

ARGUMENTAIRE

**Diagnostic biologique de la toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent (dont la femme enceinte), la toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et la toxoplasmose oculaire**

Février 2017

Cet argumentaire, réalisé en vue d'une prise en charge par l'assurance maladie obligatoire, est téléchargeable sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)

**Haute Autorité de santé**

Service communication - information

5, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex

Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

# Sommaire

Abréviations et acronymes .....	4
Résumé .....	5
<b>1. Demande d'évaluation.....</b>	<b>7</b>
<b>2. La toxoplasmose .....</b>	<b>8</b>
2.1 Agent parasitaire, épidémiologie, présentations cliniques.....	8
2.2 Tests diagnostiques.....	12
2.3 Prévention, prise en charge médicale et traitement de la toxoplasmose .....	16
2.4 Conditions actuelles de la prise en charge des tests diagnostiques par l'Assurance maladie .....	19
<b>3. Méthode.....</b>	<b>22</b>
3.1 Champ et méthode d'évaluation.....	22
3.2 Recherche bibliographique et sélection documentaire .....	22
3.3 Recueil de la position argumentée du CNR de la toxoplasmose .....	23
<b>4. Résultats de l'évaluation .....</b>	<b>25</b>
4.1 Diagnostic biologique de toxoplasmose chez le sujet immuno-compétent (femme enceinte en particulier).....	25
4.2 Diagnostic prénatal (DPN) de toxoplasmose congénitale .....	30
4.3 Diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale.....	33
4.4 Diagnostic de toxoplasmose oculaire (TO) .....	38
4.5 Proposition de définition d'un laboratoire « expert ».....	43
Conclusion.....	44
Annexe 1. Recherche documentaire.....	46
Annexe 2. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues générales portant sur les tests diagnostiques de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent, incluant la femme enceinte .....	49
Annexe 3. Analyse de la littérature : principales caractéristiques des techniques sérologiques utilisées pour le diagnostic de la toxoplasmose .....	53
Annexe 4. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues portant sur le diagnostic prénatal (DPN) biologique de toxoplasmose congénitale .....	54
Annexe 5. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues générales portant sur le diagnostic biologique postnatal de la toxoplasmose congénitale (TC) .....	57
Annexe 6. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues générales portant sur les tests diagnostiques de la toxoplasmose oculaire (TO) .....	62
Annexe 7. Compte-rendu (intégral) de l'audition du Centre national de référence (CNR) de la toxoplasmose.....	68
Annexe 8. Listes des tableaux et figures .....	76
Références .....	77
Fiche descriptive.....	79

## Abréviations et acronymes

AAP	.....	<i>American Academy of Pediatrics</i>
ADN	.....	acide désoxyribonucléique
CNAMTS	.....	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés
CNR	.....	Centre national de référence
CGW	.....	coefficient de Goldmann-Witmer
DPN	.....	diagnostic prénatal
ELIFA	.....	<i>Enzyme-Linked Immunofiltration Assay</i>
ELISA	.....	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
HA	.....	humeur aqueuse
IFI	.....	immunofluorescence indirecte
IgG, IgM, IgA	.....	immunoglobuline d'isotype G, M, A
IB	.....	immunoblot
ISAGA	.....	<i>Immunosorbent Agglutination Assay</i>
LA	.....	liquide amniotique
LCS	.....	liquide cébrospinal
NABM	.....	nomenclature des actes de biologie médicale
NN	.....	nouveau-né
PCR	.....	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RIHN	.....	référentiel des actes innovants hors nomenclature
SA	.....	semaine(s) d'aménorrhée
SOGC	.....	Société des obstétriciens et gynécologues du Canada
TC	.....	toxoplasmose congénitale
TO	.....	toxoplasmose oculaire
VIH	.....	virus de l'immunodéficience humaine
VPN	.....	valeur prédictive négative
VPP	.....	valeur prédictive positive
WB	.....	western blot

## Résumé

### Objectif

Cette évaluation répond à une demande de la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) qui souhaite actualiser la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) pour ce qui est des actes relatifs au diagnostic biologique de la toxoplasmose. La présente évaluation porte sur les tests diagnostiques de la toxoplasmose dans les contextes suivants : toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent (dont la femme enceinte), toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et toxoplasmose oculaire.

### Méthode

La méthode choisie repose sur une analyse critique de la littérature synthétique (revues systématiques, méta-analyses, recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, revues générales), identifiée par une recherche documentaire systématique, conjointement à une interrogation du Centre national de référence de la toxoplasmose en tant que partie prenante.

### Conclusions

#### Diagnostic de toxoplasmose chez le sujet immunocompétent, incluant la femme enceinte

Les indications du diagnostic biologique de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent sont les suivantes : femmes enceintes (dépistage systématique), sujets suspects de toxoplasmose oculaire et patients présentant des symptômes non spécifiques, en particulier si ces derniers sont sévères.

Dans ces indications, le diagnostic biologique de la toxoplasmose se compose :

- de la recherche des anticorps sériques anti-Toxoplasma d'isotypes IgG et IgM, habituellement réalisée par une technique d'immunoanalyse (immunoenzymatique, chimiluminescence...);
- d'itération(s) pouvant suivre cette première recherche dans les situations et selon les modalités suivantes :
  - la présence d'IgM et/ou de résultats douteux d'IgG, qui requiert une confirmation par une technique différente (*dye-test*, IFI, immunoblot, ou ISAGA) et relevant d'un laboratoire expert de la toxoplasmose,
  - une suspicion d'infection toxoplasmique aiguë, qui requiert l'étude de la cinétique des IgG avec une ou deux itération(s) de la recherche initiale à deux ou trois semaines d'intervalle ; les prélèvements successifs devant être titrés au cours d'une même série, avec la même technique immunoanalytique,
  - la prolongation du suivi mensuel par une recherche des IgG et IgM deux à quatre semaines après l'accouchement, qui est à réaliser chez les mères séronégatives pendant toute la grossesse ;
- du test de mesure d'avidité des IgG anti-Toxoplasma pour dater l'infection en présence d'une suspicion d'infection récente (présence d'IgM, confirmée par une seconde technique, et d'IgG anti-Toxoplasma) chez la femme enceinte et le sujet symptomatique, ce test permettant uniquement d'exclure une infection récente en présence d'une avidité élevée.

Dans ce contexte de diagnostic de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent, la recherche des anticorps sériques anti-Toxoplasma d'isotypes IgA et IgE n'est pas pertinente.

#### Diagnostic pré- et postnatal de toxoplasmose congénitale

Ce diagnostic se compose de :

- la recherche de l'ADN du toxoplasme par amplification génique (PCR) sur liquide amniotique, en précisant les éléments suivants :

- ▶ l'amniocentèse en vue de cette recherche ne devrait être réalisée qu'après au moins 16-18 semaines de grossesse, et pas moins de quatre semaines depuis la manifestation de l'infection maternelle aiguë suspectée,
- ▶ le rendu des résultats est qualitatif et précise qu'un résultat négatif de DPN n'exclut pas totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale ;
- la recherche de l'ADN du toxoplasme par amplification génique (PCR) dans le sang de cordon, le sang périphérique du nouveau-né, le liquide amniotique et le placenta, en précisant qu'un résultat positif dans le placenta devrait être confirmé par la positivité d'un autre test de diagnostic postnatal pour poser le diagnostic de toxoplasmose congénitale ;
- la recherche des anticorps sériques anti-Toxoplasma chez le nouveau-né et les enfants de moins d'un an, de la manière suivante :
  - ▶ recherche des IgM et/ou IgA spécifiques sur sang de cordon ou sang périphérique entre J0 et J3 de vie, par une technique d'immunoanalyse, contrôlée après 10-15 jours de vie en cas de positivité de la première recherche,
  - ▶ recherche d'une néosynthèse d'IgG et/ou d'IgM dans le sang de cordon ou le sang périphérique de l'enfant par comparaison des profils mère-enfant en immunoblot ou ELIFA, entre J0 et J3, à J15 et J30 (puis M2 +/- M3 si le diagnostic reste indéterminé à J30),
  - ▶ suivi du taux d'IgG spécifiques sériques de l'enfant, mesuré entre J0 et J3, à J15 et J30 puis mensuellement jusqu'à disparition des anticorps pour affirmer l'absence d'infection congénitale.

Compte tenu de la complexité d'interprétation de certains tests, et afin d'assurer une continuité entre le diagnostic pré- et postnatal, les examens du diagnostic biologique pré- et postnatal de toxoplasmose congénitale sont à réaliser par des laboratoires experts de la toxoplasmose travaillant en réseau et en concertation avec les cliniciens.

### **Diagnostic de toxoplasmose oculaire**

Les indications du diagnostic biologique de toxoplasmose oculaire sont les suivantes : sujets séropositifs pour la toxoplasmose présentant des lésions oculaires atypiques, expression fulminante de la maladie, diagnostic différentiel incertain avec d'autres causes de rétinoblastome et réponse retardée au traitement d'épreuve anti-toxoplasmique.

Ce diagnostic se compose des tests suivants, dont la mise en œuvre et l'interprétation relèvent de laboratoires experts de la toxoplasmose :

- détection de l'ADN du toxoplasme par amplification génique (PCR) dans les liquides oculaires ;
- détection d'une production locale d'IgG par comparaison des charges immunitaires d'échantillons appariés sérum-liquide oculaire ;
- détection d'une production locale d'IgG et/ou IgA par comparaison des profils immunologiques en immunoblot d'échantillons appariés sérum-liquide oculaire.

**Pour tous les contextes cliniques de toxoplasmose** (entrant dans le champ de la présente évaluation) :

- la technique d'inoculation de prélèvement biologique à la souris n'a d'intérêt que dans les cas de patients symptomatiques pour lesquels une souche hypervirulente est suspectée, à des fins de typage et d'adaptation de la prise en charge ;
- la culture cellulaire du toxoplasme ne présente plus d'intérêt.

**En ce qui concerne le lieu de réalisation**, les examens diagnostiques de la toxoplasmose relèvent soit de laboratoires dits « polyvalents », ou de « première ligne », soit de laboratoires dits « experts » de la toxoplasmose. Cette distinction se fonde sur la technicité particulière de l'examen en question et/ou sur la complexité de la situation clinique. Un laboratoire expert est principalement défini par sa maîtrise des techniques peu répandues ou manuelles, sa capacité à prendre en charge des dossiers complexes, et son intégration dans un réseau de réflexion et de collaboration avec les différents cliniciens et d'autres laboratoires experts.

## 1. Demande d'évaluation

La présente évaluation répond à une demande de la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) de septembre 2015, demande qui s'intègre au programme de travail de la HAS. La CNAMTS souhaite actualiser la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) pour ce qui est des actes relatifs au diagnostic biologique de la toxoplasmose.

La toxoplasmose est une parasitose ubiquitaire causée par le protozoaire *Toxoplasma gondii*.

A l'heure actuelle, le diagnostic biologique de la toxoplasmose repose sur un panel d'examens de biologie médicale dont certains sont inscrits à la NABM et d'autres relèvent du Référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) et de sa liste complémentaire. Parmi ces derniers, un certain nombre semble actuellement largement et consensuellement utilisé depuis plusieurs années. Se pose par conséquent la question de leur intégration à la NABM impliquant de définir notamment leurs indications et conditions de réalisation.

La toxoplasmose regroupe plusieurs grandes entités cliniques correspondant à des situations diagnostiques différentes : toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent (en particulier de la femme enceinte), toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal), toxoplasmose oculaire et toxoplasmose du sujet immunodéprimé. Comme indiqué dans la feuille de route validée par le Collège en 2016 (1), la présente évaluation correspond à un premier volet de réponse à la demande de la CNAMTS, ce volet traitant des contextes de toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent, toxoplasmose congénitale et toxoplasmose oculaire. Les différentes situations d'immunodépression (en particulier patients infectés par le VIH, patients transplantés d'organe et patients greffés de moelle osseuse) feront l'objet d'un second volet d'évaluation.

## 2. La toxoplasmose

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus essentiellement des revues générales, des recommandations de bonne pratique et des ouvrages didactiques.

### 2.1 Agent parasite, épidémiologie, présentations cliniques

#### 2.1.1 Généralités sur *Toxoplasma gondii* et la toxoplasmose

La toxoplasmose est une anthroponose ubiquitaire due à *Toxoplasma gondii*, protozoaire parasite à développement intracellulaire obligatoire (2).

##### ► Formes parasites

*T. gondii* peut se présenter sous trois formes :

- le trophozoïte ou tachyzoïte : forme invasive libre du parasite, qui circule dans le flux sanguin lors de la primo-infestation toxoplasmique et est impliqué chez l'homme dans la transmission materno-fœtale de la toxoplasmose. Le trophozoïte est une forme de multiplication rapide du parasite, capable de se multiplier dans n'importe quelle cellule nucléée, de causer une forte réponse inflammatoire et une destruction cellulaire, et ainsi responsable des manifestations cliniques de la pathologie ;
- les kystes, qui apparaissent lorsque l'hôte infesté développe une réponse immunitaire spécifique. Ils sont formés par l'accolement de quelques centaines à plusieurs milliers de toxoplasmes au métabolisme ralenti : les bradyzoïtes. Ils représentent la forme latente du parasite persistant toute la vie de l'hôte, responsable d'une immunité protectrice mais aussi de la possibilité de réactivation de l'infection en contexte d'immunodépression ;
- l'oocyste, qui résulte du cycle de reproduction sexué de *T. gondii* chez ses hôtes définitifs, les félinés. Emise dans les fèces des félinés, cette forme joue un rôle important dans la dissémination de la maladie (2-5).

##### ► Cycle parasite

Le cycle parasite comporte un cycle sexué chez les hôtes définitifs (chats et autres félinés) et une multiplication asexuée, qui s'effectue chez les hôtes intermédiaires (mammifères dont l'homme).

##### Cycle sexué

L'hôte définitif, le chat, s'infeste par ingestion de bradyzoïtes intrakystiques présents chez des proies parasitées (rongeurs, oiseaux). Les bradyzoïtes sont libérés dans la lumière intestinale où ils se transforment en tachyzoïtes qui vont se multiplier dans les cellules intestinales et évoluer pour donner des gamètes mâles et femelles. Ces derniers, une fois fécondés, donnent des oocystes. Après sa primo-infestation, le jeune chat peut rejeter dans son environnement plus de dix millions d'oocystes par jour durant une période d'une quinzaine de jours. Si la température, l'hygrométrie et l'oxygénation dans le milieu extérieur sont favorables, ces oocystes deviennent infestants en deux à cinq jours et peuvent le rester pendant un an.

##### Cycle asexué

L'infestation de l'homme (hôte intermédiaire) se fait par ingestion de kystes tissulaires présents dans la viande infectée crue ou insuffisamment cuite (le plus souvent), ou d'oocystes présents sur des végétaux souillés par de la terre ou contaminant de l'eau. Cette ingestion se traduit par la libération dans l'intestin de bradyzoïtes ou de sporozoïtes (issus respectivement des kystes ou oocystes) qui pénètrent dans les cellules de l'épithélium intestinal et se transforment en tachy-

zoïtes. Les tachyzoïtes peuvent alors induire une infection aiguë au cours de laquelle le toxoplasme dissémine à travers tous les organes puis disparaît de l'organisme en moins d'une semaine sous l'action de l'immunité innée et de l'émergence d'une immunité acquise spécifique, notamment d'une immunité humorale. Dans certains organes, tels que les muscles cardiaques et squelettiques, le cerveau et la rétine, le parasite persiste sous la forme de bradyzoïtes dans des kystes pour le reste de la vie du patient. Une immunodépression qu'elle que soit sa cause peut entraîner une réactivation, pouvant se traduire par une toxoplasmose disséminée avec un taux élevé de mortalité en l'absence de traitement spécifique. Une réactivation au niveau de la rétine peut également survenir chez des sujets totalement immunocompétents et conduire à une rétinocchoroïdite (2-7).

Il existe trois autres voies de contamination pour l'homme, qui sont la transmission verticale mère-enfant, la transfusion de sang (possible si le donneur était en phase parasitémique d'une toxoplasmose) et la transplantation d'un organe provenant d'une personne infectée (transmission de kystes d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose vers un receveur négatif avant la greffe) (8-10).

### ► Données épidémiologiques

Un tiers de la population mondiale est infecté par *T. gondii* (9). La séoprévalence de la toxoplasmose augmente avec l'âge et varie selon la localisation géographique, le niveau socio-économique et les habitudes alimentaires. Dans les pays développés, la contamination est essentiellement liée à la consommation de viande infectée. La prévalence est plus faible, en général inférieure à 25 %, dans les pays où la viande est consommée bien cuite (Royaume-Uni, Scandinavie, Amérique du Nord). En France, en raison des habitudes de consommation de viandes saignantes ou fumées, les chiffres sont plus élevés, variant de 30 à plus de 50 % en fonction des régions, bien que la prévalence diminue régulièrement depuis les années 60 en raison de l'élévation du niveau général d'hygiène et des nouvelles habitudes alimentaires (congélation des aliments). En Asie du Sud-Est et au Japon, la prévalence est inférieure à 10 %. Elle est de l'ordre de 20 à 30 % dans le sous-continent indien et au Proche-Orient. Dans les pays tropicaux d'Afrique et d'Amérique, où la contamination est plutôt liée à l'absorption d'oocystes issus de chats domestiques et de félidés sauvages, la prévalence est faible dans les zones où le climat est chaud et sec (peu favorable à la survie des oocystes sur le sol) mais peut être très élevée, jusqu'à 80 % parfois, dans les régions humides (8, 10, 11).

### ► Présentations cliniques

Différentes expressions cliniques de la toxoplasmose existent en fonction du contexte clinique, du statut immunitaire du patient et de la souche de parasite en cause. Ainsi, l'infection primaire à *Toxoplasma gondii* chez les personnes immunocompétentes est le plus souvent asymptomatique ou de symptomatologie bénigne. Elle peut cependant être grave lorsqu'elle survient chez la femme enceinte, du fait de la capacité du parasite à passer la barrière placentaire et à infecter le fœtus avant qu'il n'acquiert une immunité. La toxoplasmose congénitale est d'autant plus grave que l'infestation du fœtus a lieu précocement. La toxoplasmose peut également présenter des manifestations graves chez les patients immunodéprimés (patients infectés par le VIH, transplantés), chez qui elle représente une importante infection opportuniste à l'origine d'encéphalite, choriochoroïdite, pneumopathie et défaillance multisystémique (3, 7, 9, 11). Les différentes présentations cliniques de la toxoplasmose sont développées distinctement ci-après, à l'exception de la situation des sujets immunodéprimés qui sera traitée dans le cadre du second volet d'évaluation des tests diagnostiques de la toxoplasmose.

## 2.1.2 Toxoplasmose acquise en postnatal chez le sujet immunocompétent (femme enceinte notamment)

### ► Données épidémiologiques

En France, la séroprévalence chez les femmes enceintes diminue régulièrement, de 84 % en 1960, à 44 % en 2003 et à 37 % en 2010. Une modélisation a montré que, chez les femmes de 30 ans, l'incidence était passée de 7,5/1 000 en 1980 à 2,4/1 000 en 2010 (6, 10).

### ► Symptomatology

L'infection primaire à *Toxoplasma gondii* chez les personnes immunocompétentes est asymptomatique dans 80 à 90 % des cas. Les formes apparentes bénignes associent fébricule, asthénie, adénopathie cervicale ou occipitale, et syndrome mononucléosique (3, 7, 9, 11). Lorsqu'une adénopathie est présente, le ganglion est indolore, non fluctuant et de taille modérée. L'adénopathie disparaît habituellement en quatre à six semaines. Cependant, la persistance d'une adénopathie chronique est possible. Céphalées, myalgies, pharyngite, éruption cutanée maculopapuleuse et hépato-splénomégalie ont également été décrites. La plupart des patients immunocompétents présentent une évolution bénigne, autolimitée à une durée de quatre à six semaines (9). Certains patients développent néanmoins des manifestations ophtalmologiques, majoritairement sous forme de chorioretinites. Les premières lésions chorioretiniennes surviendraient entre deux mois et cinq ans après la contamination (12). Il existe également, beaucoup plus rarement, notamment en Guyane, des formes sévères causées par des souches hypervirulentes, associant une fièvre à des atteintes multiviscérales (poumon, cœur, cerveau, peau, œil...), au pronostic parfois sombre même chez les sujets immunocompétents (3).

Chez les femmes enceintes, le tableau clinique n'est pas plus grave et se manifeste le plus souvent sous forme de syndrome d'allure grippal (8).

Il est à noter que les symptômes non spécifiques évoqués ci-dessus ouvrent un grand nombre de possibilités de diagnostics différentiels. En effet, les causes possibles d'adénopathie périphérique isolée sont très nombreuses, infectieuses, néoplasiques ou immunologiques. Outre la toxoplasmose, les origines infectieuses les plus fréquentes sont le virus Epstein-Barr, le cytomegalovirus, le VIH et la syphilis (9).

## 2.1.3 Toxoplasmose congénitale

### ► Données épidémiologiques

L'incidence de la toxoplasmose congénitale varie fortement d'une région géographique à l'autre dans le monde, allant de moins de 1 à plus de 30 pour 10 000 naissances (13). En France, depuis 2007, entre 200 et 300 cas de toxoplasmose congénitale sont notifiés chaque année au Centre national de référence, soit une prévalence globale estimée autour de 3 à 4 cas pour 10 000 naissances vivantes (prévalence des formes sévères : 0,1 pour 10 000), entraînant des formes symptomatiques à la naissance dans 10 % des cas (dont un quart de formes sévères) et plus de 10 % d'interruptions médicales de grossesse (7, 10).

### ► Transmission materno-fœtale

La toxoplasmose congénitale survient communément chez les mères infectées par *T. gondii* pour la première fois pendant la grossesse et chez qui le parasite traverse le placenta et infecte le fœtus. Trois autres situations, rares, ont été décrites dans la littérature : femmes qui acquièrent l'infection dans les deux mois (voire six mois, très exceptionnel) qui précèdent la grossesse (infection pré-conceptionnelle), femmes infectées chroniquement mais qui sont (ré)-infectées en cours de grossesse par une souche plus virulente et femmes infectées chroniquement et immunodéprimées (infection VIH par exemple). Il apparaît que l'infection du placenta est une condition impérative à celle du fœtus mais que l'infection du placenta n'a pas nécessairement pour conséquence celle du fœtus. Plus l'âge gestationnel au moment où la mère est infectée est élevé, plus

l'incidence de la transmission materno-fœtale est élevée (11, 14). En effet, si le risque de transmission de l'infection au fœtus est estimé globalement autour de 30 %, il varie en fait de 1 % en tout début de grossesse à presque 70 % au cours des dernières semaines de grossesse, avec une progression régulière dans l'intervalle (risque de 10-15 % à la fin du premier trimestre et de 30-40 % à la fin du deuxième trimestre). A l'inverse, la probabilité d'observer une forme grave de toxoplasmose congénitale est maximale pour les séroconversions en début de grossesse, alors que le risque de forme grave diminue au profit des formes bénignes ou latentes lorsque le terme de la contamination maternelle avance (6, 10).

### ► Manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale chez le fœtus et le nouveau-né

La toxoplasmose congénitale est classiquement caractérisée par la tétrade décrite par Sabin en 1942 : chorioretinite, hydrocéphalie, calcification intracrânienne et convulsion (8, 11). Cependant, de nombreux facteurs sont susceptibles d'impacter ces signes cliniques : âge gestationnel, génétique de l'hôte et du parasite, taille de l'inoculum, forme infectieuse du parasite (oocystes, kystes tissulaires) et traitement maternel (11). Ainsi, trois présentations cliniques sont traditionnellement décrites (6, 8, 11-13) :

- la toxoplasmose congénitale grave, prenant la forme d'une encéphalo-méningo-myélite s'observant à la naissance et qui correspond à une contamination en début de grossesse. On décrit classiquement deux aspects : le premier associant une macrocéphalie avec hydrocéphalie, des calcifications intracrâniennes et une atteinte oculaire sous la forme de rétinocoroïdite pigmentaire ; le second se présentant sous la forme d'un tableau d'infection néonatale grave (fièvre, ictère, hépatosplénomégalie...) au pronostic péjoratif. Ces formes sont rarement observées en France compte tenu des modalités actuelles de dépistage et de prise en charge des séroconversions chez la femme enceinte ;
- la toxoplasmose congénitale bénigne (dégradée ou retardée), secondaire à une contamination plus tardive au cours de la grossesse, et qui est diagnostiquée dès la naissance ou au cours de la petite enfance. Le diagnostic clinique est habituellement posé devant une rétinocoroïdite pigmentaire. Des calcifications intracrâniennes sans retentissement clinique peuvent être détectées. Dans de rares cas, compte tenu des conditions de prise en charge actuelle en France, l'installation progressive d'un retard psychomoteur, d'une hydrocéphalie et de convulsions peut être observée ;
- la toxoplasmose congénitale latente, qui concerne tous les nouveau-nés cliniquement normaux à la naissance et chez qui le diagnostic est uniquement biologique. Cette forme représente entre 80 et 90 % des toxoplasmoses congénitales en France. Le traitement précoce de ces cas limite leur possible évolution secondaire vers une forme oculaire ou neurologique retardée. Ces nouveau-nés restent néanmoins exposés à un risque de présenter ultérieurement des séquelles à long terme de type altération visuelle et auditive, voire retard psychomoteur (difficultés d'apprentissage, troubles du tonus).

## 2.1.4 Toxoplasmose oculaire

### ► Épidémiologie et pathogénie

La toxoplasmose oculaire (TO) ou rétinocoroïdite toxoplasmique est la forme la plus fréquente d'uvéite postérieure infectieuse dans le monde, pouvant représenter jusqu'à 85 % des cas en fonction des pays (7, 12, 15). Des prévalences élevées ont été en particulier rapportées en Amérique du Sud et Amérique Latine, ainsi qu'en Afrique et une partie de l'Asie (4). Les atteintes oculaires toxoplasmiques peuvent être observées au décours d'une infection d'origine congénitale ou acquise, l'infection congénitale ayant longtemps été considérée comme seule responsable de la TO. Il est aujourd'hui connu que la TO est en fait le plus souvent secondaire à une infection acquise, souvent dans le contexte du déclenchement aigu de l'infection, que ce soit chez le sujet sain ou le patient immunodéprimé (4, 7, 12).

## ► Symptomatologie

Que la TO se produise chez un sujet immunocompétent ou immunodéprimé, et qu'elle soit d'origine congénitale ou postnatale, l'aspect clinique de la rétinohoroïdite toxoplasmique est le plus souvent typique. Il s'agit classiquement d'une rétinite focale unilatérale située à proximité d'une lésion préexistante pigmentée et associée à une inflammation vitréenne. Cependant, les lésions peuvent être parfois atypiques et apparaître sous la forme d'une nécrose rétinienne étendue ou de rétinohoroïdite sans lésion pigmentée cicatricielle adjacente voire même d'une rétinite bilatérale (16).

Les sujets immunocompétents qui acquièrent une TO après la naissance n'ont communément pas de symptômes systémiques, bien qu'une lymphopathie cervicale asymptomatique soit courante. La résolution spontanée de la rétinohoroïdite active, avec ou sans traitement, est attendue en un ou deux mois chez les personnes immunocompétentes, alors qu'une rémission sans traitement est exceptionnelle chez les sujets touchés par le SIDA (15).

## 2.2 Tests diagnostiques

Le diagnostic biologique de la toxoplasmose repose, selon le contexte clinique et le statut immunitaire du patient, sur la recherche d'anticorps spécifiques anti-Toxoplasma et/ou sur la recherche directe du parasite ou de son ADN. Les différents tests actuellement utilisés sont décrits ci-dessous. Les stratégies d'utilisation de ces tests en fonction du contexte clinique font partie de l'objet de la présente évaluation et sont donc traitées dans la partie « Résultats » de l'évaluation.

### 2.2.1 Tests sérologiques

#### ► Cinétique des anticorps spécifiques anti-Toxoplasma

Les IgM et IgA anti-Toxoplasma apparaissent usuellement pendant la semaine suivant l'infection aiguë. Leur niveau augmente jusqu'à un pic vers un à deux mois. Des IgE spécifiques sont également produites précocement et disparaissent rapidement. Une lente diminution du taux des IgM s'opère sur les un à six mois suivants jusqu'à négativation chez environ 25 % des patients en moins de sept mois, mais ces anticorps restent le plus souvent détectables un an ou plus. Les IgA disparaissent généralement plus rapidement mais peuvent être détectées jusqu'à neuf mois après l'infection. En fonction des individus et de la sensibilité des techniques utilisées, les IgG sont détectées environ deux-trois semaines après l'infection aiguë et sont maximales après environ deux à trois mois. Leur taux diminue alors globalement au cours des deux années suivantes jusqu'à des niveaux résiduels qui persistent toute la vie de l'individu (5, 7-9, 17, 18).

Il faut noter que la précocité de détection des anticorps dépend de la technique utilisée. Ainsi, les techniques sérologiques utilisant des antigènes de membrane ou le parasite entier, comme le *dye-test* ou la technique d'immunofluorescence indirecte, détectent précocement la réponse qui est dans un premier temps dirigée contre les antigènes de surface du parasite. Les techniques ELISA utilisant des mélanges d'antigènes cytosoliques ou métaboliques et de surface détectent les IgG un peu plus tardivement (17).

#### ► Techniques utilisant des antigènes figurés<sup>1</sup>

##### *Sabin-Feldman dye-test*

Le *dye-test* consiste à incuber des dilutions du sérum à tester avec des toxoplasmes vivants afin d'observer la lyse du parasite par les anticorps sériques anti-Toxoplasma, en présence de complément. Au microscope à contraste de phase, les toxoplasmes morts apparaissent alors grisâtres alors que les parasites vivants apparaissent bien brillants. Depuis de nombreuses années, ce test

<sup>1</sup> On entend par « antigènes figurés » l'utilisation du parasite entier (vivant ou fixé) comme antigène, par opposition aux « antigènes solubles » qui correspondent à des macromolécules antigéniques extraites du parasite.

est considéré comme le *gold standard* en matière de sensibilité et spécificité pour la détection des anticorps anti-Toxoplasma, mais il n'est plus pratiqué que dans quelques laboratoires spécialisés car il est complexe techniquement (nécessité d'inactiver le sérum analysé et d'ajouter du complément issu de sérum frais dépourvu d'anticorps spécifiques anti-Toxoplasma) et logistiquement car il requiert notamment d'entretenir une souche hautement virulente du parasite dans le laboratoire (5, 17). Il est à noter que ce test détecte à la fois les IgG et IgM anti-Toxoplasma et qu'il ne doit donc être utilisé comme test de confirmation de la présence d'IgG qu'en absence d'IgM (5, 13). Le titre est rapporté comme la dilution de sérum pour laquelle la moitié des parasites ne sont pas tués et l'autre moitié tués (19).

### **Immunofluorescence indirecte (IFI)**

La technique d'IFI utilise des tachyzoïtes entiers fixés (formolés), déposés sur des lames de verre incubées avec des dilutions sérielles du sérum à tester (méthode quantitative). Si ce sérum contient des anticorps anti-Toxoplasma, ils sont révélés par un anticorps anti-IgG ou IgM humaine marqué à la fluorescéine (lecture au microscope à fluorescence). Il existe des réactifs commercialisés. Le titre correspond à la dernière dilution positive pour laquelle l'intégralité de la membrane des parasites apparaît bien fluorescente. La lecture est parfois difficile (5, 13). Sont rapportés avec cette technique des faux positifs en présence d'anticorps antinucléaires ou de facteur rhumatoïde et des faux négatifs en cas de titres bas des anticorps IgG (9).

### **Techniques d'agglutination**

#### *Agglutination directe*

Cette technique consiste en une addition de dilutions sérielles du sérum à tester, à une suspension de parasites entiers dans des puits avec un fond en forme de U. Lorsque les parasites couvrent tout le fond du puits (voile au fond de la cupule), la réaction est positive, alors que s'ils sédimentent au fond, la réaction est négative (lecture à l'œil nu). Le titre correspond à la dernière dilution donnant un voile couvrant 50 % de la cupule. Cette méthode détecte à la fois les IgG et les IgM (5, 13).

#### *Agglutination directe haute sensibilité*

La technique d'agglutination directe a été rendue plus sensible par l'addition de trypsine (sensibilisation des parasites utilisés comme antigènes) et plus spécifique par l'addition de 2-mercaptoéthanol (destruction des IgM). La technique ne détectant plus que les IgG, ces dernières peuvent être titrées (5, 13). Il existe des tests commerciaux pour mettre en œuvre les techniques d'agglutination directe (20).

#### *Agglutination différentielle*

Cette méthode permet de comparer les titres d'IgG obtenus par agglutination avec deux préparations de toxoplasmes fixés soit par le formol (antigène HS), soit par le méthanol (antigène AC). La préparation d'antigène AC contient des antigènes stade-spécifiques préférentiellement reconnus par des IgG produites contre les tachyzoïtes précocement au cours de l'infection alors que l'antigène HS est exprimé tout au long de l'infection. En début d'infection, les IgG dirigées contre les deux types d'antigène sont synthétisées à des titres comparables. Puis, après 6 à 12 mois, la réponse anticorps dirigée contre l'antigène AC, spécifique de la membrane du tachyzoïte, diminue d'intensité pour finalement se négativer alors que les titres d'IgG en HS persistent à des titres plus ou moins élevés. En pratique, un rapport HS/AC > 4 exclut une infection datant de moins de six mois. Les antigènes ne sont pas commercialisés et de préparation délicate (19, 21).

### **Technique *Immunosorbent Agglutination Assay (ISAGA)***

La technique ISAGA peut être utilisée pour la recherche des IgM, IgA et IgE. Elle repose initialement sur une technique d'immunocapture : le fond des puits de plaques de microtitration (fond en U) est sensibilisé par des anticorps recombinants dirigés contre les IgM, A ou E humaines. L'incubation du sérum humain dans ces cupules permet une capture des IgM, A ou E, qu'elles soient spécifiques ou non de *T. gondii*. Après lavage, une suspension de toxoplasmes formolés est ajoutée dans les cupules. Une réaction positive correspond à un voile formé au fond de la cupule. Une réaction négative correspond à un bouton de sédimentation. Afin de quantifier les IgM, A ou E anti-Toxoplasma, la même réaction est appliquée sur trois cupules dans lesquelles on ajoute trois quantités croissantes d'antigènes. À la lecture, un score allant de 0 à 4 est affecté à chacune des cupules permettant d'attribuer au sérum testé un score de 0 (sérum négatif) à 12 (sérum fortement positif). Il s'agit d'une technique très sensible (positivité précoce au moment de l'infection aiguë) et très spécifique (non influencée par la présence éventuelle de facteur rhumatoïde) pour la recherche des IgM anti-Toxoplasma. La réalisation du test est relativement facile car il existe un test commercial mais la lecture demande un certain degré d'expertise (5, 13, 22).

#### **► Techniques utilisant des antigènes solubles**

Toutes ces techniques utilisent des antigènes extraits de tachyzoïtes. Leurs performances sont alors fortement dépendantes de la qualité des antigènes préparés.

### **Agglutination indirecte**

Ces méthodes utilisent des particules sensibilisées avec des antigènes de *T. gondii*. En présence d'anticorps spécifiques dans le sérum, ces particules s'agglutinent macroscopiquement. Elles sont usuellement faites de plastique (latex), excepté pour l'hémagglutination qui utilise des érythrocytes d'origine animale. Le test d'agglutination au latex est facile à réaliser et sensible. La lecture se fait à l'œil nu en quelques minutes. Ce test est cependant sujet aux phénomènes de zone (résultat négatif en présence d'anticorps à titres élevés) et ne permet pas de distinguer les différents isotypes d'anticorps (13, 22).

### **Techniques d'immunoanalyse**

#### ***Détection des IgG, IgM et IgA***

Différents types d'essais immunoenzymatiques, en particulier de type ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), ont été développés dans le cadre du diagnostic de la toxoplasmose pour la détection des anticorps anti-Toxoplasma. Ils partagent tous le même principe de fixer les anticorps du patient à une phase solide *via* des antigènes liés (méthode sandwich indirecte, pour les IgG) ou des anticorps isotype-spécifiques (immunocapture, pour les IgM et IgA). La phase solide, le conjugué et le type de signal (produit coloré ou fluorescent) peuvent varier. Un anticorps conjugué avec un signal enzymatique est utilisé pour générer un signal coloré ou fluorescent qui est analysé, comparé à des valeurs standard et transcrit en unités conventionnelles. Les techniques automatisées les plus récentes utilisent d'autres types de système de détection (chimiluminescence ou électrochimiluminescence) (5, 13). Les techniques immunoenzymatiques se sont largement répandues dans les laboratoires de routine en tant que tests de screening rapides automatisés. Beaucoup de fabricants fournissent des tests commerciaux pour la détection et quantification des IgG et IgM, avec généralement de bonnes performances (peu de kits disponibles pour la détection des IgA et IgE) (5). Le défaut majeur de ces tests est la mauvaise standardisation des résultats entre les techniques/kits commerciaux due à des variations de qualité d'antigènes d'un kit commercial à un autre (13, 19, 22).

### Mesure d'avidité des IgG par technique ELISA modifiée

Le test de mesure d'avidité des IgG est utilisé pour affiner la datation de l'infection lorsque la présence concomitante d'IgM et d'IgG anti-Toxoplasma fait suspecter une infection récente. Ce test est basé sur l'augmentation progressive de l'affinité des anticorps pour leur cible antigénique au cours de l'évolution de l'immunité naturelle suivant l'infection. L'affinité augmente habituellement progressivement au cours des semaines ou mois du fait de la sélection des cellules B orientées vers les antigènes du toxoplasme (13). La mesure de la force de liaison de l'anticorps peut être évaluée par une technique de type ELISA modifiée par l'introduction d'une étape de lavage avec un agent dissociant (généralement l'urée) qui permet de retirer les anticorps de faible avidité d'une infection acquise récemment. Le titre résultant d'IgG détectables est utilisé pour calculer un ratio des titres (ou valeurs de densité optiques) entre les échantillons traités et non traités, ce ratio étant nommé indice d'avidité (5, 13). En fonction des tests commerciaux, un indice d'avidité élevé s'interprète comme une infection acquise dans les trois-cinq mois précédents, excluant donc une infection survenue en cours de grossesse si le test est réalisé pendant le 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse (9, 13, 17). *A contrario*, une avidité en IgG faible ne permet pas d'affirmer une infection récente car la maturation de la réponse immunologique est plus ou moins longue en fonction des personnes (9). Des anticorps de faible avidité peuvent être retrouvés plus d'un an après la contraction de l'infection (5, 13).

### Immunoblot (ou Western blot)

La technique d'immunoblot, également appelée technique de Western blot ou d'immunoempreinte, présente actuellement deux applications pratiques dans le diagnostic de toxoplasmose (5, 13, 23) :

- méthode de confirmation pour la détection des IgG. Un immunoblot peut être réalisé sur les échantillons où la sérologie obtenue par une ou deux techniques initiales (généralement techniques d'immunoanalyse et IFI) apparaît douteuse (« zone grise »), à la limite de la détectabilité et/ou discordante entre les techniques. L'immunoblot est plus simple à réaliser que le *dye-test*. Il existe un test commercial se présentant sous la forme de bandelettes de nitrocellulose prêtes à l'emploi, sur la surface desquelles les antigènes de *T. gondii* ont été fixés. Les bandelettes sont séquentiellement incubées avec le sérum à tester, un anti-isotype, un anticorps conjugué à une enzyme et enfin avec un substrat qui précipite sous la forme d'une bande colorée. Certaines bandes sont spécifiques de l'infestation toxoplasmique. Leur présence permet d'interpréter le test comme positif et de conclure à la présence d'IgG anti-Toxoplasma dans l'échantillon testé (5, 17, 23) ;
- comparaison de profils immunologiques entre les sérums mère/enfant ou entre deux compartiments analytiques (sérum/humeur aqueuse ou sérum/liquide cébrospinal), pour détecter la synthèse autonome d'anticorps chez le nouveau-né ou une synthèse locale d'anticorps respectivement. Cette synthèse est mise en évidence par la présence de bandes présentant une spécificité différente de celles obtenues à partir du sérum, ou par des bandes de même spécificité mais présentant une intensité significativement plus importante. Un kit commercial est disponible également (5, 7).

### Technique Enzyme-Linked Immunofiltration Assay (ELIFA)

L'ELIFA peut être utilisée pour la comparaison de profils immunologiques, dans des indications similaires à celles de l'immunoblot. Cette technique consiste à réaliser dans un premier temps une électrosynérèse avec des antigènes solubles de *T. gondii* et ensuite à révéler les arcs de précipitation obtenus par une méthode immunoenzymatique. Le critère de positivité est l'observation d'un ou plusieurs arcs. Cette technique n'est cependant utilisée que dans peu de centres, l'IB l'ayant remplacée dans la majorité des laboratoires spécialisés (5, 22).

## 2.2.2 Diagnostic direct (recherche du parasite ou de son ADN)

### ► Examen direct

La visualisation directe des tachyzoïtes sur frottis ou apposition après coloration (au May Grunwald Giemsa ou MGG) dans un tissu ou un liquide corporel est réalisable mais sa sensibilité est faible, cette observation étant très rarement faite. Cet examen est donc considéré comme présentant peu d'intérêt (5, 19, 23).

### ► Isolement du parasite

#### *Inoculation à la souris*

La mise en évidence du parasite peut être réalisée par injection du matériel suspect (tout liquide biologique, placenta...) à des souris de laboratoire, par voie intra-péritonéale ou sous-cutanée (19). Ce test *in vivo* repose sur la détection d'une réponse anticorps chez l'animal par l'examen d'échantillons de sérums prélevés deux à trois semaines après l'inoculation, la présence du parasite étant définitivement confirmée après quatre à six semaines par la recherche de kystes dans le cerveau de l'animal sacrifié si des anticorps sont présents (17, 19). Il est à noter que l'isolement à partir de liquide cébrospinal, oculaire ou amniotique montre une infection active mais que l'isolement à partir de tissus obtenus par biopsie peut refléter simplement la présence de kystes tissulaires chez le patient dans le cadre d'une infection chronique. Cette technique requiert des infrastructures spécialisées (animalerie, matériel) et un personnel compétent (5, 17, 19).

#### *Culture cellulaire*

La mise en culture cellulaire, possible notamment sur fibroblastes embryonnaires humains (cellules MRC5), est une technique délicate, fragile aux contaminations et peu sensible. Pour ces raisons, elle n'est que très peu utilisée aujourd'hui (5, 19, 23).

### ► Recherche de l'ADN du parasite par PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

L'ADN parasitaire peut être recherché dans différents prélèvements, incluant le liquide amniotique et divers prélèvements néonataux, en fonction du contexte clinique. La PCR quantitative en temps réel semble être devenue la technique de référence pour la recherche directe du parasite, notamment du fait de sa sensibilité élevée. Les techniques de PCR toxoplasmose sont le plus souvent des techniques « maison ». Des cibles variées ont été décrites, avec principalement le gène B1 (première cible utilisée ; répliqué 35 fois dans le génome du parasite et absent dans les cellules des mammifères) et une séquence répétitive d'ADN de 529 paires de bases (REP-529, séquence spécifique répétée 200 à 300 fois dans le génome du toxoplasme). Cette dernière séquence semble fournir les meilleures performances dans la majorité des études (5, 11, 13, 15, 19, 23).

## 2.3 Prévention, prise en charge médicale et traitement de la toxoplasmose

### 2.3.1 Prévention de la toxoplasmose congénitale

#### ► Programme anténatal français de prévention de la toxoplasmose congénitale

La France s'est dotée d'un programme de prévention qui impose la détection des IgG et des IgM anti-Toxoplasma au cours du premier trimestre de la grossesse chez toute femme qui ne peut prouver son immunité<sup>2</sup>, puis tous les mois jusqu'à la fin de la grossesse chez celles qui ne sont

<sup>2</sup> Arrêté du 19 avril 1985 modifiant l'arrêté du 27 août 1971 relatif aux examens médicaux pré- et postnatals. Journal Officiel 30 mai 1985.

pas immunisées<sup>3</sup> (6). Ce programme vise à la fois la prévention primaire et la prévention secondaire de la toxoplasmose congénitale car il vise d'une part à réduire le risque d'infection foétale (en prévenant les infections maternelles par une information des femmes à risque, et en traitant rapidement si une primo-infection est diagnostiquée ou fortement suspectée) et d'autre part, à en réduire la sévérité par un traitement précoce des foetus contaminés.

### ► Règles hygiéno-diététiques

Les mesures de prévention préconisées pour les femmes enceintes non immunisées couvrent les différents modes de contamination. Les principales mesures sont listées ci-dessous (3, 6, 8, 9, 13).

#### **Pour éviter l'infection par les kystes :**

- ne pas consommer de viande mal cuite, en particulier du porc, du mouton et de l'agneau ;
- la viande doit être cuite au cœur du morceau à 67°C ou avoir été congelée trois jours à -12°C ;
- la salaison et le fumage ne détruisent pas les parasites ;
- se laver les mains après avoir manipulé de la viande crue ;
- nettoyer les surfaces et les ustensiles ayant été en contact avec de la viande crue (prévention des contaminations croisées).

#### **Pour éviter l'infection par les oocystes :**

- une femme enceinte non immunisée peut garder son chat, dans la mesure où ce dernier ne rentre pas dans la cuisine, et où sa litière est changée par une autre personne, ou par elle-même, à condition de porter des gants et de se laver les mains ensuite. En outre, il est préconisé de réduire le risque d'exposition des chats domestiques en les gardant à l'intérieur, et en ne leur donnant que des aliments cuits, en conserve ou secs ;
- porter des gants au moment de manipuler des substances (sable, terre, éléments de jardinage) pouvant avoir été contaminées par des selles de chat et bien se laver les mains et les ongles par la suite ;
- bien se laver les mains et bien laver les ustensiles à la suite de la manipulation d'aliments souillés par de la terre ;
- bien peler ou laver les fruits et légumes consommés crus ;
- ne pas consommer d'œufs crus ou de lait cru ;
- consommer de l'eau commercialisée ;
- éviter les fruits de mer.

## **2.3.2 Prise en charge médicale et traitement de la toxoplasmose**

### ► Toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent hors grossesse

La primo-infection toxoplasmique ne requiert habituellement pas de traitement chez les patients immunocompétents. Un traitement n'est envisagé que si le patient présente une persistance de la symptomatologie ou des complications sévères (myocardite, polymyosite, pneumonite, hépatite, encéphalite) (9). En cas d'asthénie importante, le traitement classique associe spiramycine et acide ascorbique. Les rares formes graves dues à des souches virulentes peuvent justifier un traitement par l'association pyriméthamine, sulfadiazine et acide folinique (10).

---

<sup>3</sup> Décret n°92-143 du 14 février 1992 relatif aux examens obligatoires prénuptial, pré- et postnatal. Journal Officiel 16 février 1992.

## ► Toxoplasmose congénitale

### Prise en charge anténatale

Lorsqu'une infection toxoplasmique aiguë est diagnostiquée ou fortement suspectée chez une femme enceinte, la conduite à tenir comprend les quatre étapes qui suivent, préconisées par la HAS (2, 6) :

- datation de l'infection : estimer l'âge de la grossesse au moment de l'infection permet d'évaluer les risques pour l'enfant et de proposer une conduite à tenir adaptée ;
- information des futurs parents : la HAS recommande que les futurs parents soient adressés sans délai à un centre ayant une expérience clinique de la toxoplasmose où ils seront informés sur la maladie et sur ses conséquences, ainsi que sur les traitements et examens complémentaires recommandés dans leur cas ;
- diagnostic prénatal : une amniocentèse est proposée pour toute infection pergravidique prouvée ou fortement suspectée afin de rechercher l'ADN du parasite dans le liquide amniotique. Parallèlement, un suivi échographique mensuel doit être mis en œuvre pour vérifier l'absence de signes morphologiques d'atteinte fœtale ;
- prescription d'un traitement anti-toxoplasmique, avec deux objectifs, selon la manifestation ou non d'une infection fœtale :
  - lorsqu'il n'a pas été diagnostiqué d'infection chez le fœtus (diagnostic prénatal non réalisé ou négatif), la spiramycine est prescrite à des fins de prophylaxie fœtale (en vue de prévenir la propagation du parasite de la mère au fœtus par l'intermédiaire du placenta). Il s'agit d'un antibiotique macrolide ne présentant pas de risque tératogène, qui se concentre dans le placenta mais qui ne le traverse pas facilement si bien que cet agent n'est pas fiable pour la prise en charge de l'infection fœtale. Son utilisation vise uniquement à prévenir la transmission verticale du parasite au fœtus et n'est donc indiquée qu'avant l'apparition d'une infection fœtale. La spiramycine est prescrite pour la durée de la grossesse lorsque le diagnostic prénatal est négatif (8, 24),
  - si un diagnostic prénatal est réalisé et qu'il est positif, il signe l'infection fœtale et rend licite la prescription d'un traitement qui, bien que partiellement curatif, pourrait limiter les séquelles fœtales. Ce traitement repose sur l'association de pyriméthamine et d'un sulfamide (sulfadiazine ou sulfadoxine) avec prescription d'acide folinique pour limiter les effets secondaires hématologiques (8, 14, 17, 24). La pyriméthamine est un antagoniste de l'acide folique qui agit de façon synergétique avec les sulfonamides et qui ne doit pas être utilisé au cours du premier trimestre, en raison de son potentiel tératogène (8). Cette association est parfois prescrite d'emblée lorsque l'infection survient au 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse, sans réalisation d'un diagnostic prénatal (17).

Il est à noter qu'une analyse Cochrane portant sur 3 332 études publiées entre 1966 et 2009 n'a identifié aucune étude contrôlée randomisée documentant l'efficacité potentielle du traitement anténatal de la toxoplasmose congénitale (25). À ce jour, l'efficacité de ce traitement n'est donc pas prouvée et les données disponibles sont controversées. Sur la base de données issues d'études de cohortes, le principal intérêt de ce traitement pourrait être de diminuer le risque de manifestations cliniques sévères (lésions intracrâniennes, séquelles neurologiques sérieuses) (17).

L'interruption médicale de grossesse est généralement réservée aux cas présentant des anomalies fœtales sévères détectées au cours de la surveillance échographique (5, 17).

### Prise en charge postnatale

Tout enfant né d'une mère ayant fait ou suspectée d'avoir fait une séroconversion toxoplasmique en cours de grossesse doit bénéficier d'un bilan périnatal comprenant :

- un examen clinique ;
- un bilan paraclinique associant une échographie transfontanellaire, à la recherche de dilatation des ventricules cérébraux ou de calcifications intracrâniennes, et un fond d'œil à la recherche de foyers de chorioretinite ;
- un bilan biologique comprenant des recherches sérologiques et parasitaires (6).

Si les examens cliniques et biologiques sont normaux, il n'y a pas lieu de traiter le nouveau-né. *A contrario*, si des arguments biologiques<sup>4</sup> sont en faveur d'une infection du nouveau-né, il est préconisé de mettre en place, aussi rapidement que possible après la naissance, un traitement par l'association pyriméthamine-sulfamide-acide folinique (5). Le traitement est actuellement prescrit pour un an, sous surveillance hématologique. Au cours de cette période, l'enfant est suivi au plan clinique, ophtalmologique et sérologique et le fond d'œil régulièrement surveillé (6).

### ► Toxoplasmose oculaire

Chez le sujet immunocompétent, la toxoplasmose oculaire « typique » se résout sur une période d'un à deux mois. Compte tenu de l'histoire naturelle bénigne et de la toxicité potentielle des médicaments antiparasitaires, le traitement de tout individu porteur d'une infection active conduirait à un taux élevé inutile de morbidité liée au traitement. Une analyse clinique des risques et bénéfiques du traitement est donc généralement menée au cas par cas. Les présentations atypiques et le contexte des patients immunodéprimés sont par contre largement considérés comme une indication de traitement (15).

Le traitement classique repose sur la trithérapie pyriméthamine-sulfamide-acide folinique, à laquelle un traitement corticoïde local peut être associé. Si ces molécules sont mal tolérées (ou susceptibles de l'être, compte tenu notamment de la toxicité hématologique de la pyriméthamine et de la toxicité dermatologique des sulfamides), plusieurs alternatives à cette trithérapie existent : association triméthoprime-sulfaméthoxazole-prednisone (globalement bien tolérée), association pyriméthamine-clindamycine (risque de colite pseudomembraneuse lié à la clindamycine), atovaquone ou azithromycine (10, 15).

## 2.4 Conditions actuelles de la prise en charge des tests diagnostiques par l'Assurance maladie

Les tests diagnostiques de la toxoplasmose actuellement pris en charge par l'Assurance maladie *via* leur inscription à la NABM sont listés et commentés dans le Tableau 1. Globalement, sont actuellement inscrits :

- les tests sérologiques permettant le diagnostic d'infection toxoplasmique chez le sujet immunocompétent, en particulier la femme enceinte, à l'exception du test de mesure d'avidité des IgG ;
- la recherche directe du parasite permettant le diagnostic prénatal de toxoplasmose congénitale ;
- les tests sérologiques de diagnostic néonatal de toxoplasmose congénitale.

Le test de mesure d'avidité des IgG, la recherche directe du parasite dans le cadre du diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale ou encore tous les examens utilisés pour le diagnostic de toxoplasmose oculaire ne sont donc pas inscrits à la NABM. Tous ces examens sont cependant inscrits sur le référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) ou sur sa liste complémentaire, ce qui permet leur prise en charge par la collectivité au titre de la Mission d'enseignement, de recherche, de référence et d'innovation (MERRI) G03 lorsqu'ils sont réalisés en établissement de santé. Les examens diagnostiques inscrits sur le RIHN ou sa liste complémentaire sont listés dans le Tableau 2.

<sup>4</sup> Les arguments biologiques apportant le diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale sont détaillés dans la partie « Résultats de l'évaluation ».

**Tableau 1. Tests diagnostiques de la toxoplasmose inscrits à la NABM en décembre 2016.**

Code	Libellé	Description
1420	Toxoplasmose cas général : dépistage : SD initial (2 isotypes différents).	Tests permettant le diagnostic sérologique d'infection toxoplasmique chez le sujet immunocompétent, en particulier la femme enceinte.
1421	Toxoplasmose cas général : dépistage : contrôle du SD initial sur autre prél.	
1422	Toxoplasmose cas général : suivi : SD de surveillance (2 isotypes différents).	
1423	Toxoplasmose cas général : suivi : SD de contrôle (2 sérums en parallèle).	La prise en charge de ces tests est prévue pour deux isotypes différents (généralement IgG et IgM) dans différentes conditions de réalisation : dépistage/suivi, test initial/contrôle du test initial.
1430	Toxoplasmose grossesse : dépistage : SD initial (2 isotypes différents).	
1431	Toxoplasmose grossesse : dépistage : contrôle du SD initial sur autre prél.	
1432	Toxoplasmose grossesse : suivi : SD de surveillance (2 isotypes différents).	Deux contextes cliniques sont distingués : "grossesse" et "cas général" mais les examens associés sont identiques.
1433	Toxoplasmose grossesse : suivi : SD de contrôle (2 sérums en parallèle).	
1424	Toxoplasmose cas général : culture cellulaire.	
1425	Toxoplasmose cas général : inoculation souris.	Recherche directe du parasite par deux techniques d'isolement, sans type(s) de prélèvement(s) précisé(s).
1426	Toxoplasmose cas général : culture et inoculation.	
1434	Toxoplasmose grossesse : culture cellulaire.	
1435	Toxoplasmose grossesse : inoculation souris.	Deux contextes cliniques sont distingués : "grossesse" et "cas général" avec des examens associés identiques.
1436	Toxoplasmose grossesse : culture et inoculation.	
1437	Toxoplasmose nouveau-né : SD de surveillance par plusieurs techniques.	Tests permettant le diagnostic sérologique de toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né - techniques non précisées.
4060	DPN : toxoplasmose : culture cellulaire.	Diagnostic prénatal - recherche directe du parasite dans le liquide amniotique par trois techniques possibles.
4061	DPN : toxoplasmose : inoculation à souris.	
4062	DPN : toxoplasmose : culture cellulaire + inoculation à souris.	
4063	DPN : recherche de l'ADN toxoplasmose.	

SD, sérodiagnostic ; DPN, diagnostic prénatal.

**Tableau 2. Tests diagnostiques de la toxoplasmose inscrits sur le RIHN ou sa liste complémentaire en décembre 2016.**

Code RIHN ou liste complémentaire	Libellé
G114	Toxoplasmose : recherche d'autres marqueurs de toxoplasmose évolutive pour datation et évaluation du risque si sérologie de dépistage évoquant une infection évolutive : IgG.
G115	Toxoplasmose : recherche d'autres marqueurs de toxoplasmose évolutive pour datation et évaluation du risque si sérologie de dépistage évoquant une infection évolutive : IgM.
G116	Toxoplasmose : recherche d'autres marqueurs de toxoplasmose évolutive pour datation et évaluation du risque si sérologie de dépistage évoquant une infection évolutive : IgA.
G117	Toxoplasmose : avidité IgG.
G118	Toxoplasmose : dépistage chez nouveau-né d'une mère à risque toxoplasmique : profils immunologiques comparés mère-enfant, enfant-enfant,... par <i>Enzyme-Linked-Immunofiltration Assay</i> (ELIFA) ou par immunoempreinte (WB) pour un isotype.
G119	Toxoplasmose : suivi du nourrisson ou du jeune enfant né d'une mère à risque toxoplasmique : suivi : SD de surveillance avec titrage des IgG et recherche de 2 autres isotypes dont obligatoirement IgM.
G120	Toxoplasmose : suivi du nourrisson ou du jeune enfant né d'une mère à risque toxoplasmique : SD de surveillance avec titrage des IgG et recherche de 2 autres isotypes dont obligatoirement IgM.
G122	Toxoplasmose : autres liquides biologiques (humeur aqueuse, LCR.....) : deux techniques décelant des Ac de 2 isotypes dont IgG.
G123	Toxoplasmose : charge immunitaire.
G124	Toxoplasmose : profils immunologiques comparés compartiment/sérum par <i>Enzyme-Linked-Immunofiltration Assay</i> (ELIFA) ou par immunoempreinte (WB) pour un isotype.
N151	Détection par PCR classique ou temps réel simplex de champignons ou parasites (hors diagnostic prénatal de la toxoplasmose et hors les microorganismes inscrits à la NABM).

## 3. Méthode

### 3.1 Champ et méthode d'évaluation

#### 3.1.1 Champ d'évaluation

L'objectif de la présente évaluation est l'actualisation de la NABM pour ce qui est des actes relatifs au diagnostic biologique de la toxoplasmose dans leur ensemble. Par conséquent, sont considérés comme entrant dans le champ de l'évaluation tous les tests diagnostiques identifiés dans la littérature comme étant actuellement utilisés pour réaliser le diagnostic de toxoplasmose dans les différents contextes cliniques de l'infection, limités pour la présente évaluation aux champs suivants : toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent, toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et toxoplasmose oculaire.

#### 3.1.2 Méthode d'évaluation

Conformément à la feuille de route validée par le Collège en juin 2016 (1), la méthode mise en œuvre pour la présente évaluation repose sur deux axes complémentaires :

- analyse critique de la littérature synthétique (revues systématiques, méta-analyses, recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, revues générales), identifiée par une recherche documentaire systématique ;
- recueil de la position argumentée du Centre national de référence de la toxoplasmose (CNR) sur les pratiques professionnelles actuelles en matière d'utilisation des différents tests à évaluer.

### 3.2 Recherche bibliographique et sélection documentaire

#### 3.2.1 Recherche bibliographique

La recherche documentaire a été conduite comme présentée dans le Tableau 3. Les équations de recherche, les mots clés utilisés et la liste des sites internet consultés sont détaillés en Annexe 1.

**Tableau 3. Stratégie de recherche bibliographique.**

<b>Bases de données interrogées</b>	<i>Medline, Cochrane Library</i>
<b>Recherches complémentaires</b>	Sites internet d'agences d'évaluation de technologies de santé, de structures gouvernementales et de sociétés savantes compétentes dans le domaine étudié (françaises et étrangères) ; références des publications identifiées
<b>Période de recherche</b>	Recherche initiale sur la période janvier 2006 à juin 2016 pour les recommandations/revues systématiques/méta-analyses, ou sur la période janvier 2011 à juin 2016 pour les revues générales, puis veille réalisée jusqu'à la validation du document par le Collège de la HAS
<b>Langues</b>	Français ou anglais

La recherche bibliographique a été limitée aux cinq dernières années pour les revues générales (*versus* dix dernières années pour les autres types de publications) car une recherche préliminaire avait mis en évidence l'existence d'une littérature récente assez abondante pour ce type de publications, identifiant de manière visiblement consensuelle les tests diagnostiques utilisés actuellement et décrivant précisément les conditions de réalisation et l'interprétation des résultats de ces tests.

La recherche documentaire (recherche initiale et veille) a permis d'identifier 133 publications (revues générales, recommandations de bonne pratique ou revues systématiques/méta-analyses ; aucun rapport d'évaluation technologique).

### 3.2.2 Sélection de la littérature

#### ► Critères de sélection

Parmi les recommandations de bonne pratique (RBP), revues systématiques/méta-analyses, et revues générales identifiées par la recherche documentaire, ont été retenues seulement les publications apportant des informations précises et complètes sur le diagnostic biologique de la toxoplasmose (nature des tests utilisés, techniques mises en œuvre, conditions de réalisation, stratégie diagnostique...) dans les contextes suivants : toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent, toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et toxoplasmose oculaire.

#### ► Résultats de la recherche documentaire et de la sélection

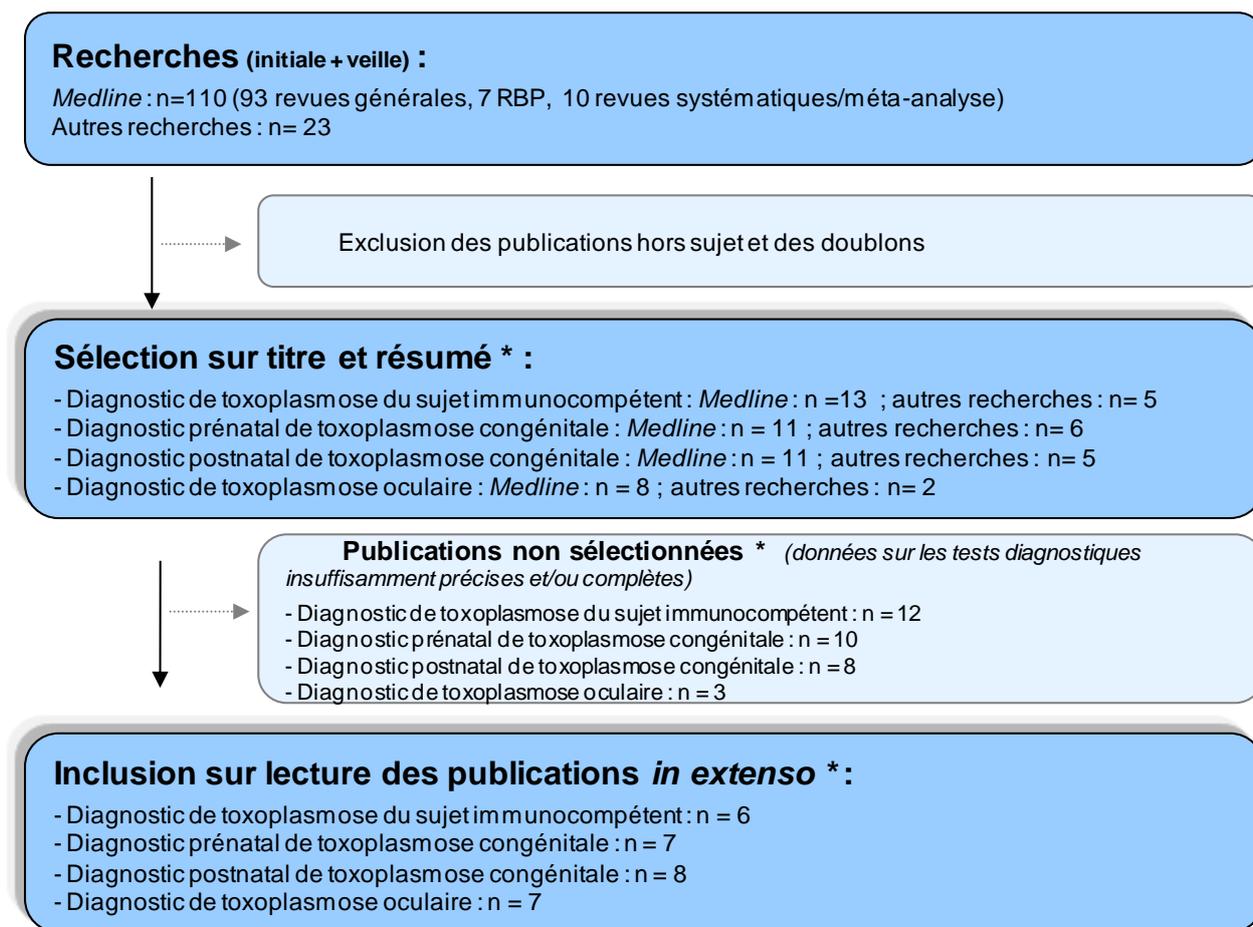
Le processus de sélection est illustré dans le *flow chart* présenté en Figure 1 ci-dessous. Ce processus de sélection a abouti à retenir les RBP et revues générales dénombrées ainsi :

- deux RBP et quatre revues générales pour le diagnostic de toxoplasmose chez le sujet immunocompétent (incluant la femme enceinte) ;
- deux RBP et cinq revues générales pour le diagnostic prénatal de toxoplasmose congénitale ;
- trois RBP et cinq revues générales pour le diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale ;
- une RBP et six revues générales pour le diagnostic de toxoplasmose oculaire.

### 3.3 Recueil de la position argumentée du CNR de la toxoplasmose

Le Centre national de référence de la toxoplasmose est un réseau de laboratoires spécialisés (actuellement 37 laboratoires), qui est coordonné par le CHU de Reims et composé de quatre pôles répartis sur plusieurs centres hospitaliers, chaque pôle étant référent pour des missions spécifiques : pôles Epidémiologie, Souches, Sérologie et Biologie moléculaire, pilotés respectivement par les CHU de Reims, Limoges, Strasbourg et Montpellier.

Ce CNR a été interrogé en tant que partie prenante au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013, au cours d'une audition réunissant des représentants de trois de ses pôles (épidémiologie, sérologie et biologie moléculaire). Ces représentants, désignés par le CNR, ont eu à répondre à des questions qui leur avaient été envoyées par la HAS. Suite à cette audition, la HAS a rédigé un compte-rendu de cette audition qui a été soumis ensuite à relecture et validation par le CNR. Ce compte-rendu intégral figure en Annexe 7. Des synthèses thématiques de ce compte-rendu ont été réalisées par la HAS et placées dans le chapitre 4 « Résultats de l'évaluation ».



**Figure 1. Processus de sélection documentaire pour l'évaluation des tests diagnostiques de la toxoplasmose dans les contextes cliniques concernés par l'évaluation.**

(\*), une même publication peut avoir sélectionnée pour l'évaluation des tests diagnostiques dans plusieurs contextes cliniques différents de la toxoplasmose ; RBP, recommandations de bonne pratique.

## 4. Résultats de l'évaluation

Dans la suite du document, la spécificité « anti-Toxoplasma » des anticorps (IgG, IgM, IgA, IgE) n'a pas été systématiquement précisée mais les tests sérologiques évoqués dans le cadre de cette évaluation portent bien tous sur la recherche de ces anticorps spécifiques.

### 4.1 Diagnostic biologique de toxoplasmose chez le sujet immunocompétent (femme enceinte en particulier)

L'analyse des six publications sélectionnées se rapportant aux tests diagnostiques de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent est résumée dans les tableaux présentés en Annexe 2 (nature des tests utilisés, conditions de réalisation, éléments d'interprétation des résultats) et Annexe 3 (principales caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique). Ces publications sont les suivantes :

#### Recommandations de bonne pratique

- « *Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection - Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis* » - Centre national de référence de la toxoplasmose (Villard *et al.*) - 2016 (7).
- « *Toxoplasmosis in Pregnancy : Prevention, Screening, and Treatment* » - Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC) - 2013 (8).

#### Revue générale

- « *Fever and lymphadenopathy : acute toxoplasmosis in an immunocompetent patient* » - Kaparos *et al.* - 2014 (9).
- « *Human Toxoplasmosis : Which Biological Diagnostic Tests Are Best Suited to Which Clinical Situations ?* » - Murat *et al.* - 2013 (5).
- « *Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis* » - Robert-Gangneux *et al.* - 2012 (17).
- « *Infectious diseases of the fetus and newborn infant - Toxoplasmosis* » - Remington *et al.* - 2011 (19).

#### 4.1.1 Contextes de réalisation

Selon cette littérature, le diagnostic biologique de toxoplasmose chez le sujet immunocompétent est indiqué dans les contextes suivants :

- femme enceinte (5, 7, 8, 17, 19) ;
- patient présentant une uvéite ou rétinocoroïdite susceptible d'être d'origine toxoplasmique (4, 5, 7, 12, 15, 17, 26) ;
- patient présentant des symptômes non spécifiques (fièvre, lymphadénopathies, syndrome mononucléosique-*like*) pour diagnostic différentiel par rapport à une infection à cytomégalovirus, virus d'Epstein-Barr, VIH... ou encore à une hémopathie maligne (5, 17) ;
- patient ayant des symptômes marqués (asthénie profonde), susceptibles de requérir un traitement, en particulier lorsqu'une souche atypique est possiblement impliquée (risque de maladie sévère) (5).

#### 4.1.2 Principes généraux du diagnostic biologique

La littérature apparaît consensuelle sur les grands principes suivants (5, 7, 8, 17, 19) :

- le diagnostic de toxoplasmose chez le sujet immunocompétent est basé sur des tests sérologiques, initiés par la recherche des IgM et IgG anti-Toxoplasma, l'objectif étant la différenciation des infections primaires et chroniques ;

- la présence d'IgM fait suspecter le caractère récent de l'infection mais des tests sérologiques complémentaires sont toujours nécessaires pour confirmer ou infirmer ce caractère récent ;
- chez la femme enceinte, lorsqu'une infection récente est suspectée, l'enjeu essentiel devient de déterminer le moment auquel l'infection s'est produite afin d'évaluer le risque de transmission materno-fœtale et de pouvoir proposer une prise en charge adaptée en fonction de ce risque (traitement anti-toxoplasmique maternel et/ou diagnostic prénatal en particulier).

#### 4.1.3 Recherche des IgM et IgG anti-Toxoplasma

##### ► Principales situations et stratégies diagnostiques préconisées à l'issue de la recherche initiale IgM/IgG

##### Analyse de la littérature sélectionnée

Dans la plupart des publications sélectionnées pour l'évaluation, une interprétation des résultats de la recherche des IgM et IgG anti-Toxoplasma est proposée, cette recherche constituant la première étape du diagnostic de toxoplasmose. Quatre situations principales peuvent être distinguées et sont présentées ci-dessous. Ces propositions d'interprétation sont consensuelles, tout comme les stratégies subséquentes préconisées pour poser le diagnostic. Un seul élément apparaît solliciter une clarification, à savoir l'intervalle (optimal) à respecter entre deux prélèvements pour étudier la cinétique des IgG. Cette clarification a été apportée par le CNR, interrogé sur ce point lors de son audition (*cf. infra*).

##### Absence d'IgM

- **avec absence d'IgG (IgM-/IgG-)** : selon la littérature, ce résultat peut correspondre à une absence d'infection ou une infection aiguë extrêmement récente (5, 7, 8, 19). En France, cette situation conduit chez la femme enceinte à mettre en œuvre un dépistage systématique mensuel d'infection toxoplasmique. Dans plusieurs publications, il est souligné l'importance de poursuivre le dépistage jusqu'à un dernier test entre deux et quatre semaines après l'accouchement afin d'identifier une potentielle primo-infection tardive (5, 17, 19) ;
- **avec présence d'IgG (IgM-/IgG+)** : cette situation correspond consensuellement à une infection ancienne (5, 7, 8, 19). Néanmoins, dans plusieurs publications, il est préconisé de réaliser un contrôle du titre des IgG sur un nouveau prélèvement à deux-quatre semaines de distance afin de confirmer la stabilité de ce titre des IgG (existence de rares cas d'infection aiguë sans présence d'IgM) (5, 7, 19).

##### Présence d'IgM

La littérature s'accorde à considérer que tout patient présentant des IgM doit être présumé comme ayant une infection récente, mais que ce diagnostic requiert des examens de confirmation, dans un premier temps de la spécificité des IgM par une seconde technique, puis du caractère réellement récent de l'infection si la présence des IgM est confirmée.

- **avec absence d'IgG (IgM+/IgG-)** : si la spécificité des IgM est confirmée par une seconde technique reposant sur un principe différent (*cf.* distinction entre les tests diagnostiques dits de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nde</sup> ligne ci-dessous), il est préconisé de réaliser un prélèvement de contrôle environ deux semaines plus tard, voire un 3<sup>ème</sup> prélèvement à quatre semaines, pour observer la séro-conversion des IgG. Si les IgG persistent négativement, il doit être envisagé un faux-positif d'IgM (5, 7, 19) ;
- **avec présence d'IgG (IgM+/IgG+)** : si la spécificité des IgM est confirmée (voir ci-dessus), il est consensuellement préconisé de réaliser un test d'avidité afin de dater l'infection, une avidité élevée signant une infection ancienne (datant de plus de trois à cinq mois) (*cf.* section 4.1.4). Un prélèvement de contrôle à deux ou trois semaines de distance apparaît également communément recommandé afin d'évaluer la cinétique des IgG (5, 7, 8, 19). Ainsi, dans le cas d'une avidité faible ou intermédiaire, si les IgG augmentent entre deux prélèvements de sérum obtenus à deux-trois semaines d'intervalle sans traitement anti-toxoplasmique, l'infection a vraisem-

blement été acquise dans les deux à trois mois précédant le 1<sup>er</sup> prélèvement. Chez la femme enceinte dépistée pour la toxoplasmose au cours du 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse, une avidité élevée et/ou l'absence d'augmentation des IgG entre deux prélèvements à deux-trois semaines de d'intervalle permet donc de conclure qu'il s'agit d'une infection *a priori* antérieure à la grossesse (7, 17, 19).

### Audition du CNR de la toxoplasmose

Interrogé sur l'intervalle de temps souhaitable entre deux prélèvements pour évaluer la cinétique des IgG, intervalle qui varie entre deux et quatre semaines dans la littérature, le CNR a rappelé que la réponse immunitaire au toxoplasme varie en fonction du patient, de la charge parasitaire et de la virulence du parasite, rendant cet intervalle difficile à définir précisément. Selon le CNR, les experts s'accordent actuellement en France à considérer qu'un intervalle de trois semaines est généralement approprié en l'absence d'urgence (IgM/IgG+ avec IgG à faible taux) ou de deux semaines dans les situations de suspicion d'infection aiguë (IgG à titre élevé et/ou présence d'IgM). Dans ces conditions, le CNR estime qu'un doublement du titre des IgG dans l'intervalle (échantillons traités en même temps par la même technique) signe une infection aiguë, datant de moins de deux-trois mois. S'il existe une augmentation du titre sans doublement, le CNR préconise de répéter un contrôle à 15 jours, en précisant que la prise d'un traitement diminue l'activation du système immunitaire par le pathogène et peut ralentir ainsi la courbe de cinétique des anticorps. Trois échantillons peuvent donc être nécessaires à deux fois 15 jours d'intervalle. Enfin, le CNR considère que l'absence d'évolution du titre des IgG entre deux échantillons séparés de trois semaines signe une infection toxoplasmique datant de plus de deux-trois mois avant le 1<sup>er</sup> prélèvement (la stabilisation des IgG étant atteinte au-delà de deux mois suivant l'infection).

En accord avec la littérature, le CNR préconise une dernière recherche sérologique IgG/IgM environ un mois après l'accouchement chez les mères séronégatives pendant toute la grossesse afin de détecter les infections tardives qui, d'après l'expérience du CNR, s'accompagnent souvent d'une contamination de l'enfant. Le CNR a souligné que ce contrôle est déjà intégré dans la pratique des professionnels bien que non inscrit à la NABM.

### ► Tests diagnostiques dits « de 1<sup>ère</sup> ligne » (dépistage) et « de 2<sup>nde</sup> ligne » (confirmation)

#### Analyse de la littérature sélectionnée

Selon la littérature, la recherche initiale des IgM/IgG par un test de dépistage dit de 1<sup>ère</sup> ligne, repose généralement sur des techniques d'immunoanalyse (techniques immunoenzymatiques de type ELISA, ou utilisant la chimiluminescence) réalisables dans tout laboratoire polyvalent. Le principal problème souligné avec ces tests est le manque de standardisation. On constate en effet que, pour un même échantillon, les titres d'anticorps observés (et par conséquent les cinétiques) sont incontestablement variables entre les techniques/kits commerciaux (5, 9). L'interprétation de ces résultats requiert donc d'avoir l'expérience des techniques utilisées, ainsi que le référencement des seuils spécifiques de chaque technique et de chaque kit. Dans ce contexte, Murat *et al.* soulignent que la comparaison de titres d'anticorps entre deux sérums requiert impérativement que ces sérums soient testés avec la même méthode dans la même série (5).

Dans certaines situations, les résultats obtenus peuvent requérir une confirmation par une technique dite de confirmation ou de 2<sup>nde</sup> ligne reposant sur une méthode différente, et préférentiellement réalisée par un laboratoire expert (5, 7, 8, 19). Les deux principales situations citées sont :

- la présence d'IgM : le manque de fiabilité de la détection des IgM anti-Toxoplasma pour affirmer une infection récente est uniformément souligné dans la littérature, ces IgM pouvant être détectées pendant des mois voire des années à la suite d'une infection aiguë (5, 7-9, 17). Il est par conséquent consensuellement préconisé de confirmer leur caractère spécifique par une seconde méthode, non immunoenzymatique. Les principales méthodes de confirmation mentionnées sont l'ISAGA-IgM (préférentiellement préconisée) et l'IFI IgM (5, 7, 17) ;

- la présence d'IgG à faible taux : cette situation peut se traduire par un résultat douteux dit « en zone grise » par technique d'immunoanalyse, requérant consensuellement une confirmation par une autre méthode, généralement le *dye-test* ou l'immunoblot (5, 7, 17). Remington *et al.* notent qu'un contrôle de titrage des IgG par une méthode autre qu'immunoanalytique apparaît également souhaitable en présence d'IgM lorsque les IgG persistent négativement à distance du prélèvement initial (19). Robert-Gangneux *et al.* mentionnent l'existence d'un test de Western blot commercial en Europe (WB Toxo GII ; LDBio®) pour lequel il a été montré une spécificité de 100 % et sensibilité de 99 % en comparaison du *dye-test* (17).

### Audition du CNR de la toxoplasmose

En accord avec la littérature, le CNR a confirmé que les techniques de 1<sup>ère</sup> ligne pour la détection des IgM et IgG anti-Toxoplasma sont, dans la plupart des laboratoires français, des techniques d'immunoanalyse automatisées, parmi lesquelles prédominent les techniques utilisant la chimiluminescence. Le CNR a également confirmé que ces tests de 1<sup>ère</sup> ligne pouvaient donner des résultats substantiellement variables en titration pour un même sérum en fonction des techniques et kits de réactifs commerciaux et que, pour cette raison, la comparaison des titres d'IgG entre deux sérums requiert que les mesures soient faites au cours d'une même série avec le même kit de réactifs.

Concernant les techniques de confirmation ou 2<sup>nde</sup> ligne, le CNR a confirmé les données relevées dans la littérature quant à l'existence de deux situations principales amenant à réaliser un examen de confirmation/contrôle du résultat initial, à savoir la présence d'IgM et/ou un problème de quantification des IgG en présence d'anticorps à taux très bas (ou très élevés). Le CNR a par ailleurs indiqué que les principales techniques de confirmation utilisées pour détecter les IgG à bas titres ou confirmer la spécificité des IgM sont les suivants :

- le *dye-test*, qualifié par le CNR de technique historique, mais qui présente la qualité notable d'être le seul test permettant d'évaluer la fonctionnalité des anticorps présents (capacité à lyser le parasite). Le CNR a précisé qu'à ce jour, ce test n'est plus réalisé que par quelques laboratoires (trois en France), qui sont tous des laboratoires experts de la toxoplasmose ;
- technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) : également qualifiée d'historique par le CNR, qui note que seuls quelques laboratoires experts continuent à pratiquer cette technique. N'apportant pas l'aspect fonctionnel du *dye-test*, le CNR recommande la réalisation d'un *dye-test* en cas de résultat douteux obtenu en immunofluorescence ;
- l'immunoblot (IB) : selon le CNR, cette technique remplace de plus en plus le *dye-test* dans les laboratoires pour le contrôle des IgG à taux bas, du fait de l'existence d'un kit commercial (prémentionné), reproductible et moins contraignant à mettre en œuvre que les deux techniques précédentes ;
- l'ISAGA : le CNR cite cette technique comme étant la plus utilisée pour la confirmation de la présence des IgM anti-Toxoplasma. Il précise qu'il existe un kit commercial utilisé par la plupart des laboratoires réalisant ce test.

Selon le CNR, les techniques de dépistage diagnostique dites de 1<sup>ère</sup> ligne peuvent être réalisées par tout laboratoire polyvalent, alors que les techniques de confirmation (*dye-test*, IB, IFI, ISAGA) relèvent plutôt des laboratoires experts. Concernant l'IB, le CNR a précisé qu'il s'agissait néanmoins d'un cas un peu particulier. Techniquement facile à réaliser car il existe un test commercial, cette technique pourrait théoriquement être utilisée en remplacement du *dye-test* dans les laboratoires polyvalents pour confirmer de faibles taux d'IgG. Cependant, le CNR considère que l'interprétation des IB est complexe et qu'elle nécessite une certaine expérience de lecture de ce type de technique, limitant préférentiellement son utilisation aux centres experts.

#### 4.1.4 Mesure de l'avidité des IgG - datation de l'infection

##### Analyse de la littérature sélectionnée

Plusieurs publications font mention de la détermination de l'avidité des IgG comme moyen d'exclure une infection récente en présence d'IgM. Toutes s'accordent sur le fait qu'un indice d'avidité élevé peut exclure une infection récente alors qu'un indice d'avidité faible ou intermédiaire ne permet ni d'exclure une infection récente, ni de l'affirmer, une avidité faible pouvant persister plus d'un an<sup>5</sup>. Aucun seuil universel n'a été défini au-delà duquel l'avidité serait considérée comme élevée. Globalement, en fonction des tests commerciaux, un indice d'avidité élevé s'interprète comme une infection acquise plus de trois à cinq mois plus tôt, ce qui permet d'exclure une infection survenue en cours de grossesse si le test est réalisé pendant le 1<sup>er</sup> trimestre (7, 9, 13, 17, 19). Ce test peut donc permettre d'éviter un traitement et une amniocentèse inutile chez la femme enceinte, et un suivi injustifié du fœtus puis du jeune enfant. Selon Robert-Gangneux *et al.*, l'interprétation du test d'avidité relève préférentiellement des laboratoires experts de la toxoplasmose (17).

##### Audition du CNR de la toxoplasmose

Le CNR a pointé que l'utilisation des tests de mesure d'avidité des IgG anti-Toxoplasma est largement diffusée depuis 2005, et qu'il existe actuellement de nombreux kits commerciaux ayant de bonnes performances pour permettre le diagnostic fiable d'une infection ancienne à partir d'un sérum présentant des IgG en présence d'IgM spécifiques (présence confirmée). En accord avec la littérature, le CNR a souligné que ces tests ne permettent pas de diagnostiquer une infection récente, la maturation des IgG pouvant requérir plusieurs années chez certains sujets<sup>6</sup>. Le CNR a précisé également les contextes d'utilisation de ce test à savoir la femme enceinte mais aussi le sujet symptomatique (adénopathies cervicales, fièvre, fatigue, accompagnées ou non de troubles organiques, *i. e.* oculaires, cardiaques, pulmonaires ou cérébraux), qu'il soit immunocompétent ou immunodéprimé.

Concernant l'expertise requise, le test de mesure d'avidité des IgG est considéré par le CNR comme étant « à la frontière » entre le laboratoire polyvalent et le laboratoire expert, car il est facile à réaliser mais d'interprétation parfois délicate. Actuellement, le CNR constate que certains laboratoires polyvalents le réalisent eux-mêmes, rarement car le test n'est à ce jour pas remboursé, alors que d'autres le transfèrent à un laboratoire expert. Selon le CNR, en suivant strictement les recommandations du livret du fabricant et en utilisant les logigrammes d'interprétation publiés par le CNR (27, 28), ce test pourrait être plus largement utilisé par les laboratoires polyvalents pour le diagnostic de toxoplasmose chronique.

#### 4.1.5 Autres tests sérologiques

Selon Murat *et al.*, l'intérêt de la recherche des IgA pour le diagnostic de l'infection chez la femme enceinte n'est pas consensuel et les IgE sont très rarement recherchées (5). L'intérêt potentiel des recherches d'IgA et/ou IgE dans le cadre du diagnostic d'infection acquise en postnatal chez le sujet immunocompétent n'est pas évoqué dans les autres publications sélectionnées.

##### Audition du CNR de la toxoplasmose

Le CNR considère la recherche des IgE comme inutile au diagnostic d'infection toxoplasmique quel que soit le contexte. La recherche des IgA n'a pas été évoquée.

<sup>5</sup> Robert-Gangneux *et al.* soulignent qu'un traitement anti-toxoplasmique peut retarder la maturation des IgG (17).

<sup>6</sup> Le CNR a néanmoins précisé que, si une avidité basse n'apporte pas la preuve absolue d'une toxoplasmose aiguë, la prudence amène en pratique dans ce cas à un suivi pré- et postnatal renforcé.

#### 4.1.6 Synthèse

Les données de la littérature confirmées et complétées par les précisions et préconisations du CNR amènent aux conclusions suivantes concernant le diagnostic biologique de toxoplasmose acquise chez le sujet immunocompétent :

- le dépistage sérologique d'infection toxoplasmique aiguë ou chronique apparaît indiqué chez les femmes enceintes, les sujets suspects de toxoplasmose oculaire, et les patients présentant des symptômes non spécifiques en particulier si ces derniers sont sévères ;
- ce diagnostic repose sur la recherche des IgG et IgM anti-Toxoplasma, initialement par une technique immunoanalytique de 1<sup>ère</sup> ligne réalisable dans tout laboratoire polyvalent ;
- la présence d'IgM et/ou de résultats douteux d'IgG anti-Toxoplasma à l'issue du dépistage par une technique de 1<sup>ère</sup> ligne requiert une confirmation par une technique de seconde ligne (*dye-test*, IFI, immunoblot, ISAGA), relevant d'un laboratoire expert de la toxoplasmose ;
- en présence d'IgM (spécificité confirmée par une technique de 2<sup>nde</sup> ligne) et d'IgG anti-Toxoplasma chez une femme enceinte ou un patient symptomatique, une datation de l'infection doit être recherchée par un test de mesure d'avidité des IgG, réalisé préférentiellement dans un laboratoire expert ;
- pour qu'un diagnostic d'infection toxoplasmique aiguë puisse être posé, il est nécessaire de démontrer une augmentation du titre des IgG anti-Toxoplasma sur des échantillons sériels (séroconversion ou augmentation significative du taux) obtenus à deux ou trois semaines d'intervalle. La comparaison des titres d'IgG entre deux sérums requiert que les mesures soient faites au cours d'une même série avec la même technique immunoanalytique de 1<sup>ère</sup> ligne ;
- une recherche sérologique IgG/IgM anti-Toxoplasma entre deux et quatre semaines après l'accouchement est à réaliser chez les mères séronégatives pendant toute la grossesse afin de détecter les infections maternelles tardives ;
- la recherche des IgA et IgE anti-Toxoplasma n'apparaît pas pertinente pour le diagnostic de toxoplasmose chez le sujet immunocompétent.

## 4.2 Diagnostic prénatal (DPN) de toxoplasmose congénitale

Sept publications ont été sélectionnées pour l'évaluation des tests biologiques du diagnostic prénatal de toxoplasmose congénitale (citées ci-dessous). L'analyse de ces publications est présentée en Annexe 4. Ces publications sont les suivantes :

### Recommandations de bonne pratique

- « *Toxoplasmosis in Pregnancy : Prevention, Screening, and Treatment* » - *Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC)* - 2013 (8).
- « Recommandations destinées aux professionnels de santé concernant le diagnostic par biologie moléculaire de la toxoplasmose congénitale » - Centre national de référence sur la toxoplasmose - 2011 (14).

### Revues générales

- « *Human Toxoplasmosis : Which Biological Diagnostic Tests Are Best Suited to Which Clinical Situations ?* » - Murat *et al.* - 2013 (5).
- « Toxoplasmose oculaire : de la physiopathologie au diagnostic microbiologique » - Sauer *et al.* - 2013 (12).
- « *Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment* » - Moncada *et al.* - 2012 (11).
- « *Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis* » - Robert-Gangneux *et al.* - 2012 (17).
- « *Infectious diseases of the fetus and newborn infant - Toxoplasmosis* » - Remington *et al.* - 2011 (19).

### 4.2.1 Contexte de réalisation

Chez les femmes dont le diagnostic de toxoplasmose aiguë pendant la grossesse a été établi ou est fortement suspecté, la littérature sélectionnée s'accorde sur les points suivants (5, 8, 11, 12, 14, 17, 19) :

- un suivi échographique mensuel doit être instauré pour rechercher des signes évocateurs de toxoplasmose congénitale ;
- et une amniocentèse pour recherche directe du parasite dans le liquide amniotique doit être proposée à des patientes sélectionnées de façon appropriée, en concertation avec des spécialistes en médecine fœto-maternelle. L'amniocentèse ne doit être réalisée qu'après au moins 16-18 semaines de grossesse, et pas moins de quatre semaines depuis la manifestation de l'infection maternelle aiguë suspectée (délai minimum théorique de transmission du parasite de la mère au fœtus), afin de diminuer le risque de résultats faussement négatifs dus à une amniocentèse trop précoce<sup>7</sup>.

### 4.2.2 PCR sur liquide amniotique

#### ► Analyse de la littérature sélectionnée

La littérature s'accorde à considérer que le diagnostic prénatal de toxoplasmose congénitale est indiqué chez les femmes pour lesquelles un diagnostic de toxoplasmose pendant la grossesse a été établi ou est fortement suspecté, et qu'il repose aujourd'hui sur la recherche de l'ADN du toxoplasme par PCR sur liquide amniotique (LA) (5, 8, 11, 12, 14, 17, 19). La PCR en temps réel est considérée comme étant la méthode de choix pour le DPN en raison de sa sensibilité élevée (supérieure à celles des techniques d'isolement) mais également de sa rapidité, robustesse et reproductibilité (5).

#### Performances diagnostiques

Des estimations de sensibilité relativement variables sont rapportées pour la PCR toxoplasmose sur LA. Cette variabilité traduit sans doute en partie le manque de standardisation des techniques entre les laboratoires (essentiellement des techniques dites « maison ») relevé par Saadatnia *et al.* (13). Certains auteurs suggèrent également que la sensibilité de la technique pourrait varier en fonction du trimestre d'acquisition maternelle de l'infection mais les différences rapportées entre les différents trimestres n'apparaissent pas significatives (11, 13, 19). Sur la base de plusieurs études utilisant la PCR en temps réel ou la PCR classique, la SOGC rapporte des valeurs de sensibilité du DPN par PCR sur LA comprises entre 81 et 90 % (8). Sur la base des données ayant pu être collectées annuellement entre 2007 et 2012 par le CNR de la toxoplasmose, Robert-Gangneux *et al.* estiment la sensibilité du DPN par PCR en temps réel de l'ordre de 90 % (17). Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de Kieffer *et al.* mentionnée par Remington *et al.*, portant sur 261 femmes, et ayant rapporté une sensibilité de 92 % (IC 95 % : 87-98 %) pour le DPN par PCR en temps réel<sup>8</sup> (19, 31). Selon Robert-Gangneux *et al.*, les résultats faussement négatifs (par PCR en temps réel) sont probablement le résultat de très faibles concentrations de parasites dans le LA ou d'une transmission du parasite de la mère au fœtus postérieure à la date de l'amniocentèse en raison du délai de transfert placentaire (17). La spécificité et la valeur prédictive positive du DPN par PCR en temps réel sont consensuellement estimées de l'ordre de 100 % (11, 13, 17, 19).

<sup>7</sup> À noter que ces délais semblent être issus d'une étude de Hohlfeld *et al.*, dans laquelle aucune femme n'ayant eu une amniocentèse antérieure à 18 semaines de grossesse, il avait été conclu qu'il n'était pas possible de porter de conclusions avant ce délai. Le délai de quatre semaines post-infection semble reposer sur la base d'un cas de toxoplasmose congénitale de cette étude pour lequel les résultats de DPN étaient négatifs quatre semaines après une contamination estimée à 18 semaines de grossesse, puis positifs à 37 semaines de grossesse par PCR (29).

<sup>8</sup> Il sera noté que ces données sont concordantes avec celle d'une méta-analyse très récente portant sur les performances diagnostiques de la PCR toxoplasmose dans le LA et qui a rapporté une sensibilité globale pour cet examen estimée à 87 % avec une spécificité à 99 % (30).

## Interprétation des résultats

La littérature s'accorde sur le fait qu'une PCR positive dans le LA signe une infection fœtale donc une toxoplasmose congénitale, alors qu'une PCR négative s'interprète comme une forte probabilité d'absence d'infection fœtale au moment du prélèvement mais n'exclut pas totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale (11, 12, 14, 17, 19). Robert-Gangneux *et al.* et Remington *et al.* préconisent de préciser lors du rendu de résultats du DPN qu'un résultat négatif n'exclut pas totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale, et qu'il reste indispensable de procéder à un suivi échographique mensuel, une évaluation néonatale et un suivi clinique et biologique de l'enfant jusqu'à l'obtention formelle de la preuve que ce dernier a ou n'a pas été infecté (17, 19).

### ► Audition du CNR de la toxoplasmose

D'un point de vue technique, le CNR a confirmé que les techniques de PCR actuellement utilisées sont majoritairement des techniques « maison » mais a aussi indiqué qu'il existe aujourd'hui des tests commerciaux ayant de bonnes performances diagnostiques, reconnus équivalents aux techniques « maison », et qui sont utilisés par certains laboratoires du réseau du CNR. Le CNR estime que les performances des techniques de PCR toxoplasmose sur LA sont globalement bonnes en signalant néanmoins l'existence de résultats variables sur les charges parasitaires faibles. En accord avec la littérature, le CNR considère que les faux-négatifs du diagnostic sont aujourd'hui essentiellement dus à un passage tardif du parasite chez le fœtus ou à une charge parasitaire indétectable. Concernant le rendu des résultats, le CNR recommande un rendu qualitatif (positif/négatif) et non en titres absolus, ceci pour deux raisons : (i) la quantification présente encore des variations importantes entre laboratoires<sup>9</sup>, (ii) l'influence du niveau de charge parasitaire sur le pronostic fœtal mérite d'être vérifiée.

Concernant les conditions de réalisation du DPN par PCR sur LA, le CNR a rappelé que cet examen est réglementairement restreint aux laboratoires ayant l'agrément autorisant le DPN, ce qui assure un certain niveau de maîtrise technologique. Le CNR a néanmoins souligné la valeur ajoutée d'un laboratoire expert de la toxoplasmose pour l'interprétation de ce test, car ce type de laboratoire, outre la maîtrise technique, interprète les résultats sur la base d'une discussion clinico-biologique avec les cliniciens et peut réaliser le suivi de l'enfant après le DPN.

## 4.2.3 Inoculation à la souris et culture cellulaire de liquide amniotique

### ► Analyse de la littérature sélectionnée

La littérature s'accorde sur le fait que ces deux techniques d'isolement du parasite ne sont plus utiles à visée diagnostique, en raison notamment de leur sensibilité moindre, de leur logistique complexe et du long délai de rendu de résultats au regard de la PCR (quatre à six semaines de délai après inoculation à la souris pour une souche non virulente) (5, 14, 17, 19). La culture cellulaire est dite aujourd'hui pratiquement abandonnée (5). L'inoculation à la souris resterait pratiquée par certains centres experts pour l'isolement (et le stockage) des souches à des fins épidémiologiques (génotypage en lien avec la pathogénicité) (5, 11, 17, 19).

### ► Audition du CNR de la toxoplasmose

Le CNR a confirmé les données de la littérature en expliquant que la culture cellulaire a été abandonnée pour le diagnostic du fait notamment de sa mauvaise sensibilité, et que l'inoculation à l'animal est également devenue inutile à des fins diagnostiques (où elle a été remplacée en pratique par la PCR plus sensible). Le CNR a également confirmé que cette dernière technique reste utile pour l'isolement de souches et leur typage, à visée épidémiologique mais aussi de prise en charge du patient dans certains cas symptomatiques lorsqu'une souche hypervirulente est suspectée (souches d'Amérique du sud en particulier). En effet, l'identification d'une telle souche chez un

<sup>9</sup> Le CNR a indiqué produire un standard moléculaire basé sur des toxoplasmes à partir desquels l'ADN doit être extrait afin de prendre en compte l'ensemble du processus extraction-PCR pour l'ensemble des échantillons.

patient symptomatique peut amener à une modification de la prise en charge se traduisant par un suivi plus étroit et/ou un traitement prolongé. Le CNR a également rappelé que l'inoculation de LA à l'animal est une technique réalisée uniquement par des laboratoires experts et qu'elle est aujourd'hui pratiquée par moins d'une dizaine de laboratoires en France (nécessité d'une animalerie, d'un agrément vétérinaire...).

#### 4.2.4 Synthèse

Les données de la littérature, confirmées et complétées par celles apportées par le CNR, amènent aux conclusions suivantes :

- le DPN de toxoplasmose congénitale repose actuellement sur la recherche de l'ADN du toxoplasme par PCR sur LA. L'amniocentèse ne devrait être proposée qu'après au moins 16-18 semaines de grossesse, et pas moins de quatre semaines depuis la manifestation de l'infection maternelle aiguë suspectée ;
- le DPN de toxoplasmose congénitale par PCR sur LA devrait relever préférentiellement des laboratoires experts de la toxoplasmose qui, outre la maîtrise technique, sont en mesure d'une part d'interpréter les résultats sur la base d'une discussion clinico-biologique avec les cliniciens, et d'autre part de pouvoir réaliser le suivi de l'enfant après le DPN ;
- le rendu des résultats devrait, à l'heure actuelle, rester qualitatif et préciser qu'un résultat négatif de DPN n'exclut pas totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale ;
- les techniques d'isolement du parasite, par inoculation à la souris ou par culture cellulaire, ne sont plus utiles à visée diagnostique. Néanmoins, l'inoculation de LA à la souris pratiquée dans un laboratoire expert peut rester utile pour l'isolement de souches et leur typage dans certains cas symptomatiques où une souche hypervirulente est suspectée.

### 4.3 Diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale

Neuf publications ont été sélectionnées pour l'évaluation des tests biologiques du diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale (citées ci-dessous). L'analyse de ces publications est présentée en Annexe 5. Ces publications sont les suivantes :

#### Recommandations de bonne pratique

- « *Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection - Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis* » - Centre national de référence de la toxoplasmose (Villard *et al.*) - 2016 (7).
- « *Red Book. Report of the committee on infectious diseases* » - American Academy of Pediatrics (AAP) - 2015 (18).
- « Recommandations destinées aux professionnels de santé concernant le diagnostic par biologie moléculaire de la toxoplasmose congénitale » - Centre national de référence sur la toxoplasmose - 2011 (14).

#### Revue générale

- « Toxoplasmose oculaire : de la physiopathologie au diagnostic microbiologique » - Sauer *et al.* - 2013 (12).
- « *Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment* » - Moncada *et al.* - 2012 (11).
- « *Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis* » - Robert-Gangneux *et al.* - 2012 (17).
- « *A review on human toxoplasmosis* » - Saadatnia *et al.* - 2012 (13).
- « *Infectious diseases of the fetus and newborn infant - Toxoplasmosis* » - Remington *et al.* - 2011 (19).

### 4.3.1 Contexte de réalisation et principe général du diagnostic

La littérature s'accorde à considérer que tout nouveau-né dont la mère a eu ou est suspectée d'avoir eu une primo-infection toxoplasmique pendant la grossesse ou en période péri-conceptionnelle doit bénéficier d'un diagnostic néonatal de toxoplasmose congénitale. L'intérêt de ce diagnostic réside en particulier dans la détection des faux négatifs du DPN ainsi que des cas de transmission tardive du parasite au fœtus en cas de contamination de fin de grossesse. Une surveillance sérologique post-natale est indispensable jusqu'à la disparition totale des anticorps maternels anti-Toxoplasma chez l'enfant afin d'affirmer l'absence de toxoplasmose congénitale (7, 12, 14, 17, 18).

Deux stratégies complémentaires permettent de diagnostiquer une toxoplasmose congénitale à la naissance : la recherche du parasite dans différents prélèvements néonataux d'une part, et la recherche d'anticorps spécifiques anti-Toxoplasma dans le sang de cordon et le sérum du nouveau-né (NN) d'autre part. Ces stratégies sont détaillées ci-après.

### 4.3.2 Tests sérologiques

#### ► Analyse de la littérature sélectionnée

Selon cette littérature, le diagnostic sérologique postnatal est basé sur la recherche des IgM, IgA, et/ou IgG anti-Toxoplasma dans le sang de cordon et le sérum de l'enfant. Cette recherche doit permettre de détecter des anticorps à faibles taux et de confirmer qu'ils proviennent d'une néosynthèse par l'enfant, car une certaine quantité d'IgG (transfert passif des IgG maternelles à travers le placenta), et parfois d'IgM et IgA (passage occasionnel d'anticorps maternels au moment de l'accouchement uniquement), peuvent être d'origine maternelle dans les premières semaines de vie. Ces anticorps maternels disparaissent après la naissance selon des demi-vies de l'ordre de trois-quatre semaines, cinq jours et dix jours pour les IgG, IgM et IgA respectivement (7, 11, 18, 19).

#### Recherche des IgM, IgA, et/ou IgG<sup>10</sup> spécifiques anti-Toxoplasma chez l'enfant (sang de cordon et sérum de l'enfant)

##### *Recherche des IgM et IgA*

La détection d'IgM et IgA anti-Toxoplasma dans le sang de cordon ou le sérum du NN est considérée comme un marqueur clé de l'infection fœtale dans la littérature, ces anticorps n'étant pas transmis par la mère au cours de la grossesse, mais synthétisés *de novo* par l'enfant. Les nouveau-nés infectés peuvent avoir n'importe quelle combinaison d'IgM et/ou IgA positives ou négatives à la naissance (17, 18). Néanmoins, compte-tenu du passage occasionnel d'anticorps maternels au moment de l'accouchement, une répétition du test est considérée comme nécessaire pour confirmer un résultat positif obtenu à la naissance, susceptible d'être un faux positif d'origine maternelle. Si le titre d'IgM et/ou IgA reste élevé ou augmente lorsque le test est répété, l'enfant est infecté, sinon le titre de l'anticorps aura diminué (13, 18). Le délai à respecter pour répéter la recherche des IgM apparaît variable en fonction des publications : trois-quatre jours (13, 19), cinq jours (11), une semaine (17) ou dix jours (18). Pour le contrôle des IgA, il est consensuellement considéré de l'ordre de dix jours (11, 13, 19).

Il est à noter que l'ISAGA est consensuellement la technique préférentiellement préconisée dans la littérature pour la recherche des IgM chez le jeune enfant (11, 17-19). L'ELISA semble préférée pour les IgA (11, 17, 19).

<sup>10</sup> Les IgE ne sont pas mentionnées dans la plupart des publications analysées, ou bien sont dites peu recherchées en pratique (19).

### Quantification des IgG

Les enfants nés de mère chroniquement infectées naissent avec des IgG anti-Toxoplasma maternelles, à un taux similaire à celui de la mère et qui diminue normalement en fonction de la demi-vie des IgG. Le suivi des IgG par titrage (utilisant les mêmes techniques que chez l'adulte immunocompétent) en période néo- et postnatale est consensuellement préconisé dans la littérature, en sachant que toute modification de la courbe classique (décroissance des IgG maternelles), qu'il y ait stabilisation ou augmentation, est indicatrice d'une toxoplasmose congénitale. En l'absence de toxoplasmose congénitale, les titres diminuent jusqu'à disparaître avant l'âge d'un an. La persistance d'anticorps anti-toxoplasmiques à l'âge de 12 mois fait poser le diagnostic de toxoplasmose congénitale. Il est souligné dans la littérature que les IgG peuvent disparaître sous traitement (5, 7, 11).

L'*American Academy of Pediatrics* (AAP) préconise que les recherches sérologiques (IgG, IgM, IgA) néonatales soient réalisées par un laboratoire expert de la toxoplasmose (18).

### Comparaison des profils immunologiques en IgG et IgM anti-Toxoplasma par immunoblot sur échantillons de sérums appariés mère-enfant

La méthode des profils comparés repose sur le fait que le NN infecté produit des IgM et IgG dirigées contre des déterminants antigéniques qui peuvent différer de ceux reconnus par les anticorps de la mère (19). L'immunoblot (IB) et l'ELIFA sont deux techniques qui permettent une analyse qualitative des IgG ou IgM spécifiques par comparaison entre les profils de bandes ou de précipités (respectivement) entre des échantillons appariés de sérums de la mère et du NN (7, 17). Il existe un test IB commercial pour la réalisation des profils comparés mère-enfant (17, 19).

Concernant les IgG, leur quantification simple est inutile à proximité de la naissance pour diagnostiquer une TC, les IgG maternelles étant transmises passivement. Une analyse comparative entre les IgG spécifiques de la mère et du NN peut par contre permettre de déterminer si les IgG présentes chez l'enfant sont le résultat d'une infection active ou d'un transfert d'anticorps maternels, ce qui est particulièrement utile lorsqu'il n'y a pas d'IgA ni IgM détectées à la naissance. La présence de bandes similaires sur les IB indique un transfert passif d'IgG maternelles, alors que l'infection active de l'enfant génère des bandes différentes au sein des blots de la mère et de l'enfant (13, 17).

Concernant les IgM, ce test comparatif des profils immunologiques permet de mettre en évidence une possible contamination maternelle en présence d'IgM dans le sang de cordon et/ou le sérum du NN, ceci en montrant des profils IgM mère-enfant identiques (17). Remington *et al.* notent que les IgM peuvent prendre plusieurs semaines avant de se positiver en IB chez un NN infecté, voire deux mois ou plus, et qu'un traitement prénatal ou de l'enfant peut occasionner des faux-négatifs en retardant l'apparition des anticorps néosynthétisés par l'enfant (19). L'IB serait un peu plus sensible que l'ISAGA-IgM et apparaîtrait donc complémentaire de cette technique lorsque cette dernière est négative<sup>11</sup> (13) (17, 32).

### Performances diagnostiques des tests

Chez des NN de mères non traitées pendant la grossesse, la recommandation de l'AAP rapporte des valeurs de sensibilité de détection des NN infectés de 87 % pour la recherche des IgM en ISAGA, de 77 % pour la recherche des IgA et de 93 % pour la combinaison IgM+IgA (18). Robert-Gangneux *et al.* soulignent néanmoins que la sensibilité de ces examens est influencée par le traitement maternel et qu'elle pourrait dépendre également du moment de survenue de l'infection maternelle, les IgM et IgA étant vraisemblablement plus susceptibles d'être détectées chez les NN

<sup>11</sup> Tissot *et al.* ont comparé les résultats des IB (IgG, IgM, IgA) avec ceux des autres méthodes sérologiques dont l'ISAGA-IgM pour tester 126 NN suspectés de toxoplasmose congénitale. Ils ont montré que la recherche sérologique par IB (IgG, IgM, IgA) était un peu plus sensible que l'ISAGA-IgM (87 % vs 70 %), et que la spécificité des deux méthodes était respectivement de 96 et 92 % (32).

de mères ayant séroconverti au 3<sup>ème</sup> trimestre. Ainsi, en France, où les femmes ayant un diagnostic ou une suspicion diagnostique de primo-infection toxoplasmique en cours de grossesse sont généralement traitées, la sensibilité de détection des NN infectés par la recherche des IgM et IgA chez le NN ne dépasserait généralement pas 70 % et 65 % respectivement (17).

Sur la base des résultats de plusieurs études, Robert-Gangneux *et al.* estiment que la sensibilité de l'IB pour la détection des NN infectés serait de l'ordre de 50 % pour l'IB IgG à la naissance et de 80 % pour l'IB IgG pendant les trois premiers mois de vie. Elle serait comprise entre 65 et 80 % pour la combinaison de détection IB IgG et IB IgM à la naissance, et comprise entre 83 et 94 % pour la combinaison de détection IB IgG et IB IgM pendant les trois premiers mois de vie. La combinaison des IB avec l'ISAGA-IgM améliore encore la sensibilité<sup>12</sup>, la sensibilité optimale étant obtenue par la combinaison des IB avec le diagnostic prénatal et le diagnostic sérologique néonatal (sensibilité globale estimée à 96 %) (7, 17).

En résumé, les performances diagnostiques individuelles de chaque test sont assez faibles et aucun des tests de recherche sérologique actuellement disponibles ne semble pouvoir permettre dans tous les cas le diagnostic d'une toxoplasmose congénitale. Néanmoins, la combinaison et la répétition de ces tests permettent d'améliorer substantiellement la probabilité d'obtention d'un résultat positif prouvant l'infection congénitale de l'enfant.

### Moments de prélèvements

Il existe peu d'informations dans la littérature concernant le choix des moments de prélèvements pour le diagnostic sérologique néo- et postnatal de toxoplasmose congénitale. Robert-Gangneux *et al.* préconisent de réaliser les tests sérologiques à la naissance et à un mois de vie, puis tous les deux-trois mois pour contrôler la décroissance des niveaux d'anticorps maternels lorsque le DPN et les tests néonataux sont négatifs (17). Sauer *et al.* préconisent également un suivi postnatal par répétition des recherches sérologiques à trois mois d'intervalle pour confirmer la disparition des anticorps maternels chez l'enfant avant un an de vie (12).

#### ► Audition du CNR de la toxoplasmose

Le CNR a confirmé la nature des examens sérologiques postnataux relevés dans la littérature, et précisé la stratégie diagnostique qu'il préconise en ce qui concerne les moments de prélèvements. Cette stratégie repose sur la réalisation conjointe d'un panel d'examens sérologiques entre J0 et J3<sup>13</sup>, à J15 et J30 de vie, prolongée par un suivi sérologique mensuel si le diagnostic de toxoplasmose congénitale est négatif ou indéterminé à J30. Les examens préconisés sont les suivants :

- les profils comparés mère/enfant des IgG et IgM anti-Toxoplasma en IB ou ELIFA entre J0 et J3, à J15 et J30. Si le diagnostic reste incertain à J30, cet examen peut être répété à M2 voire M3 de vie. Ultérieurement (en particulier au-delà de trois mois), le CNR signale des faux-positifs en IB mais l'ELIFA resterait praticable ;
- la détection des IgM, par une technique validée sur sérum d'enfants de moins d'un an (en pratique ISAGA-IgM ou ELISA-IgM<sup>14</sup>), entre J0 et J3, avec répétition à J10 si la première recherche est positive. Le CNR a indiqué qu'en pratique la répétition de ce test à J15, dans le cadre d'un prélèvement regroupant tous les examens, est souvent plus simple au niveau organisationnel ;
- éventuellement la détection des IgA entre J0 et J3, avec répétition de l'examen à J10 (ou J15) si la recherche à la naissance est positive. Le CNR précise que la recherche des IgA n'est pas systématiquement réalisée contrairement aux autres examens cités ;

<sup>12</sup> Tissot *et al.* rapportent une sensibilité de 91 % pour la combinaison des IB (IgG, IgM, IgA) avec l'ISAGA-IgM (32).

<sup>13</sup> Lors d'un échange postérieur à l'audition, le CNR a précisé que le premier prélèvement dit « à la naissance » dans la littérature correspond en pratique à un prélèvement entre J0 et J3 de vie.

<sup>14</sup> Le CNR précise qu'il n'existe actuellement, à sa connaissance, que deux kits commerciaux validés sur les échantillons de sang de cordon et de sérum de nouveau-né, l'un basé sur une technique ELISA et l'autre sur une technique ISAGA.

- la quantification précise des IgG entre J0 et J3, à J15 et J30, avec répétition mensuelle ultérieure si le diagnostic de toxoplasmose congénitale est négatif (ou indéterminé) à J30, afin de contrôler la disparition des IgG maternelles.

### 4.3.3 Recherche de l'ADN du toxoplasme dans différents prélèvements néonataux

#### ► Analyse de la littérature sélectionnée

Cette littérature s'accorde sur le fait que le diagnostic sérologique à la naissance doit être accompagné par une recherche du parasite par PCR dans le placenta et le sang de cordon ou du nouveau-né (7, 12, 17, 19), parfois accompagné par un échantillon de liquide amniotique recueilli à l'accouchement (7, 12, 14). La découverte du parasite dans le liquide amniotique prélevé à l'accouchement, le sang du cordon et/ou le sang du nouveau-né à la naissance prouve consensuellement une toxoplasmose congénitale alors qu'une PCR positive seule dans le placenta fait fortement suspecter une toxoplasmose congénitale mais est insuffisante au diagnostic. Elle peut en effet résulter de la présence d'ADN résiduel de parasites morts ou d'une persistance placentaire sans transmission fœtale du parasite (7, 14, 17, 18). Le CNR note que la recherche du parasite dans le sang de l'enfant, quelques jours après la naissance, peut parfois être utile dans certains cas très particuliers : contamination maternelle tardive (voire séroconversion maternelle constatée en *post-partum*), absence de bilan néonatal, signes d'infection chez l'enfant né après une grossesse non ou mal suivie (14). Le liquide cébrospinal et les urines sont mentionnés dans deux publications, non comme des prélèvements systématiques pour le dépistage de TC, mais comme des prélèvements possibles chez les NN présentant des signes cliniques (11, 18).

Selon l'AAP, l'isolement du parasite par inoculation à l'animal à partir de prélèvements néonataux peut être ponctuellement utile, non à des fins diagnostiques mais pour le génotypage de souches (18).

#### ► Audition du CNR de la toxoplasmose

Selon le CNR, la recherche de l'ADN du toxoplasme à la naissance n'est pas systématique, beaucoup de centres ne la faisant pas, mais elle devrait l'être car elle permet dès la naissance de rattraper beaucoup de cas non dépistés par le DPN (faux-négatif de DPN lié à un passage tardif, ou DPN non réalisé lors de séroconversions tardives sans amniocentèse ou en l'absence de suivi correct). Les prélèvements utilisés sont le sang de cordon ou le sang périphérique du nouveau-né, le placenta et plus rarement le liquide amniotique prélevé à l'accouchement. Le CNR a pointé que les PCR sont plus souvent positives dans le placenta que dans le sang de cordon chez les enfants infectés, d'où l'intérêt contributif du prélèvement de placenta. Il a néanmoins également ajouté qu'une PCR positive dans le placenta ne signifie pas toujours qu'il y a eu transmission au fœtus mais qu'elle apporte une forte suspicion. *A contrario*, une PCR positive à la naissance sur le sang de cordon ou du NN, ou sur le LA peut être considérée comme une preuve d'atteinte du fœtus.

Concernant le diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale dans son ensemble (sérologique et moléculaire), le CNR considère qu'il s'agit d'un diagnostic complexe qui devrait donc être uniquement réalisé par des laboratoires experts, en concertation avec les cliniciens, en particulier les gynécologues-obstétriciens et les pédiatres, afin d'assurer une continuité entre le diagnostic pré- et postnatal. Le CNR considère en outre souhaitable que les examens postnataux immédiats et le suivi sérologique de l'enfant soient réalisés par le même laboratoire pour une surveillance avec les mêmes techniques.

### 4.3.4 Synthèse

Sur la base des données de la littérature confirmées et complétées par le CNR, le diagnostic néo- et postnatal de toxoplasmose congénitale repose sur une combinaison de différents examens, parfois répétés, afin d'optimiser la sensibilité globale de détection des NN infectés. Ce diagnostic peut ainsi être posé par quatre modalités :

- détection d'IgM ou IgA anti-Toxoplasma (contrôlée entre J10 et J15 de vie) sur sang de cordon ou sang périphérique ;
- néosynthèse d'IgG et/ou IgM anti-Toxoplasma montrée en IB ou ELIFA (profils mère/enfant) sur sang de cordon ou sang périphérique du NN ;
- un taux d'IgG anti-Toxoplasma sériques qui augmente comparativement à celui de la mère sur des prélèvements successifs avant un an, et/ou qui persiste positivement à un an ;
- une PCR positive dans le sang de cordon, sang périphérique du NN et/ou liquide amniotique. Une PCR positive dans le placenta apporte une forte présomption de toxoplasmose congénitale mais doit être confirmée par la positivité d'un autre test.

Compte tenu de la complexité de ce diagnostic postnatal, et afin d'assurer une continuité entre le diagnostic prénatal, les examens postnatals immédiats et le suivi sérologique de l'enfant sont à réaliser par des laboratoires experts.

## 4.4 Diagnostic de toxoplasmose oculaire (TO)

Sept publications ont été sélectionnées pour l'évaluation des tests biologiques du diagnostic de toxoplasmose oculaire (citées ci-dessous). L'analyse de la littérature est présentée en Annexe 6. Ces publications sont les suivantes :

### Recommandation de bonne pratique

- « *Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection - Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis* » - Centre national de référence de la toxoplasmose (Villard *et al.*) - 2016 (7).

### Revue générale

- « *Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease* » - Maenz *et al.* - 2014 (4).
- « *Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management* » - Butler *et al.* - 2013 (15).
- « *Human Toxoplasmosis: Which Biological Diagnostic Tests Are Best Suited to Which Clinical Situations ?* » - Murat *et al.* - 2013 (5).
- « *Toxoplasmose oculaire : de la physiopathologie au diagnostic microbiologique* » - Sauer *et al.* - 2013 (12).
- « *Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis* » - Robert-Gangneux *et al.* - 2012 (17).
- « *Diagnostic approach of ocular toxoplasmosis* » - Garweg *et al.* - 2011 (26).

### 4.4.1 Indication

#### ► Analyse de la littérature sélectionnée

Selon cette littérature, le diagnostic de TO repose essentiellement sur un examen ophtalmologique. Des lésions oculaires typiques (lésions focales blanches souvent associées à une réaction inflammatoire au niveau du vitré) chez un patient séropositif pour la toxoplasmose appellent à l'administration d'un traitement d'épreuve spécifique contre la toxoplasmose et une bonne réponse clinique confirme alors le diagnostic.

Cependant, la littérature s'accorde également à considérer qu'un diagnostic biologique apparaît nécessaire dans un certain nombre de situations : patients ayant des lésions oculaires atypiques et/ou une expression fulminante de maladie, diagnostic différentiel incertain avec d'autres causes de rétinocoroïdite notamment infectieuses (notamment les virus *herpes simplex*), ou réponse retardée à un traitement anti-toxoplasmose d'épreuve (4, 5, 12, 15, 17, 26).

Lorsqu'une TO est suspectée cliniquement, la littérature souligne ainsi l'importance de la sérologie toxoplasmique en tant qu'argument fort d'exclusion en cas de négativité. En effet, les patients

immunocompétents affectés par une TO sont quasiment<sup>15</sup> toujours porteurs d'IgG anti-toxoplasmiques sériques, si bien que l'absence de ces anticorps soutient fortement l'exclusion de ce diagnostic (4, 5, 7, 12, 15, 26). Ainsi, le CNR et Sauer *et al.* considèrent que lorsque les tests de recherche d'anticorps dans le sérum sont négatifs chez un sujet immunocompétent, les investigations de diagnostic biologique d'une TO sur liquides oculaires n'ont pas lieu d'être entreprises.

#### ► **Audition du CNR**

Le CNR n'estime pas utile de procéder à des examens biologiques sur les liquides oculaires en présence de signes cliniques de TO chez un patient pour lequel un diagnostic de toxoplasmose congénitale a été posé, car la probabilité que la chorioretinite soit bien d'origine toxoplasmique est alors très élevée.

Dans les autres cas, le CNR a souligné les limites de la clinique pour la fiabilité du diagnostic de TO en indiquant que, d'après son expérience, la confirmation biologique d'une TO suspectée cliniquement n'est que de 50 % environ, et qu'en présence d'une chorioretinite, seuls 30 à 50 % sont d'origine toxoplasmique. En accord avec la littérature, le CNR a confirmé qu'en présence d'une sérologie toxoplasmique négative, le diagnostic de TO et donc la mise en œuvre d'examens sur liquides oculaires ne sont pas à envisager.

En pratique, le CNR a rapporté ne pas observer de consensus entre les ophtalmologistes avec lesquels il est en contact, quant à la nécessité ou non de confirmer biologiquement une TO suspectée cliniquement. Le CNR a proposé plusieurs raisons possibles à cette observation :

- une forte confiance dans les signes cliniques présumés typiques de la TO semblant rendre inutile la confirmation biologique de l'agent causal ;
- le renforcement de l'hypothèse diagnostique de l'origine toxoplasmique de la chorioretinite par le « succès » d'un traitement d'épreuve anti-toxoplasmique, en sachant cependant que ce succès peut être biaisé par la combinaison systématique du traitement anti-infectieux à des corticoïdes susceptibles d'être efficaces si l'origine est par exemple en fait auto-immune ;
- les prélèvements de liquide oculaire dans la chambre antérieure non pratiqués par certains ophtalmologistes ;
- le manque d'accès des cliniciens aux examens biologiques d'infectiologie sur les liquides oculaires, ce type d'examens n'étant pas réalisé par tous les laboratoires.

Le CNR a également précisé que, lorsque les examens sont disponibles, comme dans beaucoup de CHU, les ophtalmologistes tendent souvent à rechercher une confirmation biologique du diagnostic sur humeur aqueuse en raison notamment de la possibilité de récurrence de l'affection oculaire lorsqu'il s'agit d'une origine toxoplasmique.

### **4.4.2 Tests diagnostiques de la toxoplasmose oculaire**

#### ► **Analyse de la littérature sélectionnée**

##### **Principes généraux du diagnostic**

Le diagnostic biologique de TO utilise le plus souvent des échantillons d'humeur aqueuse (HA) prélevés par paracentèse. Les prélèvements de vitré peuvent être également utilisés mais ils sont plus dangereux et ne sont donc justifiés que dans les cas atypiques sévères ou compliqués, ainsi que chez les patients qui ne répondent pas au traitement anti-toxoplasmique (5, 7, 26).

La littérature s'accorde sur la complémentarité de deux approches pour mettre en œuvre ce diagnostic, qui sont la détection de l'ADN du toxoplasme par PCR dans l'humeur aqueuse (ou le vitré) et la synthèse locale intraoculaire d'IgG et/ou IgA anti-Toxoplasma, cette synthèse locale pouvant être recherchée par comparaison des profils immunologiques en IB et/ou des charges immuni-

<sup>15</sup> De très rares cas de sérologies faussement négatives ont été rapportés (4).

taires du couple sérum-HA. Si, à la fois, la recherche d'anticorps locaux et la PCR sont négatives, d'autres maladies, infectieuses ou non, doivent être recherchées (4, 5, 7, 12, 15, 17).

### Recherche d'une synthèse locale intraoculaire d'anticorps spécifiques anti-Toxoplasma

#### *Comparaison des charges immunitaires du sérum et de l'humeur aqueuse (ou vitré) - coefficient de Goldmann-Witmer (CGW) et ses dérivés*

Des niveaux anormaux d'anticorps anti-Toxoplasma dans l'HA peuvent être mis en évidence par le calcul du coefficient de Goldmann-Witmer (CGW), également appelé coefficient de Witmer-Desmots, basé sur la comparaison entre les niveaux d'anticorps anti-Toxoplasma dans l'HA et le sérum, relativement aux titres d'IgG totales dans ces mêmes liquides biologiques. En pratique, le calcul du CGW pour la recherche d'une synthèse locale d'IgG anti-Toxoplasma se calcule ainsi : [IgG anti-Toxoplasma (UI/ml) dans l'HA/IgG anti-Toxoplasma (UI/ml) dans le sérum] X [IgG totales sériques (g/litre)/IgG totales dans l'HA (g/litre)] (4, 17)<sup>16</sup>. Une variante de cette technique (parfois appelée « ELISA-IgG ») compare le ratio des titres d'IgG anti-Toxoplasma dans le sérum et l'HA à celui des IgG spécifiques du virus des oreillons (*Mumps virus*), virus ne provoquant pas de pathologie oculaire et contre lequel des anticorps sont présents chez presque tous les patients en France en raison du programme national vaccinal de prévention des oreillons (12, 17, 33).

Butler *et al.* expliquent qu'un ratio (coefficient) supérieur à 1 informe théoriquement d'une synthèse intraoculaire d'anticorps, mais qu'il peut aussi s'observer chez des sujets contrôles sains (15). Pour cette raison, un ratio d'au moins 3 semble être préféré dans la littérature pour affirmer le diagnostic de TO<sup>17</sup>, une valeur comprise entre 2 et 3 correspondant à un résultat douteux et une valeur inférieure à 2 à un résultat négatif (absence de synthèse locale) (5, 12, 15, 26).

Par ailleurs, la littérature souligne consensuellement l'importance de l'**intégrité de la barrière hémato-rétinienne (HR)** afin de pouvoir comparer les titres d'IgG anti-Toxoplasma dans l'HA et le sérum du patient. Une altération de cette barrière peut en effet conduire à de faibles coefficients par fuite d'anticorps (4, 7, 12, 26).

La sensibilité du calcul du CGW pour les IgG anti-Toxoplasma pour le diagnostic de TO semble généralement estimée autour de 50-60 % (7, 17, 26). Garweg *et al.* précisent que les faux-négatifs du CGW peuvent notamment être observés en présence d'une forte réponse systémique au parasite (26).

#### *Comparaison des profils immunologiques en immunoblot d'échantillons appariés sérum-liquide oculaire*

Les anticorps présents dans l'humeur aqueuse reconnaissent en général des antigènes toxoplasmiques partiellement différents de ceux reconnus par les anticorps sériques. La comparaison par IB d'échantillons appariés de sérum et d'HA prélevés le même jour peut permettre d'identifier une synthèse locale d'anticorps en mettant en évidence des anticorps différents illustrés par la présence de bandes supplémentaires au niveau de l'HA par rapport au sérum, ou de bandes identiques dans les deux compartiments mais d'intensité plus importante pour celles obtenues avec l'HA (sécrétion plus importante au niveau de l'HA) (12).

Cette technique est présentée dans la littérature comme une alternative au calcul du CGW, utilisable pour les IgG et/ou IgA, et présentant l'intérêt majeur de pouvoir être utilisée lorsque la barrière HR est rompue, car elle serait moins influencée par l'inflammation et la rupture de cette bar-

<sup>16</sup> Les ratios [IgG anti-Toxoplasma dans l'HA/IgG totales dans l'HA] et [IgG anti-Toxoplasma (UI/ml) dans le sérum/IgG totales sériques] sont parfois appelés « charges immunitaires ».

<sup>17</sup> Historiquement, Desmots *et al.* ont confirmé la spécificité du coefficient de Goldmann-Witmer/Witmer-Desmots pour le diagnostic de TO à partir d'une série de 600 cas, en posant arbitrairement un seuil de positivité à 8 et seuil de négativité à 3, avec une zone douteuse entre les deux. Ultérieurement, Kijlstra *et al.* ont proposé de corriger le seuil de positivité en le fixant à 3, seuil par la suite généralement accepté par la communauté scientifique (34, 35).

rière que le CGW. La reconnaissance des IgM serait insuffisamment sensible pour être utile (5, 7, 12, 17, 26).

Une étude de Garweg *et al.* est mentionnée dans plusieurs des publications sélectionnées, pour illustrer les performances diagnostiques de la technique des profils comparés en IB pour la mise en évidence d'une synthèse intraoculaire d'anticorps. La sensibilité de l'IB IgG y est estimée à 50 % (spécificité 93 %), celle de l'IB IgA à 35 % (spécificité 83 %) et celle de l'association des IB IgG et IB IgA à 70 % (spécificité 77 %). La sensibilité n'a pas été estimée pour l'IB IgM, les IgM étant très faiblement détectées (36).

### Recherche d'ADN du parasite dans les liquides oculaires

La mise en évidence du toxoplasme dans l'humeur aqueuse (ou le vitré) par PCR pose le diagnostic de TO. La sensibilité de la technique est cependant faible car la littérature rapporte une amplification de l'ADN du toxoplasme dans l'humeur aqueuse chez les sujets immunocompétents dans 30 à 40 % au plus des cas diagnostiqués cliniquement (spécificité de l'ordre de 100 %) (12, 17, 26). La sensibilité de la détection serait meilleure chez les patients immunodéprimés (valeurs rapportées de l'ordre de 75 %) et lorsque les lésions sont sévères (5, 12, 15, 17, 26). La PCR serait également plus sensible lorsqu'elle est pratiquée sur le vitré, dont la ponction n'est préconisée que dans les cas très sévères. Sur ce prélèvement, Garweg *et al.* rapportent une amplification de l'ADN du parasite chez jusqu'à 50 % des patients immunocompétents ayant une TO cliniquement diagnostiquée (5, 26).

D'un point de vue technique, la littérature souligne la multiplicité des techniques utilisées et le manque de standardisation des protocoles de PCR en l'absence de standard international (4, 5).

### Stratégie diagnostique - combinaison des tests

Les techniques immunologiques disponibles pour le diagnostic de TO, qu'il s'agisse du calcul du CGW ou des profils comparés en IB, ont un faible niveau de sensibilité (*cf. supra*). Plusieurs facteurs sont mentionnés comme pouvant expliquer le nombre important de faux-négatifs associé à ces techniques, parmi lesquels une immunosuppression, une immunotolérance locale au parasite (retrouvée chez les sujets infectés congénitalement), ou encore un délai insuffisant entre la survenue des symptômes cliniques et le moment de prélèvement (insuffisant pour que l'activation de la production locale des anticorps devienne détectable par la technique employée) (4, 26). La sensibilité de la PCR dans les liquides oculaires est faible également, en particulier dans l'humeur aqueuse du sujet immunocompétent. Compte tenu du faible niveau de sensibilité de chacun de ces tests, un résultat négatif obtenu avec l'un d'eux ne permet pas d'exclure une TO et, comme pour le diagnostic postnatal de TC, la combinaison des techniques apparaît requise pour augmenter la probabilité d'obtenir un résultat positif et donc de poser le diagnostic d'une TO. Dans ce sens, deux études, mentionnées dans plusieurs des publications sélectionnées, illustrent la valeur ajoutée de la combinaison des tests pour améliorer les performances du diagnostic de TO. L'étude de Talabani *et al.*, portant chez 54 patients ayant une uvéite atypique, a mesuré les sensibilités suivantes : 45 % pour le CGW (spécificité 93 %), 53 % pour l'IB IgG (spécificité 100 %), 55 % pour la PCR (spécificité 100 %), 85 % pour la combinaison des trois techniques, 80 % pour PCR + CGW et 70 % pour immunoblot + CGW (37). L'étude de Villard *et al.*, portant chez 19 patients, a rapporté les sensibilités suivantes : 63 % pour l'ELISA-IgG (spécificité 89 %), 53 % pour l'IB IgG (spécificité 89 %), 28 % pour la PCR (spécificité 100 %) et 83 % pour la combinaison des trois techniques (27).

Plusieurs propositions de stratégie diagnostique ont été identifiées dans la littérature, avec pour objectif notamment d'optimiser l'utilisation des faibles volumes de prélèvement des liquides oculaires. Ainsi, Robert-Gangneux *et al.* proposent une stratégie diagnostique fonction de la sévérité des lésions, du statut immunitaire du patient et du délai entre le prélèvement et la survenue des symptômes. Cette stratégie consiste à donner la priorité à l'utilisation de la PCR pendant les dix jours suivant la survenue des symptômes, en particulier si le sujet est immunodéprimé ou si la

taille totale du foyer est grande. Au-delà de dix jours, si d'anciennes cicatrices sont présentes et/ou si la réaction de la chambre antérieure est moyenne à sévère, le calcul du coefficient de Goldmann-Witmer serait à prioriser, associé à la PCR si la taille totale du foyer est grande. Enfin, l'utilisation de l'IB donnerait ses meilleurs résultats lorsque le prélèvement a lieu plus de 30 jours après la survenue des symptômes (17). Garweg *et al.* préconisent d'initier dans tous les cas la recherche diagnostique sur HA par le calcul du CGW pour les IgG et de n'avoir recours à la PCR et aux IB comparatifs que si ce premier test est négatif. Sauer *et al.* recommandent l'utilisation de la PCR dans un premier temps, le calcul du CGW dans un second temps et le recours aux profils comparés sérum/HA en immunoblot dans un troisième temps s'il apparaît que la barrière hémato-rétinienne est lésée (12, 26). Ces propositions de stratégie diagnostique n'apparaissent pas consensuelles. L'élément commun reste la préconisation de combiner toutes les techniques disponibles.

Concernant les conditions de réalisation des tests diagnostiques de TO, Garweg *et al.* notent que l'étude des échantillons de liquide oculaire peut poser des difficultés techniques, aucun des tests commerciaux disponibles pour ELISA, PCR ou immunoblot n'étant validé pour tester ce type d'échantillons (en 2011, date de la publication) (26). Selon ces mêmes auteurs, les examens diagnostiques de la toxoplasmose oculaire relèvent uniquement des laboratoires experts de la toxoplasmose (26).

#### ► Audition du CNR

Le CNR a confirmé la complémentarité des tests moléculaires et immunologiques pour le diagnostic de TO, et relevé également la contrainte technique représentée par les faibles volumes de prélèvement de liquide oculaire. Dans ce contexte, le CNR a proposé une stratégie diagnostique, tout en soulignant son caractère théorique car en pratique, les tests moléculaires et sérologiques seraient réalisés conjointement pour obtenir un diagnostic plus rapidement. Selon cette stratégie, les recherches infectiologiques (virologie dont virus *herpes simplex*, parasitologie, bactériologie) moléculaires sont d'abord entreprises. Si la PCR toxoplasmose est négative, ainsi que les PCR recherchant d'autres agents infectieux, la synthèse intraoculaire d'anticorps anti-Toxoplasma est alors recherchée, en privilégiant la technique des profils immunologiques comparés en IB, moins sensible que le calcul du CGW à une éventuelle lésion de la barrière hémato-rétinienne. Si les profils sont identiques, les anticorps locaux doivent être recherchés également par calcul du CGW en sachant que les résultats de ce coefficient ne sont valides qu'en l'absence de rupture de la barrière hémato-rétinienne. Si l'IB est négatif et qu'il y a lésion de la barrière hémato-rétinienne, le diagnostic est dit non concluant.

Par ailleurs, le CNR a confirmé qu'il n'existe actuellement aucun kit commercial validé dans les liquides oculaires.

Il considère également que la mise en œuvre et l'interprétation des examens diagnostiques de la toxoplasmose oculaire relèvent des laboratoires experts de la toxoplasmose.

#### 4.4.3 Synthèse

La confirmation biologique d'un diagnostic de TO suspectée cliniquement est indiquée lorsqu'un sujet séropositif pour la toxoplasmose présente des lésions oculaires atypiques, une expression fulminante de la maladie, un diagnostic différentiel incertain avec d'autres causes de rétinopathie ou lorsque la réponse au traitement anti-toxoplasmique est retardée.

Les données de la littérature et celles apportées par le CNR sont consensuelles quant à considérer que le diagnostic biologique de TO repose sur une combinaison de plusieurs examens dont la réalisation et l'interprétation relèvent de laboratoires experts. Dans ces conditions, ce diagnostic peut être posé par trois modalités :

- la détection de l'ADN du toxoplasme par PCR dans l'humeur aqueuse (ou le vitré) ;

- la détection d'une production locale d'IgG et calcul du CGW ou méthode équivalente dans l'humeur aqueuse (ou le vitré) ;
- la détection d'une production locale d'IgG et/ou IgA par comparaison des profils immunologiques en immunoblot d'échantillons appariés sérum-liquide oculaire.

#### 4.5 Proposition de définition d'un laboratoire « expert »

L'étude des tests et stratégies diagnostiques de la toxoplasmose dans les différents contextes concernés par la présente évaluation fait apparaître, qu'en regard des tests automatisés utilisés en dépistage courant dans les laboratoires d'analyses polyvalents, les démarches diagnostiques de toxoplasmose font régulièrement intervenir des tests dont la réalisation et l'interprétation sont délicates, réalisés moins fréquemment, souvent dans le cadre de dossiers complexes. Afin d'assurer un bon niveau de qualité diagnostique, le CNR et la littérature sélectionnée s'accordent à distinguer des laboratoires qui pourraient être qualifiés « de 1<sup>ère</sup> ligne », capables de réaliser les actes fréquents dans le cadre de dossiers simples, et des laboratoires dits « experts » (*i.e.* ayant une très bonne expertise de la toxoplasmose) pour les autres cas.

Dans ce contexte, une réflexion a été menée avec le CNR lors de son audition par la HAS afin de proposer une définition d'un laboratoire expert, aucune définition n'ayant par ailleurs été identifiée dans la littérature sélectionnée. Il en ressort plusieurs aspects pouvant concourir à qualifier un laboratoire d'« expert » :

- l'aspect analytique (technique) avec la capacité à réaliser les techniques manuelles en disposant du personnel formé, du matériel spécifique, des infrastructures ;
- l'aspect post-analytique avec l'interprétation des résultats et l'aptitude à juger de la nécessité ou non d'ajouter d'autres tests (et de les choisir) pour poser le diagnostic, *i.e.* la capacité de prise en charge globale des dossiers complexes ;
- l'intégration dans un réseau de réflexion et de collaboration avec d'autres laboratoires experts et avec les cliniciens. Ce travail collaboratif permet un suivi optimisé des patients, par exemple dans le cadre du diagnostic de toxoplasmose congénitale où il favorise la relation entre le diagnostic prénatal et postnatal pour les couples mère-enfant ;
- la participation à des programmes de contrôle de qualité (interne et externe), notamment pour les techniques peu répandues ;
- une homogénéisation des pratiques par l'établissement de stratégies diagnostiques consensuelles pour les différents contextes diagnostiques de la toxoplasmose, les logigrammes décisionnels établis par le CNR illustrant cette démarche (7, 14).

Concernant la pertinence de proposer un seuil de nombre de dossiers complexes traités qui pourrait définir un laboratoire expert, le CNR estime difficile de définir un tel seuil mais a indiqué traiter *a minima* un dossier complexe par jour.

## Conclusion

Au total, en se fondant sur l'analyse critique des données de la littérature synthétique, complétée par la position argumentée du CNR, les conclusions de la HAS quant au diagnostic biologique de la toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent (dont la femme enceinte), de la toxoplasmose congénitale et de la toxoplasmose oculaire, sont les suivantes :

### Diagnostic biologique de toxoplasmose chez le sujet immunocompétent, incluant la femme enceinte

Les indications du diagnostic biologique de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent sont les suivantes : femmes enceintes (dépistage systématique), sujets suspects de toxoplasmose oculaire et patients présentant des symptômes non spécifiques, en particulier si ces derniers sont sévères.

Dans ces indications, le diagnostic biologique de la toxoplasmose se compose :

- de la recherche des anticorps sériques anti-Toxoplasma d'isotypes IgG et IgM, habituellement réalisée par une technique d'immunoanalyse (immunoenzymatique, chimiluminescence...)
- d'itération(s) pouvant faire suite à cette première recherche dans les situations et selon les modalités suivantes :
  - la présence d'IgM et/ou de résultats douteux d'IgG, qui requiert une confirmation par une technique différente (*dye-test*, IFI, immunoblot, ou ISAGA) et relevant d'un laboratoire expert de la toxoplasmose,
  - une suspicion d'infection toxoplasmique aiguë, qui requiert l'étude de la cinétique des IgG avec une ou deux itération(s) de la recherche initiale à deux ou trois semaines d'intervalle ; les prélèvements successifs devant être titrés au cours d'une même série, avec la même technique immunoanalytique,
  - la prolongation du suivi mensuel par une recherche des IgG et IgM deux à quatre semaines après l'accouchement, qui est à réaliser chez les mères séronégatives pendant toute la grossesse ;
- du test de mesure d'avidité des IgG anti-Toxoplasma pour dater l'infection en présence d'une suspicion d'infection récente (présence d'IgM, confirmée par une seconde technique, et d'IgG anti-Toxoplasma) chez la femme enceinte et le sujet symptomatique, ce test permettant uniquement d'exclure une infection récente en présence d'une avidité élevée.

Dans ce contexte de diagnostic de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent, la recherche des anticorps sériques anti-Toxoplasma d'isotypes IgA et IgE n'est pas pertinente.

### Diagnostic biologique pré- et postnatal de toxoplasmose congénitale

Ce diagnostic se compose de :

- la recherche de l'ADN du toxoplasme par amplification génique (PCR) sur liquide amniotique, en précisant les éléments suivants :
  - l'amniocentèse en vue de cette recherche ne devrait être réalisée qu'après au moins 16-18 semaines de grossesse, et pas moins de quatre semaines depuis la manifestation de l'infection maternelle aiguë suspectée,
  - le rendu des résultats est qualitatif et précise qu'un résultat négatif de DPN n'exclut pas totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale ;
- la recherche de l'ADN du toxoplasme par amplification génique (PCR) dans le sang de cordon, le sang périphérique du nouveau-né, le liquide amniotique et le placenta, en précisant qu'un résultat positif dans le placenta devrait être confirmé par la positivité d'un autre test de diagnostic postnatal pour poser le diagnostic de toxoplasmose congénitale ;

- la recherche des anticorps sériques anti-Toxoplasma chez le nouveau-né et les enfants de moins d'un an, de la manière suivante :
  - recherche des IgM et/ou IgA spécifiques sur sang de cordon ou sang périphérique entre J0 et J3 de vie, contrôlée entre J10 et J15 de vie en cas de positivité de la première recherche,
  - recherche d'une néosynthèse d'IgG et/ou d'IgM dans le sang de cordon ou le sang périphérique de l'enfant par comparaison des profils mère-enfant en immunoblot ou ELIFA, entre J0 et J3, à J15 et J30 (puis M2 +/- M3 si le diagnostic reste indéterminé à J30),
  - suivi du taux d'IgG spécifiques sériques de l'enfant, mesuré entre J0 et J3, à J15 et J30 puis mensuellement jusqu'à disparition des anticorps pour affirmer l'absence d'infection congénitale.

Compte tenu de la complexité d'interprétation de certains tests, et afin d'assurer une continuité entre le diagnostic pré- et postnatal, les examens du diagnostic biologique pré- et postnatal de toxoplasmose congénitale sont à réaliser par des laboratoires experts de la toxoplasmose, dont le travail en réseau et en concertation avec les cliniciens est ici particulièrement nécessaire.

### **Diagnostic biologique de toxoplasmose oculaire**

Les indications du diagnostic biologique de toxoplasmose oculaire sont les suivantes : sujets séro-positifs pour la toxoplasmose présentant des lésions oculaires atypiques, expression fulminante de la maladie, diagnostic différentiel incertain avec d'autres causes de rétinoblastome et réponse retardée au traitement d'épreuve anti-toxoplasmique.

Ce diagnostic se compose des tests suivants, dont la mise en œuvre et l'interprétation relèvent de laboratoires experts de la toxoplasmose :

- détection de l'ADN du toxoplasme par amplification génique (PCR) dans les liquides oculaires ;
- détection d'une production locale d'IgG par comparaison des charges immunitaires d'échantillons appariés sérum-liquide oculaire ;
- détection d'une production locale d'IgG et/ou IgA par comparaison des profils immunologiques en immunoblot d'échantillons appariés sérum-liquide oculaire.

**Pour tous les contextes cliniques de toxoplasmose** (entrant dans le champ de la présente évaluation) :

- la technique d'inoculation de prélèvement biologique à la souris n'a d'intérêt que dans les cas de patients symptomatiques pour lesquels une souche hypervirulente est suspectée, à des fins de typage et d'adaptation de la prise en charge ;
- la culture cellulaire du toxoplasme ne présente pas d'intérêt.

**En ce qui concerne le lieu de réalisation** des examens cités ci-dessus (pour l'ensemble des contextes cliniques étudiés dans la présente évaluation), ces examens relèvent soit de laboratoires dits « polyvalents », ou de « première ligne », soit de laboratoires dits « experts » de la toxoplasmose. Cette distinction se fonde sur la technicité particulière de l'examen en question et/ou sur la complexité de la situation clinique. Un laboratoire expert est principalement défini par sa maîtrise des techniques peu répandues ou manuelles, sa capacité à prendre en charge des dossiers complexes, et son intégration dans un réseau de réflexion et de collaboration avec d'autres laboratoires experts et avec les différents cliniciens impliqués dans la prise en charge de cette infection.

## Annexe 1. Recherche documentaire

### Bases de données bibliographiques

Les bases de données bibliographiques interrogées sont la base de données *Medline* et la *Cochrane Library*.

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche. Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études. Le Tableau 4 ci-dessous présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française. La recherche initiale a porté sur la période janvier 2006 à juin 2016 pour les recommandations/revues systématiques/méta-analyses, ou sur la période janvier 2011 à juin 2016 pour les revues générales, puis une veille a été réalisée jusqu'à la validation du document par le Collège de la HAS.

Le nombre total de références obtenu par la recherche dans la base de données *Medline* est 105.

**Tableau 4. Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*.**

Type d'étude / sujet Termes utilisés		Période
<b>Recommandations</b>		01/2006 – 01/2016
Etape 1	(toxoplasmosis OR toxoplasmosis, congenital OR toxoplasmosis, cerebral OR toxoplasmosis, ocular)/de OR toxoplasm*/ti	
ET		
Etape 2	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR (Health Planning Guidelines)/de OR (Practice Guideline OR Guideline OR Consensus Development Conference OR Consensus Development Conference, NIH)/pt	
<b>Méta-analyses et revues systématiques</b>		01/2006 – 01/2016
Etape 3	(toxoplasmosis/diagnosis OR toxoplasmosis, congenital/diagnosis OR toxoplasmosis, cerebral/diagnosis OR toxoplasmosis, ocular/diagnosis)/de OR (((toxoplasmosis OR toxoplasmosis, congenital OR toxoplasmosis, cerebral OR toxoplasmosis, ocular)/de OR toxoplasm*/ti) AND ((diagnostic techniques and procedures OR diagnosis, differential OR diagnostic tests, routine)/de OR diagnos*/ti))	
ET		
Etape 4	(metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematical literature review* OR systematic literature search)/ti OR Meta-Analysis/pt OR Cochrane Database Syst Rev/so	
<b>Revue</b>		01/2011 – 01/2016
Etape 3		
ET		
Etape 5	review/ti OR review/pt	

## Recherches complémentaires

Ont été recherchés sur les sites internet concernés (liste ci-dessous) les revues systématiques, les rapports d'évaluation de technologie de santé ou les recommandations de bonne pratique publiées par différents organismes (agences d'évaluation, sociétés savantes, institutions sanitaires, ministère de la santé ...).

Les sites internet ont été interrogés en fonction des modalités de recherche propres à chacun : consultation de la liste des publications et/ou requête dans le moteur de recherche avec le mot-clé suivant : *toxoplasmosis*.

La recherche initiale a été réalisée en juin 2016. Une veille documentaire a été réalisée jusqu'à la validation du document par le Collège de la HAS. Cette recherche a permis d'identifier 22 documents.

Ont également été consultées un certain nombre de références apparaissant mentionnées de manière commune par plusieurs publications correspondant aux critères de sélection de l'évaluation.

## Sites internet consultés

- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - ANSES
- Association française des enseignants de parasitologie et de mycologie - ANOFEL
- Bibliothèque médicale Lemanissier
- Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMef
- Centre national de référence toxoplasmose
- Collège national des gynécologues et obstétriciens français - CNGOF
- Haute Autorité de santé - HAS
- Ministère en charge de la santé
- Orphanet
- Santé publique France
- Société de pathologie infectieuse de langue française - SPILF
- Société française de biologie clinique - SFBC
- Société française de gynécologie - SFG
- Société française de médecine générale - SFMG
- Société française de microbiologie - SFM
- Société française de pédiatrie - SFP
  
- Agence de la santé publique du Canada
- *Agency for Healthcare Research and Quality* - AHRQ
- *AIDS Action Committee* - AAC
- *American Academy of Family Physicians* - AAFP
- *American Academy of Ophthalmology* - AAO
- *American Academy of Pediatrics* - AAP
- *American College of Physicians* - ACP
- *American Congress of Obstetricians and Gynecologists* - ACOG
- *American Pediatric Association* - APA
- *American Pediatric Society* - APS
- *American Society for Microbiology* - ASM
- *Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada* - AMMI
- *Australasian Society for Infectious Diseases* - ASID
- *BMJ Clinical Evidence*
- *British Infection Association* - BIA
- *British Association for Sexual Health and HIV* - BASHH

- *British Association of Perinatal Medicine - BAPM*
- *British Maternal and Fetal Medicine Society - BMFMS*
- *Centers for Disease Control and Prevention - CDC*
- *Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE*
- *Centre for Reviews and Dissemination databases*
- *Clinical Practice Guidelines Portal - CPGP*
- *CMA Infobase*
- *Cochrane Library*
- *Collège des médecins du Québec*
- *College of Physicians and Surgeons of Alberta - CPSA*
- *Department of Health*
- *Department of Health, Government of South Australia*
- *European Foundation for the Care of Newborn Infants - EFCNI*
- *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - ESCMID*
- *Guidelines and Protocols Advisory Committee - GPAC*
- *Guidelines International Network - GIN*
- *Infectious Diseases Society of America - IDSA*
- *Institut national d'excellence en santé et en services sociaux - INESSS*
- *Institute for Clinical Systems Improvement - ICSI*
- *Medical Services Advisory Committee - MSAC*
- *National electronic Library of Infection - NELI*
- *National Guideline Clearinghouse - NGC*
- *National Health Services*
- *National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE*
- *National Institute of Allergy and Infectious Diseases - NIAID*
- *National Institutes of Health - NIH*
- *National Perinatal Association - NPA*
- *New Zealand Guidelines Group - NZGG*
- *New Zealand Maternal Fetal Medicine Network - NZMFMN*
- *Paediatric Society of New Zealand*
- *Perinatal Society of Australia and New Zealand - PSANZ*
- *Perinatal Society of New Zealand - PSNZ*
- *Public Health England*
- *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists - RCOG*
- *Royal College of Paediatrics and Child Health - RCPCH*
- *Scottish Intercollegiate Guidelines Network - SIGN*
- *Singapore Ministry of Health*
- *Société canadienne de pédiatrie*
- *Société des obstétriciens et gynécologues du Canada - SOGC*
- *Toward Optimized Practice*
- *Tripdatabase*
- *Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines*
- *World Association of Perinatal Medicine - WAPM*
- *World Health Organization - WHO*

## Annexe 2. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues générales portant sur les tests diagnostiques de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent, incluant la femme enceinte

Dans le tableau ci-dessous, la spécificité « anti-Toxoplasma » des anticorps n'a pas été systématiquement rappelée, les tests sérologiques évoqués dans le cadre de cette évaluation portant tous sur la recherche de ces anticorps spécifiques.

Concernant les abréviations utilisées, se reporter à la partie Abréviations en début d'argumentaire.

Auteur	Intitulé	Date	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Centre national de référence de la toxoplasmose (7)	<i>Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection - Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis</i>	2016	<p>Préconisations pour l'interprétation du diagnostic sérologique toxoplasmique chez le sujet immunocompétent, basé sur une recherche initiale des IgM et IgG anti-Toxoplasma :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ IgG-/IgM- : exclut la possibilité d'une infection récente acquise sept jours ou plus avant le prélèvement. Chez la femme enceinte, ce résultat implique un suivi sérologique mensuel pendant toute la durée de la grossesse ;</li> <li>▪ IgG+/IgM- : suggère une infection ancienne, confirmée ou non par un second prélèvement trois semaines plus tard pour observer la cinétique des IgG. Si IgG stables : infection ancienne. Si augmentation des IgG : réalisation d'un test d'avidité pour datation. Si avidité élevée : réinfection ou réactivation. Si avidité faible/intermédiaire : infection aiguë possible ;</li> <li>▪ IgG-/IgM+ : évoque une infection récente, mais : <ul style="list-style-type: none"> <li>• la spécificité des IgM doit être confirmée par une autre méthode, fonctionnant sur un principe différent (ISAGA ou IFI si ELISA réalisée initialement),</li> <li>• une confirmation sur un second prélèvement à deux semaines de distance est requise. Si IgG+, infection aiguë confirmée. Si IgM stables et IgG-, un 3<sup>ème</sup> prélèvement à deux semaines de distance est préconisé.</li> </ul> </li> <li>▪ IgG+/IgM+ : suspicion d'infection récente, un test d'avidité est préconisé pour datation. Si avidité élevée : infection récente de moins de 16-20 semaines exclue. Si avidité faible ou équivoque : infection aiguë non exclue, nécessité d'un 2<sup>nd</sup> prélèvement à trois semaines pour évaluer la cinétique des IgG. Si taux d'IgG stable, l'infection date de plus de deux-trois mois avant le 1<sup>er</sup> prélèvement. Si elle augmente (facteur 2 au moins), l'infection date de moins de deux-trois mois ;</li> <li>▪ titres équivoques d'IgG sans IgM (en tests immunoenzymatiques) : statut immunitaire indéterminé. Les IgG doivent être contrôlées dans un laboratoire expert avec une technique de type <i>dye-test</i> ou immunoblot.</li> </ul>
Kaparos <i>et al.</i> (9)	<i>Fever and lymphadenopathy: acute toxoplasmosis in an immunocompetent patient</i>	2014	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La simple présence d'anticorps IgM n'est pas suffisante pour établir le diagnostic de toxoplasmose aiguë chez sujet immunocompétent.</li> <li>▪ La présence d'anticorps avec avidité élevée confirme une toxoplasmose acquise anciennement (plus de trois à cinq mois). Ce test prend donc toute son importance chez les femmes enceintes dans le 1<sup>er</sup> trimestre pour écarter une infection récente.</li> <li>▪ Avantages/inconvénients des différents types de techniques : <ul style="list-style-type: none"> <li>• essais immunoenzymatiques : méthode la plus souvent utilisée pour détecter les IgM et IgG, mais qui a cependant le désavantage d'être peu standardisée,</li> <li>• technique d'immunofluorescence indirecte : méthode parfois utilisée pour détecter les IgM et IgG, mais qui produit des faux positifs en présence d'anticorps antinucléaires ou de facteur rhumatoïde, et des faux négatifs en cas de titres bas des anticorps IgG,</li> <li>• ISAGA : méthode hautement spécifique pour détecter les IgM et IgG, mais qui nécessite une expertise avancée (non automatisée),</li> <li>• <i>Sabin-Feldman dye-test</i> : test de référence, sensible, spécifique et quantitatif mais effectué seulement dans des centres experts (nécessite des parasites vivants).</li> </ul> </li> </ul>

Auteur	Intitulé	Date	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Murat <i>et al.</i> (5)	<i>Human Toxoplasmosis : Which Biological Diagnostic Tests Are Best Suited to Which Clinical Situations?</i>	2013	<p><b>Indications du dépistage chez le sujet immunocompétent</b></p> <p>Hors contexte de la grossesse, le diagnostic de toxoplasmose aiguë peut être dans certains cas recherché chez le sujet immunocompétent :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ en présence de symptômes non spécifiques (diagnostic différentiel) : fièvre, lymphadénopathies, syndrome mononucléosique-<i>like</i> ;</li> <li>▪ si les symptômes sont marqués (asthénie profonde), susceptibles de requérir un traitement, en particulier lorsqu'une souche atypique est impliquée (risque de maladie sévère).</li> </ul> <p><b>Tests diagnostiques et interprétation</b></p> <p>Le dépistage repose sur la recherche initiale des IgM et IgG avec les tests usuels suivis, si nécessaire, par des tests de confirmation (<i>dye-test</i> ou immunoblot pour IgG, ISAGA pour IgM).</p> <p>Interprétation :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ IgM-/IgG- : exclut une infection toxoplasmose aiguë. Absence d'immunité, suivi sérologique mensuel pendant la grossesse jusqu'à un mois après l'accouchement ;</li> <li>▪ IgG+/IgM- : infection ancienne <i>a priori</i>. Un 2<sup>nd</sup> prélèvement deux-quatre semaines plus tard permet de confirmer l'ancienneté de l'infection ;</li> <li>▪ présence d'IgM : les IgM anti-Toxoplasma peuvent persister jusqu'à 18 mois ou plus après l'infection. Leur positivité ne doit donc pas être automatiquement interprétée comme une infection aiguë ou en cours, mais doit générer des examens complémentaires (mesure de l'avidité des IgG et/ou test sur un nouvel échantillon prélevé un-trois semaine(s) plus tard). Le test d'avidité n'est réellement utile que s'il est réalisé au 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse.</li> </ul> <p>L'intérêt de la recherche des IgA pour le diagnostic de l'infection chez la femme enceinte n'est pas consensuel. Les IgE sont très rarement recherchées.</p> <p>Interprétation des résultats sérologiques : difficultés.</p> <p>Un des problèmes majeurs dans l'interprétation des résultats biologiques est le manque de standardisation entre les tests. Les titres d'anticorps (et par conséquent les cinétiques) sont incontestablement variables entre les méthodes pour un même échantillon.</p> <p>Pour cette raison :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ interpréter les résultats requiert d'avoir l'expérience des méthodes utilisées, ainsi que le référencement systématique des seuils fournis, qui sont spécifiques de chaque méthode et de chaque kit ;</li> <li>▪ la comparaison des titres entre deux sérums est possible seulement lorsque la même méthode est utilisée. Les sérums à comparer doivent être testés dans la même série pour discriminer une variation de stabilité des titres d'anticorps.</li> </ul> <p>Aucune technique sérologique n'est idéale. Il devrait toujours être combiné deux méthodes différentes ou défini une stratégie séquentielle (par exemple une méthode très sensible en screening puis une méthode très spécifique en confirmation) adaptée à chaque situation clinique.</p>

Auteur	Intitulé	Date	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
<p>Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC) (8)</p>	<p><i>Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment</i></p>	<p>2013</p>	<p>Les préconisations de la SOGC concernent spécifiquement la femme enceinte.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Une suspicion d'infection récente chez une femme enceinte doit être confirmée avant toute intervention par soumission de prélèvements à un <b>laboratoire expert de la toxoplasmose</b>. Ces laboratoires disposent de techniques de confirmation et ont l'expertise de l'interprétation des résultats complexes.</li> <li>▪ La recherche des IgG et IgM anti-Toxoplasma constitue la première étape du diagnostic, l'objectif étant la différenciation des infections primaires et chroniques. Les situations complexes relèvent des laboratoires experts.</li> <li>▪ Interprétation : <ul style="list-style-type: none"> <li>• la présence d'IgM anti-Toxoplasma ne peut pas être considérée comme fiable pour le diagnostic de toxoplasmose aiguë car elles peuvent persister pendant des années à la suite d'une infection aiguë,</li> <li>• IgG-/IgM- : absence d'infection ou présence d'une infection aiguë extrêmement récente,</li> <li>• IgG+/IgM- : infection ancienne,</li> <li>• IgG+/IgM+ : infection récente ou faux-positifs. Si une infection aiguë est suspectée, il est recommandé de répéter l'examen à deux-trois semaines de distance. Le quadruplement des titres d'IgG anti-Toxoplasma indique la présence d'une infection récente.</li> </ul> </li> <li>▪ Les trousse commerciales de dépistage sérologique diagnostique peuvent être d'une fiabilité incertaine. Ainsi, il est très important de confirmer les résultats positifs d'IgM auprès d'un laboratoire expert de la toxoplasmose. Des épreuves biologiques particulières sont mises en œuvre au sein de ces laboratoires en vue de mesurer les taux d'anticorps de façon plus précise, comme le <i>dye-test</i> et l'IFI.</li> <li>▪ Datation de l'infection : le test d'avidité des IgG aide à déterminer le moment de l'infection.</li> </ul>
<p>Robert-Gagneux et al. (17)</p>	<p><i>Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis</i></p>	<p>2012</p>	<p><b>Indications des tests sérologiques chez le sujet immunocompétent</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Détermination rétrospective de statut immunitaire chez la femme enceinte et le patient présentant une uvéite ou rétinocoroïdite sans historique d'infection congénitale.</li> <li>▪ Diagnostic différentiel chez un patient présentant de la fièvre et/ou une lymphadénopathie par rapport à une infection à CMV, EBV, VIH... ou encore à une hémopathie maligne.</li> </ul> <p><b>Chez la femme enceinte</b> : si séronégative tout au long de la grossesse, un contrôle sérologique est préconisé deux à trois semaines après l'accouchement pour vérifier l'absence d'infection <i>peripartum</i>.</p> <p><b>Difficultés d'interprétation du diagnostic sérologique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Détection des faibles taux d'IgG anti-Toxoplasma : les IgG à faible taux apparaissent généralement en « zone grise » en ELISA. Leur spécificité doit être confirmée par un <i>dye-test</i> ou un immunoblot (IB). Il existe un test IB commercial en Europe très sensible et très spécifique.</li> <li>▪ Interprétation de la présence d'IgM anti-Toxoplasma : <ul style="list-style-type: none"> <li>• lorsque des IgM sont présentes avec une première technique, leur spécificité doit être confirmée par une seconde technique,</li> <li>• la plupart des techniques ELISA et ISAGA peuvent détecter les IgM pendant des mois voire des années après l'infection. La détection d'IgM n'est donc pas un marqueur d'infection récente.</li> </ul> </li> </ul>

Auteur	Intitulé	Date	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
			<p><b>Datation de l'infection</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Un moyen de confirmer ou exclure une infection récente est la <b>détermination de l'avidité des IgG</b>. Un indice d'avidité élevé peut exclure une infection récente avec une précision technique-dépendante. Globalement, avec la plupart des tests commerciaux, un indice d'avidité élevé s'interprète comme une infection acquise dans les quatre mois précédents, ce qui exclut une infection survenue en cours de grossesse si le test est réalisé pendant le 1<sup>er</sup> trimestre. <i>A contrario</i>, lorsque l'indice d'avidité est faible ou intermédiaire, il n'est pas possible d'exclure une infection récente ni de l'affirmer. À noter qu'un traitement anti-toxoplasmique retarde la maturation des IgG. L'interprétation du test d'avidité relève préférentiellement d'un laboratoire de référence.</li> <li>▪ Un autre moyen de dater l'infection est l'<b>analyse de la cinétique des IgG</b> entre deux prélèvements de sérum obtenus à trois semaines d'intervalle sans traitement anti-Toxoplasma. Un taux croissant est en faveur d'une infection datant de moins de deux mois avant le 1<sup>er</sup> prélèvement.</li> </ul>
Remington (19)	<i>Infectious diseases of the fetus and newborn infant - 7<sup>ème</sup> éd° - Toxoplasmosis (chap 31)</i>	2011	<p>Cette publication concerne spécifiquement la femme enceinte.</p> <p><b>Interprétation des résultats de la recherche initiale des IgG et IgM</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tout patient ayant des résultats d'<b>IgM</b> positifs doit être présumé comme ayant une infection récente. Ces résultats doivent être confirmés par un laboratoire expert de la toxoplasmose.</li> <li>▪ IgG-/IgM- : patient non infecté ou infection très récente (IgM encore non apparues) ; dans le cadre du dépistage systématique mensuel chez la femme enceinte séronégative, il est recommandé qu'un dernier test soit réalisé environ un mois après l'accouchement.</li> <li>▪ IgG+/IgM- : infection antérieure à la grossesse (sauf rares cas d'IgM négatives).</li> <li>▪ IgM+/IgG+ : un test d'avidité est requis et/ou une comparaison du taux d'IgG par rapport à un 2<sup>nd</sup> prélèvement trois semaines plus tard. Si pas d'augmentation des IgG, infection <i>a priori</i> avant la grossesse ; si augmentation, infection probablement &lt; 2 mois.</li> <li>▪ IgM+/IgG- : si les IgG persistent négativement, il doit être envisagé un résultats d'IgM faussement positif ; ces patients doivent avoir un contrôle de titrage des IgG par une méthode différente de l'ELISA.</li> </ul> <p><b>Autres éléments</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Pour qu'un diagnostic d'infection toxoplasmique aiguë puisse être posé par des tests sérologiques, il est nécessaire de démontrer une augmentation de titre d'anticorps sur des échantillons sériels (séroconversion ou augmentation significative du taux d'un isotype d'anticorps).</li> <li>▪ Un résultat d'<b>avidité des IgG</b> élevée signifie que l'infection a été acquise au moins 12-16 semaines plus tôt ; une faible avidité peut persister plus d'un an. Le test d'avidité est surtout utile chez la femme enceinte dans les 16 premières semaines de grossesse et possédant des IgM sériques.</li> <li>▪ La <b>recherche des IgA</b> n'apparaît pas utile dans la plupart des cas pour le diagnostic d'infection toxo aiguë chez la femme enceinte.</li> </ul>

### Annexe 3. Analyse de la littérature : principales caractéristiques des techniques sérologiques utilisées pour le diagnostic de la toxoplasmose

<i>Dye-test</i>	Immunofluorescence indirecte (IFI)	Techniques d'agglutination directe et indirecte	<i>Immunosorbent Agglutination Assay (ISAGA)</i>	Techniques d'immunoanalyse	<i>Immunoblot - Enzyme-Linked Immunofiltration Assay (ELIFA)</i>	Mesure de l'avidité des IgG
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Technique quantitative mesurant les immunoglobulines spécifiques totales (IgG1, IgG3 et IgM) (4, 5, 13).</li> <li>- Test de référence très sensible et spécifique pour la recherche des IgG [en l'absence d'IgM] (9, 11, 13).</li> <li>- Permet le diagnostic très précoce d'une infection aiguë (5).</li> <li>- Effectué seulement dans des centres experts car requiert des parasites vivants (4, 5, 9, 13) et complexe techniquement (5).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Méthode permettant de rechercher les IgG ou les IgM (9).</li> <li>- IgM : faux positifs possibles en présence d'anticorps nucléaires ou de facteur rhumatoïde (9, 13, 19).</li> <li>- IgM : faux négatifs possibles en cas d'obstruction par des IgG anti-Toxoplasma à titres élevés, qui peuvent être prélevés par le retrait préalable des IgG (kits disponibles) (9, 13, 19).</li> <li>- IgG : faux-négatifs possibles en cas de titres très bas d'IgG (9, 13).</li> <li>- Technique non automatisée (5).</li> <li>- Requiert un matériel spécifique (microscope à fluorescence), du personnel entraîné (à la lecture des lames) et du temps (5, 13).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ne requièrent pas d'équipement particulier, lecture à l'œil nu, rapides, peu coûteux en matériel (5, 13, 19).</li> <li>- Disponibilité de kits commerciaux (19) ; sensibilité et spécificité variables en fonction des kits (5).</li> <li>- Agglutination directe haute sensibilité : l'utilisation du 2-mercaptoéthanol permet une recherche très sensible (et spécifique) et la titration des IgG (5, 13, 19).</li> <li>- Test aux particules de latex : ce test peut être négatif pendant plusieurs semaines au cours d'une infection aiguë (antigènes surtout cytoplasmiques) (13) ; des faux-positifs sont rapportés (5).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Méthode combinant les avantages du test d'agglutination direct et de l'ELISA immunocapture en matière de sensibilité et spécificité pour la détection des IgM, IgA ou IgE (9, 13, 19).</li> <li>- IgM : test plus sensible que l'IFI et l'ELISA (19) ; un des tests le plus rapidement positif au moment de l'infection aiguë (5) ; utilisé communément chez les nouveau-nés chez lesquels des taux d'anticorps faibles sont attendus (13).</li> <li>- Test commercial disponible pour ISAGA-IgM (19).</li> <li>- Technique non automatisée (9, 13).</li> <li>- Lecture des résultats nécessitant une expertise avancée (9, 13).</li> <li>- Technique plutôt réalisée dans les centres de référence (13).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)</i> (conventionnelle ou immunocapture) : méthode la plus utilisée en routine pour la détection des IgG et des IgM (4, 5, 9) et utilisée également pour les IgA et IgE (19).</li> <li>- Chimiluminescence : autre type de méthode d'immunoanalyse également utilisée (13).</li> <li>- Nombreuses trousse commercialisées disponibles pour la recherche des IgG et IgM (13, 19).</li> <li>- Mauvaise standardisation des kits commerciaux : seuils et cinétiques variables entre les fabricants en relation avec la variabilité de qualité des antigènes, tests non comparables entre eux (5, 9, 13, 19) ; conséquence : l'interprétation des résultats requiert de bien connaître les performances individuelles du kit utilisé (17).</li> <li>- Fiabilité des kits variable, surtout pour les IgM (existence de faux-positifs) (19).</li> <li>- Techniques automatisées (optimisation de la reproductibilité et des délais de réalisation ; adapté au dépistage systématique de certaines catégories de patients) (5, 13).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Existence de kits commercialisés pour la recherche en immunoblot des IgG et IgM, très sensibles et spécifiques (bandes de nitrocellulose prêtes à l'emploi) (5, 13, 19).</li> <li>- Immunoblot de confirmation de présence des IgG (5, 13) : détecte de faibles taux d'IgG permettant le diagnostic précoce d'une séroconversion ; tend à remplacer le <i>dye-test</i> comme méthode de référence pour la détection des IgG compte tenu de performances similaires et d'une plus grande praticabilité (5).</li> <li>- Comparaison de profils immunologiques : l'immunoblot est la méthode la plus utilisée, l'ELIFA n'étant plus réalisée que dans quelques centres spécialisés (5).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Kits commerciaux disponibles (5, 13), très sensibles et spécifiques pour exclure une infection récente (13).</li> <li>- Seule utilisation validée : l'exclusion d'une infection récente (<i>i.e.</i> dans les trois-cinq mois précédents en fonction des kits) lorsque la valeur de l'avidité est supérieure à un seuil défini (4, 5, 9, 13).</li> <li>- Technique automatisable (5).</li> </ul>

## Annexe 4. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues portant sur le diagnostic prénatal (DPN) biologique de toxoplasmose congénitale

Concernant les abréviations utilisées, se reporter à la partie Abréviations en début d'argumentaire.

Auteur	Intitulé	Date	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Murat <i>et al.</i> (5)	<i>Human Toxoplasmosis : Which Biological Diagnostic Tests Are Best Suited to Which Clinical Situations?</i>	2013	Indications du DPN : acquisition d'une toxoplasmose maternelle pendant la grossesse clairement établie ou fortement suspectée. Le DPN repose sur une amniocentèse afin de rechercher le parasite sur le liquide amniotique (LA) par PCR et inoculation à la souris. Le prélèvement doit être réalisé au moins quatre semaines après l'infection maternelle afin de limiter les résultats faussement négatifs.
Sauer <i>et al.</i> (12)	Toxoplasmose oculaire : de la physiopathologie au diagnostic microbiologique	2013	La méthode de référence pour le DPN de la toxoplasmose est l'amplification génique par PCR sur le liquide amniotique notamment car elle présente la meilleure sensibilité. En cas de positivité de la PCR pratiquée sur le liquide amniotique, le diagnostic de toxoplasmose congénitale est confirmé. <i>A contrario</i> , la négativité des examens de DPN n'exclut pas le diagnostic de toxoplasmose congénitale, mais diminue fortement sa probabilité.
Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC) (8)	<i>Toxoplasmosis in Pregnancy : Prevention, Screening, and Treatment</i>	2013	Lorsqu'une infection primaire maternelle est diagnostiquée ou suspectée, une amniocentèse devrait être offerte à des patientes sélectionnées de façon appropriée, en consultation avec des spécialistes en médecine fœto-maternelle, en vue d'identifier la présence de <i>T. gondii</i> dans le liquide amniotique par PCR (sensibilité : de 81 % à 90 %, spécificité : de 96 % à 100 %). Cette amniocentèse ne devrait être proposée qu'après au moins 18 semaines de grossesse, et pas moins de quatre semaines depuis la manifestation de l'infection maternelle aiguë suspectée, afin de diminuer le risque de résultats faussement négatifs.
Moncada <i>et al.</i> (11)	<i>Toxoplasmosis in the fetus and newborn : an update on prevalence, diagnosis and treatment</i>	2012	Chez les femmes dont le diagnostic de toxoplasmose pendant la grossesse a été établi ou est fortement suspecté, le diagnostic d'infection fœtale est proposé par PCR sur liquide amniotique à partir de 18 semaines de grossesse. L'isolement du parasite peut être utile à visée épidémiologique mais ne l'est pas à visée diagnostique en raison notamment du coût et du délai d'obtention des résultats. La sensibilité de la PCR toxoplasmose sur LA semble varier en fonction du trimestre pendant lequel la mère a acquis l'infection. Pour le 1 <sup>er</sup> trimestre, elle a été rapportée entre 33 et 75 %, 2 <sup>nd</sup> trimestre : entre 80 et 97 %, 3 <sup>ème</sup> trimestre : entre 68 et 88 %. La spécificité est de l'ordre de 100 % sous réserve de l'absence de contamination de laboratoire. La VPN dans le LA est excellente au 1 <sup>er</sup> et 2 <sup>nd</sup> trimestre : 96-100 % et 93-100 %, et semblerait moins bonne au 3 <sup>ème</sup> trimestre : 48-98 %.

Auteur	Intitulé	Date	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Robert-Gangneux <i>et al.</i> (17)	<i>Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis</i>	2012	<p>Lorsque l'acquisition d'une toxoplasmose maternelle pendant la grossesse est clairement établie ou fortement suspectée, il est proposé une amniocentèse, réalisée après 16 semaines de grossesse et au moins quatre semaines après l'infection maternelle.</p> <p>Le diagnostic repose essentiellement sur la détection de l'ADN du parasite par PCR, mais dans les centres de référence, il peut également être pratiqué une inoculation du LA à la souris. Cette dernière technique est aujourd'hui principalement réservée à l'isolement des souches à des fins épidémiologiques (long temps de réponse, sensibilité inférieure à la PCR).</p> <p>La sensibilité du DPN par PCR en temps réel a été estimée de l'ordre de 90 % sur la base des données collectées annuellement par le CNR entre 2007 et 2012. Les résultats faussement négatifs sont probablement dus à de très faibles concentrations de parasites dans le LA ou à un transfert retardé du parasite à travers le placenta, plus qu'à des limitations techniques. Plusieurs études rapportent une VPN de la PCR proche de 100 % pour les infections maternelles acquises au 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> trimestre. La VPP est de l'ordre de 100 %.</p>
Centre national de référence sur la toxoplasmose (14)	Recommandations destinées aux professionnels de santé concernant le diagnostic par biologie moléculaire de la toxoplasmose congénitale	2011	<p>Un intervalle minimum de quatre semaines doit être respecté après la date estimée de l'infection toxoplasmique (délai minimum théorique de transmission du parasite de la mère au fœtus). Ce délai permettrait d'éviter des faux négatifs dus à une amniocentèse trop précoce. Le prélèvement de LA est en général réalisé à partir de la 18<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée (SA).</p> <p>Le DPN est aujourd'hui essentiellement basé sur la recherche de l'ADN du toxoplasme par PCR dans le LA. Un examen complémentaire consistant en une inoculation du LA à la souris peut être également réalisé. L'intérêt de cet examen réside dans sa spécificité « absolue ». Toutefois, sa plus faible sensibilité diagnostique et le retard du résultat (quatre à six semaines après inoculation) en diminuent l'intérêt. L'inoculation à la souris reste le seul moyen d'isoler des souches de toxoplasmes, pour des études épidémiologiques (génotypage en lien avec la pathogénicité).</p> <p>Interprétation des résultats du DPN :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ DPN positif : infection fœtale donc toxoplasmose congénitale ;</li> <li>▪ DPN négatif : forte probabilité d'absence d'infection fœtale au moment du prélèvement. Toutefois, un DPN négatif n'exclut pas la possibilité d'une toxoplasmose congénitale. La surveillance échographique est donc essentielle dans ce cas, tout comme le diagnostic néo- et postnatal chez l'enfant. Les faux négatifs du DPN pourraient s'expliquer par une transmission du parasite de la mère au fœtus postérieure à la date de l'amniocentèse en raison du délai de transfert placentaire.</li> </ul> <p>Mentions à associer aux résultats :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ la mention dans le compte-rendu du résultat du DPN indiquant que « le résultat négatif du DPN n'exclut pas une transmission au fœtus et donc une possible toxoplasmose congénitale » est recommandée ;</li> <li>▪ quel que soit le résultat du DPN, il doit être précisé que l'enfant devra faire l'objet d'un bilan biologique et clinique néonatal spécifique, et d'un suivi clinique et biologique jusqu'à l'obtention formelle de la preuve qu'il a ou n'a pas été infecté.</li> </ul>

Auteur	Intitulé	Date	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Remington <i>et al.</i> (19)	<i>Infectious diseases of the fetus and newborn infant - 7<sup>ème</sup> éd° - Toxoplasmosis (chap 31)</i>	2011	<p>La PCR toxoplasmose dans le LA est aujourd'hui la méthode de choix pour le DPN d'infection toxoplasmique. Compte tenu du fait que la PCR toxoplasmose dans le LA est conduite à 18 semaines de grossesse par la plupart des investigateurs, la fiabilité de ce test avant 18 semaines de grossesse n'est pas connue.</p> <p>La sensibilité de la PCR toxoplasmose sur LA semble varier en fonction du trimestre pendant lequel la mère a acquis l'infection. Pour le 1<sup>er</sup> trimestre : 75 % (IC95 %, 19-99 %) ; 2<sup>nd</sup> trimestre : 97 % (83-100) ; 3<sup>ème</sup> trimestre : 88 % (67-99). La spécificité est estimée de l'ordre de 100 %. La VPN dans le LA est excellente au 1<sup>er</sup> et 2<sup>nd</sup> trimestre : 99 % (96-100) et 99 % (93-100), et serait moins bonne au 3<sup>ème</sup> trimestre : 82 % (48-98).</p> <p>La fiabilité du DPN est limitée par le délai qui peut exister entre l'infection maternelle et la transmission du parasite au fœtus. Un résultat négatif dans le LA ne peut donc pas exclure une infection fœtale. Un suivi échographique mensuel et une évaluation néonatale restent indispensables pour les DPN négatifs.</p> <p>Une étude mentionnée, qui portait sur 339 femmes ayant contracté une infection toxoplasmique pendant la grossesse, a conclu que la PCR (classique) sur LA était plus fiable (sensibilité estimée à 97 % <i>versus</i> 64 % pour l'inoculation à la souris et la culture cellulaire) tout en étant plus rapide et plus simple à réaliser que les techniques « conventionnelles », qu'elle pouvait être utilisée de la 18<sup>ème</sup> semaine de grossesse jusqu'à terme et que le DPN ne devrait pas être conduit avant au moins quatre semaines après l'infection aiguë maternelle<sup>18</sup> (29).</p> <p>Une autre étude mentionnée a estimé les performances diagnostiques de la PCR en temps réel pour le DPN au cours de la grossesse sur 261 femmes. Sensibilité globale : 92 % (IC 95 % : 87-98 %) ; VPN globale : 98 % (IC 95 % : 95-99 %) ; spécificité et VPP : 100 %. Pas d'association significative observée entre le trimestre d'acquisition de l'infection maternelle et les performances diagnostiques (31).</p>

<sup>18</sup> Aucune femme de l'étude n'ayant eu une amniocentèse antérieure à 18 semaines de grossesse, l'étude a conclu qu'il n'était pas possible de porter de conclusions avant ce délai. Quant au délai de quatre semaines, il repose sur la base d'un cas de toxoplasmose congénitale de cette étude pour lequel les résultats étaient négatifs quatre semaines après la contamination, quelle que soit la technique, puis positifs à 37 semaines par PCR (classique) et une technique conventionnelle.

## Annexe 5. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues générales portant sur le diagnostic biologique postnatal de la toxoplasmose congénitale (TC)

Dans le tableau ci-dessous, la spécificité « anti-Toxoplasma » des anticorps n'a pas été systématiquement rappelée, les tests sérologiques évoqués dans le cadre de cette évaluation portant tous sur la recherche de ces anticorps spécifiques.

Concernant les abréviations utilisées, se reporter à la partie Abréviations en début d'argumentaire.

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Centre national de référence sur la toxoplasmose (7)	<i>Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection - Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis</i>	2016	<p>S'il n'a pas été réalisé de DPN ou que le DPN est négatif, un diagnostic sérologique et parasitologique doit être réalisé à la naissance, puis un suivi sérologique initié. Ce diagnostic repose sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ la détection du parasite par PCR dans le LA, le placenta et/ou le sérum de sang de cordon. Une PCR positive seule dans le placenta peut résulter d'ADN résiduel de parasites morts ou d'une persistance placentaire sans transmission fœtale du parasite ;</li> <li>▪ (accompagnée de la) détection des IgM, IgA, et/ou IgG dans le sérum de sang de cordon et le sérum du nouveau-né (NN). À noter qu'une certaine quantité d'IgG (transmission par la mère), et parfois d'IgM et IgA (« fuite placentaire » d'anticorps maternels), peuvent être d'origine maternelle dans les premières semaines de vie.</li> </ul> <p>Les anticorps spécifiques néosynthétisés par l'enfant peuvent être recherchés par comparaison en immunoblot des profils sériques appariés IgG et IgM de la mère et du NN (à la naissance et pendant le suivi néonatal).</p> <p>La sensibilité de l'immunoblot (IB) à la naissance est estimée à 48-50 % pour l'IB IgG ; 65-79 % pour la combinaison de détection des IgG et IgM par IB ; 96 % en combinant l'IB IgM avec le diagnostic prénatal et les tests sérologiques néonataux pendant le 1<sup>er</sup> mois de vie.</p> <p>Les IgG sont suivies par titrage. Toute modification de la courbe classique (décroissance des IgG maternelles), qu'il y ait stabilisation ou augmentation, est indicatrice d'une toxoplasmose congénitale (TC). La disparition des IgG doit être observée pour conclure à l'absence de TC.</p>
American Academy of Pediatrics (AAP) (18)	<i>Red Book. Report of the committee on infectious diseases</i>	2015	<p><b>Indications</b> : femme suspectée d'avoir ou ayant eu un diagnostic d'infection toxoplasmique pendant la grossesse ou en périconceptionnel.</p> <p><b>Diagnostic sérologique</b></p> <p>La recherche des IgG, IgM (par ISAGA préférentiellement) et IgA dans le sérum doit être réalisée chez tous les NN suspects de TC dans un laboratoire expert de la toxoplasmose. Les NN infectés peuvent avoir n'importe quelle combinaison d'IgM et/ou IgA positives ou négatives.</p> <p>Une répétition du test après environ dix jours de vie permet de confirmer un résultat positif obtenu à la naissance, le placenta pouvant occasionnellement laisser passer des IgM ou IgA maternelles (faux positifs).</p> <p>Chez les NN de mères non traitées pendant la grossesse, la sensibilité de la recherche des IgM par ISAGA est estimée à 87 %, celle des IgA à 77 % et la combinaison à 93 %.</p> <p>Il n'est pas recommandé d'utiliser la technique d'immunofluorescence indirecte, ni les tests immunoenzymatiques pour la recherche des IgM dans le cadre du diagnostic de TC (manque de fiabilité).</p>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
			<p><b>Diagnostic parasitologique</b></p> <p>Les prélèvements pouvant faire l'objet d'une recherche directe du parasite à la naissance sont le placenta, le sang de cordon, le sang périphérique, le liquide cébrospinal (LCS) et/ou les urines (LCS et urines réservés aux enfants présentant des signes cliniques). Le toxoplasme peut être recherché par PCR dans ces prélèvements par un laboratoire de référence. À noter que pour le placenta, un résultat positif n'indique pas nécessairement que le NN est infecté.</p> <p>L'isolement du parasite par inoculation à la souris a un intérêt ponctuel pour le génotypage de souches, mais non à visée diagnostique.</p> <p><b>Conditions permettant de poser le diagnostic de TC</b></p> <p>Une TC est confirmée sérologiquement par la persistance de titres positifs d'IgG après 12 mois de vie.</p> <p>Une TC peut également être confirmée chez l'enfant avant 12 mois par : 1) un taux d'IgG qui persiste positivement ou augmente comparativement à celui de la mère, 2) la détection d'IgM (après cinq jours de vie) ou IgA spécifiques (après dix jours de vie) chez l'enfant, et 3) une PCR positive dans un prélèvement néonatal (confirmation requise si placenta).</p>
Sauer <i>et al.</i> (12)	Toxoplasmose oculaire : de la physiopathologie au diagnostic microbiologique	2013	<p><b>Diagnostic sérologique</b></p> <p>Au cours de la première année de vie, le diagnostic de toxoplasmose congénitale peut reposer sur la détection d'IgM ou d'IgA sériques anti-Toxoplasma chez l'enfant, sur la démonstration d'une néosynthèse d'IgG par l'enfant, ou sur une augmentation ou une absence de négativation des IgG anti-Toxoplasma. Un enfant est déclaré non infecté lorsque les sérologies répétées à trois mois d'intervalle sont négatives sur un suivi d'un an et en l'absence de traitement.</p> <p>Les anticorps IgG doivent être recherchés par des techniques permettant de distinguer les IgG néosynthétisées de celles de la mère : comparaison des sérums de la mère et de l'enfant en ELIFA ou immunoblot.</p> <p><b>Diagnostic parasitologique (à associer au diagnostic sérologique)</b></p> <p>La recherche du parasite à la naissance peut s'effectuer sur le placenta, le sang du cordon et dans le liquide amniotique.</p>
Moncada <i>et al.</i> (11)	<i>Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment</i>	2012	<p>Le diagnostic définitif de TC chez le NN peut être apporté par les tests sérologiques et/ou la PCR sur prélèvements néonataux.</p> <p><b>Diagnostic sérologique</b></p> <p>Une recherche d'IgG anti-Toxoplasma positive chez un jeune enfant de 12 mois apporte un diagnostic définitif d'infection congénitale. Les enfants nés de mère chroniquement infectées naissent avec des IgG anti-Toxoplasma maternelles. Les titres diminuent jusqu'à disparaître avant l'âge d'un an en l'absence de TC (noter que sous traitement les IgG peuvent disparaître).</p> <p>Le diagnostic de TC peut aussi être fait par la présence chez le NN d'IgM ou IgA, cinq ou dix jours après la naissance respectivement (afin d'exclure les contaminations maternelles). Il a été montré que la méthode ISAGA pour les IgM et ELISA pour les IgA avaient les meilleures performances pour le diagnostic de TC chez le jeune enfant. L'ELISA IgM en particulier est moins sensible que l'ISAGA-IgM.</p> <p><b>Diagnostic parasitologique</b></p> <p>L'analyse du LCS peut être utile chez les nourrissons suspectés d'être infectés par le toxoplasme et ayant des signes cliniques et des images radiologiques évoquant une atteinte neurologique. Une PCR positive dans le LCS (prélevé uniquement si indiqué), le sang périphérique et/ou les urines du NN est considérée comme diagnostique d'une TC.</p>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Robert-Gangneux <i>et al.</i> (17)	<i>Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis</i>	2012	<p>Le suivi des NN est essentiel s'il n'a pas été réalisé de diagnostic prénatal ou que ce dernier était négatif. Les signes biologiques de TC doivent être recherchés à la naissance par deux stratégies complémentaires :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ détection du parasite dans le placenta ou le sérum de sang de cordon ;</li> <li>▪ (et) recherche d'anticorps spécifiques anti-Toxoplasma dans le sérum du NN : tests sérologiques sur sérum de sang de cordon, puis à un mois de vie, puis tous les deux-trois mois pour contrôler la décroissance des niveaux d'anticorps maternels qui disparaissent normalement en cinq à huit mois.</li> </ul> <p><b>Diagnostic sérologique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La détection d'IgM et IgA dans le sang du NN est un marqueur clé de l'infection foetale. Elle requiert néanmoins une confirmation à une semaine de vie lorsque ces anticorps sont détectés dans le sang de cordon (contamination possible par le sang maternel à l'accouchement). La sensibilité de détection pour les IgM (technique préférentielle : ISAGA IgM) et IgA ne dépasse pas 70 % et 65 % respectivement, et semble influencée par le traitement maternel. Néanmoins, le principal facteur déterminant la présence des IgM et IgA à la naissance semble le moment de survenue de l'infection maternelle (IgM et IgA plus susceptibles d'être détectées chez NN de mères ayant séroconverti au 3<sup>ème</sup> trimestre).</li> <li>▪ Une analyse comparative entre les IgG spécifiques de la mère et du NN peut permettre de mettre en évidence une TC, en particulier lorsqu'il n'y a pas d'IgA ni IgM détectées. Immunoblot (IB) et ELIFA (<i>Enzyme-Linked Immunofiltration Assay</i>) permettent une analyse qualitative des IgG ou IgM spécifiques par comparaison entre les profils de bandes ou de précipités respectivement, entre les sérums de la mère et du NN, avec une sensibilité similaire. Ce test comparatif permet également de confirmer une contamination maternelle en présence d'IgM dans le sang de cordon en montrant des profils IgM identiques. Compte tenu du coût élevé de ce test (disponible en test commercial), il est préconisé de le réserver aux cas de détection d'IgM dans le sang de cordon ou lorsque les IgM en ISAGA sont négatives.</li> <li>▪ Estimation de la sensibilité de l'IB sur la base des résultats de plusieurs études de performances diagnostiques : environ 50 % pour la détection des IgG à la naissance et 80 % pour celle des IgG pendant les trois premiers mois de vie ; entre 65 et 80 % pour la combinaison de détection des IgG et IgM par IB à la naissance et entre 83 et 94 % pendant les trois premiers mois de vie. La combinaison de l'ISAGA-IgM aux IB améliore encore la sensibilité.</li> </ul> <p><b>Diagnostic parasitologique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ L'examen du placenta est un des examens usuels utilisés pour le diagnostic de TC à la naissance. Il a l'avantage de pouvoir apporter un diagnostic précoce. Techniques : inoculation à la souris et PCR. Sensibilité estimée entre 40 et 70 %, et spécificité entre 90 et 100 % en fonction des techniques utilisées (diminution de sensibilité avec traitement maternel). En PCR, il a été retrouvé des cas où l'ADN du toxoplasme était détecté alors que la TC a été ensuite exclue.</li> <li>▪ PCR sur sang de cordon.</li> </ul>
Saadatinia <i>et al.</i> (13)	<i>A review on human toxoplasmosis</i>	2012	<p>La détection des IgM ou IgA dans le sérum du NN permet d'établir le diagnostic de TC car ces isotopes d'anticorps ne sont pas transmis de la mère à l'enfant pendant la grossesse. Néanmoins, une transmission pouvant occasionnellement se produire au moment de l'accouchement, des résultats positifs doivent être confirmés en répétant le test à deux-quatre jours (IgM) ou dix jours de vie (IgA).</p> <p>Les IgM ou IgA anti-Toxoplasma, ou les deux, peuvent ne pas être détectés initialement chez certains NN infectés. Dans ces cas, la comparaison en IB des profils sérologiques IgG de la mère et du NN est un outil précieux.</p>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Centre national de référence sur la toxoplasmose (14)	Recommandations destinées aux professionnels de santé concernant le diagnostic par biologie moléculaire de la toxoplasmose congénitale	2011	<p><b>Indications</b> : tout nouveau-né dont la mère a été infectée pendant la grossesse ou en période périconceptionnelle par <i>T. gondii</i> doit bénéficier d'un diagnostic néo- et postnatal. L'intérêt réside dans la détection des faux négatifs du DPN ainsi que des cas de transmission tardive du parasite au fœtus (contamination de fin de grossesse).</p> <p><b>Diagnostic sérologique</b></p> <p>Le diagnostic postnatal repose principalement sur la détection d'anticorps spécifiques synthétisés par l'enfant. La surveillance sérologique est indispensable en cas de DPN négatif jusqu'à la disparition totale des anticorps anti-Toxoplasma chez l'enfant (généralement entre 9 et 12 mois). La persistance d'anticorps anti-Toxoplasma à l'âge de 12 mois fait poser le diagnostic de TC, ainsi que toute augmentation avant cet âge.</p> <p>Le diagnostic sérologique de TC peut être posé par quatre modalités : présence d'IgM et/ou IgA sur sang de cordon ou sur sang périphérique du NN, néosynthèse d'IgG et/ou IgM montrée en IB ou ELIFA (profils mère/enfant), augmentation des IgG de l'enfant sur des prélèvements successifs, ou persistance des IgG de l'enfant à un an.</p> <p><b>Diagnostic parasitologique</b></p> <p>Les modalités du diagnostic de TC par biologie moléculaire ne font pas (en 2011, date de la publication) l'objet d'un consensus national. En général, différents prélèvements sont réalisés et analysés par PCR (et éventuellement par inoculation à la souris) : placenta et sang du cordon ou du nouveau-né, parfois accompagné par un échantillon de liquide amniotique recueilli à l'accouchement. La découverte du parasite dans le liquide amniotique prélevé à l'accouchement et/ou le sang du cordon ou le sang du nouveau-né prouve la TC. Sa découverte (uniquement) dans le placenta ne permet pas de conclure définitivement à une TC, en raison de cas documentés de « placentite isolée » (sans transmission du parasite au fœtus), mais il s'agit d'un argument à prendre en compte.</p> <p>La recherche du parasite dans le sang de l'enfant, quelques jours après la naissance, peut être utile dans certains cas très particuliers : contamination maternelle tardive (voire séroconversion maternelle constatée en <i>post-partum</i>), absence de bilan néonatal, signes d'infection chez l'enfant né après une grossesse non ou mal suivie. La recherche du parasite dans le LCS a aujourd'hui été abandonnée.</p>
Remington et al. (19)	<i>Infectious diseases of the fetus and newborn infant - 7<sup>ème</sup> éd° - Toxoplasmosis (chap 31)</i>	2011	<p><b>Diagnostic sérologique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La présence d'IgM et/ou IgA dans le sang de cordon ou chez le NN à la naissance est généralement diagnostique d'une TC mais il peut s'agir d'une contamination maternelle survenue au moment de l'accouchement. Si des IgM sont détectées, le sérum de l'enfant devra être contrôlé trois ou quatre jours plus tard. Si le titre d'IgM reste élevé ou augmente, l'enfant est infecté. Sinon le titre d'IgM aura diminué. La recherche d'IgM dans le sang de cordon et chez le NN est peu sensible (20 % de faux négatifs chez le NN avec ELISA double-sandwich, 75 % par technique IFI). L'utilisation de l'ISAGA est recommandée préférentiellement. La spécificité de recherche des IgA détectées à la naissance doit aussi être confirmée après environ dix jours de vie. Les IgE sont évoquées, dites peu recherchées en pratique.</li> <li>▪ Le NN infecté produit des IgM et IgG contre des déterminants antigéniques qui peuvent différer de ceux reconnus par les anticorps de la mère. L'IB permet de reconnaître ces différences et il existe des kits commerciaux. À noter que parfois, les IgM ne se positivent en IB qu'après plusieurs semaines, voire deux mois ou plus. En outre, un traitement prénatal ou de l'enfant peut occasionner des faux-négatifs. En effet, le traitement par pyriméthamine/sulfadiazine de la mère pendant la grossesse et/ou du NN peut retarder l'apparition des anticorps néosynthétisés par l'enfant. Les IB IgA sont moins sensibles.</li> </ul>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
			<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Aucun test sérologique actuellement disponible ne permet dans tous les cas le diagnostic de toxoplasmose congénitale ; l'IB doit être utilisé en combinaison avec les autres tests sérologiques (IgG, IgM, IgA) et est surtout utile chez les NN chez qui les IgA et/ou IgM sont indétectables et fortement suspects de TC.</li> </ul> <p><b>Diagnostic parasitologique</b></p> <p>Si une TC est suspectée chez le NN, il est recommandé de prélever un échantillon de placenta pour une recherche directe du toxoplasme (inoculation à la souris et PCR).</p>

## Annexe 6. Analyse des recommandations de bonne pratique et revues générales portant sur les tests diagnostiques de la toxoplasmose oculaire (TO)

Dans le tableau ci-dessous, la spécificité « anti-Toxoplasma » des anticorps n'a pas été systématiquement rappelée, les tests sérologiques évoqués dans le cadre de cette évaluation portant tous sur la recherche de ces anticorps spécifiques.

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Centre national de référence de la toxoplasmose (7)	<i>Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection - Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis</i>	2016	<p><b>Principes généraux et stratégie diagnostique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Le diagnostic biologique de TO repose sur la détection de l'ADN du toxoplasme par PCR et/ou sur la détection d'une synthèse locale d'IgG et/ou IgA anti-Toxoplasma dans les liquides oculaires (échantillon d'humeur aqueuse ou moins fréquemment de vitré prélevé par paracentèse). Si à la fois la recherche d'anticorps locaux et la PCR sont négatives, d'autres maladies infectieuses ou non doivent être recherchées.</li> <li>▪ Chez l'immunocompétent, si la recherche d'IgG anti-Toxoplasma dans le sérum est négative, les investigations doivent être stoppées. Si des anticorps sériques sont détectés, une PCR et une recherche des IgG locales sont faites sur liquide oculaire. Une PCR positive confirme l'origine toxoplasmique. Si la PCR est négative et qu'il s'agit d'une infection aiguë, il existe un risque de rupture de la barrière hémato-rétinienne et de faux positifs pour la présence d'anticorps au niveau oculaire à prendre en compte pour l'interprétation des résultats.</li> </ul> <p><b>Recherche d'une synthèse locale intraoculaire d'IgG spécifiques anti-Toxoplasma</b>, possible par trois méthodes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ calcul du coefficient de Goldmann-Witmer (CGW). Sensibilité du test de l'ordre de 50 % (37) ;</li> <li>▪ méthode similaire comparant les niveaux d'anticorps anti-Toxoplasma au niveau oculaire à ceux spécifiques contre le virus des oreillons ;</li> <li>▪ analyse en IB du couple sérum-humeur aqueuse (comparaison des profils immunologiques). Toute différence observée, au niveau d'une ou plusieurs bande(s), signe la présence d'anticorps toxo-spécifiques oculaires, révélant une TO. Cette technique peut être utilisée lorsque la barrière hémato-rétinienne est rompue et que le CGW est biaisé.</li> </ul> <p><b>Combinaison des techniques</b> : la combinaison du CGW, de la PCR et de l'IB augmente la sensibilité jusqu'à 83 % (27).</p>
Maenz <i>et al.</i> (4)	<i>Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease</i>	2014	<p><b>Indications</b> : lorsque la clinique est typique, les tests sur liquide intraoculaire ne sont pas nécessairement requis. En présence de manifestations cliniques atypiques et/ou d'un diagnostic différentiel incertain avec d'autres causes de rétinopathie, les tests de laboratoire sur échantillons intraoculaires sont très utiles au diagnostic définitif de TO.</p> <p><b>Principes généraux et tests diagnostiques utilisés</b></p> <p>Dans presque tous les cas cliniques typiques de TO, la sérologie anti-Toxoplasmique indique une infection ancienne. Néanmoins, quelques très rares cas de sérologies faussement négatives ont été rapportés chez des sujets affectés par une TO. Le diagnostic biologique de TO repose sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ la détection de la production intraoculaire d'anticorps spécifiques anti-Toxoplasma par : <ul style="list-style-type: none"> <li>• détermination du coefficient de Goldmann-Witmer : synthèse locale intraoculaire d'anticorps probable lorsque coefficient élevé. Une fuite d'anticorps liée à une rupture de la barrière hémato-rétinienne peut entraîner un faible coefficient,</li> <li>• comparaison des profils immunologiques en IB du couple sérum-humeur aqueuse ;</li> </ul> </li> </ul>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
			<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ la détection d'ADN du parasite dans l'humeur aqueuse ou le vitré par PCR en temps réel. À ce jour (en 2014, date de publication), ni les protocoles de PCR ni les fragments d'ADN à amplifier ne sont standardisés.</li> </ul> <p><b>Combinaison des techniques sérologiques et moléculaires</b></p> <p>Dans une étude mentionnée portant chez 54 patients ayant une uvéite atypique (Talabani <i>et al.</i>, 2009), les sensibilités suivantes ont été mesurées : 85 % pour la combinaison des trois techniques, 80 % pour PCR + CGW et 70 % pour immunoblot + CGW (37).</p> <p><b>Influence du moment de prélèvement</b> : alors que la PCR est positive pendant les premiers jours d'apparition des lésions oculaires, l'intervalle signes cliniques/prélèvement oculaire influence fortement la détection d'anticorps intraoculaires. Les différences individuelles d'intervalles de temps entre les symptômes cliniques et l'activation de la synthèse locale d'anticorps peuvent rendre difficile l'identification de la production locale d'anticorps et générer des faux négatifs. Combiner les techniques améliore le rendement de détection.</p>
Butler <i>et al.</i> (15)	<i>Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management</i>	2013	<p><b>Indications</b> : le diagnostic de la majorité des cas de TO est fait sur des signes cliniques typiques. Cependant, dans les cas atypiques ou les expressions fulminantes de maladie, ou bien lorsque la réponse au traitement est retardée, l'analyse d'échantillons de fluides intraoculaires peut être très utile pour le diagnostic.</p> <p><b>Principes généraux et tests diagnostiques utilisés</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La sérologie toxoplasmique joue un faible rôle diagnostique pour la TO. Son utilité première est d'exclure la possibilité d'une TO. L'analyse des liquides oculaires consiste alors à détecter l'ADN du parasite par PCR et/ou à identifier la production locale d'anticorps spécifiques.</li> <li>▪ Tests immunologiques : <ul style="list-style-type: none"> <li>• le coefficient de Goldmann-Witmer, calculé pour les IgG spécifiques. Un ratio supérieur à 1 est parfois trouvé chez des contrôles sains. Ainsi, un ratio d'au moins 3 est souvent préféré pour affirmer le diagnostic,</li> <li>• profils comparés sérum/HA en immunoblot (profils comparés sérum/HA).</li> </ul> </li> <li>▪ PCR : des taux de détection jusqu'à 67 % ont été rapportés. La technique est simple et les résultats disponibles dans la journée. Il semble que les taux de détection de la PCR Toxoplasmose dans l'HA soient plus élevés chez les sujets immunodéprimés et lorsque les lésions sont sévères.</li> </ul> <p><b>Influence du moment de prélèvement</b> : une étude (De Groot-Mijnes <i>et al.</i>, 2006) est mentionnée portant chez 25 patients souffrant d'une TO. Le CGW était positif pendant les trois premiers mois suivant la survenue de l'infection mais la PCR était le 1<sup>er</sup> test positif à trois semaines (38).</p> <p><b>Complémentarité des techniques</b> : deux études indépendantes (Talabani <i>et al.</i>, 2009 ; Villard <i>et al.</i>, 2003) ont rapporté des sensibilités de 83 et 85 % pour la combinaison de la PCR, du CGW et de l'IB pour l'analyse des prélèvements oculaires (27, 37).</p>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
Murat <i>et al.</i> (5)	<i>Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations?</i>	2013	<p><b>Indications</b> : généralement, le diagnostic de TO peut reposer seulement sur des signes cliniques distinctifs. Cependant, s'il n'y a pas de signes spécifiques détectés ou s'il y a résistance au traitement, un diagnostic biologique doit être entrepris.</p> <p><b>Principes généraux</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Bien que la présence d'anticorps anti-Toxoplasma ne soit pas prédictive d'une TO active, leur absence soutient fortement l'exclusion de ce diagnostic.</li> <li>▪ Le diagnostic biologique définitif de TO requiert de prélever l'humeur aqueuse afin de soit montrer la synthèse locale intraoculaire d'anticorps, soit détecter le parasite par PCR au niveau oculaire.</li> </ul> <p><b>Investigations immunologiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calcul du coefficient de Goldmann-Witmer : un résultat positif correspond à un indice de valeur supérieure à un seuil (2 généralement). La VPN de ce calcul est diminuée lorsque la barrière hémato-rétinienne est altérée.</li> <li>▪ Immunoblots comparatifs : alternative au CGW, communément utilisée pour la détection des IgG et parfois des IgA, mais pas pour les IgM (36). Cette méthode est moins sensible à l'intégrité de la barrière hémato-rétinienne et requiert un volume plus faible de liquide oculaire que le CGW.</li> <li>▪ La sensibilité des approches sérologiques est conditionnée par le temps entre la survenue des symptômes et le prélèvement.</li> </ul> <p><b>PCR</b> : la PCR est surtout sensible chez les sujets immunodéprimés ou lorsqu'elle est pratiquée sur le vitré, mais la ponction de vitré est plus dangereuse et donc réalisée seulement dans les cas très sévères. Il est difficile d'évaluer la sensibilité de la PCR dans les liquides oculaires du fait de la multiplicité des techniques utilisées (au moins trois gènes cibles différents utilisés, différents types de détection fluorescente, différentes techniques d'extraction). Beaucoup d'équipes ont développé leur propre méthode.</p>
Sauer <i>et al.</i> (12)	Toxoplasmose oculaire : de la physiopathologie au diagnostic microbiologique	2013	<p><b>Indications</b> : le diagnostic de la TO est avant tout clinique lorsque le tableau est typique. Il existe cependant de nombreux cas où ni la clinique, ni l'examen du fond d'œil ne permettent de poser un diagnostic formel. L'apport de la biologie est alors essentiel.</p> <p><b>Mise en évidence du parasite par PCR</b> : la mise en évidence de <i>T. gondii</i> dans les liquides oculaires par PCR confirme le diagnostic de TO. La sensibilité de la PCR est faible (34 %), sa spécificité est excellente (100 %). Un résultat négatif ne permet pas d'exclure une TO et d'autres techniques biologiques doivent être entreprises. Par ailleurs, la PCR (comparée à la mise en évidence d'anticorps) est plus particulièrement rentable chez le patient immunodéprimé dont la synthèse d'anticorps est perturbée.</p> <p><b>Mise en évidence des anticorps anti-Toxoplasma</b></p> <p>La sérologie toxoplasmique permet seulement en cas de négativité de constituer un argument d'exclusion, sauf chez le patient immunodéprimé. En présence d'anticorps sériques positifs, la comparaison des profils ou charges immunitaires du couple sérum/HA est indispensable pour poser le diagnostic de TO. Trois techniques sont actuellement employées.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calcul du coefficient de Goldmann-Witmer</li> </ul> <p>Ce coefficient détermine le rapport entre la charge immunitaire de l'HA et celle du sérum. Il s'interprète selon les conditions suivantes :</p>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
			<ul style="list-style-type: none"> <li>• CGW &gt; 3 : coefficient témoignant d'une production locale d'anticorps anti-toxoplasme,</li> <li>• 2 &lt; CGW &lt; 3 : coefficient douteux qui témoigne d'une production locale probable d'anticorps,</li> <li>• CGW &lt; 2 : absence d'une production locale d'anticorps.</li> </ul> <p>La valeur de ce coefficient peut être altérée par de nombreux facteurs dont l'importance de l'inflammation oculaire associée à des modifications de perméabilité de la barrière hémato-rétinienne. De plus, cette technique est fortement consommatrice d'HA, ce qui explique l'emploi d'une variante de cette technique, l'ELISA-IgG, nécessitant un plus faible volume d'HA.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ELISA-IgG</li> </ul> <p>Variante technique de la précédente où les titres des IgG anti-Toxoplasma (mesurés par ELISA-IgG) dans le sérum et dans l'HA sont comparés aux IgG spécifiques des oreillons (<i>Mumps virus</i>). Un index toxoplasmique est calculé. Un index inférieur à 2 est considéré comme positif, entre 2 et 3 comme équivoque, et supérieur à 3 comme négatif. Cette variante technique est également sensible à une éventuelle rupture de la barrière hémato-rétinienne.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Comparaison des profils immunologiques en IB d'échantillons appariés HA-sérum</li> </ul> <p>Cette technique peut confirmer le diagnostic de TO même en cas de rupture de la barrière hémato-rétinienne. La sensibilité de l'immunoblot varie selon le type d'anticorps recherché (IgG&gt;IgA&gt;IgM) avec, pour l'IB IgG une sensibilité de 53 % et spécificité de 89 % (27).</p> <p><b>Combinaison des techniques - proposition de stratégie diagnostique</b></p> <p>Face à une suspicion clinique de TO au fond d'œil : prélèvement de sérum et HA. Si sérologie négative, recherche d'une autre étiologie. Si sérologie positive, recherche du toxoplasme par PCR dans l'HA. Si PCR positive : diagnostic de TO posé, sinon recherche d'une synthèse locale d'IgG par calcul du CGW ou variante du CGW. Si positive : diagnostic de TO posé. Si présence d'IgG locales avec barrière hémato-rétinienne lésée : mise en œuvre de la technique des profils comparés sérum/HA en immunoblot. Si profils différents, TO confirmée. Sinon, TO non confirmée.</p> <p>L'utilisation simultanée des techniques ELISA-IgG, profils comparés sérum/HA en immunoblot et PCR permet d'atteindre une sensibilité de 83 % pour le diagnostic de TO (27). En y ajoutant la détection des IgA par ELISA, la sensibilité atteint 91 %.</p>
Robert-Gangneux <i>et al.</i> (17)	<i>Epidemiology and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis</i>	2012	<p><b>Indications</b> : le diagnostic de TO repose essentiellement sur un examen ophtalmologique. La présence de lésions typiques, combinée avec la séropositivité pour la toxoplasmose, appelle à un traitement spécifique contre la toxoplasmose. Une bonne réponse clinique confirme le diagnostic. Des examens biologiques sont nécessaires pour certains patients ayant des lésions oculaires atypiques ou lorsque la réponse au traitement anti-toxoplasmique n'est pas appropriée.</p> <p><b>Principe du diagnostic</b> : il inclut la détection du parasite et l'analyse de la synthèse locale d'anticorps dans les liquides oculaires, les deux approches étant complémentaires.</p> <p><b>Diagnostic par PCR</b> : la détection par PCR (en temps réel) de l'ADN du parasite dans l'humeur aqueuse ou le vitré a été rapportée avec un succès variable (sensibilité estimée entre 16 et 55 %). La sensibilité serait meilleure chez les patients immunodéprimés.</p> <p><b>Diagnostic par recherche de synthèse locale intraoculaire d'anticorps spécifiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calcul du coefficient de Goldmann-Witmer pour les IgG anti-Toxoplasma, avec une sensibilité le plus souvent autour de 50 % (37). Intéressant également pour les IgA, avec sensibilité rapportée de 63 %.</li> </ul>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
			<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Comparaison des profils IgG obtenus en IB d'échantillons appariés sérum-HA : la sensibilité de l'IB pour la détection d'une synthèse locale d'anticorps est similaire à celle du CGW, de l'ordre de 50 % (37), mais sa spécificité est plus élevée (&gt;95 %) dans la plupart des études, car elle est moins influencée par l'inflammation et la rupture de la barrière hémato-rétinienne. Cette technique est également intéressante pour les IgA, avec une sensibilité rapportée de 35 % (36).</li> </ul> <p><b>Combinaison des techniques</b> : la combinaison des techniques améliore la sensibilité du diagnostic biologique qui peut atteindre 83 à 85 % lorsque le CGW, la PCR et l'IB sont combinés (27, 37).</p> <p><b>Stratégie diagnostique</b></p> <p>Un algorithme est proposé pour décider quelles techniques appliquer lorsqu'un faible volume d'HA est disponible, en fonction des caractéristiques du patient et du moment de prélèvement de l'HA : (i) priorité à l'utilisation de la PCR pendant les dix jours suivant la survenue des symptômes, en particulier si le sujet est immunodéprimé ou si la taille totale du foyer est grande, (ii) utilisation du CGW au-delà de dix jours si d'anciennes cicatrices sont présentes et/ou si la réaction de la chambre antérieure est moyenne à sévère, associée à la PCR si la taille totale du foyer est grande, et (iii) IB dont les meilleurs résultats seraient obtenus lorsque le prélèvement a lieu plus de 30 jours après la survenue des symptômes.</p>
Garweg <i>et al.</i> (26)	<i>Diagnostic approach of ocular toxoplasmosis</i>	2011	<p><b>Indications</b> : si les lésions rétinienne sont typiques d'une TO, que le sérum est IgG+/IgM-, et que le patient répond à un traitement anti-Toxoplasma, on considère qu'il s'agit d'une forme réactivée de toxoplasmose oculaire ; si des IgM sont présentes, il est recommandé d'établir si l'infection oculaire est la conséquence d'une infection acquise récemment. Dans les deux cas, des prélèvements oculaires ne sont requis que s'il existe un doute diagnostique.</p> <p><b>Intérêt de la sérologie</b> : les patients ayant une TO sont toujours porteurs d'IgG anti-Toxoplasma sériques. Mais c'est aussi le cas des individus infectés sans signes oculaires ; la détection de ces anticorps spécifiques est donc de faible valeur diagnostique, mais leur absence apporte une preuve d'intérêt contre l'origine toxoplasmique de la maladie oculaire.</p> <p><b>PCR dans liquides oculaires</b> : chez les sujets immunocompétents, l'ADN du toxoplasme peut être amplifié dans l'humeur aqueuse chez 30-40 % au plus des cas diagnostiqués cliniquement (27). Chez les sujets immunodéprimés : 75 %. En alternative à l'HA, le vitré peut être analysé. Dans ce prélèvement, l'ADN du parasite a pu être amplifié chez jusqu'à 50 % des patients immunocompétents ayant une TO cliniquement diagnostiquée. Mais ce prélèvement n'est justifié que dans les cas atypiques sévères ou compliqués, et chez les patients qui ne répondent pas au traitement anti-Toxoplasmique.</p> <p><b>Recherche d'une synthèse locale intraoculaire d'anticorps spécifiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calcul du coefficient de Goldmann-Witmer : une valeur de 2 ou plus du CGW est généralement considérée comme une preuve de synthèse locale d'IgG anti-Toxoplasma. Sensibilité et spécificité rapportées : 63 et 89 % respectivement (27). Deux raisons expliquent principalement les faux-négatifs du CGW : une barrière hémato-rétinienne altérée ou une forte réponse systémique au parasite.</li> <li>▪ L'immunoblot est une technique alternative, utilisable pour les IgG et/ou IgA. La reconnaissance des IgM est insuffisamment spécifique pour être utile (36).</li> <li>▪ Plusieurs raisons peuvent entraîner de manière générale des faux-négatifs dans la recherche de synthèse locale d'anticorps : une immunosuppression, une immunotolérance locale au parasite (retrouvée chez les sujets infectés congénitalement), ou encore la variabilité interindividuelle des délais entre la survenue des symptômes et l'activation de production des anticorps.</li> </ul>

Auteur	Intitulé	Année	Tests diagnostiques : types de tests, éléments d'interprétation, conditions de réalisation...
			<p><b>Stratégie diagnostique proposée</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Un problème pratique important de l'analyse des liquides oculaires est le faible volume des prélèvements qui peuvent être obtenus.</li> <li>▪ Si une synthèse locale d'IgG est détectée par le CGW, le diagnostic clinique est considéré comme confirmé. S'il n'y a pas de synthèse locale détectée par le CGW, ou si la barrière hémato-rétinienne est endommagée, il est préconisé de réaliser un immunoblot comparant sérum et HA et une PCR sur HA. Avec cette stratégie, une confirmation diagnostique peut être obtenue dans 85 % des cas (37). Si tous les tests sont négatifs et qu'une confirmation reste requise, les différents tests peuvent être réalisés sur le vitré.</li> </ul> <p><b>Conditions de réalisation</b></p> <p>L'étude des échantillons oculaires peut poser des difficultés techniques puisqu'aucun des tests commerciaux disponibles pour ELISA, PCR ou immunoblot n'est (en 2011, date de la publication) validé pour tester ces échantillons. Ces tests relèvent de laboratoires spécialisés.</p>

## **Annexe 7. Compte-rendu (intégral) de l'audition du Centre national de référence (CNR) de la toxoplasmose**

### **COMPTE RENDU**

---

**Type de réunion** : Audition de partie prenante - CNR de la toxoplasmose

**Titre** : Tests diagnostiques de la toxoplasmose (hors sujets immunodéprimés)

**Date** : 12/09/2016

#### **Participants :**

Pr Isabelle VILLENA, coordinatrice et responsable du pôle Epidémiologie du CNR de la toxoplasmose

Pr Ermanno CANDOLFI, responsable du pôle Sérologie du CNR de la toxoplasmose

Pr Patrick BASTIEN, responsable du pôle Biologie moléculaire du CNR de la toxoplasmose

Dr Michèle MORIN-SURROCA, chef de service SEAP

Dr Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service SEAP

Excusée, Dr Carole GIRAUD, chef de projet SEAP

---

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS des actes diagnostiques de la toxoplasmose, suite à une demande de la CNAMTS d'actualisation de la nomenclature (NABM). L'entretien a porté sur les tests diagnostiques de cette parasitose dans trois contextes : la toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent, la toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et la toxoplasmose oculaire. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNR quant à l'utilisation de ces tests ainsi que ses préconisations pour en faire une utilisation optimale.

### **1. Diagnostic de toxoplasmose acquise en postnatal chez le sujet immunocompétent (femme enceinte notamment)**

#### **► Principales techniques actuellement utilisées (en France)**

##### **Principales techniques de dépistage**

Le CNR indique que les techniques utilisées pour le dépistage de l'infection sont dans la plupart des laboratoires français des techniques automatisées de détection des IgG et IgM anti-Toxoplasma<sup>19</sup>. Il s'agit de techniques immunoenzymatiques parmi lesquelles prédominent les techniques utilisant la chimioluminescence.

Concernant ces techniques automatisées, le CNR alerte sur le fait qu'elles peuvent donner des résultats substantiellement variables en titration sur un même sérum. La raison donnée réside dans la variabilité de la nature des antigènes utilisés d'un fabricant à un autre. Le CNR précise qu'il existe des sérums de référence pour la titration des IgG mis en place par l'OMS, calibrés à un certain nombre d'UI, mais qui ont évolué au cours du temps, et que tous les fabricants n'adhèrent pas au même sérum de référence.

---

<sup>19</sup> Dans la suite du document, la spécificité « anti-Toxoplasma » des anticorps (IgG, IgM, IgA, IgE) ne sera plus précisée, les tests sérologiques évoqués dans le cadre de cette audition portant tous sur la recherche spécifique de ces anticorps.

Concernant les performances individuelles des kits ELISA de titration des IgG, le CNR a testé neuf kits différents actuellement utilisés et montré qu'elles sont de très bon niveau (sensibilités comprises entre 96 et 100 % ; spécificités  $\geq 99,5$  %)<sup>20</sup>.

### Principales techniques de confirmation/contrôle

Le CNR rappelle qu'il existe deux situations principales amenant à réaliser un examen de confirmation/contrôle du résultat initial :

- un problème de quantification, en présence d'anticorps à taux très bas ou très élevés ;
- en présence d'IgM.

Le CNR mentionne l'utilisation de plusieurs principaux tests de confirmation, qui permettent de détecter les IgG à bas titres ou de confirmer la spécificité des IgM :

- le *dye-test* : le CNR rappelle qu'il s'agit d'une technique historique, et du seul test permettant de déterminer si les anticorps présents sont fonctionnels (capacité à lyser le parasite) et précise qu'à ce jour, ce test n'est réalisé que par quelques laboratoires (trois en France), qui sont des laboratoires experts de la toxoplasmose. Le CNR précise également que ce test, détectant les IgG mais également les IgM, ne peut être utilisé comme test de confirmation de la présence d'IgG que lorsque le test de dépistage a montré l'absence d'IgM ;
- technique d'immunofluorescence : le CNR rapporte que, seuls quelques laboratoires experts continuent à pratiquer cette technique également historique qui permet de visualiser la fixation des anticorps sur le parasite. Il précise qu'il s'agit plutôt d'une technique de contrôle/confirmation, comme le *dye-test*. Cette technique est considérée par le CNR comme ayant une bonne sensibilité et spécificité et comme pouvant théoriquement remplacer le *dye-test*. Néanmoins, n'apportant pas l'aspect fonctionnel de ce dernier, le CNR recommande la réalisation d'un *dye-test* en cas de résultat douteux obtenu en immunofluorescence ;
- l'immunoblot (IB) ou western-blot : le CNR indique que ce test remplace de plus en plus le *dye-test* dans les laboratoires pour le contrôle des IgG à taux bas, il existe un kit commercial, reproductible et moins contraignant à mettre en œuvre que les deux techniques précédentes ;
- l'*Immunosorbent Agglutination Assay* (ISAGA) : le CNR cite cette technique comme étant la plus utilisée pour la confirmation de la présence des IgM. Il note qu'il s'agit d'une technique ancienne mais pour laquelle il existe un kit commercial utilisé par la plupart des laboratoires réalisant ce test.

### Techniques de datation

- Le CNR rapporte l'utilisation, initiée en 1995 et largement diffusée depuis 2005, des tests de mesure d'avidité des IgG, pour lesquels il existe actuellement de nombreux kits commerciaux ayant de bonnes performances diagnostiques et permettant le diagnostic fiable d'une infection ancienne (chronique)<sup>21</sup>. Le test est utilisé sur un sérum présentant des IgG en présence d'IgM spécifiques (présence confirmée). Il souligne que, *a contrario*, ces tests ne permettent pas de diagnostiquer une infection récente, la maturation des IgG pouvant requérir plusieurs années chez certains sujets. Une avidité basse n'apporte donc pas la preuve absolue d'une toxoplasmose aiguë mais le CNR précise qu'en pratique, malgré l'absence d'absolue conviction, la prudence amène dans ce cas à un suivi pré- et postnatal renforcé. Le CNR précise également les contextes d'utilisation de ce test qui sont la femme enceinte mais aussi le sujet immunocompétent symptomatique (adénopathies cervicales, fièvre, fatigue, accompagnées ou non de

---

<sup>20</sup> Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, Candolfi E; Network of the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Help in the choice of automated or semi-automated immunoassays for the serological diagnosis of toxoplasmosis: Evaluation of nine immunoassays by the French National reference center for toxoplasmosis. J Clin Microbiol.* 2016 Oct 12.

<sup>21</sup> Le CNR mentionne sur ce point la publication suivante : Villard O, Breit L, Cimon B, Franck J, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, Candolfi E; *French National Reference Center for Toxoplasmosis Network. Comparison of four commercially available avidity tests for Toxoplasma gondii-specific IgG antibodies. Clin Vaccine Immunol.* 2013 Feb;20(2):197-204.

troubles organiques, *i. e.* oculaires, cardiaques, pulmonaires ou cérébraux) ou immunodéprimé symptomatique.

- Le CNR rappelle que la cinétique des IgG peut également apporter des informations de datation de l'infection et précise que, sur la base de l'analyse de deux échantillons séparés de trois semaines et traités en même temps par la même technique, l'absence d'évolution du titre des IgG en l'absence d'IgM signe une infection toxoplasmique ancienne, la stabilisation des IgG étant atteinte au-delà de deux mois suivant l'infection.
- Selon le CNR, le test d'agglutination différentielle n'est pas utilisé actuellement en France ; seul le test d'avidité est utilisé pour la datation de l'infection.

### Autres techniques

- Techniques d'agglutination directe et indirecte : le CNR indique que ces techniques peuvent être utilisées en dépistage ou parfois en confirmation en présence d'IgG douteuses. Il précise qu'il s'agit de tests historiques mais cite l'article de Villard *et al.* de 2012<sup>22</sup> et relève que leurs performances sont intéressantes en particulier celles du test d'hémagglutination qui sont excellentes (sensibilité et spécificité proches de 100 %) et souligne qu'ils sont peu coûteux en matériel. Selon le CNR, leur principal inconvénient est leur absence d'automatisation limitant leur utilisation à de petites séries d'échantillons, mais ces techniques ont encore leur place dans le panel des techniques diagnostiques actuel.
- Recherche des IgE : le CNR considère cette recherche comme inutile au diagnostic d'infection toxoplasmique quelque soit le contexte.

### ► Réflexion sur la définition d'un laboratoire « expert »

Une réflexion a été menée avec le CNR quant à proposer une définition d'un laboratoire expert. En effet, en regard des tests automatisés utilisés en dépistage courant dans les laboratoires d'analyses polyvalents, il existe des tests dont la réalisation et l'interprétation sont plus délicates, réalisés moins fréquemment, en particulier dans le cadre de dossiers plus ou moins complexes. Afin d'assurer un bon niveau de qualité diagnostique, il semble donc approprié de distinguer des laboratoires qui pourraient être qualifiés « de 1<sup>ère</sup> ligne », capables de réaliser les actes fréquents dans le cadre de dossiers simples, et des laboratoires dits « experts » pour les autres cas.

Le CNR rappelle que le CNR de la toxoplasmose est un réseau qui compte actuellement 37 laboratoires (tous laboratoires de parasitologie et de mycologie médicale de CHU) ; tous ces laboratoires ont une très bonne expertise de la toxoplasmose. En dehors de ces laboratoires, il en existerait assez peu ayant cette expertise.

Selon le CNR, plusieurs aspects pourraient concourir à qualifier un laboratoire d'« expert » :

- l'aspect analytique (technique) avec la capacité à réaliser les techniques manuelles ; elles relèvent généralement de ces laboratoires car il est nécessaire de disposer du personnel formé, du matériel spécifique, des infrastructures, voire d'une animalerie (pour le diagnostic pré- et post-natal par inoculation à l'animal) ;
- l'aspect post-analytique avec l'interprétation des résultats et l'aptitude à juger de la nécessité ou non d'ajouter d'autres tests (notamment les tests de confirmation) pour poser le diagnostic, *i.e.* la capacité de prise en charge globale des dossiers complexes (cet aspect intègre la capacité à choisir les tests appropriés et leur séquence de réalisation) ;
- l'intégration dans un réseau de réflexion et de collaboration qui permet :
  - une concertation avec d'autres laboratoires experts,
  - une concertation étroite avec les cliniciens,
  - un suivi optimisé des patients, notamment en favorisant la relation entre le diagnostic prénatal et postnatal de toxoplasmose congénitale pour les couples mère-enfant,

<sup>22</sup> Villard O, Breit L, Cimon B, Franck J, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, Candolfi E; French National Reference Center for Toxoplasmosis Network. Comparison of four commercially available avidity tests for *Toxoplasma gondii*-specific IgG antibodies. *Clin Vaccine Immunol.* 2013 Feb;20(2):197-204.

- la participation à des programmes de contrôle de qualité (interne et externe), notamment pour les techniques peu répandues (actuellement le fonctionnement en réseau permet aux laboratoires du CNR de valider leurs techniques),
- une homogénéisation des pratiques par l'établissement de stratégies diagnostiques consensuelles, pour les différents contextes diagnostiques de la toxoplasmose (cf. logigrammes d'interprétation publiés par le CNR<sup>23</sup>).

Concernant la pertinence de proposer un seuil de nombre de dossiers complexes traités qui pourrait définir un laboratoire expert, le CNR estime difficile de définir un tel seuil mais indique traiter a minima un dossier complexe par jour.

#### ► **Tests relevant (ou non) préférentiellement d'un laboratoire expert**

Globalement, les tests de dépistage diagnostique peuvent être réalisés par les laboratoires « de 1<sup>ère</sup> ligne » alors que les tests de confirmation (*dye-test*, IB, immunofluorescence, ISAGA) relèvent plutôt des laboratoires experts.

Le test de mesure d'avidité des IgG est considéré par le CNR comme étant « à la frontière » entre le laboratoire de 1<sup>ère</sup> ligne et le laboratoire expert. Il est facile à réaliser mais d'interprétation parfois délicate. Certains laboratoires « de 1<sup>ère</sup> ligne » le réalisent eux-mêmes, actuellement rarement car le test n'est pas remboursé, alors que d'autres le transfèrent à un laboratoire expert. Selon le CNR, en suivant strictement les recommandations du livret du fabricant et en utilisant les logigrammes d'interprétation du CNR, ce test pourrait être plus largement utilisé par les biologistes de 1<sup>ère</sup> ligne pour le diagnostic de toxoplasmose chronique.

Le CNR note que le cas de l'IB est également particulier. Facile à réaliser car il existe un test commercial, il pourrait théoriquement être utilisé en remplacement du *dye-test* dans les laboratoires polyvalents pour confirmer de faibles taux d'IgG. En l'occurrence, le CNR rapporte que beaucoup de sérologies limites en IgG sont en réalité positives (après confirmation) et qu'il en résulte des femmes suivies sérologiquement inutilement pendant leur grossesse. Cependant, le CNR considère que l'interprétation des IB est complexe et qu'elle requiert une certaine expérience de lecture de ce type de technique, limitant préférentiellement son utilisation aux centres experts.

#### ► **Conditions d'étude de la cinétique des IgG anti-toxoplasmiques**

Concernant l'intervalle à respecter entre deux prélèvements pour étudier la cinétique des IgG, le CNR rappelle que la réponse immunitaire au toxoplasme varie en fonction du patient, de la charge parasitaire et de la virulence du parasite. Il explique qu'actuellement, en France, les experts s'accordent à considérer qu'un intervalle de trois semaines est approprié en l'absence d'urgence (IgG à titre faible, absence d'IgM) ou de deux semaines dans les situations de suspicion d'infection aiguë (IgG à titre élevé et/ou présence d'IgM). Dans ces conditions, les experts estiment qu'un doublement du titre des IgG dans l'intervalle signe une infection aiguë. S'il existe une augmentation du titre sans doublement, le CNR préconise de répéter un contrôle à 15 jours, d'autant plus que la prise d'un traitement diminue l'activation du système immunitaire par le pathogène et peut ralentir ainsi la courbe de cinétique des anticorps. Ainsi, trois échantillons sont souvent nécessaires à deux fois 15 jours d'intervalle.

Compte tenu de la variabilité des résultats en titration sur un même sérum en fonction des techniques et kits de réactifs commerciaux, il faut, lorsqu'il s'agit de comparer des titres, que la mesure

---

<sup>23</sup> Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, Candolfi E. *Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016 Jan;84(1):22-33.

Villard O et al., CNR de la Toxoplasmose. Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduite à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage. Feuillet de Biologie, Vol LII, N°298, Janvier 2011.

soit absolument faite avec le même kit de réactifs<sup>24</sup>, en utilisant de préférence une technique immunoenzymatique et automatisée, qui permette une quantification par rapport à une courbe d'étalonnage parfaitement fiable. En outre, il faut reprendre les échantillons dans la même série.

## 2. Diagnostic prénatal de toxoplasmose congénitale

### ► La PCR sur liquide amniotique

Pour rappel, la réalisation de la PCR toxoplasmose sur liquide amniotique (LA) est règlementairement restreinte aux laboratoires ayant l'agrément autorisant le diagnostic prénatal (DPN), ce qui assure un certain niveau de maîtrise technologique. Néanmoins, le CNR souligne la valeur ajoutée d'un laboratoire expert de la toxoplasmose pour l'interprétation de ce test, car ce type de laboratoire, outre la maîtrise technique, doit travailler en concertation avec les cliniciens, maîtriser le dossier bioclinique et réaliser un suivi de l'enfant après le DPN (éléments essentiels pour la qualité de la prise en charge). Le CNR rapporte que les techniques de PCR utilisées sont majoritairement des techniques « maison » mais qu'il existe aujourd'hui des tests commerciaux ayant de bonnes performances diagnostiques, reconnus équivalents aux méthodes « maison », et qui sont utilisés par certains laboratoires du réseau. Le CNR estime que les performances des techniques de PCR toxoplasmose sur LA sont globalement bonnes malgré des résultats variables sur les charges parasitaires faibles. Il explique que les faux-négatifs du diagnostic seraient essentiellement dus à un passage tardif du parasite chez le fœtus ou à une charge parasitaire indétectable. Un défaut de la technique de PCR peut être mis en cause dans de rares cas. Le CNR procède à un CQE au sein du réseau ; il produit également un standard moléculaire basé sur des toxoplasmes à partir desquels l'ADN doit être extrait afin de prendre en compte l'ensemble du processus extraction-PCR pour l'ensemble des échantillons<sup>25</sup>. Le CNR souligne qu'un standard basé sur de l'ADN pré-extrait ne permet pas d'évaluer l'étape d'extraction, pourtant cruciale dans le processus. En matière de quantification de la charge parasitaire, le CNR recommande de rendre les résultats qualitativement (positif/négatif) et non des titres absolus, pour deux raisons : (i) la quantification présente encore des variations importantes entre laboratoires, (ii) l'influence du niveau de charge parasitaire sur le pronostic fœtal mérite d'être vérifiée. Le CNR note enfin qu'à ce jour, la PCR ne permet pas de réaliser le typage de la souche infectante.

### ► Culture cellulaire et inoculation à l'animal

Selon le CNR, la culture cellulaire a été abandonnée (du fait de sa mauvaise sensibilité) pour le diagnostic, et l'inoculation à l'animal est devenue inutile pour le diagnostic où elle a été remplacée en pratique par la PCR (plus sensible). Le CNR note cependant que cette dernière technique peut rester utile pour l'isolement de souches et leur typage, à visée épidémiologique ou dans certains cas symptomatiques lorsqu'une souche hypervirulente est suspectée (souches d'Amérique du sud en particulier). En effet, l'identification d'une telle souche chez un patient symptomatique peut amener à une modification de la prise en charge se traduisant par un suivi plus étroit et/ou un traitement prolongé. Il s'agit d'un test de laboratoire expert, pratiqué par moins d'une dizaine de laboratoires en France (besoin d'une animalerie, d'un agrément vétérinaire...).

### ► Le DPN

Dans la littérature, avant six semaines d'aménorrhée (SA), un DPN ne semble préconisé que dans certaines situations mais sans les identifier. Le CNR explique qu'avant six SA, le DPN n'est réalisé que lorsque l'infection est symptomatique (présence de ganglions, sérologie très marquée, signes

<sup>24</sup> Le CNR a mentionné sur ce point un document de recommandations édité par l'ANSM en 2008, intitulé « Point sur la sérologie de la toxoplasmose en France », disponible sur ce lien : [http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/1077fb141f908c52fcf9c6021a1b261a.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/1077fb141f908c52fcf9c6021a1b261a.pdf)

<sup>25</sup> La validation de ce standard est présentée dans la publication suivante mentionnée par le CNR : Varlet-Marie E, Sterkers Y, Brenier-Pinchart MP, Cassaing S, Dalle F, Delhaes L, Filisetti D, Pelloux H, Touafek F, Yera H, Bastien P. *Characterization and multicentric validation of a common standard for Toxoplasma gondii detection using nucleic acid amplification assays. J Clin Microbiol.* 2014 Nov;52(11):3952-9.

d'évolutivité...) ou chez le sujet immunodéprimé (hors VIH). La discussion biologico-clinique est particulièrement nécessaire avant la réalisation d'un DPN.

### 3. Diagnostic postnatal de toxoplasmose congénitale (enfant < 1an)

Ce diagnostic complexe devrait selon le CNR être uniquement réalisé par des laboratoires experts, en concertation avec les cliniciens, en particulier les gynécologues-obstétriciens et les pédiatres, afin d'assurer une continuité entre le diagnostic pré- et postnatal. Le CNR considère en outre souhaitable que les examens postnataux immédiats et le suivi sérologique de l'enfant soient réalisés par le même laboratoire pour une surveillance avec les mêmes techniques.

#### ► Recherches sérologiques

À J0, J15 et J30, un panel d'examens sérologiques est réalisé (réalisation conjointe) :

- quantification précise des IgG (généralement par technique ELISA ou en agglutination directe haute sensibilité). Cette quantification est ensuite répétée mensuellement afin d'observer la cinétique des IgG si le diagnostic de toxoplasmose congénitale est négatif (ou indéterminé) à J30 ;
- immunoblots comparatifs des IgM et des IgG (ou ELIFA). Trois blots consécutifs sont demandés sur un mois à J0 - J15 - J30. Le CNR signale des faux-positifs au-delà de trois mois en IB mais l'ELIFA reste praticable ;
- détection des IgM par une technique validée sur sérums d'enfants < 1 an (en pratique ISAGA-IgM ou ELISA-IgM)<sup>26</sup>, avec répétition de la recherche des IgM à dix jours de vie si cette recherche est positive, la demi-vie des IgM étant d'environ dix jours<sup>27</sup>. Le CNR recommande de combiner la recherche des IgM et l'IB IgM car les anticorps de la mère et de l'enfant reconnaissent parfois les mêmes épitopes en IB, ne permettant pas au WB de conclure ;
- détection des IgA<sup>28</sup> avec répétition de la recherche à dix jours de vie si elle est positive. Le CNR précise que la demi-vie des IgA est d'environ cinq jours, donc plus courte que celle des IgM, mais qu'il est en pratique plus simple de rechercher les IgM et IgA ensemble dans le cadre du même prélèvement.

Le CNR considère que la recherche des IgE n'a pas d'intérêt.

Chez la mère séronégative pendant toute la grossesse, le CNR préconise une recherche sérologique IgG/IgM 30 jours après l'accouchement afin de détecter les infections tardives qui, d'après l'expérience du CNR, s'accompagnent souvent d'une contamination de l'enfant. Le CNR souligne que ce contrôle est déjà intégré dans la pratique des professionnels bien que non inscrit à la NABM.

#### ► Recherche de l'ADN du toxoplasme par PCR

Le CNR explique que la recherche de l'ADN du toxoplasme à la naissance n'est pas systématique, beaucoup de centres ne la faisant pas, mais qu'elle devrait l'être car elle permet dès la naissance de rattraper beaucoup de cas non dépistés par le DPN (faux-négatif de DPN lié à un passage tardif, ou DPN non réalisé lors de séroconversions tardives sans amniocentèse ou en l'absence de suivi correct).

Les prélèvements utilisés spécifiés par le CNR sont le sang de cordon ou le sang périphérique du nouveau-né, le placenta et plus rarement le liquide amniotique prélevé à l'accouchement.

<sup>26</sup> Le CNR précise qu'il n'existe actuellement, à sa connaissance, que deux kits commerciaux validés sur les échantillons de sang de cordon et sérums de nouveau-né, qui sont Platelia Toxoplasma IgM BioRad® et ISAGA Toxoplasma IgM BioMérieux®.

<sup>27</sup> Le CNR indique qu'en pratique un délai de deux semaines est souvent plus simple au niveau organisationnel.

<sup>28</sup> Lors d'un entretien téléphonique avec le Pr Candolfi le 07/10/16 (recontacté suite à l'audition par la chef de projet en charge de la rédaction de ce CR et qui n'avait pas pu assister à cette audition), ce dernier a précisé que la recherche des IgA dans ce contexte n'était pas systématique et qu'elle n'était pas réalisée dans son laboratoire.

Le CNR signale que les PCR sont plus souvent positives dans le placenta que dans le sang de cordon chez les enfants infectés, d'où l'intérêt contributif de ce prélèvement. Il souligne néanmoins également qu'une PCR positive dans le placenta ne signifie pas toujours qu'il y a eu transmission au fœtus mais qu'elle apporte une forte suspicion. *A contrario*, une PCR positive sur le sang de cordon ou le LA est considérée comme une preuve d'atteinte du fœtus<sup>29</sup>.

#### 4. Diagnostic de toxoplasmose oculaire (TO)

##### ► Contexte de réalisation du diagnostic biologique

Lorsqu'un diagnostic de toxoplasmose congénitale a été posé chez un patient, le CNR n'estime pas utile de faire des examens biologiques spécifiquement sur les liquides oculaires en présence de signes cliniques de TO car la probabilité que l'origine de la chorioretinite soit bien d'origine toxoplasmique est très élevée.

Dans les autres cas, le CNR souligne que, d'après son expérience, la confirmation biologique d'une TO suspectée cliniquement est d'environ 50 %.

En pratique, le CNR observe une absence de consensus entre les ophtalmologistes, certains demandant des confirmations biologiques (même en cas de toxoplasmose congénitale connue) et d'autres non. Le CNR explique cette observation par différentes raisons :

- certains ophtalmologistes sont confiants dans les signes cliniques présumés typiques de la TO et ne pensent pas utile de vérifier que l'agent causal de la chorioretinite est bien le toxoplasme. Le CNR rappelle sur ce point que la chorioretinite toxoplasmique ne représente que 30 à 50 % des chorioretinites ;
- l'hypothèse diagnostique de l'origine toxoplasmique de la chorioretinite peut être renforcée à tort par le « succès » d'un traitement d'épreuve anti-toxoplasmique car celui-ci est systématiquement combiné avec des corticoïdes, donc peut être efficace si l'origine de la chorioretinite est par exemple auto-immune ;
- tous les ophtalmologistes ne pratiquent pas les prélèvements de liquide oculaire dans la chambre antérieure ;
- les examens biologiques spécifiques ne sont pas toujours très accessibles pour les cliniciens car tous les laboratoires ne font pas de diagnostic sur les liquides oculaires. En l'occurrence, ce type de prélèvement requiert la capacité d'une prise en charge complète (parasitaire, virale, auto-immune), et ce sur un volume de prélèvement très faible.

Le CNR précise néanmoins que dans beaucoup de CHU<sup>30</sup>, les ophtalmologistes tendent à rechercher une confirmation biologique du diagnostic sur humeur aqueuse du fait de la possibilité de récurrence lorsqu'il s'agit d'une TO.

##### ► Tests diagnostiques

Le CNR rappelle que le diagnostic est moléculaire et immunologique, et pointe la contrainte du faible volume de prélèvement. Dans ce cadre, il détaille la stratégie<sup>31</sup> suivante : dans un premier temps, les recherches infectiologiques moléculaires sont réalisées (virologie dont HSV, parasitologie, bactériologie). Si la PCR toxoplasmose est positive, le diagnostic de TO est posé. Si la PCR toxoplasmose est négative (ainsi que les PCR recherchant d'autres agents infectieux), les anticorps anti-Toxoplasma sont recherchés, en commençant préférentiellement par la technique de

---

<sup>29</sup> Lors de la validation du compte-rendu, le CNR a précisé avoir établi avec l'InVS des conditions biologiques définissant un cas de toxoplasmose congénitale. Ces conditions sont disponibles sur le site internet du CNR sur le lien suivant : [http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/?page\\_id=246](http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/?page_id=246)

<sup>30</sup> Le CNR précise que 25 laboratoires appartenant au réseau du CNR réalisent la PCR toxoplasmose dans l'humeur aqueuse.

<sup>31</sup> Lors de l'entretien téléphonique du 07/10/2016 avec le Pr Candolfi, ce dernier a précisé qu'en pratique les tests moléculaires et sérologiques sont réalisés conjointement pour obtenir un diagnostic plus rapidement. Le Pr Candolfi a également précisé qu'en présence d'une sérologie toxoplasmique négative, le diagnostic de TO n'est pas envisagé.

profils immunologiques comparés en IB car elle n'est pas sensible à une éventuelle lésion de la barrière hémato-rétinienne. Si les profils sont identiques, les anticorps locaux sont recherchés par calcul du coefficient de Goldmann-Witmer en sachant que les résultats de ce coefficient ne sont valides qu'en l'absence de rupture de la barrière hémato-rétinienne. Si l'IB est négatif et qu'il y a lésion de la barrière hémato-rétinienne, le diagnostic est non concluant.

Selon le CNR, la réalisation de ces examens devrait relever d'un laboratoire « expert ».

Le CNR note qu'il n'existe aucun kit validé dans les liquides oculaires, une validation prospective étant difficile à envisager compte tenu du très faible volume des prélèvements.

## Annexe 8. Listes des tableaux et figures

Tableau 1. Tests diagnostiques de la toxoplasmose inscrits à la NABM en décembre 2016.....	20
Tableau 2. Tests diagnostiques de la toxoplasmose inscrits sur le RIHN ou sa liste complémentaire en décembre 2016.....	21
Tableau 3. Stratégie de recherche bibliographique.....	22
Tableau 4. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i> . ....	46
Figure 1. Processus de sélection documentaire pour l'évaluation des tests diagnostiques de la toxoplasmose dans les contextes cliniques concernés par l'évaluation. ....	24

## Références

1. Haute Autorité de Santé. Diagnostic biologique de la toxoplasmose par recherche d'anticorps spécifiques et/ou recherche de l'ADN du parasite (PCR). Feuille de route. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2016.  
[http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2016-07/fdr\\_toxo\\_vd.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2016-07/fdr_toxo_vd.pdf)
2. Haute Autorité de Santé. Surveillance sérologique et prévention de la toxoplasmose et de la rubéole au cours de la grossesse. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2009.  
[http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-12/depistages\\_prenatals\\_obligatoires\\_argu\\_vf.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-12/depistages_prenatals_obligatoires_argu_vf.pdf)
3. Collège des universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales. ePILLY trop. Maladies infectieuses tropicales. Edition web. Paris: Alinéa Plus; 2016.
4. Maenz M, Schluter D, Liesenfeld O, Schares G, Gross U, Pleyer U. Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease. *Prog Retin Eye Res* 2014;39:77-106.
5. Murat JB, Hidalgo HF, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations? *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11(9):943-56.
6. Wallon M, Peyron F. Toxoplasmose [90-40-0190-A]. *Encycl Med Chir Biologie médicale* 2014;9(4).
7. Centre national de référence sur la toxoplasmose. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. Reims: CNR Toxoplasmose; 2016.  
[http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/wp-content/uploads/2015/12/Villard-O-and-NRC-for-Toxoplasmosis\\_2016.pdf](http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/wp-content/uploads/2015/12/Villard-O-and-NRC-for-Toxoplasmosis_2016.pdf)
8. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment. Ottawa: SOGC; 2013.  
<http://sogc.org/wp-content/uploads/2013/02/gui285CPG1301E-Toxoplasmosis.pdf>
9. Kaparos N, Favrat B, D'Acremont V. Fièvre, adénopathie : une situation clinique de toxoplasmose aigue chez une patiente immunocompétente. *Rev Med Suisse* 2014;10(452):2264, 6-8, 70.
10. Association française des enseignants et praticiens hospitaliers de parasitologie et mycologie médicales. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2016.
11. Moncada PA, Montoya JG. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012;10(7):815-28.
12. Sauer A, Villard O, Bourcier T, Speeg-Schatz C, Candolfi E. Toxoplasmose oculaire : de la physiopathologie au diagnostic microbiologique. *J Fr Ophtalmol* 2013;36(1):76-81.
13. Saadatinia G, Golkar M. A review on human toxoplasmosis. *Scand J Infect Dis* 2012;44(11):805-14.
14. Centre national de référence sur la toxoplasmose. Recommandations destinées aux professionnels de santé concernant le diagnostic par biologie moléculaire de la toxoplasmose congénitale. 1ère Partie. Reims: CNR Toxoplasmose; 2011.  
<http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/wp-content/uploads/2012/06/Recommandations-Diagnostic-TC-biomol-janvier-2012.pdf>
15. Butler NJ, Furtado JM, Winthrop KL, Smith JR. Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management. *Clin Experiment Ophthalmol* 2013;41(1):95-108.
16. Theaudin M, Bodaghi B, Cassoux N, Romand S, Le Mer Y, Lemaitre C, *et al.* Toxoplasmose oculaire extensive. Conduite diagnostique et thérapeutique. *J Fr Ophtalmol* 2003;26(9):921-7.
17. Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev* 2012;25(2):264-96.
18. American Academy of Pediatrics. *Toxoplasma gondii* Infections (Toxoplasmosis). Dans: *Reb Book. 2012 Report of the committee on infectious diseases.* Elk Grove Village: AAP; 2015. p. 787-95.
19. Remington J, McLeod R, Wilson C, Desmonts G. Toxoplasmosis. Dans: Remington J, Klein J, ed. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* Philadelphia: The WB Saunders Co; 2011. p. 918-1041.
20. Villard O, Cimon B, Franck J, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, *et al.* Evaluation of the usefulness of six commercial agglutination assays for serologic diagnosis of toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73(3):231-5.
21. Davenel S, Galaine J, Guelet B, Marteil S, Robert-Gangneux F. La toxoplasmose congénitale en France en 2009. *J Pharm Clin* 2010;29(1):5-30.
22. Biomnis. Toxoplasmose [En ligne] 2013.  
<http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/TOXOPLASMOSE.pdf>
23. Société française de microbiologie. Référentiel en microbiologie médicale 5.1. Paris: SFM; 2015.
24. American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice bulletin n° 151: cytomegalovirus, parvovirus B19, varicella zoster, and toxoplasmosis in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2015;125(6):1510-25.
25. Peyron F, Wallon M, Liou C, Garner P. Treatments for toxoplasmosis in pregnancy (Review). *Cochrane Database Syst Rev* 1999;3:CD001684.
26. Garweg JG, de Groot-Mijnes JD, Montoya JG. Diagnostic approach to ocular toxoplasmosis. *Ocul Immunol Inflamm* 2011;19(4):255-61.

27. Villard O, Filisetti D, Roch-Deries F, Garweg J, Flament J, Candolfi E. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, immunoblotting, and PCR for diagnosis of toxoplasmic chorioretinitis. *J Clin Microbiol* 2003;41(8):3537-41.
28. Réseau du centre national de référence de la toxoplasmose, Villard O, Jung-Etienne J, Cimon B, Franck J, Fricker-Hidalgo H, *et al.* Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduite à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage. *Feuillets de Biologie* 2011;LII(298):43-9.
29. Hohlfeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med* 1994;331(11):695-9.
30. de Oliveira Azevedo CT, do Brasil PE, Guida L, Lopes Moreira ME. Performance of Polymerase Chain Reaction Analysis of the Amniotic Fluid of Pregnant Women for Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2016;11(4):e0149938.
31. Kieffer F, Wallon M. Congenital toxoplasmosis. *Handb Clin Neurol* 2013;112:1099-101.
32. Tissot Dupont D, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart MP, Bost-Bru C, Ambroise-Thomas P, Pelloux H. Usefulness of Western blot in serological follow-up of newborns suspected of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22(2):122-5.
33. Turunen HJ, Leinikki PO, Saari KM. Demonstration of intraocular synthesis of immunoglobulin G toxoplasma antibodies for specific diagnosis of toxoplasmic chorioretinitis by enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1983;17(6):988-92.
34. Desmots G. Definitive serological diagnosis of ocular toxoplasmosis. *Arch Ophthalmol* 1966;76(6):839-51.
35. Kijlstra A, Luyendijk L, Baarsma GS, Rothova A, Schweitzer CM, Timmerman Z, *et al.* Aqueous humor analysis as a diagnostic tool in toxoplasma uveitis. *Int Ophthalmol* 1989;13(6):383-6.
36. Garweg JG, Garweg SD, Flueckiger F, Jacquier P, Boehnke M. Aqueous humor and serum immunoblotting for immunoglobulin types G, A, M, and E in cases of human ocular toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 2004;42(10):4593-8.
37. Talabani H, Asseraf M, Yera H, Delair E, Ancelle T, Thulliez P, *et al.* Contributions of immunoblotting, real-time PCR, and the Goldmann-Witmer coefficient to diagnosis of atypical toxoplasmic retinochoroiditis. *J Clin Microbiol* 2009;47(7):2131-5.
38. De Groot-Mijnes JD, Rothova A, Van Loon AM, Schuller M, Ten Dam-Van Loon NH, De Boer JH, *et al.* Polymerase chain reaction and Goldmann-Witmer coefficient analysis are complimentary for the diagnosis of infectious uveitis. *Am J Ophthalmol* 2006;141(2):313-8.

## Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Évaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Février 2017
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>
Objectif(s)	La CNAMTS souhaite actualiser la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) pour ce qui est des tests relatifs au diagnostic de toxoplasmose. La présente évaluation porte sur les tests diagnostiques de la toxoplasmose dans les contextes suivants : toxoplasmose acquise du sujet immunocompétent (incluant la femme enceinte), toxoplasmose congénitale (diagnostic pré- et postnatal) et toxoplasmose oculaire. La méthode choisie repose sur une analyse critique de la littérature synthétique (revues systématiques, méta-analyses, recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, revues générales), identifiée par une recherche documentaire systématique, conjointement à une interrogation du Centre national de référence de la toxoplasmose en tant que partie prenante.
Professionnel(s) concerné(s)	Biologistes médicaux, gynécologues-obstétriciens, pédiatres, infectiologues, ophtalmologistes, médecins généralistes
Demandeur	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS)
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Carole GIRAUD, chef de projet, SEAP (chef de service : Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : Denis-Jean DAVID) Secrétariat : Suzie DALOUR, assistante, SEAP
Participants	Centre national de référence de la toxoplasmose
Recherche documentaire	Réalisée par Virginie HENRY, documentaliste, avec l'aide de Yasmine LOMBRY, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Carole GIRAUD, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : février 2017
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>
Documents d'accompagnement	Avis HAS (février 2017) disponible sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>

~



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)