % à 70 % (4,9). Cette variation de prévalences pourrait être expliquée d'une part par un mode de recrutement différent selon les services et d'autre part par des différences dans la méthodologie employée dans les différentes études. Cependant, on pourra noter une diminution de la prévalence de la toxoplasmose en Tunisie qui serait liée à l'amélioration des conditions d'hygiène et du niveau socio-économique de la population générale et à la consommation plus fréquente de la viande congelée (9).

Dans notre série, presque la moitié (49,6 %) des femmes enceintes sont non immunisées vis-à-vis de la toxoplasmose et sont donc exposées au risque de la contamination pendant leur grossesse. Par conséquent, une surveillance

mensuelle de ces femmes séronégatives s'impose jusqu'à l'accouchement, voire deux semaines après, afin d'exclure une infection au cours des derniers jours de la grossesse (2,12). Cependant, notre étude montre que le contrôle sérologique régulier n'a été respecté que dans 2,8 % des cas. Ce suivi incomplet serait lié d'une part à un manque d'information et d'autre part au coût des examens sérologiques et aura comme conséquence des TC latentes qui échapperont au diagnostic et au traitement précoces (23).

Parmi les 2070 parturientes explorées, 79 femmes ont présenté des primo-infections toxoplasmiques soit un taux de 3,8 %. Ce taux est supérieur à celui de l'étude réalisée à Sfax et qui a trouvé un taux de séroconversion de 1,3 % (21). Il est à signaler que la fréquence des primo-infections retrouvée dans notre série est à interpréter avec vigilance vu que notre étude incluait des parturientes adressées par des laboratoires privés ou polyvalents afin de compléter les investigations spécialisées comme le test d'avidité et la PCR pour le diagnostic anténatal. En effet, d'autres études rapportaient des taux de séroconversions nettement inférieurs comme l'étude de Ben Amara dans la région de Tunis qui a montré un taux de 0,9 % ou l'étude de Ben Ayed qui a trouvé un taux de séroconversion de 3‰ (3,4).

Quatre PCR positives ont été répertoriées parmi les 58 parturientes explorées, soit un diagnostic anténatal de TC confirmé dans 6,9 % des cas. Parmi elles, trois ont subi une ITG malgré l'absence d'anomalies échographiques. Toutefois il faut préciser que l'ITG ne doit être proposée qu'en cas de lésions organiques détectées lors de la surveillance échographique (16).

À la naissance, les explorations sérologiques étaient positives chez 6 NN. Trois d'entre eux avaient un diagnostic anténatal négatif. Ceci confirme qu'une PCR négative n'élimine pas le diagnostic de la TC et qu'il faut impérativement contrôler et suivre les bébés à la naissance (5). Cette négativité pourrait s'expliquer par un passage transplacentaire du parasite retardé, après réalisation de l'amniocentèse ou par une faible charge parasitaire transmise (14).

Au total, dix cas de TC ont été diagnostiqués soit une fréquence de l'ordre de 4,8 TC pour 1 000 grossesses. Ce taux est supérieur à celui des autres études qui ont trouvé des taux de 1,9 ‰ dans la région de Tunis et de 0,39 ‰ dans la région de Sfax (3,4). Il est à signaler que les fréquences

rapportées par les différentes études tunisiennes sont à prendre avec réserve et restent sous estimées compte tenu du nombre important de parturientes séronégatives dont le suivi est incomplet. Ces femmes pourraient être exposées à des séroconversions en fin de grossesse qui engendrent souvent des toxoplasmoses infra-cliniques passant inaperçues en absence d'un dépistage sérologique à la naissance (19).

En cas d'infection toxoplasmique, la détermination de la date présumée de la contamination par *T. gondii* par rapport à l'âge de la grossesse est primordiale pour l'indication du diagnostic anténatal (1,10). Ces dernières années, l'étude de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques a considérablement amélioré le diagnostic des toxoplasmoses évolutives en présence d'IgM et d'IgG anti-toxoplasmiques (18,20,22). En effet, dans notre série, l'IA était faible dans 53 cas, soit 71,6 %, ce qui ne permet pas d'exclure une infection per gravidique et impose un diagnostic anténatal. Cependant, il est important de préciser qu'un IA bas peut être le marqueur de la phase aiguë de l'infection, mais insuffisant pour l'affirmer. Ceci peut être lié à la présence de facteurs individuels qui font que, chez certaines femmes, la maturation de la liaison anticorps-antigène est lente et qu'elles gardent par suite un IA bas malgré l'ancienneté de l'infection. Dans ce cas, le suivi de la cinétique des anticorps IgG reste la clé dans l'interprétation de la sérologie toxoplasmique (6). Ainsi, l'augmentation du titre des IgG entre deux prélèvements pratiqués à 15 jours d'intervalle est en faveur d'une infection datant de moins de deux mois (6). La datation de l'infection était difficile pour 21 femmes enceintes incluses dans notre série : dix femmes pour lesquelles l'IA était élevé avec une première sérologie réalisée tardivement au-delà de la 20^e SA et 11 femmes avec un indice d'avidité intermédiaire et une stabilité des IgG. La première sérologie toxoplasmique de nos parturientes a été réalisée au cours du premier trimestre pour 44,2 % des parturientes, pour 46,1 % au cours du deuxième trimestre et chez 9,6 % au cours du troisième trimestre. Une autre étude tunisienne faite à Tunis a rapporté des résultats similaires avec 52,4 % des femmes enceintes qui ont eu leur première sérologie au deuxième trimestre (4). Récemment, une étude faite à Sfax a montré que la première sérologie a été faite après la 18^e SA dans plus de la moitié des cas (53,1 %) (21). Ce retard dans la pratique de la première sérologie toxoplasmique serait certainement lié à la première consultation prénatale qui est fréquemment effectuée tardivement au cours du 2^e trimestre de la grossesse (17). Il est à noter que le dépistage sérologique tardif de la toxoplasmose pourrait être responsable, d'une part, d'un retard du diagnostic d'une éventuelle séroconversion et par conséquent, d'un retard de la prise en charge thérapeutique de la TC et, d'autre part, de difficultés dans l'estimation de la date de l'infection par rapport à l'âge de la grossesse (1 % des parturientes dans notre étude) (22). D'où l'importance de renforcer le programme national de prévention de la TC par

une meilleure information des femmes en âge de procréer quant à la gravité de l'infection toxoplasmique au cours de la grossesse et de l'intérêt du dépistage précoce (7,10). Les recommandations doivent également insister sur l'utilité du suivi sérologique régulier des femmes non immunisées qui permet un diagnostic rapide de l'atteinte congénitale.

Conclusion

La Tunisie reste particulièrement exposée aux problèmes de la toxoplasmose chez les femmes enceintes et ce malgré l'instauration du programme national de prévention. Les principales difficultés sont liées d'une part au retard du dépistage sérologique et d'autre part aux suivis irréguliers et incomplets des parturientes. L'information et la sensibilisation des femmes enceintes doivent être améliorées afin d'assurer une meilleure prise en charge de la toxoplasmose congénitale dans notre pays.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt

Références

1. Barbosa BF, Silva DA, Costa IN, et al (2007) Susceptibility to vertical transmission of *Toxoplasma gondii* is temporally dependent on the preconceptional infection in *Calomys callosus*. *Placenta* 28(7):624–30. Epub 2006 Dec 19.
2. Ben Abdallah R, Siala E, Maatoug R, et al (2011) Toxoplasmose congénitale faisant suite à une primo-infection maternelle en fin de grossesse. *Arch Pédiatr* 18(7):758–60. Epub 2011 May 31.
3. Ben Amara M (2003) Dépistage néonatal de la toxoplasmose congénitale. Etude prospective à propos de 931 nouveau-nés et leurs mères au centre de maternité et de néonatalogie de Tunis. Thèse Méd Tunis (Tunisie)
4. Ben Ayed Nouira N, Hafsia S, Khaled S, et al (1994) Incidence de la toxoplasmose pendant la grossesse et risque de l'infection fœtale. *Tunisie Méd* 72(8-9):487–91
5. Bessièrès MH, Berrebi A, Cassaing S, et al (2009) Diagnosis of congenital toxoplasmosis: prenatal and neonatal evaluation of methods used in Toulouse University Hospital and incidence of congenital toxoplasmosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104(2):389–92
6. Bessièrès MH, Cassaing S, Fillaux J, Berrebi A (2008) Toxoplasmose et grossesse. *Rev Francoph Lab* 38(402):39–50
7. Bessièrès MH, Séguela JP (1992) Dépistage et prévention de la toxoplasmose materno-fœtale. *IBS* 7(2):33–44
8. Blondel B, Supernant K, Du Mazaubrun C, et al (2006) La santé périnatale en France métropolitaine de 1995 à 2003 : résultats des enquêtes nationales périnatales. *J Gynécol Obstet Biol Reprod (Paris)* 35(4):373–87
9. Bouratbine A, Siala E, Chahed MK, et al (2001) Profil séro-épidémiologique de la toxoplasmose au Nord de la Tunisie. *Parasite* 8(1):61–6
10. Boyer KM (2000) Congenital Toxoplasmosis: Current Status of Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Semin Pediatr Infect Dis* 11(3):165–71

11. Boyer KM, Holfels E, Roizen N, et al (2005) Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: Implications for prenatal management and screening. *Am J Obst Gynecol* 192(2):564–71
12. Chemla C, Villena I, Aubert D, et al (2002) Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 9(2):489–90
13. Díaz-Suárez O, Estévez J, García M, et al (2003) Seroepidemiología de la Toxoplasmosis en una comunidad indígena Yucpa de la Sierra de Perijá, Estado Zulia, Venezuela. [Article en espagnol] *Rev Med Chil* 131(9):1003–10
14. Jacquemard F (2004) Syndrome infectieux foetal. In: *Encycl Méd Chir (Paris-France), Pédiatrie* 296-323.
15. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, et al (2001) *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol* 154(4):357–65
16. Khairi H, Fekih M (2008) Prise en charge d'une séroconversion toxoplasmique au cours de la grossesse. *Rev Tun Infectiol* 2:1–4
17. Khémiri B, Mahjoub S, Hmid R, et al (1997) La séroprévalence de la toxoplasmose et de la rubéole parmi une population de femmes enceintes consultant au CMNRT : service A. *Tunisie Méd* 75(10):788–90
18. Lachaud L, Calas O, Picot MC, et al (2009) Value of 2 IgG avidity commercial tests used alone or in association to date toxoplasmosis contamination. *Diagn Microbiol Infect Dis* 64(3):267–74. Epub 2009 Apr 22.
19. Marx-Chemla C, Puygauthier-Toubas D, Foudrinier F, et al (1990) La surveillance immunologique d'une femme enceinte séronégative pour la toxoplasmose doit-elle s'arrêter à l'accouchement ? *Presse Méd* 19(8):367–8
20. Robert-Gangneux F, Vieljeuf C, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J (1998) Apport de l'avidité des anticorps dans la datation d'une séroconversion toxoplasmique. *Ann Biol Clin (Paris)* 56(5):586–9
21. Sellami H, Amri H, Cheikhrouhou F, et al (2010) État actuel de la toxoplasmose dans la région de Sfax, Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot* 103(1):37–40 [<http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/BullSocPatholExot-2010-103-1-41-43.pdf>]
22. Siala E, Aoun K, Chahed MK, Bouratbine A (2006) Difficultés de la datation de la primo-infection par *Toxoplasma gondii* chez les parturientes en Tunisie. *Tunisie Méd* 84(2):85–7
23. Wirden M, Botterel F, Romand S, et al (1999) Intérêt du dépistage en post-partum de la toxoplasmose congénitale après primo-infection maternelle en fin de grossesse. *J Gynécol Obstét Biol Reprod (Paris)* 28(6):566–7