

UNIVERSITÉ DE CONSTANTINE

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE MEDECINE

TOXOPLASME ET TOXOPLASMOSE

Elaboré par Pr. FENDRI

1. INTRODUCTION :

La toxoplasmose est une protozoose cosmopolite très fréquente, due à un parasite intracellulaire appartenant à la classe des sporozoaires appelé : *Toxoplasma gondii*. C'est une parasitose généralement bénigne, cependant dans sa forme congénitale elle peut être responsable de complications très graves chez l'enfant. La forme acquise ne compromet le pronostic vital que chez l'immunodéprimé, chez lequel elle est presque toujours grave.

Les deux principaux modes de contamination sont : la voie orale, et la voie transplacentaire provoquant respectivement la toxoplasmose acquise et la toxoplasmose congénitale, cette dernière reste grave, car elle est l'une des principales causes de malformations et de mort in utero.

L'infestation chez l'adulte est orale. Elle dépend de facteurs alimentaires, culinaires et socioculturels qui varient selon les pays et d'une région à une autre. Leur contamination se fait par l'intermédiaire de plusieurs formes parasitaires, transmises chacune par l'intermédiaire d'un aliment donné. C'est ainsi que les kystes de toxoplasme se localisent au niveau des viandes, et les oocystes au niveau des crudités (et sur le pelage des chats).

La sérologie est pratiquement le seul moyen de diagnostic de la maladie ; et c'est de ses résultats que dépend toute conduite à tenir. Elle permet aussi de déterminer le moment de l'infestation en cas de séroconversion éventuelle.

2. HISTORIQUE :

La toxoplasmose humaine, maladie reconnue pour la première fois par Wolf et Goven en 1937 aux Etats unis fut tout d'abord considérée uniquement comme une maladie congénitale rare. Ce n'est que grâce au développement des techniques sérologiques que, par la suite, les connaissances dans le domaine de cette parasitose se sont si considérablement étendues.

Chez l'homme le parasite fut décrit à la même époque par Darling, et retrouvé au niveau de la rétine en 1923 par Janku.

Le cycle de la maladie a été complété en 1970, par la découverte de l'oocyste et l'hôte définitif par Hutchinson ; alors que le rôle de la viande mal cuite fût prouvé par Desmont en

1965. Hutchinson a montré l'importance épidémiologique de la reproduction sexuée parasitaire dans les cellules intestinales du chat.

Sur le plan diagnostique Sabin et Feldman ont mis au point le premier test immunologique de lyse grâce auquel plusieurs enquêtes épidémiologiques ont été réalisées. Elles ont montré l'importance de la toxoplasmose dans diverses régions d'Europe. En 1957 Goldman et Kelen ont simplifié le diagnostic de la toxoplasmose en utilisant pour la première fois le test d'immunofluorescence indirecte ; qui reste jusqu'à aujourd'hui la technique de référence la plus utilisée dans le monde.

3. CLASSIFICATION :

Toxoplasma gondii est un parasite unicellulaire appartenant au sous- embranchement des *Apicomplexa*, qui sont caractérisés par la présence d'un complexe antérieur. Il appartient à la classe des Sporozoaires (Sporozoea), sous-classe des Coccidiés (Coccidia); ordre des Eucoccidiidea, sous ordre des Eimeridea; famille des Sarcocystidés (Sarcocystidae), sous-famille des Toxoplasmatinae; un genre unique *Toxoplasma*; une seule espèce connue jusqu'à aujourd'hui *Toxoplasma gondii*.

4. EPIDEMIOLOGIE

4.1. DESCRIPTION DU PARASITE

Le toxoplasme est un protozoaire qui se présente sous trois formes suivant sa localisation et l'hôte chez lequel il se trouve.

4.1.1. La Forme Végétative :

4.1.1.1. En microscopie optique :

Appelée aussi *Tachyzoïte* a une forme arquée (arc = toxon en grec) mesurant 5 à 8 microns de long sur 2 à 3 microns de large. L'extrémité antérieure est effilée par rapport à la partie postérieure plus large et plus arrondie. Cette forme est responsable de la phase aiguë septicémique et de la contamination fœtale.

Le parasite présente un cytoplasme très clair entouré d'une fine membrane et un noyau unique volumineux. Ce dernier se localise dans la partie large du protozoaire. Un gros caryosome occupe la totalité de la surface nucléaire.

Le tachyzoïte est doué de mouvements latéraux de la partie apicale qui lui permettent de

pénétrer les cellules hôtes du système réticulo-histiocytaire.

4.1.1.2. En microscopie électronique :

Le parasite se délimite par une membrane cellulaire divisée en trois couches. La plus interne entoure à sa partie antérieure : le conoïde, la partie médiane est interrompue par un micropore situé à la partie convexe du parasite. Enfin la couche externe constituée par un plasmalemme doublé intérieurement par un complexe membranaire interne.

L'anneau antérieur situé à la base du conoïde sert d'insertion à 22 microtubules.

Le conoïde, en forme de cône se constitue de fibrilles enroulées en spirale les unes sur les autres.

Les rhoptries sont des massues de 1 à 4 microns se rejoignant à la partie apicale du parasite.

Prenant naissance au tiers antérieur les granules denses sont des petites vésicules de 0.2 microns contenant un liquide très dense aux électrons.

Les micronèmes sont des organites cellulaires en forme de bâtonnets localisés dans la moitié antérieure du toxoplasme leur contenu est aussi dense que celui des granules électrons.

Par ailleurs on retrouve dans le cytoplasme d'autres organites cellulaires à savoir un reticulum endoplasmique, un appareil de Golgi et une mitochondrie ramifiée.

4.1.2. Le Kyste :

C'est une forme de latence et de résistance du parasite, elle se retrouve dans le tissu nerveux et musculaire durant toute la vie de l'hôte intermédiaire. Ce sont des formations sphériques de taille très variable allant de 10 à plusieurs dizaines de microns de diamètre.

Le kyste est limité par une paroi épaisse entourant un nombre important de toxoplasmes appelés *bradyzoïtes* dont le métabolisme et la division sont très ralentis.

La structure cellulaire du bradyzoïte ressemble à celle du tachyzoïte sauf que sa taille est plus petite. Les micronèmes et les grains de glycogène sont en nombre plus important dans le cytoplasme.

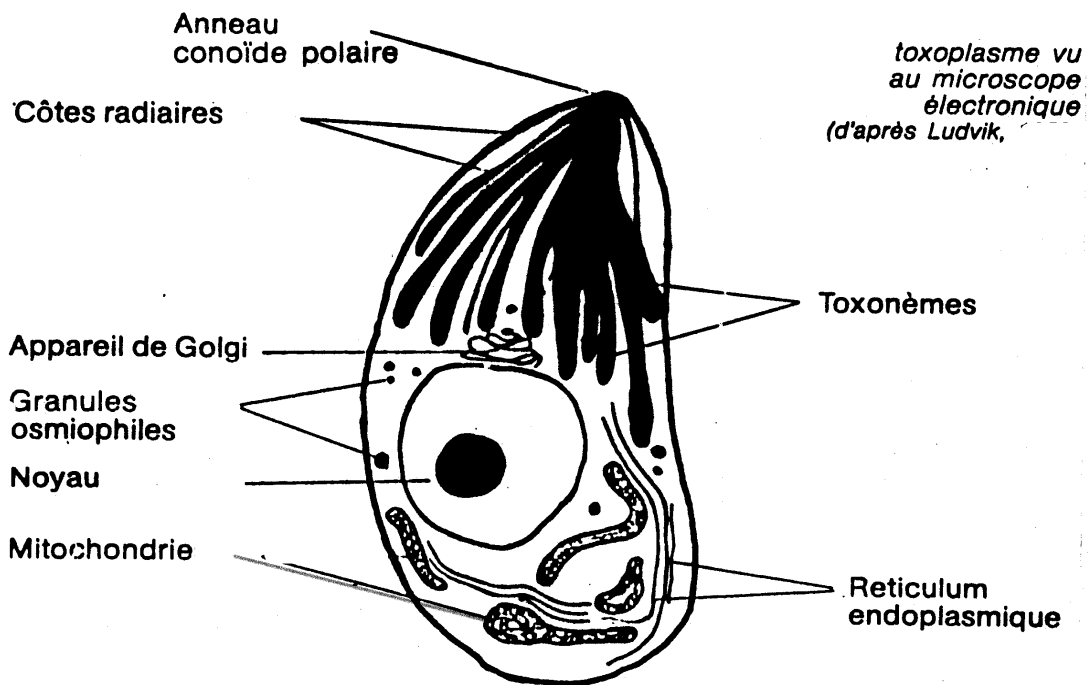
Ces formes kystiques sont responsables de reviviscence et d'infections latentes.

4.1.3. L'Oocyste :

Il est émis immature par l'hôte définitif ; c'est aussi la forme de résistance du parasite dans le milieu extérieur. Non sporulé il renferme une masse de cellules granuleuses.

Mûr l'oocyste possède une paroi épaisse à double couche enveloppant 2 sporocystes ellipsoïdes contenant chacun 4 sporozoïtes qui diffèrent des tachyzoïtes par un nombre élevé de micronèmes et de rhoptries. Sa taille varie de 10 à 12 μm .

TOXOPLASME
MICROSCOPIE ELECTRONIQUE



4.2.CYCLE EVOLUTIF

Le cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* comprend plusieurs étapes. Comme pour tous les sporozoaires il se divise en deux grandes parties : gamogonique et schizogonique. Ces deux grandes phases sont complètement différentes. En effet si la première est sexuée et se déroule entièrement chez l'hôte définitif la deuxième est asexuée et débute chez le chat pour se terminer chez l'hôte intermédiaire.

4.2.1.) La phase schizogonique :

C'est au cours de cette phase que la production de toxoplasme est la plus importante, elle se déroule presque entièrement chez les hôtes intermédiaires homéothermes. Plusieurs schizogonies peuvent se produire sans passer par la phase gamogonique. Cette étape est la plus importante du cycle car elle est à l'origine des complications acquises et congénitales de la maladie.

4.2.1.1.) Chez l'hôte intermédiaire :

Après ingestion de la forme infestante représentée par les oocystes ou les kystes selon les cas, les sporozoïtes ou les bradyzoïtes sont libérés après l'action des enzymes digestives de l'hôte intermédiaire. Ensuite ils se transforment rapidement en tachyzoïtes et pénètrent dans les cellules intestinales pour envahir après la lamina propria et se disséminer par voie hématogène ou lymphatique dans tout le système réticulo-histiocytaire. Dans les cellules, ils se multiplient activement et provoquent des septicémies.

La pénétration dans les cellules-hôtes se fait grâce aux mouvements du parasite et à ses changements de forme. L'invasion de la cellule hôte ne dure que quelques secondes. Ce mode de pénétration nécessite de l'énergie ce qui le différencie de la phagocytose qui est un phénomène passif qui dépend beaucoup plus de la cellule hôte.

Une fois à l'intérieur de cette dernière le toxoplasme se multiplie par *endodyogénèse*. En effet il y a formation de toxoplasmes-fils dans le parasite d'origine. Après différenciation, les toxoplasmes-fils grâce aux mouvements apicaux se libèrent de celui qui leur a donné naissance et ce sans le faire éclater.

Cette multiplication intracytoplasmique aboutit à la formation de 150 à 200 éléments, qui finissent par faire éclater la cellule animale hôte et chaque protozoaire ainsi libéré est capable d'en infester immédiatement une nouvelle. C'est au cours de cette étape que se produit la

contamination du fœtus. Après envahissement du placenta, le toxoplasme diffuse par voie sanguine sous forme de trophozoïte dans les tissus. Après une multitude de schizogonies, le système immunitaire réagit par la production d'anticorps spécifiques, ce qui pousse le parasite à s'enkyster au niveau des tissus pauvres en immunoglobulines à savoir le système nerveux et le muscle. Cette transformation se fait généralement dix à quinze jours après l'infestation, les tachyzoïtes se transforment alors en bradyzoïtes dont la multiplication est ralentie. Les kystes formés restent quiescents dans l'organisme de l'hôte intermédiaire pendant toute la durée de son existence. Ce stimulant immunitaire quasi-constant au niveau des tissus est à l'origine d'un taux d'anticorps sanguin résiduel et protecteur dans la majorité des cas.

4.2.1.2. Chez l'hôte définitif :

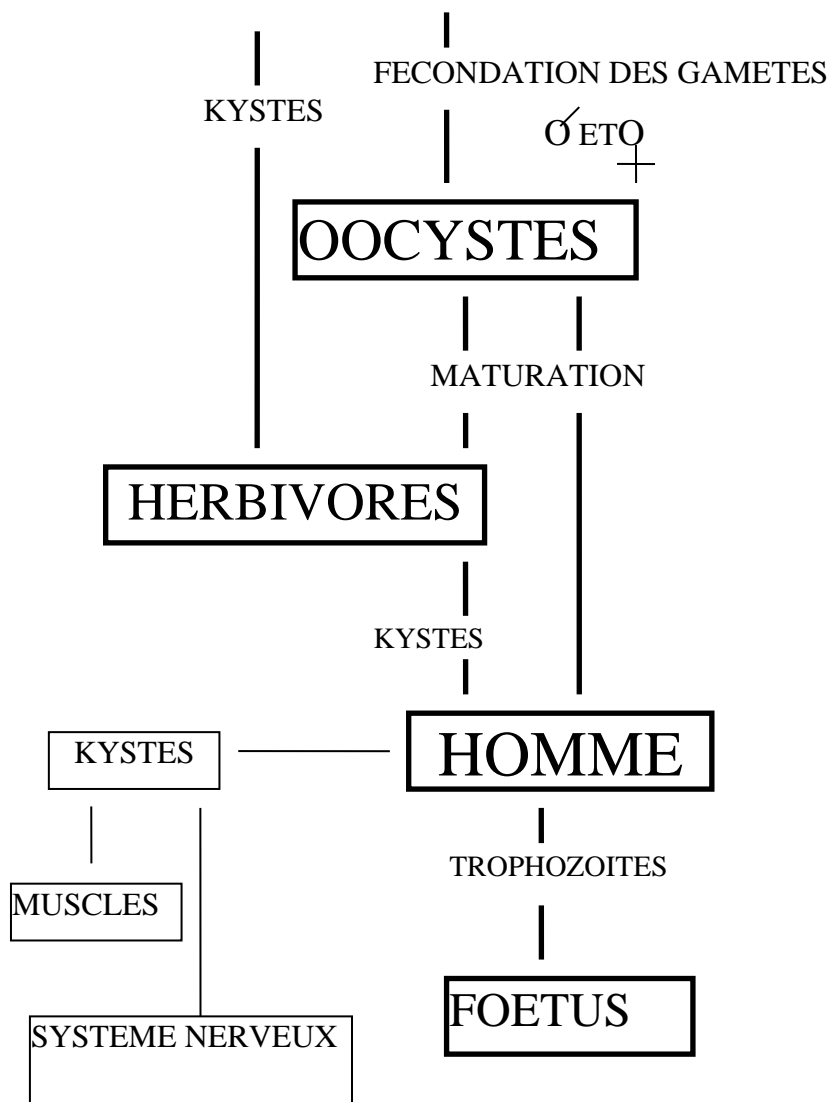
La phase schizogonique asexuée se poursuit chez le chat, qui se contamine après ingestion des kystes contenus dans les tissus des petits animaux chassés ou dans la viande crue. La digestion libère les bradyzoïtes qui se transforment en tachyzoïtes dans le tube digestif du chat. Ils pénètrent ensuite dans les cellules intestinales de l'animal, où ils vont se multiplier. Ces cellules finissent par éclater et rejeter des dizaines de toxoplasmes qui parasitent d'autres entérocytes et ainsi de suite. Après plusieurs schizogonies intestinales, on observe l'apparition de formes parasitaires sexuées : les gamétocytes

4.2.2. La phase gamogonique :

Elle se caractérise par la formation de gamétocytes mâles et femelles chez l'hôte définitif. Ils se transforment en macrogamètes femelles de 5 à 7 μ et microgamètes mâles de 3 μ falciformes possédant 3 flagelles. Leur fécondation aboutit à la formation de l'oocyste, qui sera ensuite rejeté immature et non sporulé dans le milieu extérieur avec les excréments du félin.

La maturation des oocystes nécessite de l'oxygène et de l'humidité. Ces formes de dissémination dans le milieu extérieur représentent un réservoir tellurique très important et sont à l'origine de la contamination des herbivores.

SCHEMA DU CYCLE DE LA TOXOPLASMOSE



4.3. MODE DE CONTAMINATION

L'infestation par *Toxoplasma gondii* est généralement orale et dépend surtout des habitudes alimentaires et culinaires des populations, elle concerne tous les animaux à sang chaud. La contamination congénitale reste la plus grave et la plus redoutée en dehors de toute immunodépression.

L'hôte définitif, représenté par le chat et les autres félinés s'infeste dès les premières chasses (donc très jeune). L'homme peut être contaminé par toutes les formes parasitaires.

4.3.1. Infestations orales :

Ce sont les infestations les plus fréquentes, elles dépendent des habitudes alimentaires des sujets. Elles se font par l'intermédiaire des kystes et des oocystes

4.3.1.1. Par les kystes :

C'est le mode d'infestation le plus fréquent chez l'homme et chez tous les carnivores. La contamination se fait par ingestion ou manipulation de viande infestée de kystes. De ce fait certaines professions exposent au risque de toxoplasmose acquise (vétérinaires, cuisiniers, bouchers etc..). Cette forme parasitaire résiste plusieurs dizaines d'années chez l'hôte qui l'héberge.

D'un point de vue épidémiologique, il faut savoir que ces kystes restent vivants à +4°C dans les viandes pendant plusieurs mois ; par contre la congélation à -20° C tue les bradyzoïtes au bout de trente minutes. La cuisson à +70° ou par micro-ondes stérilise les aliments de leurs formes infestantes.

4.3.1.2. Par les oocystes :

Ils représentent la forme de contamination de l'homme et de tous les herbivores par ingestion de crudités, de fruits ou d'eaux contaminées. Le contact avec les chats ou leur litière expose leurs propriétaires à des infections certaines.

L'oocyste est la forme de résistance du parasite dans le milieu extérieur où il demeure infestant plusieurs mois. Cependant il est plus sensible à la dessiccation et à la chaleur (50° pendant une demi-heure). La désinfection des produits alimentaires de leurs oocystes est très

difficile. En effet, ils restent vivants une heure dans l'alcool absolu, l'acide sulfurique à 0.5N, la soude à 6% et une journée dans du formol à 10%, ce qui montre bien leur résistance à des conditions extérieures très rudes.

4.3.2. Infestation congénitale :

Elle se fait par l'intermédiaire des trophozoïtes pendant la phase septicémique et avant l'apparition des anticorps. En cas de lésions du placenta les parasites traversent la barrière placentaire et provoquent des malformations foetales. Ces dernières sont d'autant plus graves que l'infestation a lieu à un âge précoce de la grossesse.

4.3.3. Infestation au laboratoire :

Au cours de la manipulation des antigènes vivants on a remarqué des infestations par voie cutanée et/ou à travers les muqueuses. L'importance des signes cliniques dépend de la virulence de la souche et de la quantité de l'inoculum.

4.3.4. Réinfestations endogènes :

En cas d'immunodépression, de maladies graves ou de ruptures de kystes, il y a des réactivations toxoplasmiques qui entraînent des complications assez importantes mettant le pronostic vital du malade en jeu.

4.3.5. Infestations par transplantation ou greffe :

Depuis plus de vingt ans le nombre de transplantations de tissus humains a augmenté considérablement. La greffe d'organes infestés (principalement cardiaque) a provoqué des toxoplasmoses graves dues : au nombre de toxoplasmes inoculés d'une part et au traitement par les immunodépresseurs qu'impose toute greffe d'autre part.

5. IMMUNOLOGIE

Le développement de l'immunologie parasitaire ne s'est fait que très tardivement par rapport aux autres disciplines scientifiques. Cet apport non négligeable a permis de mieux étudier les parasites et leur structure. C'est grâce à ces connaissances qu'on a pu développer les méthodes diagnostiques en particulier celles de la toxoplasmose.

5.1. STRUCTURE ANTIGENIQUE :

L'électrophorèse a permis d'observer plusieurs centaines de molécules qui ont prouvé qu'il existe plusieurs souches de toxoplasme. La structure antigénique du toxoplasme montre une infinité de particules appartenant à des organites différents.

Certains antigènes reconnus par les IgA (PM: 26, 31, 35 Kd) témoignent d'une toxoplasmose récente, car ils sont absents lorsque la maladie devient chronique.

5.1.1. La Membrane :

Les composants protéiniques majeurs des molécules de surface sont représentés surtout par la P30 qui en constitue, plus de 5%. Elle est à l'origine de presque la totalité des réponses immunitaires au cours de la toxoplasmose.

5.1.2. Le Complexe Apical :

Au niveau du complexe apical quelques molécules présentent un intérêt diagnostique voir même vaccinal. En effet lors des séroconversions, on a observé une production très précoce d'immunoglobulines dirigées contre la molécule P108 et ce n'est que par la suite que les anticorps anti P24, P28, P39 (constituant le complexe) font leur apparition.

5.1.3. Les Rhoptries :

Elles possèdent une protéine majeure la P55 qui est à l'origine d'une réponse lymphocytaire importante.

5.2. LA REPOSE IMMUNITAIRE :

Au cours de la toxoplasmose acquise la réponse est principalement humorale. On observe l'apparition de trois types d'immunoglobulines IgA, IgM et IgG. La cinétique de ces anticorps montre qu'après un temps de latence variant de 5 à 8 jours une augmentation dans le sérum des IgA et IgM vers le 10^{ème} jour. La concentration de ces immunoglobulines A augmente pour atteindre un taux maximum au bout d'un mois à 45 jours, mais elles disparaissent toujours plus précocement que les IgM entre la 10^{ème} et la 24^{ème} semaine. Elles sont donc totalement absentes lors des phases chroniques de la maladie. Parmi les autres avantages de la recherche des IgA : leur présence n'interfère pas avec celle du facteur rhumatoïde et leur production n'est pas perturbée lors de syndrome immunodépressif acquis, ce qui n'est pas le cas des IgM. La production de ces anticorps est induite principalement par la protéine P30 et secondairement les antigènes P22 et P43. Il faut rappeler que les IgA et les IgM ne traversent pas la barrière foeto-placentaire à cause de leur poids moléculaire.

Quant aux IgM elles apparaissent presque en même temps que les IgA mais leur taux augmente plus rapidement et peuvent persister dans certains cas des années (détectées surtout par les techniques d'immunocapture). Cependant leur disparition est retardée par rapport à celle des IgA, elle se fait entre la 35^{ème} et la 40^{ème} semaine.

Les IgG font leur apparition vers la deuxième semaine, après l'infestation et dépassent les taux de 2560 U.I. dans certains cas dès la 8^{ème} semaine. Ces concentrations peuvent rester en plateau pendant plusieurs semaines ; la phase dégressive n'est amorcée qu'au 5^{ème} mois et dure 3 à 4 mois. Un taux résiduel reste témoin de la maladie et protège la personne en cas de réinfestation. Lors de cette dernière situation, le taux témoin aurait tendance à augmenter légèrement, mais toujours sans production des autres immunoglobulines. Un deuxième test sérologique fait 2 à 3 semaines après peut témoigner d'une toxoplasmose récente si l'ascension des IgG se fait d'une manière significative. Ces sérums seront prélevés dans des conditions identiques, testés avec la même technique et si possible par le même manipulateur.

La cinétique de ces anticorps est nécessaire, voire même indispensable pour préciser le stade de la maladie et surtout déterminer la date exacte de la contamination qui va dicter la conduite à tenir chez la femme enceinte.

6. CLINIQUE

Il y a deux grandes entités : la toxoplasmose acquise et la toxoplasmose congénitale, qui diffèrent totalement l'une de l'autre, tant sur le plan diagnostique, pronostique, que sur le plan prophylactique.

6.1. TOXOPLASMOSE ACQUISE :

Elle est dans la majorité des cas bénigne et peut être même asymptomatique. Chez certains sujets, elle peut être sévère pouvant causer la mort du malade. D'une manière générale l'évolution dépend de l'état immunitaire de la personne et aussi, d'après certaines hypothèses, de la souche toxoplasmique infestante. Suivant les formes cliniques on distingue : la toxoplasmose acquise bénigne et la toxoplasmose acquise grave.

6.1.1.) Toxoplasmose acquise bénigne :

La toxoplasmose peut rester cliniquement muette dans plus de 80% des cas. La découverte de la maladie se fait lors d'un examen sérologique de routine généralement chez une femme enceinte jusque-là séronégative et qui n'a présenté aucun signe témoignant de sa contamination.

Dans certains cas on observe, après une incubation de quelques jours, un syndrome mononucléosique avec des adénopathies principalement cervicales, une fièvre, une asthénie et des signes cutanés inconstants. Toute cette symptomatologie ne dure que quelques jours. Seules persisteront des adénopathies fermes, indolores, mobiles, pouvant s'étendre à d'autres chaînes lymphatiques (sous-maxillaire, occipitales, etc...). Ces adénopathies persistent quelques mois voir des années sans jamais suppurer.

6.1.2.) Toxoplasmose acquise grave :

Elle se présente sous plusieurs formes cliniques, mettant le pronostic vital du malade en jeu. Les plus fréquentes sont :

Forme méningo-encéphalitique :

Elle s'observe généralement chez les jeunes enfants. La phase d'état est marquée par des signes neurologiques à type de syndrome méningé avec ou non des crises d'épilepsies.

La forme pseudotumorale :

Elle se caractérise par un début brutal, par des déficits neurologiques à type de paralysies, d'hémiplégies occasionnant des séquelles graves et définitives.

Formes infectieuses généralisées :

Observées souvent en cas d'infections massives au laboratoire par des souches très virulentes, elles se voient également chez les sujets immunodéprimés. Le syndrome infectieux est grave marqué par une altération profonde de l'état général

Toxoplasmose acquise oculaire :

Elle se manifeste surtout par des chorioretinites et des uvéites postérieures.

6.2. TOXOPLASMOSE CONGÉNITALE :

Elle témoigne du passage du toxoplasme à travers le placenta. Cette contamination fœtale n'a lieu que lors de la phase primaire de la maladie, c'est à dire lors de la septicémie parasitaire. La transmission du protozoaire par voie transplacentaire n'est pas obligatoire, elle est même rare. Certaines études ont montré que ce passage ne s'effectue que chez 5°/oo des femmes enceintes.

La naissance d'un enfant apparemment sain ne signifie pas qu'il n'y a pas eu contamination. Certaines complications tardives ne se manifestent qu'après plusieurs années.

La gravité de ces malformations congénitales dépend de la date de l'infestation de la mère par rapport à l'âge de sa grossesse. En effet l'atteinte fœtale est d'autant plus sévère que la contamination maternelle a été précoce.

7. DIAGNOSTIC

Le diagnostic de la toxoplasmose est presque toujours indirect. Il doit être précoce en raison des complications congénitales et de la fréquence des formes latentes. Chez la femme enceinte, il est posé dans la majorité des cas lors d'un examen systématique. Nous décrirons dans ce chapitre les moyens les plus fréquemment utilisés dans le domaine de la recherche et du diagnostic de la toxoplasmose, cependant nous n'aborderons pas les examens spécifiques appliqués chez les sujets immunodéprimés.

7.1.) EXAMENS D'ORIENTATION :

7.1.1. Formes Acquises :

- * La formule numération sanguine montre une hyperleucocytose
- * Devant toute toxoplasmose acquise ou congénitale un fond d'œil doit être pratiqué systématiquement à la recherche de plages atrophiques rétiniennes, de chorioretinites et autres lésions ophtalmiques.
- * La biopsie ganglionnaire montre une hyperplasie lymphoïde mixte à prédominance histiocytaire et à cellules hyperbasophiles.
- * Les examens physiques contribuent pour une grande part dans le diagnostic de la maladie, surtout chez les immunodéprimés. Nous citerons principalement les examens pratiqués lors de localisations cérébrales à savoir: l'électroencéphalogramme, la tomodensitométrie ou la résonance magnétique cérébrale.

7.1.2. Formes Congénitales:

La toxoplasmose congénitale peut être diagnostiquée avant la naissance, lors d'une séroconversion ou lors d'un examen physique de routine

7.1.2.1. Les examens physiques :

L'échographie : Elle est d'un grand apport diagnostique surtout lors de contaminations précoces. Elle met en évidence toute malformation quelle que soit sa localisation principalement celles du système nerveux central. Elle objective aussi la présence d'une hépatosplénomégalie accompagnée ou non d'une ascite ; ces derniers signes révèlent une atteinte viscérale grave. Cet examen permet aussi de faire des prélèvements de sang fœtal et de liquide amniotique par échographie guidée.

Les radiographies standards sont pratiquées à la fin du troisième trimestre, surtout pour confirmer les résultats de l'échographie. Elles peuvent objectiver des calcifications intracrâniennes ou autres malformations intra cérébrales.

7.2. MISE EN EVIDENCE DES PARASITES :

7.2.1. Colorations Directes :

La mise en évidence du parasite à l'examen direct reste exceptionnelle dans les différents prélèvements ; les plus fréquemment réalisés sont : les biopsies ganglionnaires, les ponctions de moelle et les prélèvements de liquides biologiques (L.C.R., liquide pleural, humeur aqueuse, épanchements divers). Enfin l'examen anatomopathologique de tissus et des pièces d'exérèse est possible à savoir les adénopathies, la rate, le placenta et les autres organes biopsiés.

Les colorations réalisées sont principalement : Hemalun-éosine et le May Grünwald Giemsa ou M.G.G,

7.2.2. Inoculation à l'Animal :

Cette technique a amélioré les résultats décevants de l'examen direct, mais elle n'est pas d'un apport important dans le diagnostic de la maladie. L'inoculation intra-péritonéale murine de liquides biologiques ou de tissus traités par de la trypsine montre dans l'ascite de l'animal des trophozoïtes de toxoplasmes après un délai de 3 à 15 jours.

7.2.3. Culture Cellulaire :

La culture cellulaire in vitro n'apporte rien de plus au diagnostic par rapport à l'inoculation à l'animal si ce n'est la rapidité de la réponse. En effet, la lecture des cultures se fait dans un délai maximum de 48 à 72 heures. Les cellules les plus utilisées sont surtout les fibroblastes embryonnaires humains (type MRC 5) ou des lignées de monocytes (THP1).

La lecture positive de ces cultures, montre l'apparition de toxoplasmes en croissance.

7.2.4. Biologie Moléculaire : la P.C.R.

La mise en évidence des parasites est délicate, cependant la découverte des structures moléculaires du protozoaire est devenue possible de nos jours grâce à la P.C.R.(polymérase

chain réaction). C'est une technique très sensible. Elle permet de détecter l'A.D.N. parasite.

Si le principe de la réaction paraît simple, son application dans le diagnostic courant est plus délicate. En effet certaines difficultés techniques demeurent de taille parmi lesquelles : l'extraction de l'ADN parasite et son interférence avec l'ADN humain contenu dans les échantillons biologiques.

7.3.) TECHNIQUES SEROLOGIQUES :

En règle générale le diagnostic de la forme acquise repose sur la mise en évidence de la réponse immunitaire, principalement humorale et spécifique, car les méthodes directes sont difficiles à pratiquer.

Ces techniques mettent en évidence les anticorps et les antigènes circulants dans les différents liquides biologiques. La recherche des immunoglobulines est courante dans le diagnostic de la maladie, par contre celle des antigènes n'est pratiquée que dans des laboratoires très spécialisés.

7.3.1. Recherche d'Anticorps :

7.3.1.1. Techniques à Antigènes Figurés :

Ce sont des réactions qui utilisent des antigènes complets et dans certains cas des parasites vivants, d'où la nécessité de faire la culture des toxoplasmes au sein du laboratoire même.

Le Dye test :

C'est l'une des premières techniques utilisée dans le diagnostic de la toxoplasmose, elle a été mise au point en 1948 par Sabin et Feldman. Le test était tinctorial, utilisant un colorant vital (bleu de méthylène) ; de nos jours la lecture se fait directement au microscope à contraste de phase.

C'est une méthode facile à réaliser, sensible, reproductible et elle détecte très précocement les anticorps produits par le malade..

L'immunofluorescence Indirecte :

C'est une technique très largement utilisée, utilisant des toxoplasmes fixés sur lames généralement siliconées. Les titres d'anticorps sont exprimés en unités internationales correspondant à la dernière dilution positive.

C'est une technique d'exécution facile, qui permet suivant le conjugué utilisé, de tester la présence des immunoglobulines M (test de Remington), des IgG et IgA.

Agglutination directe :

Comme toutes les réactions d'agglutination, elle a pour principe d'incuber les différentes dilutions de sérums avec des suspensions de toxoplasmes fixés.

La technique est effectuée dans des plaques de microtitration et permet de titrer les IgG et les IgM, à condition de traiter les sérums au 2-mercapto-éthanol (2 M.E.).

L'I.S.A.G.A. :

C'est l'Immuno Sorbet Agglutination Assay. Son principe repose sur l'immunocapture des immunoglobulines. Elle permet d'évaluer le taux des classes d'anticorps : IgA, IgM et IgE.

7.3.1.2. Technique à Antigène Soluble :

Les réactions utilisant des antigènes solubles sont de plus en plus employées dans le diagnostic de la toxoplasmose. La sensibilité de ces techniques dépend de la qualité des antigènes.

L'hémagglutination passive :

C'est une réaction quantitative très utilisée dans le diagnostic de la toxoplasmose en raison de la facilité et de la rapidité de sa lecture. Pour tester la présence d'immunoglobulines M on traite aussi le sérum avec le 2 M.E.

L'E.L.I.S.A. : (Enzyme Linked Immunologie Sorbet Assay)

C'est une réaction très employée devenant même une technique de routine.

Les avantages de ces techniques sont : la lecture objective, une bonne reproductibilité, elle se prête aux grandes enquêtes, elle est automatisable. Cependant, la réaction et sa sensibilité, sont conditionnées par la nature de l'antigène utilisé.

Un matériel spécifique est toujours nécessaire.

E.L.I.F.A.: Enzyme Linked Immuno Filtration Assay

C'est une technique qui se pratique en deux temps. En premier lieu on fait une simple électrosynérèse, puis dans un deuxième temps on met en évidence les arcs de précipitation par une méthode enzymatique. Ce test nous permet de comparer plusieurs sérums en mettant en évidence les arcs de précipitation différents suivant les antigènes utilisés. Elle permet aussi de

déceler les différentes classes d'immunoglobulines et principalement de comparer les sérums de la mère et du nouveau-né après quelques jours seulement de sa naissance.

Tests au Latex :

C'est une technique d'une grande simplicité, l'antigène parasitaire est fixé sur des particules de latex. C'est une réaction qui a l'avantage d'être très simple, rapide et peut être utilisée comme technique de dépistage dans des enquêtes épidémiologiques.

Western-blot:

C'est un test qui permet de mettre en évidence les isotypes des anticorps toxoplasmiques

7.3.2. Recherche d'Antigènes Circulants :

Ce sont des réactions très peu employées dans le diagnostic courant des toxoplasmoses. Elles consistent à détecter les antigènes d'excrétion ou de sécrétion dans les liquides biologiques surtout si la réponse humorale est faible.

7.3.3. Les examens sérologiques fœtaux :

Ils sont pratiqués sur du sang fœtal ou sur du liquide amniotique. Le sang est prélevé sous repérage échographique de la veine ombilicale. La détection des IgM spécifiques se fait par immunocapture. Les IgG spécifiques sont détectées par plusieurs techniques, les plus employées sont l'E.L.I.F.A, le Dye test et enfin les méthodes d'agglutination directe.

Ces tests sérologiques n'ont d'intérêt que si le système immunitaire du fœtus s'est développé (au delà de la 22ème semaine en moyenne).

8. TRAITEMENT

8.1.) DROGUES UTILISEES :

8.1.1.) Antifoliniques :

Comme leur nom l'indique, ils inhibent la dehydrofolate réductase.

Commercialisée sous le nom de Malocide® c'est une diaminopyrimidine de synthèse qui diffuse très bien dans les tissus, en particulier au niveau du placenta, et du liquide céphalo-rachidien. Elle présente des effets secondaires hématologiques réversibles, qui imposent une

surveillance de la formule numération sanguine. L'apparition de signes cutanés impose l'arrêt immédiat du traitement. A cause des effets tératogènes observés chez l'animal, la pyriméthamine est contre indiquée chez la femme enceinte.

8.1.2.) Les antibiotiques :

L'antibiotique le plus utilisé est la Spiramycine ou Rovamycine®. C'est un macrolide qui se concentre très bien dans le tissu placentaire, et se retrouve dans le sang du fœtus. Elle est prescrite à des doses de 150 mille unités internationales/Kg/j chez l'enfant et 6 à 9 millions D'U.I./jour chez l'adulte. Elle a une action sur les ribosomes empêchant la synthèse de protéines, et la multiplication cellulaire.

D'autres macrolides sont utilisés, leur concentration minimum inhibitrice est inférieure à celle de la Spiramycine, mais ils ont une plus longue demi-vie plasmatique et surtout ils traversent la barrière méningée. Nous citerons comme exemple: la Clarithromycine, et la Roxithromycine. La tolérance des macrolides est très bonne, à l'exception des troubles digestifs et cutanés.

Les lincosamides sont utilisées dans certains cas, et ont un puissant effet inhibiteur annulant même la parasitémie.

La clindamycine est prescrite en association avec la pyriméthamine.

8.2.) INDICATIONS :

8.2.1.) Traitement maternofoetal :

On utilise principalement chez la femme enceinte la Spiramycine en cas de séroconversion ou de toxoplasmose évolutive. Le traitement doit commencer dès l'élévation des anticorps jusqu'à l'accouchement à raison de 3 millions d'unités toutes les 8 heures.

En cas d'atteinte foetale le traitement se fait par la Pyriméthamine associée aux sulfamides en cures de trois semaines par trimestre, en alternant avec de la Spiramycine.

8.2.2. Traitement des foetopathies :

Quand les foetopathies sont diagnostiquées in utero, le traitement doit se poursuivre après la naissance afin de limiter les atteintes tissulaires, et prévenir les lésions latentes. En tout état de

cause, une surveillance sérologique du nouveau-né est impérative pendant et après le traitement.

8.2.3. Traitement de la toxoplasmose chez l'immunodéprimé :

Concernant le traitement des surinfections toxoplasmiques chez l'immunodéprimé, le choix des molécules dépend des manifestations cliniques, et des organes atteints. Les doses d'entretien sont prescrites à vie pour éviter les récurrences.

9. PROPHYLAXIE

Concernant la toxoplasmose les mesures prophylactiques visent à prévenir surtout les malformations congénitales et les surinfections des immunodéprimés. La contamination orale de l'adulte, et l'absence de signes cliniques évocateurs impliquent respectivement, une prévention basée sur des mesures hygiéno-diététiques, et une surveillance sérologique de la maladie.

Ces mesures s'adressent aux femmes enceintes séronégatives; la prévention de leur infestation impose :

- Une hygiène alimentaire stricte qui consiste à bien laver toute crudité, et à éviter de consommer les viandes saignantes
- Eviter tout contact avec les chats et leur litière. En effet une simple caresse de l'animal expose au risque certain de contamination par les oocystes mûrs (oxygène et humidité) fixés sur son pelage.
- Une surveillance sérologique mensuelle des gestantes réceptives est indispensable afin d'instaurer un traitement précoce en cas de séroconversion.
- Enfin l'éducation sanitaire des futures mamans est d'un apport considérable pour les sensibiliser à un suivi régulier de leur sérologie.