



Réponse immunitaire et marqueurs épidémiologiques dans le cadre de la toxoplasmose congénitale

Sarah Dion

► To cite this version:

Sarah Dion. Réponse immunitaire et marqueurs épidémiologiques dans le cadre de la toxoplasmose congénitale. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-03225404

HAL Id: dumas-03225404

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03225404>

Submitted on 12 May 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

Thèse en vue du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par
Sarah Dion

**Réponse immunitaire
et marqueurs
épidémiologiques
dans le cadre de la
toxoplasmose
congénitale**

**Thèse soutenue à Rennes
le 24 Octobre 2019**

devant le jury composé de :

Joël BOUSTIE

PU Université Rennes 1 / Président

Florence ROBERT-GANGNEUX

PU-PH Université Rennes 1 / Directrice de thèse

Jean-Charles CORBEL

Docteur en Pharmacie/ *Examineur*

Zohreh TAMANAI-SHACOORI

MCU Université Rennes 1/ *Examinatrice*

N° d'ordre :



ANNÉE 2019



THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

Thèse en vue du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par
Sarah Dion

**Réponse immunitaire
et marqueurs
épidémiologiques
dans le cadre de la
toxoplasmose
congénitale**

**Thèse soutenue à Rennes
le 24 Octobre 2019**

devant le jury composé de :

Joël BOUSTIE

PU Université Rennes 1 / Président

Florence ROBERT-GANGNEUX

PU-PH Université Rennes 1 / Directrice de thèse

Jean-Charles CORBEL

Docteur en Pharmacie/ *Examinatrice*

Zohreh TAMANAI-SHACOORI

MCU Université Rennes 1/ *Examinatrice*

LISTE DES ENSEIGNANTS CHERCHEURS DE LA FACULTE

ANNEE 2018-2019

Listes des enseignants-chercheurs de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

PROFESSEURS

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	BOUSTIE Joël	X	HDR	
2	DONNIO Pierre Yves	X	HDR	X
3	FAILI Ahmad		HDR	
4	FARDEL Olivier	X	HDR	X
5	FELDEN Brice	X	HDR	
6	GAMBAROTA Giulio		HDR	
7	GOUGEON Anne	X	HDR	
8	LAGENTE Vincent	X	HDR	
9	LE CORRE Pascal	X	HDR	X
10	LORANT (BOICHOT) Elisabeth		HDR	
11	MOREL Isabelle	X	HDR	X
12	SERGENT Odile	X	HDR	
13	SPARFEL-BERLIVET Lydie	X	HDR	
14	TOMASI Sophie	X	HDR	
15	URIAC Philippe	X	HDR	
16	VAN DE WEGHE Pierre		HDR	
17	VERNHET Laurent	X	HDR	

PROFESSEURS ASSOCIES

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	BUREAU Loïc	X		
2	DAVOUST Noëlle	X		

PROFESSEURS EMERITES

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	CILLARD Josiane	X	HDR	
2	GUILLOUZO André		HDR	

MAITRES DE CONFERENCES

			Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	ABASQ-PAOFAI	Marie-Laurence			
2	ANINAT	Caroline	X	HDR	
3	AUGAGNEUR	Yoann			
4	BEGRICHE	Karima			
5	BOUSARGHIN	Latifa		HDR	
6	BRANDHONNEUR	Nolwenn			
7	BRUYERE	Arnaud	X		
8	BUNETEL	Laurence	X		
9	CHOLLET-KRUGLER	Marylène	X		
10	COLLIN	Xavier	X		
11	CORBEL	Jean-Charles	X	HDR	
12	DELALANDE	Olivier			
13	DELMAIL	David		HDR	
14	DION	Sarah	X		
15	DOLLO	Gilles	X	HDR	X
16	GICQUEL	Thomas	X		X
17	GILOT	David		HDR	
18	GOUAULT	Nicolas		HDR	
19	HITTI	Eric			
20	JEAN	Mickaël	X		
21	JOANNES	Audrey			
22	LECUREUR	Valérie		HDR	
23	LE FERREC	Eric	X		
24	LE GALL-DAVID	Sandrine			
25	LE PABIC	Hélène			
26	LEGOVIN-GARGADENNEC	Béatrice			
27	LOHEZIC-LE DEVEHAT	Françoise	X		
28	MARTIN-CHOULY	Corinne		HDR	
29	NOURY	Fanny			
30	PINEL-MARIE	Marie-Laure			
31	PODECHARD	Normand			
32	POTIN	Sophie	X		X
33	RENAULT	Jacques	X	HDR	
34	ROUILLON	Astrid			

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE (AHU)

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	BACLE	Astrid	X	X
2	BOUVRY	Christelle	X	X

ATER

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	CHEBIK	Lisa	X	

LRU

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	AFONSO	Damien		
2	VICTONI	Tatiana	X	

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Joël BOUSTIE, merci d'avoir accepté si volontiers de présider mon jury de thèse. Nos discussions autour du métier du pharmacien d'officine sont toujours un plaisir pour moi.

A Monsieur Jean-Charles CORBEL, je te remercie d'avoir accepté de participer à l'évaluation de cette thèse. De nos premiers échanges lors de mon recrutement en 2015 jusqu'à ceux d'aujourd'hui autour de sujets variés, je garderai un très bon souvenir de toutes ces discussions. Ton départ à la retraite est un peu trop précoce à mon goût !

A Madame le Professeur Florence ROBERT-GANGNEUX, collègue et directrice de thèse, notre passion pour la recherche sur la toxoplasmose aura été le point de départ pour mon implication sur ce travail de thèse dont tu es à l'origine. Merci pour ta disponibilité, ton aide et ton soutien dans ce travail de thèse, tout particulièrement dans la dernière ligne droite.

A Madame Zohreh SHACOORI, merci d'avoir accepté de juger ce travail de thèse et de participer à la discussion autour de cette pathologie.

A Monsieur le Professeur Jean-Pierre GANGNEUX, merci d'avoir accepté que je réalise l'intégralité de mon externat de pharmacie au sein du service de parasitologie-mycologie au CHU de Pontchaillou.

A toute l'équipe de Parasitologie côté Pharma et côté Médecine, merci pour votre participation de près ou de loin à la réalisation de cette thèse. Merci à Christelle et Aurélien pour leur accueil et leur bonne humeur ainsi que leur soutien. Merci à Brigitte, Sorya, et Hélène pour leurs discussions autour de notre discipline commune mais pas que. Merci à Chantal, Magali, Sandra et Kévin pour les pauses café dans le service.

Un merci tout particulier à Brice, ce travail de thèse n'aurait eu aucun sens sans toute l'analyse statistique que tu as réalisée.

A tous les techniciens du laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Pontchaillou qui ont généré tous les blots analysés dans ce travail et que j'ai côtoyés pendant tout mon externat.

A mes co-externes de pharmacie, notamment Anissa.

A ma promo de Pharma de Tours. Merci pour votre accueil et soutien quand je vous ai rejoint en P3 après ma passerelle. En échange de colorations de gram, j'ai bénéficié de vos lumières en galénique notamment ! Un merci particulier à Pauline, Agathe, Emmanuelle, Manon, Elisabeth, Anthony et Thomas.

A l'équipe 2IFEF (IRSET), équipe de recherche que j'ai intégrée en 2015 lors de mon recrutement en tant que MCU.

A mes parents, merci d'avoir toujours été derrière moi et de me soutenir dans ce que j'entreprends ! Sans oublié mes frères.

Enfin, à ma famille, Arnaud, Louise et Jules. Ce n'est pas évident de gérer une étudiante à la maison !!!

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

-D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

-D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

-De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



TABLE DES MATIERES

Liste des annexes	7
Liste des Figures	8
Liste des Tableaux	10
Liste des abréviations	11
Introduction	12
Partie I : Toxoplasmose : revue bibliographique	14
1. <i>Toxoplasma gondii</i> : généralités	14
A. Agent parasitaire	14
B. Cycle parasitaire	15
C. Immunité anti-toxoplasmique	17
2. Toxoplasmose chez la femme enceinte	21
A. Epidémiologie	21
B. Tableau clinique	21
C. Diagnostic sérologique de la toxoplasmose chez la femme enceinte	22
D. Accompagnement de la femme enceinte en fonction de son statut immunitaire pour la toxoplasmose	25
3. Toxoplasmose congénitale	28
A. Epidémiologie	28
B. Les différents tableaux cliniques de toxoplasmose congénitale	30
C. Diagnostic biologique post-natal de toxoplasmose congénitale	33
D. Suivi et prise en charge thérapeutique du nouveau-né	35
Partie II : Matériel et Méthodes	36
1. Populations étudiées	36
2. Détermination du profil d'IgG anti-toxoplasmique par western blot à l'aide du logiciel BioNumerics	36
A. Western blot IgG anti-toxoplasmique	36
B. Numérisation et standardisation des westerns blots	39
C. Détermination des profils IgG anti-Toxoplasmique par BioNumerics	40
3. Recueil des différentes données	45
4. Géolocalisation	46
5. Analyses statistiques	46
A. Analyse multifactorielle	46
B. ANOVA	47
Partie III : Résultats	48
1. Analyse descriptive de la cohorte de patients	48
A. Cas de séroconversion et de toxoplasmose congénitale en fonction du trimestre de grossesse	48
B. Occurrence des bandes détectées en western blot selon le statut du bébé à la naissance	48
C. Diversité de la réponse immunitaire humorale en fonction du trimestre de séroconversion	49
2. Analyse multifactorielle	50
A. Analyse sur les mamans ayant donné naissance à des bébés infectés ou non par le parasite	50
B. Analyse sur les bébés infectés <i>in utero</i> par <i>Toxoplasma gondii</i>	67
Conclusion	71
Bibliographie	76
Annexes	82

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2010	82
Annexe 2 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2011	84
Annexe 3 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2012	86
Annexe 4 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2013	87
Annexe 5 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2014	88
Annexe 6 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2015	90
Annexe 7 : Codes postaux des patientes avec une séroconversion pour la toxoplasmose entre 2010 et 2015 et génotype de la souche de <i>T. gondii</i> impliqué en cas de toxoplasmose congénitale	92

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle parasitaire de <i>Toxoplasma gondii</i>	16
Figure 2 : Réponse immunitaire innée et adaptative lors d'une infection par le parasite <i>Toxoplasma gondii</i>	17
Figure 3 : Cinétique des anticorps anti- <i>Toxoplasma</i> lors d'une primo-infection et tests permettant leur détection.....	19
Figure 4 : Evolution de la séroprévalence pour la Toxoplasmose en France entre 1960 et 2010.....	21
Figure 5 : Conduite à tenir en cas de primo-infection en cours de grossesse selon les recommandations de l'HAS.....	26
Figure 6 : Distribution régionale du nombre de cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués en France en 2008 (A) et 2017 (B) pour 1000 naissances.....	29
Figure 7 : Impact et conséquences cliniques de l'infection à <i>T. gondii</i> pour le fœtus ou pour le nouveau-né en fonction de l'âge gestationnel d'infection.....	32
Figure 8 : Principe du western blot pour la détection des IgG ou IgM anti-toxoplasmiques.....	37
Figure 9 : Toxoplasmose congénitale, exemples d'un résultat négatif (A, enfant non contaminé) et positif (B, enfant contaminé).....	38
Figure 10 : Régressions linéaires des marqueurs de taille fournis avec le kit TOXOPLASMA WB IgG-IgM™.....	38
Figure 11 : Feuille de résultats de western blot toxoplasmose du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Rennes.....	39
Figure 12 : Deux exemples de données qui peuvent être analysées par le module Fingerprint de BioNumerics.....	41
Figure 13 : Création d'un marqueur de taille de référence dans le module fingerprint.....	43
Figure 14 : Traitement et normalisation des profils d'IgG obtenus par WB.....	43
Figure 15 : Exemple d'alignements de profil de migration afin de générer des catégories de bandes de taille équivalentes.....	44
Figure 16 : Occurrence en % de chaque classe de bande obtenue par analyse des WB en fonction du statut du bébé à la naissance.....	49
Figure 17 : Nombre de bandes sur WB en fonction du trimestre d'infection quel que soit le statut du bébé à la naissance.....	50
Figure 18 : Représentation graphique des valeurs propres de chaque variance en fonction de la dimension.....	52
Figure 19 : Cercle des corrélations de la variable N bande pour les dimensions 1 et 2.....	53
Figure 20 : Cercle des corrélations des variables quantitatives.....	54
Figure 21 : Représentation des modalités des variables actives dans les dimensions 1 et 2.....	55
Figure 22 : Représentation des individus selon le statut d'infection du bébé dans les dimensions 1 et 2	56
Figure 23 : Représentation des modalités des variables actives (en rouge) avec les variables supplémentaires (en vert) dans les dimensions 1 et 2.....	57
Figure 24 : Représentation des individus selon le statut d'infection du bébé dans les dim 1 et 2.....	58
Figure 25 : Représentation des individus selon le trimestre d'infection de la maman selon les dimensions 1 et 2.....	59
Figure 26 : Représentation des individus selon la présence ou non de lésions cliniques selon les dimensions 1 et 2	59
Figure 27 : Représentation des individus selon le traitement anti-toxoplasmique dans les dimensions 1 et 2	60

Figure 28 : Représentation des modalités et des variables supplémentaires dans dimensions 1 et 2 des patientes infectées au trimestre 1	61
Figure 29 : Représentation de l'occurrence en % de chaque bande en fonction du statut du bébé pour les mamans infectées au trimestre 1 de grossesse.....	62
Figure 30 : Représentation des modalités et des variables supplémentaires dans dimensions 1 et 2 des patientes infectées au trimestre 2.....	63
Figure 31 : Représentation de l'occurrence en % de chaque bande en fonction du statut du bébé pour les mamans infectées au trimestre 2 de grossesse.....	64
Figure 32 : Représentation des modalités et des variables supplémentaires dans dimensions 1 et 2 des patientes infectées au trimestre 3.....	65
Figure 33 : Représentation de l'occurrence en % de chaque bande en fonction du statut du bébé pour les mamans infectées au trimestre 3 de grossesse.....	65
Figure 34 : Géo-localisation des cas de mères ayant eu une séroconversion en cours de grossesse.....	66
Figure 35 : Géo-localisation des cas de MBI.	67
Figure 36 : Représentations de l'ACM pour les bébés infectés par <i>T. gondii</i>	68
Figure 37 : Dendrogramme et matrice de similarités basés sur les similarités les profils IgG anti- <i>Toxoplasma</i> des bébés atteints de TC.	70
Figure 38 : Structures de <i>T. gondii</i>	72
Figure 39 : Représentations schématiques des différentes étapes de l'invasion cellulaire de <i>T.gondii</i>	73
Figure 40 : Représentations des occurrences en % des différentes bandes détectées sur WB IgG anti- <i>Toxoplasma</i> en fonction du poids moléculaires pour les MBNI selon le trimestre d'infection.....	75

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Les différentes techniques utilisées en tests sérologiques pour la recherche d'anticorps <i>anti-Toxoplasma</i>	23
Tableau II : Résultats possibles des sérologies anti-Toxoplasmiques chez l'individu immunocompétent.....	24
Tableau III: Adaptation thérapeutique chez la femme enceinte primo-infectée par <i>T. gondii</i> en fonction du résultat positif lors du diagnostic prénatal.....	28
Tableau IV : Effectifs des cas de toxoplasmose congénitale diagnostiquées depuis la mise en place de la surveillance par le CNR (2007) jusqu'à aujourd'hui (2017).	29
Tableau V : Exemple de table d'occurrence des catégories de bandes selon chaque patiente.....	44
Tableau VI: Cas de séroconversion pour la toxoplasmose, cas de toxoplasmose congénitale (TC) avec lésions en fonction du trimestre de grossesse sur la période 2011-2015 au CHU Pontchaillou de Rennes	48
Tableau VII : Valeurs propres et proportion de variance pour chaque dimension	51
Tableau VIII : Coefficients de corrélation (r) et significativité (p-value sur le coefficient) des corrélations entre variables supplémentaires et dimensions	56

LISTE DES ABREVIATIONS

ACM : Analyse de Correspondances Multiples
BI : Bébé Infecté
CD : Cellules Dendritique
CIC : Calcifications Intra-Craniennes
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CNR : Centre National de Référence
DPN : Diagnostic Pré-Natal
GRA : Granule
HAS : Haute Agence de Sécurité
IFN- γ : Interferon gamma
Ig : Immunoglobuline
IL- : Interleukine
IMG : Interruption Médicale de Grossesse
InVs : Institut nationale de Veille sanitaire
ISAGA : Immunosorbent Agglutination Assay
kDa : kilo Dalton
LA : Liquide Amniotique
LT : Lymphocyte T
MBI : Mères de Bébé Infectés
MBNI : Mères de Bébé Non Infectés
MIC : Micronème
NK : Natural Killer
NKT : Natural Killer T
NO : oxyde nitrique
NT : Non Traité
PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne
PYR/SULF : Pyriméthamine/Sulfadiazine
ROP : Rophtrie
SA : Semaine d'Aménorrhée
SAG : Antigène de Surface
SIDA : Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis
SPIR : Spiramycine
TC : Toxoplasmose Congénitale
Th : Lymphocyte T helper
Treg : Lymphocyte T régulateur
UPGMA : Unweight Pair Group Method
VIH : Virus de l'Immunodéficiency Humaine
WB : Western Blot

Introduction

La toxoplasmose est une zoonose due à un eucaryote unicellulaire ubiquitaire et obligatoire, *Toxoplasma gondii*. Aujourd'hui, il est considéré que près d'un tiers de la population mondiale est infecté par ce parasite cosmopolite (1). Dans la majorité des cas, cette parasitose revêt un caractère bénin chez l'homme. Il existe cependant trois situations où la transmission à l'homme peut entraîner un tableau clinique grave. Ces situations cliniques sont fonction du contexte clinique, du statut immunitaire du patient et de la souche parasitaire impliquée.

- 1) Chez la femme enceinte, la primo-infection par *T. gondii* en cours de grossesse peut être à l'origine d'une contamination du fœtus (Toxoplasmose congénitale) et conduire à des séquelles plus ou moins graves chez le fœtus ou le nouveau-né (2) (3).
- 2) Chez les patients immunodéprimés (patients au stade SIDA, patients greffés...) une réactivation d'une infection par *T. gondii* acquise antérieurement peut parfois se traduire par un tableau clinique sévère mettant en jeu le pronostic vital en l'absence de prise en charge thérapeutique (4).
- 3) Chez le patient immunocompétent, des formes graves peuvent être observées lors d'infection par des souches parasitaires ayant un génotype particulier (5)

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la réponse immunitaire et aux marqueurs épidémiologiques dans le cadre de la toxoplasmose congénitale. Seule cette situation clinique sera donc détaillée dans ce manuscrit.

Une primo-infection toxoplasmique acquise en cours de grossesse ou en période péri-conceptionnelle peut s'accompagner d'un passage transplacentaire du parasite vers le compartiment foetal. Cette transmission verticale est alors à l'origine d'une toxoplasmose congénitale qui dans certains cas peut entraîner une interruption médicale de grossesse ou de graves séquelles chez l'enfant. Aujourd'hui, grâce à une prévention efficace menée en France, les formes inapparentes sont fort heureusement majoritaires avec cependant un risque d'évolution ultérieure vers des chorioretinites (6). En effet, au même titre que la rubéole, la syphilis et l'hépatite B, la toxoplasmose appartient aux pathologies infectieuses qui font l'objet de programmes de dépistage prénatal obligatoire depuis la fin des années 1970 (7).

La création du Centre National de Référence (CNR) de la Toxoplasmose en 2006 permet de recueillir, depuis 2007, les données des cas de toxoplasmoses congénitales dans le cadre de ses missions de contribution à la surveillance, en s'appuyant sur les Laboratoires de Parasitologie des CHU et les centres agréés pour le diagnostic prénatal. En effet, l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) puis aujourd'hui Santé Publique France en lien avec le Pôle Epidémiologie du CNR souhaite recenser les cas de toxoplasmoses congénitales afin d'évaluer la pertinence du programme national de prévention de la toxoplasmose instauré depuis 1978. Voici en quelques chiffres, les dernières données obtenues sur la toxoplasmose congénitale et extraites du rapport annuel d'activité 2018 du CNR de la Toxoplasmose, année d'exercice 2017. En 2017, 153 cas de toxoplasmose congénitale ont été diagnostiqués et recensés. Deux interruptions médicales de grossesses ont été réalisées après diagnostic prénatal (anomalies échographiques) d'une infection toxoplasmique et deux morts *in utero* ont eu lieu. La létalité ainsi que la morbidité liée à la toxoplasmose congénitale est stable depuis 2007, 2,6 % et 8.6% respectivement. Parmi les 128 enfants nés vivants pour lesquels l'information était disponible, 117 étaient asymptomatiques à la naissance et 11 présentaient des atteintes cliniques allant de formes modérées à graves (choriorétinites maculaires +/- calcifications intracrâniennes). Les taux de toxoplasmoses graves à la naissance et de choriorétinites sont en légère augmentation par rapport à ceux de 2016, 1,2% et 6,3% respectivement (8).

Mon travail de thèse a consisté à répertorier tous les cas de séroconversion toxoplasmique chez la femme enceinte entre 2010 et 2015 dont l'enfant a été suivi au CHU de Rennes. Nous avons ainsi collecté sur les mères et leurs enfants plusieurs informations telles que la date de séroconversion, la durée du traitement, le profil immunitaire IgG anti-toxoplasmiques ... A partir de ce recueil de données, une analyse multifactorielle a été conduite afin de déterminer d'éventuelles corrélations entre les paramètres étudiés.

Partie I : Toxoplasmose : revue bibliographique

1. *Toxoplasma gondii* : généralités

A. L'agent parasite

T. gondii est un parasite eucaryote unicellulaire à développement intracellulaire obligatoire, responsable d'une zoonose : la toxoplasmose. Initialement décrit en 1908 par Nicolle et Manceaux (9), *T. gondii* peut se présenter sous trois formes infectieuses, selon l'hôte et le stade du cycle :

- **La forme tachyzoïte ou trophozoïte** est la forme de multiplication asexuée rapide capable d'envahir tous les types cellulaires nucléés, chez les hôtes intermédiaires que sont les homéothermes. C'est la forme de dissémination du parasite qui est retrouvée dans le flux sanguin en cas de primo-infection. Cette forme est notamment responsable de la transmission materno-fœtale. De par la réponse immunitaire de type inflammatoire et la destruction cellulaire qu'elle induit, cette forme parasitaire est responsable des symptômes de la toxoplasmose, lorsqu'ils sont présents.
- **La forme kyste ou bradyzoïte** est la forme de latence du parasite faisant suite à la phase aiguë de l'infection. Les kystes peuvent contenir des centaines de bradyzoïtes de *T. gondii* et se localisent dans tous les tissus, en particulier dans les muscles striés, la rétine et le cerveau de l'hôte intermédiaire. Cette forme persiste tout au long de la vie, stimulant à bas bruit le système immunitaire de l'hôte, expliquant ainsi l'immunité protectrice induite après une primo-infection. En cas d'immunodépression (patient sidéen, patients greffés), le kyste peut se réactiver et se retransformer en tachyzoïtes, conduisant à des cas de toxoplasmoses sévères chez ces patients (4).
- **La forme oocyste** est issue de la reproduction sexuée du parasite dans l'épithélium intestinal de l'hôte définitif (les félinés). Cette forme est libérée dans les fèces des félinés et représente la forme de dissémination du parasite dans l'environnement. Cette forme ne devient infestante pour l'hôte intermédiaire qu'après une période de maturation dans le milieu extérieur (10).

Il existe une certaine variabilité génétique chez *T. gondii*. En effet, les premières études sur le génotypage des souches de *T. gondii* réalisées sur des isolats en France et aux Etats-Unis ont mis en évidence trois lignées clonales différentes avec peu de variations génétiques (lignées

nommées type I, II et III (11). Sur les autres continents, d'autres génotypes, nommés atypiques, recombinants ou non-classiques, ont été mis en évidence avec un taux de variations génétiques plus important (12). Sur les continents européen et américain, c'est la lignée II qui est majoritaire. Selon le génotype impliqué, les conséquences cliniques ne seront pas les mêmes.

B. Le cycle parasitaire

T. gondii présente un cycle biologique dixène comportant une phase sexuée qui se déroule chez les hôtes définitifs que sont les félinés (le chat en France) et une phase de multiplication asexuée qui se déroule chez les hôtes intermédiaires que sont les homéothermes (oiseaux, mammifères), dont l'Homme (Figure 1) (13).

- **Phase sexuée** : les félinés peuvent s'infecter en ingérant des proies présentant des kystes tissulaires de *T. gondii*. Les bradyzoïtes contenus dans ces kystes se retrouvent libérés dans la lumière intestinale où ils subissent une transformation pour devenir des tachyzoïtes. Ces derniers vont infecter et se multiplier dans les cellules de l'épithélium intestinal. Ils vont ensuite subir une transformation pour donner des gamètes mâles et femelles. Après fécondation, des oocystes sont générés et peuvent être retrouvés dans les fèces des félinés. Selon les conditions présentes dans le milieu extérieur, ces oocystes deviennent infestants en deux à cinq jours et persistent plusieurs semaines dans l'environnement tout en préservant leur pouvoir infestant.

- **Phase de multiplication asexuée** : les hôtes intermédiaires peuvent se contaminer selon deux modes principaux : (A) par l'ingestion de viande insuffisamment cuite ou crue contenant des kystes parasites ou (B) par l'ingestion d'aliments ou eau souillés par des oocystes. Quel que soit le mode de contamination, après franchissement de l'épithélium intestinal, la forme parasite évolue en tachyzoïte qui se dissémine très rapidement dans tout l'organisme, par le biais des cellules dendritiques puis des monocytes, induisant une infection aigue avec réplication active des tachyzoïtes dans toutes les cellules. Chez la personne immunocompétente, le système immunitaire contrôle la multiplication des parasites en mettant en jeu une réponse immunitaire innée et adaptative, mais est toutefois incapable d'éliminer totalement les parasites. Dans certains organes (cœur, cerveau, rétine, ...), le parasite entre en latence (transformation en bradyzoïtes) et persiste à vie sous forme kystique. Lors de la primo-infection, l'immunité cellulaire et humorale qui se met progressivement en place permet à l'organisme de se protéger vis-à-vis d'une nouvelle infection.

En dehors de ce cycle parasitaire, l'Homme peut également se contaminer par d'autres voies :

- Via la transfusion sanguine ou la greffe de cellules souches hématopoïétiques si le donneur est en phase aigüe de toxoplasmose (14)
- Via la transplantation d'organe s'il provient d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose et qu'il contient des kystes (15,16)
- Via la transmission verticale mère-enfant lors d'une primo infection par *T. gondii* en cours de grossesse entraînant une toxoplasmose congénitale.

Nous allons nous intéresser plus particulièrement à ce dernier mode de contamination puisque ce travail concerne l'étude de la réponse immunitaire et des marqueurs épidémiologiques dans le cadre de la toxoplasmose congénitale.

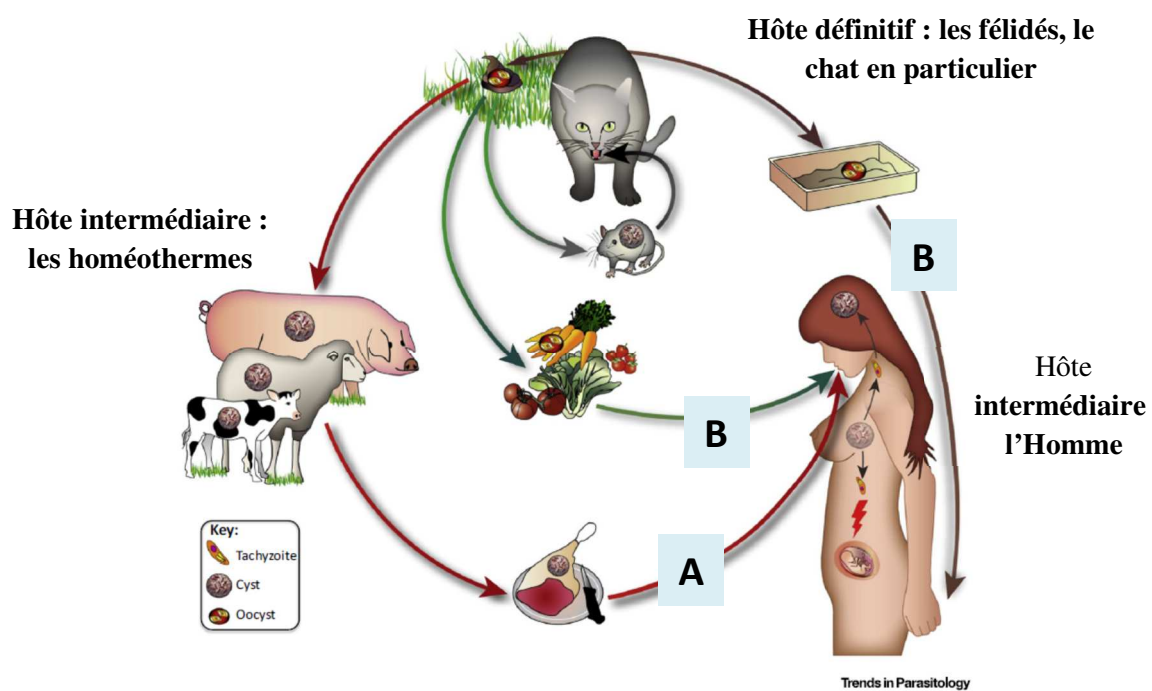


Figure 1 : Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*. Les félinés sont les hôtes définitifs permettant la phase de multiplication sexuée du parasite. L'hôte intermédiaire se contamine principalement soit (A) par ingestion de viande contenant des kystes parasitaires soit (B) par ingestion d'aliments/eau souillés par des oocystes. Se déroule ensuite la phase de multiplication asexuée du parasite chez l'hôte intermédiaire (d'après (17))

C. Immunité anti-toxoplasmique

C'est une orchestration finement régulée du système immunitaire qui permettra à l'Homme de prendre en charge, sans effets délétères, l'infection par *T. gondii* afin d'aboutir à une protection à long terme contre une éventuelle réinfection.

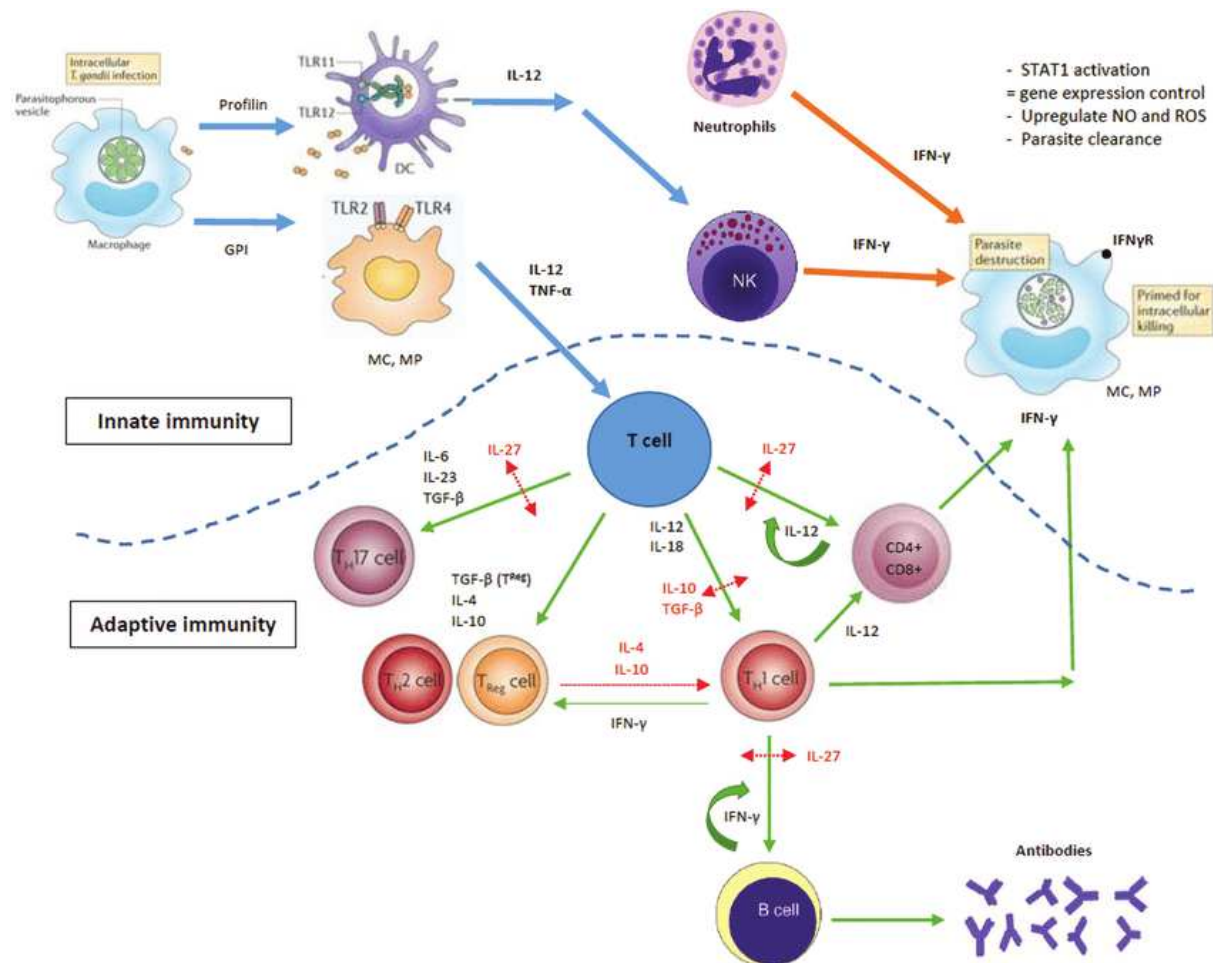


Figure 2: Réponse immunitaire innée et adaptative lors d'une infection par le parasite *Toxoplasma gondii* (18).

a. Réponse immunitaire innée

Chez l'Homme, l'infection aiguë par *T. gondii* (kystes ou oocystes) induit dans un premier temps une réponse immunitaire précoce, non spécifique (Figure 2). En effet, les chimiokines libérées par les cellules infectées permettent de recruter localement les cellules de l'immunité innée que sont les dendritiques (CDs), les macrophages, les neutrophiles et les natural killer (NKs). Les CDs représentent les cellules clés dans l'initiation de la réponse immunitaire innée. Après reconnaissance de diverses molécules parasitaires, via les récepteurs

Toll-like (TLR) ou via le récepteur CCR5, les CD α s secrètent de l'interleukine 12 (IL-12) et l'IL-18 permettant d'activer les NK et NKT (19–22). En réponse, ces deux types cellulaires produisent de grandes quantités d'interféron- γ (IFN- γ), cytokine majeure de la réponse immunitaire anti-toxoplasmique qui permet l'initiation de la réponse immunitaire protectrice de type I (20). L'IFN- γ est responsable d'une boucle d'amplification conduisant à l'exacerbation des activités microbicides et microbiostatiques des macrophages qui vont produire des dérivés nitrés oxygénés (NO) et des espèces réactives de l'oxygène. Le NO inhibe les enzymes mitochondriales et nucléaires du parasite conduisant à la destruction de celui-ci ou à sa conversion en bradyzoïtes (23–25). Secondairement, le tryptophane disponible pour le parasite est restreint, suite à sa dégradation par l'indoleamine 2-3 dioxygénase, concourant ainsi au contrôle de la croissance parasitaire (26). Le recrutement des neutrophiles et le contrôle de la parasitémie au cours des premières étapes de l'infection ont été montrés comme dépendants également de la cytokine IL-17 (27).

b. Réponse immunitaire adaptative

ii. Réponse immunitaire humorale systémique

Lors d'une primo-infection à *T. gondii*, la réponse humorale repose sur la production d'anticorps anti-*Toxoplasma* sériques de type IgM, IgA, IgG et IgE. Les anticorps anti-*Toxoplasma*, seuls ou en coopération avec l'immunité cellulaire, n'ont jamais montré une efficacité totale contre le parasite. Leur rôle semble être de limiter la propagation du parasite selon trois modes : la lyse des tachyzoïtes présents dans le compartiment extracellulaire (26), la neutralisation de la pénétration des tachyzoïtes dans les cellules (28) et le blocage de la multiplication intracellulaire du parasite (29).

La cinétique d'apparition de ces anticorps est à la base du diagnostic de la toxoplasmosé (Figure 3) (26).

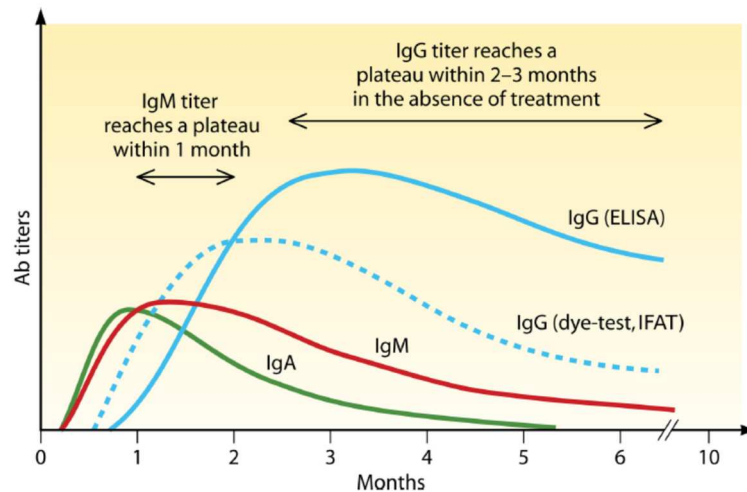


Figure 3 : Cinétique des anticorps anti-*Toxoplasma* lors d'une primo-infection et tests permettant leur détection, figure issue de (3). La précocité de détection des anticorps anti-*Toxoplasma* dépend de la technique utilisée.

Les anticorps anti-*Toxoplasma*, IgM et IgA, apparaissent au cours de la semaine suivant l'infection par le parasite. Leur titre augmente jusqu'à un pic vers un mois après l'infection. Une lente diminution du taux des IgM s'effectue dans les mois suivants jusqu'à négativation chez environ 25 % des patients en moins de sept mois, cependant grâce aux techniques actuelles d'immunocapture (Technique Immunosorbent Agglutination Assay ou ISAGA) ces anticorps sont souvent toujours détectables un an ou plus après l'infection (30). Les IgA anti-*Toxoplasma* sont des anticorps qui disparaissent plus rapidement que les IgM mais qui peuvent, selon la technique, être détectées jusqu'à neuf mois après l'infection (31).

Les anticorps anti-*Toxoplasma* IgG, sont généralement détectées environ deux-trois semaines après l'infection aiguë (mais parfois différées de 6 à 7 semaines), et atteignent un pic après deux à trois mois. Leur titre diminue progressivement sur les deux années suivant l'infection avec un niveau résiduel qui persiste toute la vie de l'individu.

Les anticorps anti-*Toxoplasma* IgE sont détectés avec des titres élevés durant les deux premiers mois et ne sont plus retrouvés après quatre mois (32). L'évolution du titre en IgE n'est pas représentée sur la figure. En effet, cet isotype n'est jamais recherché dans le cadre du diagnostic de primo-infection à *T. gondii* (aucun kit commercial).

iii. Réponse immunitaire cellulaire

Chez l'individu immunocompétent, les CD4 et les macrophages, cellules présentatrices d'antigènes professionnelles, phagocytent les parasites et induisent une réponse immunitaire cellulaire en activant les lymphocytes T (LT) non éduqués (Figure 2) (33). Les CD4 présentent

l'antigène aux LT CD4+ *via* les molécules du CMH II et aux LT CD8+ *via* les molécules du CMH I. Les lymphocytes T CD8+ exercent ainsi leur activité cytotoxique. Les LT CD4+ activés maintiennent l'activation des LT CD8+ par leur sécrétion d'IL-2. Les CD4 et les macrophages ayant phagocyté les parasites secrètent de l'IL-12 et du Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) qui interviennent dans l'activation des LT CD4+, LT CD8+ et NK (34,35). En réponse, ces cellules secrètent de l'IFN- γ et agissent alors en synergie avec le TNF- α pour contrôler l'infection *via* l'exacerbation des activités microbicides des macrophages qui s'orientent vers un profil M1 (36). Cette réponse immunitaire anti-toxoplasmique orientée vers un profil de type Th1 doit cependant être limitée car une production excessive d'IFN- γ peut entraîner des dommages tissulaires, mais aussi être à l'origine d'une fausse couche chez la femme enceinte. Ainsi en plus du profil Th1 indispensable à la lutte contre le parasite, les LT CD4+ se différencient également en Th2 qui secrètent des cytokines antiinflammatoires, telles que l'IL-10 et l'IL-4, capables de contrer les effets délétères d'une surproduction d'IFN- γ (37). Pour la majorité des souches de *T. gondii* retrouvées en France (souches dites de type II), cette réponse immunitaire se met rapidement en place limitant ainsi la croissance du parasite et permettant la survie de l'hôte et un enkystement du parasite (38). Pour les autres souches, dites de type I et III, les interactions moléculaires du parasite avec les cellules de l'hôte et en particulier les macrophages induisent l'inhibition de la production d'IL-12 et la diminution de la production d'IFN- γ , permettant d'expliquer que ces souches soient plus virulentes chez l'homme (39,40).

Chez la femme enceinte, le système immunitaire subit de nombreux changements afin de faciliter le développement placentaire et éviter le rejet du fœtus. L'environnement immunitaire est ainsi dominé par des cellules de type Th2 et Treg. En effet, le placenta synthétise de l'IL-10 et du transforming growth factor-beta qui modulent l'activation des macrophages vers un profil M2. Cet environnement cytokinique et immunitaire permet au parasite d'échapper au système immunitaire induisant une toxoplasmose chez la femme enceinte avec un tableau clinique plus marqué que chez l'immunocompétent et augmente la probabilité d'une transmission congénitale (41).

2. Toxoplasmose chez la femme enceinte

A Epidémiologie

Plusieurs facteurs entrent en jeu dans la séroprévalence de la toxoplasmose (âge, zone géographique, habitudes alimentaires, ...). En France comme dans les autres pays développés, le mode de contamination par *T. gondii* est principalement lié à la consommation de viande infectée par le parasite. Sur notre territoire, beaucoup de viandes sont consommées saignantes ou fumées, expliquant une prévalence élevée pour la toxoplasmose (de 22 à plus de 55 % en fonction des régions (3). En effet, le parasite n'est détruit qu'après une cuisson à cœur à 67°C ou après une congélation à -20°C pendant 15 jours (42). Les études épidémiologiques menées sur la toxoplasmose en France, mettent en évidence que depuis les années 60, cette séroprévalence est en constante baisse (Figure 4). Ainsi, la séroprévalence chez les femmes enceintes est passée de 84 % en 1960, à 44 % en 2003 puis à 37 % en 2010 (43,44). Cette diminution s'explique par l'élévation du niveau général d'hygiène et des nouvelles habitudes alimentaires (congélation des aliments).

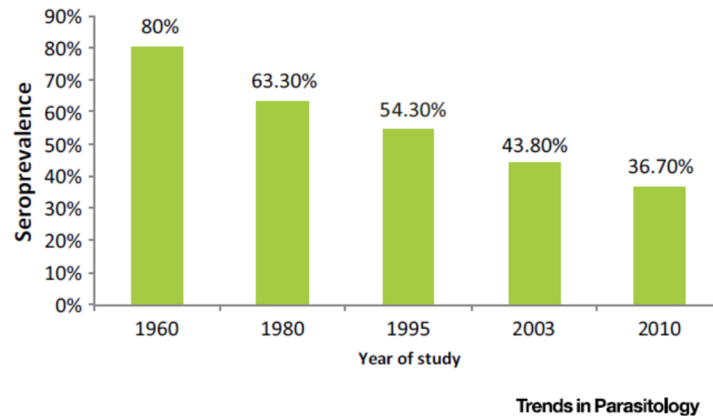


Figure 4 : Evolution de la séroprévalence pour la Toxoplasmose en France entre 1960 et 2010. Figure issue de (41)

B. Tableau clinique

L'infection primaire à *T. gondii* chez la femme enceinte induit un tableau clinique identique à celui observé chez les personnes immunocompétentes, soit un tableau clinique asymptomatique dans 80 à 90 % des cas. Lors de formes apparentes, un tableau bénin de type syndrome pseudo-grippal, est observé (2). Sont ainsi décrits des symptômes non spécifiques de

type état fébrile, asthénie, adénopathie cervicale ou occipitale, syndrome mononucléosique, pouvant ainsi évoquer d'autres types de pathologies pour lesquelles un diagnostic différentiel sera nécessaire (Virus de la grippe, virus Epstein-Barr, le cytomégalovirus, ...).

Comme évoqué dans la partie introductive de ce travail, il ne faut pas oublier que certains génotypes de *T. gondii*, notamment en Guyane, peuvent donner des formes sévères associant fièvre et atteintes multiviscérales (poumon, cœur, cerveau, peau, œil...). Dans ces cas qui restent rares, le pronostic est parfois engagé (5)

Lors d'une primo-infection en cours de grossesse, il n'y a donc pas d'incidence très grave pour la femme enceinte. Le risque encouru concerne en fait le fœtus/enfant qu'elle porte. En effet, *T. gondii* a la capacité de passer la barrière placentaire et d'infecter le fœtus avant qu'il n'acquière une immunité (45). Le passage du parasite de la mère à l'enfant signe une toxoplasmose congénitale. Cette dernière est d'autant plus grave que l'infestation du fœtus a lieu précocement. En effet, le risque de transmission est de l'ordre de 10% au premier semestre, 30% au second semestre, 60-70% au troisième semestre et atteint 80% dans les dernières semaines de grossesse (46). D'où la nécessité de suivre le statut immunitaire de la femme enceinte vis-à-vis de la toxoplasmose afin de mettre en place une prise en charge thérapeutique adaptée.

C. Diagnostic sérologique de la toxoplasmose chez la femme enceinte

Dans le cas du programme de suivi de la femme enceinte pour la toxoplasmose, lors du premier examen prénatal, en l'absence de résultats antérieurs à la grossesse clairement documentés, le statut immunitaire de la femme enceinte vis-à-vis de la toxoplasmose doit être déterminé par sérologie. Le résultat obtenu déterminera la prise en charge de la femme enceinte pour cette infection tout au long de sa grossesse.

Le diagnostic et le suivi sérologique de la femme enceinte pour la toxoplasmose répondent à deux objectifs principaux :

- 1) Être en mesure d'identifier les femmes enceintes séronégatives pour la toxoplasmose en début de grossesse afin de limiter le risque de contamination par des mesures d'hygiène alimentaire à suivre au cours de la grossesse.
- 2) Diagnostiquer le plus précocement possible une séroconversion maternelle en cours de grossesse afin de proposer une prise en charge adaptée. En effet, il a été montré que la

prescription d'un traitement antibiotique spécifique dans un délai de 4 semaines après séroconversion diminue la fréquence de transmission du parasite au fœtus et réduit le risque de séquelles graves en cas de toxoplasmose congénitale (47). Ainsi le nombre de cas sévères et de cas totaux a diminué en France depuis l'instauration du programme national de dépistage des femmes enceintes (48).

Le diagnostic biologique de la toxoplasmose chez la femme enceinte tout comme chez le sujet immunocompétent repose sur la sérologie. En effet, la recherche d'anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma* va permettre de déterminer le statut immunitaire vis-à-vis du pathogène ainsi que de dater l'infection au cas de positivité permettant une prise en charge rapide et adaptée.

a. Techniques sérologiques utilisées pour le diagnostic de la primo-infection

Plusieurs techniques sérologiques existent pour mettre en évidence les anticorps dirigés contre *T. gondii*. Ces techniques utilisent soit des antigènes de membrane ou le parasite entier, soit des mélanges d'antigènes cytosoliques ou métaboliques. Selon la technique utilisée, les anticorps sont détectés plus ou moins précocement (3). L'objectif de ce manuscrit n'étant pas de détailler les différentes techniques permettant le diagnostic de la primo-infection en cours de grossesse, seule une liste est donnée à titre informatif (Tableau I). Seule la technique d'immunoblot sera détaillée dans la partie Matériel et Méthodes puisque les données immunologiques exploitées dans ce travail de thèse ont été générées par cette technique.

C'est la mise en évidence des anticorps spécifiques IgM et/ou IgG anti-*Toxoplasma* qui va permettre de statuer sur le statut immunitaire de la femme enceinte vis-à-vis de l'infection parasitaire (3,49). En effet, la recherche des anticorps sériques anti-*Toxoplasma* d'isotypes IgA et IgE n'est pas pertinente dans ce contexte particulier.

Tableau I: les différentes techniques utilisées en tests sérologiques pour la recherche d'anticorps anti-*Toxoplasma*

Techniques utilisant des antigènes figurés*	Techniques utilisant des antigènes solubles**
• Sabin-Feldman dye-test • Immunofluorescence indirecte • Technique d'agglutination : agglutination directe, agglutination directe haute sensibilité, agglutination différentielle • Technique d'Immunosorbent Agglutination Assay (ISAGA)	• Agglutination indirecte • Technique d'immunoanalyse : Enzyme linked immunosorbent (ELISA) • Immunoblot (Western blot) • Technique Enzyme-Linked Immunofiltration Assay (ELIFA)

* Les antigènes figurés correspondent au parasite entier (vivant ou fixé)

** Les antigènes solubles correspondent aux macromolécules antigéniques extraites du parasite

b. Diagnostic et suivi biologiques de la femme enceinte pour la toxoplasmose

Voici résumés dans le tableau II, les différents résultats sérologiques pouvant être obtenus avec l'interprétation et le suivi biologique qui en résultent .

Tableau II : Résultats possibles des sérologies anti-Toxoplasmiques chez l'individu immunocompétent, en particulier la femme enceinte avec leurs interprétations et suivis biologiques.

Résultat sérologique	Interprétations	Suivi biologique et commentaires
IgM + IgG -	IgM non spécifiques	Spécificité des IgM par une deuxième technique sérologique ⇒ IgM+ faire d'autres prélèvements (J15/J30) pour voir apparition des IgG Si IgG + = séroconversion
	Possibilité d'une infection récente (1^{ers} jours de l'infection)	Prélèvements à J15 et J30 pour voir si apparition d'IgG ⇒ IgM+ et IgG+ = séroconversion en cours de grossesse ⇒ IgM+ et IgG- = faux-positif en IgM (à suivre)
IgM + IgG +	Infection récente possible, pas d'indication sur l'évolutivité de l'infection - Possibilité d'IgM persistantes	Test d'avidité des IgG pour dater la séroconversion ⇒ Avidité élevée = infection ancienne > 4 mois ⇒ Avidité faible/intermédiaire : Contrôle sérologique à J15/J30 pour évaluer la cinétique des IgG Si titre en IgG doublé = infection récente 2-3 mois Si titre en IgG identique = infection ancienne > 3mois
IgM - IgG +	Infection ancienne	- Prélèvement à J15/J30 pour confirmer stabilité du titre en IgG (rars cas d'infections aiguës IgG+/IgM-) - Pas de suivi mensuel de la femme enceinte
IgM - IgG -	Absence d'infection Infection très récente (non détectable au moment du prélèvement)	Dans les deux cas, suivi sérologique mensuel de l'infection toxoplasmique chez la patiente

Légende : + = détection positive et - = détection négative

En cas d'absence d'immunisation contre *T. gondii* avant le début de la grossesse, la femme enceinte sera suivie mensuellement jusqu'à l'accouchement. Un dernier prélèvement aura lieu deux à quatre semaines après l'accouchement afin d'évaluer une contamination tardive.

D. Accompagnement de la femme enceinte en fonction de son statut immunitaire pour la toxoplasmose

Selon les résultats biologiques de la sérologie anti-toxoplasmique :

- 1) **La femme enceinte immunisée contre la toxoplasmose avant sa grossesse.** La grossesse de cette patiente ne présente pas de risque vis-à-vis de la toxoplasmose. Cette femme ne sera donc pas suivie mensuellement pour la sérologie anti-toxoplasmique. Les règles hygiéno-diététiques qui lui seront délivrées ne seront pas spécifiquement adaptées aux différents modes de contamination pour ce parasite.
- 2) **La femme enceinte séronégative pour la toxoplasmose.** Il y a donc un risque d'acquisition de la toxoplasmose en cours de grossesse. L'objectif du suivi biologique de cette patiente sera de détecter le plus rapidement une primo-infection à *T. gondii* en cours de grossesse. Cette patiente sera donc suivie mensuellement pour la toxoplasmose. De plus, des règles hygiéno-diététiques spécifiques couvrant les différents modes de contamination pour ce parasite vont lui être données afin d'éviter une primo-infection.

Les principales règles hygiéno diététiques mises en place dépendent du stade infectieux considéré. Ces mesures font partie du programme national nutrition santé (50).

Ainsi afin d'éviter une infection par les kystes, il faut :

- Ne pas consommer de viande mal cuite (notamment du porc, du mouton et de l'agneau) ;
- La viande doit être cuite à cœur à 67°C (pas au micro-ondes) ou avoir été congelée (-20°C pendant 15 jours), la salaison et le fumage ne sont pas de méthodes permettant de détruire le parasite ;
- Se laver les mains ainsi que nettoyer les surfaces et ustensiles ayant été en contact avec de la viande crue (prévention des contaminations croisées).

Afin d'éviter l'infection par les oocystes, il faut :

- En cas de possession d'un chat : 1) changer tous les 2 jours sa litière, à condition de porter des gants, sinon la faire changer par quelqu'un d'autre et 2) réduire le risque d'exposition des chats domestiques en ne leur donnant que des aliments cuits, en conserve ou secs ;
- Porter des gants au moment de manipuler de la terre, du sable ou des éléments de jardinage qui peuvent avoir été souillés par des fèces de chats contaminés.

- Bien peler ou laver les fruits et légumes consommés crus ;
- Ne pas consommer de lait de chèvre cru ;
- Consommer de l'eau commercialisée ;
- Éviter les fruits de mer.

a. Prise en charge d'une séroconversion toxoplasmique en cours de grossesse

Lors d'une primo-infection à *T. gondii* en cours de grossesse, une évaluation du risque de transmission du parasite au fœtus va devoir être mise en place (Diagnostic prénatal). Cette évaluation permettra d'adapter la prise en charge thérapeutique de la mère pour la fin de la grossesse. L'Haute Agence de Sécurité (HAS) préconise une conduite à tenir en quatre étapes qui peut être résumée dans la figure 5 (51).

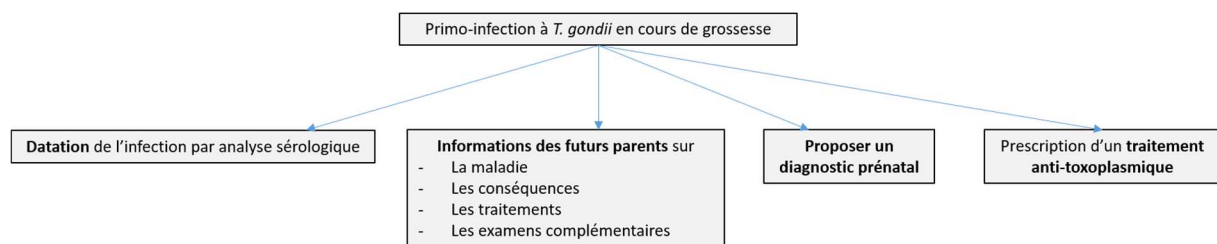


Figure 5 : Conduite à tenir en cas de primo-infection en cours de grossesse selon les recommandations de l'HAS (51)

i. Diagnostic prénatal (DPN) de toxoplasmose congénitale

Ce diagnostic est réalisé pour les fœtus/enfants portés par des femmes avec un diagnostic de primo-infection à *T. gondii* en cours de grossesse posé ou fortement suspecté. Le DPN repose sur deux examens :

- Un suivi échographique mensuel est systématiquement mis en place à la suite du diagnostic de toxoplasmose chez la mère afin de détecter des signes évocateurs de toxoplasmose congénitale : dilatation ventriculaire, calcifications cérébrales, épaississement du placenta, hépatomégalie, ascite ou péricardite (52).

- La recherche de l'ADN dans le liquide amniotique (LA). Cette recherche se fait désormais par PCR en temps réel principalement sur 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 de meilleures performances par rapport au gène B1 (répliqué 35 fois dans le génome du parasite et absent dans les cellules des mammifères) qui servait initialement de cible. L'amniocentèse en vue de cette recherche ne sera proposée à la patiente qu'après au moins 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 à son fœtus). L'amniocentèse ne sera proposée qu'après avoir évalué le risque de perte fœtale liée à l'examen en lui-même par rapport au risque de survenue de toxoplasmose congénitale (53). Le rendu du DPN par PCR sur LA reste qualitatif. Si un DPN positif signe une toxoplasmose congénitale, un DPN négatif n'exclut pas totalement la possibilité d'une toxoplasmose congénitale. En effet, 10 à 12% des cas de toxoplasmose congénitale ne sont pas diagnostiqués par le DPN d'où la surveillance échographique mensuelle et la poursuite du traitement jusqu'à l'accouchement ainsi que la mise en place du diagnostic post-natal (54). En effet, même si la PCR en temps réel est considérée comme étant la méthode de choix pour le DPN en raison de sa spécificité (estimée à 100%), sa sensibilité élevée (supérieure à celles des techniques d'isolement) mais également de sa rapidité, robustesse et reproductibilité (5), il subsiste des résultats faussement négatifs. Robert-Gangneux et collaborateurs ont démontré que ces faux négatifs sont probablement le résultat de très faibles concentrations de parasites dans le LA ou d'un passage placentaire du parasite postérieur à la date de l'amniocentèse (17).

ii. Prise en charge thérapeutique

En cas de primo-infection à *T. gondii* chez la femme enceinte, un traitement par spiramycine doit être mis en place immédiatement et un DPN doit être proposé pour objectiver le passage du parasite au fœtus. La spiramycine, antibiotique de la famille des macrolides, est non tératogène. Il est utilisé afin de prévenir la transmission verticale du parasite au fœtus.

En cas d'infection du fœtus diagnostiquée, le traitement anti-toxoplasmique repose alors sur l'association de la pyriméthamine et d'un sulfamide (sulfadiazine) avec une supplémentation en acide folinique afin de limiter les effets secondaires hématologiques des deux principes actifs. Tératogène, ce traitement n'est pas utilisé au 1^{er} trimestre de grossesse (54). Les adaptations thérapeutiques en cas de primo-infection à *T. gondii* chez la femme enceinte sont présentées dans le tableau III.

Une récente étude multicentrique (protocole TOXOGEST) montre qu'un traitement prénatal par pyriméthamine/sulfamide réduit le risque de transmission du parasite au bébé par

rapport à un traitement par spiramycine (55). De plus, en cas de transmission du parasite au bébé, cette étude montre qu'aucune lésion cérébrale n'est observée pour les enfants nés de femmes ayant reçu de la pyriméthamine/sulfamide versus les bébés nés de mères ayant reçu de la spiramycine.

Si des lésions sévères sont observées par échographie, une IMG sera proposée au couple (49).

Tableau III: Adaptation thérapeutique chez la femme enceinte primo-infectée par *T. gondii* en fonction du résultat positif lors du diagnostic prénatal (DPN) sur liquide amniotique (LA)

Age gestationnel au moment de la primo-infection	Thérapeutique mise en place lors de la séroconversion	DPN sur LA positif
Trimestre 1	Spiramycine	Spiramycine
Trimestre 2	Spiramycine	Pyriméthamine/sulfamide
Trimestre 3	Spiramycine ou Pyriméthamine/sulfamide d'emblée	Pyriméthamine/sulfamide

Enfin, quel que soit le résultat du DPN, l'enfant devra faire l'objet d'un bilan biologique et clinique post-natal spécifique et sera ainsi suivi jusqu'à l'obtention formelle de la preuve qu'il a ou n'a pas été infecté.

Dans le cadre du suivi épidémiologique des souches de *T. gondii* circulantes sur notre territoire, les LA positifs en PCR toxoplasmose sont inoculés à la souris afin de déterminer le génotype de la souche impliquée par le CNR (8).

3. Toxoplasmose congénitale

A. Epidémiologie

L'incidence de la toxoplasmose congénitale varie fortement selon la région géographique considérée (56). En effet, l'incidence est estimée de 5,5/10 000 naissances en Belgique (57) alors qu'elle est estimée à 3,3/10 000 en France (58). Comme discuté dans la partie précédente, en France, la séroprévalence chez les femmes enceintes est en diminution constante depuis 1960 (84 % en 1960, 37 % en 2010). Cela pourrait se traduire par une augmentation du nombre de cas de toxoplasmose congénitale. Hors si depuis 2006, date de mise en place d'un système spécifique de surveillance de la toxoplasmose congénitale, 180 à 250 cas

de toxoplasmose congénitale étaient signalés, depuis 2016, une baisse du nombre de cas est observée (Tableau IV). En effet, le dernier rapport du CNR de la Toxoplasmose indique qu'en 2017, 153 cas de toxoplasmose congénitale ont été diagnostiqués et recensés (8). Cette diminution pourrait s'expliquer par un suivi de la femme enceinte pour ce pathogène tout au long de la grossesse depuis la fin des années 1970 avec notamment des conseils de prévention adaptés et relayés par les différents professionnels de santé (médecins, pharmaciens, sages-femmes).

Le tableau IV, résume l'évolution du nombre de cas de toxoplasmose congénitale depuis la mise en place de la surveillance par le CNR jusqu'à aujourd'hui mettant ainsi en évidence la diminution du nombre de cas. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux femmes enceintes infectées en cours de grossesse entre 2010 et 2015 (données cumulées du CNR Toxoplasmose).

Tableau IV : Effectifs des cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués depuis la mise en place de la surveillance par le CNR (2007) jusqu'à aujourd'hui (2017).

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Nombre de cas diagnostiqués	272	268	266	244	186	204	179	216	246	192	153
Prévalence des cas de diagnostiqués	0.31	0.31	0.32	0.29	0.226	0.258	0.221	0.264	0.308	0.245	0.195

La figure 6 permet d'apprécier de façon visuelle, l'évolution à la diminution du nombre de cas de toxoplasmose congénitale en France entre les années 2008 (La distribution régionale en format carte n'a pas été réalisée pour l'année 2007) à aujourd'hui.

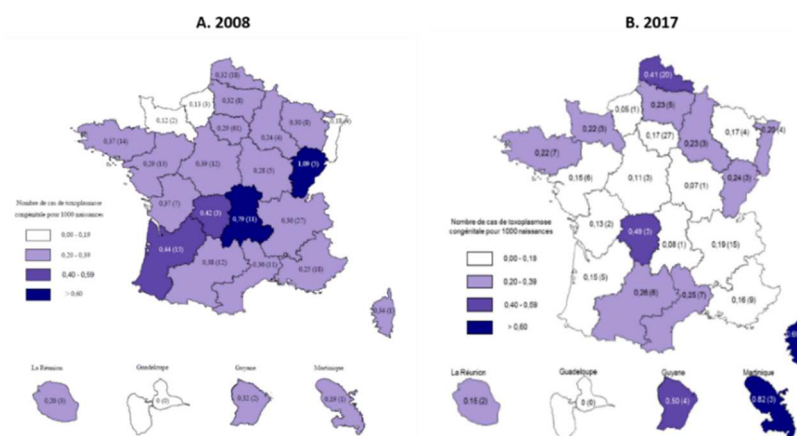


Figure 6: Distribution régionale du nombre de cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués en France en 2008 (A) et 2017 (B) pour 1000 naissances (Données issues du CNR Toxoplasmose).

B. Les différents tableaux cliniques de toxoplasmose congénitale

La majorité des cas de toxoplasmose congénitale surviennent chez les mères primo-infectées par le parasite au cours de la grossesse et chez qui le pathogène traverse la barrière placentaire puis infecte le fœtus. Cependant, il est important de garder à l'esprit que dans trois autres situations, très rares, une transmission verticale a été décrite dans la littérature : 1) chez des femmes primo-infectées avant la grossesse (deux mois avant voire six mois, très exceptionnel (59), 2) chez des femmes chroniquement infectées mais qui se (ré)-infectent en cours de grossesse par une souche plus virulente (60) et 3) chez des femmes infectées chroniquement et qui sont immunodéprimées (infection VIH par exemple) chez qui une réactivation du parasite est observée (61).

En 2017, sur les 153 cas de toxoplasmose congénitale ont été diagnostiqués et recensés. Deux IMG ont été réalisées après diagnostic prénatal (anomalies échographiques) d'une infection toxoplasmique et deux morts *in utero* ont eu lieu. Parmi les 128 enfants nés vivants pour lesquels les informations sont disponibles, 117 étaient asymptomatiques à la naissance et 11 présentaient des atteintes cliniques allant de formes modérées à graves (choriorétinites maculaires +/- calcifications intracrâniennes) (8).

La toxoplasmose congénitale est classiquement caractérisée par la tétrade décrite par Sabin en 1942 : chorioretinite, hydrocéphalie, calcification intracrânienne et convulsion (62). Lorsque la grossesse est menée jusqu'à son terme, trois présentations cliniques sont traditionnellement décrites :

a. La toxoplasmose congénitale grave

Cette forme s'observe à la naissance et revêt la forme d'une encéphalo-méningo-myélite (63). Elle correspond à une contamination au cours du premier semestre de grossesse . Deux tableaux sont décrits :

- 1) Une macrocéphalie associée avec une hydrocéphalie, des calcifications intracrâniennes et une atteinte oculaire sous la forme de rétinoblastome pigmentaire;
- 2) Un tableau d'infection néonatale grave (fièvre, ictère, hépatosplénomégalie...) au pronostic péjoratif.

De par les modalités actuelles de dépistage et de prise en charge des séroconversions chez la femme enceinte, ces formes sont rarement observées en France (3% des enfants nés vivants).

b. La toxoplasmose congénitale bénigne (dégradée ou retardée)

Cette forme est diagnostiquée dès la naissance ou au cours de la petite enfance et correspond à une contamination plus tardive au cours de la grossesse. L'observation d'une rétinobulbit pigmentaire permet habituellement de poser le diagnostic. Des calcifications intracrâniennes (CIC) sans retentissement clinique immédiat peuvent être également détectées. Ces CIC sont cependant associées à un risque augmenté de développement de rétinobulbit (64).

En France, ces formes représentent environ 8% des enfants nés vivants. De plus, de par les conditions de prise en charge actuelle dans notre pays, il est rare d'observer l'installation progressive d'un retard psychomoteur, d'une hydrocéphalie et de convulsions (63).

c. La toxoplasmose congénitale latente

Cette forme représente entre 80 et 90 % des toxoplasmoses congénitales en France et concerne tous les nouveau-nés cliniquement normaux à la naissance et ce malgré un diagnostic biologique de toxoplasmose congénitale (58). Ces nouveau-nés sont mis sous traitement très rapidement afin de limiter une évolution possible vers une forme oculaire ou neurologique retardée. Ces nouveau-nés restent néanmoins exposés à un risque de présenter ultérieurement une chorioretinite (25%).

d. Facteurs influençant le tableau clinique

Les études épidémiologiques chez l'homme et les travaux sur modèles murins ont permis d'identifier plusieurs facteurs entrant en jeu dans le tableau clinique induit chez le fœtus lors d'une toxoplasmose congénitale : l'âge gestationnel au moment de l'infection, la génétique de l'hôte et du parasite, la taille de l'inoculum, la forme infectieuse du parasite (oocystes, kystes tissulaires) et le traitement maternel anti-toxoplasmique mis en place (3,65).

En pratique, chez l'homme, les trois paramètres suivants : âge gestationnel, virulence du parasite et traitement maternel sont bien connus, contrairement aux autres facteurs.

i. Âge gestationnel au moment de l'infection

Concernant l'âge gestationnel, il est clairement établi que plus l'âge gestationnel au moment où la mère s'infecte est élevé, plus l'incidence de la transmission materno-foetale est élevée (66,67) (Figure 7). En effet, si la transmission materno-foetale globale en cas de toxoplasmose maternelle aiguë est approximativement de 20 à 33 %, il varie d'environ 1 % en

tout début de grossesse à presque 70 % au cours des dernières semaines de grossesse lorsque la barrière placentaire est très fine (46). A l'inverse, les conséquences sont d'autant plus graves que le fœtus est jeune et ne dispose pas d'un système immunitaire mature. La probabilité d'observer une forme grave de toxoplasmose congénitale est donc maximale pour les séroconversions en début de grossesse (allant jusqu'à la mort *in utero*), alors que le risque de forme grave diminue au profit des formes bénignes ou latentes lorsque le terme de la contamination maternelle avance (68,69).

Trimester of Maternal Acquisition	I	II	III
Incidence of Transmission	17%	25%	65%
Relative Severity of Congenital Disease	Severe	Intermediate	Mild or Asymptomatic
Consequences for foetus and disease manifestations in newborn Clinical manifestations	 High risk of abortion, stillbirth or premature birth	 Intermediate risk of abortion, still birth, premature birth, blindness, chorioretinitis, mental retardation, neurological alterations or death	 High risk of congenital infection. Low risk of overt clinical manifestations in newborn

Figure 7 : Impact et conséquences cliniques de l'infection à *T. gondii* pour le fœtus ou pour le nouveau-né en fonction de l'âge gestationnel d'infection (D'après Borges et al 2019 (66)).

ii. Génétique du parasite

Sur les typages réalisés et documentés sur des cas de toxoplasmoses congénitales humaines, environ 60% des isolats sont des souches de type II quel que soit le continent (70). En France, Ajzenberg et collaborateurs ont montré qu'environ 80% des souches retrouvées en toxoplasmose congénitale sont de type II (71). Donnée toujours d'actualité, puisque le dernier compte-rendu du CNR toxoplasmose indique que sur les 56 cas de toxoplasmoses congénitales qui ont été envoyés pour séquençage en 2018, environ 90% sont des souches de type II (8).

Le rôle des génotypes dans la toxoplasmose congénitale fait toujours l'objet de discussions. En effet, les souches de type II sont retrouvées aussi bien dans les formes infracliniques ou les rétinobchoroïdites isolées que dans les toxoplasmoses à l'origine de mort fœtale ou d'atteintes disséminées ou neuro-oculaires graves suggérant que l'élément déterminant majeur de la gravité de l'atteinte reste l'âge gestationnel au moment de l'infection (72). Cependant une étude menée par Huston et collaborateurs en 2015 indique une corrélation entre la souche de type II et l'hydrocéphalie retrouvée dans certains cas de toxoplasmose congénitale (73). Pour les quelques souches de type I, deux situations très contrastées sont observées : soit des toxoplasmoses congénitales graves, soit des cas où l'isolement de la souche du placenta n'est pas accompagné d'une infection congénitale de l'enfant (74). Enfin, les

typages multilocus font apparaître un petit nombre d'isolats au génotype atypique, toujours à l'origine de toxoplasmoses congénitales graves, et le plus souvent importés d'Amérique latine (74).

C. Diagnostic biologique post-natal de toxoplasmose congénitale

Ce diagnostic est indiqué chez tout nouveau-né dont la mère a eu un diagnostic de primo-infection à *T. gondii* en cours de grossesse. Il permet notamment de détecter les faux-négatifs du DPN et les cas de contamination de la mère en fin de grossesse. Ce diagnostic est réalisé quel que soit le résultat du DPN. Il fait appel à deux stratégies complémentaires associées à un bilan clinique :

- La recherche de l'ADN du toxoplasme par PCR en temps réel dans différents prélèvements néo et post-nataux
- La recherche des anticorps sériques *anti-Toxoplasma* chez le nouveau-né
- Bilan clinique

a. Recherche de l'ADN du parasite par PCR en temps réel

Tout comme la PCR en temps réel sur LA pour le DPN, la PCR dans le cadre du diagnostic post-natal apporte un résultat qualitatif. L'interprétation du résultat sera fonction du prélèvement considéré. En effet, une PCR positive sur le placenta ne signifie pas toujours qu'il y ait eu transmission au fœtus (ADN résiduel de parasites morts ou persistance placentaire sans transmission), mais elle apporte une forte suspicion (45). A contrario, une PCR positive à la naissance sur le sang de cordon ou sur le LA est considérée comme une preuve d'atteinte du fœtus. Le CNR Toxoplasmose indique que la recherche du parasite dans le sang périphérique de l'enfant, quelques jours après la naissance, est informatif en cas de contamination maternelle tardive (voire séroconversion maternelle constatée en post-partum), d'absence de bilan néonatal ou de signes d'infection chez l'enfant né après une grossesse non ou mal suivie (75).

Dans le cadre du suivi épidémiologique des souches de *T. gondii* circulantes sur notre territoire, les placentas positifs en PCR toxoplasmose sont inoculés à la souris afin de déterminer le génotype de la souche impliquée.

b. Recherche des anticorps sériques anti-*Toxoplasma*

Au cours de la grossesse, une certaine quantité d'IgG maternelles sont transférées passivement à travers le placenta, et parfois des IgM et IgA maternels peuvent également passer au moment de l'accouchement par effraction placentaire. 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. La difficulté du diagnostic post-natal de toxoplasmose congénitale repose donc sur la mise en évidence spécifique des anticorps anti-*Toxoplasma* néosynthétisés par l'enfant (IgM, IgA et IgG) sur le sang de cordon et le sang périphérique.

L'objectif étant de poser le plus tôt possible le diagnostic de toxoplasmose congénitale afin de mettre rapidement en place une prise en charge thérapeutique adaptée de l'enfant.

Le diagnostic va donc consister à détecter :

- **Des IgM ou IgA anti-*Toxoplasma*** sur sang de cordon ou sang périphérique dès la naissance (J0) et les jours qui suivent (J3/J5). La présence d'IgM ou d'IgA spécifiques permet d'affirmer la toxoplasmose congénitale, car ces isotypes d'immunoglobulines ne franchissent pas la barrière placentaire et les IgM maternelles contaminant éventuellement le sang du cordon disparaissent très rapidement chez l'enfant non infecté. À l'inverse, l'absence de ces isotypes ne permet en aucun cas de récuser le diagnostic ; en effet, 30 % à 50 % des enfants infectés ne présentent pas d'IgM, et 20 % à 30 % n'ont ni IgM ni IgA (3).

- **La néosynthèse d'IgG et/ou IgM anti-*Toxoplasma*** sur sang de cordon ou sang périphérique du nouveau-né. Les IgG franchissent la barrière placentaire. Chez l'enfant, il faudra donc évaluer la part d'anticorps IgG synthétisées par l'enfant en réponse à une infection congénitale et celle d'anticorps IgG transmises par la mère. Le profil immunologique comparé mère/enfant par immunoempreinte (western blot) ou technique assimilée permet de mettre en évidence les anticorps IgG ou IgM propres à l'enfant (3,76).

- **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 ;

Si le diagnostic n'est pas porté dans les premiers jours de la vie, des contrôles sérologiques mensuel sont réalisés sur le premier trimestre. Cette procédure permet de diagnostiquer 94 % des toxoplasmoses congénitales au cours des trois premiers mois. Les sérologies prélevées ensuite à mois 4, mois 6, mois 9 et mois 12 confirment les cas restants sur la persistance des

IgG. Pour affirmer l'absence de toxoplasmose congénitale, la surveillance sérologique doit être poursuivie jusqu'à disparition complète des anticorps IgG transmis par la mère en l'absence de traitement anti-toxoplasmique (3).

D. Suivi et prise en charge thérapeutique du nouveau-né

Chez l'enfant, que le diagnostic ait été posé en période anténatale ou dans la période néonatale, le traitement en continu par pyriméthamine-sulfadiazine est prescrit pendant 1 an. La complémentation par acide folinique est systématique. Une surveillance régulière de la toxicité hématologique par numération-formule sanguine est obligatoire (52).

De plus, 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 bilan paraclinique** associant une échographie transfontanellaire, à la recherche de dilatation des ventricules cérébraux ou de calcifications intracrâniennes, et un fond d'oeil à la recherche de foyers de chorioretinite ;
- **Un bilan biologique** comprenant des recherches sérologiques discutées précédemment.

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 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). En l'absence de preuve d'infection, l'enfant ne doit pas recevoir de traitement.

Partie II : Matériel et Méthodes

Ce travail de thèse avait pour but de rechercher d'éventuelles corrélations entre la réponse immunitaire et différents marqueurs épidémiologiques dans le cadre de la toxoplasmose congénitale. La réponse immunitaire, plus particulièrement la réponse immunitaire humorale, a été appréciée *via* la détection des IgG par western blot à partir des prélèvements de sang périphérique ou sang de cordon reçus en routine au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Rennes dans le cadre du diagnostic post-natal de la toxoplasmose congénitale.

1. Populations étudiées

La cohorte a été constituée rétrospectivement, à partir des données extraites des suivis de toxoplasmose congénitale au CHU de Rennes depuis janvier 2010 jusqu'à décembre 2015.

Au total, 215 échantillons ont été inclus. Les patients ont été classés en trois catégories :

(1) Bébés infectés par *T. gondii* en cours de grossesse (diagnostic pré- ou post-natal positif), **cohorte nommée Bébés Infectés (BI)**. Sur la période étudiée dans le cadre de ce travail, 34 bébés infectés ont été recensés ;

(2) Mères infectées par *T. gondii* en cours de grossesse donnant naissance à un/des bébé(s) avec un diagnostic post-natal positif, **cohorte nommée Mères de Bébés Infectés (MBI)**. Sur la période étudiée dans le cadre de ce manuscrit, 33 mères de bébés infectés ont été recensées ;

(3) Mères infectées par *T. gondii* en cours de grossesse donnant naissance à un/des bébé(s) avec un diagnostic post-natal négatif, **cohorte nommée Mères de Bébés Non Infectés (MBNI)**. Sur la période étudiée dans le cadre de ce manuscrit, 148 mères de bébés non infectés ont été recensées.

2. Détermination du profil d'IgG anti-toxoplasmique par western blot à l'aide du logiciel BioNumerics

A. Western blot IgG anti-toxoplasmique

Mon travail a consisté à recenser tous les western blots IgG anti-toxoplasmiques (WB) réalisés dans le cadre du diagnostic post-natal de la toxoplasmose congénitale de janvier 2010 à décembre 2015, selon les critères d'inclusion définis, afin de les numériser pour les analyser par le logiciel BioNumerics (Applied Maths, Belgique, version 7).

Les WB ont été réalisés en routine par les techniciens du laboratoire au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Rennes dans le cadre du diagnostic post-natal de la toxoplasmose congénitale avec le kit TOXOPLASMA WB IgG-IgM™ (LDBIO Diagnostics, France).

Principe :

Les antigènes du parasite *Toxoplasma gondii*, après séparation électrophorétique, ont été fixés par électro-transfert à la surface d'une feuille de nitrocellulose découpée en bandelettes numérotées de 1 à 24.

Le test consiste ensuite à incuber séparément, avec 2 bandelettes contiguës issues du même transfert, les deux échantillons biologiques (sang de cordon ou sang périphérique de l'enfant et sang maternel) dont les profils immunologiques veulent être comparés. Le principe du test est résumé dans la figure 8.

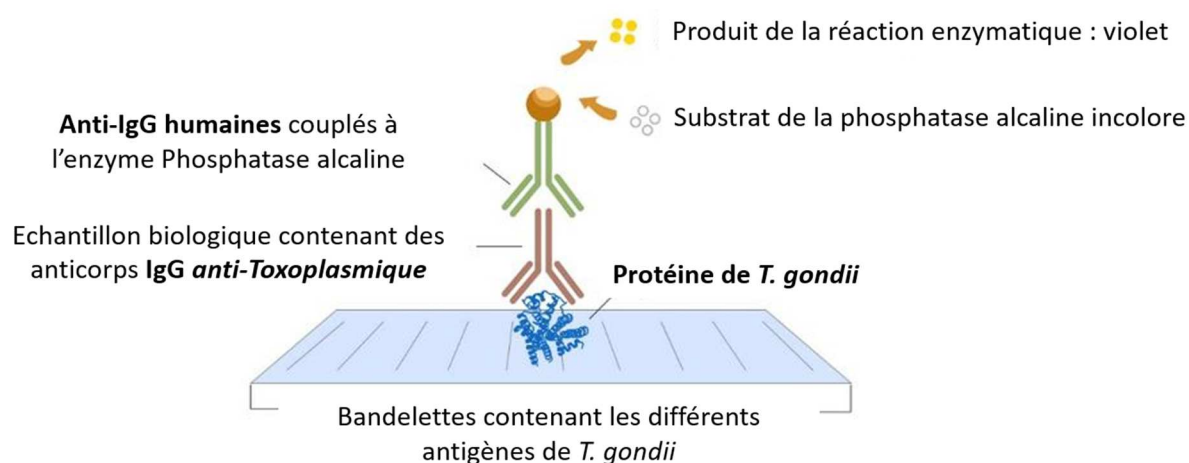


Figure 8 : Principe du western blot pour la détection des IgG ou IgM anti-toxoplasmiques (Figure adaptée d'elabsience, <https://www.elabsience.com/List-detail-306.html>)

Lecture et interprétation :

La lecture et l'interprétation des WB sont réalisées par un biologiste du laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Rennes.

L'interprétation repose sur la comparaison successive des profils de bandes obtenus sur les couples de bandelettes IgG puis IgM. Dans ce travail, seuls les blots IgG ont été utilisés dans cette étude.

Le diagnostic de toxoplasmose congénitale repose sur la mise en évidence de la présence éventuelle de bandes révélées uniquement avec le sang de cordon ou le sérum de l'enfant à J+N, et absentes avec le sérum maternel ou le sang de cordon respectivement. Ces bandes

supplémentaires témoignent ainsi de la néosynthèse par l'enfant d'anticorps anti-toxoplasmique (Exemple d'un enfant non contaminé et d'un enfant contaminé, figure 9 A et B respectivement).

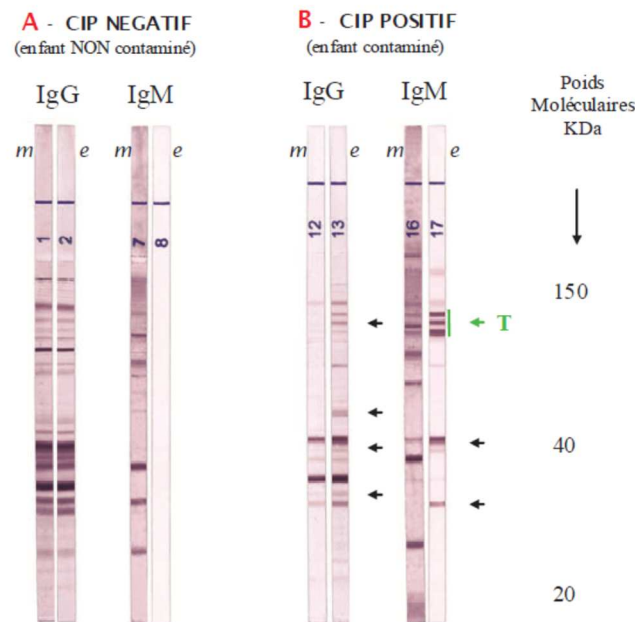


Figure 9 : Toxoplasmose congénitale, exemples d'un résultat négatif (A, enfant non contaminé) et positif (B, enfant contaminé) (Figure issue de la notice du kit TOXOPLASMA WB IgG-IgM™ (LDBIO Diagnostics)).

Le fournisseur du kit TOXOPLASMA WB IgG-IgM™ (LDBIO Diagnostics, France) spécifie que seules les bandes d'un poids moléculaire inférieur à 120 kDa sont à considérer pour la comparaison de profils. C'est pourquoi dans l'analyse des profils de réponse immunitaire humorale IgG anti-Toxoplasmique réalisée dans ce travail de thèse, seules ces bandes seront considérées. Ceci est appuyé par l'analyse que nous avons réalisée sur la zone de linéarité de migration des tailles des marqueurs de taille (Figure 10). En effet, au-delà de la bande 100 kDa du marqueur de taille inclus dans les kits de WB, les coefficients de régression s'éloignent de 1, indiquant une non proportion entre la distance de migration et le poids moléculaire.

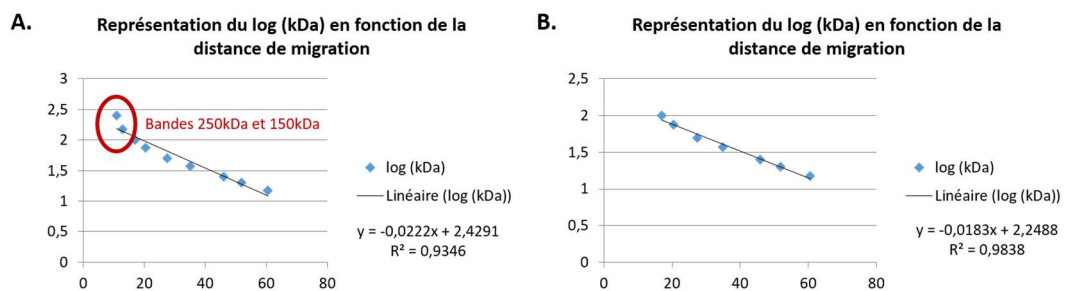


Figure 10 : Régressions linéaires des marqueurs de taille fournis avec le kit TOXOPLASMA WB IgG-IgM™ (LDBIO Diagnostics). (A) en incluant les bandes 250 kDa et 150 kDa (B) en les excluant.

B. Numérisation et standardisation des westerns blots

Afin de recenser tous les WB réalisés dans le cadre du diagnostic post-natal de la toxoplasmose congénitale de janvier 2010 à décembre 2015, voici la méthodologie qui a été appliquée :

- 1) **Regrouper** toutes les feuilles de résultats de western blot toxoplasmose par année (2010 à 2015).
- 2) Par année, réaliser un **tableau Excel** avec tous les numéros des kits, numéros des bandelettes/kit, le marqueur de taille/kit, noms des patientes et de leur(s) enfant(s), date et résultat du test grâce aux indications répertoriées sur les feuilles de résultats de WB toxoplasmose (Figure 11). Chaque année, en moyenne, une quinzaine de kits TOXOPLASMA WB IgG-IgMTM sont utilisés au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Rennes.

Figure 11 shows a Western blot result form from the Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU Rennes. The form is titled "ENREGISTREMENT" and "Résultats de Western-blot toxoplasmose". It contains fields for patient information (NOM, Prénom, DDN, N° dossier, Date), test details (Date du test, N° lot réactif, Exp. le), and results for IgG and IgM tests. The form is divided into three columns, each representing a different patient (A, B, C). Each column has a section for "Objet : Traçabilité des résultats et des lots réactifs de Western-blot toxoplasmose" and a section for "Western blot IgG avec les numéros de bandelettes utilisées et qui vont servir pour déterminer le profil IgG du patient". The form also includes checkboxes for "Sang de cordon", "Sang du bébé", "LCR", and "Humeur aqueuse". The results are recorded in the "Conclusion" field, with handwritten values like "6473" and "6472".

Figure 11: Feuille de résultats de western blot toxoplasmose du Laboratoire de parasitologie-Mycologie, CHU Rennes. Sont indiquées les données qui ont servi à reconstituer tous les kits de diagnostic utilisés pour réaliser les profils de réponse immunitaire humorale IgG anti-toxoplasmique dans ce travail

- 3) **Par année : scanner** toutes les feuilles de travail, **extraire** chaque bandelette WB IgG et **reconstituer chaque kit** sur power point avec son **marqueur de taille**. Les

marqueurs de taille sont constitués par des bandes de différents poids moléculaires (15, 20, 25, 37, 50, 75, 100, 150 et 250 kDa).

4) **Standardiser** chaque kit avec son marqueur de taille.

Pourquoi standardiser les kits de TOXOPLASMA WB IgG-IgM™ (LDBIO Diagnostics, France) utilisés dans le cadre du diagnostic post-natal de toxoplasmose congénitale entre eux ?

- Il existe des effets bords lors de la migration électrophorétique d'où la nécessité d'effectuer la comparaison d'un couple d'échantillons à l'aide de bandelettes conjointes (numéros contigus).
- Les séparations électrophorétiques peuvent varier d'un kit à l'autre générant ainsi des profils protéiques différents, pouvant par conséquent induire des profils de WB variables, d'où la nécessité de comparer des bandelettes issues d'un même transfert (même numéro de série).

Ces deux arguments nous ont donc conduits à standardiser les kits à l'aide des marqueurs de taille fournis dans chaque kit et une standardisation inter-kit en utilisant des bandelettes obtenues avec des échantillons biologiques testés sur deux kits différents.

De plus, les premiers essais d'extraction du profil de réponse immunitaire IgG anti-toxoplasmique par le logiciel BioNumerics nous ont montré que malgré une standardisation de toutes les bandelettes *via* le marqueur de taille, il y avait encore des variations de plusieurs kDa entre deux bandes de poids moléculaires apparents équivalents. Pour résoudre ce dernier problème, nous avons ajouté une bande au marqueur de taille, la bande de 30kDa, qui est quasi constante sur tous les profils de réponse IgG anti-toxoplasmique, car elle correspond à la protéine majeure de surface du tachyzoïte (77). Nous avons donc calculé le front de migration théorique de la bande à 30 kDa pour chaque marqueur de taille en fonction de la droite de régression tracée avec les autres bandes (Figure 10). Nous nous sommes ainsi servis de cette bande quasi-constante chez tous les patients pour aligner les bandelettes d'un même kit entre elles.

C. Détermination des profils IgG anti-Toxoplasmique par BioNumerics

a. BioNumerics (Applied Maths, Belgique, version 7), généralités

C'est une plate-forme logicielle qui offre une analyse intégrée de toutes les applications principales de bio-informatique : gels d'électrophorèse 1D, tous les types de profils chromatographiques et spectrométriques, caractères phénotypiques, micropuces et séquences.

Ce logiciel possède plusieurs modules d'analyse en fonction des données à traiter. Pour extraire le profil IgG des cohortes étudiées dans ce travail de thèse, nous nous sommes servis du module « Fingerprint Data module ».

b. Fingerprint Data module, en quelques mots

Ce module d'analyse permet de transposer toutes les données qui donnent un profil électrophorétique (ADN, ARN ou protéine) ou un profil densitométrique (HPLC, spectrophotométrie...). De manière globale, tous les profils qui induisent des pics ou des bandes distincts peuvent être analysés par ce module (Figure 12).

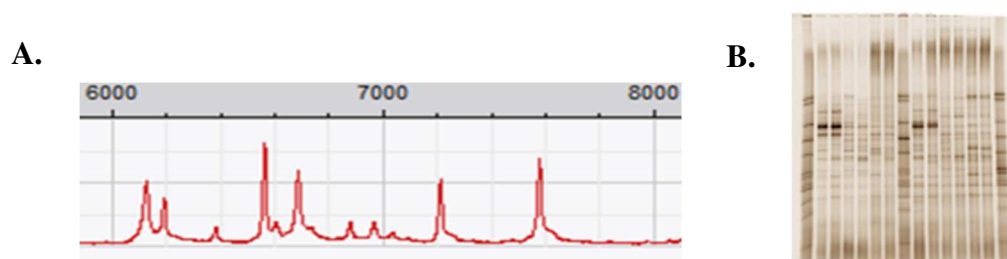


Figure 12: Deux exemples de données qui peuvent être analysées par le module Fingerprint de BioNumerics. (A) profil spectral obtenu en MALDI-TOF, (B) séparation de fragments d'ADN après PCR. (Figures extraites applied-maths BioNumerics)

A partir des données brutes importées sur BioNumerics en format image (.tiff), ce module permet :

- D'assigner de façon automatique les bandes/pics, soit générer un profil de bandes/pics ;
- De réaliser de la quantification par densitométrie des bandes déterminées ;
- De réaliser des alignements entre les différents profils après normalisation ;
- De déterminer les tailles des bandes (ADN, protéines...) après normalisation ;
- ...

c. Détermination des profils IgG standardisés par patient(e)s :

La dénomination « profil IgG » dans le cadre de cette étude, correspond à un profil obtenu après normalisation des WB via l'application BioNumerics.

Afin de traiter tous les WB numérisés et de réaliser les profils standardisés, j'ai suivi les tutoriels suivants, disponibles sur l'interface BioNumerics :

- Comment importer et analyser son premier gel (<http://www.applied-maths.com/video/7x/import-and-analyze-your-first-gel>)

- Comment importer et analyser son deuxième gel (<http://www.applied-maths.com/video/7x/import-and-analyze-your-second-gel>)
- Comment créer et exporter les profils de bandes (<http://www.applied-maths.com/video/7x/create-and-export-band-matching>)

La détermination des profils IgG standardisés par patient(e) commence par le traitement et la normalisation des bandelettes puis ensuite les profils sont extraits et exportés en fichier Excel.

i. Traitement et normalisation des bandelettes

Sur BioNumerics, après avoir 1) importé en format .tiff les différents kits reconstitués (bandelettes de WB + son standard) et 2) transformer en nuances de gris les images de chaque kit, la procédure de traitement et normalisation des bandelettes qui a été suivie (Figure 14) se résume aux quatre étapes suivantes :

Étape 1 : Détermination manuelle ou automatique de chaque bandelette ou ligne de migration (Figure 14, Strip). A cette étape, il est possible d'ajuster la largeur et le contraste des bandelettes, de redéfinir les bandelettes, d'ajuster le chemin de migration afin qu'il soit rectiligne, ... **Étape 2 :** Extraction des courbes densitométriques de chaque kit afin d'exclure le bruit de fond et avoir ainsi une meilleure définition des bandes révélées (Figure 14, Curves).

Étape 3 : Normalisation : un alignement automatique ou manuel du marqueur de taille interne du kit est réalisé avec le marqueur de taille de référence qui a été préalablement enregistré dans le logiciel. En effet, lors du traitement sur BioNumerics du premier kit de bandelettes reconstitué, le marqueur de taille de ce premier kit est enregistré comme étant le standard de référence pour toutes les futures entrées de données (Figure 13, A). Par la suite chaque marqueur de taille de chaque kit sera aligné sur ce marqueur de taille de référence (Figure 13, B) afin de standardiser les tailles des bandes obtenues sur les profils IgG anti-toxoplasmose.

Tous les kits sont donc normalisés avec le même système de référence. (Figure 14, Normalization).

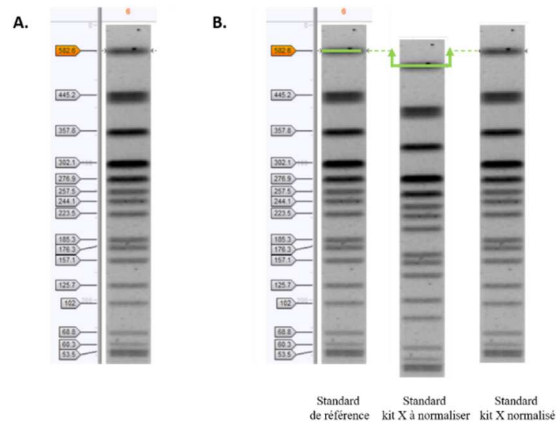


Figure 13 : Création d'un marqueur de taille de référence dans le module fingerprint. (A) Exemple d'un marqueur de taille enregistré dans le logiciel comme référence pour normaliser toutes les futures entrées de données. (B) Exemple de normalisation d'un standard pour un nouveau kit par rapport au standard de référence. D'après le tutoriel « Importing and processing gel images » disponible sur la plateforme BioNumerics

Etape 4 : Détermination automatique de toutes les bandes révélées par western blot et constituant le profil IgG anti-toxoplasmose (Figure 14, Bands). A cette étape, il est possible de repositionner des bandes, d'éliminer des artefacts détectés comme des bandes, ...

Ces quatre étapes sont à réaliser pour chaque kit reconstitué.

Une fois incrémentée dans la base de données BioNumerics, chaque bandelette numérisée avec son profil de bandes est contrôlée et validée par rapport à la bandelette d'origine. En effet, il a été nécessaire à plusieurs reprises d'ajouter des bandes de faible intensité qui n'étaient pas détectées par le logiciel.

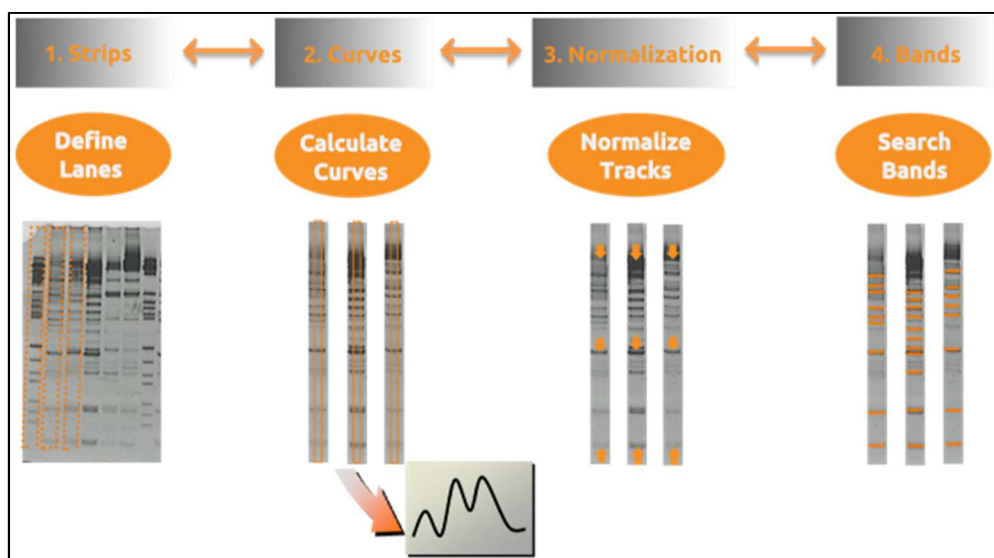


Figure 14 : Traitement et normalisation des profils d'IgG obtenus par WB (Figure extraite du site applied-maths BioNumerics)

ii. Extraction et exportation des profils IgG obtenus

A partir de toutes les bandelettes numérisées, un alignement des profils IgG est réalisé (Figure 15) afin de déterminer des catégories de position de bandes. Une catégorie de bandes comporte des bandes qui ont un poids moléculaire équivalent avec une tolérance de position de plus ou moins 1% du poids moléculaire de la classe (ce pourcentage peut être modifié).

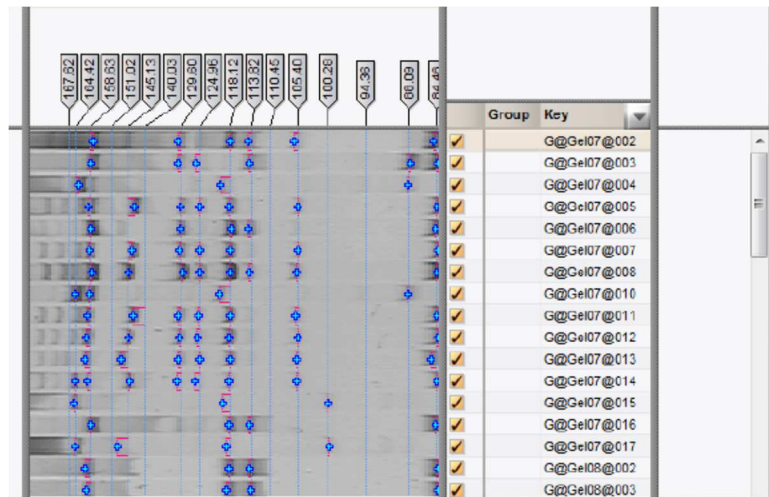


Figure 15: Exemple d'alignements de profil de migration afin de générer des catégories de bandes de taille équivalentes (figure extraite du site applied-maths BioNumerics).

A cette étape, il est nécessaire d'ajuster les catégories, notamment pour les bandes de haut poids moléculaire.

Une table d'occurrence pour chaque patient(e) est ensuite générée et peut être exportée en format Excel (Tableau V).

Tableau V : Exemple de table d'occurrence des catégories de bandes selon chaque patiente

kDa	98	93	88	83	79
Patiente 1	0	1	1	1	0
Patiente 2	0	1	0	1	1

d. Construction d'un dendrogramme à partir des profils IgG obtenus des bébés atteints de toxoplasmose congénitale

Le logiciel Bionumerics permet de réaliser des dendrogrammes à partir de données de type fingerprint. Nous avons ainsi utilisé le module d'analyse « Tree and Network Inference

module » et suivi le tutoriel en ligne sur la plateforme : <http://www.applied-maths.com/video/7x/create-tree-fingerprint-data>.

Les similarités entre les profils, basées sur la position des bandes, sont calculées à l'aide du coefficient du nombre de bandes différentes avec une tolérance maximale de 5%. Un dendrogramme est construit suivant la méthode Unweight Pair Group Method (UPGMA) utilisant une moyenne arithmétique. Une matrice de similarité (absence/présence de la bande) est également générée. La durée du traitement en catégories est indiquée par des couleurs.

3. Recueil des différentes données

Pour chaque femme enceinte avec séroconversion diagnostiquée en cours de grossesse, des informations biologiques et cliniques ont été répertoriées :

- **Catégorie de cohorte** : BI : Bébé infecté ; MBNI : Mère de Bébé non infecté ; MBI : mère de bébé infecté ;
- **Génotype de la souche de *T. gondii*** obtenu par séquençage après envoi de la souche au CNR de la toxoplasmose: non documenté (ND), type II, type II variant.
- **Clinique du bébé à la naissance** : non documentée (ND), normale, lésions (hépatomégalie, hyperdensité ventriculaire, microkyste paraventriculaire, calcifications intracrâniennes, cicatrice maculaire, valve cardiaque, ou chorioretinite).
- **Trimestre d'infection** de la mère au cours de grossesse : T1 (dont le péri-conceptionnelle ou anté-conceptionnelle), T2 ou T3 (dont le per-partum).
- **Code postal de résidence** de la mère
- **Traitement** de 1^{ère} intention : Spiramycine (SPIR), Pyriméthamine/Sulfadiazine ou Pyriméthamine/Sulfadoxine (PYR/SULF), Protocole Toxogest ou non documenté (ND), Non traitée (NT) ;
- **Durée totale du traitement**. Cette durée est exprimée soit
 - o en semaines d'aménorrhée (SA) = Durée de la grossesse en SA - Date de mise sous traitement de 1^{ère} intention en SA, soit
 - o en catégorie de durée : A = durée inférieure à 4 semaines, B = durée comprise entre 4 et 8 semaines, C = durée supérieure à 8 semaines. Pour les mères pour qui il n'y a pas d'information sur la prise de traitement ou incluses dans le protocole Toxogest, la durée est notée ND_duréettt, pour les mères n'ayant pas reçu de traitement, la durée est notée NT_duréettt

- **Délai de la mise sous traitement.** Le délai de mise sous traitement est exprimé soit
 - o en SA = Date de la mise sous traitement en SA - Date de la séroconversion de la mère en SA –soit
 - o en catégorie de délai : $D < 4$ = délai inférieure à 4 semaines, $D 4-8$ = délai compris entre 4 et 8 semaines, $D > 8$ = délai supérieur à 8 semaines. Pour les mères pour qui le traitement est non documenté ou incluses dans le protocole Toxogest, le délai est noté ND_délaitt, pour les mères n’ayant pas reçu de traitement, la durée est notée NT_délaitt.

4. Géolocalisation des patientes

Nous avons réalisé une géolocalisation des patientes en fonction du statut du bébé à la naissance et nous avons représenté le génotype de la souche parasitaire impliquée lorsque celui-ci était documenté dans le dossier patiente. Nous avons utilisé l’application BatchGeo® (Vancouver, WA, <https://fr.batchgeo.com/>) qui permet de créer des cartes Google Maps à partir d’une feuille excel (Annexe 7).

5. Analyses statistiques

A. Analyse multifactorielle

Une analyse factorielle, plus particulièrement une analyse des correspondances multiples (ACM), a été réalisée sur les données qualitatives et quantitatives que nous avons extraites et organisées en tableau. Chaque ligne du tableau représente un individu et chaque colonne une variable.

Nos variables actives correspondent aux différentes classes de bandes, soit 35 classes de bandes, identifiées sur les WB avec les modalités présence « O » et absence « N » pour chaque individu. Les autres variables supplémentaires étudiées sont soit 1) quantitatives : nombre de bandes, durée du traitement (en SA), délai de mise sous traitement (en SA) 2) qualitatives : infecté ou non par *T. gondii*, le trimestre d’infection (T1, T2 ou T3), le principe actif utilisé comme traitement de première intention, la clinique du bébé à la naissance, le délai de mise sous traitement en catégorie, la durée du traitement en catégorie.

Brièvement, l’analyse des correspondances multiples est une technique descriptive visant à résumer l’information contenue dans un grand nombre de variables afin de faciliter l’interprétation des corrélations existantes entre ces différentes variables.

Les individus seront projetés et représentés dans un système à plusieurs dimensions, choisi de telle manière que la majorité des variations soit concentrée sur les premiers axes.

Pour réaliser cette analyse factorielle de type ACM, le package FactoMineR a été utilisé (78).

B. ANOVA

Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel GraphPad PRISM® v.5.02, en utilisant un One-way ANOVA pour comparer la moyenne d'au moins trois groupes non appariés. Les valeurs de $p < 0.05$ sont considérées comme statistiquement significatives.

Partie III : Résultats

1. Analyse descriptive de la cohorte de patients

A. Cas de séroconversion et de toxoplasmose congénitale en fonction du trimestre de grossesse

Tableau VI: Cas de séroconversion pour la toxoplasmose, cas de toxoplasmose congénitale (TC) avec lésions en fonction du trimestre de grossesse sur la période 2011-2015 au CHU Pontchaillou de Rennes

	Trimestre 1	Trimestre 2	Trimestre 3
Cas de séroconversion (%)	97 (54%)	47 (26%)	37 (20%)
Cas de TC (%)	1 (1%)	12 (25%)	20 (54%)
Cas de lésions (%)	0 (0%)	4 (33%)	2 (10%)

La cohorte constituée au cours de ce travail est composée de 181 cas de séroconversion pour la toxoplasmose en cours de grossesse. Il est observé que beaucoup de femmes s'infectent au cours du premier trimestre de grossesse (54%) par rapport aux trimestres 2 et 3 (26 et 20% respectivement) (Tableau VI). Toutefois ce chiffre est majoré artificiellement, du fait du choix de coupler les infections périconceptionnelles possibles ou probables (qui bénéficient des mêmes modalités de traitement et de suivi) aux infections vraies du 1^{er} trimestre.

Sur notre période d'étude (2011 à 2015), la transmission materno-foetale en cas de toxoplasmose maternelle aiguë varie d'environ 1 % au premier trimestre de grossesse, à 54 % au cours du troisième trimestre. Données tout à fait en accord avec les données de la littérature (8,52). Notre cohorte est donc bien représentative de la toxoplasmose congénitale en France.

B. Occurrence des bandes détectées en western blot selon le statut du bébé à la naissance

Nous avons représenté l'occurrence de chaque classe de bande en fonction du statut du bébé à la naissance (Figure 16).

Les classes de bandes ont été déterminées par le logiciel Bionumerics. Trente-cinq classes ont été ainsi déterminées, allant de 16 kDa à 98 kDa.

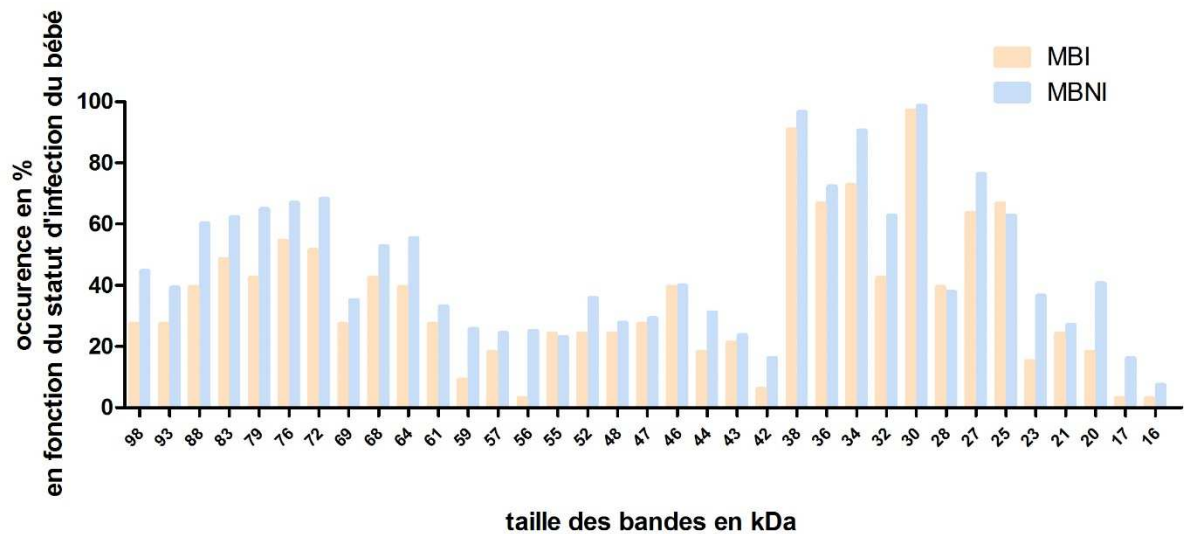


Figure 16: Occurrence en % de chaque classe de bande obtenue par analyse des WB en fonction du statut du bébé à la naissance.

La représentation graphique des occurrences montre que les profils de bandes peuvent être divisés en quatre blocs, quel que soit le statut du bébé à la naissance :

- Un bloc avec des protéines de faible poids moléculaire, peu retrouvées (3 à 40%) : 16-23 kDa
- Un bloc avec des protéines de poids moléculaire moyen, fréquemment retrouvées (40 à 99%) : 25-38 kDa
- Un bloc avec des protéines de poids moléculaire moyen, peu retrouvées (6 à 40%) : 42-61 kDa
- Un bloc de protéines de haut poids moléculaire, fréquemment retrouvées (27 à 69%) : 64-98 kDa

Par rapport au groupe MBI, le groupe MBNI est proportionnellement composé de plus de patientes ayant mis en place une réponse humorale contre les blocs protéines de faible poids moléculaire, 16-23 kDa et de haut poids moléculaire, 64-98 kDa.

C. Diversité de la réponse immunitaire humorale en fonction du trimestre de séroconversion

Afin d'apprécier la diversité de la réponse immunitaire à l'accouchement, en fonction du trimestre de séroconversion, nous avons représenté le nombre de bandes observées sur western blot et le trimestre de séroconversion (Figure 17).

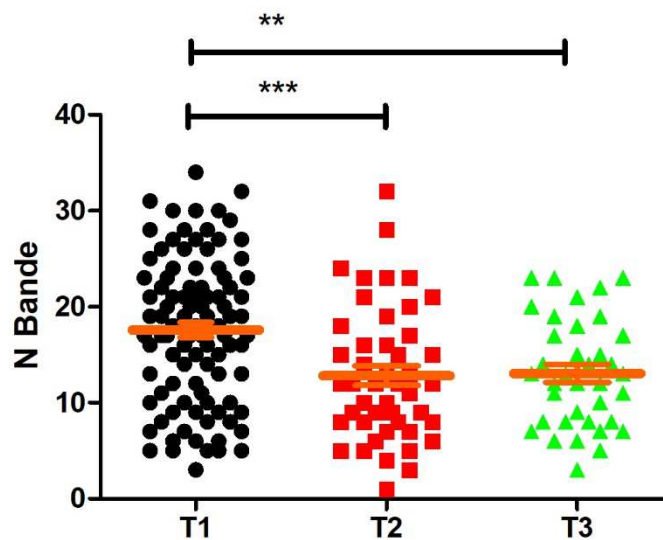


Figure 17 : Nombre de bandes sur WB en fonction du trimestre d'infection quel que soit le statut du bébé à la naissance. Représentation de la moyenne $\pm$ SEM (Erreur standard à la moyenne). *** : $p < 0,0005$ et ** : $p < 0,005$

L'analyse du nombre de bandes détectées en fin de grossesse par western blot en fonction du trimestre d'infection permet de mettre en évidence qu'une infection au cours du premier trimestre permet à la mère de développer une réponse significativement plus diverse en termes d'anticorps IgG anti-toxoplasmiques, que lorsque l'infection survient plus tard au cours du T2 ($p < 0,0005$) ou T3 ($p < 0,005$).

2. Analyse multifactorielle

A. Analyse des mères ayant donné naissance à des bébés infectés ou non par le parasite

Les données biologiques et cliniques recueillies sur les 181 mamans ayant eu une séroconversion en cours de grossesse ont été organisées dans un tableur excel (annexes 1 à 6). Nous avons ainsi 35 variables actives qui servent à construire les axes. Nous avons ensuite associé des variables supplémentaires quantitative (nombre de bandes sur le profil western blot/individu) ou qualitatives (trimestre d'infection, clinique du bébé, durée du traitement, délai de mise sous traitement, statut de l'enfant). Ces variables supplémentaires n'interviennent pas dans la construction des axes mais permettent de décrire les individus représentés dans les différentes dimensions.

a. Valeurs propres ou inerties de chaque dimension

Dans un premier temps, nous avons examiné les valeurs propres de chaque dimension afin de déterminer combien de dimensions seront conservées pour extraire les résultats. Les valeurs propres mesurent la quantité de variance expliquée par chaque dimension principale.

Il n'existe pas de méthodologie claire pour décider du nombre de dimensions principales à conserver. Dans la pratique, on a tendance à regarder les premières dimensions afin de trouver des profils intéressants dans les données.

Les résultats des valeurs propres et la proportion de variances pour chaque dimension ainsi que la proportion cumulée des variances obtenues dans notre analyse sont indiqués dans le tableau VII.

Tableau VII : valeurs propres et proportion de variance pour chaque dimension. L'encadré rouge correspond aux dimensions conservées pour la suite de nos analyses.

Dimension	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Variance	0.240	0.065	0.05	0.044	0.037	0.036	0.035	0.032	0.031	0.030	0.028	0.027
% de variance	24.038	6.484	4,953	4,367	3,746	3,558	3,465	3,321	3,117	2,993	2,821	2,696
% de variance cumulé	24.038	30.523	35.475	39.842	43.588	47.146	50,612	53,843	56,960	59,953	62,774	65,469
Dimension	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Variance	0,026	0,025	0,024	0,023	0,021	0,020	0,019	0,018	0,017	0,016	0,015	0,014
% de variance	2,635	2,453	2,360	2,264	2,130	2,006	1,880	1,838	1,674	1,610	1,533	1,416
% de variance cumulé	68,104	70,558	72,917	75,181	77,312	79,317	81,197	83,035	84,709	86,319	87,852	89,268
Dimension	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
Variance	0,013	0,013	0,012	0,011	0,010	0,01	0,009	0,008	0,008	0,007	0,006	
% de variance	1,293	1,274	1,182	1,145	1,1047	1,009	0,932	0,835	0,786	0,661	0,569	
% de variance cumulé	90,560	91,835	93,016	94,162	95,209	96,217	97,149	97,985	98,771	99,431	100	

Dans le tableau VII, nous voyons que les valeurs propres (deuxième ligne) sont relativement grandes pour les quatre premières dimensions (encadré rouge) et petites pour les dimensions suivantes ($\leq 0,04$). Autrement dit, les quatre premières dimensions correspondent aux directions portant la quantité maximale de variation contenue dans le jeu de données. La proportion de variance expliquée par chaque valeur propre est donnée dans la troisième ligne. Par exemple, dans la dimension 1, environ 24,038% de la variation est expliquée par cette première valeur propre. Le pourcentage cumulé expliqué est obtenu en ajoutant les proportions successives de variances expliquées. Par exemple, 24,038% (% de variance de la dimension 1) plus 6,484% (% de la variance de la dimension 2) sont égaux à 30,523%, et ainsi de suite. Par

conséquent, environ 30 %, de la variance totale est expliquée par les deux premières valeurs propres soit les deux premières dimensions expliquent à elles seules 30 % des variations observées dans notre échantillon

Dans notre analyse, les quatre premières composantes principales expliquent ainsi 40% de la variation.

Une autre méthode pour déterminer le nombre de dimensions à analyser est de regarder le graphique des valeurs propres (Figure 18). Le nombre de dimensions est déterminé par le point, au-delà duquel les valeurs propres restantes sont toutes relativement petites et de tailles comparables (79). Dans le graphique présenté en figure, nous voyons que ce point correspond à la dimension 4.

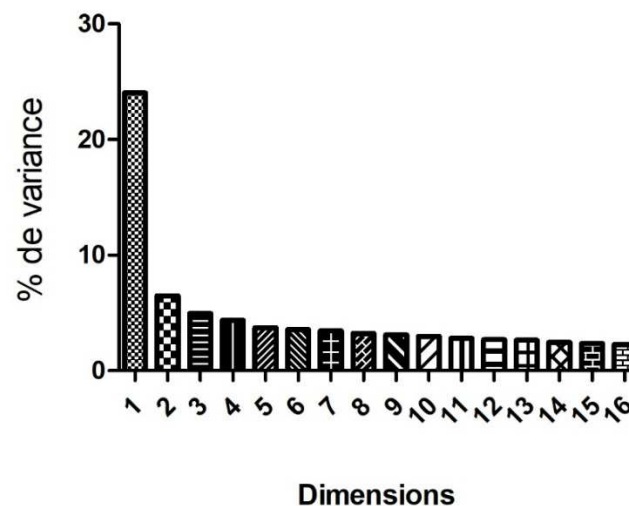


Figure 18: Représentation graphique des valeurs propres de chaque variance en fonction de la dimension. Seules les dimensions 1 à 16 sont représentées.

L'analyse des valeurs propres ou inerties de chaque dimension par les deux méthodes ci-dessus, indique que les 4 premières dimensions permettront d'expliquer la majorité des différences observées dans l'échantillon, les autres dimensions n'apportant qu'une faible part additionnelle d'information. Dès lors, l'analyse va se concentrer sur ces 4 dimensions qui constitueront un bon résumé des variations observables dans l'échantillon.

b. Corrélations des variables quantitatives sur les quatre premiers axes

Pour interpréter les différents axes, il est intéressant de comprendre quelles sont les variables supplémentaires qui corréleront le plus à chaque axe. Pour des variables quantitatives,

une représentation graphique est possible, le *cercle de corrélation* des variables. Ainsi, les variables quantitatives sont représentées selon les dimensions que l'on souhaite étudier. Sur notre jeu de données, dans un premier temps seule la variable N bande (pour nombre de bande) est quantitative et a été étudiée selon le cercle des corrélations sur les dimensions 1 et 2 (Figure 19). Les variables durée de traitement et délai de mise sous traitement ayant été classées en catégories sont considérées comme des variables qualitatives.

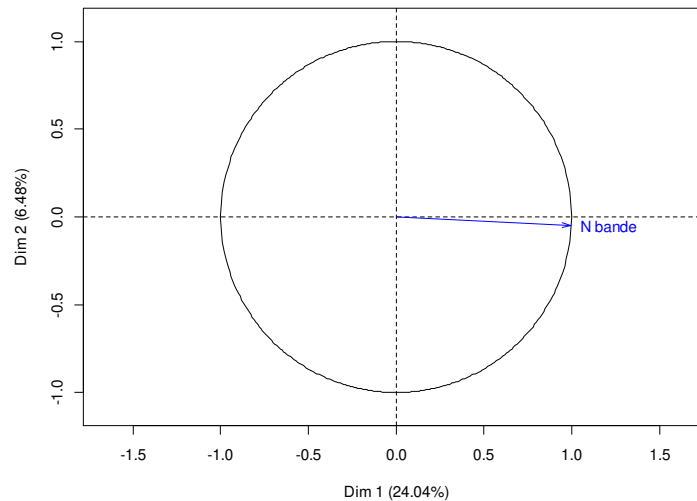


Figure 19 : Cercle des corrélations de la variable N bande pour les dimensions 1 et 2.

La figure représentant le cercle des corrélations de la variable N bande selon les dimensions 1 et 2, montre que cette variable est fortement corrélée à la dimension 1 ($r = 0,9964$, $p\text{-value} = 4.10^{-194}$). La variable N bande est donc la plus explicative de la dimension 1. N bande représente le nombre de bandes mises en évidence sur le WB. Nous allons donc nous concentrer sur cette variable pour expliquer les résultats de l'ACM selon la dimension 1. Le cercle des corrélations sur cette même variable pour les dimensions 3 et 4 ne montre pas une bonne projection, indiquant que la variable N bande ne permet pas d'expliquer les dimensions 3 et 4 (données non montrées).

Nous nous sommes également intéressés à l'étude de la projection sur le cercle de corrélation des dimensions 1 et 2 de deux autres variables quantitatives : la durée du traitement et le délai de traitement exprimées en semaines d'aménorrhées. Pour réaliser cette étude, il est nécessaire de retirer du jeu de données les individus n'ayant pas reçu de traitement ainsi que les individus dont le traitement n'est pas documenté. Les individus ainsi retirés de l'analyse représentent environ 10% du nombre d'individus de la cohorte initiale, il y a donc une perte

d'information. Le cercle de projection ainsi généré (Figure 20) ne montre pas une bonne projection de ces deux variables selon l'axe 1 et 2 alors que la variable N bande reste toujours fortement corrélée à l'axe 1. De ce dernier résultat, nous décidons de ne considérer que la variable N bande comme variable quantitative. Les variables durée du traitement et délai de mise sous traitement seront exprimées en catégories et seront considérées comme des variables supplémentaires qualitatives.

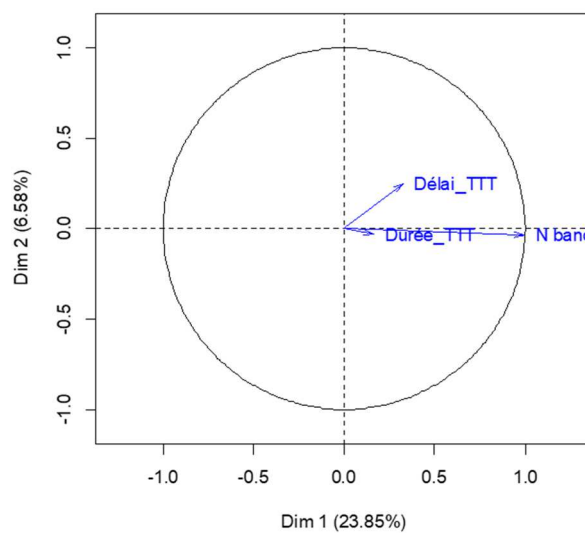


Figure 20 : Cercle des corrélations des variables quantitatives : N bande, durée du traitement (durée_TTT) et délai de mise sous traitement (Délai_TTT) dans les dimensions 1 et 2

c. Analyse des correspondances multiples

i. Représentation des modalités actives et des individus.

Dans un premier temps, nous avons décidé de représenter le graphique des modalités pour notre variable, qui est « classes de bandes (en kDa) » obtenues sur les profils WB. Le résultat de l'ACM est présenté selon les modalités (Figure 21) et selon les individus (Figure 22).

Les représentations graphiques des modalités actives et des individus de l'ACM selon les axes 1 et 2 fait apparaître un nuage en forme de croissant enroulé autour de l'origine du repère (Figures 21 et 22). C'est l'effet Guttman qui s'interprète de la façon suivante : « l'axe principal oppose alors les extrêmes, alors que l'axe n°2 oppose les individus moyens aux deux extrêmes » (80). Sachant que la variable la mieux projetée et donc la plus corrélée à la dimension 1 est le nombre de bandes détectées par western IgG anti-toxoplasmique, alors, les

individus à droite de l'axe vertical sont les individus possédant un profil WB avec de nombreuses bandes. Inversement, les individus à gauche de ce même axe sont les individus possédant un profil WB avec peu de bandes. Les individus distribués de part et d'autre du plan horizontal selon l'axe deux sont dans la moitié supérieure des individus avec un profil de bandes atypique alors que dans la moitié inférieure les individus ont des profils fréquents. Sont centrés sur le point d'origine, des individus avec un profil WB fréquent. La modalité étudiée est la présence « O » ou l'absence « N » de bande, il est également possible d'indiquer que les bandes les plus fréquemment mises en évidence sont la p30, p34, p38 (surtout absentes chez les profils à très peu de bandes) et que les bandes les plus rares sont la p42, p16, p17 (présentes plutôt chez les profils avec beaucoup de bandes). De plus, la p28 est souvent associée à la p47 et/ou à la p64 (Figure 21, cercle vert). Lorsque les individus possédant ces bandes sont réarrangés dans le tableur excel sur des lignes successives, il est même possible de dire que la p28 est toujours associée à une des deux autres bandes pour les profils de plus de 13 bandes. En effet des modalités proches en ACM sont souvent associées.

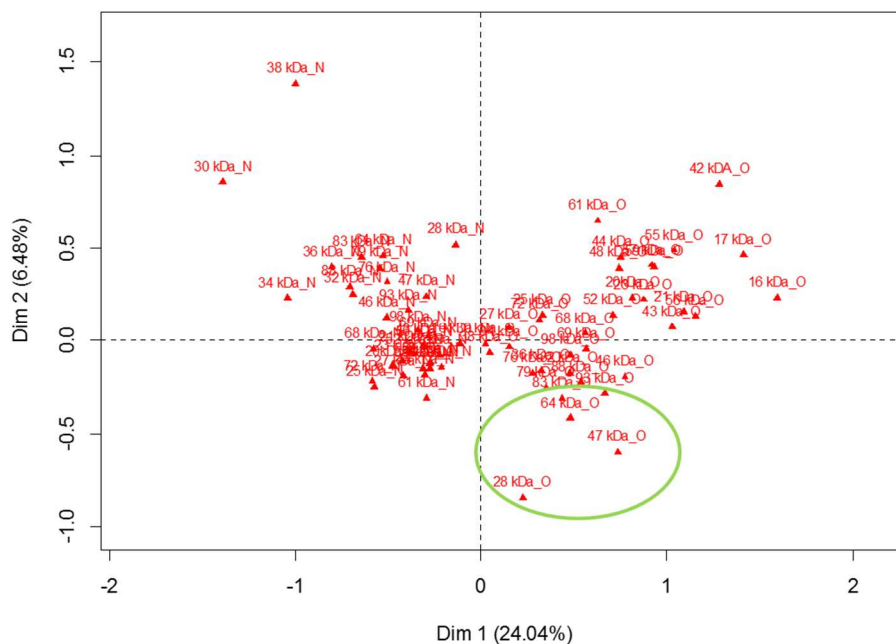


Figure 21 : Représentation des modalités des variables actives dans les dimensions 1 et 2.
Le cercle vert indique que la p28 est liée aux p47 et p64.

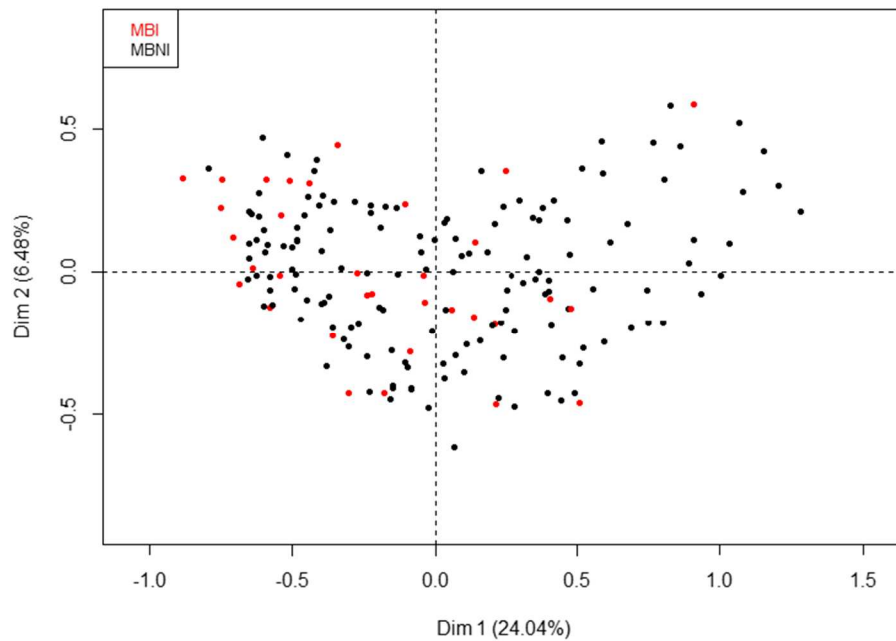


Figure 22 : Représentation des individus selon le statut d'infection du bébé dans les dimensions 1 et 2

ii. Analyse des variables supplémentaires

○ **Corrélations entre les variables qualitatives supplémentaires et les dimensions**

Les coefficients de corrélation ainsi que les p-value correspondantes entre les variables et les axes choisis au départ de l'ACM sont répertoriés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : coefficients de corrélation (r) et significativité (p-value sur le coefficient) des corrélations entre variables supplémentaires et dimensions. Cadres rouges = variables considérées significatives

Variable supplémentaire		Dim 1	Dim 2	Dim 3	Dim 4
Trimestre d'infection	r	0,11 ⁻⁵	$5,7 \cdot 10^{-2}$	$1,9 \cdot 10^{-3}$ ⁻¹	$2,7 \cdot 10^{-2}$ ⁻²
	p	$3,91 \cdot 10^{-5}$	$5,45 \cdot 10^{-3}$	$8,43 \cdot 10^{-1}$	$8,82 \cdot 10^{-2}$
Traitement	r	$2,0 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹	$5,5 \cdot 10^{-3}$ ⁻¹	$1,6 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹	$4,7 \cdot 10^{-3}$ ⁻¹
	p	$3,21 \cdot 10^{-1}$	$8,06 \cdot 10^{-1}$	$4,21 \cdot 10^{-1}$	$8,39 \cdot 10^{-1}$
Délai de mise sous traitement (catégorie)	r	0,15 ⁻⁵	$9,9 \cdot 10^{-2}$ ⁻³	$3,1 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹	$3,9 \cdot 10^{-3}$ ⁻¹
	p	$1,27 \cdot 10^{-5}$	$1,02 \cdot 10^{-3}$	$2,39 \cdot 10^{-1}$	$9,53 \cdot 10^{-1}$
Durée du traitement (catégorie)	r	$3,1 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹	$2,0 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹	$1,5 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹	$1,1 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹
	p	$2,38 \cdot 10^{-1}$	$4,77 \cdot 10^{-1}$	$6,13 \cdot 10^{-1}$	$7,51 \cdot 10^{-1}$
Statut de l'enfant	r	$3,6 \cdot 10^{-2}$ ⁻²	$5,9 \cdot 10^{-4}$ ⁻¹	$5,3 \cdot 10^{-3}$ ⁻¹	$5,2 \cdot 10^{-5}$ ⁻¹
	p	$1,02 \cdot 10^{-2}$	$7,46 \cdot 10^{-1}$	$3,29 \cdot 10^{-1}$	$9,24 \cdot 10^{-1}$
Clinique	r	$1,4 \cdot 10^{-2}$ ⁻¹	$5,3 \cdot 10^{-2}$ ⁻³	$4,3 \cdot 10^{-3}$ ⁻¹	$8,3 \cdot 10^{-3}$ ⁻¹
	p	$2,79 \cdot 10^{-1}$	$8,08 \cdot 10^{-3}$	$6,80 \cdot 10^{-1}$	$4,76 \cdot 10^{-1}$

Le tableau VIII contient les coefficients de corrélation (variant de 0 à 1) ainsi que les p-value associées, entre les variables et les axes choisis au départ de l'ACM. Pour l'interprétation des axes, se concentrer sur les variables les plus explicatives, c'est-à-dire dont le coefficient de corrélation est le plus proche de 1. Dans notre étude, il semble que les variables qualitatives les plus significativement liées au premier plan (dim1/dim2) sont principalement le trimestre d'infection et le délai de mise sous traitement, et à un moindre niveau le statut de l'enfant et la clinique de l'enfant (Tableau VIII, encadrés rouge). Dans le deuxième plan (dim3/dim4), les variables qualitatives supplémentaires ne sont plus significativement liées.

Ces résultats nous permettent d'orienter notre l'analyse qui va se concentrer désormais sur les 2 premières dimensions qui constitueront donc un bon résumé des variations observables dans l'échantillon.

○ Analyse des variables qualitatives supplémentaires

Nous décidons de représenter l'ACM avec les modalités des variables actives (en rouge) et les variables supplémentaires (en vert) toujours sur les dimensions 1 et 2 qui portent le plus d'informations (Figure 23).

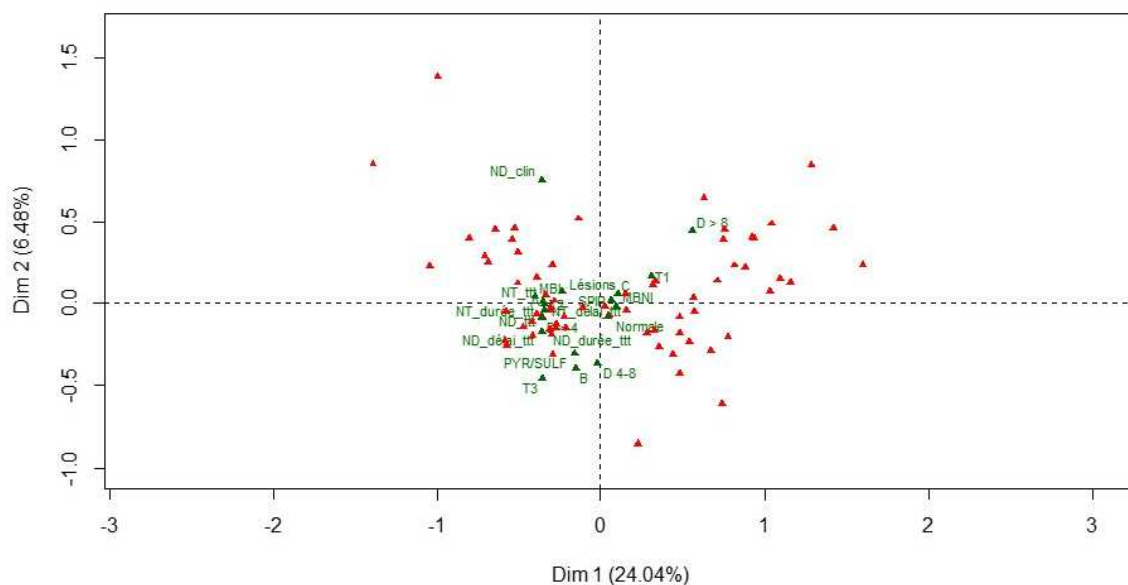


Figure 23: Représentation des modalités des variables actives (en rouge) avec les variables supplémentaires (en vert) dans les dimensions 1 et 2

Cette représentation graphique permet de voir que la majorité des variables supplémentaires qualitatives semblent être centrées autour de l'origine du repère indiquant

qu'elles ne sont pas très corrélées au plan d'analyse. Or, l'analyse des corrélations entre les variables qualitatives supplémentaires et les dimensions réalisée précédemment nous encourage à réaliser une analyse plus fine.

- **Représentation des individus selon le statut d'infection du bébé dans les dimensions 1 et 2**

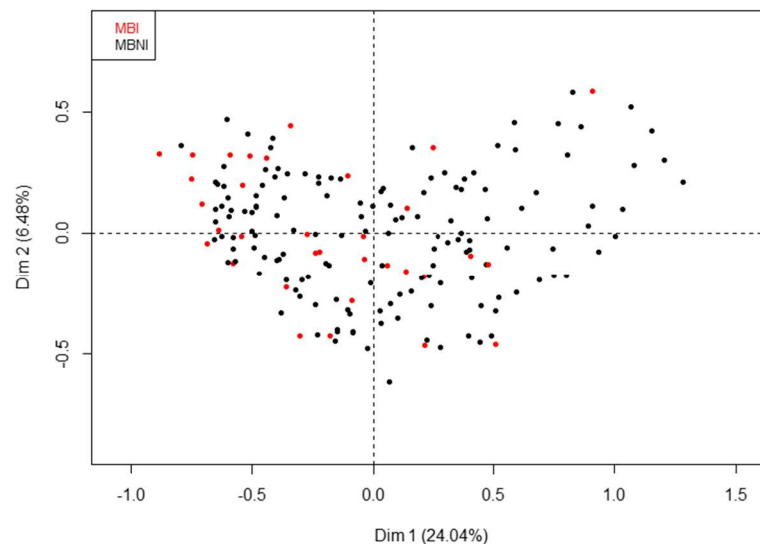


Figure 24 : Représentation des individus selon le statut d'infection du bébé dans les dimensions 1 et 2

Cette représentation permet de montrer que les mamans ayant donné naissance à des bébés infectés (MBI en rouge) sont situées préférentiellement à gauche de l'axe indiquant que ces mamans ont développé une réponse immunitaire moins diverse en termes d'anticorps IgG anti-toxoplasmiques. En effet, elles ont des profils avec peu de bandes. Cependant, cette observation n'est pas exclusive puisque les mamans ayant donné naissance à un enfant non infecté sont distribuées tout le long de la dimension 1, indiquant qu'il n'y a pas de profil particulier permettant d'expliquer l'absence d'infection (Figure 24).

- **Représentation des individus selon le trimestre d'infection de la maman dans les dimensions 1 et 2**

Cette représentation permet de montrer que les mamans infectées aux deuxième et troisième trimestres de grossesse sont situées à gauche de l'axe, indiquant que ces mamans ont développé une réponse immunitaire moins diverse en termes d'anticorps IgG anti-toxoplasmiques. En effet, elles ont des profils avec peu de bandes. A l'inverse, les mamans infectées au cours du premier trimestre sont distribuées tout le long de la dimension 1, indiquant qu'il n'y a pas de profil particulier (Figure 25).

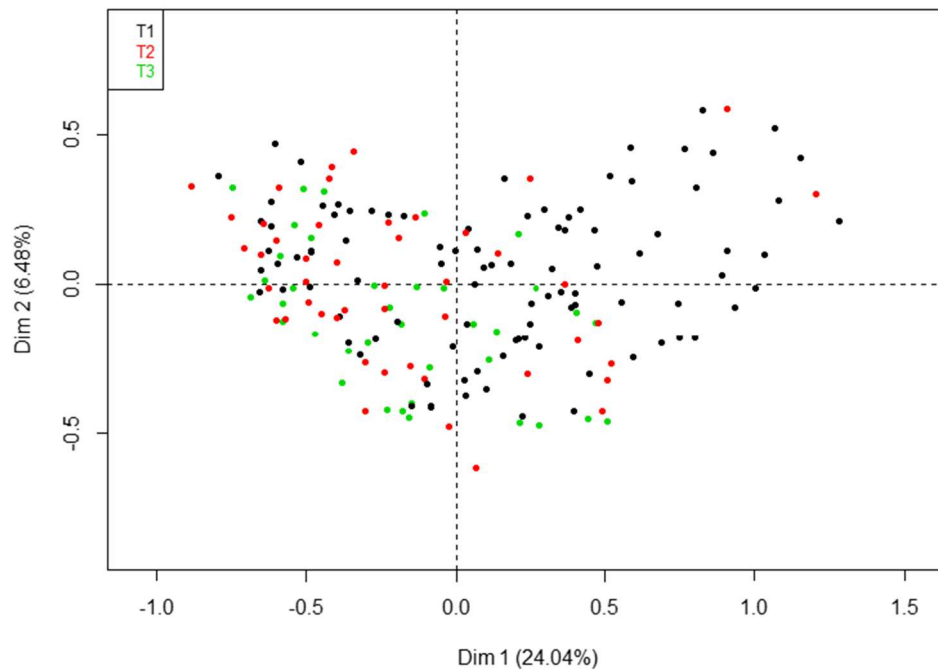


Figure 25 : Représentation des individus selon le trimestre d'infection de la maman selon les dimensions 1 et 2

- **Représentation des individus selon la clinique du bébé à la naissance dans les dimensions 1 et 2**

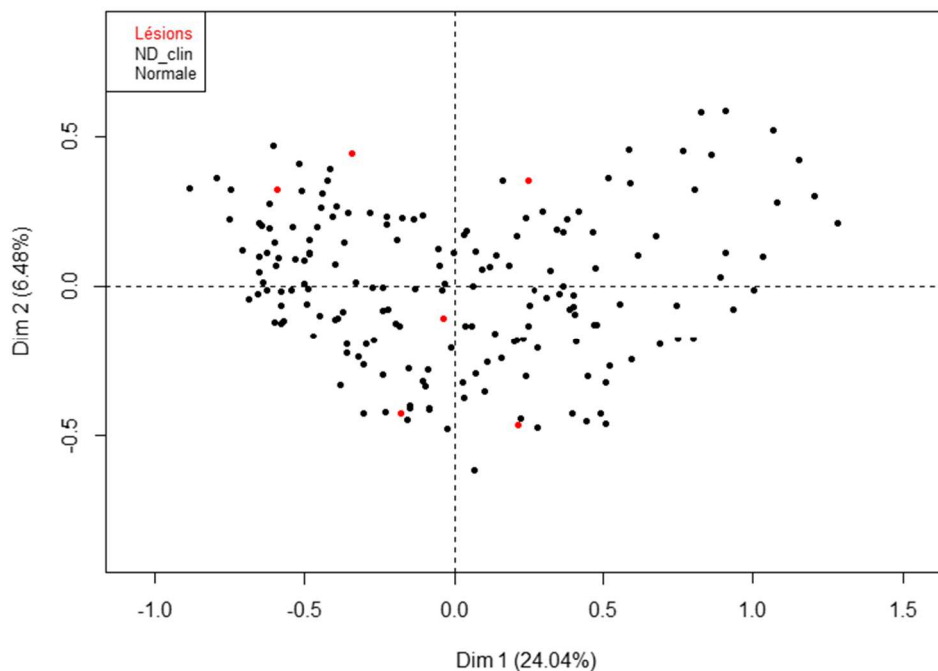


Figure 26 : Représentation des individus selon la présence (en rouge) ou non de lésions cliniques dans les dimensions 1 et 2. ND_clin : clinique non documentée

Face au faible effectif de bébés comportant des lésions cliniques à la naissance (6 sur 34 bébés), il est difficile de donner une interprétation à cette ACM. Cependant il est possible

de remarquer que la distribution de ce faible effectif semble être répartie aléatoirement dans le premier plan (dim1/dim2).

○ **Représentation des individus selon le traitement anti-toxoplasmique en cours de grossesse dans les dimensions 1 et 2.**

Cette représentation semble montrer que les mamans n'ayant pas été traitées (NT_ttt en rouge) sont situées à gauche de l'axe 1 indiquant que ces mamans ont développé une réponse immunitaire moins diverse en termes d'anticorps IgG anti-toxoplasmiques. En effet, elles ont des profils avec peu de bandes. Il semble que ce soit la même observation pour les mères ayant été traitées par l'association Pyriméthamine /Sulfadiazine (PYR/SULF). Cette dernière observation semble logique puisque ce traitement est souvent mis d'emblée dans le cadre de séroconversion au trimestre 3 et/ou en cas de DPN positif. Or nous avons vu que les bébés infectés sont majoritairement nés de mères infectées au trimestre 3 et nous avons également mis en évidence que ces mères ayant une infection tardive développent une réponse immunitaire moins diverse en termes d'anticorps IgG anti-toxoplasmiques. Globalement, il semble que le caractère récent de l'infection l'emporte sur le traitement, pour ce qui est du nombre de bandes développées au moment de l'accouchement.

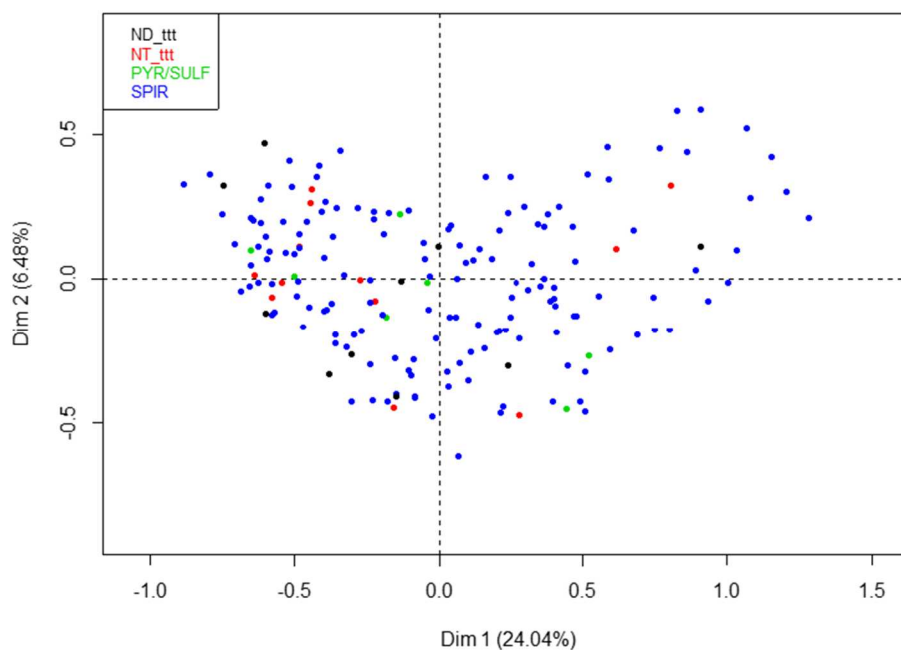


Figure 27 : Représentation des individus selon le traitement anti-toxoplasmique dans les dimensions 1 et 2

d. Analyse sur les mamans par trimestre de séroconversion

Dans l'ACM précédente, la variable qualitative, trimestre d'infection, est fortement corrélée à l'axe 1 et 2. Dans un deuxième temps, nous avons souhaité faire une ACM sur les mamans ayant le même trimestre d'infection, afin de voir si nous arrivions ainsi à moins diluer l'information par rapport à la cohorte entière et ainsi mettre en évidence des profils d'individus particuliers. Dans cette ACM, seules les 20 modalités les mieux projetées sont affichées et les modalités présentes ou absentes chez tous les individus n'ont pas été prises dans l'analyse.

Les représentations des modalités et des variables supplémentaires dans les dimensions 1 et 2 par trimestre d'infection sont présentées dans les figures .

i. Trimestre 1

La représentation des modalités et des variables supplémentaires pour les mamans infectées au cours du premier trimestre (T1) possède une allure de type effet de Guttman comme observé sur la cohorte complète. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les patientes infectées au cours du T1 sont les plus nombreuses dans la cohorte complète et ont donc un poids fort dans l'ACM globale. Nous retrouvons la p28 liée à la p64 tout comme dans l'analyse sur la cohorte entière.

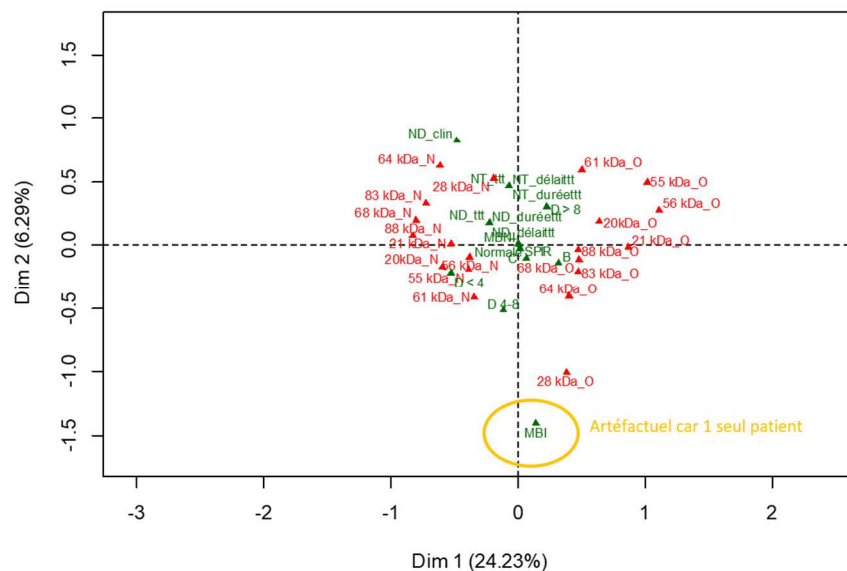


Figure 28 : Représentation des modalités et des variables supplémentaires dans dimensions 1 et 2 des patientes infectées au trimestre 1

De part la composition de la cohorte de mamans infectées au cours du T1 de grossesse, une seule mère ayant donné naissance à un bébé infecté, il est impossible de mettre en évidence un profil particulier de la réponse immunitaire humorale en fonction du statut du bébé. Il est à noter que la variable qualitative MBI se trouve très séparée et proche de la p28 dans la représentation de l'ACM du T1 mais cela n'a aucune significativité puisque la variable MBI ne concerne qu'une seule patiente (Figure 28).

La figure 29 représente l'occurrence en pourcentage de chaque taille de bande détectée par WB pour le T1. La moyenne du nombre de bandes chez ces patientes est d'environ 17 bandes, indiquant une réponse immunitaire IgG multiple. Le bloc 25-38 kDa (à l'exception de la p28) montre des occurrences élevées pour chaque bande (70 à 98%), indiquant que ces bandes sont quasi constantes pour toutes les mères infectées au T1 de grossesse. De plus, à l'exception de la p93 et p69, plus d'une maman sur deux possède les bandes du bloc de haut poids moléculaires : 64-98 kDa.

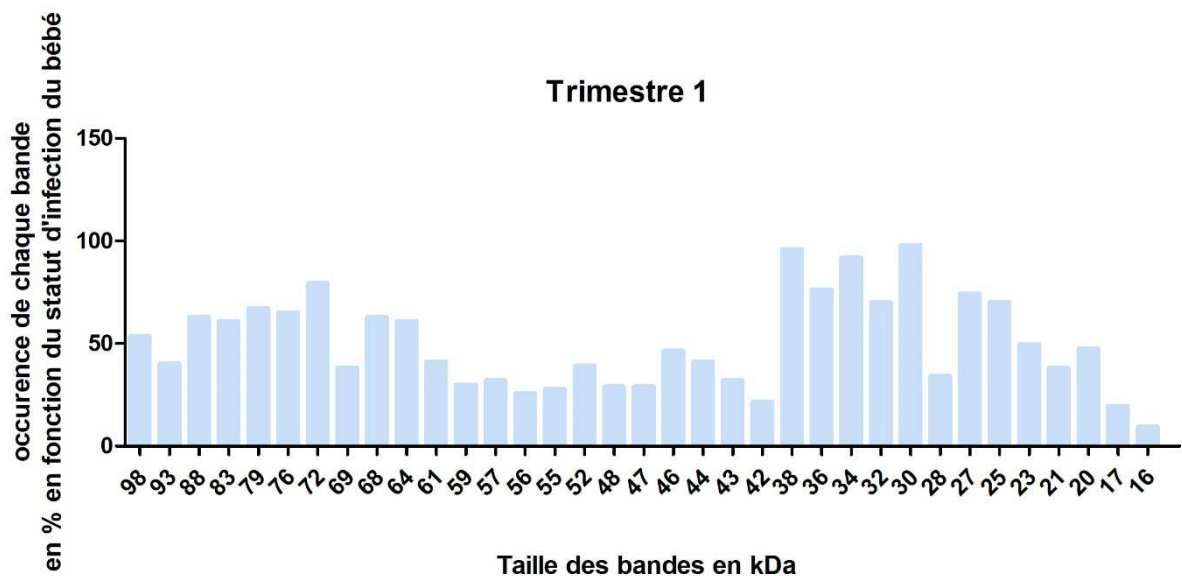


Figure 29 : Représentation de l'occurrence en % de chaque bande en fonction du statut du bébé pour les mamans infectées au trimestre 1 de grossesse

ii. Trimestre 2

Au trimestre 2 (T2), la cohorte est composée de 12 MBI et 35 MBNI.

La représentation des modalités et des variables supplémentaires pour les mamans infectées au cours du T2 montre que les individus ayant reçu le traitement anti-toxoplasmique

avec un délai supérieur à 8 semaines post-séroconversion sont associés à un profil avec de nombreuses bandes, mais qui n'est pas corrélé à la présence de lésions chez le bébé (modalités distantes, Figure 30). Cette observation va dans le sens qu'une mise rapide sous traitement diminue la réponse immunitaire humorale (52).

De plus, nous pouvons voir par cette représentation que le risque d'infection du bébé et de survenue de lésions n'est pas lié au nombre de bandes (modalités situées sur l'axe vertical). Cette observation est en accord avec les données de la littérature qui indiquent que la réponse immunitaire humorale anti-toxoplasmique ne permet pas d'expliquer à elle seule une protection vis-à-vis de l'infection.

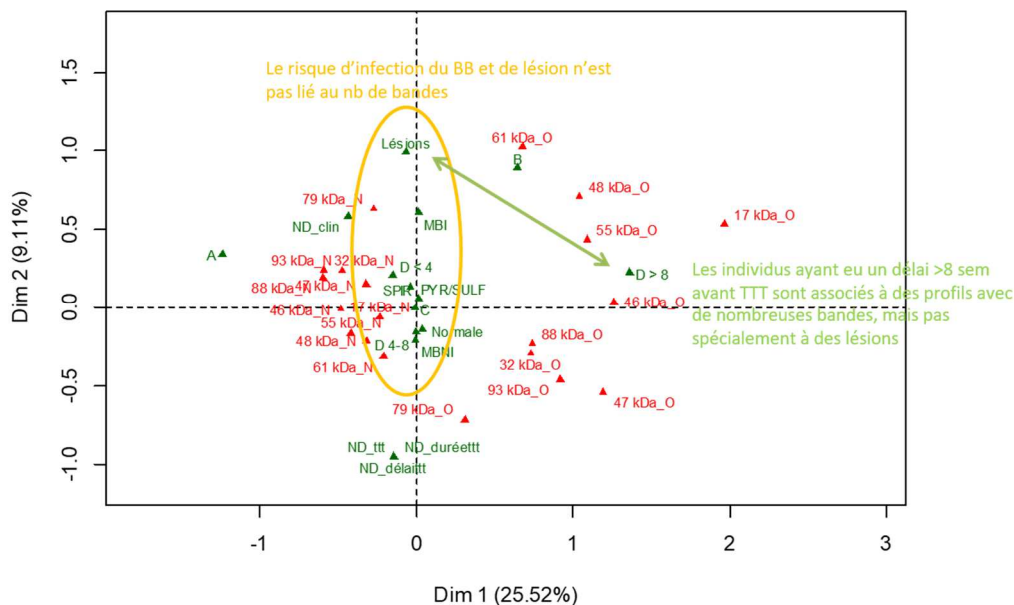


Figure 30 : Représentation des modalités et des variables supplémentaires dans dimensions 1 et 2 des patientes infectées au trimestre 2

Par ailleurs, il est intéressant de regarder l'occurrence de chaque bande en fonction du statut d'infection du bébé (Figure 31). La moyenne du nombre de bandes est d'environ 13 bandes, quel que soit le statut d'infection du bébé.

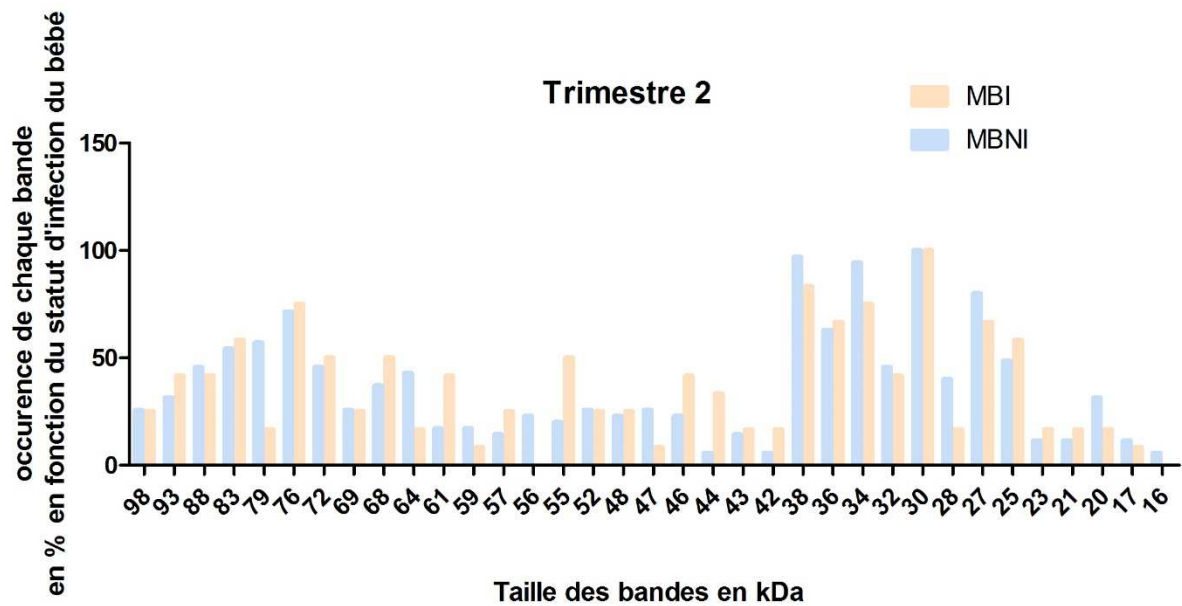


Figure 31 : Représentation de l'occurrence en % de chaque bande en fonction du statut du bébé pour les mamans infectées au trimestre 2 de grossesse

Il est ainsi possible de noter que chez les MBI infectées au T2 de grossesse, il n'y a pas d'anticorps contre la p56 et p16. De plus, que ce soient les MBI ou les MBNI, 100% des individus ont des anticorps dirigés contre la p30 (Figure 31). A l'exception de la p28 et p32, le bloc des protéines de poids moléculaire moyen, 25-38 kDa, est retrouvé chez la majorité des patientes MBI (60 à 83%) et MBNI (50 à 97%). Ce sont plus particulièrement les p30, p34 et p38 qui sont quasi constantes chez toutes les patientes. Pour le bloc de haut poids moléculaires : 64-98 kDa, seules les p76 et p83 sont quasi constantes chez toutes les patientes.

Par rapport au groupe MBNI, le groupe MBI est proportionnellement composé de plus de patientes ayant mis en place une réponse humorale contre le bloc de protéines de poids moléculaire moyen, 42-61 kDa.

iii. Trimestre 3

Au trimestre (T3), la cohorte est composée de 20 MBI et 17 MBNI.

La représentation des modalités et des variables supplémentaires pour les mamans infectées au cours du T3 montre que toutes les variables sont centrées sur le point d'origine (Figure 32). Il en est de même pour les modalités. La seule information pouvant ressortir de cette représentation est que la p56 est rarement présente chez les mamans infectées mais que sa

présence est associée à un profil avec de nombreuses bandes. Cette information se confirme par le calcul des occurrences de chaque bande pour les individus de la cohorte T3 (Figure 33).

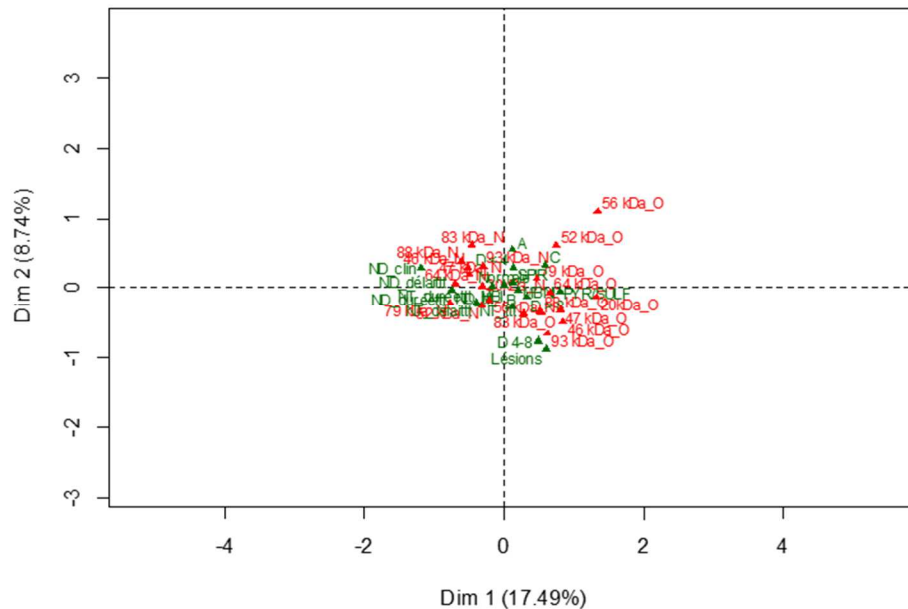


Figure 32 : Représentation des modalités et des variables supplémentaires dans dimensions 1 et 2 des patientes infectées au trimestre 3

La moyenne du nombre de bande chez les MBI est de 12 et de 14 chez les MBNI

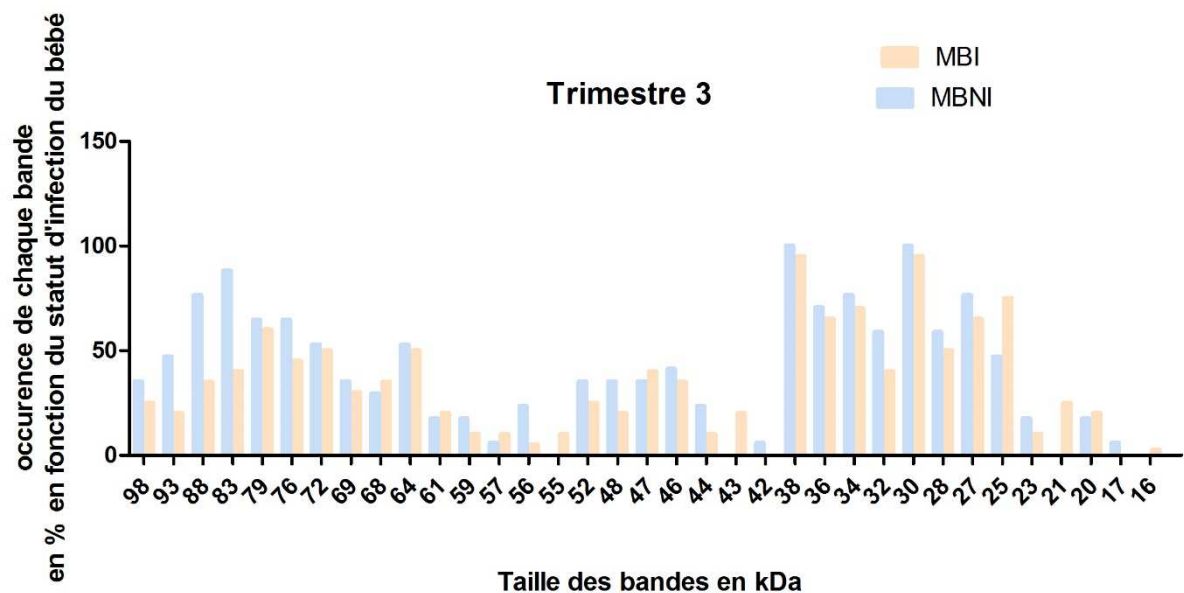


Figure 33 : Représentation de l'occurrence en % de chaque bande en fonction du statut du bébé pour les mamans infectées au trimestre 3 de grossesse

Il est ainsi possible de noter que chez les MBI infectées au T3 de grossesse, il n'y a pas d'anticorps contre la p56 (à l'exception d'une patiente), p42 et p17. Pour les MBNI il n'y a pas

d'anticorps contre la p16, p21, p43 et p55. Globalement les anticorps détectés sont majoritairement dirigés contre les protéines du bloc de poids moléculaire moyen, 25-38 kDa et les MBNI ont une réponse anticorps plus souvent dirigée contre des protéines de haut poids moléculaire et plus particulièrement de la p76 à p88 par rapport aux MBI (Figure 33).

e. Géolocalisation

Nous avons réalisé une géolocalisation des cas MBNI et MBI (Figure 34) et une géolocalisation du génotype de la souche de *T. gondii* impliquée lorsque celui-ci avait été déterminé (Figure 35).



Figure 34 : Géo-localisation des cas de mères ayant eu une séroconversion en cours de grossesse. MBI (En rouge) et MBNI (En bleu).

La géolocalisation des cas de séroconversion pour la toxoplasmose en cours de grossesse montre visuellement que la majorité des cas suivis au CHU de Rennes sont localisés principalement en Bretagne (35, 22 et 56) (Figure 34). Les cas du département 29, sont adressés au CHU de Brest. Il est à noter que quelques cas de femmes enceintes résidant dans les départements 50, 53 et 44 ont également été adressés au CHU de Rennes. De manière

anecdotique, 2 femmes habitant près de Lille et 1 cas de femme habitant près de Paris ont également été suivies au CHU de Rennes.

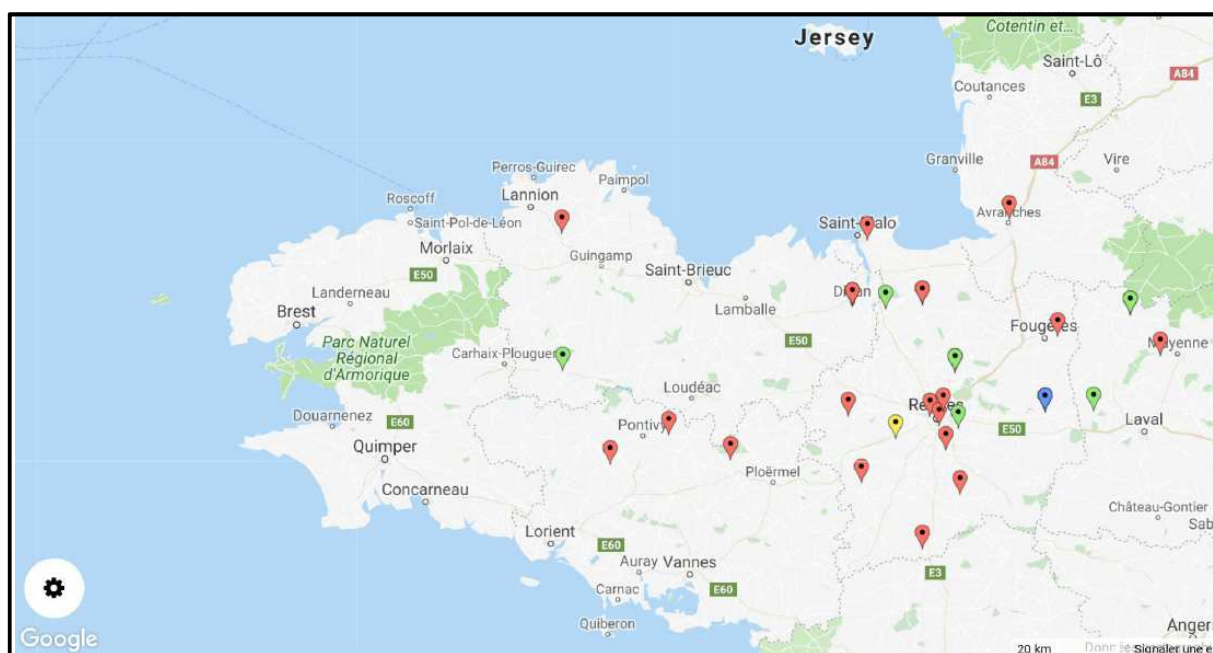


Figure 35 : Géo-localisation des cas de MBI. En rouge : génotype type II, en bleu : génotype type II VAR W35, en vert : non typé, en jaune : génotype type II VAR.

Une géolocalisation des génotypes impliqués dans les cas de toxoplasmose congénitale a également été réalisée (Figure 35) montrant que le génotype II est le génotype retrouvé sur notre territoire en accord avec les données du CNR (8). Lors du génotypage, deux variants ont été mis en évidence sur des locus microsatellites (le locus W35 et l'autre n'a pas été déterminé). Il ne semble pas y avoir de cas groupés associés à un génotype particulier, pouvant faire suspecter une contamination environnementale commune.

B. Analyse des bébés infectés *in utero* par *Toxoplasma gondii*

La cohorte de bébés atteints de toxoplasmose congénitale est composée de 34 bébés. Pour neuf bébés de cette cohorte, la comparaison des profils IgG anti-*Toxoplasma* mère/enfant n'a pas permis de faire le diagnostic de TC. En effet, les profils sont identiques, le diagnostic a été réalisé sur la comparaison des profils IgM. En moyenne, les profils des bébés en IgG diffèrent de 3 bandes avec celui de la mère (de 1 à 10 bandes).

a. ACM

Une ACM a été réalisée sur la cohorte des bébés infectés *in utero*, soit 25 individus (34 bébés moins les 9 qui ont un profil identique avec leur mère). Nous avons choisi d'analyser les modalités qui différaient entre la mère et le bébé. Modalités qui ont permis de faire le diagnostic post-natal sur les WB IgG. Les bandes communes mère/enfant ont été considérées comme non présentes car non informatives sur la mise en place d'une production de néo-anticorps par l'enfant infecté.

Nous avons suivi le même procédé que celui utilisé pour les mamans afin d'interpréter l'ACM. L'analyse des corrélations pour les variables qualitatives et le cercle des corrélations pour les variables quantitatives montre que la variable « nombre de bandes » est corrélée aux axes 1 et 4 et que la variable « trimestre d'infection » est corrélée à l'axe 6 (Figure 36). Ces deux variables étaient déjà corrélées dans l'ACM sur les mamans.

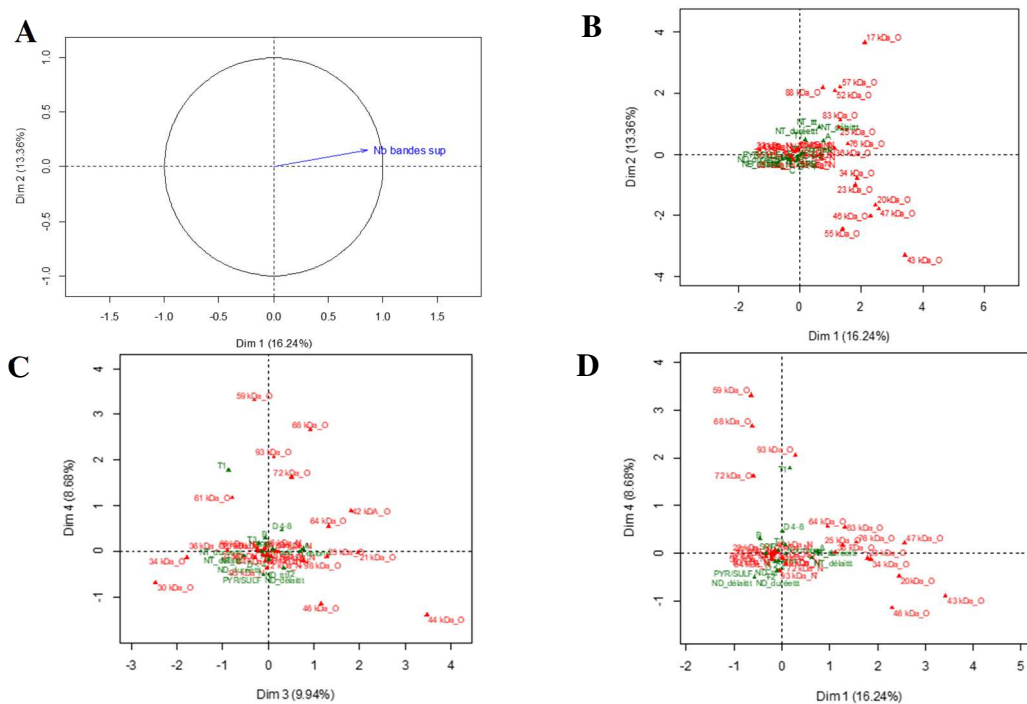


Figure 36 : Représentations de l'ACM pour les bébés infectés par *T. gondii*. Seules les bandes différentes entre la mère et son enfant ont été prises en compte. (A) Cercle des corrélations de la variable N bande pour les dimensions 1 et 2. Représentations des modalités et des variables supplémentaires selon les dimensions 1 et 2 (B), 3 et 4 (C) et 1 et 4 (D)

Lorsque les variables sont représentées, une distribution aléatoire est observée, ne permettant pas de faire d'interprétation de l'ACM obtenue. Cela peut s'expliquer par l'effectif réduit ainsi que le nombre réduit de modalités.

b. Analyse de similarités

A partir des profils IgG obtenus sur Bionumerics, une analyse de similarités basée sur le nombre de différences observées entre les profils en termes de bandes, a été réalisée. Le dendrogramme obtenu met en évidence trois groupes de similarités (Figure 37). Un groupe (encadré du haut) avec un profil à peu de bandes de faible poids moléculaires, un groupe (encadré du milieu) avec un profil à nombreuses bandes de tout poids moléculaires et un groupe (encadré du bas) avec un nombre intermédiaire, par rapport aux deux autres groupes, de bandes de faible et haut poids moléculaire.

Lorsque les variables qualitatives recueillies sont regardées en fonction des groupes déterminés par l'analyse de similarités, il n'y a pas de variable constante qui ressort, que ce soit la durée du traitement (représentée en couleur sur le dendrogramme), le trimestre d'infection, la clinique à la naissance ou le délai de mise sous traitement.

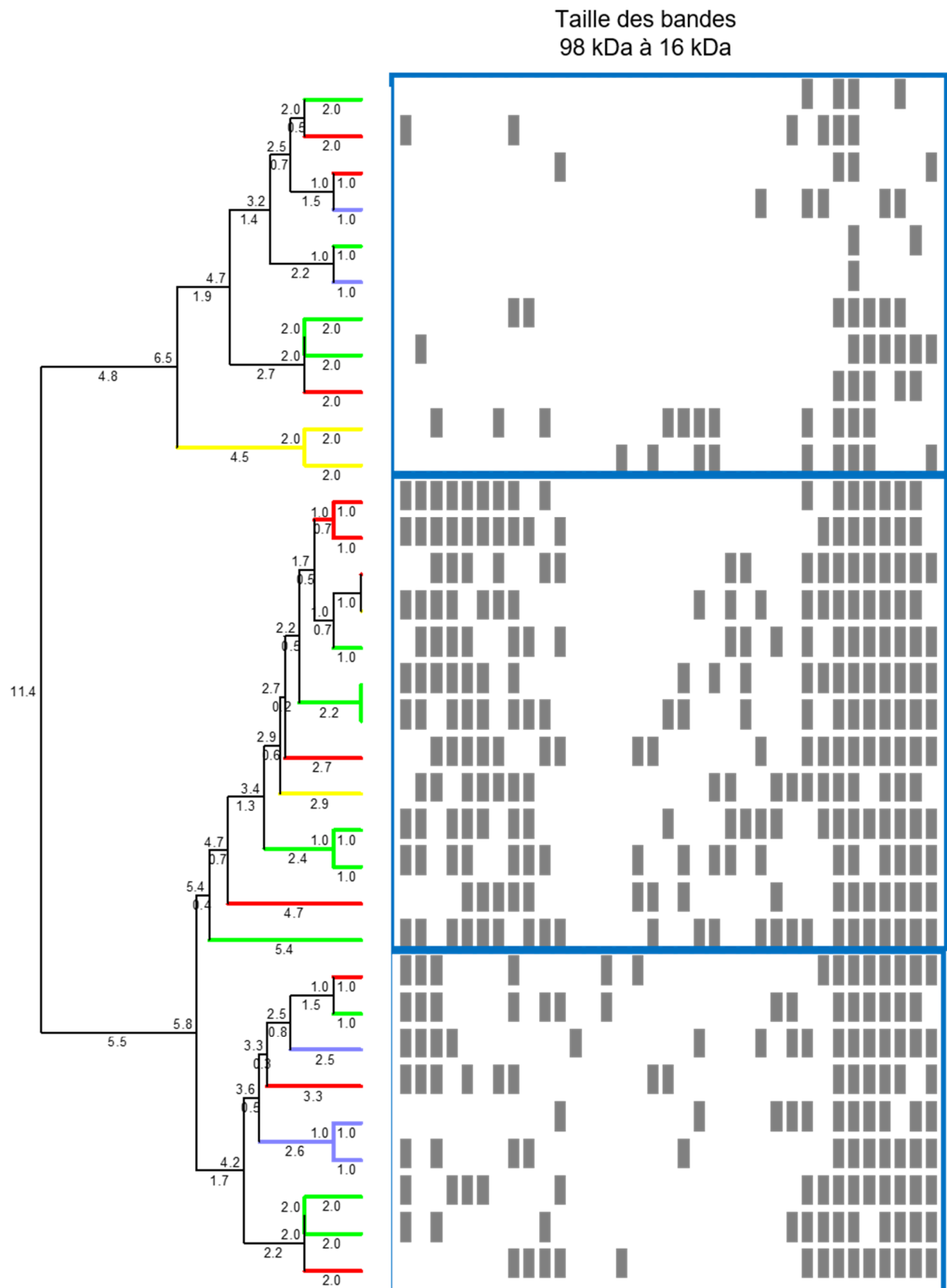


Figure 37 : dendrogramme et matrice de similarités basés sur les similarités les profils IgG anti-*Toxoplasma* des bébés atteints de toxoplasmose congénitale. La durée du traitement en catégories est indiquée par des couleurs (rouge : B, vert : C, bleu : NT, jaune : A). A = durée < 4 semaines, B correspond à une durée comprise entre 4 et 8 semaines, C = durée > 8 semaines

Conclusion

Dans le cadre de ce travail, nous avons constitué rétrospectivement une cohorte de 215 individus composée de 181 mamans avec une séroconversion pour la toxoplasmose en cours de grossesse donnant soit naissance à un bébé non infecté, soit naissance à un bébé infecté, et 34 bébés infectés. Cette cohorte a été constituée sur la période 2010-2015. Sur la période d'étude de ce travail, 54% des femmes se contaminent au cours du premier semestre de grossesse démontrant l'intérêt d'informer les patientes sur les moyens de prévention de cette pathologie avec un rôle important du pharmacien d'officine notamment.

Plusieurs données qualitatives (durée du traitement, le trimestre d'infection, la clinique à la naissance ou le délai de mise sous traitement ...) ont été répertoriées pour chaque individu de la cohorte, ainsi qu'une variable quantitative (nombre de bandes observées sur le western blot IgG anti-*Toxoplasma*). Une analyse multifactorielle de type ACM a été effectuée sur le jeu de données générées. Cette analyse a permis de mettre en évidence que le nombre de bandes est significativement corrélé au trimestre d'infection. En effet, plus la maman s'infecte précocement au cours de sa grossesse plus elle met en place une réponse humorale variée ciblant la majorité des protéines constitutives du parasite. Cette diversité dans la réponse humorale n'est pas liée à une autre variable étudiée. L'analyse multifactorielle réalisée n'a pas mis en évidence de corrélation entre la réponse humorale et le statut du bébé à la naissance confirmant que la réponse humorale à elle seule n'est pas suffisante pour expliquer une protection du bébé.

A partir de l'étude spécifique et la comparaison des profils d'IgG anti-*Toxoplasma* obtenus par analyse des WB à T1, T2 et T3, il est possible d'établir une cinétique d'apparition des anticorps chez la maman infectée en cours de grossesse. Cette cinétique semble suivre le cheminement de *T.gondii* dans son processus de dissémination. En effet, lorsque l'on s'intéresse à la structure du parasite sous sa forme tachyzoïte (Figure 38) et plus particulièrement à la cinétique de sécrétion des différents organites du complexe apical, dans les processus d'attachement, d'invasion puis de multiplication (Figure 39), il est possible d'établir un parallèle avec la cinétique d'apparition des différents anticorps IgG anti-*Toxoplasma* (Figure 40).

Toxoplasma gondii sous sa forme de dissémination rapide dans l'organisme contient des organites de sécrétion (Micronèmes, Rhoptries et Granules Denses) impliqués dans les différentes étapes permettant la propagation du parasite à travers tout l'organisme (Figure 38).

La membrane parasitaire est composée de plusieurs antigènes de surface appartenant à la famille de SAG1. Ces protéines de surface, dont SAG1 constitue l'élément majeur, contribuent à l'adhésion du parasite à la cellule-hôte lors du processus d'invasion (81). Les protéines de micronèmes (MIC), situées au pôle apical du parasite, semblent agir en synergie dans le phénomène d'invasion (82). Les rhoptries (ROP), également situées au pôle apical de chaque parasite, peuvent fusionner avec la membrane apicale et libérer des protéines impliquées dans le processus d'invasion de la cellule hôte (83). Les protéines des granules denses (GRA) représentent un groupe de petites protéines (21 à 41 k Da), dont certaines sont essentielles pour l'établissement de la vacuole parasitophore et la réplication intracellulaire du tachyzoïte, cette vacuole étant le lieu de multiplication du parasite (83).

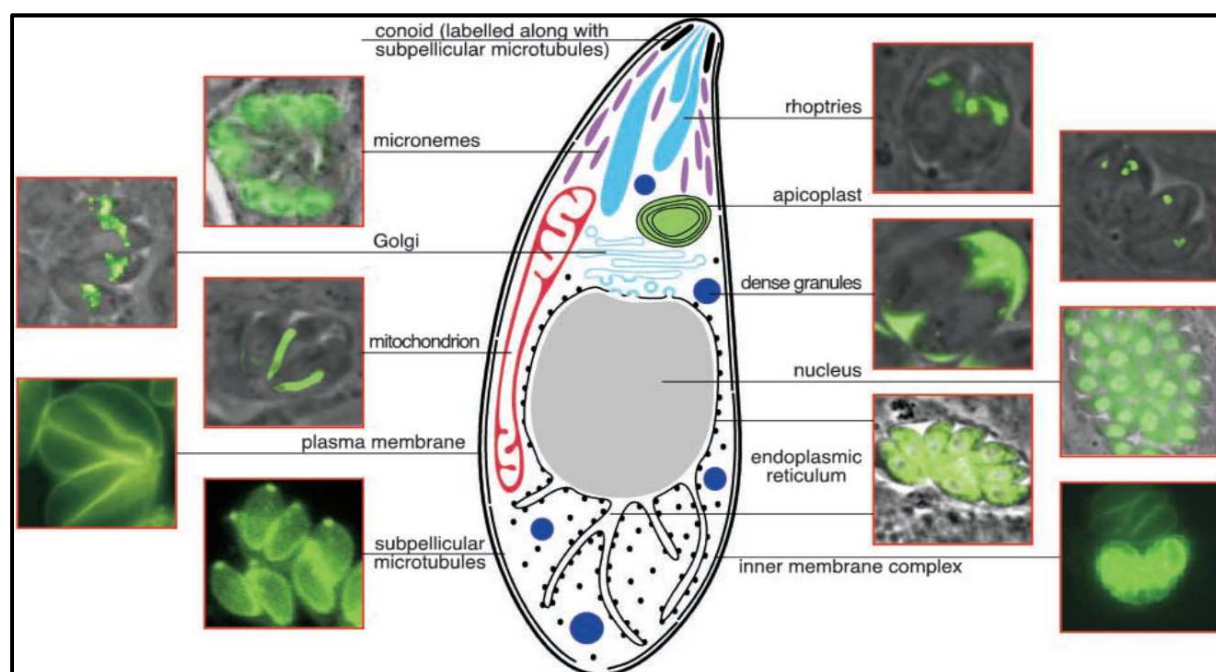


Figure 38 : Structure de *T. gondii*. Sous sa forme tachyzoïte, il contient trois organites de sécrétion de morphologie distincte: les micronèmes, les rhoptries et les granules denses. Les deux premières sont localisées au pôle antérieur alors que les granules denses sont distribuées tout le long du parasite. Figure issue de (84).

Le processus de dissémination de *T. gondii* peut se résumer selon les étapes suivantes (Figure 39):

(1) Le parasite se lie à la cellule hôte *via* les antigènes de surface (SAG), déclenchant alors l'exocytose des MICs.

(2) Les MICs reconnaissent ensuite des récepteurs cellulaires permettant la réorientation du parasite.

- (3) Puis il y a exocytose des rhoptries permettant l'établissement de la jonction mobile, à laquelle participent à la fois des protéines de rhoptries et des protéines de micronèmes.
- (4) Le parasite pénètre dans la cellule-hôte par invagination de la membrane plasmique.
- (5) Lorsque le parasite est complètement entré dans la vacuole,
- (6) celle-ci se referme.

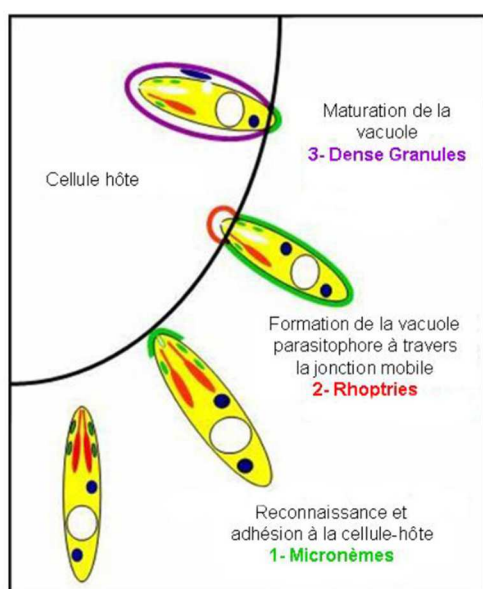


Figure 39 : Représentation schématique des différentes étapes de l'invasion cellulaire de *T.gondii* (A) vert : micronèmes, rouge : rhoptries, violet : granules denses (d'après (85)).

Les cinétiques d'apparition des anticorps chez les MBNI sont présentées dans la figure 40. Les MBI ne sont pas exploitées car avec une seule MBI au T1, il est difficile de donner une interprétation au profil IgG obtenu. De plus, les tailles en kDa des protéines détectées ne sont que des poids moléculaires apparents, il est difficile d'annoncer un antigène donné seulement avec ce poids apparent. Seule la détection par un anticorps monoclonal permettrait d'affirmer l'identité de l'antigène détecté. Nous resterons donc prudents sur les interprétations.

Les représentations des profils IgG anti-*Toxoplasma* en fonction du trimestre d'infection montrent que les anticorps dirigés contre les protéines du bloc 25-38 kDa sont exprimés précocement et, pour certains, chez la quasi-totalité des patients infectées dès T3. Ce bloc contient principalement des protéines de surface, notamment la SAG1 (30 kDa) qui est décrite comme hautement immunogène et qui est capable d'induire une réponse humorale et cellulaire (86) permettant d'expliquer la détection très précoce des anticorps dirigés contre elle. Presque 100% des patientes expriment les anticorps dirigés contre SAG1. Pour ce bloc 25-38 kDa, il

semble que les anticorps lorsqu'ils sont produits, sont produits d'emblée. Les anticorps dirigés contre les p35, p30 et p38 sont produits par quasi 100% des patientes dès le début de l'infection.

Les représentations des profils IgG anti-*Toxoplasma* en fonction du trimestre d'infection montrent que les anticorps dirigés contre les protéines du bloc 16-23 kDa suivent une cinétique d'apparition. En effet, ils ne sont presque pas détectés chez les patientes infectées à T3 alors qu'ils sont présents chez 50% des patientes infectées à T1. Ce bloc contient principalement des protéines de micronèmes (MIC11, 16 kDa et MIC5, 22 kDa, deux protéines décrites comme immunogènes (87)) et des granules denses (GRA5, 21 kDa et GRA1, 24 kDa, deux protéines décrites comme immunogènes (88)). Les micronèmes étant impliqués dans l'étape d'invasion sont exposés secondairement aux SAG au système immunitaire. Les granules denses sont finalement les dernières protéines parasitaires exposées au système immunitaire expliquant une détection plus tardive des anticorps correspondants.

Les représentations des profils IgG anti-*Toxoplasma* en fonction du trimestre d'infection montrent que les anticorps dirigés contre les protéines du bloc 42-61 kDa suivent pour la majorité une cinétique d'apparition. Cette fenêtre de poids moléculaires inclut des protéines de micronèmes (MIC2AP à 40-43 kDa et MIC1, MIC4 à 60-61 kDa) mais essentiellement des protéines de rhoptries (poids moléculaires compris entre 52 et 66 kDa) qui interviennent dans la formation de la vacuole parasitophore (77). Les ROP2, 5 et 16 sont particulièrement immunogènes (89,90).

Les représentations des profils IgG anti-*Toxoplasma* en fonction du trimestre d'infection montrent que les anticorps dirigés contre les protéines du bloc 64-98 kDa suivent pour certains une cinétique d'apparition (p68, p72 et p98) alors que d'autres semblent disparaître (p93, p88 et p83). Cette fenêtre de poids moléculaires inclut des protéines de micronèmes (MIC3, 90 kDa hautement impliqué dans la virulence et MIC8, 70 kDa) et des protéines de rhoptries (ROP1, 23 et 38 connues comme étant immunogènes (77)).

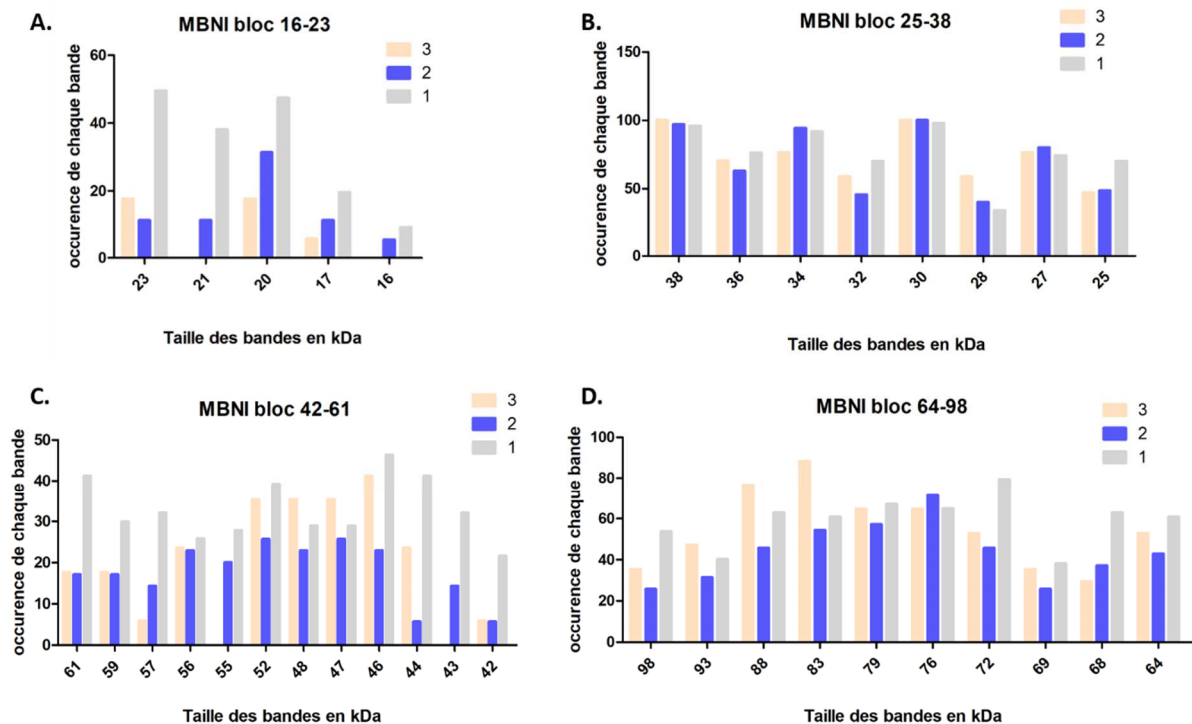


Figure 40 : Représentations des occurrences en % des différentes bandes détectées sur WB IgG anti-*Toxoplasma* en fonction du poids moléculaires pour les MBNI selon le trimestre d'infection (T1=1, T2=2 et T3=3). Quatre catégories de poids ont été déterminées (A) bloc de protéines 16-23 kDa, (B) bloc de protéines 25-38 kDa, (C) bloc de protéines 42-61 kDa et (D) bloc de protéines 64-98 kDa

Pour conclure sur le travail réalisé, il sera intéressant d'étudier si cette cinétique d'apparition est fonction du délai de mise sous traitement et ou de la durée du traitement. De plus, on peut se demander si certains anticorps disparaissent sous l'influence du traitement.

Au total, ce travail décrit pour la première fois la réponse humorale qualitative de femmes enceintes infectées en cours de grossesse, avec une analyse en fonction du trimestre d'infection et du statut d'infection du bébé. A l'évidence, il ouvre des portes sur une analyse plus fine à l'aide d'outils statistiques plus sophistiqués, permettant de traiter des associations de plusieurs variables quantitatives.

Bibliographie

1. Dubey JP, Brown J, Ternent M, Verma SK, Hill DE, Cerqueira-Cézar CK, et al. Seroepidemiologic study on the prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Trichinella* spp. infections in black bears (*Ursus americanus*) in Pennsylvania, USA. *Vet Parasitol.* 15 oct 2016;229:76-80.
2. Montoya J, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *The Lancet.* 12 juin 2004;363(9425):1965-76.
3. Robert-Gangneux F, Dardé M-L. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.* avr 2012;25(2):264-96.
4. Basavaraju A. Toxoplasmosis in HIV infection: An overview. *Trop Parasitol.* 2016;6(2):129-35.
5. Carme B, Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, et al. Severe Acquired Toxoplasmosis in Immunocompetent Adult Patients in French Guiana. *J Clin Microbiol.* nov 2002;40(11):4037-44.
6. Wallon M, Garweg JG, Abrahamowicz M, Cornu C, Vinault S, Quantin C, et al. Ophthalmic Outcomes of Congenital Toxoplasmosis Followed Until Adolescence. *Pediatrics.* 1 mars 2014;133(3):e601-8.
7. Code de la santé publique - Article R2122-1. Code de la santé publique.
8. Centre National de Référence de la Toxoplasmose. Plan du rapport annuel d'activité, année d'exercice 2018. 2019.
9. Nicolle C ML. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gundi. In 1908. p. 763-6.
10. Mai K, Sharman PA, Walker RA, Katrib M, Souza DD, McConville MJ, et al. Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* mars 2009;104(2):281-9.
11. Dardé ML. *Toxoplasma gondii*, "new" genotypes and virulence. *Parasite.* 1 sept 2008;15(3):366-71.
12. Ajzenberg D, Bañuls AL, Su C, Dumètre A, Demar M, Carme B, et al. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 1 sept 2004;34(10):1185-96.
13. Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 1 juill 1998;28(7):1019-24.
14. Herwaldt BL. Laboratory-Acquired Parasitic Infections from Accidental Exposures. *Clin Microbiol Rev.* oct 2001;14(4):659-88.
15. Mayes JT, O'Connor BJ, Avery R, Castellani W, Carey W. Transmission of *Toxoplasma gondii* Infection by Liver Transplantation. *Clin Infect Dis.* 1 sept 1995;21(3):511-5.
16. Rose AG, Uys CJ, Novitsky D, Cooper DK, Barnard CN. Toxoplasmosis of donor and recipient hearts after heterotopic cardiac transplantation. *Arch Pathol Lab Med.* juill 1983;107(7):368-73.
17. Peyron F, Wallon M, Kieffer F, Garweg J. Toxoplasmosis. 2016;949-1042.

18. Molan A, Nosaka K, Hunter M, Wang W. The role of *Toxoplasma gondii* as a possible inflammatory agent in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus in humans. 2016;4(4):44-62.
19. Gazzinelli RT, Hieny S, Wynn TA, Wolf S, Sher A. Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon gamma by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1 juill 1993;90(13):6115-9.
20. Gazzinelli RT, Wysocka M, Hayashi S, Denkers EY, Hieny S, Caspar P, et al. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol*. 15 sept 1994;153(6):2533-43.
21. Hunter CA, Subauste CS, Van Cleave VH, Remington JS. Production of gamma interferon by natural killer cells from *Toxoplasma gondii*-infected SCID mice: regulation by interleukin-10, interleukin-12, and tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun*. juill 1994;62(7):2818-24.
22. Ronet C, Darche S, Moraes ML de, Miyake S, Yamamura T, Louis JA, et al. NKT Cells Are Critical for the Initiation of an Inflammatory Bowel Response against *Toxoplasma gondii*. *J Immunol*. 15 juill 2005;175(2):899-908.
23. Dunay IR, Sibley LD. Monocytes Mediate Mucosal Immunity to *Toxoplasma gondii*. *Curr Opin Immunol*. août 2010;22(4):461-6.
24. Sibley LD, Messina M, Niesman IR. Stable DNA transformation in the obligate intracellular parasite *Toxoplasma gondii* by complementation of tryptophan auxotrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 7 juin 1994;91(12):5508-12.
25. Pittman KJ, Knoll LJ. Long-Term Relationships: the Complicated Interplay between the Host and the Developmental Stages of *Toxoplasma gondii* during Acute and Chronic Infections. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR*. 2 sept 2015;79(4):387-401.
26. Kasper L, Courret N, Darche S, Luangsang S, Mennechet F, Minns L, et al. *Toxoplasma gondii* and mucosal immunity. *Int J Parasitol*. 9 mars 2004;34(3):401-9.
27. Alves Silva JL, Rezende-Oliveira K, da Silva MV, Gómez-Hernández C, Crema Peghini B, Silva NM, et al. IL-17-Expressing CD4+ and CD8+ T Lymphocytes in Human Toxoplasmosis. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2014 [cité 26 sept 2019];2014. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4151596/>
28. Couper KN, Roberts CW, Brombacher F, Alexander J, Johnson LL. *Toxoplasma gondii*-Specific Immunoglobulin M Limits Parasite Dissemination by Preventing Host Cell Invasion. *Infect Immun*. déc 2005;73(12):8060-8.
29. Fadul CE, Channon JY, Kasper LH. Survival of immunoglobulin G-opsonized *Toxoplasma gondii* in nonadherent human monocytes. *Infect Immun*. nov 1995;63(11):4290-4.
30. Gras L, Gilbert RE, Wallon M, Peyron F, Cortina-Borja M. Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies. *Epidemiol Infect*. juin 2004;132(3):541-8.
31. Nascimento FS, Suzuki LA, Rossi CL. Assessment of the value of detecting specific IgA antibodies for the diagnosis of a recently acquired primary *Toxoplasma* infection. *Prenat Diagn*. 2008;28(8):749-52.

32. Foudrinier F, Villena I, Jaussaud R, Aubert D, Chemla C, Martinot F, et al. Clinical Value of Specific Immunoglobulin E Detection by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in Cases of Acquired and Congenital Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* avr 2003;41(4):1681-6.
33. Guernonprez P, Valladeau J, Zitvogel L, Théry C, Amigorena S. Antigen Presentation and T Cell Stimulation by Dendritic Cells. *Annu Rev Immunol.* 2002;20(1):621-67.
34. Villegas EN, Lieberman LA, Mason N, Blass SL, Zediak VP, Peach R, et al. A Role for Inducible Costimulator Protein in the CD28- Independent Mechanism of Resistance to *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 15 juill 2002;169(2):937-43.
35. Bennouna S, Bliss SK, Curiel TJ, Denkers EY. Cross-Talk in the Innate Immune System: Neutrophils Instruct Recruitment and Activation of Dendritic Cells during Microbial Infection. *J Immunol.* 1 déc 2003;171(11):6052-8.
36. Chang HR, Grau GE, Pechère JC. Role of TNF and IL-1 in infections with *Toxoplasma gondii*. *Immunology.* janv 1990;69(1):33-7.
37. Kretschmer U, Bonhagen K, Debes GF, Mittrücker H-W, Erb KJ, Liesenfeld O, et al. Expression of selectin ligands on murine effector and IL-10-producing CD4+ T cells from non-infected and infected tissues. *Eur J Immunol.* 2004;34(11):3070-81.
38. Denkers EY, Butcher BA, Rio LD, Kim L. Manipulation of mitogen-activated protein kinase/nuclear factor- κ B-signaling cascades during intracellular *Toxoplasma gondii* infection. *Immunol Rev.* 2004;201(1):191-205.
39. Jensen KDC, Wang Y, Wojno EDT, Shastri AJ, Hu K, Cornel L, et al. *Toxoplasma* Polymorphic Effectors Determine Macrophage Polarization and Intestinal Inflammation. *Cell Host Microbe.* 16 juin 2011;9(6):472-83.
40. Saeij JPJ, Boyle JP, Collier S, Taylor S, Sibley LD, Brooke-Powell ET, et al. Polymorphic Secreted Kinases Are Key Virulence Factors in Toxoplasmosis. *Science.* 15 déc 2006;314(5806):1780-3.
41. Pfaff AW, Abou-Bacar A, Letscher-Bru V, Villard O, Senegas A, Mousli M, et al. Cellular and molecular physiopathology of congenital toxoplasmosis: The dual role of IFN- γ . *Parasitology.* déc 2007;134(13):1895-902.
42. Derouin F, Bultel C, Roze S, Thomann C, Ribeiro F. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation Rapport du groupe de travail « *Toxoplasma gondii* » de l'Afssa. :318.
43. Tourdjman M, Tchéandjieu C, De Valk H, Goulet V, Le Strat Y. TOXOPLASMOSE CHEZ LES FEMMES ENCEINTES EN FRANCE : ÉVOLUTION DE LA SÉROPRÉVALENCE ET DES FACTEURS ASSOCIÉS ENTRE 1995 ET 2010, À PARTIR DES ENQUÊTES NATIONALES PÉRINATALES // TOXOPLASMOSIS AMONG PREGNANT WOMEN IN FRANCE: TRENDS IN SEROPREVALENCE AND ASSOCIATED FACTORS BETWEEN 1995 AND 2010. *Bull. Epidémiologique Hebd.* 2015;264-72.
44. Berger F, Goulet V, Le Strat Y, Desenclos J-C. Toxoplasmosis among pregnant women in France: risk factors and change of prevalence between 1995 and 2003. *Rev Epidemiol Sante Publique.* août 2009;57(4):241-8.

45. Robert-Gangneux F, Dupretz P, Yvenou C, Quinio D, Poulain P, Guiguen C, et al. Clinical relevance of placenta examination for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. janv 2010;29(1):33-8.
46. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet Lond Engl*. 29 mai 1999;353(9167):1829-33.
47. Cortina-Borja M, Tan HK, Wallon M, Paul M, Prusa A, Buffolano W, et al. Prenatal Treatment for Serious Neurological Sequelae of Congenital Toxoplasmosis: An Observational Prospective Cohort Study. *PLoS Med* [Internet]. 12 oct 2010 [cité 27 sept 2019];7(10). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953528/>
48. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, et al. Congenital Toxoplasma Infection: Monthly Prenatal Screening Decreases Transmission Rate and Improves Clinical Outcome at Age 3 Years. *Clin Infect Dis*. 1 mai 2013;56(9):1223-31.
49. Murat J-B, Hidalgo HF, Brenier-Pinchart M-P, Pelloux H. Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations? *Expert Rev Anti Infect Ther*. 1 sept 2013;11(9):943-56.
50. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Plan national nutrition santé. Plan National Nutrition Santé. Le guide nutrition de la grossesse. 2007.
51. Haute Autorité de Santé. Comment mieux informer les femmes enceintes ? Recommandations pour les professionnels de santé. 2005.
52. Robert-Gangneux F, Dardé M-L. Toxoplasme et toxoplasmoses. *Wwwem-Premiumcomdatatraitesmc08-50133* [Internet]. 17 févr 2019 [cité 4 oct 2019]; Disponible sur: <https://www.em-premium.com/article/1276755/resultatrecherche/2>
53. Jummaat F, Ahmad S, Mohamed INA. 5-Year review on amniocentesis and its maternal fetal complications. *Horm Mol Biol Clin Investig* [Internet]. 2019 [cité 4 oct 2019];0(0). Disponible sur: <https://www.degruyter.com/view/j/hmbci.ahead-of-print/hmbci-2019-0006/hmbci-2019-0006.xml>
54. Paquet C, Yudin MH, Yudin MH, Allen VM, Bouchard C, Boucher M, et al. Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment. *J Obstet Gynaecol Can*. 1 janv 2013;35(1):78-9.
55. Mandelbrot L, Kieffer F, Sitta R, Laurichesse-Delmas H, Winer N, Mesnard L, et al. Prenatal therapy with pyrimethamine + sulfadiazine vs spiramycin to reduce placental transmission of toxoplasmosis: a multicenter, randomized trial. *Am J Obstet Gynecol*. 1 oct 2018;219(4):386.e1-386.e9.
56. Fallahi S, Rostami A, Nouroollahpour Shiadeh M, Behniafar H, Paktinat S. An updated literature review on maternal-fetal and reproductive disorders of *Toxoplasma gondii* infection. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 1 mars 2018;47(3):133-40.
57. Smit GSA, Padalko E, Van Acker J, Hens N, Dorny P, Speybroeck N, et al. Public Health Impact of Congenital Toxoplasmosis and Cytomegalovirus Infection in Belgium, 2013: A Systematic Review and Data Synthesis. *Clin Infect Dis*. 15 août 2017;65(4):661-8.

58. Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brezin AP, Thulliez P, et al. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 24 juin 2010;15(25).
59. Desmonts G, Couvreur J, Thulliez P. [Congenital toxoplasmosis. 5 cases of mother-to-child transmission of pre-pregnancy infection]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 29 sept 1990;19(31):1445-9.
60. Elbez-Rubinstein A, Ajzenberg D, Dardé M-L, Cohen R, Dumètre A, Yera H, et al. Congenital Toxoplasmosis and Reinfection during Pregnancy: Case Report, Strain Characterization, Experimental Model of Reinfection, and Review. *J Infect Dis*. 15 janv 2009;199(2):280-5.
61. Lindsay DS, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis. *Parasitology*. déc 2011;138(14):1829-31.
62. Sabin AB. Toxoplasmosis. A recently recognized disease of human beings. *Adv Pediatr*. 1942;1-53.
63. Remington, J.S., McLeod, R., Thulliez, P., Desmonts, G. Toxoplasmosis. Remington, JS and Klein, J, Eds, *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 5th WB Saunders, Philadelphia,. 2001;205-346.
64. Kieffer F, Wallon M, Garcia P, Thulliez P, Peyron F, Franck J. Risk Factors for Retinochoroiditis During the First 2 Years of Life in Infants With Treated Congenital Toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. janv 2008;27(1):27-32.
65. Carlier Y, Truyens C, Deloron P, Peyron F. Congenital parasitic infections: A review. *Acta Trop*. 1 févr 2012;121(2):55-70.
66. Borges M, Magalhães Silva T, Brito C, Teixeira N, Roberts CW. How does toxoplasmosis affect the maternal-foetal immune interface and pregnancy? *Parasite Immunol*. 2019;41(3):e12606.
67. Halonen SK, Weiss LM. TOXOPLASMOSIS. *Handb Clin Neurol*. 2013;114:125-45.
68. Chaudhry SA, Gad N, Koren G. Toxoplasmosis and pregnancy. *Can Fam Physician*. avr 2014;60(4):334-6.
69. Li X-L, Wei H-X, Zhang H, Peng H-J, Lindsay DS. A Meta Analysis on Risks of Adverse Pregnancy Outcomes in *Toxoplasma gondii* Infection. *PLoS ONE* [Internet]. 15 mai 2014 [cité 4 oct 2019];9(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4022675/>
70. Amouei A, Sarvi S, Sharif M, Aghayan SA, Javidnia J, Mizani A, et al. A systematic review of *Toxoplasma gondii* genotypes and feline: Geographical distribution trends. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. [cité 4 oct 2019];0(0). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.13340>
71. Ajzenberg D, Collinet F, Aubert D, Villena I, Dardé M-L, Devillard S. The rural–urban effect on spatial genetic structure of type II *Toxoplasma gondii* strains involved in human congenital toxoplasmosis, France, 2002–2009. *Infect Genet Evol*. 1 déc 2015;36:511-6.

72. Rico-Torres CP, Vargas-Villavicencio JA, Correa D. Is *Toxoplasma gondii* type related to clinical outcome in human congenital infection? Systematic and critical review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1 juill 2016;35(7):1079-88.
73. Hutson SL, Wheeler KM, McLone D, Frim D, Penn R, Swisher CN, et al. Patterns of Hydrocephalus Caused by Congenital *Toxoplasma gondii* Infection Associate With Parasite Genetics. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 déc 2015;61(12):1831-4.
74. Ajzenberg D, Cogné N, Paris L, Bessièrès M-H, Thulliez P, Filisetti D, et al. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* Isolates Associated with Human Congenital Toxoplasmosis, and Correlation with Clinical Findings. *J Infect Dis*. 1 sept 2002;186(5):684-9.
75. Centre national de référence sur la toxoplasmose. Recommandations destinées aux professionnels de santé concernant le diagnostic par biologie moléculaire de la toxoplasmose congénitale. [Internet]. Centre national de référence sur la toxoplasmose.; 2011. Disponible sur: <http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/wpcontent/uploads/2012/06/Recommandations-Diagnostic-TC-biomol-janvier-2012.pdf>
76. Olariu TR, Remington JS, McLeod R, Alam A, Montoya JG. Severe congenital toxoplasmosis in the United States: clinical and serologic findings in untreated infants. *Pediatr Infect Dis J*. déc 2011;30(12):1056-61.
77. Rezaei F, Sarvi S, Sharif M, Hejazi SH, Pagheh AS, Aghayan SA, et al. A systematic review of *Toxoplasma gondii* antigens to find the best vaccine candidates for immunization. *Microb Pathog*. janv 2019;126:172-84.
78. Lê, S., Josse, J., Husson, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*. 2008;1-18.
79. Peres-Neto P, Jackson DA, Somers KM. How many principal components? Stopping rules for determining the number of non-trivial axes revisited. *Computational Statistics and Data Analysis*. 2005;974–997.
80. FLAMENT Claude, MILLAND Laurent. UN EFFET GUTTMAN EN ACP. *Math & Sci hum ~ Mathematics and Social Sciences*. 43e année. 2005;25-49.
81. Mineo JR, Kasper LH. Attachment of *Toxoplasma gondii* to Host Cells Involves Major Surface Protein, SAG-1 (P-30). *Exp Parasitol*. 1 août 1994;79(1):11-20.
82. Jewett Travis J., Sibley David. The *Toxoplasma* Proteins MIC2 and M2AP Form a Hexameric Complex Necessary for Intracellular Survival [Internet]. [cité 6 oct 2019]. Disponible sur: <http://www.jbc.org/content/279/10/9362.long>
83. Carruthers VB, Sibley LD. Sequential protein secretion from three distinct organelles of *Toxoplasma gondii* accompanies invasion of human fibroblasts. *Eur J Cell Biol*. juin 1997;73(2):114-23.
84. Joiner KA, Roos DS. Secretory traffic in the eukaryotic parasite *Toxoplasma gondii*: less is more. *J Cell Biol*. 13 mai 2002;157(4):557-63.
85. Dubremetz JF, Garcia-Réguet N, Conseil V, Fourmaux MN. Invited review Apical organelles and host-cell invasion by Apicomplexa. *Int J Parasitol*. 1 juill 1998;28(7):1007-13.

86. Letscher-Bru V, Pfaff AW, Abou-Bacar A, Filisetti D, Antoni E, Villard O, et al. Vaccination with *Toxoplasma gondii* SAG-1 Protein Is Protective against Congenital Toxoplasmosis in BALB/c Mice but Not in CBA/J Mice. *Infect Immun.* nov 2003;71(11):6615-9.
87. Beghetto E, Spadoni A, Buffolano W, Del Pezzo M, Minenkova O, Pavoni E, et al. Molecular dissection of the human B-cell response against *Toxoplasma gondii* infection by lambda display of cDNA libraries. *Int J Parasitol.* 1 févr 2003;33(2):163-73.
88. Wang Y, Wang G, Zhang D, Yin H, Wang M. Identification of novel B cell epitopes within *Toxoplasma gondii* GRA1. *Exp Parasitol.* 1 nov 2013;135(3):606-10.
89. Evaluation of immune responses induced by rhoptry protein 5 and rhoptry protein 7 DNA vaccines against *Toxoplasma gondii* - Wang - 2016 - *Parasite Immunology* - Wiley Online Library [Internet]. [cité 6 oct 2019]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pim.12306>
90. Yuan Z-G, Zhang X-X, He X-H, Petersen E, Zhou D-H, He Y, et al. Protective Immunity Induced by *Toxoplasma gondii* Rhoptry Protein 16 against Toxoplasmosis in Mice. *Clin Vaccine Immunol.* janv 2011;18(1):119-24.

Annexe 1 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2010

Statut	Durée traitement Totale (SA)	durée traitement catégorie	délai mise sous traitement (SA)	délai mise sous traitement catégorie	Clinique	Infektion (Trim)	Traitement
MBI	8	B	4	D 4-8	Lésions	T3	SPIR
MBI	5,5	B	5	D 4-8	Normale	T3	SPIR
MBI	8,7	C	1	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBI	6.5	B	1	D < 4	Normale	T3	PYR/SULF
MBI	8	B	2	D < 4	Lésions	T3	SPIR
MBI	0	NT_duréttt	0	NT_délaittt	Normale	T3	NT_ttt
MBI	11,5	C	29	D > 8	Normale	T3	SPIR
MBI	2,5	A	1	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	22	C	4	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	0	NT_duréttt	0	NT_délaittt	Normale	T1	NT_ttt
MBNI	8	B	2	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	ND	ND_duréttt	ND	ND_délaittt	Normale	T2	ND_ttt
MBNI	12.5	C	2,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	29.5	C	4	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	15	C	2,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	10.2	C	7	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	11.5	C	6,5	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	7.5	B	9,5	D > 8	Normale	T2	SPIR
MBNI	28.5	C	12	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	34.3	C	6	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	27	C	6	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	32	C	7	D 4-8	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	36	C	1	D < 4	Normale	T3	PYR/SULF

MBNI	9	C	1	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	21	C	17	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	23.3	C	4	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	24	C	3	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	18.7	C	4	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	32.5	C	6	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	ND	ND_duréttt	ND	ND_délaittt	Normale	T1	ND_ttt
MBNI	31	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	28	C	12	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	0.5	A	3,5	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	35	C	5,5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	5	B	0	D < 4	Normale	T3	PYR/SULF
MBNI	25	C	14	D > 8	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	32	C	2	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	8	B	0,5	D < 4	Lésions	T3	SPIR

MBI : mère de bébé infecté ; **ND, ND_clin , ND_duréttt** : non documenté ; **SPIR** : Spiramycine ; **PYR/SULF** : Pyriméthamine/Sulfadiazine ; **NT et NT_délaittt**: Non traité ; **SA** : semaine d'aménorrhée ; **A** : <4 SA; **B** : 4-8 SA; **C** : >8 SA; **D** : délai.

Annexe 2 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2011

Statut	Durée traitement Totale (SA)	durée traitement catégorie	délai mise sous traitement (SA)	délai mise sous traitement catégorie	Clinique	Infektion (Trim)	Traitement
MBI	4	B	1,5	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBI	6,8	B	4	D 4-8	Normale	T3	SPIR
MBNI	27	C	9,5	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	31.5	C	2	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	7	B	3,5	D < 4	Normale	T3	ND_ttt
MBNI	24	C	14	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	26.5	C	7	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	29	C	12	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	21	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	34.5	C	32,5	D > 8	Normale	T2	PYR/SULF
MBNI	4	B	38	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	19	C	5	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	18.5	C	1,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	3.5	A	2	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	35	C	4	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	25.5	C	14	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	36	C	5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	25.5	C	13	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	24.7	C	2	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	26.7	C	5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	33.8	C	6	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	26.5	C	2	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	28	C	12	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	23.7	C	11	D > 8	Normale	T1	SPIR

MBNI	0	NT_duréttt	0	NT_délaitt	Normale	T1	NT_ttt
MBNI	1.5	A	1	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	30	C	8	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	12.5	C	3	D < 4	Normale	T2	ND_ttt
MBNI	32	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	33	C	7	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	33.5	C	8	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	22	C	1,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	36.5	C	5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	29.5	C	1	D < 4	Normale	T1	SPIR

MBI : mère de bébé infecté ; **ND, ND_clin , ND_duréttt** : non documenté ; **SPIR** : Spiramycine ; **PYR/SULF** : Pyriméthamine/Sulfadiazine ; **NT et NT_délaitt**: Non traité ; **SA** : semaine d'aménorrhée ; **A** : <4 SA; **B** : 4-8 SA; **C** : >8 SA; **D** : délai.

Annexe 3 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2012

Statut	Durée traitement Totale (SA)	durée traitement catégorie	délai mise sous traitement (SA)	délai mise sous traitement catégorie	Clinique	Infektion (Trim)	Traitement
MBI	14	C	1	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBI	8,2	C	1	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBI	2,5	A	4	D 4-8	Normale	T3	SPIR
MBNI	33.5	C	7	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	13.5	C	11	D > 8	Normale	T2	SPIR
MBNI	28.5	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	20	C	4	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	0	NT_duréett	0	NT_délaitt	Normale	T3	NT_ttt
MBNI	9	C	17	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	18	C	1	D < 4	Normale	T2	ND_ttt
MBNI	29	C	11,5	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	22	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	14.5	C	5,5	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	30	C	4	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	29	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	0	NT_duréett	0	NT_délaitt	Lésions	T3	NT_ttt
MBNI	17.5	C	6	D 4-8	Lésions	T2	SPIR
MBNI	13	C	2	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	2.5	A	7	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	ND	ND_duréett	ND	ND_délaitt	Normale	T1	ND_ttt

MBI : mère de bébé infecté ; **ND, ND_clin, ND_duréett** : non documenté ; **SPIR** : Spiramycine ; **PYR/SULF** : Pyriméthamine/Sulfadiazine ; **NT et NT_délaitt**: Non traité ; **SA** : semaine d'aménorrhée ; **A** : <4 SA; **B** : 4-8 SA; **C** : >8 SA; **D** : délai.

Annexe 4 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2013

Statut	Durée traitement Totale (SA)	durée traitement catégorie	délai mise sous traitement (SA)	délai mise sous traitement catégorie	Clinique	Infektion (Trim)	Traitement
MBI	0	NT_duréettt	0	NT_délaittt	Normale	T3	NT_ttt
MBI	13,8	C	2	D < 4	Lésions	T2	SPIR
MBI	0	NT_duréettt	0	NT_délaittt	Normale	T3	NT_ttt
MBI	13,5	C	5,5	D 4-8	Lésions	T2	SPIR
MBNI	20	C	21	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	18.5	C	5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	29	C	8	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	12	C	28	D > 8	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	20.5	C	16	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	27.2	C	7,5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	34.5	C	2,5	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	16.2	C	6	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	30	C	9,5	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	9.5	C	30	D > 8	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	30.5	C	4	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	25.5	C	13	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	9.5	C	6	D 4-8	Normale	T2	PYR/SULF
MBNI	28.5	C	13	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	29	C	1,5	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	25.5	C	13	D > 8	Normale	T1	SPIR

MBI : mère de bébé infecté ; **ND, ND_clin , ND_duréettt** : non documenté ; **SPIR** : Spiramycine ; **PYR/SULF** : Pyriméthamine/Sulfadiazine ; **NT et NT_délaittt**: Non traité ; **SA** : semaine d'aménorrhée ; **A** : <4 SA; **B** : 4-8 SA; **C** : >8 SA; **D** : délai.

Annexe 5 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2014

Statut	Durée traitement Totale (SA)	durée traitement catégorie	délai mise sous traitement (SA)	délai mise sous traitement catégorie	Clinique	Infektion (Trim)	Traitement
MBI	0	NT_duréett	0	NT_délaitt	Normale	T3	NT_ttt
MBI	19,2	C	1	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBI	11,7	C	2,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBI	8	B	1	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBI	12	C	3,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBI	5,2	B	3	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	32	C	10	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	15.8	C	3,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	15.5	C	6	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	30.5	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	6	B	2	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	0	ND_duréett	0	ND_délaitt	Normale	T3	ND_ttt
MBNI	31	C	9	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	19	C	22	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	19.5	C	19	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	15	C	22	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	22.2	C	1,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	25.5	C	14	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	16.5	C	2	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	27.7	C	8	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	23.2	C	3	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	20.5	C	5	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	23	C	17	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	27	C	14	D > 8	Normale	T1	SPIR

MBNI	26.5	C	3	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	8	B	1	D < 4	Normale	T3	SPIR
MBNI	13.5	C	6,5	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBNI	20	C	19,5	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	24	C	2	D < 4	Normale	T1	SPIR
MBNI	ND	ND_duréettt	ND	ND_délaittt	Normale	T1	ND_ttt
MBNI	32	C	6	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	0	NT_duréettt	0	NT_délaittt	Normale	T1	NT_ttt
MBNI	29,5	C	9,5	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	35.3	C	6	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	0	NT_duréettt	0	NT_délaittt	Normale	T3	NT_ttt
MBNI	32	C	2	D < 4	Normale	T1	SPIR

MBI : mère de bébé infecté ; **ND, ND_clin , ND_duréettt** : non documenté ; **SPIR** : Spiramycine ; **PYR/SULF** : Pyriméthamine/Sulfadiazine ; **NT et NT_délaittt**: Non traité ; **SA** : semaine d'aménorrhée ; **A** : <4 SA; **B** : 4-8 SA; **C** : >8 SA; **D** : délai.

Annexe 6 : Caractéristiques biologiques et cliniques des patientes avec une séroconversion pendant la grossesse et ayant donné naissance en 2015

Statut	Durée traitement Totale (SA)	durée traitement catégorie	délai mise sous traitement (SA)	délai mise sous traitement catégorie	Clinique	Infektion (Trim)	Traitement
MBI	8.2	C	3,5	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBI	ND	ND_duréett	ND	ND_délaitt	Normale	T3	ND_ttt
MBI	2,5	A	8	D 4-8	Normale	T2	SPIR
MBI	14,2	C	2	D < 4	Lésions	T2	SPIR
MBI	4,5	B	3	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBI	21.5	C	4,5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBI	0	NT_duréett	0	NT_délaitt	Normale	T3	NT_ttt
MBI	13	C	2	D < 4	Lésions	T2	SPIR
MBI	5,2	B	4	D 4-8	Normale	T3	SPIR
MBI	14,5	C	2	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	ND	ND_duréett	ND	ND_délaitt	ND_clin	T1	ND_ttt
MBNI	10	C	31	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	24	C	16	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	22,2	C	18	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	28	C	5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	31	C	6,5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	17	C	3	D < 4	Normale	T2	SPIR
MBNI	4	B	8	D 4-8	ND_clin	T2	PYR/SULF
MBNI	29	C	9	D > 8	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	0	NT_duréett	0	NT_délaitt	ND_clin	T1	NT_ttt
MBNI	8.5	C	7,5	D 4-8	ND_clin	T2	SPIR
MBNI	17	C	3	D < 4	Normale	T2	PYR/SULF
MBNI	26.2	C	12	D > 8	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	25	C	16	D > 8	Lésions	T1	SPIR

MBNI	33.5	C	2	D < 4	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	25	C	16	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	30	C	12	D > 8	ND_clin	T1	SPIR
MBNI	3	A	0,5	D < 4	ND_clin	T3	SPIR
MBNI	12	C	2	D < 4	ND_clin	T2	SPIR
MBNI	19	C	5	D 4-8	Normale	T1	SPIR
MBNI	28	C	12	D > 8	Normale	T1	SPIR
MBNI	29	C	13	D > 8	ND_clin	T1	SPIR

MBI : mère de bébé infecté ; **ND, ND_clin , ND_duréttt** : non documenté ; **SPIR** : Spiramycine ; **PYR/SULF** : Pyriméthamine/Sulfadiazine ; **NT et NT_délaittt**: Non traité ; **SA** : semaine d'aménorrhée ; **A** : <4 SA; **B** : 4-8 SA; **C** :>8 SA; **D** : délai.

Annexe 7 : Codes postaux des patientes des cohortes Mères de bébé infecté (MBI) avec les génotypes impliqués et Mères de bébé non infecté (MBNI)

A. Cohorte MBI

Code postal	35270	22100	35700	56920	35500	22100	22110	53120	35330	35320	35133	53120	35750	35500	35250	35200	35270
Génotype	II	II	II	II	II VAR W35	II	ND	ND	II	II	II	II VAR	II	ND	ND	II	ND
Code postal	35390	53410	53100	35400	56120	35500	35000	35720	35230	35135	35250	56310	22140	35310	50300	56120	35500
Génotype	II	ND	II	II	II	ND	II	ND	II	ND	II	II	II	II VAR	II	II	ND

B. Cohorte MBNI

35330	22600	35890	35235	35830	35830	35400	22130	35520	35520	56920	22100	35590	35220	56430
35350	35600	53150	56150	35400	35000	35000	22600	53100	35350	22220	35590	22100	35000	35690
22380	35130	35136	35400	35200	22130	56910	22690	35610	35370	35310	56300	35430	35760	22560
35440	35230	35360	53320	35000	35700	22590	35200	35137	35440	35200	56500	22150	35190	35200
35410	35000	35000	35340	35000	35000	35000	35700	44460	35000	56920	35320	35350	22600	35120
22100	35000	22980	35210	53240	22100	35450	35136	53300	44630	35000	53000	35520	35190	35680
35400	35310	56150	35360	35220	59780	35160	35400	22100	35300	50160	35137	22300	35260	35140
35520	35310	35470	56300	35220	35390	35960	22300	35137	22300	35134	56500	35380	35440	35132
35130	75006	35000	35830	35510	29620	35135								
35390	35137	35270	35000	35290	35000	56480								
22300	22100	35200	22300	35200	56160	22700								
35000	35000	35360	59350	35590	35830	35150								

DION Sarah - Réponse immunitaire et marqueurs épidémiologiques dans le cadre de la toxoplasmose congénitale

Résumé français.

Malgré le programme de prévention de la toxoplasmose congénitale mis en place en France à la fin des années 1970, il subsiste encore aujourd'hui des cas sur notre territoire. Sur l'année 2017 environ 150 cas ont été répertoriés par le centre national de référence pour la toxoplasmose. Ce chiffre est en diminution depuis quelques années. Les enfants infectés *in utero* par *Toxoplasma gondii*, agent parasitaire responsable de la pathologie, vont présenter des tableaux cliniques variables allant d'une infection asymptomatique à des malformations cardiaques. Le diagnostic de cette pathologie repose sur une analyse sérologique par western blot chez le nouveau-né.

Dans le cadre de ce travail, nous avons étudié une cohorte de 215 individus composée de 181 mamans ayant eu une séroconversion pour la toxoplasmose en cours de grossesse et de 34 bébés avec un diagnostic de toxoplasmose congénitale positif suivis au CHU Pontchaillou Rennes de 2011 à 2015. Pour tous les individus de la cohorte, nous avons extrait des données quantitatives et qualitatives à partir de données biologiques (date de la séroconversion, profil de la réponse IgG anti-toxoplasmique en western blot...) et cliniques (présence ou non de lésions chez le bébé à la naissance). Cet ensemble de données a ensuite été traité par analyse statistique multifactorielle.

Il s'avère que le profil de la réponse immunitaire IgG anti-toxoplasmique en termes de bandes révélées par western blot est corrélé au trimestre d'infection chez les mamans montrant ainsi un continuum dans la mise en place de la réponse immunitaire humorale anti-toxoplasmique. Sur la période d'étude de ce travail, 54% des femmes se contaminent au cours du premier semestre de grossesse démontrant l'intérêt d'informer les patientes sur les moyens de prévention de cette pathologie avec un rôle important du pharmacien d'officine notamment.

Au total, ce travail décrit pour la première fois la réponse humorale qualitative de femmes enceintes infectées en cours de grossesse, avec une analyse en fonction du trimestre d'infection et du statut d'infection du bébé.

Rubrique de classement : PARASITOLOGIE

Mots-clés :

Toxoplasmose congénitale,
réponse immunitaire,
marqueurs épidémiologiques

JURY :
Président : Monsieur le Professeur Joël Boustie
Assesseurs :
Mme le Professeur Florence Robert-Gangneux (directeur de thèse)
M. Jean-Charles Corbel
Mme Zohreh TAMANAI-SHACOORI